

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

L'évaluation de l'effet bénéfique de l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum* chez des rats Wistar diabétiques. Etude du système reproducteur male.

Présenté par : 13/09/2023

- Mme : BOUAZZA Sara Fatima Zohra

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président

Mr. ZIANI Kaddour

Pr Université UMTS

Examinateur

Mr. ADLI Djallal Eddine Houari

Pr Université UMTS

Rapporteur

Mr. KAHLOULA Khaled

Pr Université UMTS

Année universitaire 2022/2023

Résumé

Au cours des dernières décennies, l'incidence du diabète a augmenté. Cette augmentation s'accompagne également d'une forte baisse de la fertilité masculine. Pour y remédier, l'utilisation des plantes médicinales comme traitement alternatif est devenue actuellement la plus utilisée. L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'effet thérapeutique de l'huile essentielle de clou de girofle (0,1 ml/kg intrapéritonéal) sur la fonction reproductrice des rats mâles rendus diabétiques par une dose de streptozotocine (40 mg/kg). En effet, l'étude du comportement sexuel par le test de la motivation sexuelle révèle que le diabète entraîne une diminution de ce dernier, notamment par un nombre et un temps de visite important dans la zone d'incitation des mâles et moindre dans la zone d'incitation des femelles ($***P < 0.001$) et un score de préférence faible ($**P < 0.001$). En outre, les tests de l'interaction sexuelle indiquent une augmentation du nombre de montées ($***P < 0,001$) et une diminution du nombre d'intromissions et d'éjaculations ($***P < 0.001$, $**P < 0.01$ respectivement) tandis que les latences de montées, d'intromissions et d'éjaculation sont élevées ($***P < 0.001$, $***P < 0.001$, $***P < 0.001$ respectivement). En effet, les tests de comportement plus précisément de l'anxiété (labyrinthe en croix surélevé) montrent que durant le test le nombre d'entrée et la durée de séjour dans les bras ouverts sont significativement diminués ($***P < 0.001$, $***P < 0.001$ respectivement) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. Cependant le poids de cerveau, testicules, épидидymes, vésicules séminales, prostate ont réduit de manière significative ($***P < 0.001$, $***P < 0.001$, $**P < 0.01$, $**P < 0.01$ respectivement). Les analyses hormonales ont montré une diminution significative ($***P < 0.001$) du taux de testostérone. En outre, l'étude de spermogramme révèle une diminution significative du nombre des spermatozoïdes chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins ainsi qu'une augmentation de pourcentage de spermatozoïdes de morphologie anormale ($***P < 0.001$, $***P < 0.001$ respectivement). De même, les résultats des pourcentages de vitalité et mobilité des spermatozoïdes ont montré que les rats diabétiques présentait des valeurs significativement plus faibles par rapport aux rats témoins ($***P < 0.001$, $***P < 0.001$ respectivement). Par ailleurs, l'administration l'huile essentielle de clou de girofle à des rats diabétiques a montré que le traitement contribuait à réduire la glycémie et à améliorer la motivation sexuelle et l'interaction en améliorant les paramètres mesurés lors du teste de l'interaction sexuelle. Par ailleurs, ces résultats montrent que l'huile essentielle de clou de girofle permet de restaurer le comportement des rats ainsi que le poids des organes. Le résultat du dosage hormonal et l'étude de la carte spermatique montrent que l'huile essentielle de clous de girofle augmente la testostérone et améliore les paramètres spermatiques. En conclusion, l'utilisation l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* se révèle bien efficace dans le traitement des troubles de la reproduction des rats mâles diabétiques.

Mots clés : Diabète, Streptozotocine, *Syzygium Aromaticum*, Comportement Sexuel, Système Reproducteur, Testostérone, Spermogramme.

Abstract

In recent decades, the incidence of diabetes has increased. This increase is also accompanied by a sharp drop in male fertility. To remedy this situation, the use of medicinal plants as an alternative treatment is currently the most widely used. The aim of this study was therefore to evaluate the therapeutic effect of clove essential oil (0.1 ml/kg intraperitoneal) on the reproductive function of male rats made diabetic by a dose of streptozotocin (40 mg/kg). The study of sexual behavior using the libido test revealed that diabetes reduces libido, notably through a greater number of visits and a longer visit time in the male stimulation zone and a shorter visit time in the female stimulation zone (**P<0.001), and a lower preference score (**P<0.001). In addition, tests of sexual interaction indicated an increase in the number of mounts (**P<0.001) and a decrease in the number of intromissions and ejaculations (**P<0.001, *P<0.01 respectively), while latencies for mounts, intromissions and ejaculations were high (** P<0.001, ** P<0.001, ** P<0.001 respectively). Indeed, behavioral tests more specifically of anxiety (elevated cross maze) show that during the test the number of entries and duration of stay in open arms are significantly decreased (**P<0.001; **P<0.001 respectively) in diabetic rats compared to control rats. However, weights of brain, testes, epididymides, seminal vesicles and prostate were significantly reduced (**P<0.001, ** P<0.001, *P<0.01, *P<0.01 respectively). Hormonal analyses showed a significant decrease (**P<0.001) in testosterone levels. In addition, the spermogram study revealed a significant decrease in sperm count in diabetic rats compared with control rats, as well as an increase in the percentage of sperm with abnormal morphology (**P<0.001, **P<0.001 respectively). Similarly, the results of sperm vitality and motility percentages showed that diabetic rats presented significantly lower values compared to control rats (**P<0.001, **P<0.001 respectively). Furthermore, the administration of clove essential oil to diabetic rats showed that the treatment helped to reduce blood sugar levels and improve sexual motivation and interaction by improving parameters measured during the sexual interaction test. These results also show that clove essential oil helps restore the rats' behavior and organ weights. The results of the hormone assay and the sperm map study show that clove oil increases testosterone and improves sperm parameters. In conclusion, the use of *Syzygium aromaticum* essential oil has been shown to be effective in the treatment of reproductive disorders in diabetic male rats.

Key words: diabetes, streptozotocin, *Syzygium aromaticum*, sexual behavior, reproductive system, testosterone, spermogram.

ملخص

ازداد مؤخرًا معدل الإصابة بداء السكري. وصاحبه انخفاض حاد في خصوبة الذكور. كما أصبح استخدام النباتات الطبية كعلاج بديل هو الأكثر استخدامًا حاليًا. لذلك كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير العلاجي للزيت الأساسي للقرنفل (0.1 مل/كج من وزن الجسم داخل الصفاق) على الوظيفة التناسلية للجرذان الذكور المصابة بداء السكري بسبب جرعة من الستربتوزوتوسين (40 ملغ/كج من وزن الجسم داخل الصفاق) . و منه، تكشف دراسة السلوك الجنسي عن طريق اختبار الرغبة الجنسية أن مرض السكري يؤدي إلى انخفاض هذه الأخيرة ، على وجه الخصوص من خلال عدد كبير ووقت الزيارة في منطقة حوافر الذكور وأقل في منطقة حوافر الإناث ($P < 0.001$) ودرجة تفضيل منخفضة (***) ($P < 0.001$) ، بالإضافة إلى ذلك ، تشير اختبارات التفاعل الجنسي إلى زيادة في عدد تصاعد الذكور المريضة فوق الجرذان الإناث ($P < 0.001$) وانخفاض في عدد حالات الإيلاج والقذف ($P < 0.01$ ، $P < 0.001$) على الإدخالات ومدة الإقامة في الأذرع المفتوحة بشكل كبير ($P < 0.001$ ، $P < 0.001$) على التوالي عند الجرذان المصابة بداء السكري مقارنة بالجرذان الشواهد. ومع ذلك، انخفض وزن الدماغ والخصيتين والبربخ والحوصلات المنوية والبروستاتا بشكل ملحوظ ($P < 0.001$ ، $P < 0.001$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.01$) على التوالي).

أظهرت التحليلات الهرمونية انخفاضًا كبيرًا ($P < 0.001$) في مستويات هرمون التستوستيرون. بالإضافة إلى ذلك ، تكشف دراسة الحيوانات المنوية عن انخفاض كبير في عدد الحيوانات المنوية عند الجرذان المصابة بداء السكري مقارنة بالجرذان السليمة بالإضافة إلى زيادة النسبة المئوية للحيوانات المنوية من التشكل غير الطبيعي ($P < 0.001$ ، $P < 0.001$) على التوالي). وبالمثل ، أظهرت نتائج النسب المئوية لحيوية وحركة الحيوانات المنوية أن الجرذان المصابة لها قيم أقل بكثير مقارنة بالجرذان السليمة ($P < 0.001$ ، $P < 0.001$) على التوالي). في هذا السياق، وقد أظهر حقن الزيت الأساسي للقرنفل للجرذان المريضة بداء السكري أن العلاج يساهم في تقليل نسبة السكر في الدم وتحسين الرغبة الجنسية والتفاعل من خلال تحسين المؤشرات المقاسة أثناء اختبار التفاعل الجنسي. علاوة على ذلك، تظهر النتائج أن زيت القرنفل الأساسي يحسن سلوك الجرذان وكذلك وزن الأعضاء. وأيضًا تظهر نتيجة الفحص الهرموني ودراسة الخريطة المنوية أن زيت القرنفل يزيد من هرمون التستوستيرون ويحسن المؤشرات المنوية.

ختامًا، يثبت استخدام زيت القرنفل الأساسي أنه فعال للغاية في علاج الاضطرابات التناسلية عند الجرذان الذكور المصابين بداء السكري .

الكلمات الرئيسية: مرض السكري ، الستربتوزوتوسين ، القرنفل ، السلوك الجنسي ، الجهاز التناسلي ، هرمون التستوستيرون ، دراسة الحيوانات المنوية .

Remerciements

Au terme de ce travail nous remercions dieu de nous avoir donnés la force et le courage de réaliser cet humble travail.

*Quant à mon professeur, **KAHLOULA Khaled** et mon modèle dans la science et la connaissance Quelles que soient mes paroles, un simple mot de remerciement ne peut véritablement rendre justice à votre droit et aux efforts considérables que vous avez déployés. Je vous remercie sincèrement du fond du cœur, car je vous suis très reconnaissant pour chaque lettre que vous m'avez apprise. Merci d'avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail et de consacrer du temps pour accomplir ce manuscrit, merci beaucoup pour vos conseils et vos orientations afin que ce travail se réalise sous une meilleure forme. Merci de m'avoir inspiré à donner le meilleur de moi-même.*

*J'adresse mes vifs et chaleureux remerciements à **Pr. ZIANI Kaddour** enseignant à la faculté des sciences à l'Université de SAIDA, d'avoir accepté la présidence du jury, qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect. Vous êtes l'enseignant qui a réussi à m'inspirer et à me donner l'envie d'apprendre. Merci pour tout ce que vous avez fait durant mon parcours universitaire.*

*Je tiens également à exprimer ma gratitude et mes remerciements au **Pr. ADLI Djallel Edine**, qui a accepté d'être examinateur et de partager toutes ses connaissances durant mon parcours universitaire, Je tiens à le remercier pour tous les conseils qu'il nous a prodigués et qui ont contribué à développer ma réflexion.*

*Je ne pourrai jamais retranscrire tout le respect, l'appréciation et la gratitude que j'ai pour Madame futur docteur **SOUIDI Sendous Wadjila**. Je ne la remercierai jamais assez pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant de codiriger ce mémoire, pour son aide, son partage, sa générosité et sa disponibilité au quotidien. En fait, elle m'a transmis des connaissances scientifiques sans compter son temps, et sa porte était toujours ouverte à des discussions toujours merveilleuses. Je remercie Dieu Tout-Puissant de votre présence dans ma vie. Je vous souhaite toute la joie et le bonheur ma chère amie, merci pour votre tendresse et bonté de votre cœur.*

*Bien sûr, sans oublier Mr **Ahmed**, Merci pour votre confiance et de m'avoir donné de bons conseils en toute générosité et gentillesse et d'avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire afin de réaliser toutes les manipulations.*

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je dédie :

Cher père, Je tiens à te remercier du fond du cœur pour tout ce que tu as fait pour moi. Ton amour, ton soutien inconditionnel et tes sacrifices ont été un véritable pilier dans ma vie. Ta sagesse et tes conseils m'ont guidé et m'ont aidé à devenir la personne que je suis aujourd'hui. Je suis profondément reconnaissante de t'avoir comme modèle et comme père. Ta présence et ton amour ont été un cadeau précieux, et je veux que tu saches à quel point je valorise tout cela.

Chère maman, Je voudrais exprimer ma profonde gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi. Ton amour inconditionnel, ta patience et ta dévotion ont été des piliers essentiels dans ma vie. Tes conseils sages et ton soutien constant m'ont aidé à traverser les moments difficiles et à grandir. Ta gentillesse, ton dévouement et ton sacrifice ne passent pas inaperçus, et je veux que tu saches à quel point je les apprécie.

Mes chères sœurs fadila et souada, Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour ce que vous faites dans ma vie. Vous êtes mes piliers et mes amies, et je vous suis vraiment reconnaissante. Les moments que nous avons passés ensemble sont des souvenirs inestimables, et vos paroles de soutien et d'amour signifient beaucoup pour moi. Merci pour votre attention, votre compréhension, vos conseils et vos sourires..

Amine, je voulais sincèrement te remercier pour tout ce que tu fais. Même si tu es plus jeune, tu montres beaucoup d'amour et de dévouement. Je te souhaite tout le succès et le bonheur dans le futur, Continue de réaliser tes rêves.

Chère Sendous, Je voulais prendre un moment pour te remercier du fond du cœur pour tout ce que tu fais. Ta camaraderie est inestimable pour moi, merci d'être toujours là pour me soutenir, de partager les moments bons et difficiles avec moi. Ton encouragement et ta douceur signifient beaucoup pour moi. J'apprécie ta gentillesse et ta moralité élevée. Merci de rendre la vie plus belle juste par ta présence. Je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans tous les domaines de ta vie. N'oublie pas que tu es une amie importante et chère pour moi.

Chères Houda, Dallal, Aycha, Khadija, Samira, Hayat, Abire et Souha, Je tiens à vous exprimer ma gratitude la plus sincère pour tout ce que vous avez fait pour moi. Votre amitié et votre présence dans ma vie sont des cadeaux inestimables, dont la valeur ne peut être mesurée. Merci pour chaque moment que nous avons partagé, pour les rires que vous m'avez offerts, et pour le soutien que vous avez apporté. Vous avez rendu mon voyage plus lumineux et significatif. J'apprécie chacune de vous pour vos efforts individuels. Merci d'être mes amies et d'apporter des touches spéciales à ma vie.

Sommaire

Résumé.....	
Abstract.....	
ملخص.....	
Remerciements.....	
Dédicace.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction	1
I. Le système reproducteur mâle chez le rat.....	3
I.1. Anatomie de l'appareil génital mâle du rat.....	3
I.1.1. Les testicules et les tubules séminifères.....	3
I.1.1.1. Les testicules.....	3
I.1.1.2. Les tubules séminifères.....	4
I.1.2. Les conduits excréteurs.....	4
I.1.2.1. Les canaux efférents.....	4
I.1.2.2. Le rete testis.....	4
I.1.2.3. L'épididymes.....	5
I.1.2.4. Le canal déférent.....	5
I.1.2.5. L'urètre (canal uro-génital).....	6
I.1.3. Les glandes annexes.....	6
I.1.3.1. Les glandes ampullaires (glandes du canal déférent).....	7
I.1.3.2. Les vésicules séminales (glandes vésiculaires).....	7
I.1.3.3. Les glandes coagulantes (glande dorso-crânial ou prostatique antérieure).....	7
I.1.3.4. Les glandes bulbo-urétrales (Glandes de Cowper).....	7
I.1.3.5. Les glandes préputiales.....	8
I.1.3.6. La prostate.....	8
I.1.4. Le pénis.....	8
I.2. La spermatogénèse.....	9
I.3. Le spermatozoïde.....	10
I.4. La testostérone.....	10

Sommaire

I.5. La régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.....	11
I.6. La description du comportement sexuel du rat mâle	13
I.6.1. Les régions cérébrales impliquées dans le comportement sexuel	14
I.6.2. Les neurotransmetteurs impliqués dans le comportement sexuel	15
II. Le diabète.....	16
II.1. Définition de Diabète.....	16
II.2. Classification du diabète.....	16
II.2.1. Diabète de type 1.....	16
II.2.1.1. Définition.....	16
II.2.1.2. Etiologie	17
II.2.1.3. Symptômes et signes	18
II.2.1.4. Physiopathologie du diabète type 1	19
II.2.1.5. Stress oxydatif et diabète type 1.....	20
II.2.2. Diabète de type 2.....	20
II.2.2.1. Définition.....	20
II.2.2.2. Etiologie	20
II.2.2.4. Physiopathologie de diabète type 2	21
II.2.2.5. Stress oxydatif et diabète type 2.....	22
II.3. L'effet du diabète sur le système reproducteur	22
II.3.1 Effet pré-testiculaire du diabète	22
II.3.2 Effet testiculaire du diabète.....	23
II.3.2.1. Stress oxydatif testiculaire.....	23
II.3.2.2. Stéroïdogénèse.....	23
II.3.2.3. Spermatogenèse.....	24
II.3.2.4. Histologie du testicule	24
II.3.3. Effet Post-testiculaire du diabète	24
II.3.3.1 Dysfonctionnement érectile dans le diabète.....	24
II.3.3.2 Troubles de l'éjaculation.....	25
III. Clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	26
III.1. Origine du giroflier.....	26
III.2. Description de la plante	26
III.2.1. Aspect botanique de la plante	26
III.2.2. Classification botanique.....	27

Sommaire

III.3. Les huiles essentielles	28
III.3.1. Définition.....	28
III.3.2. La chimie des huiles essentielles	28
III.3.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles	28
III.3.3.1. Extraction par hydrodistillation	29
III.3.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	29
III.3.3.3. Extraction par Hydro-diffusion.....	30
III.3.3.4. Extraction par expression ou pression à froid.....	31
III.4. La chimie du <i>Syzygium aromaticum</i>	31
III.5. Les effets thérapeutiques du clou de girofle.....	33
III.5.1. Activité Antioxydante.....	33
III.5.2. Activité antibactérienne	33
III.5.3. Activité antifongique	34
III.5.4. Activités anti-inflammatoire	34
III.5.5. Effet anesthésiant.....	34
III.5.6. Activité analgésique.....	34
III.5.7. Activité anti-cancérogène	34
III.5.8. Activité antidiabétique.....	35
III.5.9. Effet sur la reproduction	35
III.6. La toxicité du clou de girofle.....	35
IV. Matériels et méthodes	36
IV.1. Objectif du travail	36
IV.2. Matériels biologiques utilisés.....	36
IV.2.1. Matériel végétal	36
IV.2.2. Matériel animal.....	36
IV.3. Méthodes.....	37
IV.3.1. Extraction des huiles essentielles	37
IV.3.2. Calcul du rendement.....	37
IV.3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue	38
IV.3.4. Préparation de la solution injectable.....	38
IV.3.5. Répartition des lots et traitement des animaux.....	38
IV.3.5.1. Induction du diabète	38
IV.3.5.2. La répartition des lots	38

Sommaire

IV.3.5.3. La répartition chronologique du protocole expérimental	39
IV.4. Etude du comportement sexuel	40
IV.4.1. Présélectivité et réceptivité	40
IV.4.2. Test de la motivation sexuelle (Sexual incentive motivation test SIM)	40
IV.4. 3. Test de l'interaction sexuelle (Male sexual behavior test MSB)	41
IV.5. Test labyrinthe en crois sur élevé (plus maze)	43
IV.6. Nécropsie et prélèvement des organes	43
IV.6.1. Evaluation du poids corporels et poids relatif des organes	43
IV.6.2. Dosage de la testostérone	44
IV.6.3. Le spermogramme	44
IV.6.3.1. Préparation des suspensions spermatique	44
IV.6.3.2. Comptage des spermatozoïdes	44
IV.6.3.3. Evaluation de la morphologie des spermatozoïdes	45
IV.6.3.4. Vitalité des spermatozoïdes	45
IV.6.3.5. Mobilité des spermatozoïdes	45
IV.7. Analyses statistiques	46
V. Résultats et interprétations.....	47
V.1. Calcul du rendement en huile essentielle	47
V.2. Evaluation du taux de glycémie	47
V.3. Analyses statistiques du comportement sexuel	48
V.3.1. Test de la motivation sexuelle (Sexual incentive motivation test SIM)	48
V.3.2. Test de l'interaction sexuelle (Male sexual behavior test MSB)	50
V.4. Le test du labyrinthe en crois surélevé.....	53
V.5. Evaluation du développement pondéral	54
V.5.1. Evaluation du poids corporel	54
V.5.2 Evaluation du poids des organes.....	54
V.5.2 .1. Evaluation du poids absolu	54
V.5.2.2. Evaluation du poids relatif	55
V.6. Evaluation des taux de la Testostérone	56
V.7. Etude du spermogramme.....	56
V.7.1. Comptage des spermatozoïdes dans l'épididyme	56
V.7.2. Morphologie	57
V.7.3. Vitalité	58

Sommaire

V.7.4. Mobilité.....	58
VI. Discussion	60
VII. Conclusion.....	69
Références bibliographiques

LA LISTE DE FIGURES

Chapitre I : Système reproducteur male chez le rats

Figure 01: Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du rat	3
Figure 02: Canaux efférents et épидидyme de rat. Anatomie normale. Conduits efférents (CE), segment initial (SI), Caput (Cap), Corpus (Co), Cauda (Cau), canal déférent (CD).	5
Figure 03: Les glandes annexes.....	6
Figure 04: Représentation schématique de la spermatogenèse chez le rat	9
Figure 05: Représentation schématique d'un spermatozoïde de rat	10
Figure 06: L'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique de rat mâle.....	12
Figure 07: Les actes copulatoires des rats mâles : montée, intromission et éjaculation.....	13

Chapitre II : Le diabète

Figure 08 : Étiologies génétiques, immunologiques et environnementales du diabète de type(DT1)	17
---	----

Chapitre III: Giroflier (*Syzygium aromaticum*)

Figure 09: boutons de fleurs séchées.....	26
Figure 10 : Boutons de giroflier	27
Figure 11 : principe schématique de l'hydrodistillation (HD)	29
Figure 12 : Distillation à la vapeur d'eau.....	30
Figure 13 : _montage d'hydrodiffusion	31

Chapitre IV :Matériels et méthodes

Figure 14 : Dispositif d'hydro distillation, Ampoule à décanter	37
Figure 15 : Organigramme récapitulant le protocole expérimental.....	39
Figure 16: Labyrinthe du test de la motivation sexuelle.....	41
Figure 17 : Test de l'interaction sexuelle.	42

Chapitre V : Résultats et interprétations

- Figure 18:** Le taux de glycémie avant, après l'induction du diabète et après 12 semaine de traitement chez des rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités à l'HEC(D-HEC).....47
- Figure 19:**Le nombre des visites des zones FIZ et MIZ chez les rats Témoins, Témoins traités(Traités) , diabétique, diabétique(D) traités(DHEC)..... 48
- Figure 20:**Le temps des visites exprimé en secondes des zones FIZ et MIZ chez les rats chez Témoins, Témoins traités(Traités) , diabétique, diabétique(D) traités(DHEC)..... 49
- Figure 21:**le score de préférence en % chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC),diabétique (D), diabétique traités à l'HEC (DHEC)..... 49
- Figure 22:**Le nombre de montée et latence de montées exprimée en secondes chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC), intoxiqués (D), intoxiqués traités à l'HEC (DHEC). 50
- Figure 23:**Le nombre d'intromissions et latence d'intromissions exprimée en secondes chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC), diabétique (D), diabétique traités à l'HEC (DHEC). 51
- Figure 24:**Le nombre d'éjaculation et latence d'éjaculations exprimée en secondes chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC), diabétique (D), diabétique traités à l'HEC (DHEC). 51
- Figure 25:**Intervalle post éjaculatoire exprimée en secondes chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC), diabétique (D), diabétique traités à l'HEC (DHEC)..... 52
- Figure 26:**Indice d'efficacité copulatoire chez les rats Témoins, Témoins traités (THEC), diabétique (D), diabétique traités à l'HEC (DHEC).. 52
- Figure 27:** Le nombre d'entrées et la durée séjour dans les bras ouverts chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétiques (D), Diabétiques traités à l'HEC (D-HEC)53
- Figure 28:**L'évolution poids corporel chez des rats Témoins, Témoins traités (THEC), diabétique (D), diabétique traités à l'HEC(DHEC)54
- Figure 29 :**Observation microscopique de la morphologie des spermatozoïdes grossissement ($G \times 400$) a: spermatozoïde court ; b: spermatozoïde a queue tordue ; c: spermatozoïde court ; d: spermatozoïde queue courbée; e: spermatozoïde sans tête ; f: spermatozoïde enroulé ; g: spermatozoïde à flagelle amputé ; h: anomalies de la pièce intermédiaire (angulée) i: des spermatozoïdes anormal.....57

Figure 30: Observation microscopique d'un frottis spermatique montrant un spermatozoïde coloré en Rose (mort) et un spermatozoïde incolore (vivant) G × 100.....58

LA LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Effets de Diabète sur différents niveaux du système reproducteur des mâles	22
Tableau 02 : Classification botanique girofler	27
Tableau 03 : Composition chimique de l'HE de clou de girofle selon l'analyse CPG-SM	31
Tableau 04: Les paramètres copulatoires standard enregistrés durant le test de l'interaction sexuel ..	42
Tableau 05 : Le poids relatif et poids absolu des organes chez les rats Témoins (T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique(D), Diabétique traités à l'HEC (D-HEC).	55
Tableau 06: Taux sériques de l'hormone sexuelle la testostérone chez les rats Témoins, Témoins traités (T-HEC), Diabétique(D),Diabétique traités à l'HEC (D-HEC).....	56
Tableau 07 : Evaluation des différents paramètres spermatiques	58

La Liste Des Abréviations

5-HT: 5-Hydrotryptamine (Sérotonine).

ABP: Protéine De Liaison Aux Androgènes (Androgen-Binding Protein).

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AGE : Produits Finaux De Glycation Avancée (Advanced Glycation End-Products).

AIP3: Actin Interacting Protein 3.

ARN: Acide Ribonucléique.

Arndb : Acide Ribonucléique Double Brin.

BACH2: Domaine BTB Et Homologue CNC 2.

Bnstpm : Postéro-Médiale Du Noyau Du Lit De La Strie Terminale.

BTB: Broad-Complex, Tramtrack Et Bric-A-Brac.

Cap: Caput.

CAT : Catalase.

Cau: Cauda.

CD: Canal Déférent.

CE: Conduits Efférents.

CMH : Complexe Majeur D'histocompatibilité

Co : Corpus.

CPG/SM : Chromatographie En Phase Gazeuse-Spectrométrie De Masse.

CPG-FID : Chromatographie En Phase Gazeuse.

CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4.

CTSH : Cathepsin H.

Cu/Zn SOD: Superoxyde Dismutase A Cuivre/Zinc.

CYP11A1 : Membre 1 De La Sous-Famille A De La Famille 11 Du Cytochrome P450(Cytochrome P450 Family 11 Subfamily A Member 1).

DE : Dysfonction Erectile.

DT1 : Diabète Type 1.

DT2 : Diabète Type 2.

FSH: Follicle Stimulating Hormone (Hormone Folliculo-Stimulante).

G6Pase : Glucose 6-Phosphatase.

GABA : Acide Γ -Aminobutyrique.

GAD : Décarboxylase De L'acide Glutamique.

GAPDH : Glycolytique Glycéraldéhyde Phosphate Déshydrogénase.

GLIS3 : GLI-Similaire 3.

GLUT 4: Transporteurs De Glucose 4.

Gmpc : Guanosine Monophosphate Cyclique.

Gnrh : Gonadotrophin-Releasing Hormone (Hormone De Libération De La Gonadotrophine).

Gpx : Glutathion Peroxydase.

HE: Huile Essentielle.

HEC : Huile Essentielle Du Clou De Girofle.

HHG : Axe Hypothalamo-Hypophysaire-Gonadique (Hypothalamic-Pituitary-Gonadal HPG).

HLA : Human Leukocyte Antigen (Antigène leucocytaire humain).

IL 2: Interleukine 2.

IL : Interleukine.

IL10: Interleukine 10.

IL2RA: Sous-Unité Alpha Du Récepteur De L'interleukine 2.

IPE : L'intervalle Post-Ejaculatoire.

LH: Hormone Lutéinisante (Luteinizing Hormone).

LHCGR : Récepteur De L'hormone Lutéinisante/Gonadotrophine Chorionique.

MDA : Malondialdéhyde.

Meapd : Postéro-Dorsale De L'amygdale Médiale.

MPN: Noyau Préoptique Médial.

NMDA: N-Méthyl-D-Aspartate.

NO: Monoxyde D'azote.

OCT: L'ocytocine.

PEPCK : Phosphoénolpyruvate Carboxykinase.

Ph : Potentiel Hydrogène.

PKC : Protéine Kinase C.

PTPN2 ; Protéine Tyrosine Phosphatase Non Réceptrice De Type 2.

PTPN22 : Protéine Tyrosine Phosphatase Non Réceptrice De Type 22.

RNS : Espèces Azotées Réactives.

ROS : Espèces Réactives De L'oxygène.

SEM : Erreur Standard Moyenne.

SHBG: Globuline Liée Aux Hormones Sexuelles (Sex Hormone-Binding Globulin).

SIM : Sexual Incentive Motivation Test (Test De La Motivation Sexuelle).

Spfp : Noyau Subparafasciculaire Parvocellulaire.

Star : Protéine Régulatrice Aiguë Stéroïdogène (Steroidogenic Acute Regulatory Protein).

STZ : Streptozotocine.

TA : Tissu Adipeux

Introduction générale

Introduction générale

Le diabète est un trouble métabolique et endocrinologique caractérisé par une hyperglycémie chronique due à une insuffisance absolue ou relative de l'insuline et/ou à une résistance associée à un dysfonctionnement des cellules β des îlots pancréatiques (**World Health Organization, 2022 ; American Diabetes Association, 2022**). Le diabète peut être classé en quatre catégories générales : diabète de type 1 (DT1) ; en raison de la destruction auto-immune des cellules, qui conduit généralement à une carence absolue en insuline, le diabète de type 2 (T2D) ; En raison d'une altération progressive de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta, souvent associée à une résistance à l'insuline, le diabète gestationnel et le diabète de type 4 (Alzheimer) (**Francesco et Mario, 2022**). Certaines complications aiguës peuvent se produire, notamment l'acidocétose diabétique, le syndrome hyperglycémique hyperosmolaire, l'acidose lactique et l'hypoglycémie (**Cowie et al., 2018**). Ainsi que d'autres complications chroniques peuvent être divisées en maladies macrovasculaires (maladie coronarienne, maladie cérébrovasculaire et maladie artérielle périphérique) (**American Diabetes Association, 2022**), et microvasculaires (néphropathie, neuropathie et rétinopathie) (**American Diabetes Association, 2021**).

Le diabète a été associée à des dysfonctionnements sexuels et en particulier, chez les sujets masculins, à des dysfonctionnements érectiles, éjaculatoires et à l'hypogonadisme (**Kouidrat et al., 2017 ; Corona et al., 2020 ; Stasi et al., 2022 ; Corona et al., 2009 ; Desai et al., 2022**).

L'infertilité a été reconnue comme un problème de santé publique par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (**Boivin et al., 2007**) affectant environ un couple sur dix. Les différentes causes d'infertilité incluent le diabète ainsi que les dysfonctions éjaculatoires et érectiles, ces dernières étant considérées comme des causes pré-testiculaires (**Lottif et al., 2018 ; Lottif et al., 2020**). Il convient de noter que le diabète et les problèmes éjaculatoires (éjaculation rétrograde, anéjaculation, éjaculation retardée ou prématurée, principalement due à la neuropathie diabétique) et/ou érectiles qui y sont liés peuvent avoir un impact négatif sur la fertilité masculine (**Lottif et al., 2018**).

Au cours des dernières décennies, les plantes médicinales ont été plus acceptées, en raison de leur composition de substances actives plus efficaces et causant moins d'effets secondaires que leurs homologues synthétiques (**Abushouk et al., 2017**). Les huiles essentielles dérivées de ces plantes ont été signalées comme ayant des activités pharmacologiques, tels des activités antimicrobienne, insecticide, antioxydante, analgésique, anti-tumorale, anti-

Introduction générale

inflammatoire et antidiabétique (**Batiha et al., 2020**). Par ailleurs, L'huile essentielle des clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) est bien connue pour ses propriétés aphrodisiaques et a été largement utilisé pour traiter les troubles sexuels masculins (**Mishra et Singh, 2013**).

A la lumière de ces données, notre modeste travail s'inscrit dans le cadre d'une mise en évidence d'une part, des effets du diabète chez les rats Wistar adultes, en évaluant ses répercussions sur le système reproducteur suivant deux approches comportementale et physiologique et d'autre part, tester l'efficacité du traitement à base de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

Chapitre I : Le système reproducteur
mâle chez le rat

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

I.1. Anatomie de l'appareil génital mâle du rat :

Le rat est l'un des animaux de référence les plus utilisés en physiologie de la reproduction. Il est également utile pour l'évaluation des effets thérapeutiques sur l'appareil reproducteur (Crisler et al., 2020). L'appareil reproducteur mâle des rats est constitué de testicules appariés et de canaux extra-testiculaires, qui comprennent les canaux efférents, l'épididyme et les canaux déférents, ainsi que les glandes sexuelles accessoires, à savoir la prostate, les vésicules séminales, les glandes bulbo-urétrales, les glandes ampullaires et les glandes préputiales, à côté de l'urètre et du pénis. Les glandes ampullaires et les glandes préputiales sont propres aux rongeurs et ne sont pas présentes chez l'homme (Chawla et Jena, 2021; Knoblaugh et al., 2018).

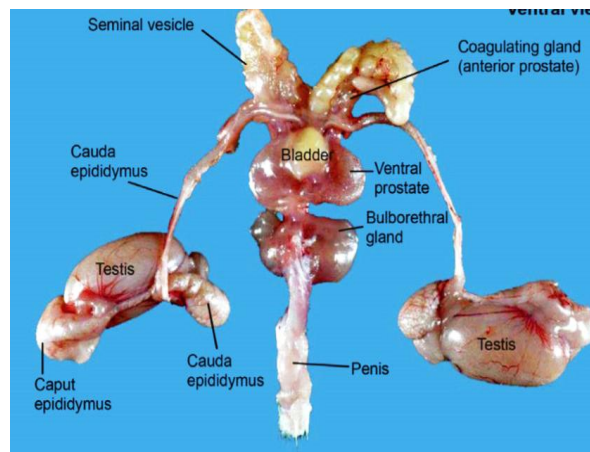


Figure 01: Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du rat (Knoblaugh et al., 2018).

I.1.1. Les testicules et les tubules séminifères :

I.1.1.1. Les testicules :

L'appareil reproducteur est formé à partir de la crête urogénitale où les testicules se développent dans la paroi dorsale de la cavité abdominale (Whitney et al., 2018). Les testicules appariés produisent des gamètes mâles appelés spermatozoïdes (Chawla et Jena, 2021; Knoblaugh et al., 2018). Le testicule contient trois types principaux de cellules : la cellule germinale, qui produit les gamètes mâles fonctionnels, et deux types de cellules somatiques, la cellule de Sertoli et les cellules interstitielles (Leydig). La cellule germinale primordiale du testicule se développe à partir de l'endoderme du sac vitellin et migre vers la crête génitale. Les cellules de Sertoli peuvent être dérivées de l'épithélium coelomique ou des cellules mésenchymateuses de la crête génitale, tandis que les cellules interstitielles peuvent se développer à partir de cellules myofibroblastiques du mésenchyme (Whitney et al., 2018).

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

Les cellules stromales synthétisent et sécrètent des hormones telles que la testostérone. Les testicules du mâle se trouvent dans deux sacs scrotaux distincts à paroi mince, à l'intérieur du scrotum, plusieurs branches épидидymaires sont dérivées de l'artère spermatique interne pour assurer l'approvisionnement en sang des testicules et de l'épididyme (Crisler et al., 2020). Les testicules situés entre l'anus et le prépuce. Ils descendent entre le 30^{ème} et le 40^{ème} jour de vie et peuvent se déplacer entre les sacs scrotaux et la cavité abdominale tout au long de la vie par le canal inguinal (Chawla et Jena, 2021; Crisler et al., 2020; Knoblaugh et al., 2018; Hofstetter et al., 2006) .

I.1.1.2. Les tubules séminifères :

Le parenchyme testiculaire est composé de tubules séminifères convolutés séparés par du tissu interstitiel et enfermés dans une capsule qui comporte trois couches : la tunique vaginale externe (en continuité avec le péritoine viscéral), la tunique albuginée moyenne (qui contient du collagène) et des cellules musculaires lisses ou des myofibroblastes. Et la couche la plus interne, la tunique vasculaire (qui contient des vaisseaux sanguins enchâssés dans le tissu interstitiel) (Creasy, 2012). Les tubules séminifères sont le lieu principal de la germination, de la maturation et du transport des spermatozoïdes à travers les tubuli recti menant au rete testis et plus loin à la tête de l'épididyme (Chawla et Jena, 2021).

I.1.2. Les conduits excréteurs :

Les canaux situés en dehors des testicules, tels que les canaux efférents, l'épididyme et le canal déférent, ainsi que les glandes sexuelles accessoires, telles que la prostate, les vésicules séminales, les glandes bulbo-urétrales, les glandes ampullaires et les glandes préputiales, se trouvent en compagnie de l'urètre et du pénis (Chawla et Jena, 2021).

I.1.2.1. Les canaux efférents :

Les canaux efférents sont situés dans la graisse de l'épididyme et comprennent 6 à 15 tubules dotés d'une fine enveloppe musculaire lisse (Whitney et al., 2018). Les canaux efférents recueillent et stockent les spermatozoïdes et les conduisent du rete testis à la tête de l'épididyme. Les rats possèdent généralement 6 à 9 canaux (Knoblaugh et al., 2018).

I.1.2.2. Le rete testis :

Le rete testis est une structure intratesticulaire dilatée située directement sous la tunique albuginée au pôle crânial du testicule. Il est également proche de l'alimentation artérielle du

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

testicule qui provient de l'artère testiculaire. L'artère testiculaire est convolutive et est entourée par le plexus pampiniforme veineux pour les échanges thermiques (**Knoblauch et al., 2018**).

I.1.2.3. L'épididymes :

L'épididyme est identifié comme étant plus qu'un conduit pour les spermatozoïdes, avec des fonctions essentielles contribuant au développement complet des spermatozoïdes viables (**Whitney et al., 2018**). L'épididyme se compose de trois sections : l'épididyme capsulaire élargi situé à l'extrémité proximale du testicule et presque entièrement noyé dans la graisse, l'épididyme corpus mince situé le long de la face dorsomédiane du testicule et l'épididyme cauda situé au pôle distal. La cauda épididyme se dédouble sur elle-même et se développe distalement dans le canal déférent (**Crisler et al., 2020**). Toutefois, sur la base de caractéristiques fonctionnelles, l'épididyme peut être subdivisé en plusieurs segments. Les cellules principales sont de grandes cellules cylindriques ayant des activités d'absorption et de sécrétion et représentent la majorité des cellules de l'épithélium tubulaire (**Whitney et al., 2018**). La principale fonction de l'épididyme est l'accumulation, la maturation finale et le stockage des spermatozoïdes matures (**Knoblauch et al., 2018**).

I.1.2.4. Le canal déférent :

Le canal déférent alimenté par les vaisseaux sanguins déférents traverse le canal inguinal en direction proximale et croise l'uretère pour se jeter dans cette dernière. La glande du canal déférent entoure le canal près de son ouverture dans l'urètre. Les glandes ampullaires proviennent des ampoules du canal déférent (**Whitney et al., 2018**). Le canal déférent remonte dans le cordon spermatique via le canal inguinal et traverse la paroi du bassin pour atteindre l'urètre juste en dessous de la vessie (**Maynard et Downes, 2019**).

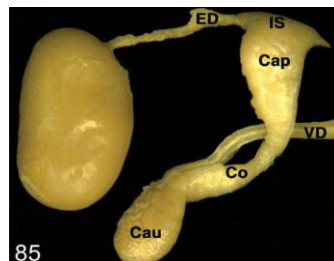


Figure 02 : Canaux efférents et épидидyme de rat. Anatomie normale. Conduits efférents (CE), segment initial (SI), Caput (Cap), Corpus (Co), Cauda (Cau), canal déférent (CD).

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

I.1.2.5. L'urètre (canal uro-génital) :

Est un canal étrange qui s'étend de la vessie à l'orifice urétral externe, il est responsable de l'excrétion du sperme et de l'urine (Knoblauch et al., 2018) L'urètre n'est pas un simple tube mais plutôt aplati dorso-ventralement et possède des cornes dorso-latérales et ventro-latérales, ainsi que de petites glandes urétrales (Maynard et Downes, 2019).

L'urètre masculin, d'une longueur d'environ 20 cm, est subdivisé en deux parties : l'urètre pelvien avec les parties prostatiques et membraneuses, et l'urètre pénien qui comprend la partie bulbair (Pradidarcheep et al., 2011).

I.1.3. Les glandes annexes :

Le rat possède cinq paires de glandes sexuelles annexes situées dans le pelvis et autour de la vessie : il s'agit des glandes du canal déférent (glandes ampullaires), une paire de grandes glandes vésiculaires convolutées (les vésicules séminales), une paire de glandes coagulantes (considérée comme une partie de la prostate), une paire de glandes bulbo-urétrales (glandes de Cowper) et les glandes préputiales du pénis (Crisler et al., 2020; Maynard et Downes, 2019; Whitney et Suttie, 2018; Hofstetter et al., 2006). Ces glandes fournissent la majeure partie du contenu fluide de l'éjaculat, ce fluide coagule et forme un bouchon vaginal qui scelle l'appareil reproducteur de la femelle après la copulation (Crisler et al., 2020 ; Maynard et Downes, 2019; Whitney et al., 2018; Hofstetter et al., 2006)

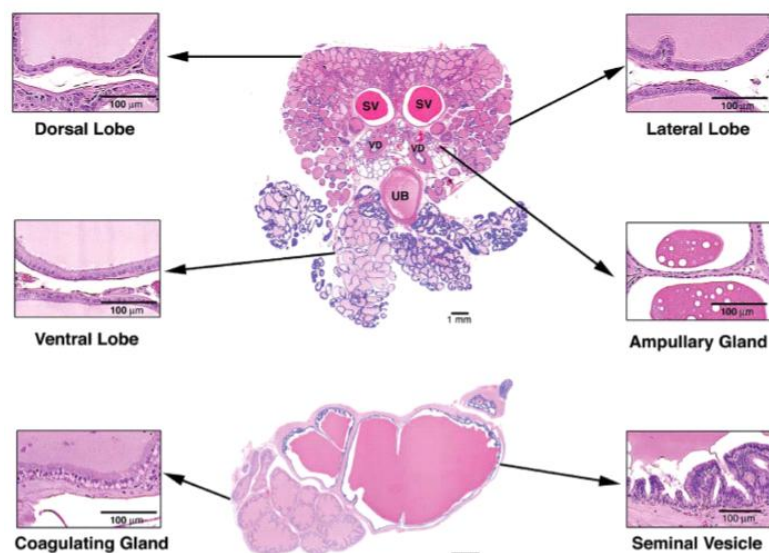


Figure 03 : Coupes histologiques des glandes annexes

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

I.1.3.1. Les glandes ampullaires (glandes du canal déférent) :

Des hypertrophies glandulaires proviennent des ampoules du canal déférent et encerclent presque le canal déférent chez le rat. Des portions de ces glandes peuvent être visibles dans la section transversale recommandée des glandes prostatiques, mais elles ne sont généralement pas désignées pour être évaluées dans les études toxicologiques et aucune modification de ce tissu lié au traitement n'est reconnue (**Whitney et al., 2018**).

I.1.3.2. Les vésicules séminales (glandes vésiculaires) :

Les vésicules séminales sont des structures paires allongées en forme de sac, situées dorso-latéralement à la vessie et en contact avec la surface ventrale du côlon (**Whitney et al., 2018**). Chaque glande mesure 17 à 25mm de long, les extrémités antérieures étant dirigées caudalement (**Knoblaugh et al., 2018 ; Whitney et al., 2018**). La surface concave de la vésicule séminale est attachée à la glande coagulante. Les vésicules séminales et les glandes coagulantes sont importantes pour la fertilité chez le rat. Ces deux organes sécrètent des fluides qui sont nécessaires à la formation appropriée d'un bouchon vaginal (**Crisler et al., 2020**). L'unique canal excréteur de chaque vésicule séminale est dorsal par rapport au canal déférent et se déverse dans l'ampoule. Le terme de vésicule séminale a été utilisé à l'origine parce qu'on pensait que ces glandes stockaient les spermatozoïdes.

I.1.3.3. Les glandes coagulantes (glande dorso-crânial ou prostatique antérieure) :

La glande coagulante est dérivée de la prostate et est parfois appelée prostate dorsocrânienne, crânienne ou antérieure. Elle comprend 5 à 6 structures tubulaires, qui sont adjacentes et parallèles à la vésicule séminale et sont souvent incluses dans les sections de la vésicule séminale. Les acini de la glande coagulante sont tapissés d'un épithélium colonnaire qui est disposé en projections papillaires ramifiées, avec une lumière contenant un matériel éosinophile et protéique similaire à celui observé dans la prostate dorsale (**Creasy, 2012**).

I.1.3.4. Les glandes bulbo-urétrales (Glandes de Cowper) :

Les glandes bulbo-urétrales jumelées sont enchâssées dans le tissu conjonctif entre les muscles ischiocaverneux et bulbocaverneux (**Whitney et al., 2018**) et aussi ce sont des glandes tubulo-alvéolaires composées et appariées qui sécrètent une substance mucoïde dans l'urètre pénien. Les glandes bulbo-urétrales sécrètent une petite quantité de fluide clair et visqueux qui est sécrété par les glandes bulbo-urétrales chez les rongeurs immédiatement

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

avant l'éjaculation du sperme, pour débarrasser l'urètre de l'urine et assurer la lubrification (Creasy et al., 2012).

I.1.3.5. Les glandes préputiales :

Les glandes préputiales (mâles) sont des glandes sébacées qui se trouvent dans le sous-cutané caudal, juste à côté de la base du pénis. Ils sont grands, aplatis, de couleur jaunes pâles. Leurs sécrétions confèrent l'odeur typique de l'urine des souris mâles et servent de marqueur territorial (Pradidarcheep et al., 2011 et Knoblaugh et al., 2018). Chaque glande mesure jusqu'à 20 mm de long et 5 à 8 mm de large chez le rat sexuellement mature et pèse ~70 à 150 mg les rats plus âgés (Knoblaugh et al., 2018).

I.1.3.6. La prostate :

La prostate du rat est constituée de trois lobes appariés : le ventral, le dorso-latéral et l'antérieur. Les deux lobes ventraux sont bien visibles à l'œil nu, ils se trouvent le long de la surface ventro-latérale de la vessie urinaire. Les lobes dorso-latéraux s'enroulent autour de l'extrémité proximale de l'urètre et entourent les canaux excréteurs des vésicules séminales et de la glande coagulante à l'extrémité du canal déférent. Le lobe dorso-latéral contient 50 conduits qui s'ouvrent dans l'urètre prostatique (Knoblaugh et al., 2018 ; Whitney et al., 2018).

I.1.3.6.1. La prostate ventrale :

Prostate ventrale constituée d'acini ou d'alvéoles serrés, entourés de muscles lisses et tapissés d'une seule couche de cellules épithéliales colonnaires hautes, avec des zones claires supranucléaires et des sécrétions rose pâle (Knoblaugh et al., 2018).

I.1.3.6.2. La prostate dorsolatérale :

La partie dorsale est tapissée d'un épithélium cylindrique cuboïdal à large avec des bulles cytoplasmiques et des sécrétions de coloration intermédiaire. La partie latérale est tapissée d'un épithélium cuboïdal à grand cylindrique avec une bordure en brosse distincte et des sécrétions éosinophiles profondes (Knoblaugh et al., 2018).

I.1.4. Le pénis :

Le pénis se compose de la racine, du corps et du gland recouvert sur sa surface par de la peau. Chez les rongeurs adultes, le corps proximal et le gland distal se rejoignent en formant un

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

coude à angle droit. Le pénis des rongeurs est recouvert d'un prépuce et est composé de la partie pénienne ou distale de l'urètre, du tissu érectile vasculaire (les cavernes du corps caverneux et du corps spongieux) et de l'orifice du pénis. Contrairement à l'homme, les rongeurs ont un pénis osseux qui est situé proximale et se termine distalement par l'extrémité du gland sous la forme de la protubérance urogénitale mâle composée de tissu fibrocartilagineux (Knoblauch *et al.*, 2018).

I.2. La spermatogénèse :

Le processus de production des spermatozoïdes dans les testicules est appelé spermatogénèse. Les spermatozoïdes des rongeurs sont plus longs que ceux des autres espèces de mammifères, y compris l'homme et les animaux domestiques courants (Setchell, 1984), et mesurent environ 150 à 200 µm de long chez le rat. Ce processus comporte trois étapes distinctes : la prolifération des spermatogonies, la réduction du nombre de chromosomes (méiose) et le développement de la structure du sperme mature.

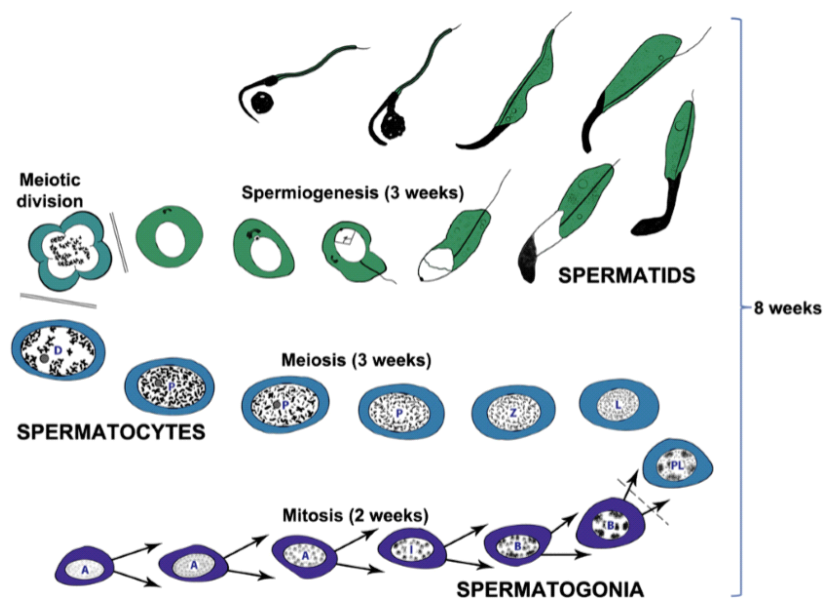


Figure 04 : Représentation schématique de la spermatogénèse chez le rat (Dianne *et al.*, 2013).

La spermatogénèse implique de multiples divisions mitotiques des spermatogonies, en commençant par : les spermatogonies de type A (noyaux à coloration pâle avec une chromatine fine) en passant par les spermatogonies intermédiaires (I), et en finissant par les spermatogonies de type B (noyaux à coloration plus foncée avec des amas périphériques de chromatine). La division des spermatogonies B produit le spermatocyte qui subit une

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

prophase méiotique où la réplication de l'ADN pour produire une cellule tétraploïde. Celle-ci comprend le préleptotène (PL), le leptotène (L), le zygotène (Z), une longue phase de pachytène (P) qui peut être divisée en précoce, moyenne et tardive. Cette phase est suivie du diplotène/diakinesis (D), puis de deux divisions réductrices, la première produisant des spermatocytes secondaires diploïdes et la seconde produisant la spermatide haploïde. La spermatide subit alors une transformation morphologique, passant d'une cellule ronde régulière à un spermatozoïde avec une tête allongée constituée de chromatine condensée et une queue comprenant une flagellum entourée de mitochondries. La transformation a été divisée en 19 étapes de spermiogenèse basées sur le développement de l'acrosome et la forme de la spermatide en développement (seules quelques-unes sont illustrées ici). Chez le rat, le processus dure environ 8 semaines (Creasy, 2013).

I.3. Le spermatozoïde :

Les spermatozoïdes de rat et de souris ont une tête falciforme qui se compose de quatre parties principales : le noyau, le système acrosomique, la thèque périnucléaire et la membrane plasmique. Le noyau occupe la majeure partie du volume de la tête et contient le génome haploïde emballé étroitement avec des protamines (Lin et al., 2013). Les spermatozoïdes se déplacent du testicule, via l'épididyme jusqu'au canal déférent, qui les transporte jusqu'à l'urètre, puis pendant la copulation via le pénis, jusqu'au rat femelle (Maynard et Downes, 2019).

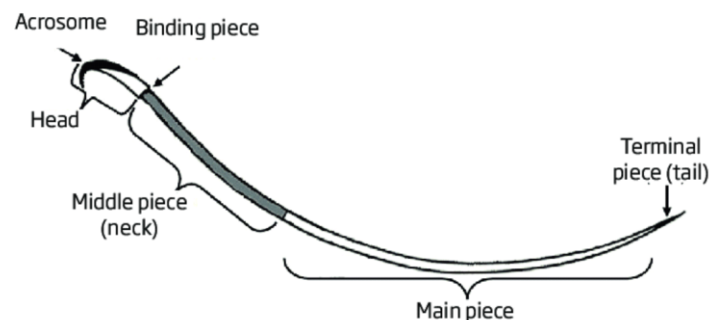


Figure 05 : Représentation schématique d'un spermatozoïde de rat (Edith et Gisela, 2019).

I.4. La testostérone :

Les cellules de Leydig des testicules sont le siège de la production et de la sécrétion de l'hormone testostérone qui, par son action directe et celle de ses métabolites, la dihydrotestostérone et l'estradiol, crée le milieu hormonal nécessaire au développement et à la

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

fonction sexuels normaux de l'homme et aux effets médiés par les androgènes et les estrogènes sur les organes cibles essentiels tels que le cerveau, les os, les muscles, le foie, la peau, la moelle osseuse et les systèmes immunitaires. La testostérone chez l'homme normal et le rat mâle inhibe également la sécrétion de **(Ronald et al., 2002)**. Les rats mâles libèrent de la testostérone de façon réflexive lorsqu'ils sentent une odeur (libération anticipée) ou s'accouplent (libération éjaculatoire) avec une nouvelle femelle réceptive, cette libération de testostérone s'ajoute aux poussées normales de "libération spontanée" qui se produisent tout au long de la journée **(Shulman et Spritzer, 2014)**.

La testostérone a une double action. Premièrement, la testostérone agit au niveau de l'hypothalamus, en diminuant directement la libération de GnRH. Deuxièmement, la testostérone agit directement sur l'hypophyse antérieure pour diminuer la réponse des cellules sécrétrices de LH à la GnRH. La testostérone est synthétisée dans les cellules de Leydig du compartiment interstitiel du testicule par une séquence enzymatique à partir du cholestérol. Le cholestérol est principalement synthétisé de novo à partir de l'acétate. Cependant, il peut également être formé à partir de cholestérol préexistant, provenant soit des réserves intracellulaires d'esters de cholestérol, soit des lipoprotéines de basse densité circulantes extracellulaires **(Ahmad et al., 2015 ; Shulman et Spritzer, 2014)**.

I.5. La régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique :

La capacité de reproduction est essentielle à la survie des espèces. Chez l'homme et les autres vertébrés supérieurs, cette fonction essentielle est régulée par l'action endocrinienne coordonnée de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HHG). La sécrétion de l'hormone de libération de la gonadotrophine (GnRH) par une petite population de neurones hypothalamiques spécialisés (<2000) initie l'activité neuroendocrine de l'axe HHG. La GnRH est sécrétée de manière impulsive, c'est-à-dire qu'elle est libérée en salves discrètes à partir de l'éminence médiane dans le système porte de l'hypophyse (le réseau de vaisseaux reliant l'hypothalamus à l'hypophyse antérieure) **(Dwyer et Quinton, 2019)**.

Une fois que la GnRH est transmise à l'hypophyse antérieure (adénohypophyse), elle stimule pour qu'elles sécrètent l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Ces deux hormones sont collectivement appelées gonadotrophines. Alors que la GnRH a une demi-vie très courte et ne peut pas encore être mesurée en dehors de la circulation portale hypophysaire, la LH et la FSH pénètrent dans la circulation périphérique **(Dwyer et Quinton, 2019 ; Shulman et Spritzer, 2014)**.

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

La LH et la FSH sont libérées dans la circulation systémique et transportées vers le testicule . La LH se lie à des récepteurs spécifiques de haute affinité (récepteur de l'hormone lutéinisante/gonadotrophine chorionique) à la surface des cellules de Leydig testiculaires et stimule la stéroïdogénèse de la testostérone. La FSH agit par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique couplé à la protéine G (FSHR) présent dans les cellules de Sertoli. La stimulation de la FSH entraîne également la libération d'inhibine B par les cellules de Sertoli, qui agit également au niveau du cerveau pour contrôler la sécrétion de FSH dans une boucle de rétroaction négative. Ensemble, ces hormones apportent un soutien homéostatique au développement des cellules germinales, avec la possibilité d'améliorer ce soutien en réponse à des déficit physiologiques (Mitchell et al., 2017). Sa liaison active au moins cinq voies de signalisation intracellulaires différentes et entraîne la transcription de gènes qui stimulent et soutiennent la stéroïdogénèse (Mitchell et al., 2017).

La testostérone se lie au récepteur des androgènes dans les cellules somatiques du testicule pour moduler l'expression des gènes nécessaires au soutien de la spermatogenèse (Mitchell et al., 2017). La Globuline liée aux hormones sexuelles (SHBG) produite par les testicules est également appelée protéine de liaison aux androgènes (ABP). L'ABP se lie spécifiquement à la testostérone ou à la dihydrotestostérone, les rendant moins lipophiles et plus concentrées dans les tubules séminifères. Des niveaux élevés d'ABP sont essentiels pour maintenir le microenvironnement et permettre la spermatogenèse dans les tubules séminifères et la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme (Ma et al., 2015).

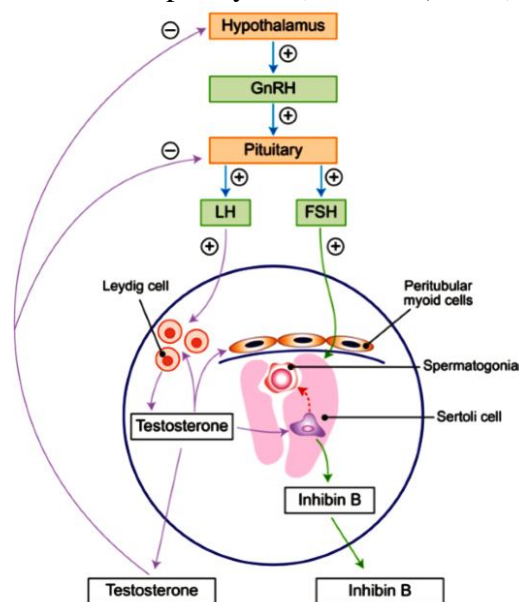


Figure 06 : Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique de rat mâle (Mitchell et al., 2017).

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

I.6. La description du comportement sexuel du rat mâle :

Les rats mâles débutent généralement un rapport sexuel en examinant la face et la partie anogénitale de la femelle (**Hull et Dominguez, 2007**).

Le comportement sexuel des rats mâles consiste en une phase d'anticipation au cours de laquelle le mâle recherche une femelle réceptive, suivie d'une phase d'initiation au cours de laquelle le mâle et la femelle s'observent mutuellement. À la fin de la phase d'initiation, les rats commencent à copuler. Les comportements des femelles, notamment la stimulation sexuelle, la réceptivité et l'apparition du réflexe de lordose, influencent la phase d'initiation et la performance copulatoire, car la lordose permet l'intromission. La copulation comprend des schémas moteurs spécifiques hautement stéréotypés, notamment la montée, l'intromission et l'éjaculation (**Bialy et al., 2019**).

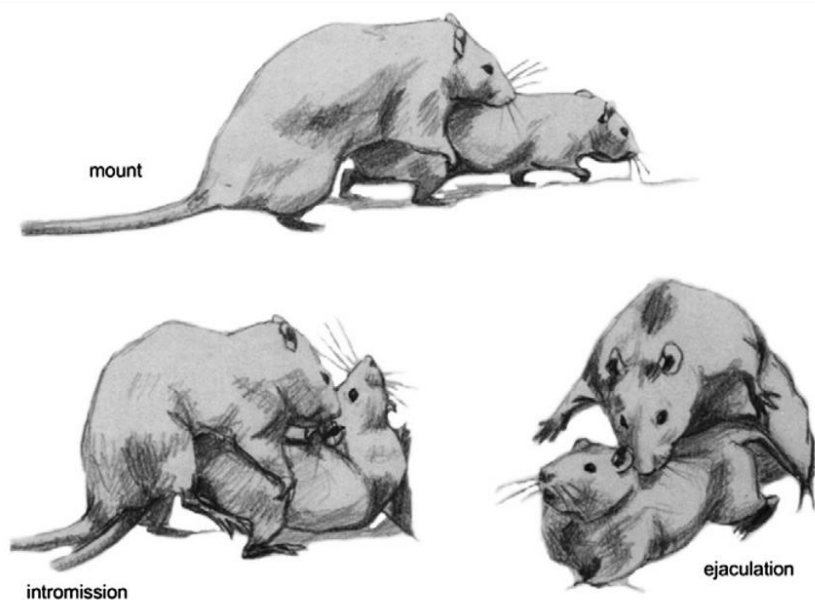


Figure 07 : Les actes copulatoires des rats mâles : montée, intromission et éjaculation (**Eelk et al., 2013**).

La montée est un schéma dans lequel le mâle soulève son avant-corps au-dessus de l'arrière-corps de la femelle, en saisissant ses flancs avec ses pattes avant, et commence une série de mouvements rapides et peu profonds du bassin. Lorsque le gland du pénis détecte le vagin, le mâle peut procéder à une érection rapide, avec une poussée intravaginale plus profonde, suivie d'une descente immédiate (**Bialy et al., 2019**).

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

Les intromissions sont caractérisées par des montées incluant une poussée pelvienne. Les femelles répondent à ce comportement masculin par un comportement réceptif (lordose). Après une série de montées et d'intromissions, l'éjaculation (la phase exécutive) est atteinte. L'éjaculation se compose de deux éléments, les émissions (sécrétion et déplacement des fluides séminaux vers l'urètre) et l'expulsion (éjection forcée du contenu de l'urètre). Chez les rats, 10 à 20 intromissions sont généralement nécessaires au cours d'un cycle d'éjaculation (environ 2-10 min) pour parvenir à l'éjaculation. Après une éjaculation, les "rats" mâles se reposent pendant ± 5 min (ce que l'on appelle l'intervalle post-éjaculatoire ou IPE), avant que le cycle d'éjaculation suivant ne commence (**Eelke et al., 2014**).

I.6.1. Les régions cérébrales impliquées dans le comportement sexuel :

De nombreuses zones du cerveau participent au contrôle du comportement sexuel masculin, variant entre les parties lombo-sacrées de la moelle épinière et une diversité de zones limbaires de la moelle épinière des régions limbiques et corticales du cerveau. Les activités d'introduction (précopulatoires) telles que l'investigation anogénitale induisent une activité neuronale dans des zones cérébrales spécifiques du système limbique. Par exemple, la partie postéro-médiale du noyau du lit de la strie terminale (BNSTpm), la partie postéro-dorsale de l'amygdale médiale (MeApd) et le noyau préoptique médial (MPN) sont tous activés. Dans la phase copulatoire, des zones cérébrales supplémentaires et plus intensément activées deviennent visibles, en particulier le noyau préoptique médian (MPN), le MeApd médian et la partie caudo-dorsale du BNSTpm. Alors que l'investigation anogénitale active les neurones de la partie médiane du MeApd, une partie latérale spécifique du MeApd est activée après l'éjaculation. Une activation similaire de sous-régions particulières en fonction de la phase sexuelle se produit également dans le BNSTpm et le MPN. Cette dernière région cérébrale est étroitement liée à d'autres régions liées à l'éjaculation, comme le noyau subparafasciculaire parvocellulaire (SPFp) dans le thalamus caudal, le BNSTpm et le MeAp. Le MPN joue un rôle important dans la régulation de l'éjaculation et de l'intervalle post-éjaculatoire (**Eelke et al., 2014**).

L'éjaculation est assurée par un centre de contrôle spinal, également appelé générateur d'éjaculation spinal, qui coordonne les flux de sortie sympathiques, parasympathiques et moteurs avec les entrées du système nerveux central. Des flux de sortie sympathique, parasympathique et moteur avec les entrées des organes génitaux pour déclencher l'éjaculation (**Eelke et al., 2014**).

Chapitre I : Le système reproducteur mâle chez le rat

I.6.2. Les neurotransmetteurs impliqués dans le comportement sexuel :

I.6.2.1. La dopamine :

La dopamine est un neurotransmetteur qui joue de nombreux rôles clés dans le cerveau et le système nerveux. En général, la dopamine est impliquée dans les comportements motivants et gratifiants. Lorsque la dopamine est libérée dans la synapse, elle se lie aux récepteurs de la dopamine tels que D1, D2, D3, D4 et D5. Ces récepteurs fonctionnent comme des récepteurs couplés aux protéines G, qui jouent un rôle clé dans l'activation des réponses cellulaires. L'activité sexuelle est associée à des comportements de motivation et de récompense. La dopamine influe sur la nature gratifiante du comportement sexuel. Les récepteurs de la dopamine jouent un rôle important dans les comportements sexuels des rats mâles. La dopamine affecte l'aspect motivationnel du comportement sexuel. Chez les rats mâles et femelles, l'augmentation des niveaux de dopamine est liée à la motivation sexuelle. **(Karabaşoğlu et Erbaş, 2021).**

I.6.2.2. La sérotonine :

La sérotonine (5-HT) est un neurotransmetteur qui joue un rôle important dans la régulation de divers processus et comportements psychologiques tels que la régulation de l'humeur, la récompense et l'apprentissage. La sérotonine est libérée dans l'hypothalamus latéral. Le système sérotoninergique affecte le comportement sexuel et ce système est lié à un certain nombre de troubles sexuels. Le comportement sexuel des rats est organisé par zones cérébrales. La sérotonine et ses récepteurs jouent un rôle important dans ces voies neurochimiques **(Karabaşoğlu et Erbaş, 2021).**

I.6.2.3. L'ocytocine:

L'ocytocine(OCT) est un neuropeptide et une hormone peptidique qui joue un rôle dans les liens sociaux, l'apprentissage et la production de lait. L'OCT est souvent appelée "hormone de l'amour". Elle est générée dans l'hypothalamus et sa synthèse est régulée par les stéroïdes gonadiques tels que la progestérone et la testostérone. L'OCT est un neurotransmetteur qui joue un rôle dans les processus du système nerveux central ainsi que dans les activités sexuelles des rats, comme la stimulation des organes reproducteurs **(Karabaşoğlu et Erbaş, 2021).**

Chapitre II : Le diabète

Chapitre II : Le diabète

II.1. Définition de Diabète :

Le diabète est une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie qui résulte souvent d'un déficit absolu ou relatif de la sécrétion d'insuline et/ou de l'action de l'insuline dans les cellules bêta du pancréas (**Vlad et Popa, 2016**). Selon un rapport de la Fédération internationale du diabète, 382 millions de personnes étaient touchées par le diabète dans le monde en 2013, et la prévalence du diabète devrait atteindre 522 millions d'ici 2030 (**Guariguata et al., 2014**). Les anomalies du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines observées dans le diabète sont dues à une action insuffisante de l'insuline sur les tissus cibles (**Guang-Jiang et al., 2017 ; Maria et al., 2009**). Les critères diagnostiques du diabète sont fondés sur les seuils de glycémie associés aux maladies microvasculaires, la rétinopathie en particulier et aujourd'hui il a été démontré que certains sujets masculins diabétiques présentent des complications d'infertilité (**Sona et al., 2020 ; Zubin et al., 2018**).

II.2. Classification du diabète :

La grande majorité des patients souffrant du diabète se répartissent en deux grandes catégories: le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Le diabète de type 1, qui représente 5 à 10 % de l'ensemble des patients diabétiques, se caractérise par un déficit absolu de la sécrétion d'insuline. En revanche, le diabète de type 2 est une catégorie plus répandue (90 à 95 % des personnes atteintes de diabète) et se caractérise par une combinaison de résistance à l'action de l'insuline et d'une réponse insulino-sécrétoire compensatoire inadéquate. Le diabète gestationnel est défini comme un diabète diagnostiqué au cours du deuxième ou du troisième trimestre de la grossesse, qui n'est pas clairement un diabète préexistant de type 1 ou de type 2, sa principale anomalie physiopathologique sous-jacente est la résistance à l'insuline. D'autres types spécifiques de diabète sont associés à des anomalies génétiques de la fonction des cellules β du pancréas, à des anomalies génétiques de la résistance à l'insuline (**Eleni et al., 2018**).

II.2.1. Diabète de type 1 :

II.2.1.1. Définition :

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune chronique caractérisée par une augmentation de la glycémie (hyperglycémie), due à une carence en insuline consécutive à la perte des cellules β des îlots pancréatiques et aussi est une maladie endocrinienne et métabolique la plus courante de l'enfance (**Atkinson et al., 2014**). Chez la grande majorité

Chapitre II : Le diabète

des patients (70 à 90%), la perte des cellules β est la conséquence d'une auto-immunité liée au DT1 (concomitante à la formation d'auto-anticorps associés au DT1) (Anastasia et al., 2017).

II.2.1.2. Etiologie :

Le diabète de type 1 s'explique notamment par l'absence d'un mode de transmission unique, la présence d'une période d'auto-immunité intracellulaire subclinique précédant l'apparition clinique de la maladie, les gènes HLA (human leukocyte antigen) qui contrôlent la réponse immunitaire, ainsi que les variations liées à l'âge et à la saison (Delli et Lernmark, 2016). Les personnes atteintes de diabète sont particulièrement sensibles aux risques sanitaires liés au changement climatique, tels que la chaleur, la pollution atmosphérique, les conditions météorologiques extrêmes et certaines maladies infectieuses (Ratter, 2023). Il reste à identifier un facteur étiologique défini, endogène ou exogène, capable de causer le DT1.

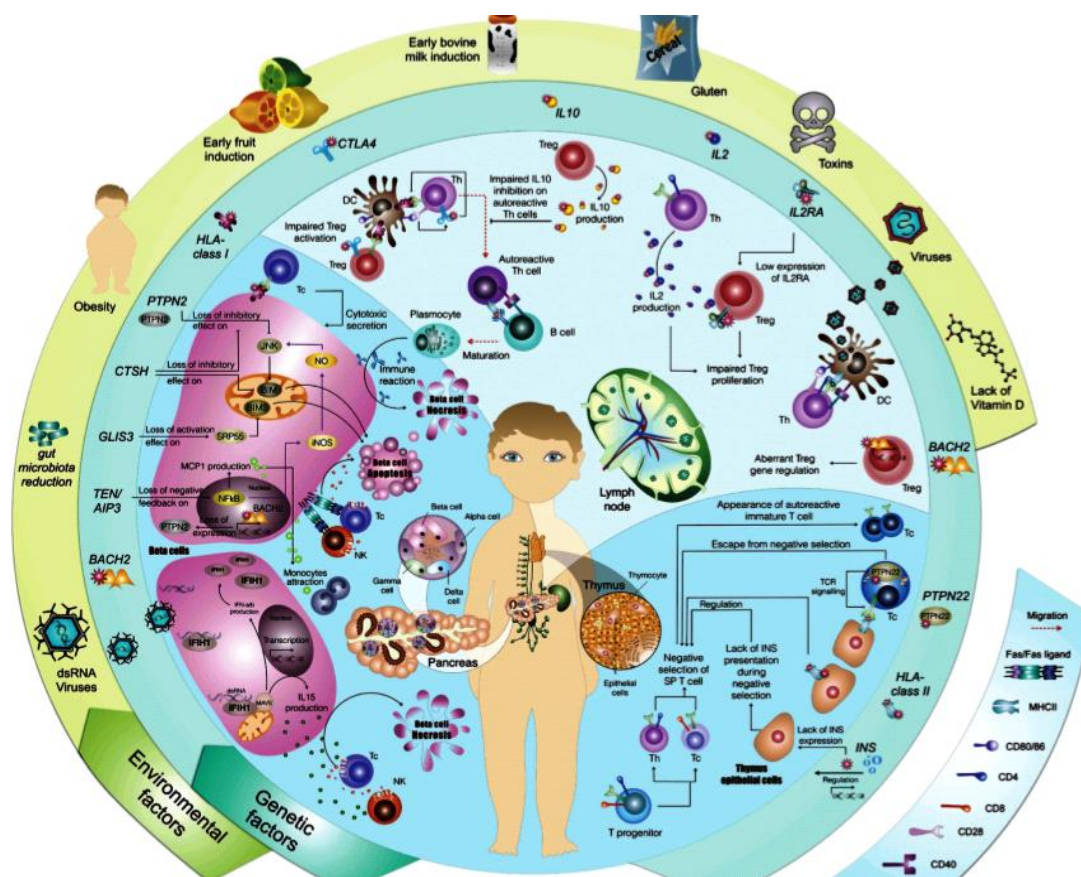


Figure 08 : Etiologie génétiques, immunologiques et environnementales du diabète de type 1 (DT1) (Bahar et al., 2018) .

Chapitre II : Le diabète

Le cercle extérieur présente des étiologies environnementales les plus importantes du DT1 et le cercle intérieur présente des étiologies génétiques les plus importantes. Le cercle central montre les mécanismes d'action connus de chaque facteur génétique ou environnemental. La partie inférieure gauche du cercle montre le mécanisme d'action du virus d'ARNdb, de TEN/AIPS (Facteur d'augmentation de la transcription TEF-5), de GLIS3 (GLI-similaire 3), de CTSH (Cathepsine H), de PTPN2 (Protéine tyrosine phosphatase non réceptrice de type 2) et de HLA classe 1 au niveau cellulaire dans le micro-environnement du pancréas, qui conduit à la nécrose ou à l'apoptose des cellules bêta des îlots de Langerhans. La partie supérieure du cercle montre les mécanismes d'action de CTLA4 (protéine 4 associée aux lymphocytes T cytotoxiques), IL10 (interleukine 10), IL2 (interleukine 2), IL2RA (récepteur alpha de l'interleukine 2), BACH2 et du virus dans le ganglion lymphatique. La partie inférieure droite du cercle montre les mécanismes d'action du PTPN22 (protéine tyrosine phosphatase non réceptrice de type 22), de la classe HLA2 et de l'insuline qui ont lieu dans le thymus (**Bahar et al., 2018**).

II.2.1.3. Symptômes et signes :

On dit que le DT1 comporte quatre phases cliniques majeures : le diabète préclinique, le diabète déclaré, la phase de rémission partielle et la phase chronique de dépendance à vie à l'égard de l'insuline injectée (**Couper et Donaghue, 2007**).

- **La perte de poids** : peut survenir parce que l'organisme est incapable d'utiliser le glucose comme source d'énergie en raison d'un manque d'insuline, et qu'il commence alors à dégrader les graisses et les tissus musculaires (**Baynes, 2015**).

- **La polyurie (miction fréquente) et la polydipsie (soif excessive)** : sont dues au fait que l'organisme tente de se débarrasser de l'excès de glucose dans le sang en l'excrétant dans l'urine, ce qui entraîne également une perte de fluides et une déshydratation de l'organisme (**Baynes, 2015**).

- **La constipation, la fatigue et les crampes** : peuvent également être associées au diabète, bien qu'il s'agisse de symptômes moins spécifiques (**Baynes, 2015**).

- **Une vision floue** : peut se produire lorsque l'hyperglycémie provoque un gonflement du cristallin, ce qui affecte la capacité à faire la mise au point (**Baynes, 2015**).

Chapitre II : Le diabète

- **Les candidoses (infections à levures)** : peuvent survenir chez les hommes et les femmes atteints de diabète en raison des niveaux élevés de glucose dans le corps, pouvant favoriser la croissance des levures (**Baynes, 2015**).

II.2.1.4. Physiopathologie du diabète type 1 :

Le diabète de type 1 (DT1) se caractérise par la destruction auto-immune des cellules productrices d'insuline dans le pancréas par des cellules T CD4⁺ et T CD8⁺ et des macrophages infiltrant les îlots de Langerhans. Plusieurs caractéristiques font du diabète de type 1 une maladie auto-immune (**Hussain et Vincent, 2007**). Le (DT1) se caractérise par la présence de cellules immunocompétentes et accessoires au niveau des îlots pancréatiques. La sensibilité à la maladie est associée aux gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II, tels que les antigènes leucocytaires humains (HLA), qui jouent un rôle dans la réponse immunitaire. Des altérations de l'immuno-régulation, en particulier des cellules T CD4⁺, sont observées dans le DT1, de même que l'implication des monokines et des cellules TH1 productrices d'interleukines dans le processus de la maladie. L'immunothérapie est l'une des approches qui a été utilisée pour moduler la réponse immunitaire dans le diabète de type 1. En outre, les personnes atteintes de DT1 sont souvent prédisposées à développer d'autres maladies auto-immunes spécifiques d'organes, ce qui souligne une prédisposition génétique commune à ces pathologies. Chez environ 85 % des patients atteints de diabète de type 1 (DT1), des anticorps circulants dirigés contre les cellules des îlots de Langerhans ciblent principalement la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD) dans les cellules B du pancréas (**Raju et al., 2010**). Cette destruction auto-immune des cellules β pancréatiques provoque une carence en insuline, à l'origine des anomalies métaboliques du DT1. De plus, la fonction des cellules α pancréatiques est perturbée, provoquant une sécrétion excessive de glucagon qui reste incontrôlée par l'hyperglycémie chez les patients atteints de DT1. La carence en insuline entraîne une lipolyse incontrôlée et des niveaux élevés d'acides gras libres dans le plasma, supprimant le métabolisme du glucose dans les tissus périphériques comme le muscle squelettique, cela nuit à l'utilisation du glucose, la carence en insuline réduit l'expression des gènes nécessaires à la réponse normale à l'insuline dans les tissus cibles, tels que la glucokinase dans le foie et les transporteurs de glucose GLUT 4 dans le tissu adipeux. Ces perturbations du métabolisme du glucose, des lipides et des protéines sont les principales conséquences de la carence en insuline dans le DT1 (**Holt, 2004**).

Chapitre II : Le diabète

II.2.1.5. Stress oxydatif et diabète type 1 :

Au cours de la réponse immunitaire, l'activation de phagocytes (incluant macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques), conduit à la synthèse de ROS dans le but d'éliminer les pathogènes. En effet, les enzymes participant à la défense immunitaire peuvent aussi contribuer à la production de ROS. En considérant, les faibles défenses antioxydantes présentes dans les cellules bêta, ce mécanisme peut contribuer aux dommages oxydatifs. La première ligne de défense des cellules face au stress oxydant est représenté par les enzymes antioxydantes : La catalase, la superoxyde dismutase à cuivre/zinc (Cu/Zn SOD) et la glutathion peroxydase. Or, les cellules bêta pancréatiques n'en possèdent que très peu ou pas, ce qui les rend particulièrement vulnérables (**Kim, 2018**). Accentuer cette vulnérabilité, elles ne présentent qu'une très faible concentration de glutathion réduit GSH, antioxydant majeur de nos cellules (**Kim, 2018**).

II.2.2. Diabète de type 2 :

II.2.2.1. Définition :

L'importance relative des défauts dans la sécrétion d'insuline ou dans l'action périphérique de l'hormone dans l'apparition du DT2 a été et continue d'être un sujet de discussion. Le diabète de type 2 représente 80 à 90 % de tous les cas de diabète. La plupart des personnes atteintes de diabète de type 2 présentent une obésité intra-abdominale (viscérale), qui est étroitement liée à la présence d'une résistance à l'insuline. En outre, l'hypertension et la dyslipidémie (taux élevé de triglycérides et faibles taux de cholestérol HDL, hyperlipidémie postprandiale) sont souvent présentes chez ces personnes. Il s'agit de la forme la plus courante de diabète et elle est fortement associée à des antécédents familiaux de diabète, à l'âge avancé, à l'obésité et au manque d'exercice. Il est plus fréquent chez les femmes, en particulier celles qui ont des antécédents de diabète gestationnel (**Baynes, 2015**).

II.2.2.2. Etiologie :

1. Facteurs génétiques : La contribution génétique à l'étiologie du diabète de type 2 est très importante, comme en témoignent le taux de concordance élevé (60 à 90%) chez les jumeaux homozygotes et l'agrégation familiale de cette maladie. On estime que le risque de développer un diabète est d'environ 30 % si l'on a un parent diabétique et approche les 70 % si les 2 parents sont diabétiques (**Féry et Paquot, 2005**).

Chapitre II : Le diabète

2. Facteurs environnementaux :

- **Alimentation et obésité** : l'épidémiologie du diabète de type 2 est liée à la suralimentation, avec en particulier l'obésité, et à l'insuffisance d'activité physique. Le risque de diabète de type 2 est décuplé lorsque l'indice de masse corporelle dépasse 30 kg/m². Cependant, seule une minorité de personnes obèses devient diabétique. Il est probable que l'obésité agisse comme facteur diabétogène chez ceux qui sont génétiquement prédisposés à la fois à l'insulino-résistance et à la défaillance des cellules β (**Innes, 2022**).

- **L'âge** : le diabète de type 2 est principalement une maladie des personnes d'âge moyen et d'âge mur. Au Royaume-Uni, 70 % de tous les cas de diabète apparaissent après l'âge de 50 ans, et il touche 10 % de la population au-delà de 65 ans (**Innes, 2022**).

II.2.2.3. Symptômes et Signes :

Asymptomatique : La majorité des diabétiques de type 2 sont asymptomatiques au moment du diagnostic (**Khalid, 2012**).

Symptômes typiques de l'hyperglycémie : tels que la polyurie, la polydipsie, la perte de poids, la polyphagie et le trouble de la vision, peuvent se manifester chez certains patients (**Khalid, 2012**).

II.2.2.4. Physiopathologie de diabète type 2 :

La physiopathologie de la maladie implique un mauvais fonctionnement des boucles de rétroaction entre l'action et la sécrétion de l'insuline, provoquant une élévation de la glycémie. Le dysfonctionnement des cellules β réduit la sécrétion d'insuline, empêchant l'organisme de réguler les niveaux de glucose. Simultanément, la résistance à l'insuline (RI) provoque une augmentation de la production de glucose dans le foie et une réduction de l'absorption du glucose dans les muscles, le foie et le tissu adipeux. Le dysfonctionnement des cellules β et la résistance à l'insuline surviennent tôt dans le développement de la maladie et contribuent à sa progression. Cependant, le dysfonctionnement des cellules β est généralement plus grave que la résistance à l'insuline. Lorsque les deux dysfonctionnements coexistent, l'hyperglycémie est amplifiée, provoquant la progression du diabète de type 2 (DT2). En résumé, l'action et la sécrétion anormales de l'insuline, ainsi que la résistance à l'insuline, jouent un rôle crucial dans le développement et l'exacerbation du DT2, entraînant une élévation chronique de la glycémie (**American Diabetes Association, 2010 ; Mahler et Adler. 1999**).

Chapitre II : Le diabète

II.2.2.5. Stress oxydatif et diabète type 2 :

Les espèces réactives oxygénées (ROS) et les espèces azotées réactives (RNS) peuvent avoir des effets délétères au niveau cellulaire et en particulier au niveau des tissus impactés par le DT2, comme les îlots pancréatiques, les muscles, le tissu adipeux (TA) et le foie. En clinique, il est très difficile de mesurer le taux de ROS/RNS, car ces espèces ont une demi-vie extrêmement courte dans les fluides biologiques, les cellules et les tissus (Kim, 2018).

II.3. L'effet du diabète sur le système reproducteur :

Le système reproducteur mâle comporte trois niveaux fonctionnels : pré-testiculaires (régulation neuroendocrinienne), testiculaires (spermatogenèse) et post-testiculaires (éjaculation) (Vignera et al., 2012).

Tableau 01 : Effets du Diabète sur différents niveaux du système reproducteur mâle (Nida Andlib et al., 2023)

Pre-testiculaire	Testiculaire	Post-testiculaire
Diminution des taux de FSH et de LH	Augmentation des ROS dans le testicule	Dysfonctionnement érectile
Diminution de la fonction des cellules de leydig	Diminution des enzymes antioxydants	Comportement sexuel anormal
Diminution de la steroïdogénese	- Augmentation de la fragmentation de l'adn nucléaire et mitochondrial des spermatozoïdes - Apoptose des cellules anormales - Diminution de la numération, de la mobilité et de la viabilité des spermatozoïdes - Augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux	

II.3.1 Effet pré-testiculaire du diabète

Le bon fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyséogonadique (HHG) est essentiel pour la puberté, la production normale d'androgènes et la pleine capacité de reproduction. Cet axe comprend des réseaux neuroendocriniens qui intègrent diverses données internes et externes afin de coordonner la compétence reproductive (Condorelli et al., 2018). L'hormone de libération de la gonadotrophine (GnRH) est le principal régulateur de la reproduction qui contrôle la production de gonadotrophine et, par la suite, la fonction testiculaire. Un

Chapitre II : Le diabète

fonctionnement efficace de l'axe HHG est nécessaire pour une fonction sexuelle et une fertilité normales et contribue à la santé et au bien-être en général (Schoeller *et al.*, 2012). Dans les cas de DT1, l'inhibition de l'axe HHG entraîne une baisse de la production de FSH et de LH en réponse à la GnRH chez les hommes (Schoeller *et al.*, 2012). Les chercheurs ont découvert que les effets de l'insuline sur l'axe HHG (hypothalamo-hypophyso-gonadique) sont régulés par le récepteur de l'insuline et la voie de signalisation associée (Schoeller *et al.*, 2012). Dans le cas des personnes atteintes de DT2 (diabète de type 2), on pense que la diminution de la fonction des cellules de Leydig est due à une sécrétion limitée de testostérone (Pitteloud *et al.*, 2005).

II.3.2 Effet testiculaire du diabète :

II.3.2.1. Stress oxydatif testiculaire :

Le mécanisme antioxydant confirme que les deux principaux incidents dans le testicule, à savoir la spermatogenèse et la stéroïdogénèse, ne sont pas altérés par le stress oxydatif. Ces antioxydants présents dans les testicules jouent un rôle important dans la réduction du stress oxydatif, qui est actuellement considéré comme la principale source de dysfonctionnement testiculaire cachant la réaction pathologique d'une grande variété de circonstances, y compris le diabète sucré. On observe une baisse remarquable des enzymes antioxydantes et une augmentation de la peroxydation des lipides dans le testicule, à la fois dans les modèles animaux DT1 et DT2 (Young *et al.*, 2004; Pitteloud *et al.*, 2005). Dans les études sur les rats atteints de DT1 induits par l'alloxan, une baisse remarquable des activités de la superoxyde dismutase, de la glutathion peroxydase et de la catalase (enzymes antioxydantes) et une augmentation remarquable de la quantité de substance réactive à l'acide thio-barbiturique dans le testicule sont signalées (Ghissi *et al.*, 2012). Alors qu'une autre étude utilisant des rats DT1 induits par streptozotocine (STZ) a indiqué qu'il n'y a pas d'altération remarquable dans les activités SOD, CAT, GPx et MDA (enzymes antioxydantes) testiculaires même après 1 et 8 semaines (Gobbo *et al.*, 2015).

II.3.2.2. La stéroïdogénèse :

Dans un modèle de diabète de type 1 induit par STZ chez les rats, on observe une augmentation significative du cholestérol dans les testicules, nécessaire à la synthèse des hormones stéroïdes, dont la testostérone. Parallèlement, le diabète sucré de type 1 provoque une notable diminution de l'expression de la StAR (protéine régulatrice aiguë de la

Chapitre II : Le diabète

stéroïdogénèse) et du CYP11A1 (première étape enzymatique de la stéroïdogénèse) dans les testicules. Cette augmentation de cholestérol testiculaire est attribuée à la suppression du transporteur de cholestérol, la StAR, conduisant à l'accumulation du cholestérol. Ces études suggèrent que la baisse de la concentration de testostérone dans le diabète sucré peut être due à la suppression de StAR et des enzymes essentielles (3β -HSD, CYP11A1 et 17β -HSD) responsables de la synthèse des hormones stéroïdes (**Sm et Mahaboob Basha, 2017**).

II.3.2.3. La spermatogenèse :

Diverses études expérimentales (**Reddy et al., 2016 ; Sangameswaran et Jayakar, 2008**) et cliniques (**Delfino et al., 2007**) ont mis en évidence l'impact négatif du diabète sur la spermatogenèse et les paramètres associés aux spermatozoïdes. Le modèle animal de DT1 induit par la STZ a montré une baisse de la production quotidienne de spermatozoïdes, de leur nombre et de leur mobilité (**Gonzales et al., 2013 ; Suresh et Prakash, 2012**) et une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes de morphologie anormale (**Kanter et al., 2013**).

II.3.2.4. Histologie du testicule :

Dans le cas de diabète, un rétrécissement des testicules a également été signalé, avec une réduction remarquable du volume et du diamètre des tubes séminifères, et une diminution du nombre de cellules de Leydig et de Sertoli (**Al-Roujeaie et al., 2017 ; Kanter et al., 2013**). Un déclin remarquable de la population de spermatogonies, de spermatocytes et de spermatides (cellules germinales) a également été signalé à différents stades (**Kanter et al., 2013**).

II.3.3. Effet Post-testiculaire du diabète :

II.3.3.1 Dysfonctionnement érectile dans le diabète :

La dysfonction érectile (DE) est l'incapacité d'obtenir ou de maintenir une érection suffisamment ferme pour avoir des rapports sexuels (**Thorve et al., 2011**), La dysfonction érectile est fréquente chez les hommes diabétiques, en particulier ceux atteints de diabète de type 2, qui touche environ 34 % à 45 % des hommes diabétiques (**Eardley et al., 2007**). Les mécanismes suggérés ont conduit à la dysfonction érectile chez les sujets diabétiques, notamment l'augmentation des produits finaux de la glycation avancée (AGE), l'augmentation des niveaux de radicaux libres de l'oxygène, l'altération de la synthèse de l'oxyde nitrique,

Chapitre II : Le diabète

l'augmentation des sites de liaison du récepteur de l'endothéline B, l'augmentation de la voie RhoA/Rho-kinase, les dommages neuropathiques et l'altération de la protéine guanosine monophosphate cyclique (GMPc) dépendante de la protéine kinase-1 dépendante de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) (**Thorve et al., 2011**), Le monoxyde d'azote (NO) est produit par l'endothélium des artères du pénis. Le NO favorise la relaxation des corps caverneux par la formation de GMPc (**Cellek et al., 1999**). Il a été rapporté que la NO synthétase est réduite chez les hommes diabétiques souffrant de dysfonction érectile, il est établi que la diminution du NO et de sa molécule effectrice le GMPc contribue de manière significative à la croissance de la dysfonction érectile chez les patients diabétiques (**Thorve et al., 2011**).

II.3.3.2 Troubles de l'éjaculation :

Il s'agit de la principale cause d'infertilité chez les hommes diabétiques. Les troubles de l'éjaculation comprennent divers dysfonctionnements liés à l'éjaculation, tels que l'éjaculation retardée, l'éjaculation précoce, l'anéjaculation et l'éjaculation rétrograde (ER). La fécondation nécessite une éjaculation normale. L'anéjaculation et l'éjaculation rétrograde sont associées au diabète et sont plus compliquées pour la fertilité que les autres maladies éjaculatoires. Environ 10% des hommes diabétiques ont une anéjaculation (**Gaunay et al., 2013 ; Kamischke et Nieschlag, 2002**). En cas de diabète, le péristaltisme de la paroi du vase et de la vésicule séminale est empêché par un dysfonctionnement autonome qui empêche l'éjaculation d'atteindre l'urètre (**Gaunay et al., 2013**). Le dysfonctionnement diabétique du système autonome contribue à la physiopathologie de l'éjaculation rétrograde(ER), Près de 6 % des jeunes hommes atteints de diabète présentent des troubles de l'éjaculation (**Dinulovic et Radonjic, 1990**). Il a été rapporté que les hommes diabétiques ont un taux plus élevé d'ER (**Fedder et al., 2013**).

Chapitre III: Le clou de girofle
(Syzygium aromaticum)

Chapitre III: Le clou de girofle (Syzygium aromaticum)

III.1. Origine du giroflier :

Le *Syzygium aromaticum* est une plante à fleurs appartenant à la famille des Myrtacées. Son nom vient du grec qui fait référence aux feuilles paires. Il existe environ 1200 à 1800 espèces de *Syzygium* et la plupart d'entre elles sont des arbustes et des arbres à feuillage persistant. La plus grande majorité de cette plante se trouve en Malaisie et dans le nord-est de l'Australie (**Zulcafli et al., 2020**). Les clous de girofle sont récoltés commercialement en Indonésie, en Inde, au Pakistan, au Sri Lanka, ainsi que dans les îles Comores, Madagascar, les Seychelles et la Tanzanie (**Mbaveng et Kuete, 2017**).



Figure 09 : boutons de fleurs séchées.

III.2. Description de la plante :

III.2.1. Aspect botanique de la plante :

C'est un grand arbre élancé d'une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres, et qui peut atteindre jusqu'à 20 mètres de hauteur, à port pyramidal et au tronc gris clair ridé (**Goetz, 2021**). Ses feuilles, de 8 à 10 cm de longueur, sont coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, ovales, au limbe lancéolé, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement (**Ghedira et al., 2010**).

L'inflorescence comprend des petites cymes (4 à 5 cm) compactes et ramifiées, regroupées en panicules de 3 à 5 petites fleurs parfumées, au calice tubulaire blanc cassé, puis rouge (4 sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc-rosé (4 dialypétales blancs). La fleur, hermaphrodite, possède de nombreuses étamines (formant un pompon), et un pistil à ovaire infère à deux loges (**Goetz, 2021; Mbaveng et Kuete, 2017**).

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)



Figure 10 : Boutons de giroflier.

III.2.2. Classification botanique :

Tableau 02 : Classification botanique du giroflier (Goetz et Le Jeune, 2010).

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta (= Phanérogames)</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina (= Angiospermes)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (= Dicotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>S. aromaticum (L) Merr. & Perry</i>

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (Barbelet, 2015; Dupont et Guignard, 2012) :

Caryophyllus aromaticus L.(1753)

Eugenia caryophyllata Thunb.(1788)

Eugenia caryophyllus Spreng.(1825)

Eugenia aromatica (L.) Baill. (1876)

Jambosa caryophyllus (Thunb.) Nied. (1893)

Chapitre III: Le clou de girofle (Syzygium aromaticum)

Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939).

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

III.3. Les huiles essentielles :

III.3.1. Définition :

Les huiles essentielles (HE) sont des liquides aromatiques volatils obtenus à partir de matières végétales, y compris les fleurs, les racines, l'écorce, les feuilles, les graines, les fruits, le bois et les plantes entières (**José, 2016**). Il s'agit également d'un ensemble de substances secondaires d'origine végétale. Le nom "huile essentielle" vient du fait qu'elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Ce sont des mélanges de différents types de terpènes, de sesquiterpènes et de composés aromatiques tels que les phénols (**Hoffmann et al., 2020**). Selon l'Agence Française de Normalisation (AFNOR), les HE peuvent être définies comme suit : "L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche" (**Hanif et al., 2019**).

III.3.2. La chimie des huiles essentielles :

Plus de 200 composants sont présents dans le mélange des HE pures. Ils peuvent être classés en deux catégories (**Hanif et al., 2019**) :

- **La fraction volatile** : Elle représente 90 à 95 % du poids total de l'huile. Elle contient des monoterpènes, des sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés. Les alcools aliphatiques, les esters et les aldéhydes peuvent également être présents dans la fraction volatile (**Hanif et al., 2019**).

- **Résidu non volatil** : qui représente 1 à 10 % du poids total de l'HE. Il contient des acides gras, des hydrocarbures, des stérols, des cires, des flavonoïdes et des caroténoïdes (**Hanif et al., 2019**).

III.3.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

L'extraction d'une HE est une opération complexe et sensible. Elle a pour but de capter et de recueillir les produits les plus volatils, les plus subtils et les plus fragiles que la plante développe, et cela sans en altérer la qualité (**Boukhatem et al., 2019**).

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Il existe plusieurs modes d'extraction comme l'hydrodistillation, l'expression à froid, l'enfleurage, l'extraction par solvants organiques, l'extraction par ultra-sons, etc. Deux procédés sont principalement employés : l'hydrodistillation/distillation à la vapeur d'eau et l'expression à froid (Pierron, 2014).

III.3.3.1. Extraction par hydrodistillation :

Historiquement, avicenne (980-1037) a été le premier à développer l'extraction par alambic (Asbahani et al., 2015). Dans ce procédé, la matière est surchauffée, ce qui entraîne la combustion des composés aromatiques et la production du produit désiré (HE). Ce processus semble être efficace pour les poudres telles que le bois moulu, les poudres d'épices, etc. et pour les matériaux durs tels que les noix, le bois ou les racines (Hanif et al., 2019). Il est généralement effectué à la pression atmosphérique. Les procédures commencent par l'immersion des matières végétales directement dans l'eau à l'intérieur de l'alambic industriel ou dans un ballon au laboratoire, puis le mélange entier est porté à l'ébullition (Zarith et al., 2018).

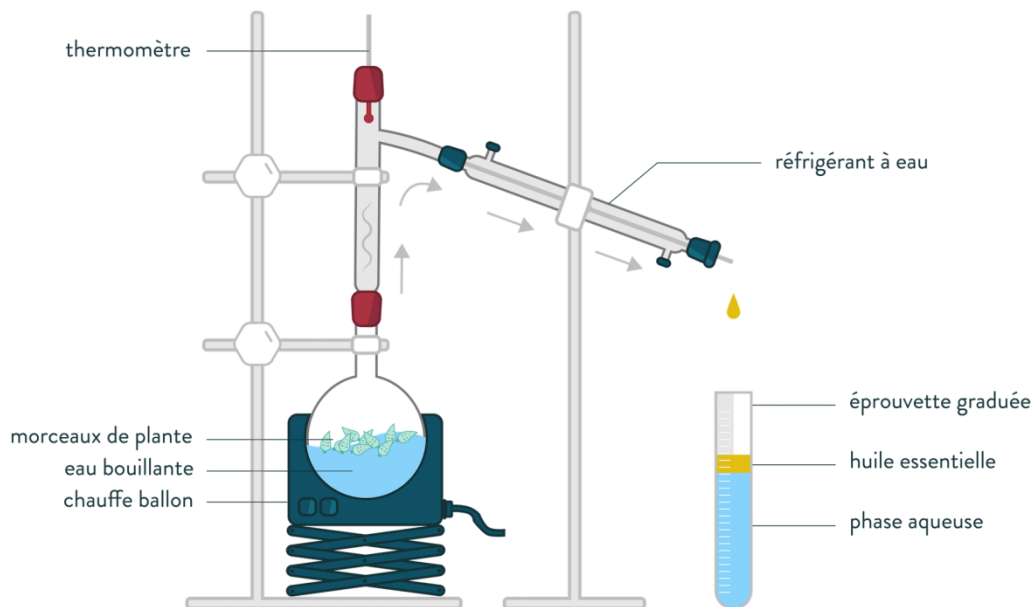


Figure 11 : Principe schématique de l'hydrodistillation

III.3.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

Cette méthode est basée sur le même principe que l'hydrodistillation, à la différence qu'il n'y a pas de contact direct entre la plante et l'eau. La durée d'extraction est raccourcie, ce qui réduit les altérations chimiques (figure 12). Il existe d'autres variantes (Asbahani et al., 2015) :

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Vapeur-hydrodistillation : L'extraction se fait à l'intérieur de l'alambic sauf qu'il existe un système de plaque perforée ou de grille qui maintient la plante en suspension au-dessus de la base de l'alambic contenant de l'eau, ce qui évite leur contact direct. L'extraction se fait par injection de vapeurs d'eau qui traversent la matière végétale de bas en haut et entraînent les matières volatiles. Le temps d'extraction est réduit ainsi que la perte de molécules polaires (Asbahani et al., 2015).

Distillation à la vapeur : Cette méthode présente le même principe et les mêmes avantages que l'hydrodistillation à la vapeur, mais la génération de vapeurs se fait en dehors de l'alambic de distillation (Asbahani et al., 2015).

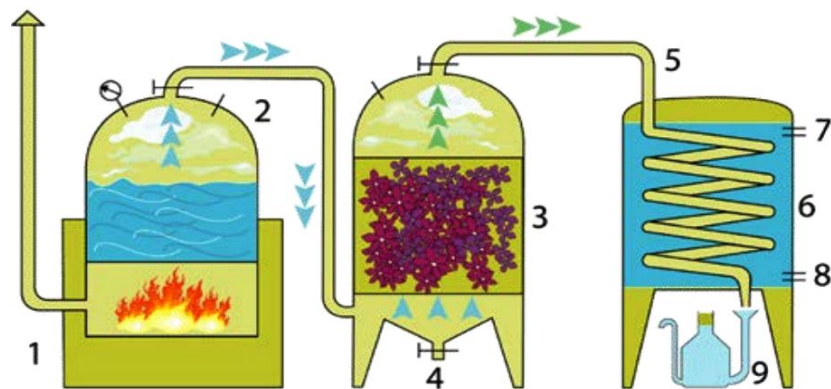


Figure 12 : Distillation à la vapeur d'eau (Blondel, 2014).

1-Foyer ; 2-Chaudière ; 3-Vase à fleurs ; 4-Vidange de condensation ; 5-Col de cygne ; 6-Réfrigérant avec serpentín ; 7-Sortie d'eau chaude ; 8-Arrivée d'eau froide ; 9-Essencier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat.

III.3.3.3. Extraction par Hydro-diffusion :

Il s'agit d'un cas particulier de vapordistillation où le flux de vapeur se produit vers le bas. On parle également d'hydrodiffusion vers le bas ou d'hydrodiffusion de gravité (figure 13) (El haib, 2011).

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

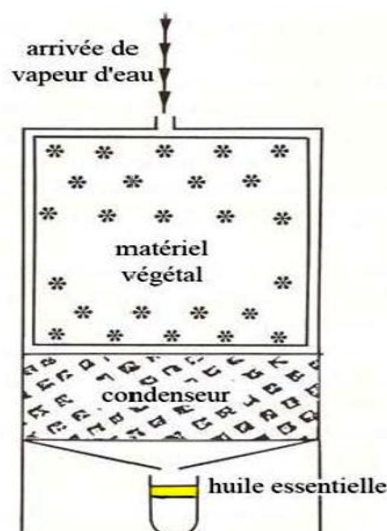


Figure 13 : Montage d'hydrodiffusion (El haib, 2011).

III.3.3.4. Extraction par expression ou pression à froid :

L'extraction par expression à froid est le procédé le plus simple mais aussi le plus limité (El haib, 2011). Il est appliqué à l'extraction des huiles volatiles contenues dans le péricarpe des agrumes en les déchirant par un traitement mécanique. Elle consiste à briser les parois des poches oléifères contenues dans le mésocarpe situé juste sous la peau du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification (Boukhatem et al., 2019).

III.4. La chimie du *Syzygium aromaticum* :

Le giroflier représente l'une des principales sources végétales de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les terpénoïdes (Mbaveng et Kuete, 2017). L'HE de *Syzygium aromaticum* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (CPG-FID) et par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG/SM) (Selles et al., 2020), dont les composés sont indiqués dans le Tableau 03. L'eugénol est le principal composé de l'huile essentielle étudiée (78,72 %), suivi du β -caryophyllène (8,82 %) et de l'acétate d'eugényle (8,74 %) (Selles et al., 2020 ; Behbahani et al., 2019).

Tableau 03 : Composition chimique de l'HE de clou de girofle selon l'analyse CPG-SM (Selles et al., 2020).

Pic	Temps de rétention (min)	Les composés	Concentration (%)
1	7.2	Ethanol	0.28
2	10.5	α -Pinene	0.01
3	14.7	β -Pinene	0.01
4	17.0	Δ^3 -Carene	0.01

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

5	18.9	2-Heptanone	0.03
6	20.0	Limonene	0.03
7	20.8	1.8-Cineole	0.04
8	22.1	Cis- β -ocimene	0.01
9	23.3	Trans- β -ocimene	0.01
10	24.0	Acetate de 2-heptyle	0.04
11	27.0	2-Methyl-6-methylene-1.7-octadien-3-one	0.01
12	29.2	2.6-Methyl-5-hepten-2-one	0.01
13	32.8	2-Nonanone	0.03
14	37.6	α -Cubebene	0.01
15	40.1	α -Copaene	0.01
16	41.9	β -bourbonene	0.02
17	42.9	Linalol	0.01
18	45.6	ϵ -Cadinene	0.01
19	46.8	2-Undecanone	0.01
20	47.1	Terpinene-4-ol	0.02
21	47.4	β -Caryophyllene	8.82
22	48.4	Benzoate de methyle	0.01
23	50.2	Pulegone	0.01
24	50.3	Acetophenone	0.02
25	51.0	Zonarene	0.01
26	51.2	Benzoate d'ethyle	0.02
27	51.4	Acetate de dihydrocarvyle	0.04
28	51.8	α -Humulene	0.95
29	52.8	γ -Muurolene	0.01
30	52.9	α -Terpineol	0.04
31	53.0	Acetate de terpenyle	0.02
32	54.2	Germacrene D	0.04
33	54.4	Cubenene isomere	0.02
34	54.8	Acetate de benzyle	0.03
35	54.9	α -Muurolene	0.03
36	55.2	α -Selinene	0.02
37	55.7	Carvone	0.15
38	55.8	α -Farnesene	0.12
39	56.8	δ -Cadinene	0.11
40	57.2	γ -Cadinene	0.02
41	57.4	Alcool terpenique	0.02
42	58.0	Salicylate de methyle	0.10
43	58.5	Cadina-1.4-diene	0.02
44	59.1	α -Amorphene	0.01
45	61.4	Calamenene	0.02
46	66.5	Jasmone	0.03
47	67.8	Composé aromatique	0.01
48	69.9	Oxyde d'isocaryophyllene	0.02
49	70.4	Oxyde de caryophyllene	0.38
50	71.0	Methyleugenol	0.01
51	73.4	Epoxy-6.7-humulene	0.05
52	73.8	Cubenol	0.01
53	74.3	Sesquiterpenol	0.01
54	78.2	Eugenol	0.01
55	79.1	α -Cadinol	78.72
56	82.3	Acetate d'eugenyle	0.01
57	83.3	Epoxyde sesquiterpenique	8.74
58	85.0	Caryophylla-3.7-dien-6-ol	0.02

Chapitre III: Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

59	85.6	Chavicol	0.09
60	86.6	Epoxyde sesquiterpenique	0.14
61	87.3	Isoeugenol	0.04
62	87.5	Epoxyde sesquiterpenique	0.02
63	89.1	2. 3. 4-trimethoxyacetophenone	0.06
64	95.1	Epoxyde sesquiterpenique	0.03
65	100.7	Benzoate de benzyle	0.03
		Total	99.81

III.5. Les effets thérapeutiques du clou de girofle :

Plusieurs propriétés pharmacologiques de *Syzygium aromaticum* ont été rapportées, notamment les propriétés antiseptiques, antimutagènes, anti-inflammatoires, antioxydantes, antiulcérogènes, antithrombotiques, antifongiques et antivirales, anticancéreuses, analgésiques, antimicrobiennes, antidépressives et anesthésiantes (Mbaveng et Kuete, 2017; Batiha et al., 2020).

III.5.1. Activité Antioxydante :

Les extraits aqueux et éthanoliques du clou de girofle ont montré une action inhibitrice jusqu'à 95 % lorsqu'il est testé comme un chélateur métallique, un capteur des radicaux superoxydes et piègeur du radical DPPH. Cette activité antioxydante puissante peut être attribuée à la forte capacité de piégeage des radicaux libres, de chélation de la transition métalliques. (Cortés-Rojas et al., 2014).

III.5.2. Activité antibactérienne :

L'huile de clou de girofle s'est avérée active contre les bactéries gram positives d'origine alimentaire (*S. aureus*, *B. cereus. cereus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*) et les bactéries gram négatives (*E. coli*, *Y. coli*, *L. monocytogenes*), (*E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*) (Mittal et al., 2014). Cette activité inhibitrice est due à la présence de plusieurs constituants, principalement l'eugénol, l'acétate d'eugényle, le β -caryophyllène, le salicylate de méthyle, les propanoïdes de phényle, biflorine, kaempférol, acide gallique, acide ellagique et acide oléanolique (Mittal et al., 2014).

III.5.3. Activité antifongique :

Des effets antifongiques prometteurs de l'HE du clou de girofle ont également été rapportés contre des isolats d'*Aspergillus*, de *Penicillium*, de *Fusarium* et de *Scopulariopsis*. D'autres champignons végétaux et animaux, à savoir *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*,

Chapitre III: Le clou de girofle (Syzygium aromaticum)

Aspergillus sp., Mucor sp., Trichophyton rubrum et Microsporum gypseum, se sont révélés également sensibles à l'huile de clou de girofle (**Mbaveng et Kuete, 2017**).

II.5.4. Activités anti-inflammatoire :

Le clou de girofle a montré des actions immunomodulatrices et anti-inflammatoires sur la production de cytokines par les macrophages murins. En effet, le clou de girofle a inhibé la production d'interleukine (IL)-1 β , d'IL-6 et d'IL-10. Les extraits éthanoliques de bourgeons floraux de clous de girofle exercent des effets antinociceptifs et anti-inflammatoires, comme le montrent les contractions abdominales induites par l'acide acétique chez les souris et l'œdème de la patte induit par le formol chez les rats Wistar, ce qui confirme l'utilisation traditionnelle de la plante dans des conditions douloureuses et inflammatoires (**Mbaveng et Kuete, 2017**).

III.5.5. Effet anesthésiant :

L'huile du clou de girofle est utilisée comme un anesthésiant léger sûr chez l'homme depuis l'antiquité et chez les poissons. Cette huile ainsi que l'eugénol sont considérés comme des anesthésiants acceptables pour le poisson-lapin (*Saiganus lineatus*), le poisson de récif corallien (*Pomacentrus amboinensis*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) dans le cadre de l'aquaculture et de la recherche aquatique. Il s'est également avéré utile chez les crabes (**Mittal et al., 2014**).

III.5.6. Activité analgésique :

L'eugénol est un agent analgésique de routine largement utilisé dans les cliniques dentaires en raison de sa capacité à soulager les douleurs dentaires. Ces effets sont attribués à sa capacité à supprimer les prostaglandines et d'autres médiateurs inflammatoires tels que le leucotriène. Il déprime également les récepteurs sensoriels impliqués dans la perception de la douleur, qu'il inhibe la conduction du potentiel d'action dans les nerfs sciatiques et les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA), mais qu'il potentialise les récepteurs ionotropiques de l'acide γ -aminobutyrique (**Mittal et al., 2014 ; Tanko et al., 2008**).

III.5.7. Activité anti-cancérogène :

L'HE du clou de girofle a montré des effets cytotoxiques contre des lignées cellulaires cancéreuses, ainsi que des activités anti-mutagènes (**Mbaveng et Kuete, 2017**). Plusieurs études préliminaires ont suggéré le rôle chimiopréventif de l'huile de clou de girofle, en

Chapitre III: Le clou de girofle (Syzygium aromaticum)

particulier dans les cas de cancers du poumon, de la peau et de l'appareil digestif, L'extrait d'acétate d'éthyle du clou de girofle inhibe la croissance tumorale et favorise l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose (Mittal et al., 2014).

III.5.8. Activité antidiabétique :

Plusieurs rapports ont documenté le rôle potentiel du clou de girofle en tant qu'agent antidiabétique. Il a été constaté que le clou de girofle et l'insuline régulent l'expression des gènes liés au diabète, tels que le gène de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) et le gène de la glucose 6-phosphatase (G6Pase), de manière similaire (Mbaveng et Kuete, 2017), L'étude des propriétés antidiabétiques des extraits phénoliques des bourgeons de clou de girofle contre les enzymes hydrolysant les hydrates de carbone (alpha-amylase et alpha-glucosidase) dans le pancréas de rat montre que les deux extraits inhibent l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase de manière dose-dépendante (Adefegha et al., 2014).

III .5.9. Effet sur la reproduction :

Le traitement au *Syzygium aromaticum* conduit à une augmentation de la concentration en acide sialique épидидymaire, du diamètre des tubules séminifères et de l'épaisseur épithéliale des tubules séminifères, ainsi qu'à une stimulation de la biosynthèse de la testostérone (Mishra et Singh, 2016 ; Choi et al., 2014), qui induit ainsi à une augmentation de la fréquence de montée des rats et des souris mâles, ainsi que de la motilité des spermatozoïdes (Mishra et Singh, 2016).

III .6. La toxicité du clou de girofle :

L'HE de clou de girofle est généralement reconnue comme une substance sûre lorsqu'elle est consommée à des concentrations inférieures à 1500 mg/kg. Par ailleurs, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a établi que la quantité journalière acceptable de clou de girofle est de 2,5 mg/kg de poids chez l'homme (Cortés-Rojas et al., 2014). La Food and Drug Administration (FDA, "U.S. Food and Drug Administration") a confirmé l'innocuité des bourgeons de girofle, de l'huile de girofle, de l'eugénol et des oléorésines en tant que compléments alimentaires. Cependant, sa toxicité a récemment fait l'objet d'une grande attention (Vijayasteltar et al., 2016).

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

IV.1. Objectif du travail :

Cette étude a été réalisée au niveau de Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologique des Plantes (LBPVBP) de l'Université Moulay Tahar -Saida afin d'une part voire les effets du diabète sur les fonctions reproductives chez les rats Wistar et d'autre part elle vise également à tester l'efficacité de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum* chez ces dernier est cela selon deux approches comportementale et physiologique.

IV.2. Matériels biologiques utilisés :

IV.2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des boutons floraux du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Ce produit est disponible toute l'année sur le marché algérien, en raison de sa grande importance dans les traditions culinaires locales et de son utilisation dans la médecine traditionnelle. Les boutons floraux de girofle acheté dans une épicerie de la wilaya de Saida, elles ont été broyée à l'aide d'un broyeur électrique à usage domestique avec des cycles de broyage de 2 min intercalé en 1 min de repos, jusqu'à l'obtention d'une poudre qui sera conservée dans un bocal en verre hermétiquement fermé pour préserver sa qualité initiale (Adli, 2015).

IV.2.2. Matériel animal :

Les expériences ont été réalisées sur des rats mâles, albinos, adultes de la souche Wistar, pesant en moyenne $222 \text{ g} \pm 5.22 \text{ g}$, obtenus auprès de l'animalerie centrale de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie. Les animaux étaient logés dans une animalerie dans des cages appropriées avec un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures, à une température de $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. La litière est composée de la sciure de bois. Toutes les cages sont équipées de tétines assurant une alimentation régulière en eau. La nourriture sous forme de granule spéciale rongeurs était fournie ad libitum. Le poids corporel et le taux de glycémie ont été enregistré chaque semaine pendant toute la durée de l'expérimentation et la dose de l'HEC à été ajustée en conséquence. Après une période d'acclimatation, les animaux ont été divisés en quatre lots : lot Diabétique, lot témoin, lot diabétique traité avec l'HEC et lot témoin traité avec l'HEC.

IV.3. Méthodes :

IV.3.1. Extraction des huiles essentielles :

Matériels et méthodes

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode de l'hydro-distillation, le protocole de cette méthode consiste à immerger 25 g de broyat de clou de girofle dans une fiole jaugée thermorésistante, avec 250 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant une durée de 1h à 1h30min (Adli, 2015). La vapeur émise sera condensée grâce à un système de refroidissement à eau, puis elle sera collectée dans un flacon opaque. A la fin de l'expérimentation le liquide collecté est mis dans une ampoule à décanté (Figure 14) afin de séparer les deux phases par différence de densité (aqueuse et organique) pour obtenir l'huile essentielle.



Figure 14: Dispositif d'hydrodistillation

IV.3.2. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse de la matière végétale utilisée (Adli, 2015 ; Brahmi, 2019). Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M1/M0) \times 100$$

R : rendement en huile essentielle.

M1 : quantité d'huile extraite exprimé en gramme (g).

M0 : quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en gramme (g).

Matériels et méthodes

IV.3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue :

L'HEC extraite est conservée dans un tube en verre fermé et bien enveloppé par un papier aluminium au réfrigérateur à 4 °C pour la préserver de l'air, la lumière et de la chaleur, afin d'éviter qu'elle soit altérée.

IV.3.4. Préparation de la solution injectable :

Selon les travaux de (Halder et al., 2011 ; Adli et al., 2018), L'HEC injectée est diluée dans une seule goutte de Tween 80 pour l'obtention d'une solution à une concentration de 0.1 ml/kg p.c.

IV.3.5. Répartition des lots et traitement des animaux :

IV.3.5.1. Induction du diabète :

Les rats ont été rendus diabétiques après une seule injection de STZ intrapéritonéal de *streptozotocine* (STZ) (40 mg/kg) dans tampon citrate de sodium froid fraîchement préparé (0.01M) et (pH=4.5) et cela après une nuit de jeûne. Du glucose (5%) a été ajouté à l'eau potable durant 48h suivant l'induction du diabète afin de prévenir l'hypoglycémie induit par la STZ. Après une semaine, les rats dont la glycémie à jeun était supérieure à 250 mg/dL ont été inclus dans présente étude (Kotian, S et al.,2019).

IV.3.5.2. La répartition des lots : Les rats ont été répartis au hasard en quatre lots.

Lot (Témoin) : constitue des rats n'ayant reçu aucun traitement, uniquement de l'eau et de la nourriture Ad libitum, et est considéré comme un contrôle normoglycémique.

Lot (Témoin-HEC) : constitué de rats traités par injection de l'HEC à une dose de 0,1 ml/kg pendant (06 semaines) par voie intra-péritonéale (Halder et al., 2011 ; Adli et al., 2018).

Lot (diabétique) : représenté par des rats diabétiques et est considéré comme un contrôle hyperglycémique.

Lot (diabétique-HEC) : représenté par des rats diabétiques traité, Après une semaine, afin d'installer le diabète, les rats ont été injecté par l'HEC pendant 06 semaines consécutives par une injection intra-péritonéale à une dose de 0,1 ml/kg (Halder et al., 2011 ; Adli et al., 2018).

IV.3.5.3. La répartition chronologique du protocole expérimental

La chronologie du protocole expérimental des quatre lots des rats (Diabétique, diabétique-HEC, Témoin et Témoin-HEC) est représentée par la (Figure 15) :

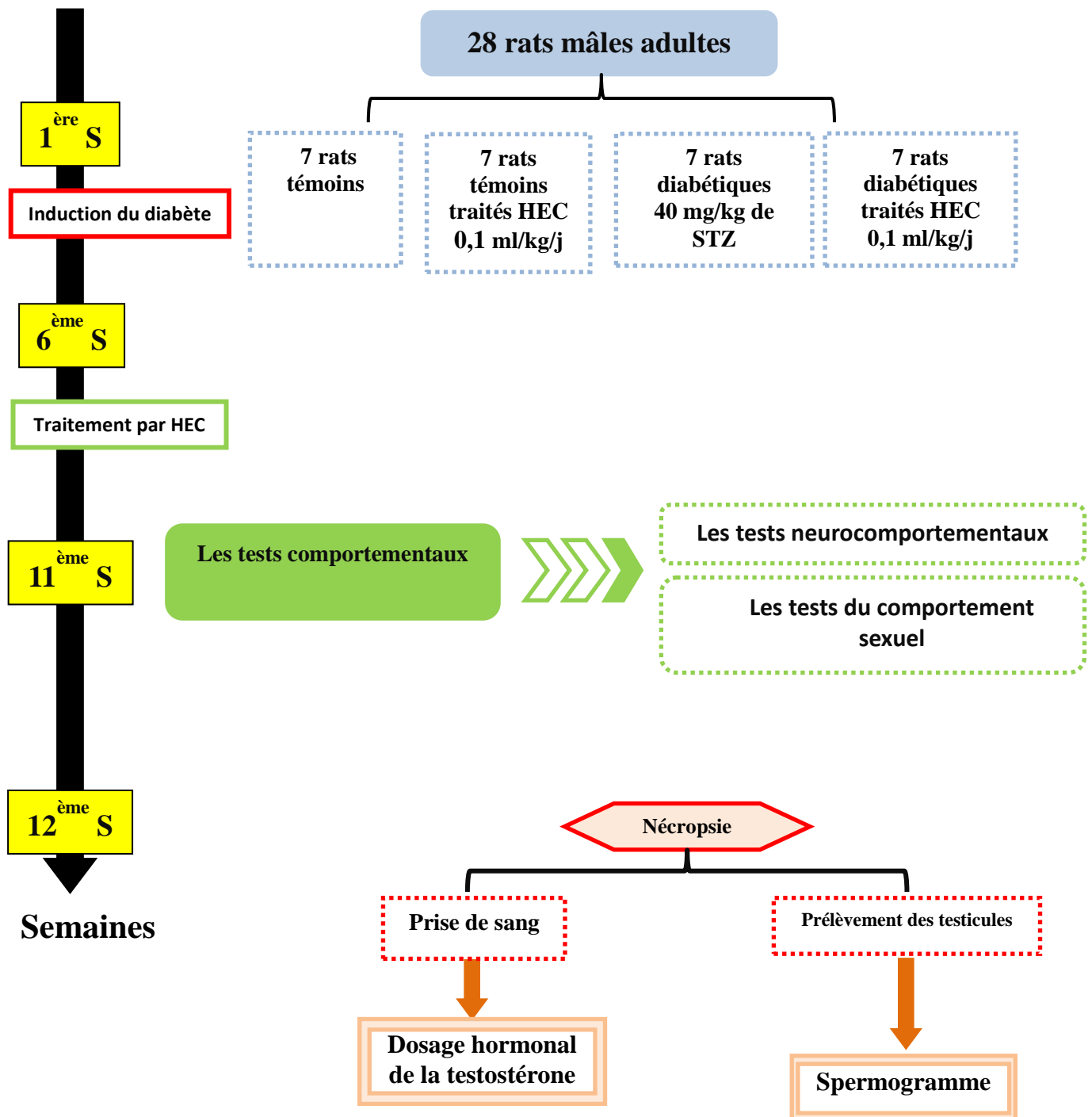


Figure 15: Organigramme récapitulatif du protocole expérimental.

Matériels et méthodes

IV.4. Etude du comportement sexuel :

IV.4.1. Présélectivité et réceptivité :

Avant les injections de STZ, le comportement sexuel des rats mâles a été testé et seuls les rats sexuellement actifs ont été sélectionnés pour l'expérience. La réceptivité des rats femelles a été induite par l'injection de 10 µg /rate de benzoate d'œstradiol, suivie 24 heures plus tard par l'administration de 2 mg/rate de progestérone 4 -6 heures avant le test (**Kashif et al., 2019**), pour les faire entrer artificiellement en phase d'œstrus.

IV.4.2. Test de la motivation sexuelle (Sexual incentive motivation test SIM) :

La motivation sexuelle a été observée dans le labyrinthe décrit par **Dahlgren et al.,1991 ; Moreira et al., 2017**).

La motivation sexuelle se produit lorsqu'un rat mâle est exposé à une incitation sexuelle (femelle réceptive) et d'une incitation sociale (mâle). Les rats mâles peuvent choisir de rester en contact avec l'incitation sexuelle (**Agmo, 2014**). Le labyrinthe était constitué d'une arène circulaire (80 cm de diamètre) entourée d'un mur de 28 cm de haut, avec deux ouvertures (12 cm × 12 cm) dans le mur de l'arène permettait aux animaux de communiquer avec chaque cage d'animaux d'incitation. Un grillage séparait l'animal incitateur de l'animal expérimental, ne permettant ainsi qu'un contact visuel et olfactif sans aucune interaction copulatoire. Devant ces cages, la zone d'incitation (20 cm × 30 cm) a été délimitée en noir sur le plancher de l'arène (**Figure 16**) (**Moreira et al.,2020**). Le sol de l'arène était divisé en trois zones :

La zone d'incitation des mâles (MIZ).

La zone d'incitation des femelles (FIZ).

La zone neutre, définie par la zone restante de l'arène

Les boîtes des animaux incitateurs (marqués avec un ♀ et ♂ sur la **figure 16**) se trouvent à l'extérieur d'un compartiment ouvert. Labyrinthe était situé dans une pièce éclairée par une lumière rouge. Les rats testés ont d'abord été habitués à l'environnement de test pendant 5 minutes chacun en absence des animaux d'incitation. Immédiatement avant chaque session, l'arène a été nettoyée avec une solution d'éthanol à 5 %. Le test durait 20 minutes. Les paramètres à mesurer sont :

Le nombre de visites dans FIZ et MIZ (avec les quatre pattes du rat).

Matériels et méthodes

Le temps en secondes passé dans le secteur à côté de l'incitateur sexuel inaccessible (FIZ). Le temps en secondes passé dans le secteur à côté de l'incitateur social et non sexuel également inaccessible (MIZ). Le pourcentage de préférence, qui est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de préférence} = (\text{Temps dans le FIZ} / (\text{Temps dans le FIZ} + \text{temps dans le MIZ})) \times 100$$

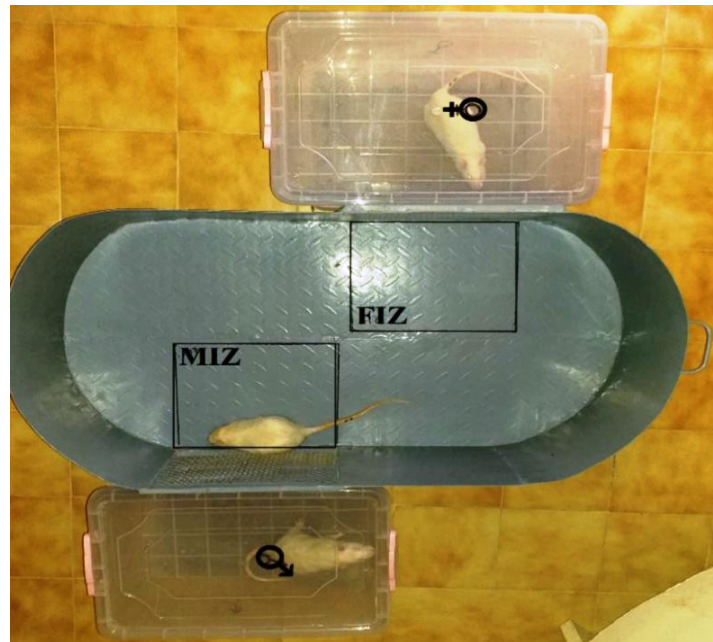


Figure 16 : Labyrinthe du test de la motivation sexuelle.

IV.4. 3. Test de l'interaction sexuelle (Male sexual behavior test MSB) :

Le test d'interaction sexuelle a été réalisé dans une pièce sombre, éclairée par une lumière rouge. Tout pour commencer, chaque rat mâle a été placé dans une boîte transparente en plexiglas (90 cm 90 cm) avec de la sciure de bois sur le sol (**figure 17**) pendant 5 minutes afin de s'habituer à la boîte de test. Une femelle réceptive a ensuite été placée dans la boîte avec le mâle afin qu'ils puissent interagir sexuellement pendant 30 minutes, au cours desquelles plusieurs paramètres copulatoires ont été enregistrés (**Moreira et al., 2020 ; Ramírez-Rentería et al., 2020**). L'enregistrement du comportement sexuel des rats se termine après 30 minutes.



Figure 17 : Test de l'interaction sexuelle.

Lorsqu'un rat ne copule pas, aucune latence ni aucun intervalle post-éjaculatoire ne peuvent être enregistrés. Cela oblige à abandonner toutes les données concernant ce groupe particulier. Pour éviter cela, des latences sont parfois attribuées aux animaux qui ne font pas de copulation. Dans ce cas, le temps limite de l'essai est la valeur attribuée (30 minutes =1800 secondes).

Tableau 04 : Les paramètres copulatoires standard enregistrés durant le test de l'interaction sexuelle.

Paramètres	Description
Nombre de montée (MN) :	L'apparition de montée avec poussée pelvienne, mais sans aucun signal comportemental de pénétration vaginale. Le nombre de montée est très variable, allant de 0 à 20 ou plus, il reflète la motivation sexuelle.
Nombre d'intromission (IN) :	La survenue d'une montée avec pénétration vaginale jusqu'à la poussée pelvienne et signes comportementaux de pénétration vaginale. L'intromission nécessite une érection du pénis et une activité coordonnée des muscles striés du pénis, ce paramètre reflète alors la puissance de l'érection de pénis qui est nécessaire pour provoquer l'éjaculation. Ce nombre varie entre 5 à 10 intromissions.
Nombre d'éjaculation (EN) :	Survenue d'une montée avec pénétration vaginale et poussée profonde vers l'avant. La plupart des rats mâles sont capables de faire entre 5 et 8 éjaculations.
Latence de montée (ML) :	Temps en secondes à partir de l'entrée de la femelle réceptive jusqu'à la première montée. La latence de montée est une mesure de la motivation sexuelle, qui devrait être inférieur à 1 minute.

Latence d'intromission (IL) : Temps en secondes entre l'introduction de la femelle et la première intromission.

Latence d'éjaculation (EL) : Temps en secondes entre la première intromission et les signes comportementaux d'éjaculation

Intervalle post-éjaculatoire : Temps écoulé entre l'éjaculation et la prochaine intromission. Il varie généralement entre 4 à 7 minutes.

Indice copulatoire d'intromission) : **d'efficacité (Taux** Calcule par la formule suivant :
$$\text{Nb intromission} / (\text{Nb intromission} + \text{Nb montée})$$

IV.5. Test labyrinthe en crois sur élevé (plus maze) :

Le test du labyrinthe surélevé (plus maze test) est utilisé pour évaluer le comportement de type anxieux et a été réalisé comme décrit précédemment (**Bruijnzeel et al., 2019**). Le dispositif se compose de quatre bras en polypropylène noir. Les bras "ouverts" ont des bords de 0,5 cm et les deux bras "fermés" ont des parois de 30 cm. Les bras ouverts sont placés l'un en face de l'autre. Les bras mesurent 10 cm de large sur 50 cm de long et reposent sur des pieds en acrylique de 55 cm de long. Testé dans une pièce calme et faiblement éclairée. Le test dure 5 minutes. Les paramètres comportementaux suivants ont été automatiquement déterminés : durée et entrées dans les bras ouverts et les bras fermés (**Knight et al.,2021**).

IV.6. Nécropsie et prélèvement des organes :

A la fin de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés le matin après un jeûne de 12 heures par décapitation. Le sang est prélevé pour le dosage de testostérone. Les épидидymes sont soigneusement prélevés, rincés avec du sérum physiologique (NaCl 0,9 %), séchés et pesés, puis conservés pour l'étude des spermogrammes.

Les cerveaux, les vésicules séminales et les testicules sont également prélevés, rincés avec une solution saline (NaCl à 0,9%), séchés puis pesés pour être ensuite fixés dans du formol à 1/10ème pour but de les conservés afin de réaliser une étude histologique.

IV.6.1. Evaluation du poids corporels et poids relatif des organes :

La croissance pondérale de chaque lot de rats a été enregistrée chaque semaine pendant toute la durée de l'expérience, afin de détecter les gains ou les pertes de poids. Le poids du cerveau,

Matériels et méthodes

des testicules, des épидидymes et des vésicules séminales des différents groupes a été enregistré après nécropsie.

Calcul du poids relatif :

$$\text{Poids relatif des organes} = \text{poids des organes (g)} / \text{poids corporel total (g)} \times 100$$

IV.6.2. Dosage de la testostérone :

Après le sacrifice, Des échantillons de sang ont été prélevés dans des tubes secs, puis centrifugés pour obtenir des sérums. Ceux-ci sont séparés dans d'autres tubes à échantillon unique et conservés au réfrigérateur jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour le dosage hormonal. (Méthode électro chimiluminescence. Elecsys).

IV.6.3. Le spermogramme :

Le spermogramme est un examen essentiel pour déterminer la cause de l'infertilité chez des rats. Les informations qu'il apporte doivent être précises et représentatives de l'échantillon obtenu. L'échantillon de sperme est soumis à différentes analyses afin de le quantifier et d'évaluer la qualité du sperme.

IV.6.3.1. Préparation des suspensions spermatique :

Les suspensions de sperme sont préparées en utilisant la technique décrite par **Wang, 2002**.

Après avoir retiré les testicules de chaque rat, l'épididyme a été séparé de celles-ci, puis l'épididyme a été placé dans une boîte de pétri, coupé avec des ciseaux et homogénéisé dans 10 ml de solution saline physiologique (0.9%) à 35-37°C et laissé macéré pendant 15min pour permettre aux spermatozoïdes de se déplacer vers l'extérieur et former la suspension de sperme.

IV.6.3.2. Comptage des spermatozoïdes :

Une aliquote de 0,5 ml de la suspension de sperme préalablement préparée est ajoutée à 2 ml du liquide de dilution (5 g de bicarbonate de sodium, 1 ml de formol et 99 ml d'eau distillée) préparé selon la méthode d'écrite par (**Srinivasulu et Changamma , 2017**). Son but est d'immobiliser le sperme du mouvement, 10 µL de sperme dilué est déposée sur une cellule malassez puis on laisse reposer l'échantillon dans un endroit humide pendant 10 minutes. Les spermatozoïdes sont comptés dans les carrés appropriés de cellule malassez sous un

Matériels et méthodes

microscope optique à un grossissement de 400x. Le nombre de spermatozoïdes par ml de suspension épидидymaire a été calculé selon (Wang ,2002)

$$\text{facteur de dilution} = \frac{\text{Vol. Eau phsio. boite pétri}}{\text{Vol transféré}} \times \frac{\text{Vol. total tube à essai}}{\text{Vol. carré sec.} \times \text{N}^{\circ} \text{ carrés}}$$

IV.6.3.3. Evaluation de la morphologie des spermatozoïdes :

Le spermogramme est l'examen correspondant à l'analyse morphologique des spermatozoïdes au microscope optique, permettant l'exploration de la fertilité masculine (Menkveld et al., 2011; Srivastava et al., 2017). Afin d'évaluer la morphologie des spermatozoïdes, 20 µL de la suspension précédente sont déposés sur une lame. Une fois séché à l'air, les spermatozoïdes sont fixés à l'éthanol 95° pendant 5 minutes, colorés au Violet de Gentiane pendant 3 minutes, puis rincés à l'eau distillée. Un minimum de 200 spermatozoïdes est examiné au microscope optique au grossissement 400 (Yang et al., 2007). Nous les avons classés par ordre d'importance : tête, pièce médiane, et flagelles. Dès qu'une anomalie est identifiée les spermatozoïdes sont directement classés dans les « anormaux ».

IV.6.3.4. Vitalité des spermatozoïdes :

Le test de viabilité à l'éosine-nigrosine est une technique basée sur le principe de la perméabilité des cellules mortes à certains colorants comme l'éosine (membranes plasmiques endommagées). Il permet d'évaluer le pourcentage de spermatozoïdes vivants (Soleimanzadeh et Saberivand, 2013). Nous mettons une goutte de suspension de sperme sur une lame et y ajoutons une goutte d'éosine à 1%. Après 30 secondes, un volume égal de nigrosine est ajouté à ce mélange. Des frottis minces sont préparés et laissés sécher sur les lames. Ils sont ensuite observés au microscope optique au grossissement $G \times 100$. Les spermatozoïdes viables dont la membrane plasmique est imperméable aux colorants restent incolores tandis que les spermatozoïdes morts deviennent perméables et colorés en rouge.

IV.6.3.5. Mobilité :

Une aliquote de 20 µl de suspensions de sperme sont déposés sur la cellule Malassez. La mobilité des spermatozoïdes est déterminée après 10 observation microscopiques au grossissement 40. Nous avons évalué le pourcentage de mobilité en comptant les spermatozoïdes immobiles sur le fond de la lame par rapport aux spermatozoïdes mobiles évoluant à côté.

Matériels et méthodes

Le pourcentage de la mobilité des spermatozoïdes est défini par :

$$\text{Mobilité des spz (\%)} = (\text{nombre des spz mobile / nombre total}) \times 100$$

IV.7. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat 3.5, où les données expérimentales obtenues ont été exprimées en moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (\pm S.E.M). La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur Diabétique et/ou le facteur traitement (Solvant, HEC) suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-New man Keuls. *P \leq 0.05 indique une différence significative ; **p<0.01; indique une différence très significative ; ***p<0.001 indique une différence hautement significative comparés aux témoin.

Résultats et interprétations

Chapitre V: Résultats et interprétations

V.1. Calcul du rendement en huile essentielle :

La méthode d'hydro distillation nous a permis d'obtenir une huile essentielle avec un rendement d'ordre 11.80%.

V.2. Evaluation du taux de glycémie :

Dans la présente étude, une hyperglycémie a été observée 5 jours après une seule administration intrapéritonéale (IP) de streptozotocin (STZ) chez des rats Wistars adultes. Ceci a été confirmé par des niveaux de glucose sanguin significativement élevés dans le groupe hyperglycémique par rapport à la glycémie initiale à jeun des deux groupes. Nous pouvons donc confirmer que le modèle de rat diabétique a été obtenu avec succès. La **figure 18** montre les taux de glycémie de différents groupes avant, après l'induction du diabète et après 12 semaines de traitement à l'huile essentielle de clou de girofle. Il a été constaté que la glycémie augmentait significativement (***: $P < 0.001$) de 1,27 g/l à 5,39 g/l dans le lot diabétique par rapport au lot témoin. De plus il a été observé qu'après le traitement à l'huile essentielle de clou de girofle, on a eu une diminution significative (***: $P < 0.001$) de taux de glycémie pour le lot diabétique traité par rapport au lot diabétique, elle est passée de 5,39 g/l à 2,05 g/l ce qui confirme que l'huile essentielle de clous de girofle a un rôle hypoglycémiant chez les rats diabétiques. En comparant le lot diabétique traité au lot témoin traité, une légère augmentation de la glycémie (**: $P < 0.01$) a été observée dans le groupe diabétique traité, passant d'une valeur de 1,27g/l à une valeur de 2,05g/l.

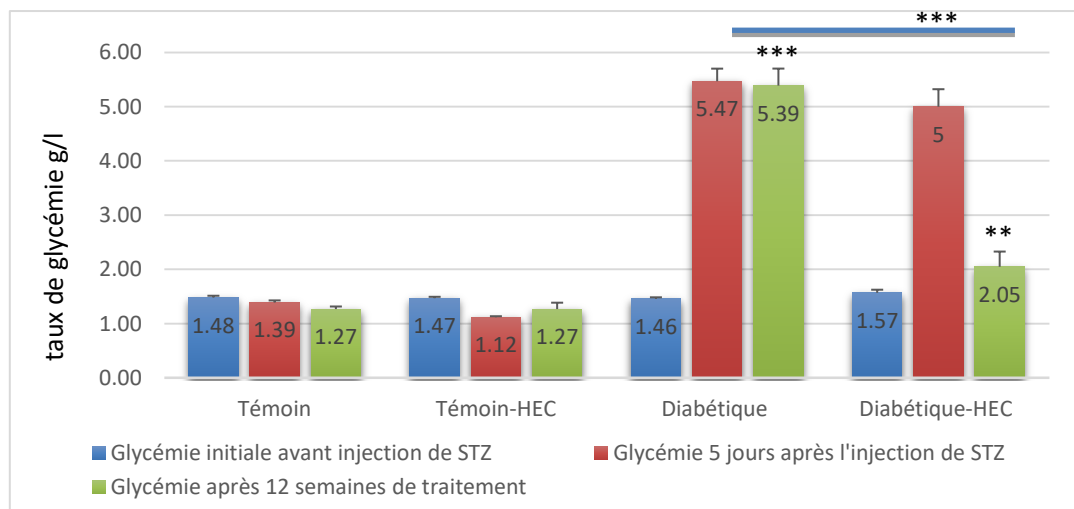


Figure 18 : Le taux de glycémie avant, après l'induction du diabète et après 12 semaine de traitement chez des rats Témoins (T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités à l'HEC(D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :*** : $P < 0.001$ (D vs. T), *** : $P < 0.001$ (D vs. D-HEC), ** : $P < 0.01$ (T-HEC vs. D-HEC).

Chapitre V: Résultats et interprétations

V.3. Analyses statistiques du comportement sexuel :

V.3.1. Test de la motivation sexuelle (Sexual incentive motivation test SIM) :

Les résultats enregistrés concernant ce test indiquent que le nombre de visites est significativement moins important dans la zone d'incitation des femelles (FIZ) chez le lot diabétique par rapport à celui le lot témoins (***: $P<0.001$). Par ailleurs le nombre de visites est significativement diminué dans la zone d'incitation des mâles (MIZ) chez le lot diabétique traité par rapport à celui des rats diabétique (**: $P<0.01$). Grâce à cette comparaison, nous constatons que l'HEC a un effet sur le renforcement de leur motivation sexuelle, nous observons également que le nombre de visites est significativement bas dans la zone FIZ chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin (**: $P<0.01$)(**Figure19**).

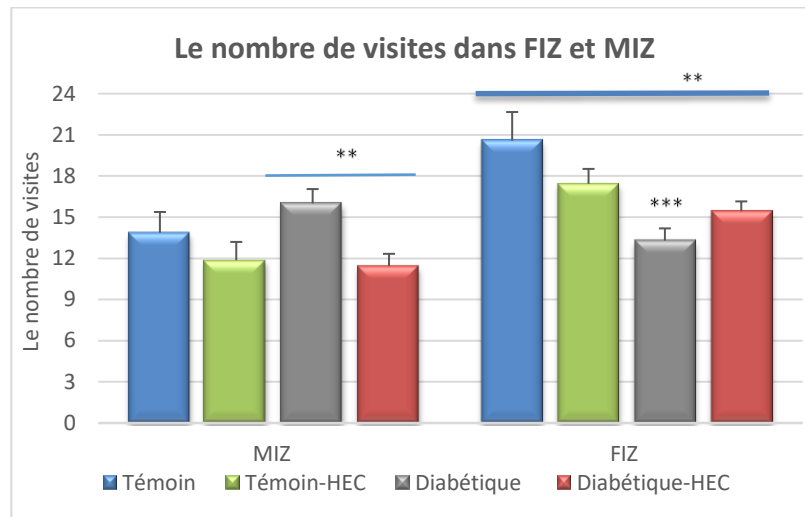


Figure19 : Le nombre des visites des zones FIZ et MIZ chez les rats Témoins, Témoins traités(T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités(D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM: MIZ: **: $P<0.01$ (D vs.D-HEC), FIZ : ***: $P<0.001$ (D vs. T), ***: $P<0.001$ (groupe D vs. Groupe T).

De plus, les résultats obtenus pour le temps de visite mesuré lors du test de 20 min montrent que le temps passé dans la zone d'incitation des femelles FIZ est significativement faible pour le groupe diabétique comparativement à celui du groupe témoin (**: $P<0.01$), Nous remarquons également que le temps passé dans FIZ est significativement important pour le lot diabétique traité par rapport à celui du lot témoin traité (**: $P<0.01$) (**Figure 20**).

Chapitre V: Résultats et interprétations

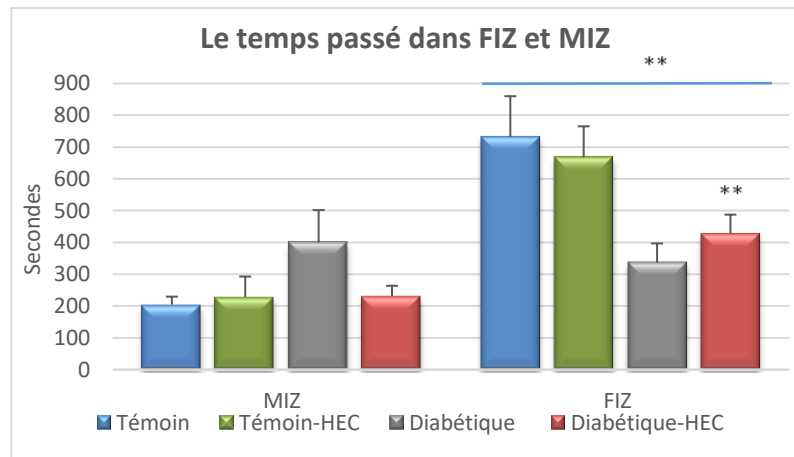


Figure 20 : Le temps des visites exprimé en secondes des zones FIZ et MIZ chez les rats chez Témoins(T), Témoins traités(T-HEC), Diabétique(D), Diabétique traité (D-HEC) Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : FIZ : **: $P < 0.01$ (D vs. T), **: $P < 0.01$ (D vs. T).

L'analyse statistique du pourcentage de préférence mesuré dans ce test a montré que le lot diabétique a un pourcentage de préférence significativement faible (***: $P < 0.001$) en comparaison avec celui du lot témoin ce qui reflète que les rats diabétiques ne présentent pas de préférence sexuelle envers la femelle réceptive. Après l'administration de l'huile essentiel nous remarquons une augmentation significative (*: $P < 0.05$) du pourcentage de préférence chez les rats diabétique traités en comparaison avec celui des rats diabétique (**Figure 21**).

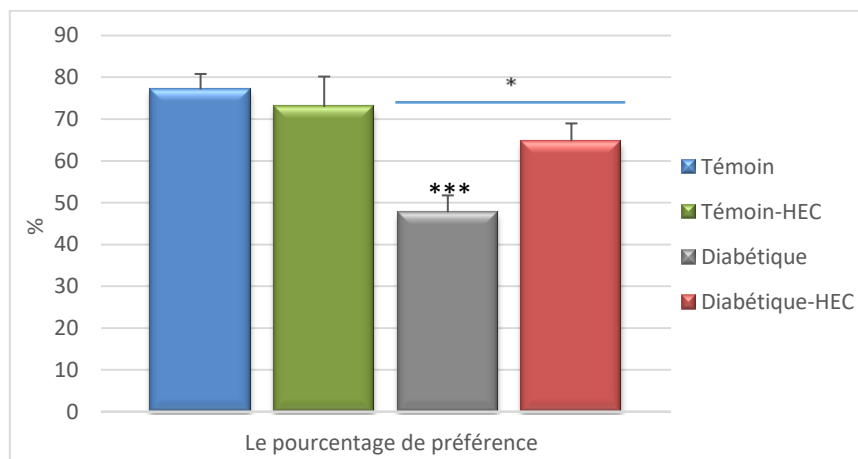


Figure 21 : Le score de préférence en % chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : ***: $P < 0.001$ (D vs. Témoin), *: $P < 0.5$ (D vs. D-HEC).

V.3.2. Test de l'interaction sexuelle (Male sexual behavior test MSB) :

Durant ce test lorsqu'un rat ne copule pas, aucune latence ni aucun intervalle post-éjaculatoire ne peuvent être enregistrés, dans ce cas, le temps limite de l'essai est la valeur attribuée à ce rat (1800 secondes), dans notre étude c'est le cas des rats diabétiques, dont leur interaction

Chapitre V: Résultats et interprétations

sexuelle avec les femelles diffèrent de manière significative par rapport à celle des rats témoins et des rats diabétiques traités par l'HEC.

Les analyses statistiques du test de l'interaction sexuelle ont montré que le temps de latence de montées chez les rats diabétiques augment de manière significative par rapport à celui des rats témoins (***: $P < 0.001$), de plus le nombre de montées est significativement supérieur (***: $P < 0.001$), chez les rats diabétiques par rapport à celui des rats témoins cela indique que le diabète a provoqué un échec d'intromission. Par ailleurs le temps de latence et le nombre de montées ont diminué de manière significative chez les rats diabétiques traités comparé à ceux des rats diabétiques (***: $P < 0.001$, **: $P < 0.01$ respectivement) (**Figure 22**).

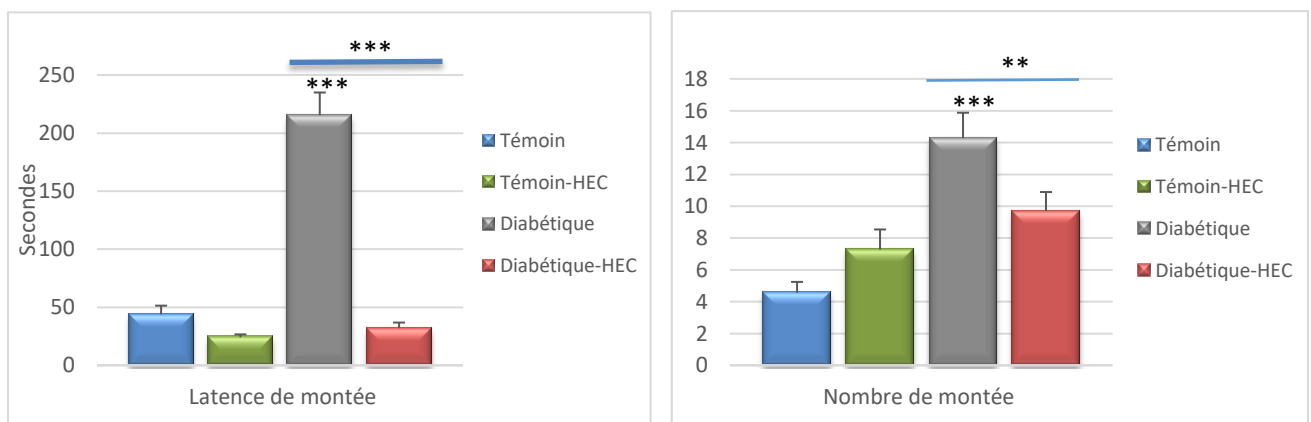


Figure 22 : Le nombre de montée et latence de montées exprimée en secondes chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétiques (D), Diabétiques traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : nombre de montées : ***: $P < 0.001$ (D vs. D-HEC) ***: $P < 0.001$ (D vs. Témoins), latence de montées : ***: $P < 0.001$ (D vs. D-HEC), ***: $P < 0.001$ (D vs. T).

Par ailleurs, les résultats obtenus pour le nombre et la latence des intromissions mesurées dans ce test montrent que le nombre d'intromissions est significativement plus faible (**: $P < 0.01$) chez les rats diabétiques que chez les rats témoins et la latence d'intromission des rats diabétiques significativement plus élevée que celle des rats témoins (***: $P < 0.001$), ce qui indique une faible érection pénienne. Cependant, le test ANOVA révèle que l'administration de l'HEC chez le lot diabétique traité augmente de manière hautement significative le nombre d'intromissions par rapport aux rats diabétique (***: $P < 0.001$), de même le lot témoin traité ont un nombre d'intromission significativement élevé par rapport aux rats témoins (***: $P < 0.001$), et pour le temps de latence d'intromissions, il est significativement plus faible chez les rats témoins traités par rapport aux rats témoins (***: $P < 0.001$) (**Figure 23**).

Chapitre V: Résultats et interprétations

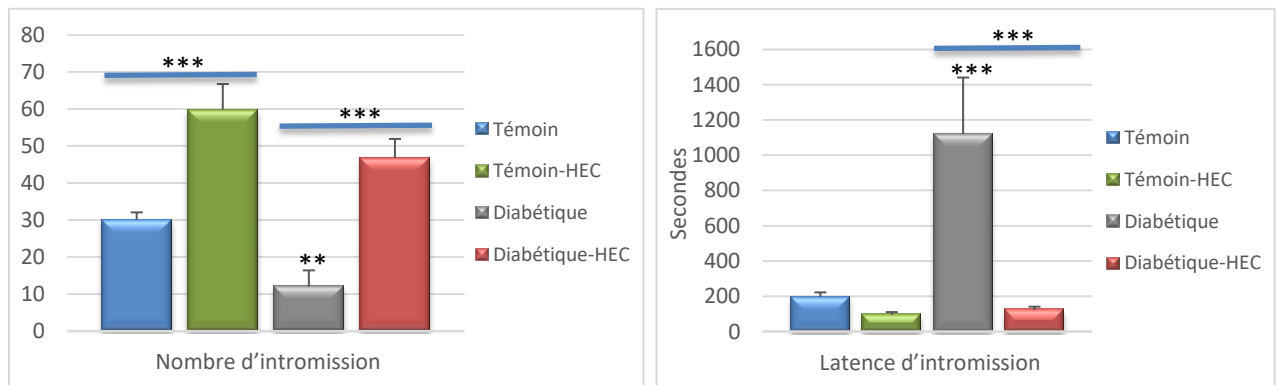


Figure 23: Le nombre d'intromissions et latence d'intromissions exprimée en secondes chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : nombre d'intromissions : **:P<0.01(D vs. T), ***:P<0.001(D vs. D-HEC), ***:P<0.001 (Témoins vs. T-HEC). Latence d'intromissions :***:P<0.001(D vs. T), ***:P<0.001(D vs. D-HEC).

Les données enregistrées montrent que les rats diabétiques diffèrent de manière significative par rapport aux rats témoins dans leurs nombre et temps de latence d'éjaculation, qui sont des indicateurs des performances copulatoires (**Figure 24**). On remarque une diminution hautement significative du nombre d'éjaculation (***: P<0.001), ce dernier diminue de 1.5 chez les rats témoins à une absence d'éjaculations chez les rats diabétiques, cela correspond à une dysfonction érectile nécessaire pour provoquer l'éjaculation, de plus le temps de latence d'éjaculation des rats diabétiques est significativement élevé par rapport à celui des rats témoins et diabétiques traités (***:P<0.001, ***: P<0.001 respectivement). En outre, on remarque que le nombre d'éjaculations s'élève de manière hautement significative après l'administration de l'HEC chez les rats diabétiques traités par rapport aux rats diabétiques (***: P<0.001). De même les rats témoins traités par l'huile essentielle de clou girofle présentent un nombre d'éjaculation élevé de manière significative et un temps de latence d'éjaculations significativement faible par rapport aux rats témoins (*:P<0.05, *:P<0.05 respectivement

Chapitre V: Résultats et interprétations

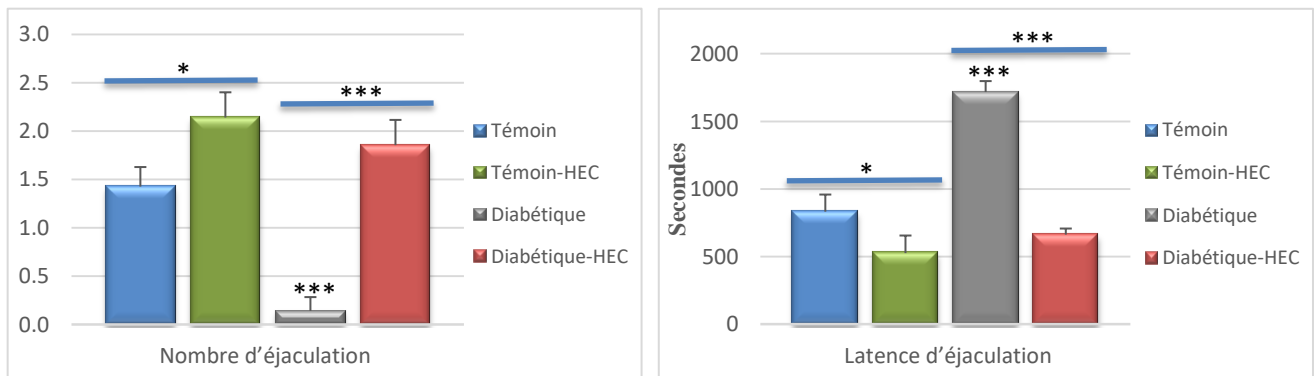


Figure 24 : Le nombre d'éjaculation et latence d'éjaculations exprimée en secondes chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétiques (D), Diabétiques traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : nombre d'éjaculation :***: $P < 0.001$ (diabétique vs. Témoin), *: $P < 0.05$ (témoin vs. T-HEC), ***: $P < 0.001$ (Diabétique vs. D-HEC). Latence d'éjaculations: ***: $P < 0.001$ (Diabétique vs. Témoin), *: $P < 0.05$ (témoin vs. T-HEC), ***: $P < 0.001$ (diabétique vs. D-HEC).

Les résultats relatives à l'intervalle de l'intervalle post éjaculatoire, un paramètre qui est utilisé pour évaluer le temps passé entre la première éjaculation et la prochaine intromission, montrent qu'il y a une augmentation significative pour les rats diabétiques par rapport aux rats témoins et aux rats diabétiques traités(***: $P < 0.001$, ***: $P < 0.001$ respectivement). Cela indique que les rats diabétiques mettent beaucoup de temps entre la première éjaculation et la prochaine intromission.

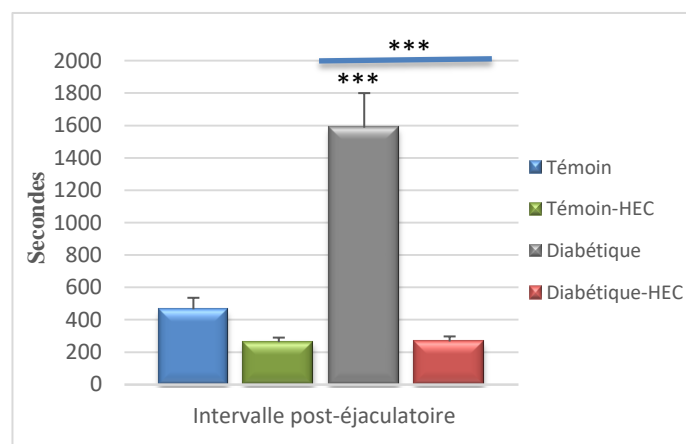


Figure 25 : Intervalle post éjaculatoire exprimée en secondes chez les rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traité à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :***: $P < 0.001$ (D vs. T), ***: $P < 0.001$ (D vs. D-HEC).

En ce qui concerne le taux d'intromission (indice d'efficacité copulatoire), on note qu'il y a une diminution significative (***) : $P < 0.001$ pour les rats diabétiques par rapport a celui des rats témoins ,ce qui indique que les rats diabétiques ont une diminution de la vitesse de copulation, et on note aussi une augmentation significative (***) : $P < 0.001$ pour les rats diabétique traité par rapport aux rats diabétiques.

Chapitre V: Résultats et interprétations

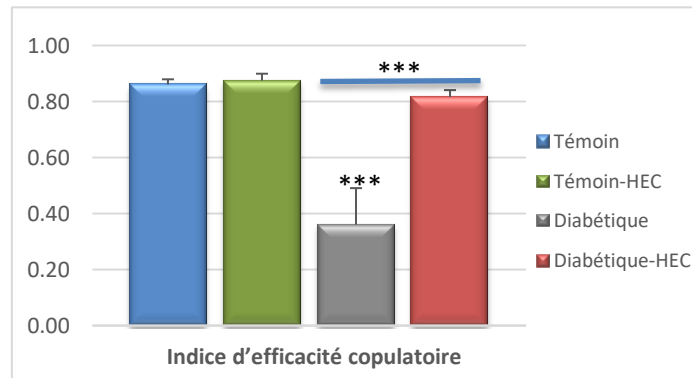


Figure 26 : Indice d'efficacité copulatoire chez les rats Témoin(T), Témoin traités (T-HEC), Diabétiques (D), Diabétiques traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM: *** : $P < 0.001$ (D vs. T), ***: $P < 0.001$ (D vs. D-HEC).

V.4. Le test du labyrinthe en croix surélevé :

Les résultats obtenus montrent que durant le test du labyrinthe en croix surélevé le nombre d'entrée et la durée de séjour dans les bras ouverts sont significativement diminués ($***P < 0.001$; $***P < 0.001$ respectivement) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. En outre, on remarque une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts chez les rats diabétique traité l'HEC ($** P < 0.01$) par rapport à celui des rats diabétiques et aussi une élévation significative ($*P < 0.05$) chez les rats diabétiques traités par rapport a celui des rats témoins traité. Un comportement de type anxieux est donc considéré comme d'autant plus prononcé quand le nombre d'entrées et la durée de séjour dans les bras ouverts sont bas. Ces résultats montrent bien que le diabète réduit fortement leurs facultés exploratrices par son effet anxiogène.

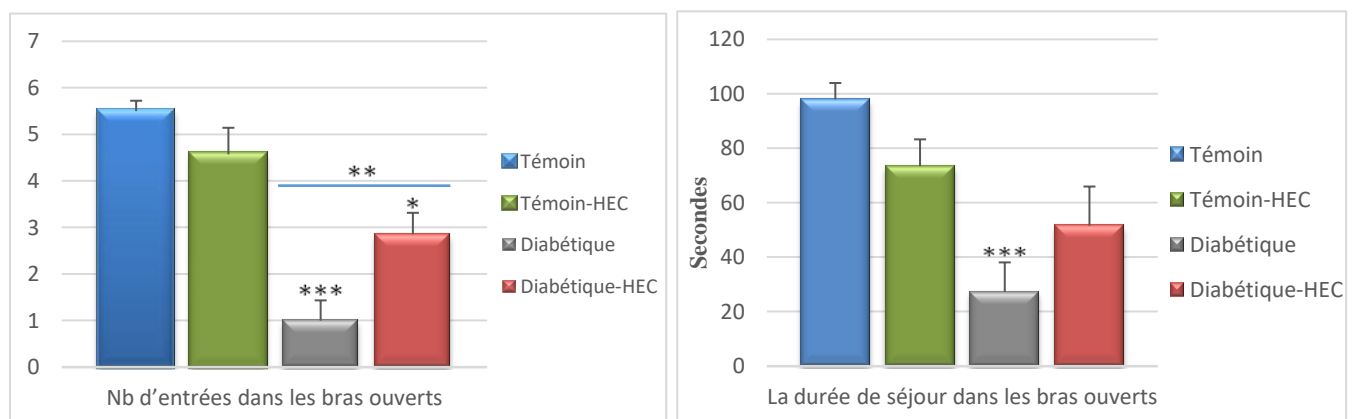


Figure 27 : Le nombre d'entrées et la durée séjour dans les bras ouverts chez les rats Témoin(T), Témoin traités (T-HEC), Diabétiques (D), Diabétiques traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *** le Nb d'entrées dans les bras ouverts : $P < 0.001$ (D vs. T), *: $P < 0.05$ (D-HEC vs. T-HEC), **: $P < 0.01$ (D vs. D-HEC) ; et la durée séjour dans les bras ouverts : $P < 0.001$ (D vs. T) .

Chapitre V: Résultats et interprétations

V.5. Evaluation du développement pondéral :

V.5.1. Evaluation du poids corporel :

L'histogramme représente les poids corporels initiaux et finaux. Les poids initiaux sont égaux pour tous les lots, alors que les poids finaux représentent une diminution significative du poids corporel du lot diabétique (***: $P < 0.001$) par rapport au lot témoin, et on note également que le poids du lot diabétique traité augmente significativement (***: $P < 0.001$) par rapport au lot diabétique, et note également une différence significative entre diabétique traité et témoin traité .

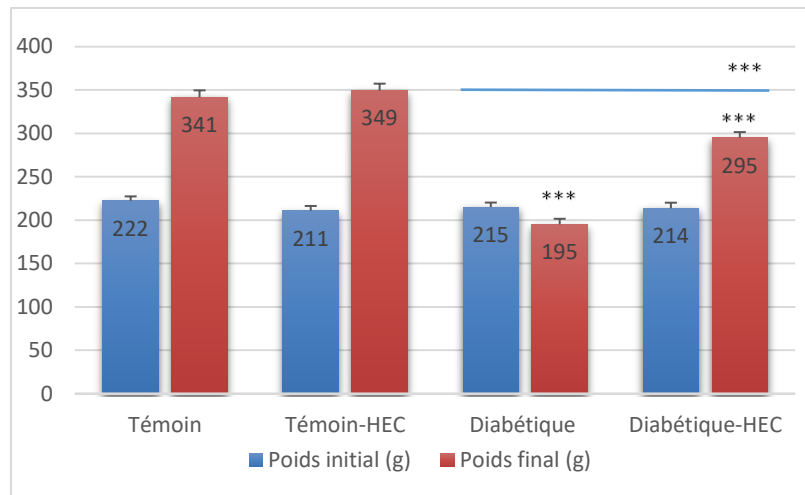


Figure 28 : L'évolution poids corporel chez des rats Témoins(T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique (D), Diabétique traités à l'HEC(D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : *** : $P < 0.001$ (D vs. T), ***: $P < 0.001$ (D vs. D-HEC), ***: $P < 0.001$ (T-HEC vs. D-HEC).

V.5.2 Evaluation du poids des organes :

V.5.2 .1. Evaluation du poids absolu :

Le poids absolu d'un organe est la masse réelle ou absolue d'un organe, indépendamment de sa proportion par rapport au poids total du corps ou à d'autres organes. Il est généralement exprimé en unités de poids telles que les grammes (g) ou les kilogrammes (kg).

Les résultats ont montré une diminution significative des poids absolus des testicules, épидидymes, cerveau, vésicules séminales et prostate (***: $P < 0.001$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, **: $P < 0.01$ respectivement) des rats diabétiques par rapport à ceux des rats témoins. En revanche, nous avons enregistré une importance significative du poids des testicules, épидидymes, cerveau (## $P < 0.01$, ## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ respectivement) du lot diabétique traité par rapport au lot diabétique. De plus, le poids absolu de cerveau est significativement important (* $P < 0,05$) chez les rats diabétiques traités par rapport aux rats

Chapitre V: Résultats et interprétations

témoins traités. En parallèle il y'a une réduction significative du poids absolu du cerveau (**P<0.01) chez les rats témoins traités par rapport aux rats témoins.

V.5.2.2. Evaluation du poids relatif :

Le poids relatif d'un organe désigne la proportion de poids ou de masse que représente un organe donné par rapport le poids corporel.

Les résultats représentent une augmentation significative du poids relatif du lot diabétique par rapport au lot témoin dans chacun des organes suivants : testicule, épидидymes, cerveau et vésicules séminales et prostate (***P<0.001, ***P<0.001, ***P<0.001, *P<0.05 respectivement). Par ailleurs, le poids du lot diabétique traité avec de l'huile essentielle de clou de girofle, présente une diminution significative à la fois des testicules, cerveau et épидидymes (### < 0.001, ## <0.01, ### < 0.001 respectivement) par rapport a ceux du lot diabétique. En revanche, on note une élévation significative du poids relatif du l'épididyme et cerveau du lot diabétique traité par rapport au lot témoin traité (*P<0.05, **P<0.01respectivement).

Tableau 04 : Le poids relatif et poids absolu des organes chez les rats Témoins (T), Témoins traités (T-HEC), Diabétique(D), Diabétique traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*) comparaison par rapport au lots témoin, (#) comparaison par rapport au lots diabétiques

	Organes	Lots	Témoin	Témoin-HEC	Diabétique	Diabétique-HEC
Poids total absolu (g)	Testicules		1.82 \pm 0.06	1.78 \pm 0.06	1.36 \pm 0.03***	1.63 \pm 0.06##
	Epididymes		0.64 \pm 0.02	0.59 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02**	0.62 \pm 0.04##
	vésicules séminales + Prostate		2.27 \pm 0.07	2.02 \pm 0.12	1.58 \pm 0.07**	2.02 \pm 0.28
	Cerveau		1.93 \pm 0.03	1.82 \pm 0.03**	1.74 \pm 0.02***	1.90 \pm 0.02####*
Poids total relatif	Testicules		0.53 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02	0.70 \pm 0.03***	0.56 \pm 0.03###
	Epididymes		0.19 \pm 0.01	0.17 \pm 0.00	0.27 \pm 0.02***	0.21 \pm 0.02 ##*
	vésicules séminales+Prostate		0.66 \pm 0.02	0.58 \pm 0.03	0.81 \pm 0.03*	0.68 \pm 0.09
	Cerveau		0.57 \pm 0.02	0.45 \pm 0.08	0.90 \pm 0.03***	0.65 \pm 0.02####**

Chapitre V: Résultats et interprétations

V.6. Evaluation des taux de la Testostérone :

Afin de justifier le comportement copulatoire des rats nous avons procédé a déterminé le taux de l'hormone sexuelle la testostérone. Les résultats obtenus révèlent une diminution significativement importante (**P<0.001) du taux de la testostérone chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins.

En plus, l'analyse statistique révèle que l'administration de l'HEC chez le lot diabétique traité augmente de manière significative (###P<0.001) le taux sérique de la testostérone comparativement à ceux des rats diabétiques. On remarque également que le taux de la testostérone s'élève de manière significative (**P<0.001) chez le lot témoin traité par rapport au lot témoin.

Tableau 05 : Taux sériques de l'hormone sexuelle la testostérone chez les rats Témoins, Témoins traités (T-HEC), Diabétique(D), Diabétique traités à l'HEC (D-HEC). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (*) comparaison par rapport au lots témoin, (#) comparaison par rapport au lots diabétiques

Les lots	Taux de la testostérone (ng/ml)
Lot Témoin (T)	1.23
Lot Témoin traité (T-HEC)	3.26***
Lot Diabétique (D)	0.11***
Lot Diabétique traité (D-HEC)	3.16###

V.7. Etude du spermogramme :

V.7.1. Comptage des spermatozoïdes dans l'épididyme :

Les résultats du spermogramme montre que une diminution significativement importante (**P: P<0.001) du nombre des spermatozoïdes épидидymaires chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, ce qui reflète une oligospermie (spermatozoïdes en quantité anormalement faible). L'administration de l'HEC chez le lot diabétique traité augmente de manière hautement significative (## : P<0.01) le nombre de spermatozoïdes comparativement aux rats diabétiques.

V.7.2. Morphologie :

les résultats obtenus indiquent une élévation significative (**P: P<0.001) du pourcentage des anomalies spermatiques chez les rats diabétiques comparés a celui des rats témoins on

Chapitre V: Résultats et interprétations

remarque que le diabète a entraîné les anomalies suivantes : spermatozoïdes à flagelle angulé, spermatozoïdes à flagelle amputé, spermatozoïdes sans tête, ainsi que des anomalies de la pièce intermédiaire. L'administration de l'HEC chez le lot diabétique traité diminue de manière significative (###: $P < 0.001$) Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux comparativement aux rats diabétiques et il y'a une augmentation (**: $P < 0.01$) chez le lot diabétique traité par rapport les rats témoin traitée. L'HEC influence la spermatogenèse et donc la morphologie des spermatozoïdes, la majorité de ces derniers présente alors une structure normale.

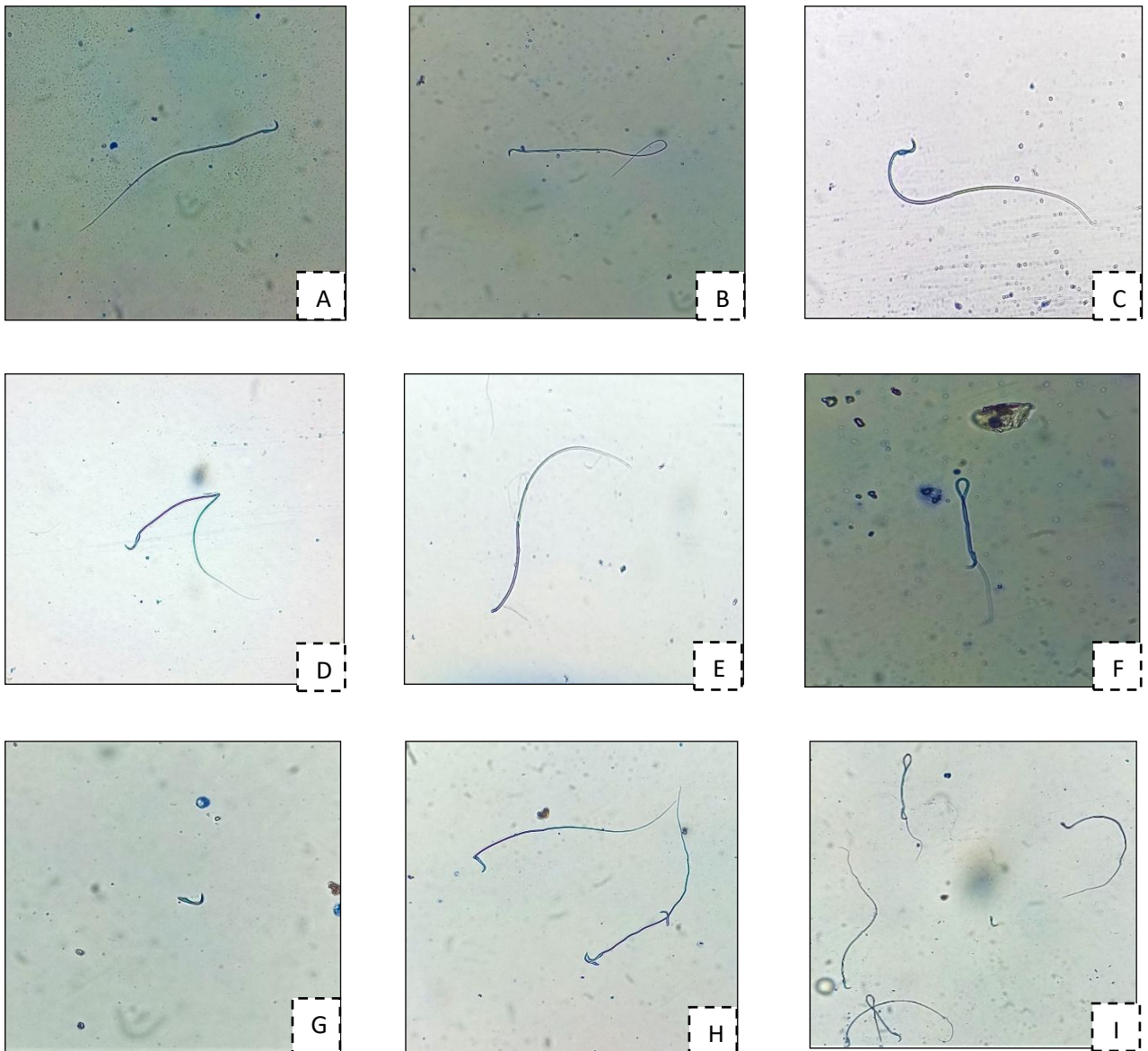


Figure 29 : Observation microscopique de la morphologie des spermatozoïdes grossissement ($G \times 400$) A : spermatozoïde normal, B : spermatozoïde à queue tordue, C : spermatozoïde angulé, D : spermatozoïde queue courbée, E : spermatozoïde sans tête, F : spermatozoïde enroulé, G : spermatozoïde à flagelle amputé, H : anomalies de la pièce intermédiaire, I : des spermatozoïdes anormal .

Chapitre V: Résultats et interprétations

V.7.3. Vitalité :

Les résultats du pourcentage de vitalité des spermatozoïdes ont montré que le lot diabétique présentait des valeurs significativement plus faibles (***) $P < 0,001$ par rapport au lot témoin. De plus il a été observé qu'après le traitement à l'huile essentielle de clou de girofle une augmentation significative (### : $P < 0,001$) de vitalité chez des rats diabétiques traitées par rapport aux rats diabétiques. En comparant le lot diabétique traité au lot témoin traité une diminution significative (***) : $P < 0,001$ perdu pourcentage de vitalité des spermatozoïdes.



Figure 30 : Observation microscopique d'un frottis spermatique montrant un spermatozoïde coloré en rose (mort) et un spermatozoïde incolore (vivant) $G \times 100$

V.7.4. Mobilité :

Par ailleurs, les résultats obtenus ont révélé une diminution significativement importante (***) : $P < 0,001$ du pourcentage de mobilité des spermatozoïdes épидидymaires chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. Cependant l'administration de l'HEC chez les rats diabétiques traités entraîne une élévation significativement importante (### $P < 0,001$) du pourcentage de mobilité des spermatozoïdes par rapport à celui des rats diabétiques et on note aussi une augmentation de ce dernier chez des rats témoins traités par rapport aux rats diabétiques traité (***) : $P < 0,001$).

Chapitre V: Résultats et interprétations

Tableau 07 : Evaluation des différents paramètres spermatique.

Groupe	Nombre des spermatozoïdes (10 ⁶ spz/ml)	Taux de spermatozoïdes anormaux (%)	Taux de spermatozoïdes vivants (%)	Taux de spermatozoïdes mobiles (%)
Témoin	14.4±1.77	25.3±4.25	78.0±2.00	60.01±3.00
Témoin-HEC	13.7±2.03	25.0±3.00	77.0±2.00	53.07±0.75
Diabétique	5.0±1.12***	62.3±2.75***	17.8±7.75***	19.61±1.12***
Diabétique-HEC	11.8±1.21##	33.0±2.00####**	52.8±0.75####***	45±1.12####***

Discussion

Discussion

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie et également associé à une morbidité et une mortalité élevées (WHO, 2021). Ce trouble résulte d'une altération du métabolisme des glucides, des protéines et des graisses, due à une activité inadéquate ou inefficace de l'insuline (American Diabetes Association, 2009). Le diabète influence les performances reproductives à différents niveaux tels que le contrôle endocrinien de la spermatogénèse, le processus de spermatogénèse, l'érection pénienne et l'éjaculation (Chung et al., 2001).

Au cours des dernières décennies, les plantes aromatiques ont été documentées comme une source importante de nouvelles molécules pharmaceutiques très efficace contre de nombreuses maladies. Les huiles essentielles dérivées de ces plantes ont été signalées comme ayant diverses activités pharmacologiques, en particulier des activités antimicrobienne, insecticide, antioxydante, analgésique, anti-tumorale, anti-inflammatoire et des effets antidiabétiques (Batiha et al., 2020). L'huile essentielle des clous de girofle (HEC) est bien connue pour ses propriétés aphrodisiaques et a été largement utilisé pour traiter les troubles sexuels masculins (Mishra et Singh, 2013).

VI.1. Rendement en huile essentielle :

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été obtenu par hydrodistillation avec un rendement de 11.80%. Ceci est en accord avec les travaux de Selles et al., (2020) qui ont obtenu une huile essentielle avec un rendement de 11.8 %. Par ailleurs les travaux de Tunç et Koca, (2019) ont rapporté un rendement de 8.23 ± 0.35 % et 11.6 ± 0.7 %. Cette différence en rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine géographique, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (Selles et al., 2020).

VI.2. Effet de diabète et de l'huile essentielle sur le comportement sexuel :

VI.2.1. Effet de diabète et du clou de girofle sur la motivation sexuelle (Sexual incentive motivation test SIM) :

L'induction du diabète avec 40 mg/kg de streptozotocine (STZ) pendant 12 semaines a exercé des effets cohérents sur la motivation sexuelle. Notamment en ce qui concerne le nombre et la durée des séjours dans les zones d'incitations ainsi que le degré de préférence. Les résultats de notre étude montrent que le diabète affecte négativement la motivation sexuelle chez les rats mâles en augmentant le nombre de visites et en allongeant le temps de séjour dans la zone

Discussion

d'incitation mâle (ZIM) et donc le degré de préférence est diminué. Dans ce test, une préférence pour la femelle réceptive indique une forte motivation sexuelle (**Moreira et al., 2020**). Le nombre et la durée des visites à proximité de l'incitateur sexuel ainsi que le score de préférence sont des indicateurs de l'intensité de cette motivation (**Chu et Ågmo, 2016 ; Chu et al., 2021**). Certains travaux montrent que le diabète, la diminution de la motivation sexuelle (libido) est fréquente (25 %) chez les hommes et est principalement due à des anomalies de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HHG), elle causée par la baisse du taux de testostérone, en plus d'autres troubles sexuels (**Malavige et al., 2008**). Par ailleurs, l'analyse des paramètres de la motivation sexuelle mesurés lors de ce test chez les rats témoins traités et diabétiques traités par l'HEC à une dose de 0.1 ml/kg p.c. montrent qu'ils ont présenté un nombre de visites élevé et un temps de séjour prolongé dans la zone d'incitation des femelles (FIZ) ainsi qu'un score de préférence élevé par rapport aux groupes diabétiques, ce qui indique que les deux groupes traités par HEC ont montré une plus grande préférence pour l'incitation sexuelle que pour l'incitation sociale. ce résultat concorde avec l'étude de **Chu et Ågmo, 2016** qui ont confirmé qu'une augmentation à la fois du score de préférence et du temps passé avec la femelle est nécessaire pour conclure que la motivation sexuelle a augmenté. **Batiha et al., (2020)** ont rapporté que le clou de girofle possède un effet stimulant du comportement sexuel chez les souris mâles. En outre, ils ont montré une augmentation de la performance copulatoire chez les souris par rapport à une augmentation de la motivation sexuelle. De même, **Tajuddin et al., 2004** ont révélé que l'extrait éthanolique du clou de girofle peut augmenter l'activité sexuelle mâle. Par conséquent, il a été largement utilisé en phytothérapie comme aphrodisiaque.

VI.2.2. Effet de diabète et clou de girofle sur l'interaction sexuelle (Male sexual behavior test MSB) :

Les stimuli sexuels incitatifs activent la motivation sexuelle et augmentent le niveau d'excitation générale. La motivation sexuelle pousse l'individu à s'approcher et à interagir avec l'incitatif, et finalement à initier des actes sexuels (**Ågmo et Laan, 2022**).

Dans la présente étude, le diabète a été testé pour voir son effet sur le comportement sexuel. Les résultats de ce test montrent que le diabète affecte négativement l'interaction sexuelle des rats mâles en modifiant le nombre et la latence des actes copulatoires suivants : la montée, l'intromission et l'éjaculation, ainsi que l'intervalle post éjaculatoire, et l'indice d'efficacité copulatoire (Taux d'intromission).

Discussion

Le test de l'interaction sexuelle a révélé que le diabète diminue significativement le nombre des montées, qui est le nombre de fois où le mâle a adopté la position copulatoire mais n'a pas réussi à réaliser l'intromission, alors que le diabète a entraîné une diminution des intromissions par rapport au témoin. Les deux paramètres copulatoires sont considérés comme des indices de la motivation sexuelle et de la puissance selon **Jayaraman et al., 2015**. Donc, c'est une indication que le diabète possède un effet de régression de la fonction sexuelle. Concernant le nombre d'éjaculation on remarque une absence d'éjaculations chez les rats diabétiques ce qui reflète une faible puissance de l'érection de pénis qui est nécessaire pour provoquer l'éjaculation.

De même, le diabète s'est avéré produire un prolongement significatif du temps de la latence de montée, la latence d'intromission et la latence éjaculatoire par rapport aux animaux témoins. Il faut signaler que ces latences sont inversement proportionnelles à la motivation sexuelle selon **Jayaraman et al., 2015**. L'augmentation significative de la latence de montée observée chez les rats diabétiques indique une élévation du temps d'hésitation des rats mâles envers les femelles (**Chu et Ågmo, 2016 ; Jayaraman et al., 2015**). En outre, l'augmentation de la latence d'intromission donne une indication sur la difficulté de l'érection et l'inefficacité des muscles ischio-caverneux ainsi que de l'incapacité du mâle à orienter sa région pelvienne par rapport à la position exacte de la femelle (**Chu et Ågmo, 2016**). L'augmentation de la latence de l'éjaculation révèlent à la fois une réduction de l'intensité du comportement copulatoire et une réduction de la quantité de stimulation sensorielle nécessaire pour activer le réflexe éjaculatoire selon **Chu et Ågmo, 2016**. En outre, **Jayaraman et al., 2015** rapportent que l'intervalle post-éjaculatoire (IPE) est considéré à la fois comme un indice de la puissance et de la motivation sexuelle, ainsi qu'un paramètre du taux de récupération après l'épuisement de la première série d'accouplement. Cet intervalle a été trouvé significativement élevé chez les rats diabétiques. En ce qui concerne le taux d'intromission, on note qu'il y a une diminution significative pour les rats diabétiques par rapport à celui des rats témoins. Les Mécanismes sous-jacents au dysfonctionnement érectile induit par le diabète impliquent des altérations au niveau de l'hypothalamus (**Awad et al., 2010 ; Barkabi et al., 2020**), ainsi que du taux de testostérone dans le sang, qui pourraient être dues à l'altération de la signalisation GnRH-LH (**Jayaraman et al., 2015**). Ce dysfonctionnement érectile chez les diabétiques se caractérise par une augmentation des produits finaux de glycation avancée (AGE), des niveaux de radicaux libres d'oxygène, une altération de la synthèse de l'oxyde nitrique, une augmentation des sites de liaison des récepteurs de l'endothéline B, une augmentation de la

Discussion

voie RhoA/Rho kinase, des lésions nerveuses et une altération du monophosphate (cGMP) protéine kinase 1 approuvé (**Thorve et al., 2011**). Le monoxyde d'azote (NO) est produit par l'endothélium des artères du pénis et il agit comme médiateur de la relaxation des corps caverneux par la formation de GMPc (**Cellek et al., 1999**). Il est rapporté que la NO synthase est réduite chez les hommes diabétiques souffrant de dysfonction érectile (**Barkabi et al., 2020**). L'absence d'éjaculations chez des rats diabète entrave la relaxation des muscles lisses du pénis par le NO, contribuant au dysfonctionnement endothélial global (**Angelis et al., 2001**). Les recherches sur les complications sexuelles du diabète ont montré que les diabétiques se plaignent de difficultés à éjaculer (**Bellastella et al., 2015**). L'hyperglycémie endommage divers organes par trois voies principales dans la pathogenèse que sont le flux de la voie des polyols, la formation de produits finaux de glycation avancée (AGE) et l'activation des isoformes de la protéine kinase C (PKC). Ces trois voies entraînent une surproduction de superoxyde par la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, qui inhibe à son tour l'enzyme glycolytique glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase (GAPDH), ce qui finit par endommager les organes (**Niwas et al., 2014 ; Reus et al., 2019**). En outre, une autre étude a indiqué que l'hyperglycémie pouvait activer la PKC et la voie des polyols dans le testicule des souris DT1, à l'exception de l'épididyme (**Maresch et al., 2019**). En contrepartie, le test de l'interaction sexuelle a révélé que l'administration de l'HEC à une dose de 0.1 ml/kg p.c. chez des rats mâles possède une activité d'amélioration de l'interaction sexuelle et ceci a été observé à travers l'augmentation significative du nombre de montée, d'intromission et d'éjaculation. Cependant, l'HEC a entraîné une diminution significative du temps de latence de montée, d'intromission et d'éjaculation, ainsi que de l'intervalle post éjaculatoire, ce qui peut être justifié par l'activité aphrodisiaque de l'HEC. **Jayaraman et al., 2015** indiquent que cette activité aphrodisiaque se manifeste soit en augmentant la biosynthèse et la sécrétion d'androgènes, Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Tajuddin et al., 2004**, qui montrent que l'extrait éthanolique de clou de girofle possède une activité significative d'amélioration de la fonction sexuelle observée lors des tests de comportement sexuel chez des rats albinos mâle. Cette activité est dû à la présence des stéroïdes et des composés phénoliques dans le *Syzygium aromaticum* qui ont été scientifiquement prouvés comme étant responsables de l'activité aphrodisiaque (**Jayaraman et al., 2015**).

VI.3. L'évaluation du niveau d'anxiété par le test neurocomportemental croix surélevé :

Nos résultats montrent une diminution du nombre de visites et du temps de séjour dans les bras ouverts chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. L'hyperglycémie chez les

Discussion

rats diabétiques provoque une augmentation des niveaux de noradrénaline et de sérotonine dans leur cerveau, ce qui est lié à une augmentation de l'anxiété chez ces animaux, ces constatations suggèrent que ces neurotransmetteurs pourraient jouer un rôle important dans le développement de l'anxiété associée au diabète (**Ramanathan et al., 1998.**) Des travaux menés par **Trimarchi et al., (1987)**, ont démontré que les niveaux de GABA dans l'hypothalamus et le tronc cérébral sont réduits chez des rats atteints de diabète induit par la STZ. Ces observations suggèrent que, en plus de l'activité sérotonergique et noradrénergique, des altérations dans le système GABAergique pourraient également contribuer à l'anxiété. Ainsi, l'équilibre et le fonctionnement de ces neurotransmetteurs dans le cerveau pourraient jouer un rôle crucial dans la régulation de l'état anxieux, en particulier chez les rats diabétiques soumis à la STZ. En outre, l'administration de l'huile essentielle de girofle (0,1ml/kg/p.c.) augmente de manière significative le temps passé dans les bras ouverts chez les rats diabétiques traités par rapport aux rats diabétiques cela montre bien que, l'HEC a un effet anxiolytique. Ce résultat est en accord avec les travaux de **Galal et Abdellatif, 2015** qui suggèrent que l'activité anxiolytique de clou de girofle peut être attribuée à une augmentation de la concentration de GABA dans le cerveau.

VI.4. L'évaluation de la glycémie avant et après l'injection de streptozotocine :

Après 12 semaines d'expérimentation, la glycémie finale est restée plus élevée par rapport à la glycémie initiale, cette augmentation persistante de la glycémie indique que le diabète induit par la STZ a eu un effet durable sur la régulation de la glycémie chez les rats diabétiques.

L'insuline est essentielle pour réguler la glycémie en favorisant l'absorption du glucose dans les cellules et en inhibant la production de glucose dans le foie. Lorsque la production d'insuline est insuffisante, le glucose s'accumule dans le sang, provoquant une hyperglycémie caractéristique du diabète. La STZ pénètre dans les cellules bêta via le transporteur de glucose GLUT2 et subit une réaction chimique en présence d'ions métalliques, formant ainsi des radicaux libres toxiques et des produits cytotoxiques qui endommagent gravement l'ADN des cellules bêta, perturbant leur fonction normale, et donc la STZ provoque une altération sévère des cellules bêta pancréatiques, en réduisant la production d'insuline et entraînant ainsi une augmentation durable de la glycémie chez les rats diabétiques (**Eleazu et al., 2012 ; Patel et al., 2009 ; Lenzen, 2008 ; O'Brien et al., 1996**). Après un traitement à l'huile de clou de girofle, on remarque une diminution de la glycémie et son retour à des valeurs normales. **Mbaveng et Kuete, (2017)** ont dit que l'huile de clou de girofle a une propriété

Discussion

antidiabétique, ils ont constaté que le clou de girofle et l'insuline régulent l'expression des gènes liés au diabète, tels que le gène de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) et le gène de la glucose 6 phosphatase (G6Pase), de manière similaire (**Mbaveng et Kuete, 2017**), ils ont étudié les propriétés antidiabétiques des extraits phénoliques libres et liés des bourgeons de clou de girofle contre les enzymes hydrolysant les hydrates de carbone (alpha-amylase et alpha glucosidase) dans le pancréas de rat. Les résultats ont révélé que les deux extraits inhibaient l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase de manière dose-dépendante (**Adefegha et al., 2014**).

VI.5. Poids corporel :

Dans notre étude, les résultats relatifs aux poids corporels ont révélé qu'une seule injection de STZ provoque le diabète et affecte négativement le poids corporel chez les rats diabétiques. D'autres études rapportent des résultats similaires, en soulignant une diminution du poids corporel après avoir induit un diabète par une injection intrapéritonéale de 40 mg/kg p.c de STZ (**Naziroglu 2003, Naziroglu et al., 2011**). **Soudamani et al., (2005)** ont suggéré que la réduction du poids corporel, observée chez les rats diabétiques induits par la STZ, pourrait être corrélée à un effet cumulatif de la diminution de l'insuline, de l'hormone de croissance et des hormones thyroïdiennes. Cependant, **Hassan, (2001)** a constaté une augmentation significative du poids corporel des rats hyperglycémiques et a supposé que cela pouvait s'expliquer par l'altération du le quel, lipidique, glucidique ou proteique, dans l'état diabétique. L'administration de l'huile essentielle de *S.aromaticum* aux rats diabétiques a permis d'observer une nette augmentation dans le poids corporel ceci comparé aux animaux diabétiques et non traités. Ce regain de poids enregistré pourrait être dû à la présence de composés terpénoïdes qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules (**Vinay et al., 2011**) et avec ceux d'**Anbu et Anuradha, (2012)** qui ont indiqué que l'eugénol peut avoir un effet bénéfique pour corriger la perte de poids chez l'animal.

VI.6. Poids des organes :

VI.6.1. Poids des testicules :

Les testicules sont facilement affectés par les facteurs génétiques, les changements hormonaux et les pathologies telles que le diabète. Nos résultats poids des testicules indique que le diabète a entraîné une diminution significative chez les rats diabétiques

Discussion

comparativement aux rats témoins. Ce résultat est en accord avec les résultats de **Koroglu et al., 2015**.

Cependant, l'évaluation du poids des testicules chez les rats diabétiques traités et témoins traités indique que l'administration de l'HEC a entraîné une augmentation significative du poids des testicules comparativement aux diabétiques. Ces données sont cohérentes avec les résultats de (**Moghimian et al., 2018 ; Boudou et al., 2013**) montrant que l'administration de clou de girofle augmente significativement la concentration de testostérone dans le sang, et cela peut s'expliquer par le pouvoir anti-inflammatoire du clou de girofle dû à sa richesse en polyphénols (eugénol) qui agissent comme un anti-inflammatoire. Un oxydant puissant qui prévient la peroxydation des lipides et prévient les dommages causés par le stress oxydatif causé par le diabète au niveau des testicules afin que les testicules fabriquent plus de testostérone, permettant la maturation des spermatozoïdes et le développement de la taille des testicules et du pénis.

VI.6.2. Poids du cerveau :

Les résultats relatifs aux poids des cerveaux ont révélé qu'il y a une diminution significative de ceux des rats diabétiques par rapport aux ceux des témoins. Certains chercheurs ont montré que les rats diabétiques présentaient une réduction significative du poids du cerveau par rapport aux rats non diabétiques (**Beauquis et al., 2008**). L'administration d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* aux rats diabétiques a permis d'observer une nette augmentation dans le poids cérébral comparé à celui des rats diabétiques non traités. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par **Adli et al., 2014** qui montrent que l'administration de l'huile essentielle de clou de girofle chez des rats préalablement exposés au manganèse a permis d'observer une récupération normale du poids cérébral, ce qui pourrait mettre en évidence l'effet bénéfique de la plante. Cela est probablement dû à l'effet de l'eugénol qui stimule le développement du cerveau.

VI.6. Effet de diabète et du clou de girofle sur les niveaux de la testostérone :

La testostérone est cruciale pour la spermatogenèse et un niveau élevé de testostérone est essentiel pour la physiologie normale des tubules séminifères. Dans notre étude, on a observé une diminution significative de la testostérone chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. La régulation des hormones sexuelles, en particulier la testostérone, est un aspect fondamental du fonctionnement du système reproducteur masculin (**Ayuob et al., 2015**). Des

Discussion

études ont montré que chez les rats diabétiques, il y a une nette diminution des taux de testostérone sérique, ce qui soulève des questions importantes concernant les effets du diabète sur la fonction sexuelle et la fertilité masculine (**Ballester et al., 2004**). La testostérone joue un rôle crucial dans la spermatogenèse, le processus de production de spermatozoïdes, qui a lieu dans les tubules séminifères des testicules. Elle agit également dans tout le corps en fournissant un rétrocontrôle à l'hypophyse pour réguler la production d'hormones sexuelles. Les cellules de Leydig, qui sont stimulées par les androgènes tels que la testostérone, jouent un rôle central dans le maintien de la libido masculine et la régulation de la spermatogenèse (**Murray et al., 1981**). Cependant, des études ont rapporté des altérations dans les cellules de Leydig chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (STZ) (**Ballester et al., 2004**). Une diminution du nombre de cellules de Leydig et des altérations de leur fonction ont été observées, ce qui suggère une perturbation de la synthèse de la testostérone. Cette perturbation hormonale potentielle pourrait avoir des conséquences sur la libido et la capacité sexuelle chez les rats diabétiques (**Ayuob et al., 2015**). En outre, l'administration de l'huile essentielle du clou de girofle aux rats à une dose de 0.1 ml/kg p.c. a permis d'observer une nette augmentation du taux sérique de la testostérone chez les rats diabétiques traités. Ce résultat est en accord avec ceux de **Moghimian et al., (2017)**; **Moghimian et al., (2018)**; **Boudou et al., (2013)** qui montrent que l'administration du clou de girofle augmente de manière significative la concentration sérique de la testostérone, cela peut être expliqué par le pouvoir antioxydant du clou de girofle dû à sa richesse en polyphénols (eugénol) qui agit comme un puissant antioxydant qui inhibe la peroxydation lipidique et empêche les dommages causés par le stress oxydatif induit par le diabète dans les testicules ou bien dû à l'effet direct de cette plante sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, ou les deux.

VI.6. Effet du diabète et du clou de girofle sur le spermogramme :

Nos résultats montrent une diminution significative dans le nombre de spermatozoïdes, les pourcentages de motilité, viabilité et la morphologie normale des rats diabétiques par rapport aux rats témoins, et chez le lot diabétiques traités avec de l'huile de girofle on a remarqué une augmentation significative du nombre des spermatozoïdes, des pourcentages de la motilité, la vitalité et la morphologie normale par rapport à ceux des rats diabétiques et témoins traités avec de l'huile de girofle.

La spermatogenèse est un processus complexe qui peut être affecté par de nombreux facteurs susceptibles de réduire la fertilité chez les hommes. L'un de ces facteurs est le stress oxydatif,

Discussion

qui peut être induit par l'accumulation de ROS en raison d'un déséquilibre entre le système antioxydant et les oxydants (Jalili, Khani, et al., 2014 ; Jalili, Salahshoor, et al., 2014). Il semble qu'une augmentation de la glycémie augmente le stress oxydatif par un déséquilibre entre l'oxydation et la revitalisation, une augmentation de l'activité de l'aldose réductase, une augmentation du produit final de la glycosylation, des changements dans l'activité de la protéine kinase C, un déséquilibre des prostanoïdes et une augmentation de la production de superoxyde mitochondrial (Kellogg et Pop- Busui, 2005).

Les ROS peuvent affecter la synthèse de l'ADN et de l'ARN dans les spermatozoïdes et éventuellement inhiber la fonction mitochondriale (Jalili et al., 2016). Salahshoor et al., (2018) ont montré que l'induction du diabète chez les rats diminuait significativement leur nombre de spermatozoïdes, leur viabilité, leur motilité et leur morphologie normale par rapport au groupe témoin, ce qui est en accord avec les résultats de la présente étude. En fait, le stress oxydatif agit de la même manière sur les cellules germinales sexuelles et perturbe leur division et leur différenciation, en diminuant le nombre de spermatogonies sur la membrane basale et en réduisant le nombre de spermatozoïdes primaires et secondaires, de spermatides et de spermatozoïdes matures (Mahdavi et al., 2009). L'hyperglycémie altère les paramètres des spermatozoïdes et détruit l'intégrité de l'ADN en augmentant la production de radicaux libres et le stress oxydatif (Karimi et al., 2012).

Tandis que, le traitement à base d'HEC révèle une nette augmentation du nombre spermatozoïdes dans l'épididyme ainsi que des améliorations de leurs morphologies, vitalité et la mobilité chez les animaux diabétiques traité.

En effet, Shodehinde et Ganiyu Oboh, 2013 indiquent que les plantes riches en polyphénols, cas de l'eugénol, présentent un pouvoir antioxydant puissant qui inhibe la peroxydation lipidique et empêche les dommages causés par le stress oxydatif dans les testicules. Par ailleurs, Chikere et al., 2015 dans leur étude, montrent que les extraits de clous de girofle ont augmenté le nombre de spermatozoïdes chez les rats Wistar mâles adultes, ils ont également remarqué que la morphologie des spermatozoïdes des animaux traités présentait uniquement quelques anomalies. Ces auteurs confirment que le *Syzygium aromaticum* peut à faible dose augmenter la spermatogenèse et la qualité des spermatozoïdes et servir d'aphrodisiaque mais des doses élevées peuvent être toxiques et entraîner une détérioration des testicules.

Conclusion

Conclusion

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par un taux élevé de glucose dans le sang, peut avoir des répercussions significatives sur le système reproducteur. Le clou de girofle a été associé à plusieurs effets bénéfiques sur le système reproducteur.

Les résultats de la présente étude ont révélé que l'induction de diabète par une injection intrapéritonéal de *streptozotocine* (STZ) (40 mg/kg) a entraîné de nombreux dysfonctionnements comportementaux et physiologiques, les données enregistrés de cette recherche montrent que le diabète affecte la motivation et l'interaction sexuelle des rats mâles. Une diminution de motivation entraîne une perturbation du comportement sexuel.

Selon nos résultats le dosage de la testostérone a révélé un déséquilibre significatif dans sa production ce qui confirme les répercussions du diabète sur les gonades mâles. Cependant, l'analyse des données de spermogramme a montré que le diabète altère la spermatogenèse et conduit à une oligospermie (une faible quantité de spermatozoïdes) et une azoospermie (une absence totale de spermatozoïdes) dans d'autres cas et aussi affecte la mobilité, la morphologie et la vitalité des spermatozoïdes. Par ailleurs, l'évaluation du poids des testicules indique que le diabète a entraîné une atrophie significative.

En revanche, les résultats relatifs à l'évolution pondérale ont indiqués que le diabète réduit significativement le poids corporel, le poids du cerveau, les testicules, les épидидymes, les vésicules séminales et la prostate. De plus, nous avons observé des perturbations dans le comportement des rats diabétique qui se traduit par un état anxieux enregistré lors du test de labyrinthe en croix surélevé.

Par ailleurs, l'efficacité de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été bien montré par la restauration des effets indésirables induits par le diabète. Le traitement des rats par l'HEC à raison d'une injection en IP a permis d'observer une nette amélioration dans le comportement sexuel marquée par une augmentation significative de la motivation et de l'interaction sexuelle. En outre, l'administration de l'HEC a permis d'observer aussi une nette augmentation du taux sérique de la testostérone et du nombre de spermatozoïdes, la mobilité, la vitalité et ainsi la morphologie des spermatozoïdes. Cependant, nous avons observé une élévation dans le poids corporel après le traitement des rats par l'HEC, selon ces résultats, les clous de girofle ont la capacité d'améliorer à la fois le poids corporel et le poids du cerveau. Cette amélioration pourrait être attribuée à l'eugénol, qui semble stimuler le développement du cerveau, des testicules, de l'épididyme et des vésicules séminales. Ces effets ont également

Conclusion

été observés dans les résultats du test neurocomportemental. Montrant ainsi que le clou de girofle a permis d'atténuer le degré d'anxiété. Ce qui suggère que l'HEC peut avoir un effet anxiolytique.

En conclusion, il a été observé que divers troubles provoqués par le diabète étaient corrigés par l'administration d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*. Cela grâce à ses propriétés aphrodisiaques, antidiabétiques et anxiolytiques.

A la lumière de ces résultats obtenus forts intéressants, il serait envisageable d'entreprendre et de poursuivre un protocole expérimental plus approfondi portant sur différents volets :

- ❖ Il serait essentiel de faire une exploration histopathologique au niveau des structures testiculaires et cérébrales afin de cerner les lésions tissulaires induites par le diabète ainsi que l'éventuelle contribution de *Syzygium aromaticum* dans la prévention ou la réparation de ces lésions.
- ❖ Il serait intéressant d'étudier l'effet aphrodisiaque d'autres plantes que le clou de girofle contre les effets de diabète.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adefegha, S.A., Oboh, G., Adefegha, O.M., Boligon, A.A., Athayde, M.L., 2014. Antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative effects of dietary clove (*Syzygium aromaticum*) bud powder in a high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes rat model. *J. Sci. Food Agric.* 94 (13), 2726–2737.
- ADLI Djallal Eddine Houari. (2015). Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats Wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Étude biochimique, histologique et neurocomportementale. Laboratoire de Biotoxicologie expérimentale, de Biodépollution et Phytoremédiation.
- Adli, Kahloula, Slimani, Lahouel, & Belmahi. (2014). The efficacy of *Syzygium aromaticum* essential oil in cognitive disorders against manganese chronic exposure in rats during development. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(2), 131-137.
- Ågmo & Laan. (2022). Sexual incentive motivation, sexual behavior, and general arousal: Do rats and humans tell the same story?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 104595.
- Ågmo, A. (2014). Animal models of female sexual dysfunction: basic considerations on drugs, arousal, motivation and behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 3-15.
- Ahmad O. Hammoud¹, Krishna M. Sundar² and Heather E. Howe³. (2015) Sleep, Sexual Function, and Testosterone. 1M.P.H, University of Utah, Salt
- Aksu, M. Ates, B. Baykara, M. Kiray, A.R. Sisman, E. Buyuk, et al., Anxiety correlates to decreased blood and prefrontal cortex IGF-1 levels in streptozotocin induced diabetes, *Neurosci. Lett.* 531 (December (2)) (2012) 176–181 pubmed PMID: 23123774. Epub 2012/11/06. Eng..
- Al-Roujeaie AS, Abuohashish HM, Ahmed MM, Alkhamees OA. Effect of rutin on diabetic-induced erectile dysfunction: Possible involvement of testicular biomarkers in male rats. *Andrologia*, 2016; doi: 10.1111/and.12737.
- Al-Roujeaie, A., Abuohashish, H., Ahmed, M., Alkhamees, O., 2017. Effect Of Rutin On Diabetic-Induced Erectile Dysfunction: Possible Involvement Of Testicular Biomarkers In Male Rats. *Andrologia* 49 (8), E12737.
- American Diabetes Association (2010) Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 33 Suppl 1: S62-69.
- American Diabetes Association, 2009. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 32 (S1), S62–S67. <https://doi.org/10.2337/dc10-S062>

- Anastasia Katsarou, Soffia Gudbjörnsdottir, Araz Rawshani, Dana Dabelea, Ezio Bonifacio, Barbara J. Anderson, Laura M. Jacobsen, Desmond A. Schatz And Åke Lernmark ,(2017) Type 1 Diabetes Mellitus . Doi:10.1038/Nrdp.2017.16
- Anbu S. And Anuradha C.V. (2012). Protective effect of eugenol against alcohol-induced biochemical changes in rats. *International Journal of Research in Biotechnology and Biochemistry*; 2(2): 13-18..
- Angelis L. De et al., « Erectile and Endothelial Dysfunction in Type II Diabetes: A11. Possible Link », *Diabetologia* 44, n° 9 (1 septembre 2001): 1155-60, <https://doi.org/10.1007/s001250100616>[↔]
- Annelise lobsteina ,françoise couic marinierb, sophie barbeletc : Huile essentielle de Clou de girofle. *Actualités pharmaceutiques* • n° 569 • octobre 2017 •
- Ari. C, D.P. D'Agostino, D.M. Diamond, M. Kindy, C. Park, Z. Kovacs, Elevated plus maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements, *J Vis Exp.* 7 (January (143)) (2019) pubmed PMID: 30663672. Epub 2019/01/22. Eng
- Asbahani, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E.H. Aït Addi, H. Casabianca, A. El Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F.N.R. Renaud, A. Elaissari, Essential oils: From extraction to encapsulation, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 483, Issues 1–2, 2015, Pages 220-243, ISSN 0378-5173, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S. & Michels, A. W. Type 1 Diabetes. *Lancet* 383, 69–82 (2014)
- Baccetti. B, M.A. La, P. Piomboni, S. Capitani, E. Bruni, F. Petraglia, L.V. De, Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality, *Hum. Reprod.*17 (2002) 2673–2677
- Bahar Saberzadeh-Ardestani, , Razieh Karamzadeh, Mohsen Basiri, Ensiyeh Hajizadeh-Saffar, Aisan Farhadi, A.M. James Shapiro, Yaser Tahamtani, Hossein Baharvand.(2018). Review Article .Type 1 Diabetes Mellitus: Cellular And Molecular Pathophysiology At A Glance. Doi: 10.22074/Cellj.2018.5513.
- Ballester. J, M.C. Muñoz, J. Domínguez, T. Rigau, J.J. Guinovart, J.E. Rodríguezgil, Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms, *J. Andr.* 25 (2004) 706–719.
- Barbelet Sophie ; Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle 2015. Faculte de pharmacie

- Barkabi-Zanjani, S., Ghorbanzade, V., Aslani, M., Ghalibafsabbaghi, A., & Chodari, L. (2020). Diabetes mellitus and the impairment of male reproductive function: Possible signaling pathways. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. Doi:10.1016/j.dsx.2020.07.031
- Batiha, G. E. S., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L.(Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, 10(2).
- Baynes HW (2015) Classification, Pathophysiology, Diagnosis And Management Of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab* 6: 541. Doi:10.4172/2155-6156.1000541
- Beauquis et al., 2008. Effects of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on the brain in adult rats: a morphometric and MRI study"
- Beauquis, J., Saravia, F., Coulaud, J., Roig, P., Dardenne, M., Homo-Delarche, F., & De Nicola, A. (2008). Prominently decreased hippocampal neurogenesis in a spontaneous model of type 1 diabetes, the nonobese diabetic mouse. *Experimental Neurology*, 210(2), 359–367. Doi:10.1016/j.expneurol.2007.11.009
- Behbahani, B. A., Noshad, M., & Falah, F. (2019). STUDY OF CHEMICAL STRUCTURE, ANTIMICROBIAL, CYTOTOXIC AND MECHANISM OF ACTION
- Bellastella G, et al. Premature ejaculation is associated with glycemic control in Type 1 diabetes. *J Sex Med* 2015;12(1):93e9.
- Bernard, R. Barry T, H. (2014). Knobil and Neill's physiology of reproduction. Chapter 17 - The Epididymis. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-3971753.00017-X>
- Bialy, M., Bogacki-Rychlik, W., Przybylski, J., & Zera, T. (2019). The sexual motivation of male rats as a tool in animal models of human health disorders. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13, 257.
- Boudou, F., Berroukche, A., Bendahmane-Salmi, M., Kandouci, B. A., & Tou, N. (2013). Ameliorative effects of *Syzygium aromaticum* essential oil on fertility in male rats exposed to manganese. *Advances in sexual medicine*, 2013.
- Boukhatem M et al., (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Revue agrobiologia* 9(2): 1653-1659. E-issn: 25077627.
- Bruijnzeel, A. W., Knight, P., Panunzio, S., Xue, S., Bruner, M. M., Wall, S. C., ... Setlow, B. (2019). Effects in rats of adolescent exposure to cannabis smoke or THC on emotional behavior and cognitive function in adulthood. *Psychopharmacology*. Doi:10.1007/s00213-019-05255-7

- Caliskan, H., Akat, F., Tatar, Y., Zaloglu, N., Dursun, A. D., Ficicilar, H., & Bastug, M. (2019). Effects of exercise training on anxiety in diabetic rats. *Behavioural Brain Research*, 112084. Doi:10.1016/j.bbr.2019.112084
- Caner Karabaşoğlu¹, Oytun Erbaş^{1,2}(2021) : *Journal of Experimental and Basic Medical Sciences* 2021;2(2):139-146 ;Rat Sexual Behaviours.
- Cellek S, et al. Selective nitrenergic neurodegeneration in diabetes mellitusea nitric oxide-dependent phenomenon. *Br J Pharmacol* 1999;128(8):1804e12.
- Chawla, S., & Jena, S. (2021). *The Anatomy and Physiology of Laboratory Rat. Essentials of Laboratory Animal Science: Principles and Practices*, 187-209.
- Choi, D., Roh, H. S., Kang, D. W., & Lee, J. S. (2014). The potential regressive role of *Syzygium aromaticum* on the reproduction of male golden hamsters. *Development & Reproduction*, 18(1), 57.
- Christ C, et al. Differential sensitivity of corporal smooth muscle from diabetic and nondiabetic patients to relaxation by potassium channel modulators. *J Androl* 1995;16:127. - 127.
- Chu, X., & Ågmo, A. (2016). Sociosexual interactions in rats: Are they relevant for understanding human sexual behavior. *International Journal of Psychological Research*, 9(2), 76-95.
- Chu, X., Snoeren, E., Södersten, P., & Ågmo, A. (2021). Sexual incentive motivation and male and female copulatory behavior in female rats given androgen from postnatal day 20. *Physiology & Behavior*, 237, 113460. Doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113460
- Chung S, et al. Infertility and testicular defects in hormone-sensitive lipasedeficient mice. *Endocrinology* 2001;142(10):4272e81.
- Condorelli RA, Et Al. Diabetes Mellitus And Infertility: Different Pathophysiological Effects In Type 1 And Type 2 On Sperm Function. *Front Endocrinol* 2018;9:268.
- Cortés-Rojas, D.F.; de Souza, C.R.; Oliveira, W.P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2014, 4, 90–96. 7.
- Couper JJ, Donaghue KC. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006–2007. Phases Of Diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2007;8:44–47.
- Creasy, D. (2012). Reproduction of the rat, mouse, dog, non-human primate and minipig. In *Background Lesions in Laboratory Animals* (pp. 101-122). WB Saunders.
- Crisler, R., Johnston, N. A., Sivula, C., & Budelsky, C. L. (2020). *Functional Anatomy and Physiology. The Laboratory Rat*, 91–132. Doi:10.1016/b978-0-12-814338-4.00004-0 .

- Dahlgren, I. L., Matuszczyk, J. V., & Hård, E. (1991). Sexual orientation in male rats prenatally exposed to ethanol. *Neurotoxicology and teratology*, 13(3), 267-269.
- Delfino, M., Imbrogno, N., Elia, J., Capogreco, F., Mazzilli, F., 2007. Prevalence of diabetes mellitus in male partners of infertile couples. *Minerva Urol. E Nefrol. = Ital. J. Urol. Nephrol.* 59 (2), 131–135.
- Delli, A. J., & Lernmark, Å. (2016). Type 1 (Insulin-Dependent) Diabetes Mellitus. *Endocrinology: Adult And Pediatric*, 672–690.E5. Doi:10.1016/B978-0-323-18907-1.00039-1
- Dianne Creasy, Axel Bube, Eveline De Rijk, Hitoshi Kandori, Maki Kuwahara, Regis Masson, Thomas Nolte, Rachel Reams, Karen Regan, Sabine Rehm, Petrina Rogerson, And Katharine Whitney (2012). Proliferative And Nonproliferative Lesions Of The Rat And Mouse Male Reproductive System. Doi: 10.1177/0192623312454337
- Dianne M. Creasy, Robert E. Chapin (2013). *Male Reproductive System* | Huntingdon Life Sciences, East Millstone, NJ, USA, 2 | Pfizer Global R&D, Groton, CT, USA
- Dinulovic, D., Radonjic, G., 1990. Diabetes Mellitus/Male Infertility. *Arch. Androl.* 25 (3), 277–293.
- Dinulovic. D, G. Radonjic, Diabetes Mellitus/Male Infertility, *Arch. Andr.* 25 (1990) 277–293.
- Dupont F, Guignard JI. *Botanique : les familles des plantes*. 15e éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; 2012. P. 16
- Dwyer, A. A., & Quinton, R. (2019). Anatomy and physiology of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. In *Advanced Practice in Endocrinology Nursing* (pp. 839852). Springer, Cham.
- Eardley I, Et Al. The Multinational Men’s Attitudes To Life Events And Sexuality Study: The Influence Of Diabetes On Self-Reported Erectile Function, Attitudes And Treatment-Seeking Patterns In Men With Erectile Dysfunction. *Int J Clin Pract* 2007;61(9):1446-53
- Eelke M.S. Snoeren a, *, Jan G. Veening b,c , Berend Olivier b , Ronald S. Oosting b. (2013). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: A review. DOI:[10.1016/j.pbb.2013.11.007](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.007)
- El Haib A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse, Université Toulouse - Paul Sabatier, 6-25.

- Eleni I. Georga, Dimitrios I. Fotiadis, Stelios K. Tigas.(2018). Personalized Predictive Modeling In Type 1 Diabetes : Pathophysiology And Management Of Type 1 Diabetes; Pages 15-35. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804831-3.00002-9>
- Erol, B., Tefekli, A., Ozbey, I., Salman, F., Dincag, N., Kadioglu, A., Tellaloglu, S., 2002.
- Fedder, J., Kaspersen, M.D., Brandslund, I., Højgaard, A., 2013. Retrograde Ejaculation And Sexual Dysfunction In Men With Diabetes Mellitus: A Prospective, Controlled Study. *Andrology* 1 (4), 602–606.
- Féry. F , N. Paquot .(2005). Etiopathogénie Et Physiopathologie Du Diabète De Type 2
- Galal, A. A., & Abdellatif, S. A. (2015). Neuropharmacological studies on *Syzygium aromaticum* (clove) essential oil. *International Journal of Pharma Sciences*, 5(2), 10131018.
- Galiano, M., Pignot, G., Costa, C., Vallancien, G., & Virag, R. (2010). Dysfonction érectile et cellules endothéliales cavernueuses. *Progrès En Urologie*, 20(3), 188–193. Doi:10.1016/j.purol.2009.07.009
- Gaunay, G., Nagler, H.M., Stember, D.S., 2013. Reproductive Sequelae Of Diabetes In Male Patients. *Endocrinology And Metabolism. Endocrinol. Metab. Clin.* 42 (4), 899–914.
- Ghedira K., Goetz P. And Le Jeune R. (2010). *Syzygium Aromaticum* (L.) Merr.& Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*; 8: 37-43
- Goetz P. And Le Jeune R. (2010). *Syzygium Aromaticum* (L.) Merr.& Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie* 8:37-43.
- Goetz, P. (2021). *Syzygium aromaticum* (L.)-Giroflier. *Phytothérapie*, 19(1), 55-59.
- Gonzales, G.F., Gonzales-Castaneda, ~ C., Gasco, M., 2013. A Mixture Of Extracts From Peruvian Plants (Black Maca And Yacon) Improves Sperm Count And Reduced Glycemia In Mice With Streptozotocin-Induced Diabetes. *Toxicol. Mech. Methods* 23 (7), 509–518.
- Guang-Jiang Shia , Zhi-Mei Lia , Jie Zhenga , Jian Chenb , Xiao-Xu Hana , Jing Wuc , Guang-Yong Lid , Qing Change , Yu-Xiang Lif , Jian-Qiang Yua,G, Diabetes Associated With Male Reproductive System Damages: Onset Of Presentation, Pathophysiological Mechanisms And Drug Intervention. *Biomedicine & Pharmacotherapy* .2017, Pages 562-574 [Http://dx.doi.org/10.1016/J.Biopha.2017.03.074](http://dx.doi.org/10.1016/J.Biopha.2017.03.074)
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Shaw, J. E. (2014). Global Estimates Of Diabetes Prevalence For 2013 And Projections For 2035. *Diabetes Research And Clinical Practice*, 103(2), 137–149. Doi:10.1016/J.Diabres.2013.11.00
- H Awad et al., « Erectile Function in Men with Diabetes Type 2: Correlation with8. Glycemic Control », *International Journal of Impotence Research* 22, n° 1 (janvier 2010): 36-39, <https://doi.org/10.1038/ijir.2009.39>.

- Halder S, Mehta AK, Kar R, Mustafa M, Mediratta PK, Sharma KK (2011). Clove Oil Reverses Learning and Memory Deficits in Scopolamine-Treated Mice. *Planta Medica* 77:830-834.
- Halvaei, I., Roodsari, H. R. S., & Harat, Z. N. (2012). Acute effects of *Ruta graveolens* L. On sperm parameters and DNA integrity in rats. *Journal of reproduction & infertility*, 13(1), 33.
- Hanif M.A., Nisar S., Khan G.S., Mushtaq Z., Zubair M. (2019) Essential Oils. In: Malik S. (eds) *Essential Oil Research*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-03016546-8_1
- Hassan, G.M.A. (2001). Structural Changes in the Testes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Suez Canal University Medical Journal*, 4, 17–2
- Hoffmann, K. H. (2020). Essential oils. *Zeitschrift Für Natur for schung C*, 75(7-8), 177– 177. Doi:10.1515/znc-2020-0124
- Hofstetter, J., Suckow, M. A., & Hickman, D. L. (2006). Morphophysiology. In *The laboratory rat* (pp. 93-125). Academic Press.
- Holt RI (2004) Diagnosis, Epidemiology And Pathogenesis Of Diabetes Mellitus: An Update For Psychiatrists. *Br J Psychiatry Suppl* 47: S55-63.
- Huang, H.-F., Ding, G.-L., Liu, Y., Liu, M.-E., Pan, J.-X., Guo, M.-X., & Sheng, J.-Z. (2015). The Effects Of Diabetes On Male Fertility And Epigenetic Regulation During Spermatogenesis. *Asian Journal Of Andrology*, 17(6), 948. Doi:10.4103/1008-682x.150844
- Hull, E. M., & Dominguez, J. M. (2015). Male Sexual Behavior. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 2211–2285. Doi:10.1016/b978-0-12-397175-3.00049-1
- Hull, E.M., and Rodríguez-Manzo, G. (2009). 1 - Male Sexual Behavior. In *Hormones, Brain and Behavior (Second Edition)*, (San Diego: Academic Press), pp. 5–66.
- Hussain AN, Vincent MT (2007) Type 1 Diabetes Mellitus.
- Innes JA .(2022) . Diabète . Davidson : l'essentiel De La Médecine .
- Jayaraman, R., Balachandran, K., Shabi, M. M., & Avupati, V. R. (2015). EFFECTS OF JASMINUM SAMBAC FLOWER EXTRACT ON THE SEXUAL BEHAVIOUR AND ESTROUS CYCLE MODIFICATION IN RATS. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 2479-2484.
- José-Luis Ríos Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety 2016* chap 01 p03.
- Kamischke, A., Nieschlag, E., 2002. Update On Medical Treatment Of Ejaculatory Disorders 1. *Int. J. Androl.* 25 (6), 333–344.

- Kanter, M., Aktas, C., Erboga, M., 2013. Curcumin Attenuates Testicular Damage, Apoptotic Germ Cell Death, And Oxidative Stress In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 57 (9), 1578–1585.
- Khalid Imam.(2012). Chapter25: clinical features, diagnostic criteria and pathogenesis of diabetes mellitus
- Knight, P., Chellian, R., Wilson, R., Behnood-Rod, A., Panunzio, S., & Bruijnzeel, A. W. (2021). Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 204, 173168. Doi:10.1016/j.pbb.2021.173168
- Knoblaugh Sue E., Lawrence True, Maria Tretiakova, Renee R. Hukkanen. (2018). *Comparative anatomy and histology (Second edition): a mouse, rat, and human atlas.* Academic Press. P335-363.
- Knoblaugh Sue E., Lawrence True. (2017). *Comparative anatomy and histology: a mouse, rat, and human atlas.* Academic Press.
- Koroglu, P., Senturk, G. E., Yucel, D., Ozakpinar, O. B., Uras, F., & Arbak, S. (2015). The effect of exogenous oxytocin on streptozotocin (STZ)-induced diabetic adult rat testes. *Peptides*, 63, 47–54. Doi:10.1016/j.peptides.2014.10.012
- Kotian, S., Kumar, A., Mallik, S., Bhat, N., Souza, A., & Pandey, A. (2019). Effect of Diabetes on the Male Reproductive System—A Histomorphological Study. *Journal of Morphological Sciences*, 36(01), 017–023. Doi:10.1055/s-0039-1683405
- La Vignera S, Et Al. Diabetes Mellitus And Sperm Parameters. *J Androl* 2012;33(2):145-53.
- Lake City, UT, USA; 2Sleep-Wake Center, University of Utah, Salt Lake City, UT, USA; 3University of Utah, Salt Lake City, UT, USA
- Lasantha S. Malavige et Jonathan C. Levy, « Erectile Dysfunction in Diabetes2. Mellitus », *The Journal of Sexual Medicine* 6, n° 5 (mai 2009): 1232-47, <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2008.01168.x>
- Lei Z, et al. Testicular phenotype in luteinizing hormone receptor knockout animals and the effect of testosterone replacement therapy. *Biol Reprod* 2004;71(5):1605e13.
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-226. Doi:10.1007/s00125-007-0886-7
- Lin, Y. W., Hsu, T. H., & Yen, P. H. (2013). Mouse sperm acquire a new structure on the apical hook during epididymal maturation. *Asian journal of andrology*, 15(4), 523.

- Ma, Y., Yang, HZ., Xu, LM. Et al. Testosterone regulates the autophagic clearance of androgen binding protein in rat Sertoli cells. *Sci Rep* 5, 8894 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep08894>
- Mahler RJ, Adler ML (1999) Clinical Review 102: Type 2 Diabetes Mellitus: Update On Diagnosis, Pathophysiology, And Treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 1165-1171.
- Malavige, L. S., & Levy, J. C. (2009). Erectile Dysfunction in Diabetes Mellitus. *The Journal of Sexual Medicine*, 6(5), 1232–1247. Doi:10.1111/j.1743-6109.2008.01168.x
- Malavige, L.S., Jayaratne, S.D., Kathriarachchi, S.T., Sivayogan, S., Fernando, D.J., Levy, J.C., 2008. Erectile dysfunction among men with diabetes is strongly associated with premature ejaculation and reduced libido. *J. Sex. Med.* 5 (9), 2125–2134.
- Maresch CC, et al. Hyperglycemia induces spermatogenic disruption via major pathways of diabetes pathogenesis. *Sci Rep* 2019;9(1):1e12.
- Maresch CC, et al. Hyperglycemia induces spermatogenic disruption via major pathways of diabetes pathogenesis. *Sci Rep* 2019;9(1):1e12.
- Maria E. Craig, Andrew Hattersley And Kim C. Donaghue , Definition, Epidemiology And Classification Of Diabetes In Children And Adolescents . *Pediatric Diabetes* 2009: 10(Suppl. 12): 3–12 Doi: 10.1111/J.1399-5448.2009.00568.X
- Maureen Hargaden and Laura Singer (2012) *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* DOI: 201210.1016/B978-0-12-380920-9.00020-
- Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). Dissection of the Adult Rat. *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*, 317–339. Doi:10.1016/b978-0-12-811837-5.00025-3
- Mbaveng, V. Kuete . *Syzygium aromaticum* . Medicinal Spices and Vegetables from Africa. P 611. 2017 Elsevier
- Menkveld, R., C. A. Holleboom, et al. (2011). "Measurement and significance of sperm morphology." *Asian journal of andrology* 13(1): 59.
- Mishra RK, Singh SK. Reproductive effects of lipid soluble components of *Syzygium aromaticum* flower bud in male mice. *J Ayurveda Integr Med* 2013; 4:94-8.
- Mishra, R. K., & Singh, S. K. (2008). Safety assessment of *Syzygium aromaticum* flower bud (clove) extract with respect to testicular function in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3333-3338.
- Mishra, R. K., & Singh, S. K. (2016). Biphasic effect of *Syzygium aromaticum* flower bud on reproductive physiology of male mice. *Andrologia*, 48(9), 1011-1020.

- Mitchell, R. T., O'Hara, L., & Smith, L. B. (2017). Gonadotropin and steroid hormone control of spermatogonial differentiation. In *The Biology of Mammalian Spermatogonia* (pp. 147-178). Springer, New York, NY
- Mittal, M., Gupta, N., Parashar, P., Mehra, V. And Khatri, M., 2014. Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), pp.67-72.
- Moghimian, M., Aalami, S., Abtahi-Evari, S. H., & Soltani, M. (2018). Effect of *Syzygium aromaticum* (clove) extract on morphine withdrawal side effect in male reproductive system should be addressed. *Physiology and Pharmacology*, 22(2), 109117.
- Moghimian, M., Abtahi-Evari, S. H., Shokoohi, M., Amiri, M., & Soltani, M. (2017). Effect of *Syzygium aromaticum* (clove) extract on seminiferous tubules and oxidative stress after testicular torsion in adult rats. *Physiology and Pharmacology*, 21(4), 343350.
- Moreira, N., Sandini, T. M., Reis-Silva, T. M., Navas-Suárez, P., Auada, A. V. V., Lebrun, I., ... & Spinosa, H. D. S. (2017). Ivermectin reduces motor coordination, serum testosterone, and central neurotransmitter levels but does not affect sexual motivation in male rats. *Reproductive Toxicology*, 74, 195-203.
- Moreira, N., Vicente, F. L., Sandini, T. M., Martinelli, E. C. L., Navas-Suárez, P. E., Reis-Silva, T. M., & Spinosa, H. D. S. (2020). Effects of ivermectin treatment during prepubertal and pubertal period on sexual parameters and sexual behavior in adulthood in rats. *Research in veterinary science*, 129, 21-27
- Murray, F. T., Orth, J., Gunsalus, G., Weisz, J., Li, J. B., Jefferson, L. S., ... Bardin, C. W. (1981). The pituitary-testicular axis in the streptozotocin diabetic male rat: evidence for gonadotroph, Sertoli cell and Leydig cell dysfunction. *International Journal of Andrology*, 4(1-6), 265–280. Doi:10.1111/j.1365-2605.1981.tb00710.x
- Murray. F.T, J. Orth, G. Gunsalus, J. Weisz, J.B. Li, L.S. Jefferson, N.A. Musto, C.W. Bardin, The pituitary-testicular axis in the streptozotocin diabetic male rat: evidence for gonadotroph, Sertoli cell and Leydig cell dysfunction, *Int. J. Andr.* 4 (1981) 265–280.
- N.N. Ayuob, H.A. Murad, S.S. Ali, Impaired expression of sex hormone receptors in male reproductive organs of diabetic rat in response to oral antidiabetic drugs, *Folia Histochem. Cytobiol* 53 (2015) 35–48
- Naziroglu, Butterworth, J., & Sonmez, T. (2011). Dietary Vitamin C and E Modulates Antioxidant Levels in Blood, Brain, Liver, Muscle, and Testes in Diabetic Aged Rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 81(6), 347-357. Doi:10.1024/03009831/a000083

- Naziroglu, M. (2003). Enhanced Testicular Antioxidant Capacity in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: Protective Role of Vitamins C and E and Selenium. *Biological Trace Element Research*, 94(1), 61-72. Doi:10.1385/bter:94:1:61
- Niwas Jangir R, Chand Jain G. Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Curr Diabetes Rev* 2014;10(3):147e57
- O'Brien, b. A., harmon, b. V., cameron, d. P., & allan, d. J. (1996). Beta-cell apoptosis is responsible for the development of iddm in the multiple low-dose streptozotocin model. *The journal of pathology*, 178(2), 176–181. Doi:10.1002/(sici)1096-9896(199602)178:2<176::aid-path433>3.0.co;2-8
- Patel SG, Hsu JW, Jahoor F, Coraza I. The role of nuclear factor-kappa B in the pathogenesis of pancreatic cellular injury after streptozotocin treatment. *J Parenter Enteral Nutr.* 2009;33(4):395-402. Doi:10.1177/0148607108325429
- Pierron C. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de lorraine, 19-30.
- Pitteloud, N., Hardin, M., Dwyer, A.A., Valassi, E., Yialamas, M., Elahi, D., Hayes, F.J., 2005. Increasing Insulin Resistance Is Associated With A Decrease In Leydig Cell Testosterone Secretion In Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90 (5), 2636–2641.
- Pradidarcheep, W., Wallner, C., Dabhoiwala, N. F., & Lamers, W. H. (2011). Anatomy and histology of the lower urinary tract. *Urinary Tract*, 117-148.
- Raju SM, Raju B (2010) *Illustrated Medical Biochemistry*. 2nd Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd, New Delhi, India.
- Ramanathan, M., Jaiswal, A. K., & Bhattacharya, S. K. (1998). Differential effects of diazepam on anxiety in streptozotocin induced diabetic and non-diabetic rats. *Psychopharmacology*, 135(4), 361–367. Doi:10.1007/s002130050523
- Ramírez-Rentería, M. L., Hernández-Arteaga, E., Hernandez Gonzalez, M., cruzaguilar, M. A., Ortega-Hernández, T. M. F., Sotelo-Tapia, C., & Guevara, M. A. (2020). Annual changes in the copulatory behavior of male rats maintained under constant laboratory conditions. *Chronobiology International*, 37(2), 209-217.
- Reddy KP, Rao MN, Murthy JS, Reddy PS. Lead aggravates the diabetic-induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Toxicol Res*, 2016; 5:1465-1476.
- Sangameswaran, B., Jayakar, B., 2008. Anti-diabetic, anti-hyperlipidemic and spermatogenic effects of *Amaranthus spinosus* Linn. On streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nat. Med.* 62 (1), 79–82.

- Schoeller EL, Schon S, Moley KH. The Effects Of Type 1 Diabetes On The Hypothalamic, Pituitary And Testes Axis. *Cell Tissue Res* 2012;349(3):839-47.
- Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., & Ait Amrane, A. (2020). Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2352-2358.
- Setchell, B.P. (1984) In: Austin, C.R. and Short, R.V. (eds) *Germ Cells and Fertilization. Reproduction in Mammals*, Vol. 1, pp. 63-101. Cambridge: Cambridge University Press
- Shulman, L. M., & Spritzer, M. D. (2014). Changes in the sexual behavior and testosterone levels of male rats in response to daily interactions with estrus females. *Physiology & behavior*, 133, 8-13.
- Sm, S., Mahaboob Basha, P., 2017. Fluoride exposure aggravates the testicular damage and sperm quality in diabetic mice: protective role of ginseng and banaba. *Biol. Trace Elem. Res.* 177 (2), 331–344.
- Soleimanzadeh, A. And A. Saberivand (2013). Effect of curcumin on rat sperm morphology after the freeze-thawing process. *Veterinary Research Forum, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.*
- Sona Barkabi-Zanjani , Vajihe Ghorbanzadeh , Mohamadreza Aslani , Ataollah Ghalibafsabbaghi , Leila Chodari . Diabetes Mellitus And The Impairment Of Male Reproductive Function: Possible Signaling Pathways. *Research & Reviews Journal* Homepage: <https://doi.org/10.1016/J.Dsx.2020.07.031> 1871-4021. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 14 (2020) 1307_1314
- Srinivasulu, K. And C. Changamma (2017). "A study on the effect of *Ocimum sanctum* (Linn.) Leaf extract and ursolic acid on spermatogenesis in male rats." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 79(1): 158-163.
- Srivastava, N., M. Pande, et al. (2017). *Evaluating Sperm Cell Morphology. Protocols in Semen Biology (Comparing Assays)*, Springer: 89-107.
- Suresh, S., Prakash, S., 2012. Effect Of *Mucuna Pruriens* (Linn.) On Sexual Behavior And Sperm Parameters In Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rat. *J. Sex. Med.* 9 (12), 3066–3078.
- Tajuddin, Ahmad, S., Latif, A. Et al. (2004). Aphrodisiac activity of 50% ethanolic extracts of *Myristica fragrans* Houtt. (nutmeg) and *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry. (clove) in male mice: a comparative study. *BMC Complement Altern Med* 3, 6. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-3->

- Tanko, Y¹, Mohammed, A.¹, Okasha, M. A.¹, Umar, A. H¹ and Magaji, R. A Anti nociceptive and anti-inflammatory activities of ethanol extract of *syzygium aromaticum* flower bud in wistar rats and mice 2008 CAM (2008) 5 (2): 209 – 212
- Thorve VS, et al. Diabetes-induced erectile dysfunction: epidemiology, pathophysiology and management. J Diabetes Complicat 2011;25(2): 129e36
- Trimarchi GR, Squadrito F, Magri V, Tentile R, Costa G, Caputi AP (1987) Cerebral gabaergic control of arterial blood pressure and heart rate in diabetic rats. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 58:307321
- Tunç, M. T., & Koca, I. (2019). Ohmic heating assisted hydrodistillation of clove essential oil. Industrial Crops and Products, 141, 111763.
- Vinay Dwivedi , Richa Shrivastava , Showket Hussain , Chaiti Ganguly Mausumi Bharadwaj . Comparative Anticancer Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) - an Indian Spice - Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 12, 2011:189-193.
- Vinayagam et al., 2017. Alterations in Brain Antioxidant Enzymes and Their Expression in Diabetic Rat Brain"
- Vlad, A.R. Popa, Epidemiology Of Diabetes Mellitus: A Current Review, Rom. J. Diabetes Nutr. Metab. Diseas. 19 (2016) 433–440.
- Wang, Y. (2002). "Epididymal sperm count." Current protocols in toxicology 14(1): 16.16. 11-16.16. 15
- Whitney, K. M., & Suttie, A. W. (2018). *Testis and Epididymis. Boorman's Pathology of the Rat*, 563–578. Doi:10.1016/b978-0-12-391448-4.00028-9
- WHO, 2021. Diabetes. World Health Organization. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>> . Accessed July 19, 2021.2337/dc09-S062.
- Yang Y, Santamaria P. Lessons On Autoimmune Diabetes From Animal Models. Clinical Science. 2006;110:627–639.
- Yang, J. Y., Wang, G. X., Liu, J. L., Fan, J. J., & Cui, S. (2007). Toxic effects of zearalenone and its derivatives α -zearalenol on male reproductive system in mice. Reproductive Toxicology, 24(3-4), 381-387
- Zarith Aziz et al. (2018). "Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review." Current drug metabolism 19.13 (2018): 1100-1110.

- Zubin Punthakee, M.D., M.Sc., FRCPC, Ronald Goldenberg, M.D., FRCPC, FACE, Pamela Katz, M.D., FRCPC . Définition, Classification Et Diagnostic Du Diabète, Du Prédiabète Et Du Syndrome Métabolique Can J Diabetes 42 (2018) S10-S15 .
- Zulcafli, A. S., Lim, C., Ling, A. P., Chye, S., & Koh, R. (2020). Focus: Plant-Based Medicine and Pharmacology: Antidiabetic Potential of Syzygium Sp.: An Overview. The Yale journal of biology and medicine, 93(2), 307