

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTE DES SCIENCES  
\*\*\*\*\*



UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTY OF SCIENCE  
\*\*\*\*\*

**Département de Biologie et Physiologie Animales**  
*Department of Animal Biology and Physiology*

**Effets des extraits aqueux et méthanolique  
de *Myrianthus arboreus* P. Beauv.  
(Cecropiaceae) sur la fonction de  
reproduction chez la rate Wistar**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de **Doctorat / Ph.D** en  
Biologie des Organismes Animaux  
Option : Physiologie Animale

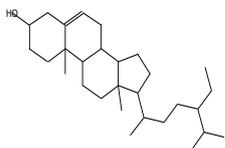


Par

**AWOUNFACK Charline Florence**

Matricule : 07S887

*DEA en Physiologie Animale*



Le jury

Président : **TAN Paul Vernyuy, Professeur, UYI ;**  
Rapporteur : **NJAMEN Diudonné, Professeur, UYI ;**  
Membres : **DIMO Théophile, Professeur, UYI ;**  
**MASSOMA LEMBE Diudonné, Maître de conférences, U. Douala ;**  
**DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré, Maître de conférences, UYI.**



**Année 2019**

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES  
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES  
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés membres du jury de soutenance de **Thèse de Doctorat/ Ph.D** en Biologie des Organismes Animaux (Option Physiologie Animale) de madame **AWOUNFACK CHARLINE FLORENCE**, matricule 07S887, soutenance autorisée par la correspondance N° 192724/UY1/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/CB-nsr du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 28 Novembre 2019, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le 24 Janvier 2020. ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir de ce que de droit.

Yaoundé, le ..... 04 AUG 2020 .....

Président du Jury

*Tan Paul*

Examineur

*Székely*

Chef de Département



<b>UNIVERSITE DE YAOUNDE I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>	<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>	

ANNEE ACADEMIQUE 2018/2019

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION: 19 Février 2019**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN:** TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DPSAA:** DONGO Etienne, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DSSE:** AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DRC:** ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière:** NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR:** MBAZE

MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

<b>1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)</b>			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
7	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
8	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
9	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
10	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
11	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
12	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
13	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
14	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
15	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
16	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
17	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
18	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
19	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
20	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
21	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
22	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
24	DJUUKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
25	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
26	EWANE Cécile Annie	Chargée de Cours	En poste
27	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
28	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste

29	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
34	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste

<b>2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)</b>			
1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VDoyen/FMSB/UIYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMGANG René	Professeur	<i>C.S. MINRESI</i>
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Maître de Conférences	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
14	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
20	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
21	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
22	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
24	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
25	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
26	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
27	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
28	METCHI DONFACK Mireille Flore	Chargée de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
32	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
34	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
35	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
36	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
37	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste

38	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
39	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
40	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
43	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

### 3- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (BPV) (27)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
6	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
7	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
8	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/UDs
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
17	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
18	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
22	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
24	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national/UNESCO</i>
25	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
26	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
27	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste

### 4- DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ, Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<b>CT MINRESI/Chef de Département</b>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUFMO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Vice Chancelor/UB</i>

17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NDI NSAMI Julius	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste

#### 5- DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (32)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOYOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDS
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	CD/UDs
4	NKENGFACK Augustin Ephreïm	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service DPER/FS</i>
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
11	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
17	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
18	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<b><i>Doyen /FS/ UYI</i></b>
20	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
21	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
22	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
23	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
24	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
25	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
26	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/MINESUP
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste

<b>6- DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)</b>			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOOU Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUHEP KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
10	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
11	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EBELE Serge	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
23	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

<b>7- DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (28)</b>			
1	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
2	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
3	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
4	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD Info/ Chef division MINESUP</i>
5	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
6	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
7	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
8	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
9	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste

23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
27	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste

#### 8- DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	<b>Chef de Département</b>
3	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
4	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
5	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

#### 9- DEPARTEMENT DE PYSIQUE (PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
6	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
9	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
10	WOAFO Paul	Professeur	En poste
	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
12	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
16	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA ENGO Serge Guy	Maître de Conférences	Director/Students/Affairs. UB
21	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
22	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
23	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
24	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
25	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
26	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
27	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>

28	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
29	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
30	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
31	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
32	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
33	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	<i>En poste</i>
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
37	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmelima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste

### 10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Conseiller Technique/UYII</i>
5	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
10	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
11	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
12	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
34	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
35	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste

37	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
38	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
39	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
40	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
41	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
42	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
43	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

### Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
<b>BCH</b>	5 (1)	12 (6)	19 (11)	1 (1)	<b>37 (19)</b>
<b>BPA</b>	12 (1)	10 (5)	20 (07)	2 (0)	<b>44 (13)</b>
<b>BPV</b>	5 (0)	10(2)	9 (04)	2(2)	<b>26 (9)</b>
<b>CI</b>	9(1)	9(2)	14 (3)	0 (0)	<b>32 (6)</b>
<b>CO</b>	7 (0)	14 (4)	10 (4)	1 (0)	<b>32 (8)</b>
<b>IN</b>	2 (0)	1 (0)	13 (0)	10 (3)	<b>26 (3)</b>
<b>MAT</b>	2 (0)	4 (1)	19 (1)	2 (0)	<b>27 (2)</b>
<b>MIB</b>	2 (0)	5 (2)	6 (1)	0 (0)	<b>13 (3)</b>
<b>PHY</b>	10 (0)	17(2)	11 (3)	1 (0)	<b>39 (5)</b>
<b>ST</b>	7 (1)	15 (1)	21 (5)	1 (0)	<b>44 (7)</b>
<b>Total</b>	<b>61 (4)</b>	<b>97 (25)</b>	<b>142 (39)</b>	<b>20( 6)</b>	<b>320 (75)</b>

Soit un total de **320 (75)** dont :

- Professeurs **61 (4)**
- Maîtres de Conférences **97 (25)**
- Chargés de Cours **142 (39)**
- Assistants **20 (6)**

( ) = Nombre de Femmes

## **DEDICACE**

*Aux membres de ma famille, pour tout l'amour que je leur porte.*

*A Roef, mon epoux*

*pour ta présence forte et rassurante, capable d'essuyer les vents violents  
et de pallier aux indisponibilités provoquées par ce travail de longue haleine.*

*A mes enfants,*

*Que ce travail soit pour vous une source d'endurance, de joie et  
satisfaction.*

# REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse n'aurait pu aboutir sans le don de vie et de santé dont **l'Eternel notre Dieu** m'a fait grâce, ainsi que le concours de nombreuses personnes.

J'aimerais témoigner ma profonde gratitude et toute ma reconnaissance :

- Au **Pr. NJAMEN Dieudonné** qui m'a accueilli dans son équipe de recherche, a dirigé ce travail et n'a ménagé aucun effort pour sa réalisation. Je le remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, sa généreuse disponibilité, son oreille attentive face à toutes mes difficultés et pour ses nombreux conseils ; enfin, pour avoir partagé mes peines de mère en acceptant mes enfants au sein de son labo lors de mes nombreuses journées de travail ;
- Aux **Prs. DJIOGUE Séfirin** (Département de Biologie et Physiologie Animales, Université de Yaoundé I, Cameroun), **ZINGUE Stéphane** (Département des Sciences de la Vie et la Terre, Université de Maroua, Cameroun), et aux **Drs. ATEBA Sylvain Benjamin** (Département de Biologie et Physiologie Animales, Université de Yaoundé I, Cameroun), **TCHOUMTCHOUA Job** (Celabor, Liège, Belgique), **MVONDO Marie Alfrède** (Département de Biologie Animale, Université de Dschang, Cameroun), **TCHOUPANG Nana Edwige**, **NJIAZA Joseph**, pour leurs critiques constructives, leurs conseils avisés et leur constante disponibilité ;
- Au **Pr. TANTOH Ndinteh Derek** (Département de Chimie Appliquée, Université de Johannesburg, Afrique du Sud) qui a accepté de m'accueillir dans son laboratoire. Merci pour tous les moyens techniques et matériels mis à ma disposition pour la réalisation de la partie phytochimique de ce travail, pour toutes les connaissances transmises et tous les efforts consentis afin que mon séjour à Johannesburg soit le plus enrichissant et confortable possible ;
- Au **Pr. MEGNEKOU Rosette** (Département de Biologie et Physiologie Animales, Université de Yaoundé I, Cameroun) pour l'expertise et le soutien apportés lors du dosage des hormones. Ainsi que pour ses remarques constructives lors de la rédaction du manuscrit de ce document ;
- Au **Pr. GOVENDER Penny** (Département de Chimie Appliquée, Université de Johannesburg, Afrique du Sud), pour sa disponibilité à me signer tous les documents nécessaires à ma visite en Afrique du Sud, et pour ses constants encouragements ;

- Au **Dr. FOTSING DJUIDJE Carine Marthe**, (Département de Chimie Appliquée, Université de Johannesburg, Afrique du Sud) pour sa précieuse collaboration dans le montage des colonnes chromatographiques et la réalisation des analyses RMN ;
- A **Mr. WAGENAAR Stephan** (Département de Chimie Appliquée, Université de Johannesburg, Afrique du Sud) pour l'aide apportée lors de l'analyse des spectres GC-MS ;
- Aux **Enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales** (Université de Yaoundé I, Cameroun), pour leur encadrement et les connaissances transmises tout au long de mon parcours universitaire ;
- Au **Pr. DONGMO Alain Bertrand** (Laboratoire de Biologie des Organismes Animaux, Université de Douala), pour m'avoir initiée à la recherche et surtout pour m'avoir fait connaître et intégrer l'équipe de recherche dont je fais partie aujourd'hui ;
- A l'**Association Pathologie Cytologie Développement**, particulièrement à Mme **Catherine CANNET**, pour les connaissances théoriques et pratiques données lors de l'analyse des coupes d'ovaires ;
- Aux **Dames. TCHUMBIEP Lesly, TOUOMO Aude, NDJENGUE MINDANG Elisabeth Louise, MOTOUM TEDJO Florette, ATSAMA Perpetue et Mrs. SIMO Rudy Valdès, RIEPOUO MOUCHILI Oumarou, NANBO GUEYO Telesphore, BIKOI BIKOI René James, GUEMNANG Stève, DJOUSSI NJIMFO Sosthène, TCHATCHOU Jules et au Dr. ZEMO GAMO Franklin** (Département de Biologie et Physiologie Animales, Université de Yaoundé I, Cameroun), pour avoir toujours fait montre d'une grande disponibilité et d'un véritable esprit d'équipe durant toute la période des manipulations ;
- A tous mes collaborateurs de Johannesburg, je pense aux **Dames. ODUSAMI ADELANKE Jocelyn, MOGHADI Precious** et aux **Mrs. MUSA Ismaila Bunu et OLATUNDE Sunday Oladeji** pour leur soutien et leur collaboration durant mon séjour ;
- A **Mr. KENFACK Etienne** pour avoir bien voulu partager ses connaissances qui nous ont conduits au choix de la plante investiguée dans cette thèse et pour son aide dans la récolte de la plante et la préparation de l'extrait aqueux ;
- A **Mr. TAKALA Jean pierre** (Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales ; Université de Yaoundé I, Cameroun) pour sa contribution dans la partie histologique de ce travail ;

- A **Mr. NANA Victor** (Herbier National du Cameroun) pour son apport dans l'authentification de la plante ;
- A **Mr. NDANGA Thomas** de l'IMPM (MINRESI) pour la lyophilisation des extraits ;
- A tous les membres de l'équipe de recherche des **Professeurs FOKOU Elie, OBEN Julius, FEUKAM Fabrice, TAN Paul, et DZEUFUET Désiré** pour leur importante collaboration ;
- A la **Fondation Alexander von HUMBOLDT** qui m'a octroyé la bourse de mobilité "AGNES" (African-German Network of Excellence in Science) pour mon séjour à Johannesburg (Afrique du Sud) ;
- A **Mme. NJAMEN Brigitte**, pour son soutien sans lequel ce travail n'aurait peut-être pu jamais débuter, ses encouragements et ses prières constantes ;
- A Mes parents **Mmes. DZEUFACK Claudine, DEMASSE Annie Evelyne ; et Mrs. FRU Peter Moma, ATEMKENG Laurent**, pour leur conseil, leur soutien moral et financier ;
- A la famille de **Mr. LEKANE Philippe Alain** pour leur soutien moral et financier tout au long de mon parcours universitaire ;
- A mes sœurs **DONGMO TONLIO Valérie, DONGMO FOUELEFACK Carine, ATEMKENG MOMO Karelle, MANGIENTOH MOMA**; et mes frères **ATEMKENG DEMASSE Stéphane, ATEMKENG TSAGUE Alex, ATEMKENG TSOPNING Jackson, KENFACK GUEMO Gastien Romuald**, pour leur affection et leurs constants encouragements dans des moments difficiles et leurs prières ;
- A ma « belle famille » particulièrement ma belle-sœur **FOMEKONG KENNANG Alvine Alida** qui m'a encouragée moralement et matériellement pendant la réalisation de ce travail ;
- A Mes amis **Drs. KEUGNI Armand Brice, AMANG André Perfusion, NOUBISSI Paul Aimée, KUISSU Mimosette Mesmine, MVONGO Clémence, ZEUKO'O MENKEM Elisabeth**, et **Mme. NDEME Aline Michelle** et **Mr. MEFFE NNA'A Martial**, pour leur soutien indéfectible et pour leurs encouragements ;
- A **Mme ELLONG MOTTO Justine**, pour son apport précieux dans la correction du manuscrit de ce document.
- A tous mes anciens collègues d'Express Union, **Mme NANDI Sabine** et **Mr. TCHINDA Hugues Narcisse**, pour leur assistance inconditionnelle lors des moments difficiles.

# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES .....	i
DEDICACE.....	ix
REMERCIEMENTS .....	x
SOMMAIRE .....	xiii
LISTE DES FIGURES .....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xx
LISTE DES ABREVIATIONS .....	xxii
RESUME.....	xxiii
ABSTRACT .....	xxv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1. SYSTEME ENDOCRINIEN ET ORGANES REPRODUCTEURS .....	5
I.1.1. Système endocrinien .....	6
I.1.2. Classification des hormones .....	7
I.1.3. Gonadotrophines hypophysaires .....	8
I.1.4. Stéroïdes sexuels .....	13
I.1.5. Organes reproducteurs .....	21
I.2. REGULATION HORMONALE DE LA MATURATION SEXUELLE.....	23
I.2.1. Cycle ovarien .....	24
I.2.2. Cycle utérin .....	25
I.3. INFERTILITE.....	27
I.3.1. Définition .....	27
I.3.2. Diagnostic de l'infertilité chez la femme .....	29
I.3.3. Impact socio-économique .....	29
I.3.4. Causes d'infertilité chez la femme.....	30
I.4. COMPORTEMENT SEXUEL CHEZ LES MAMMIFERES ET INFERTILITE .....	37
I.5. TRAITEMENTS DE L'INFERTILITE.....	39
I.5.1. Traitements par des médicaments .....	39
I.5.2. Traitements par chirurgie .....	42
I.5.3. Techniques de reproduction médicalement assistée .....	44
I.5.4. Phytothérapie et troubles de la fertilité chez la femme .....	46
I.6. TOXICITE .....	48

I.6.1. Généralités .....	48
1.6.2. Evaluation de la toxicité.....	49
1.6.3. Effets toxiques.....	50
I.6.4. Quelques marqueurs sanguins d'évaluation de la toxicité.....	52
I.7. <i>Myrianthus arboreus</i> Palisot de Beauvois ( <i>Myrianthus arboreus</i> P. Beauv.).....	55
I.8. METHODES ET TECHNIQUES D'ETUDES PHYTOCHIMIQUES : LA CHROMATOGRAPHIE .....	59
I.8.1. Chromatographie en phase liquide.....	60
I.8.2. Chromatographie en phase gazeuse .....	61
I.8.3. Determination des structures.....	61
 CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	62
II.1. MATERIEL .....	63
II.1.1. Matériel végétal .....	63
II.1.2. Animaux expérimentaux.....	63
II.1.3. Substances de référence .....	2
II.1.4. Investigation phytochimique .....	2
II.1.5. Solutions, colorants et tampons .....	3
II.1.6. Matériel d'évaluation des paramètres hématologiques et biochimiques .....	3
II.1.7. Matériel d'évaluation des paramètres de comportement sexuel.....	4
II.2. METHODES .....	5
II.2.1. Extraction de la plante et choix des doses utilisées .....	5
II.2.2. Protocole d'étude pharmacologique .....	8
II.2.3. Protocole d'étude histologique .....	23
II.2.3.2. Techniques histologiques .....	24
II.2.4. Analyses des parametres hematologiques et biochimiques.....	26
II.2.5. Analyse microscopique des coupes histologiques.....	36
II.2.6. Investigation phytochimique .....	37
II.2.7. Analyse statistique.....	39
 CHAPITRE III : RESULTATS.....	41
III.1. EFFETS DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE.....	42
<i>Myrianthus arboreus</i> SUR LA MATURATION SEXUELLE,.....	42
L'INDEX DE FERTILITE ET LE TAUX DE GESTATION CHEZ DES RATES .....	42
III.1.1. Effets sur le poids corporel.....	42

III.1.2. Effets sur l'ouverture vaginale .....	42
III.1.3. Effets sur le poids relatif et les concentrations de protéines des ovaires et de l'utérus ..	4
III.1.4. Effets sur la taille de l'épithélium utérin .....	5
III.1.5. Effets sur la taille de l'épithélium vaginal .....	7
III.1.6. Effets sur les follicules ovariens.....	9
III.1.7. Effets sur les concentrations de cholestérol total sérique et ovarien.....	12
III.1.8. Effets sur les concentrations en gonadotrophines .....	12
III.1.9. Effets sur les concentrations en stéroïdes sexuels (œstrogènes et progestérone).....	13
III.1.10. Effets sur la fertilité et la gestation.....	14
III.2. EFFETS DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE <i>M. arboreus</i> SUR LES PARAMETRES DE GESTATION CHEZ DES RATES .....	15
III.3. EFFETS ŒSTROGENIQUES DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE <i>Myrianthus arboreus</i> CHEZ DES RATES.....	18
III.3.1. Effets sur l'utérus .....	18
III.3.2. Effets sur le vagin.....	21
III.4. EFFETS ANTI-ŒSTROGENIQUES DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DES FEUILLES DE <i>Myrianthus arboreus</i> CHEZ DES RATES ....	23
III.4.1. Effets sur l'utérus .....	23
III.4.2. Effets sur le vagin.....	26
III.5. EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Myrianthus arboreus</i> SUR LE COMPORTEMENT SEXUEL CHEZ DES RATES .....	28
III.5.1. Effets sur la phase appétitive.....	28
III.5.2. Effets sur la phase pré-copulatoire ou pro-réceptive.....	30
III.5.3. Effets sur la phase de consommation ou réceptive.....	33
III.5.4. Effets sur le cycle œstral .....	35
III.6. TOXICITE AIGÛE ET SUB-AIGÛE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES DE <i>Myrianthus arboreus</i> .....	37
III.6.1. Toxicité aigüe de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Myrianthus arboreus</i> .....	37
III.6.2. Toxicité sub-aigüe de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Myrianthus arboreus</i> .....	39
III.7. INVESTIGATION PHYTOCHIMIQUE : IDENTIFICATION ET ISOLEMENT DES METABOLITES SECONDAIRES DE <i>M. arboreus</i> . .....	56
CHAPITRE IV: DISCUSSION .....	59

CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES .....	59
REFERENCES .....	59
ANNEXE .....	59
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	59

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Système endocrinien : principales glandes endocrines du corps humain. ....	7
Figure 2 : Structure des récepteurs des gonadotrophines hypophysaires. ....	11
Figure 3 : Mécanisme d'action des gonadotrophines hypophysaires. ....	12
Figure 4 : Voie de biosynthèse des stéroïdes sexuels. ....	14
Figure 5 : Structure générale des récepteurs nucléaires . ....	16
Figure 6: <i>Myrianthus arboreus</i> P. Beauv. ...	57
Figure 7 : Structures chimiques des composés isolés de <i>Myrianthus arboreus</i> P. Beauv. ....	59
Figure 8: Dispositif expérimental du comportement sexuel sans animaux, vue de dessus et avec animaux, vue de profil. ....	5
Figure 9 : Protocole d'extraction des feuilles de <i>Myrianthus arboreus</i> . ....	7
Figure 10 : Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> sur la maturation sexuelle des rates de souche Wistar. ....	10
Figure 11 : Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> sur les paramètres gestationnels de jeunes rates adultes de souche Wistar. ....	12
Figure 12 : Protocole d'évaluation des effets œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> chez la rate de souche Wistar. ....	13
Figure 13 : Protocole d'évaluation des effets œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> chez la rate de souche Wistar. ....	15
Figure 14: Dispositif expérimental présentant la femelle changeant de compartiment ....	17
Figure 15: Dispositif expérimental présentant la femelle effectuant une sollicitation, un rejet, un « darting » et un « hopping » ....	18
Figure 16: Dispositif expérimental présentant la femelle effectuant une lordose et un « grooming » anogénital, puis le mâle effectuant une monte. ....	19
Figure 17 : Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> sur le comportement sexuel chez des rates de souche Wistar. ....	19
Figure 18 : Protocole d'évaluation de la toxicité aiguë par voie orale de <i>M. arboreus</i> . ....	21
Figure 19 : Protocole d'évaluation de la toxicité sub-aiguë par voie orale de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> . ....	22
Figure 20 : Courbes d'étalonnage de l'alanine aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase ...	30
Figure 21 : Courbe d'étalonnage des protéines. ....	32
Figure 22 : Courbes d'étalonnages de FSH et de LH. ....	34

Figure 23 : Courbes d'étalonnages d'œstradiol et de progestérone .....	36
Figure 24 : Protocole de fractionnement de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> .....	38
Figure 25 : Poids corporel des animaux pendant 30 jours de traitement.....	42
Figure 26 : Age moyen des animaux à l'ouverture vaginale et pourcentage d'animaux présentant une ouverture vaginale à un âge donné pendant 30 jours de traitement.....	3
Figure 27 : Poids relatif des ovaires et de l'utérus; taux de protéines totales ovariennes et utérines après 30 jours de traitement.....	5
Figure 28 : Représentation graphique de la taille des épithélia utérins et microphotographies de coupe histologique d'utérus après 30 jours de traitement.....	7
Figure 29 : Représentation graphique de la taille des épithélia vaginaux et microphotographies de coupe histologique du vagin après 30 jours de traitement.....	8
Figure 30 : Microphotographies de coupe histologique d'ovaires après 30 jours de traitement.....	11
Figure 31 : Taux de cholestérol total sérique et ovarien après 30 jours de traitement. ....	12
Figure 32 : Concentrations sériques de LH et de FSH après 30 jours de traitement. ....	13
Figure 33 : Concentrations sériques d'œstradiol et de progestérone après 30 jours de traitement.....	14
Figure 34 : Poids relatif de l'utérus frais des rates après 3 jours de traitement.....	18
Figure 35 : Taille de l'épithélium utérin et microphotographies de coupe histologique de l'utérus.....	20
Figure 36 : Taille de l'épithélium vaginal et microphotographies de coupe histologique du vagin.....	22
Figure 37 : Poids relatif de l'utérus frais des rates après 3 jours de traitement.....	23
Figure 38 : Taille de l'épithélium utérin et microphotographies de coupe histologique de l'utérus.....	25
Figure 39 : Taille de l'épithélium vaginal et microphotographies de coupe histologique du vagin.....	27
Figure 40 : Latence de changement de compartiment, fréquence de changement de compartiment et temps passé dans le compartiment non opérant des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	29
Figure 41 : Nombre de sollicitations et nombre de rejets chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	30
Figure 42 : Latence et fréquence de « darting » chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	31
Figure 43 : Latence et fréquence de « hopping » chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	32
Figure 44 : Représentation graphique de la latence de lordose, de la fréquence de lordose, de la durée de lordose et du quotient de lordose chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	34

Figure 45: Représentation graphique du nombre de « grooming » anogénital chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale. ....	35
Figure 46 : Microphotographies des frottis vaginaux des animaux expérimentaux. ....	37
Figure 47: Evaluation du poids corporel des rats après une administration unique par voie orale de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> . ....	38
Figure 48 : Evaluation du poids corporel des rats mâles et femelles après 28 jours de traitement par voie orale, avec l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> .....	41
Figure 49 : Microphotographies de coupe histologique de rein, du foie et des poumons, et des testicules, des vésicules séminales et de prostate chez le rat après 28 jours de traitement par voie orale. ....	52
Figure 50 : Microphotographies de coupe histologique de rein, du foie, des poumons, de l'utérus, et du vagin, et des ovaires chez la rate après 28 jours de traitement par voie orale. ....	54

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Age et poids corporel des animaux au début de chaque expérience .....	63
Tableau II: Composition de l'aliment des animaux pour les différents tests. ....	2
Tableau III: Mode opératoire du dosage du cholestérol total.....	27
Tableau IV: Mode opératoire du dosage des triglycérides .....	28
Tableau V: Mode opératoire du dosage des transaminases .....	29
Tableau VI: Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des transaminases .....	30
Tableau VII: Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.....	32
Tableau VIII: Dosage de la bilirubine .....	33
Tableau IX: Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des gonadotrophines .....	34
Tableau X: Dosage de l'œstradiol et de la progestérone .....	35
Tableau XI: Effets des extraits aqueux et au méthanol des feuilles de <i>M. arboreus</i> sur la croissance et la maturation des follicules ovariens chez des rates immatures.....	10
Tableau XII: Effets des extraits aqueux et méthanolique de <i>M. arboreus</i> sur l'index de fertilité et le taux de gestation. ....	15
Tableau XIII: Effet des extraits aqueux et méthanolique de <i>Myrianthus arboreus</i> avant le coït et pendant la gestation. ....	17
Tableau XIV: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> sur le cycle œstral des rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.....	36
Tableau XV: Poids relatif des organes, et taille des épithélia utérin et vaginal des rates après une administration orale unique de l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	39
Tableau XVI: Observations en essai sub-aigu de la morbidité et/ou de la mortalité des animaux .....	40
Tableau XVII: Poids relatif des organes chez les rats Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	43
Tableau XVIII: Poids relatif des organes chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> . ....	44
Tableau XIX: Paramètres hématologiques chez les rats Wistar soumis à 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	46
Tableau XX: Paramètres hématologiques chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	48
Tableau XXI: Paramètres biochimiques chez les rats Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	49

Tableau XXII: Paramètres biochimiques chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> .....	50
Tableau XXIII: Taille de l'épithélium vaginal et utérin et nombre de follicules matures chez des rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de <i>M. arboreus</i>	56
Tableau XXIV: Composés identifiés dans les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de <i>M. arboreus</i> .....	58

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ACTH** : « Adrenocorticotropin Hormone »

**AIP** : « Atherogenic Index of Plasma »

**ALAT** : Alanine-Aminotransférase

**AR** : « Androgen receptor »

**ASAT** : Aspartate-Aminotransférase

**CC** : Chromatographie sur colonne

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CCMH** : Concentration corpusculaire  
moyenne en hémoglobine

**DL50** : Dose létale 50

**EA** : Extrait aqueux de *Myrianthus arboreus*

**EM** : Extrait méthanolique de *Myrianthus arboreus*

**E<sub>2</sub>** : Œstradiol

**E<sub>2</sub>V** : Œstradiol valérate

**ER** : « Estrogen Receptor »

**ERE** : « Estrogen Response Element »

**FIV** : Fécondation *in vitro*

**FSH** : « Follicle-Stimulating Hormone »

**GC-MS** : « Gaz Chromatography coupled to Mass Spectrometry »

**GMPc** : Guanosine Monophosphate Cyclique

**GnRH** : « Gonadotropin Releasing Hormone »

**HCM** : Hémoglobine corpusculaire moyenne

**HDL** : « High Density Lipoprotein »

**HPLC** : « High Performance Liquid Chromatography »

**HRE** : « Hormone Response Element »

**LC-MS** : « Liquid chromatography  
coupled with mass spectroscopy »

**LH** : « Luteinizing Hormone »

***M. arboreus*** : *Myrianthus arboreus*

**MAPKs** : « Mitogen Activated Protein  
Kinases »

**MeOH** : Méthanol

**NLS** : « Nuclear Localization Signal »

**OVX** : Ovariectomisée

**PC** : Poids corporel

**PI3K** : Phosphatidyl inositol 3-Kinase

**PR** : « Progesterone Receptor »

**RMN** : Résonance magnétique

## RESUME

L'infertilité est un problème mondial sans cesse grandissant et dévastateur pour de nombreux couples surtout en Afrique sub-Saharienne où la procréation est considérée comme le socle du mariage. Généralement indexée comme l'unique responsable, la femme porte le plus souvent seule cet énorme fardeau. La cause la plus fréquente (25-50%) de l'infertilité chez celle-ci est le dysfonctionnement ovulatoire. Face aux limites des traitements conventionnels, la phytothérapie du fait de son accessibilité et son caractère « non toxique », est de plus en plus prisée. Au Cameroun, les extraits des feuilles de *Myrianthus arboreus* P. Beauv (Cecropiaceae) sont traditionnellement utilisés contre l'aménorrhée, l'infertilité féminine (primaire et secondaire) et pour améliorer la lactation. Sur cette base, le présent travail a été entrepris avec pour objectif d'évaluer les effets des feuilles de *M. arboreus* sur la fonction de reproduction et l'innocuité des feuilles de *M. arboreus* chez la rate Wistar, et d'identifier les composés responsables de ces effets. Pour ce faire, différents extraits (aqueux et méthanolique) ont été quotidiennement administrés aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg de poids corporel (PC) par gavage, pendant 30 jours consécutifs à des animaux immatures (test de maturation sexuelle) et à des jeunes adultes cycliques (test de comportement sexuel), et pendant toute la période de croisement et de gestation (impact sur la gestation). L'évaluation de la toxicité aigüe et sub-aigüe de l'extrait aqueux a été effectuée. Les colonnes de chromatographie sur gel de silice, la chromatographie sur couche mince et en phase gazeuse ont servi au fractionnement des extraits et à l'isolement de différents composés tandis que la chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse (GC-MS), la chromatographie liquide couplée au spectre de masse (LC-MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) ont permis de déterminer les différentes structures. Sur la maturation sexuelle, l'extrait aqueux a augmenté ( $p < 0,01$ ) le poids relatif des ovaires (aux doses de 20 et 110 mg/kg PC), les taux sériques de progestérone (20 et 200 mg/kg PC) et de gonadotrophines (200 mg/kg PC). En plus des effets sus-cités, l'extrait méthanolique a induit une ouverture vaginale précoce à toutes les doses testées, une croissance utérine ( $p < 0,05$ ) à la dose de 110 mg/kg PC et une augmentation ( $p < 0,01$ ) des taux sériques d'œstradiol aux doses de 110 et 200 mg/kg PC. L'index de fertilité a été augmenté aux doses de 20 et 110 mg/kg PC, tandis que la dose de 200 mg/kg PC a induit une diminution de ce paramètre. Sur les paramètres gestationnels, l'extrait méthanolique a augmenté ( $p < 0,05$ ) le nombre de corps jaunes (110 et 200 mg/kg PC) et de sites d'implantation (200 mg/kg PC). Toutefois, une augmentation du nombre de sites de résorption, de l'index de résorption et de la perte de fœtus après l'implantation a été

observée à la dose la plus élevée. Sur le comportement sexuel, l'extrait aqueux a induit une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la latence de changement de compartiment (110 mg/kg PC) et du « darting » (20 et 200 mg/kg PC), et a augmenté ( $p < 0,05$ ) la fréquence de « darting », de « hopping » et la durée de lordose à la dose de 200 mg/kg PC après 30 jours de traitement. En toxicité aiguë une  $DL_{50} > 5000$  mg/kg a été obtenue avec l'extrait aqueux. En toxicité sub-aiguë, aucun signe extérieur de toxicité n'a été observé pendant et après les 28 jours de traitement avec cet extrait. L'extrait a induit une baisse de l'indice athérogène du plasma et de la créatininémie à toutes les doses testées, et une réduction de l'alanine aminotransférase à la dose de 200 mg/kg PC. Cette dose a aussi été associée à une augmentation de l'hématocrite et de l'hémoglobine corpusculaire moyenne, du nombre de globules rouges et du poids relatif des ovaires chez la femelle. L'analyse phytochimique des extraits a révélé la présence de nombreux acides gras (palmitate de méthyle, méthyl stéarate, méthyl linolénate, méthyl linoléate, méthyl oléate, méthyl eicosanoate, méthyl tridecanoate, méthyl (E) hexadec-2-énoate, méthyl decanoate, méthyl linolélaïdate, méthyl tétradecanoate, méthyl 12-méthyltétradecanoate, (Z)-Méthyl hexadec-7-énoate, méthyl docosanoate, méthyl 8-(2-hexylcyclopropyl) octanoate, méthyl tétracosanoate, méthyl pentadecanoate, méthyl arachidate, méthyl linoléate, méthyl (9E)-9-dodécénoate, méthyl 11,14-éicosadiénoate, méthyl cis-10-heptadécénoate), de terpénoïdes (phytol, squalène, isocaryophyllène, neophytadiène, Myrcénol) et de phytostérols ( $\beta$ -sitostérol). Tous ces résultats montrent que les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* pourraient améliorer la fertilité chez la femelle à travers de nombreux effets sur le système reproducteur. De plus, il existerait une grande marge de sécurité à l'usage traditionnelle sub-aiguë de l'extrait aqueux de *M. arboreus* chez la femelle.

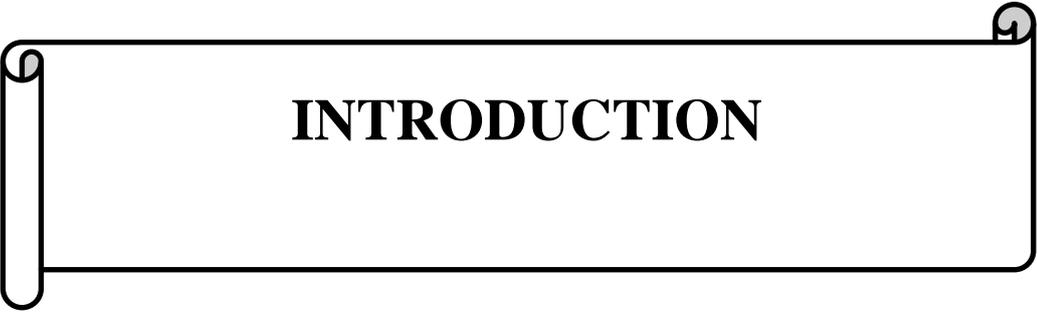
**Mots clés :** Infertilité femelle ; *Myrianthus arboreus* ; rate Wistar ; maturation sexuelle ; gestation ; motivation sexuelle.

## ABSTRACT

Infertility is a steadily growing and devastating problem worldwide touching many couples especially those in sub-Saharan Africa where procreation is considered as the bedrock for marriage. Generally, women are considered as the unique culprit and most often carry this enormous burden alone. The most common cause (25-50%) of female infertility is ovulatory dysfunctions. Due to the limits of conventional treatments, people now turn more and more to phytotherapy which is thought to be accessible and "nontoxic". In Cameroon, the extracts of *Myrianthus arboreus* P. Beauv (Cecropiaceae) are traditionally used to treat amenorrhea, female infertility (primary and secondary) and to improve lactation. On this basis, the present work was undertaken with the aim of evaluating the fertility effects and safety of the leaves of *M. arboreus* in female Wistar rat as well as identifying the compounds responsible for these effects. Accordingly, different extracts (aqueous and methanolic) were daily administered by gavage for 30 consecutive days at the doses of 20, 110 and 200 mg/kg of body weight (BW) to immature animals (sexual maturation test) and young cyclic adults (sexual behavior test), and throughout the crossing and gestation period (impact on pregnancy). The acute and subacute toxicity of the aqueous extract was done. Silica gel chromatography, thin layer chromatography and gas chromatography columns were used for fractionation of the extracts and the isolation of compounds, while gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) were used for the structure elucidation. On sexual maturation the aqueous extract increased ( $p < 0.01$ ) the relative weight of the ovaries (at 20 and 110 mg/kg BW), serum levels of progesterone (at 20 and 200 mg/kg BW) and gonadotropins (200 mg/kg BW). In addition to the above-mentioned effects, the methanolic extract induced early vaginal opening at all tested doses, uterine growth ( $p < 0.05$ ) at 110 mg/kg BW, and increased ( $p < 0.01$ ) serum estradiol levels at 110 and 200 mg/kg BW. The fertility index was increased at doses of 20 and 110 mg/kg BW, while the dose of 200 mg/kg BW induced a decrease in this parameter. On the gestational parameters, the methanolic extract increased ( $p < 0.05$ ) the number of corpus luteum (110 and 200 mg/kg BW) and implantation sites (200 mg/kg BW). However, an increase in the number of resorption sites, resorption index, and fetal loss after implantation was observed at the highest dose. On the sexual behavior, the 30-day treatment with the aqueous extract induced a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in compartment change latency (110 mg/kg BW) and darting (20 and 200 mg/kg BW), and increased ( $p < 0.05$ ) the frequency of darting, hopping and duration of lordosis at the dose of 200 mg/kg BW. On

acute toxicity a  $LD_{50} > 5000$  mg/kg BW was obtained with the aqueous extract. On subacute toxicity, no external signs of toxicity were observed during and after the 28 days of treatment. This extract also induced a decrease in the atherogenic index of plasma and creatininemia at all tested doses, and a reduction in alanine aminotransferase at a dose of 200 mg/kg BW. This dose also increased in hematocrit and mean corpuscular hemoglobin, number of red blood cells and relative weight of the ovaries in the female. The phytochemical analysis of the extracts revealed the presence of fatty acids (methyl palmitate, methyl stearate, methyl linolenate, methyl linoleate, methyl oleate, methyl eicosanoate, methyl tridecanoate, methyl (E) hexadec-2-enoate, methyl decanoate, methyl linolelaidate, methyl tetradecanoate, methyl 12-methyltetradecanoate, (Z) -Methyl hexadec-7-enoate, methyl docosanoate, methyl 8- (2-hexylcyclopropyl) octanoate, methyl tetracosanoate, methyl pentadecanoate, methyl arachidate, methyl linoleate, methyl (9E 9-dodecenoate, methyl 11,14-eicosadienoate, methyl cis-10-heptadecenoate), terpenoids (phytol, squalene, isocaryophyllene, neophytadiene, Myrcenol) and phytosterols ( $\beta$ -sitosterol). All these results suggest that aqueous and methanolic extracts of the leaves of *M. arboreus* could improve fertility in women through many effects on the reproductive system. In addition, there would be a large margin of safety for the traditional sub-acute use of the aqueous extract of *M. arboreus* in women.

**Keywords:** Female infertility; *Myrianthus arboreus*; Wistar rat; sexual maturation; gestation; sexual performance.



**INTRODUCTION**

Dans le monde, un nombre croissant de couples éprouve des difficultés à se reproduire sans une aide médicale. Le nombre de couples affectés est passé de 42 millions en 1990 à 48,5 millions en 2010 (Mascarenhas *et al.*, 2012), puis à plus de 70 millions de nos jours (Nathan *et al.*, 2016). Selon la « Women's Health Council » (WHC), à cause de la tendance actuelle (renvoi de la grossesse plus tard dans la vie, surpoids/obésité), ce chiffre pourrait encore s'élever dans les années à venir si rien n'est fait (WHC, 2009). Ce constat sur l'évolution de la fertilité humaine suscite plusieurs inquiétudes. L'infertilité, ou incapacité de concevoir après un an de relations sexuelles régulières et non protégées (Gnoth *et al.*, 2005), est une condition dévastatrice pour la très large majorité des couples ; car elle est souvent associée à des détresses psychologiques, à une faible estime de soi, à la violence, au divorce, à la perte du respect de la famille élargie et même à l'annulation du droit à une sépulture (Nguimfack *et al.*, 2016 ; Rouchou, 2013). L'infertilité affecte 10-15% de la population mondiale en âge de procréer (Agarwal *et al.*, 2015 ; Deka et Sarma, 2010). A cause du taux très élevé des infections/maladies sexuellement transmissibles, des avortements à risque et des infections pelviennes post-partum, ce taux pourrait dépasser les 30% dans certaines parties du monde telle que l'Afrique sub-Saharienne (Inhorn et Patrizio, 2015 ; Mascarenhas *et al.*, 2012). Trente-cinq pourcent des cas d'infertilité sont attribuables aux facteurs féminins, 30% aux facteurs masculins, tandis que 20% sont attribués à la fois aux deux sexes, et dans 15% de cas les facteurs sont inconnus (Forti et Krausz, 1998). Les causes les plus communes de l'infertilité chez la femme sont les anomalies de l'ovulation, l'hyperprolactinémie, l'endométriose, les obstructions et anomalies tubaires, la mauvaise qualité de la glaire cervicale, les maladies inflammatoires pelviennes et l'âge maternel avancé (Hall, 2015; Jiang *et al.*, 2017). Cependant, la cause la plus fréquente reste le dysfonctionnement ovulatoire (25% à 50% des cas d'infertilité) (Templeton, 2000 ; Unuane *et al.*, 2011). Il est principalement dû à des problèmes hormonaux liés à un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. En outre, toutes ces causes contribuent à réduire la fonction sexuelle qui englobe le désir, l'excitation et la fréquence des rapports sexuels (Direkvand-Moghadam *et al.*, 2013). Les thérapies conventionnelles de l'infertilité impliquent généralement l'utilisation de médicaments tels que l'hormone folliculo-stimulante (FSH), la gonadotrophine chorionique humaine (HCG), les analogues de la gonadolibérine, des inducteurs d'ovulation (citrates de clomifène, gonadotrophine ménopausique humaine), des chirurgies réparatrices, ou encore des techniques de reproduction médicalement assistées telles que la fécondation *in vitro* et l'insémination artificielle (Gorthi *et al.*, 2012 ; Tomao *et al.*, 2014 ; Jiang *et al.*, 2017). Au-delà de leur efficacité, ces traitements sont très coûteux pour

plusieurs populations dans les pays en développement et les structures hospitalières capables de les offrir sont généralement très éloignées des zones rurales. Bien que le taux global de naissances vivantes par transfert d'embryons soit passé de 19,2% en 2002 à 23,3% en 2013 (Chambers *et al.*, 2016), les résultats restent en deçà des attentes des femmes/couples infertiles. De plus, ces techniques posent très souvent des problèmes d'éthique (Serour et Serour, 2017). Pareillement, les médicaments utilisés pour ces traitements ont été associés à de nombreux effets secondaires tels que le syndrome d'hyperstimulation ovarienne, l'infarctus du myocarde et des cancers gynécologiques (Duran et Raja, 2007 ; O'Donovan *et al.*, 2015) et même à des troubles psychiatriques (Jiang *et al.*, 2017). Pour se soustraire à ces difficultés et effets indésirables, de nombreux couples souffrant d'infertilité cherchent des thérapies alternatives ou complémentaires (Smith *et al.*, 2013; Ried et Alfred, 2013 ; Jiang *et al.*, 2017). Pour cela, le monde végétal offre des possibilités inépuisables en matière de plantes médicinales qui sont une source potentielle de « produits » pharmacologiquement actifs. L'origine naturelle de ces plantes, la croyance en leurs effets secondaires faibles ou inexistants, leur donne un avantage considérable (Gurib-Fakim, 2006). Ces plantes jouent un rôle important dans plusieurs systèmes de santé, en particulier dans les pays en développement, où plus de 80% de la population recourt à la médecine traditionnelle pour ses soins de santé primaire (OMS, 2002). Malgré cette importante utilisation, la plupart des médicaments issus des plantes (médicaments traditionnels) ne sont appliqués que sur une base empirique, sans connaissance de leur innocuité, ni de leurs propriétés pharmacologiques (El Hilaly *et al.*, 2004). Il est donc nécessaire de mener des travaux scientifiques afin de valoriser et de vulgariser certains traitements utilisés par les populations (David *et al.*, 2015), à l'instar de ceux utilisés dans le traitement de l'infertilité.

*Myrianthus arboreus* P. Beauv (Cecropiaceae) est un arbre largement répandu en Afrique de l'Ouest, Centrale et de l'Est, où ses jeunes feuilles sont utilisées comme aliments/légumes (Konan *et al.*, 2014; Oyeyemi *et al.*, 2014) et contre divers maux et maladies (Burkill, 1985; Olonode *et al.*, 2015). Les extraits aqueux de ses feuilles sont traditionnellement utilisés au Cameroun contre l'aménorrhée, l'infertilité féminine (primaire et secondaire) et pour améliorer la lactation (Burkill, 1985 ; Adjanohoun *et al.*, 1996). Des travaux antérieurs ont révélé que cette plante possède des propriétés antioxydantes (Kasangana *et al.*, 2015 ; Biapa, *et al.*, 2011), antibactériennes (Seukep *et al.*, 2015), anti-infectieuses et cicatrisantes (Agyare *et al.*, 2014), hypoglycémiques, antihyperlipidémiques (Dickson *et al.*, 2016) et antidiabétiques (Kasangana *et al.*, 2018). Cependant, ses effets sur le

système reproducteur n'ont pas encore été rapportés, d'où l'élaboration du présent travail qui avait pour objectifs d'apporter des bases scientifiques aux supposés effets bénéfiques de *Myrianthus arboreus* (*M. arboreus*) sur la fonction de reproduction femelle, de vérifier son innocuité et d'identifier les constituants chimiques responsables de son activité. De façon spécifique, il s'agissait pour nous de :

- évaluer les effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* sur la maturation sexuelle et sur quelques paramètres de fertilité chez la rate Wistar ;
- évaluer les effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* sur les paramètres de gestation ;
- évaluer des effets œstrogéniques/anti-œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus*;
- évaluer l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* sur le comportement sexuel femelle ;
- évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* ;
- caractériser chimiquement les extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de *M. arboreus*.



**CHAPITRE I**  
**REVUE DE LA LITTERATURE**

## **I.1. SYSTEME ENDOCRINIEN ET ORGANES REPRODUCTEURS**

### **I.1.1. Système endocrinien**

Le système endocrinien (Figure 1) constitue l'ensemble des glandes qui assurent la transmission de l'information entre tissus par l'intermédiaire des messagers chimiques (hormones) déversés dans le sang et transportés dans tout l'organisme, afin de permettre à cet organisme de s'adapter aux situations qui lui sont imposées. Ces hormones peuvent avoir un effet stimulateur ou inhibiteur (Marieb et Hoehn, 2010). Chez l'Homme l'une des principales glandes endocrines est l'hypophyse autrefois appelée glande pituitaire, dont le lobe antérieur synthétise et libère de nombreuses hormones parmi lesquels l'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH). Parmi ces glandes, il y a également le pancréas endocrine (insuline et glucagon), les gonades (œstrogènes et androgènes) et les surrénales (corticoïdes et catécholamines). À ces glandes se rajoutent le tissu adipeux blanc (leptine, adiponectine) (Gaillard 2003 ; Boudalia, 2012) et le tube digestif (sérotonine, cholécystokinine). Contrairement au système nerveux qui régit l'activité des muscles et des glandes au moyen de signaux électrochimiques déclenchés par les neurones, le système endocrinien quant à lui, influe sur les activités métaboliques des cellules. La liaison d'une hormone aux récepteurs cellulaires provoque des réactions qui surviennent généralement après une période de latence de quelques secondes, voire de quelques jours. Une fois amorcées, elles tendent à durer beaucoup plus longtemps que les réactions instantanées (de l'ordre de la milliseconde) induites par le système nerveux (Marieb et Hoehn, 2010).

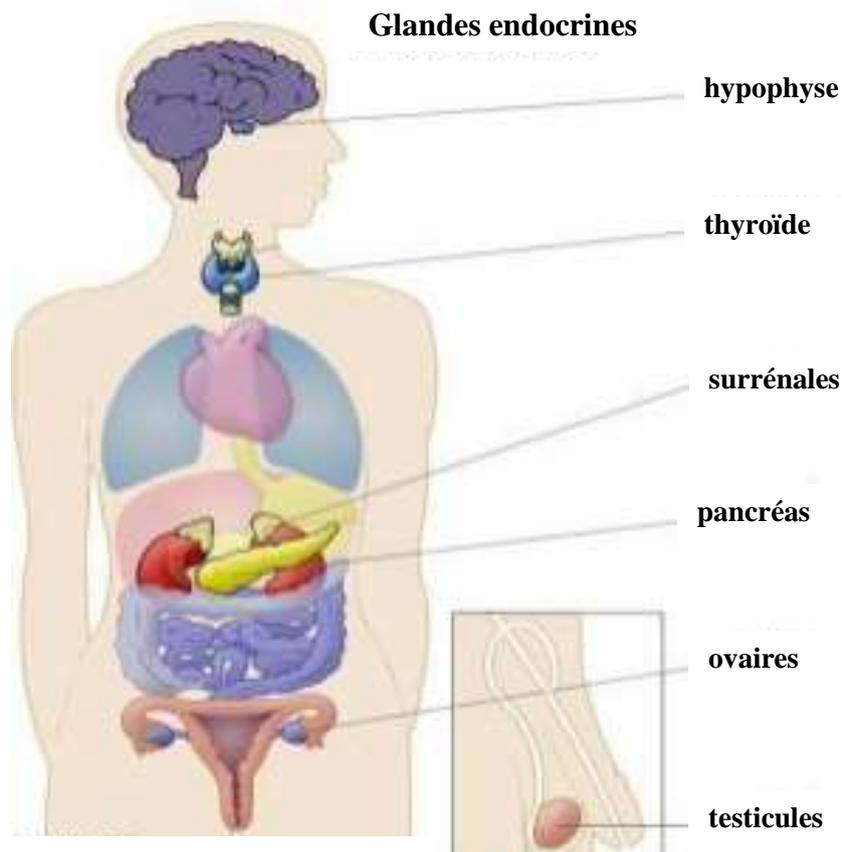


Figure 1 : **Système endocrinien : principales glandes endocrines du corps humain (Boudalia, 2012).**

### **I.1.2. Classification des hormones**

Les hormones sont couramment classées selon leurs effets sur les fonctions biologiques (les hormones de la reproduction, de croissance, du tractus digestif, du vieillissement, du comportement ou encore hormones du stress) ou selon leur nature chimique (les hormones hydrosolubles et liposolubles) (Boudalia, 2012 ; Nussey et Whitehead ; 2001 ; Marieb et Hoehn, 2010).

Les hormones hydrosolubles sont des hormones de nature protéique (prolactine, somatotrophine, insuline, glucagon), glycoprotéique (FSH et LH) ou dérivées des acides aminés (catécholamines et hormones thyroïdiennes) ; tandis que les hormones liposolubles telles que les glucocorticoïdes, les minéralo-corticoïdes et les stéroïdes sexuels (œstrogènes et androgènes), sont synthétisées à partir du cholestérol. Ce dernier groupe inclue également les hormones locales à l’instar des eicosanoïdes (leucotriènes et prostaglandines) qui sont des

lipides biologiquement actifs produits à partir de l'acide arachidonique, lui-même provenant des phospholipides membranaires (Marieb et Hoehn, 2010).

Dans le cadre de cette thèse et vu l'implication de ces différentes hormones dans la régulation des processus physiologiques variés, une attention particulière sera portée sur les gonadotrophines pituitaires (FSH et LH) et sur les hormones stéroïdiennes sexuelles (œstrogènes et progestérone) qui sont des hormones de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique ; ceci pour leur implication dans le développement et le contrôle des fonctions tels que la reproduction, le comportement et la prolifération cellulaire, et plus spécifiquement dans la maturation sexuelle et la fertilité.

### **I.1.3. Gonadotrophines hypophysaires**

Les gonadotrophines hypophysaires encore appelées gonadotropines ou hormones gonadotropes, sont des hormones glycoprotéiques synthétisées et libérées par les cellules gonadotropes de l'hypophyse antérieure (adénohypophyse). Leur synthèse et leur libération est sous le contrôle de la neurohormone GnRH (« Gonadotropin Releasing Hormone »), produite dans l'hypothalamus par des neurones à fonction endocrine. Deux de ces hormones : La FSH (« Folliculo Stimulating Hormone ») et la LH (« Luteinising Hormone »), jouent un rôle central dans la régulation de la reproduction chez tous les vertébrés en agissant sur les cellules somatiques des gonades qui possèdent des récepteurs membranaires spécifiques pour elles (Kochman et Gajewska, 1996 ; Marieb et Hoehn, 2010). Chez la femelle, elles sont nécessaires dans la régulation de processus physiologiques variés parmi lesquels le cycle sexuel et la stéroïdogénèse ovarienne. La FSH est principalement impliquée dans la stimulation de la croissance des follicules ovariens et l'expression des récepteurs de la LH sur les cellules de la granulosa. La LH quant à elle induit l'ovulation responsable de la luteinisation subséquente. La LH et la FSH régulent la stéroïdogénèse folliculaire, la sécrétion d'androgènes et d'œstradiol. La LH stimule la sécrétion de progestérone produite par le corps jaune (Considine, 2004).

#### **I.1.3.1. Biosynthèse**

La FSH et la LH sont produites par les mêmes cellules gonadotropes dans l'hypophyse antérieure. Elles sont composées de deux sous-unités de glycoprotéines structurellement différentes ( $\alpha$  et  $\beta$ ). Ces sous-unités sont maintenues ensemble par des liaisons non covalentes. La sous-unité  $\beta$  de la FSH est une chaîne peptidique de 111 résidus d'acides

aminés tandis que la sous-unité  $\beta$  de LH est un peptide de 121 résidus d'acides aminés, toutes attachées à deux chaînes de glucides. Les combinaisons des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  de FSH et LH donnent à ces hormones une taille moléculaire d'environ 28 à 29 kDa. Pour avoir une activité hormonale, les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  doivent être combinées entre elles dans un rapport 1:1. Cependant, c'est la sous-unité  $\beta$  qui donne à la molécule de gonadotrophine soit l'activité FSH ou LH car les sous-unités  $\alpha$  sont identiques (Terranova, 2004). Il existe des gènes distincts pour les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  dans ces gonadotrophes ; par conséquent, les chaînes peptidiques de ces sous-unités sont traduites à partir de molécules d'ARNm distinctes. La glycosylation de ces chaînes commence lorsqu'elles sont synthétisées et avant leur libération du ribosome. Le pliage des sous-unités de peptides dans leur structure tridimensionnelle finale, la combinaison d'une sous-unité  $\alpha$  et d'une sous-unité  $\beta$ , et l'achèvement de la glycosylation se produisent lorsque ces molécules traversent l'appareil de Golgi et sont emballées dans des granules sécrétoires. Les gonadotrophes produisent un excès de sous-unités  $\alpha$  sur la FSH et de sous-unité  $\beta$  LH. D'où le taux de production de la sous-unité  $\beta$  est considéré comme l'étape limitante dans la synthèse des gonadotrophines. La sécrétion de ces gonadotrophines est très faible durant l'enfance et augmente à la puberté où on observe à la fois une augmentation de la fréquence des pics et de leur amplitude. La sécrétion est pulsatile chez l'homme et la femme, mais le niveau moyen reste constant chez l'homme, alors que chez la femme il varie au cours du cycle menstruel (Considine, 2004 ; Terranova, 2004). La libération de ces hormones s'effectue par exocytose dans les capillaires sanguins fenestrés, très abondants, qui forment le plexus secondaire adénohypophysaire. L'association anatomique étroite entre les cellules glandulaires et ces capillaires sanguins constitue le fondement même du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

La synthèse et la sécrétion des gonadotrophines sont régulées par des facteurs hypothalamiques, gonadiques et hypophysaires. Le stimulus primaire pour la synthèse et la libération de FSH et de LH semble être une gonado-libérine hypothalamique (GnRH). Néanmoins, en fonction de la fréquence ou de l'amplitude des impulsions, la GnRH exerce un effet différentiel sur les deux hormones. Bien qu'une fréquence élevée d'impulsions de GnRH soit favorable à la sécrétion de LH, une faible fréquence est associée à la production de FSH. En plus de la GnRH et des stéroïdes gonadiques (progestérone et œstrogènes), certains membres de la superfamille du facteur de croissance TGF- $\beta$ , les protéines morphogénétiques osseuses (BMP), l'activine et l'inhibine, sont impliqués dans la régulation de la synthèse et de la production de FSH. L'activine est produite par les gonades et l'hypophyse où elles agissent comme des facteurs paracrines ; elle augmente l'expression de l'ARNm de FSH et la

libération de FSH. L'inhibine est produit principalement dans les gonades et agit par voie endocrine pour supprimer la synthèse et la libération de FSH (Faure *et al.*, 2005).

### **I.1.3.2. Transport et métabolisme**

La concentration des gonadotrophines dans le sérum est faible et varie de manière pulsatile (Kobe et Deisenhofer, 1993). Pour atteindre leurs cellules cibles, ces gonadotrophines doivent traverser la barrière vasculaire des gonades. Généralement, pour traverser la barrière endothéliale, les protéines sériques utilisent un mécanisme de transport non spécifique. Il s'agit de la diffusion en phase fluide par l'intermédiaire des vésicules plasmalemmales. Cependant, ce mécanisme est trop lent comparé à l'action rapide des hormones. D'où la nécessité d'un transport trans-endothélial rapide et spécifique pour ces hormones (Misrahi *et al.*, 1999). L'endothélium vasculaire va donc exprimer des récepteurs pour plusieurs hormones protéiques telles que les gonadotrophines, rendant ainsi possible leur transport par transcytose (Misrahi *et al.*, 1990 ; Kobe et Deisenhofer, 1993).

### **I.1.3.3. Récepteurs**

Les récepteurs aux gonadotrophines appartiennent à une famille de récepteurs couplés aux protéines G (Misrahi *et al.*, 1990). Ils sont localisés au niveau de la membrane des cellules cibles ovariennes et testiculaires et agissent principalement par stimulation de l'adénylyl cyclase cellulaire. Les récepteurs de la LH et de la FSH comprennent respectivement 699 et 695 acides aminés avec à leur extrémité amino-terminale un peptide signal qui sera secondairement clivé. Ils contiennent un domaine à sept passages transmembranaires caractéristique des récepteurs couplés aux protéines G. Ce domaine ne possède cependant pas d'homologie avec d'autres récepteurs plus anciennement connus (rhodopsine, récepteurs adrénergiques, muscariniques cholinergiques). En revanche, c'est le domaine le plus conservé entre les récepteurs des gonadotrophines et la TSH (Thyréostimuline) (Figure 2). Le domaine de liaison de l'hormone, domaine le plus volumineux et riche en leucine constitue la partie amino-terminale du récepteur et comprend plusieurs sites potentiels de glycosylation. Il s'oppose à la partie extracellulaire tronquée des autres récepteurs à sept segments transmembranaires liant des ligands de petite taille (Kobe et Deisenhofer, 1993 ; Ghinea, 2002). Cependant, il existe plusieurs formes de récepteurs aux gonadotrophines détectés au niveau des organes cibles (dont la FSHR, LHR, TSHR). Une forme de 85 kDa retrouvée à la surface cellulaire qui présente une glycosylation complète et

qui correspond à la forme mûre du récepteur. De manière inhabituelle, il existe également dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi des cellules cibles, une forte accumulation d'un précurseur incomplètement glycosylé de 68 kDa, riche en résidus mannoses, incapable de lier l'hormone et de fonction inconnue. Celui-ci pourrait correspondre à une réserve intracellulaire de récepteur capable d'être mûrie puis adressée rapidement en surface dans certaines situations physiologiques (Ghinea *et al.*, 1994).

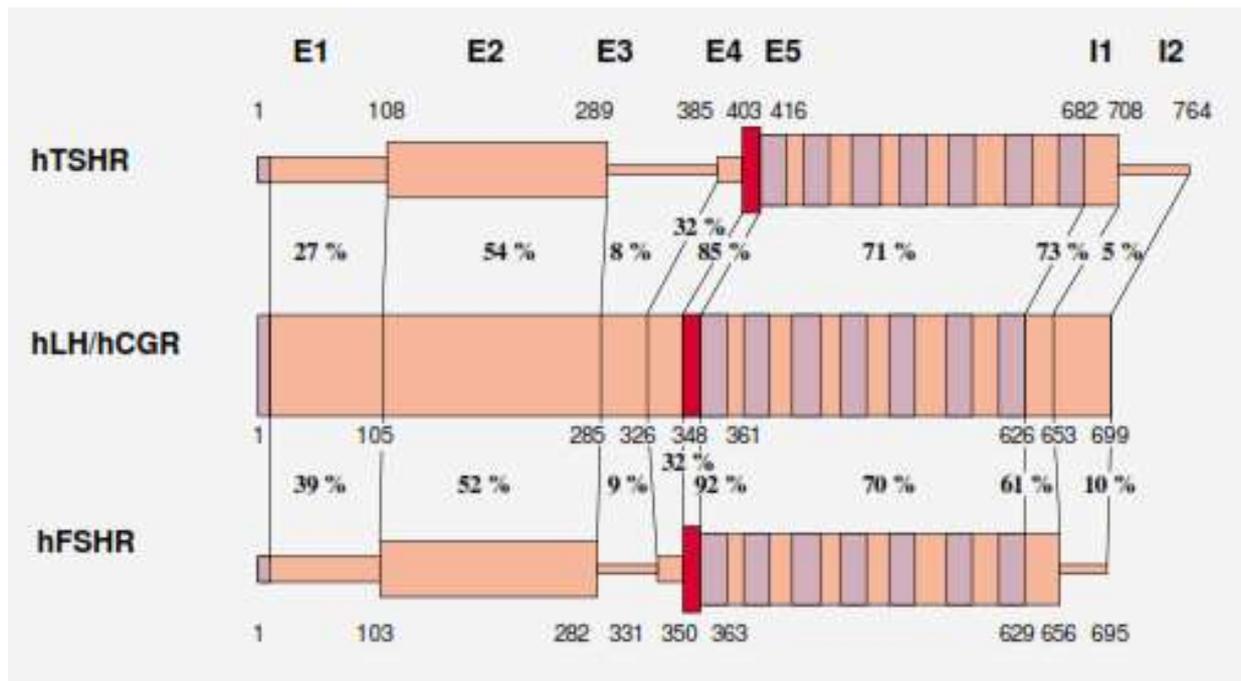


Figure 2 : Structure des récepteurs des gonadotrophines hypophysaires (Misrahi *et al.*, 1999).

#### I.1.3.4. Mécanismes d'action

Les hormones hypophysaires induisent des effets physiologiques soit en agissant directement sur leurs cellules cibles ou en stimulant d'autres glandes endocrines à sécréter d'autres hormones qui, à leur tour, vont apporter des changements fonctionnels. Les hormones hydrosolubles sont incapables de traverser la membrane plasmique des cellules cibles. Elles doivent, pour agir, se lier aux récepteurs membranaires desdites cellules. Par la suite, le complexe hormone-récepteur va stimuler par l'intermédiaire de l'adénylate cyclase, la conversion de l'ATP (adénosine triphosphate) en AMPc (adénosine monophosphate cyclique). L'AMPc ainsi produite stimule une protéine kinase A, laquelle déclenche une série de réactions aboutissant à la réponse hormonale (Marieb et Hoehn, 2010 ; Silbergagl et Despopoulos, 2004). A l'instar de l'activation des facteurs de transcription tels que le facteur

stéroïdien-1 (SF-1) et la protéine de liaison aux éléments de réponse AMPc (CREB). Ces facteurs activent la région promotrice des gènes des enzymes stéroïdiennes qui contrôlent la production d'hormones (Figure 3).

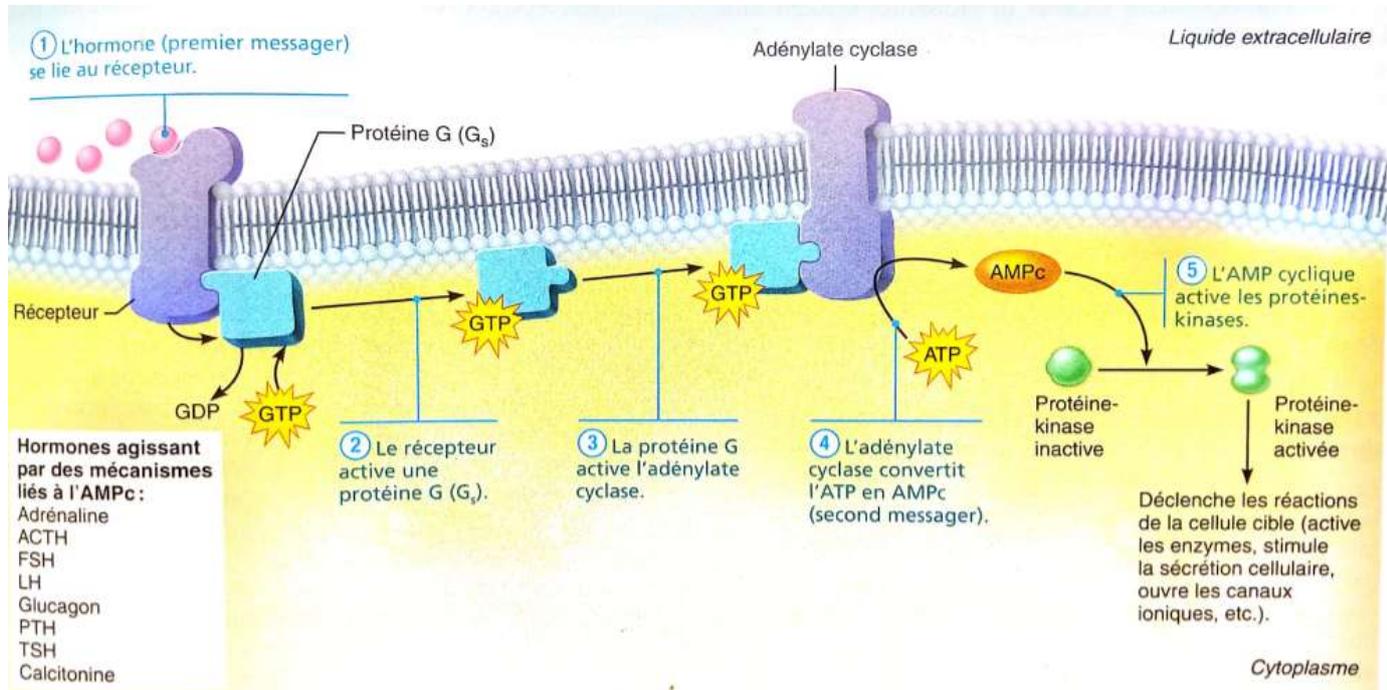


Figure 3 : Mécanisme d'action des gonadotrophines hypophysaires (Marieb et Hoehn, 2010).

GDP = guanosine diphosphate ; GTP = guanosine triphosphate; ATP = adénosine triphosphate ; AMPc = adénosine monophosphate cyclique.

### **I.1.4. Stéroïdes sexuels**

Les sécrétions hormonales ovariennes sont indispensables à l'ovulation, aux modifications utérines et à la préparation de l'endomètre à la nidation.

Les stéroïdes sexuels sont des hormones lipophiles jouant un rôle important dans la régulation des différents processus physiologiques tels que le développement, la croissance et la différenciation cellulaires, la maturation des organes génitaux et l'apparition des caractères sexuelles secondaires (Nussey et Whitehead 2001 ; Terranova, 2004). Ces hormones sont principalement produites au niveau des gonades (ovaires, testicules). Mais cette production peut aussi se faire de façon complète ou par conversion de leurs précurseurs circulants par d'autres organes, ceci grâce au phénomène d'aromatation catalysé par des enzymes regroupées sous le terme « aromatase » qui transforment les androgènes en œstrogènes dans de nombreux tissus. Il s'agit de la corticosurrénale, le cerveau, le tissu adipeux, le foie, les cellules comme les fibroblastes de la peau, les chondrocytes, les ostéoblastes, ou même les cellules endothéliales et musculaires lisses, et enfin l'unité fœto-placentaire chez la femme enceinte (Belanger *et al.*, 2002 ; Boudalia, 2012).

#### **I.1.4.1. Biosynthèse**

Le cholestérol (précurseur des stéroïdes), est récupéré par les cellules stéroïdogéniques grâce aux récepteurs du LDL (« Low Density Lipoprotein »), après internalisation par les cellules surrenaliennes et les cellules endocrines des gonades. Puis, il est stocké et transporté vers la membrane interne des mitochondries qui constitue le site de synthèse des stéroïdes. Ce mouvement intracellulaire est facilité par le cytosquelette et les protéines de transport intracellulaire des stérols telle que la « Steroidogenic Acute Regulatory protein » (StAR) (Stocco *et al.*, 2005). Dans la mitochondrie, le cholestérol est d'abord transformé en prégnenolone sous l'action de la 20,22-desmolase ou 20,22-lyase. Cette étape critique est sujette au contrôle hormonal par l'ACTH (« Adrenocorticotropin Hormone ») dans les surrénales et la LH dans les gonades. La prégnenolone ainsi produite est transformée en progestérone (voie  $\Delta 4$ ) ou en  $17\alpha$ -hydroxyprégnenolone (voie  $\Delta 5$ ) respectivement sous l'action de la  $3\beta$ -HSD («  $3\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase ») ou de la  $17\alpha$ -hydroxylase. La  $17\alpha$ -hydroxyprégnenolone et la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone seront converties en androgènes sous l'action de la  $17,20$ -lyase. Alors que la formation des androgènes dans les surrénales est limitée à la DHEA (Déhydroépiandrostérone) et à l'androstènedione dans les gonades, la présence des  $\beta$ -HSD dans les cellules de Leydig et dans les cellules de la thèque des follicules

ovariens, assure, sous le contrôle de la LH, la formation de la testostérone (principale hormone mâle) et de l'androstènedione. La formation d'œstrogènes requiert une autre enzyme P450, le complexe aromatase (P450arom) localisé dans le réticulum endoplasmique lisse. Le substrat est soit l'androstènedione (pour l'œstrone) ou la testostérone (pour l'œstradiol). Œstrone et œstradiol sont interconvertibles grâce à l'action des 17 $\beta$ -HSD (Figure 4). Dans l'ovaire, l'activité aromatase a lieu dans les cellules de la granulosa, sous le contrôle de la FSH (Olson *et al.*, 2007). La progestérone et les androgènes sont donc des intermédiaires de la biosynthèse des œstrogènes.

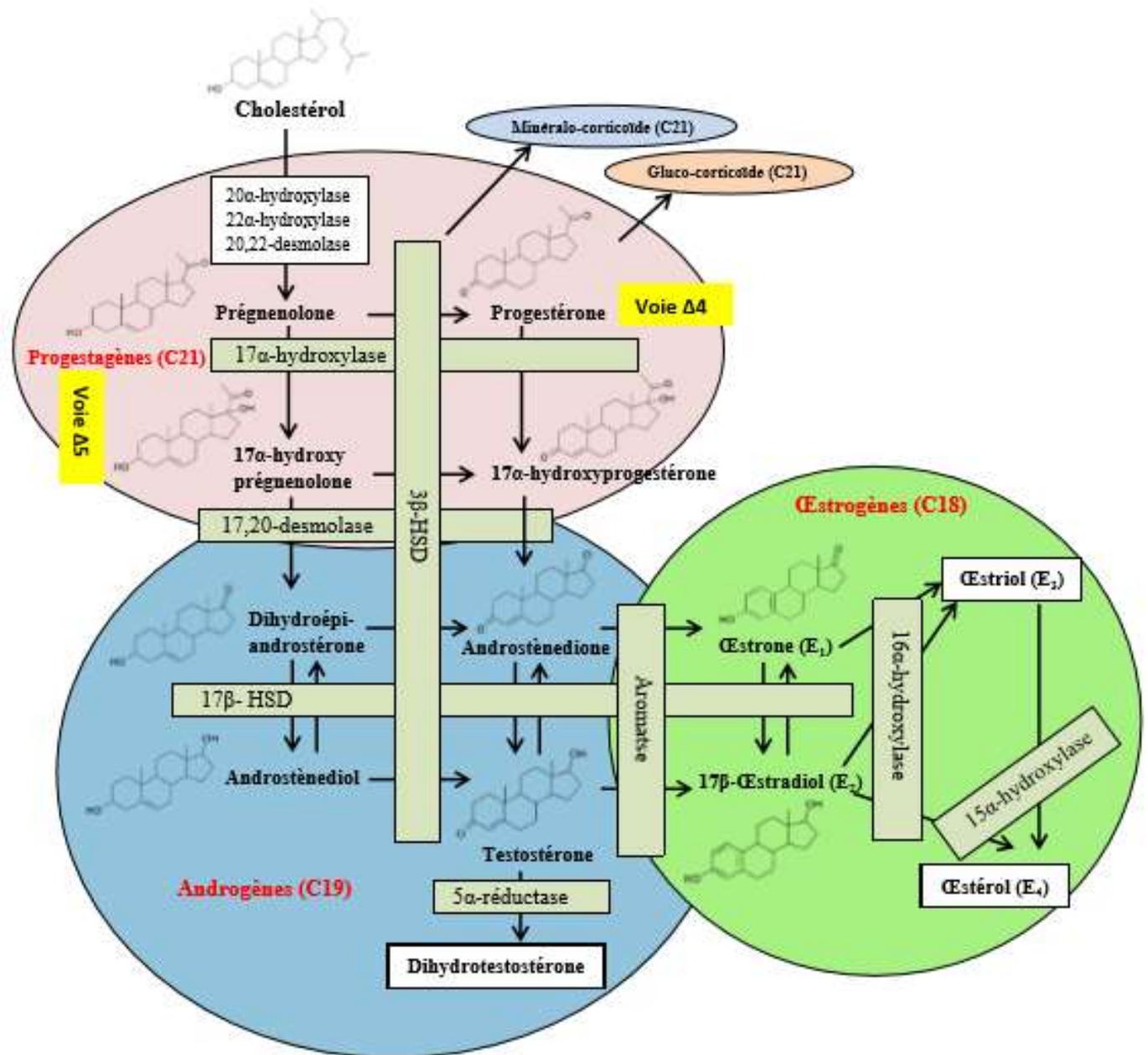


Figure 4 : Voie de biosynthèse des stéroïdes sexuels (adaptée de Tsilchorozidou *et al.*, 2004 et Handgraaf, 2013).

### **I.1.4.2. Transport et métabolisme**

Les hormones stéroïdiennes circulent dans le sang sous deux formes : à l'état libre (2 à 3%) ou liées (environ 98%) à une protéine de transport. Généralement, les hormones liposolubles se déplacent dans la circulation sanguine fixées à des protéines plasmatiques telles que la « Sex-hormone Binding Globulin » ou « Testosterone oestradiol Binding Globulin » (Anderson, 1974) avec qui elles ont une haute affinité, les lipoprotéines de haute densité (HDL) et les lipoprotéines de faible densité (LDL). Les hormones restées libres constituent la fraction active (Gruber *et al.*, 2002).

Après leur action, les stéroïdes sexuels sont métabolisés par sulfatation ou glucuronidation, puis les conjugués sont excrétés dans la bile ou dans l'urine. Ils peuvent également être métabolisés par hydroxylation puis méthylation (Osawa *et al.*, 1993).

### **I.1.4.3. Récepteurs des stéroïdes sexuels**

La présence et la répartition tissulaire de ces récepteurs déterminent la sensibilité d'un tissu cible à l'hormone. De la même manière, la présence majoritaire d'un récepteur dans un tissu donné va contribuer à le rendre sensible ou non à toute substance chimique exogène capable de se fixer sur ce récepteur, avec des conséquences sur l'équilibre endocrinien (Boudalia, 2012).

#### **I.1.4.3.1. Récepteurs nucléaires**

Grâce à leurs ligands spécifiques, ces récepteurs sont des facteurs de transcription dont la fonction est l'activation de la transcription des gènes impliqués dans la croissance, la différenciation cellulaire et les fonctions reproductrices. Ils sont constitués de six domaines structuraux notés de A à F, de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale (Mangelsdorf *et al.*, 1995). Parmi ces 6 domaines structuraux, 5 sont fonctionnels (les domaines A et B ne présentant pas de fonctions distinctes), chacun étant capable d'agir de façon autonome (Figure 5) :

- Le domaine N-terminal (A/B) impliqué dans l'activation de la transcription ligand-indépendante grâce à sa fonction AF-1 ;
- Une région C correspondant au domaine de liaison à l'ADN et qui contient un sous-domaine (« P-Box ») permettant la liaison du récepteur à des séquences spécifiques de l'ADN

appelées HRE (« Hormone Response Element ») (Mader *et al.*, 1989) et un second sous-domaine (« D-Box »), impliqué dans la dimérisation dudit récepteur (Luisi *et al.*, 1994) ;

- Le domaine D ou région charnière, impliqué dans le recrutement de protéines chaperonnes, de co-activateurs et dans l'interaction du récepteur avec le cytosquelette intranucléaire (Pasqualini *et al.*, 2001) grâce aux séquences NLS (« Nuclear Localization Signal ») qui sont impliquées dans le passage du récepteur à travers l'enveloppe nucléaire (Ylikomi *et al.*, 1992) ;

- Le domaine E qui présente une région de fixation du ligand, une interface de dimérisation, une fonction de *trans*-activation ligand-dépendante (AF-2), ainsi que des sites de fixation de coactivateurs et de protéines chaperonnes ;

- Le domaine F situé à l'extrémité C-terminale, est un domaine ne se trouvant pas chez toutes les espèces et dont la présence diminue la capacité de dimérisation du récepteur et par conséquent diminue son activité transcriptionnelle (Yang *et al.*, 2008).

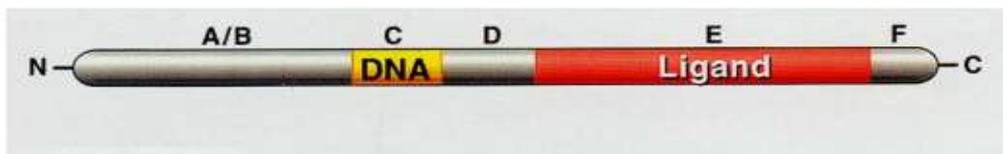


Figure 5 : **Structure générale des récepteurs nucléaires (Mangelsdorf *et al.*, 1995).**

Ce grand groupe de récepteurs nucléaires des stéroïdes sexuels comporte environ quatre types de récepteurs pour les œstrogènes (ER) dont deux facteurs de transcription ligand-dépendants ER $\alpha$  et ER $\beta$  (Greene *et al.*, 1986 ; Kuiper *et al.*, 1997), un récepteur couplé à la protéine G (GPER) et un moins bien défini appelé récepteur ER-X (Toran-Allerand, 2004) ; deux récepteurs de la progestérone (PR-A et PR-B) (Li *et al.*, 2004) ; et deux récepteurs au androgène (AR-B et AR-A)(Wilson et McPhaul, 1996).

Les deux principaux types de récepteurs ER $\alpha$  et ER $\beta$  sont codés par des gènes différents situés respectivement sur les chromosomes 6 et 14 chez l'Homme (Dahlman-Wright *et al.*, 2006). Ils présentent un grand degré d'homologie (97%) au niveau du domaine C, suggérant une interaction potentielle avec les mêmes séquences-cibles de l'ADN. En revanche, leurs domaines A/B et E étant très différents avec seulement 24 et 56% d'homologie, l'activité transcriptionnelle des gènes cibles pourra donc varier selon le type de récepteur et de ligand. La répartition tissulaire de ces deux récepteurs est ubiquitaire dans l'organisme. Cependant, l'activité du ER $\alpha$  est dominante dans le foie, le tissu adipeux, les organes génitaux, la glande mammaire, et les reins ; alors que celle du ER $\beta$  prédomine dans la

vessie, la prostate, les poumons, l'os, l'intestin et les glandes salivaires (Kuiper *et al.*, 1997; Enmark et Gustafsson 1999 ; Dahlman-Wright *et al.*, 2006). Cependant, la répartition cellulaire de ces récepteurs peut être différente à l'intérieur du même organe. Comme exemple, dans l'ovaire, ER $\alpha$  est fortement exprimé dans les cellules thécales tandis qu'ER $\beta$  l'est plus dans la granulosa ; au niveau de la prostate ER $\alpha$  est retrouvé dans le stroma et ER $\beta$  dans l'épithélium (Mowa et Iwanaga 2000). Cette distribution tissulaire hétérogène a été associée à une sélectivité d'action de l'œstradiol.

Les deux isoformes du récepteur de la progestérone (PR) recensés chez l'Homme (PR-A et PR-B) sont constitués respectivement de 769 et 933 acides aminés et issus d'un seul gène (Li *et al.*, 2004). La séquence N-terminale est plus longue pour PR-B et contient un domaine supplémentaire de *trans*-régulation transcriptionnelle AF-3 (Sartorius *et al.*, 1994) dont l'activation peut réprimer le domaine d'inhibition du PR-B et rendre les antagonistes de ce récepteur inefficaces (Leonhardt *et al.*, 2003). Le domaine F est inexistant. L'utilisation de cellules transitoirement transfectées avec le PR a montré que l'expression du PR-A conduit principalement à la répression des gènes alors que celle du PR-B est corrélée à leur activation (Giangrande *et al.*, 1997 ; Li *et al.*, 2005). De plus, alors que PR-A est principalement localisé dans le noyau cellulaire, PR-B est réparti aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasme (Li *et al.*, 2005). D'autre part, il a été rapporté que PR-B est l'isoforme la plus active du point de vue transcriptionnelle et peut être réprimée par le PR-A (Hilal, 2011). Les PR sont exprimés de manière constitutive dans de nombreux organes tels que l'utérus, la vessie, le duodénum et le jéjunum, le rein, les glandes surrénales et la glande salivaire submandibulaire et leur expression peut être stimulée par les œstrogènes dans le vagin, l'urètre, la peau et les vaisseaux sanguins (Uotinen *et al.*, 1999). Ils se retrouvent également dans les testicules et le cerveau. Les expériences d'inactivation et d'induction spécifiques du gène de PR-A et de PR-B chez la souris montrent que, le développement et le fonctionnement correct de l'utérus et des ovaires, ainsi que la régulation neuroendocrine normale des gonadotrophines nécessitent le PR-A, tandis que le PR-B intervient dans la croissance et la différenciation de la glande mammaire saine et tumorale (Li *et al.*, 2004). Par ailleurs, les œstrogènes induisent l'expression de PR dans de nombreux tissus comme le vagin et son augmentation représente un bon marqueur de stimulation œstrogénique. Cette induction est régulée par ER $\alpha$  (Flototto *et al.*, 2004).

Le gène des récepteurs des androgènes (AR) humains est situé sur le chromosome X et code pour deux protéines AR-B et AR-A résultant d'une traduction alternative et plus courte

du côté N-terminal (Wilson et McPhaul, 1996). Les deux protéines sont fortement exprimées au niveau des organes génitaux fœtaux et adultes, AR-B étant la forme prépondérante. L'expression des AR semble indispensable au développement de ces tissus (Pelletier *et al.*, 2004; Yeh *et al.*, 2003). Leur expression est détectée dans de nombreux autres tissus fœtaux (vessie, poumons, muscle, reins, peau, estomac, thyroïde et l'intestin) et adulte (cerveau, glande mammaire, glandes salivaires, colon, poumons, glandes surrénales). De plus, les AR jouent un rôle dans le maintien de la densité osseuse et la croissance du tissu adipeux chez la souris mâle, les souris ARKO (« Androgen Receptor Knockout ») développant une ostéopénie et une obésité. Cependant, une invalidation des AR abolit tout comportement reproducteur chez la souris mâle et femelle et rend les mâles stériles (Kato *et al.*, 2005).

#### **I.1.4.3.2. Récepteurs membranaires**

Des études récentes ont montré que les récepteurs des stéroïdes sexuels ne sont pas seulement nucléaires ; ils peuvent également être situés sur la membrane plasmique des cellules cibles.

Un seul récepteur membranaire a été décrit pour les œstrogènes. Il s'agit du GPER (« G Protein-coupled Estrogen Receptor ») identifié à l'origine comme un récepteur orphelin couplé à la protéine G (GPR30). Il a été localisé dans le réticulum endoplasmique et lie de façon spécifique les œstrogènes (Hasbi *et al.*, 2005).

La progestérone quant à elle possède deux récepteurs membranaires (MPR) qui contiennent 7 domaines transmembranaires, qui sont similaires au GPER. L'action rapide de la progestérone peut être aussi induite par une autre protéine membranaire: la PGRMC1 « Receptor Membrane Component-1 ». C'est une protéine membranaire qui possède un court domaine extracellulaire N-terminal, un seul domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique (Furukawa et Kurokawa, 2007).

Les récepteurs membranaires des androgènes sont encore mal connus ; cependant des études ont mis en évidence l'existence de deux formes tronquées dans la région N-terminale des récepteurs aux androgènes au niveau de l'oviducte chez la tortue et de plusieurs tissus chez les mammifères avec une forte expression au niveau du cœur (Ahrens-Fath *et al.*, 2005 ; Selcer *et al.*, 2005), bien que leurs rôles physiologiques et leur nature moléculaire n'aient pas encore été déterminés.

#### **I.1.4.4. Mécanismes d'action des stéroïdes sexuels**

L'activité des hormones stéroïdiennes sexuelles passe par la transactivation de leurs récepteurs et est médiée à travers deux principaux mécanismes d'action : le premier communément appelé mécanisme génomique, permet de réguler la transcription des gènes-cibles par le biais de la fixation du récepteur intracellulaire à son élément de réponse au sein du promoteur de gènes cibles ou par des interactions protéines-protéines. Il existe 3 voies de signalisation génomique: classique, HRE-indépendante et ligand-indépendante. Le second mécanisme est dit non-génomique. Ici les stéroïdes, agissent par l'intermédiaire de récepteurs membranaires, entraînant une cascade de réactions dont des phosphorylations, et modulent des fonctions physiologiques rapides (de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes), telle que la régulation du flux calcique.

##### **I.1.4.4.1. Action génomique**

Les récepteurs stéroïdiens, en absence de ligand, sont séquestrés au niveau cytoplasmique au sein d'un complexe inactif constitué de monomères de récepteurs liés à des protéines de choc thermique dont la Hsp90 (« Heat Shock Protein 90 ») (Pratt *et al.*, 2004). Cette interaction maintient les récepteurs dans un état inactif associé à une incapacité transactivatrice, levée par la liaison de l'hormone (Renoir *et al.*, 1986). Puisque les stéroïdes sont des molécules lipophiles, elles traversent la membrane cytoplasmique par diffusion passive ou facilitée (Tetel, 2009), et la liaison de l'hormone à son récepteur est suivie par la dissociation de la Hsp90. Ceci rend possible la formation de systèmes de complexes jumeaux ligand-récepteur, puis leur translocation dans le noyau cellulaire grâce à l'action des « Nuclear Localization Signal». Ces dimères se lient ensuite à des séquences spécifiques de l'ADN (HRE) (Hall et Couse, 2001) pour induire ou non la transcription des gènes cibles (Nelson *et al.*, 2002 ; Prescott et Coetzee, 2006). Le recrutement des co-régulateurs et de facteurs de transcription sur les régions promotrices initiant l'activation de l'ARN polymérase II et la synthèse de nouveaux ARNm module la transcription des gènes. Ce mécanisme, communément dit classique ou HRE-dépendant, peut être médié en présence (voie classique ligand-dépendant) ou en absence (voie classique ligand-indépendant) de ligand. Dans ce dernier cas, la phosphorylation des résidus sérines présents dans le domaine AF-1 des récepteurs stéroïdiens nucléaires par des facteurs de croissance (Nilsson *et al.*, 2001), entraîne la dissociation des Hsp des récepteurs, la dimérisation de ces derniers et la translocation des dimères dans le noyau cellulaire où ils vont se lier à la région HRE de l'ADN pour activer ou non la transcription des gènes cibles (Joel *et al.*, 1998 ; Martin *et al.*, 2000).

Dans la voie HRE-indépendante, le domaine de liaison de l'ADN (domaine C) du récepteur ne se lie pas directement à l'ADN mais est impliqué dans des interactions protéine-protéine avec des facteurs de transcription tels que la protéine AP1 (« Activator Protein 1 ») ou la protéine SP1 (« Specificity Protein 1 »). Le complexe ainsi formé peut se fixer au niveau des sites nucléotidiques TRE (« Thyroid Response Element ») (cas de la liaison du récepteur avec la protéine AP1) ou à une séquence régulatrice spécifique riche en GC (cas de la liaison du récepteur avec la protéine SP1) de la région promotrice des gènes cibles et induire l'expression desdits gènes (Safe et Kim, 2008).

#### **I.1.4.4.2. Action non génomique**

Une action est dite non génomique lorsqu'elle ne va pas initier ou directement influencer, l'expression d'un gène. Elle induit des effets rapides, comme l'activation d'une voie de signalisation en cascade, incompatibles avec l'activation des gènes (Carreau, 2008). Elle repose sur l'interaction de l'hormone avec des récepteurs localisés sur la membrane plasmique et inclue l'implication de messagers secondaires caractéristiques des voies de signalisations cellulaires à l'instar de la voie des MAP kinases « Mitogen Activated Protein Kinases », des phosphatidyl-inositol 3-kinases (PI3K), de la phospholipase C (PLC), de la protéine kinase C (PKC), de la eNOS (« endothelial nitric oxide synthase »), ou encore de la voie de l'EGFR (« Epidermal Growth Factor Receptor ») (Furukawa et Kurokawa, 2007 ; Baldi *et al.*, 2009).

#### **I.1.4.5. Rôle des stéroïdes sexuels**

Dès les premiers instants de la vie fœtale dans l'organogenèse, les stéroïdes sexuels (œstrogènes, androgènes, progestérone) agissent de concert. Ils dirigent la différenciation sexuelle et la mise en place des caractères sexuels secondaires, de la gamétogénèse et de la puberté. Ils ont aussi une action trophique sur l'ensemble du développement corporel : muscles, masse osseuse et cartilage de croissance. Au niveau cutané, ils stimulent le système pileux ou la sécrétion des glandes sébacées. Leur action s'étend sur le système vasculaire et le métabolisme général. En synergie avec les neuromédiateurs sur le système nerveux central, ils contribuent fortement à la mise en place et à la régulation des circuits neuronaux impliqués dans l'équilibre psychique, le maintien des facultés mentales, de la mémoire, mais aussi dans le comportement, qu'il soit social, sexuel, maternel ou alimentaire (Boudalia, 2012).

## I.1.5. Organes reproducteurs

Dans la reproduction, la femme joue un rôle beaucoup plus complexe que l'homme, en assurant la majorité des étapes de la reproduction. Non seulement son organisme doit produire les gamètes, accueillir et acheminer les gamètes masculins (spermatozoïdes), mais aussi se préparer à soutenir un embryon en voie de développement après la fécondation et assurer l'expulsion de ce dernier lors de l'accouchement. Les organes reproducteurs féminins regroupent un ensemble d'organes situés dans la cavité pelvienne dont, les ovaires, les trompes de Fallope, l'utérus, le vagin et la vulve (Marieb et Hoehn, 2015).

### I.1.5.1. Ovaires

Les ovaires sont des organes pairs situés de part et d'autre de l'utérus, maintenus en place par les ligaments propre et suspenseur de l'ovaire et par le mésovarium. Elles exercent deux fonctions distinctes : la formation des cellules reproductrices ou ovules et la synthèse des hormones tels que les stéroïdes sexuelles (œstrogène, progestérone). Chaque ovaire est divisé en une zone plus profonde (médullaire ovarienne) constitués de nerfs et de vaisseaux sanguins et en une zone corticale (cortex ovarien) constituée de follicules à différents stades de développement contenant des ovocytes et du corps jaune (Figure 1) (Marieb et Hoehn, 2015).

- **Follicules primordiaux** : sont constitués des ovocytes I bloqués en prophase de 1<sup>ère</sup> division de méiose et d'une couche unique de cellules folliculaires aplaties (squameuses) qui les entoure (Erickson, 2008).

- **Follicules primaires** : les cellules folliculaires qui entourent l'ovocyte I croissent et deviennent cuboïdes pour former un épithélium uni-stratifié d'aspect régulier, l'ensemble limité par une fine membrane basale (membrane de Slavjanski). Les follicules primordiaux et primaires ne sont pas sensibles aux gonadotrophines (FSH « Follicle Stimulating Hormone » ; LH « Luteinizing Hormone»). Leur développement est plutôt contrôlé par des facteurs de croissance paracrines intra-folliculaires telles que des cytokines et des facteurs de croissance (Marieb et Hoehn, 2015).

- **Follicules secondaires** : les cellules folliculaires continuent de proliférer activement autour de l'ovocyte I, pour former plus d'une assise cellulaire. Elles prennent désormais le nom de cellules granuleuses (dont l'ensemble constitue la granulosa), lié à l'ovocyte en cours de développement par des jonctions ouvertes par lesquels peuvent traversés des ions,

métabolites et molécules de signalisation. L'ovocyte grossit beaucoup durant cette étape et commence à exprimer les récepteurs de la FSH sur les cellules granuleuses (Marieb et Hoehn, 2015).

- **Follicules antraux ou tertiaires** : une couche de tissu conjonctif et de cellules épithéliales se condensent autour du follicule secondaire, formant ainsi la thèque folliculaire (thèque interne et externe). Pendant que le follicule grossit, les cellules thécales internes interagissent avec les cellules granuleuses sous l'action de la LH, pour produire des stéroïdes sexuelles (androgènes et œstrogènes). Au même moment l'ovocyte secrète une substance riche en glycoprotéine qui forme une épaisse membrane transparente qui l'enveloppe, appelée zone pellucide. Vers la fin de leur formation, de petits espaces remplis d'un liquide riche en albumine et diverses substances dont les stéroïdes sexuelles commence à se former entre les cellules granuleuses (Erickson, 2008).

- **Follicule de De Graaf** : toutes les cellules granuleuses sont pourvues de récepteur de FSH, et le liquide amassé entre les cellules granuleuses finit par confluer pour constituer une cavité centrale rempli de liquide appelée antrum folliculaire. L'antrum continue de se remplir de liquide jusqu'à ce qu'il isole l'ovocyte entouré de sa capsule granuleuse encore appelé corona radiata. Le follicule fait saillie tel un furoncle à la surface externe de l'ovaire pour éjecter son ovocyte (ovulation).

**Corps jaune** : Après l'ovulation, les cellules granuleuses et celles de la thèque interne du follicule rompu se transforme, et le follicule devient une structure glandulaire appelé corps jaune (à cause de la couleur d'un pigment contenu dans ses cellules) qui finit par dégénérer (corpus albicans) (Marieb et Hoehn, 2015).

### **I.1.5.2. Trompes de Fallope**

Ce sont des longs conduits qui relie chaque ovaire à l'utérus. Elles captent l'ovocyte au moment de l'ovulation grâce au mouvement des cils de son ampoule et assurent le transport des spermatozoïdes de l'utérus vers l'ovaire, puis des œufs fécondés en sens inverse (Heshmat, 2016).

### **I.1.5.3. Utérus**

C'est un organe situé au milieu de la cavité pelvienne, constitué du myomètre et de l'endomètre. L'endomètre présente des variations d'épaisseur et des modifications cycliques

en réponse aux concentrations d'hormones ovariennes. Il est destiné à accueillir, héberger et nourrir l'ovule fécondé (Heshmat, 2016 ; Marieb et Hoehn, 2015).

#### **I.1.5.4. Vagin**

C'est l'organe de copulation dans lequel seront déposés les spermatozoïdes au cours du rapport sexuel. Il représente également la filière que le bébé devra franchir lors de l'accouchement. Il permet aussi l'écoulement du flux menstruel (Heshmat, 2016 ; Marieb et Hoehn, 2015).

Bien que les relations entre le système reproducteur et les autres systèmes ne sont pas assez étudiés, celles qu'il entretient avec le système endocrinien sont particulières, et c'est donc sur elles que nous porterons notre attention.

## **I.2. REGULATION HORMONALE DE LA MATURATION SEXUELLE**

La maturation sexuelle encore appelée puberté correspond à l'activation de la fonction hypothalamo-hypophyso-gonadique, aboutissant au développement complet des caractères sexuels, à l'acquisition de la taille définitive, de la fonction de reproduction et de la fertilité (Teilmann *et al*, 2003 ; Marieb et Hoehn, 2010). Elle est déclenchée par des pics de gonadotrophines ; ce qui induit l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Terranova, 2004). En effet, pendant toute l'enfance, les ovaires croissent et secrètent continuellement un peu d'œstrogènes ; qui inhibent la libération de gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus. Quand les niveaux de leptine sont appropriés, l'hypothalamus devient moins sensible aux œstrogènes à l'approche de la puberté et commence à sécréter de la GnRH selon un mode cyclique. La GnRH stimule la libération de FSH et de LH par l'adénohypophyse. Ce sont ces deux hormones qui stimulent les ovaires à sécréter des stéroïdes sexuels surtout des œstrogènes. Pendant environ 4 ans avant la puberté, le taux de gonadotrophines augmente graduellement, mais la fille n'ovule pas. A un moment donné, le cycle de sécrétion de l'adulte est atteint et les interactions hormonales se stabilisent. C'est alors que la jeune fille a sa première menstruation (ménarche). Ce n'est que la troisième année après la ménarche que les cycles deviennent réguliers et sont tous ovulatoires (Marieb et Hoehn, 2010). D'où La maturation sexuelle chez la fille est marquée par l'installation des cycles ovariens et utérins.

L'œstradiol produit par l'ovaire est responsable du développement des caractères sexuels secondaires, c'est-à-dire, la croissance et le développement des seins et des organes reproducteurs, la redistribution de la masse adipeuse (hanches, seins) et la maturation osseuse.

### **I.2.1. Cycle ovarien**

Le cycle ovarien se regroupe en deux phases distinctes séparées par l'ovulation. Il s'agit de la phase folliculaire et la phase lutéale.

#### **I.2.1.1. Phase folliculaire**

Elle comporte quatre grandes séquences : l'initiation, la croissance folliculaire basale, la sélection et la maturation pré-ovulatoire avec l'acquisition de la dominance. Au cours de cette phase, on observe une augmentation lente du nombre de récepteurs de LH sur les cellules de la thèque interne des follicules ovariens tandis que le nombre de récepteurs de FSH sur les cellules de la granulosa ne varie pas (Yamoto *et al.*,1992). La croissance folliculaire basale semble être en grande partie indépendante de FSH car elle peut se produire en l'absence de concentrations détectables de cette hormone (grossesse, syndrome de Kallmann) ou en présence d'une mutation inactivatrice de son récepteur (Aittomäki *et al.*, 1996). Elle pourrait être sous la dépendance de facteurs sécrétés par l'ovocyte et/ou les cellules de la granulosa tels que l'EGF « Epidermal Growth Factor », le TGF $\beta$  (« transforming growth factor ») ou bien le facteur GDF-9 (« growth differentiation factor-9 ») (Maruo *et al.*, 1996 ; Dong *et al.*, 1996). En phase folliculaire, la biosynthèse de 17  $\beta$ -œstradiol (E2) est prédominante. Cette production d'œstrogènes augmente au fur et à mesure que les follicules croissent et lorsque leur taille (en l'occurrence celle du follicule dominant) atteint un certain seuil, le taux d'œstrogènes produit exerce brièvement une rétroactivation sur l'hypothalamus et l'adénohypophyse provoquant une brusque libération de LH et dans une certaine mesure, de la FSH, à peu près au milieu du cycle (Marieb et Hoehn, 2010).

#### **I.2.1.2. Phase d'ovulation**

L'afflux de LH incite l'ovocyte de premier ordre du follicule dominant à terminer la première division de méiose pour former un ovocyte de deuxième ordre qui se rend jusqu'à la métaphase II. La LH augmente également la perméabilité vasculaire, stimule la libération de prostaglandines (PgE et PgF) et déclenche une réponse inflammatoire qui favorise la libération d'enzymes, les métalloprotéines, qui contribuent à affaiblir la paroi de l'ovaire. Par

conséquent, le sang cesse de circuler dans la région saillante du follicule. En quelques minutes, cette région s'amincit, renfle, puis se rompt, produisant l'ovulation (expulsion de l'ovocyte mature) (Marieb et Hoehn, 2010).

### **I.2.1.3. Phase lutéale**

Après l'ovulation, le follicule rompu s'affaisse et l'antrum se remplit de sang coagulé, qui finit par se résorber. Les cellules granuleuses augmentent de volume et, avec les cellules de la thèque interne, elles composent une nouvelle glande endocrine, le corps jaune. Tout ce processus est contrôlé par la LH qui stimule ensuite la production, par cette nouvelle glande, de progestérone et d'une petite quantité d'œstrogènes. L'augmentation des concentrations sanguines de progestérone et d'œstrogènes exerce une rétro-inhibition sur la libération hypothalamique de Gn-RH et par conséquent sur la libération de LH et de FSH par l'adénohypophyse. La libération d'inhibine par le corps jaune augmente cet effet. La baisse des gonadotrophines empêche le développement de nouveaux follicules et l'afflux de LH supplémentaire qui pourrait causer la libération d'autres ovocytes. S'il n'y a pas grossesse, le corps jaune commence à dégénérer par apoptose au bout de 10 jours environ et cesse alors de produire des hormones. Il n'en restera qu'une cicatrice appelée « corpus albicans ». Quand l'ovocyte est fécondé et qu'il y a grossesse, le corps jaune persiste jusqu'à ce que le placenta soit prêt à élaborer des hormones à sa place, c'est-à-dire au bout de trois mois environ (Marieb et Hoehn, 2010).

### **I.2.2. Cycle utérin**

Le cycle utérin ou menstruel, est une série de modifications cycliques subies par l'endomètre en réponse aux variations des concentrations sanguines des stéroïdes ovariens. Le premier cycle menstruel se produit pendant la puberté. Les cycles menstruels sont interrompus pendant la grossesse et l'allaitement puis cessent à la ménopause (Terranova, 2004). Ces modifications endométriales sont coordonnées avec les phases du cycle ovarien, lesquelles sont régies par les gonadotrophines libérées par l'adénohypophyse. Les étapes du cycle menstruel sont les suivantes (Marieb et Hoehn, 2010):

- Phase menstruelle : elle s'étant du Jour-1 à 5. Au cours de cette phase, l'épaisse couche fonctionnelle hormonodépendante de l'endomètre se détache de la paroi utérine, processus provoquant des saignements qui durent de 3 à 5 jours. Le sang et les tissus qui se

détachent s'écoulent dans le vagin et constitue l'écoulement menstruel ou menstruation. Au jour 5, les follicules ovariens commencent à sécréter plus d'œstrogènes.

- Phase proliférative (préovulatoire) : elle s'étant du jour-6 à 14. Au cours de cette phase, l'endomètre se reconstitue. Sous l'influence du taux accru d'œstrogènes, la couche basale de l'endomètre génère une nouvelle couche fonctionnelle. Pendant que cette nouvelle couche épaisse, ses glandes grossissent et ses artères spiralées deviennent plus nombreuses. Par conséquent l'endomètre devient velouté, épais et bien vascularisé. Au cours de la phase proliférative, les œstrogènes provoquent aussi la synthèse des récepteurs de la progestérone dans les cellules endométriales, ce qui les prépare à interagir avec la progestérone sécrétée par le corps jaune. La glaire cervicale est normalement épaisse et collante mais les œstrogènes la rendent claire et cristalline. Elle forme alors des canaux facilitant le passage des spermatozoïdes jusqu'à l'utérus. L'ovulation qui se produit dans l'ovaire à la fin de la phase proliférative (jour-14), en réponse à la brusque libération de LH par l'adénohypophyse.

- Phase sécrétoire (postovulatoire) : elle s'étant du jour-15 à 28 et sa durée est plus constante (14 jours). L'augmentation du taux de progestérone produit par le corps jaune agit sur l'endomètre sensibilisé par les œstrogènes. La couche fonctionnelle se transforme en muqueuse sécrétrice et sécrète du glycogène nourricier dans la cavité utérine qui est sensée soutenir l'embryon en cas de fécondation jusqu'à ce qu'il soit implanté dans la muqueuse très vascularisée. Sous l'effet de la progestérone, la libération adénohypophysaire de LH est inhibée et la glaire cervicale redevient visqueuse, formant un bouchon muqueux qui empêche l'entrée des spermatozoïdes, des agents pathogènes ou d'autres matières étrangères dans l'utérus. S'il n'y a pas fécondation, le corps jaune commence à dégénérer vers la fin de la phase sécrétoire, quand le taux sanguin de LH diminue. La chute du taux de progestérone prive l'endomètre de son soutien hormonal, et les artères spiralées deviennent tortueuses et présentent des spasmes. Les lysosomes des cellules endométriales privées d'oxygène et de nutriments meurent, rendant ainsi possible la menstruation qui commence au jour 28. Les artères spiralées se contractent une dernière fois, puis elles se relâchent brusquement, irriguant généreusement l'endomètre. Le sang jaillit dans les lits capillaires affaiblis, fragmentant ceux-ci et entraînant la desquamation de la couche fonctionnelle. On se retrouve alors au premier jour d'un nouveau cycle. Chez la rate le cycle reproductif est appelé cycle œstral et il comprend 4 phases appelées præstrus, œstrus, metœstrus et diœstrus (Freeman, 1988). Ce cycle a une durée moyenne de 4 jours.

L'absence de cycle menstruel est encore appelée aménorrhée. Chez la fille après l'âge de 16 ans avec ou sans développement pubertaire c'est l'aménorrhée primaire, alors que son

interruption chez une femme préalablement cyclique constitue l'aménorrhée secondaire (Philippe et Charpin, 1992 ; Boubli et Brue, 2005). L'aménorrhée primaire est très souvent associée à un déficit en hormone de croissance (GH), à un taux trop bas ou trop élevé de FSH ou à un taux anormalement élevé de testostérone (Feldman, 2007). Cette anomalie est toutefois imputée beaucoup plus à des causes génétiques telles que les dysgénésies gonadiques, les agénésies mulleriennes et le syndrome d'insensibilité aux androgènes (Gennaoui, 2013). Les causes pathologiques de l'aménorrhée secondaires sont regroupées en deux catégories : causes périphériques (utérines et ovariennes) et causes centrales. L'aménorrhée secondaire d'origine utérine peut être associée à une sténose (rétrécissement d'un canal ou d'un orifice organique) cicatricielle du col de l'utérus, ou encore à des synéchies (accolement de deux tissus organiques qui devraient normalement être séparés) utérines secondaires à une destruction de l'endomètre. Alors que les aménorrhées secondaires d'origine ovarienne peuvent être associées à une ménopause précoce provoquée par l'épuisement prématuré du capital ovarien ou à un dysfonctionnement ovarien. Dans ce cas l'aménorrhée s'accompagne de bouffées de chaleur dans 50% des cas et l'examen clinique peut trouver une hypo-œstrogénie. Enfin dans le cas de l'aménorrhée centrale (hypophysaires et hypothalamiques), elle est soit une résultante d'une insuffisance hypophysaire globale par nécrose ischémique du lobe antérieur, d'une hypophysite auto-immune (positivité des auto-anticorps anti-hypophyse), d'une tumeur de l'hypophyse (aménorrhée liée à la destruction ou à la compression des cellules hypophysaires) ou des hyperprolactinémies (en cas d'adénome à prolactine ou d'hyperprolactinémie non tumorale, les deux conduisant à une aménorrhée associée à une galactorrhée) ; soit la résultante d'un déséquilibre neuro-hypothalamique souvent associé à des troubles du comportement alimentaire (anorexie, obésité), à l'arrêt de la prise de contraceptifs, ou à une cause psychogène (voyage, décès, mésentente conjugal, viol).

Toutefois toute perturbation de ce cycle conduit à l'infertilité et le traitement de l'infertilité pourrait avoir des répercussions émotionnelles et sociales très importantes pouvant améliorer la qualité de vie des couples (WHC, 2009).

## **I.3. INFERTILITE**

### **I.3.1. Définition**

L'infertilité est reconnue comme un problème de santé publique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Boivin *et al.*, 2007). Elle est principalement décrite comme l'incapacité pour un couple de concevoir et d'obtenir une grossesse clinique réussie après 12

mois de rapports sexuels réguliers et non protégés (Zegers-Hochschild *et al.*, 2009 ; Gnoth *et al.*, 2005). Cela peut être l'œuvre d'un ou des deux membres du couple. Le délai de 12 mois généralement accepté est réduit à 6 mois lorsque les individus sont âgés de plus de 35 ans (Gurunath *et al.*, 2011). Deux formes de manifestation sont reconnues : primaire et secondaire. L'infertilité primaire est l'incapacité de concevoir et d'avoir une naissance vivante réussie (lorsqu'on n'a jamais eu d'enfant). Tandis que l'infertilité secondaire survient lorsque les individus ont déjà eu au moins un enfant biologique antérieur (Romeiro *et al.*, 2017).

Ce problème de santé publique mondial affecte environ 10 à 15% de la population en âge de se reproduire (Deka et Sarma, 2010 ; Weiss et Clapauch, 2014), indépendamment de leur appartenance ethnique, de leur société, de leur culture ou de leur statut économique (Romeiro *et al.*, 2017). Il touche ainsi plus de 70 millions de personnes, avec, d'après l'OMS, 40% de couples atteints d'infertilité primaire et 60 % d'infertilité secondaire (Evers, 2002). Sa croissance s'observe par une augmentation récente, du besoin des couples à un traitement (Deka et Sarma, 2010), et de l'utilisation des stratégies pour améliorer la fertilité ou la reproduction (Tomao *et al.*, 2014), d'où environ 56% des couples recherchent des soins médicaux (Boivin *et al.*, 2007). Comme exemple, le nombre de bébés issus de la procréation médicalement assistée a largement augmenté partout dans le monde (Andersen *et al.*, 2008; WHC, 2009 ; Vayena *et al.*, 2009 ; Audibert et Glass, 2015 ; Inhorn et Patrizio, 2015). Les principales causes de cette croissance pour la recherche d'une aide liée aux problèmes d'infertilité sont des conséquences de la tendance actuelle à renvoyer la grossesse plus tard dans la vie caractérisée par une diminution du comportement reproducteur (« child-seeking behaviour ») (Romeiro *et al.*, 2017), l'augmentation du nombre de personnes obèses et des taux très élevés d'infections sexuelles (maladies sexuellement transmissibles, avortement à risque et infections postpartum). D'après des prédictions, la nécessité des renseignements/conseils et des traitements pour des problèmes de fertilité sera encore plus grande les années à venir (WHC, 2009).

Les raisons du renvoi de la conception chez des couples incluent : le prolongement du temps passé à étudier, à se forger une carrière, à la stabilité professionnelle/économique, et l'indépendance financière ; l'utilisation des contraceptifs, la rencontre tardive des partenaires, les informations rassurantes sur les techniques de procréation médicalement assistée, le désir d'un second enfant très tard après le premier, et parfois le désir d'un mariage avant d'avoir un enfant pour redéfinir le couple (WHC, 2009 ; Romeiro *et al.*, 2017). Dans plusieurs régions du

monde, l'âge moyen d'une femme pour avoir son premier enfant se rapproche de plus en plus de l'âge moyen du déclin de la fertilité, soit 30 ans (McGrath *et al.*, 2005). Cet ajournement de la grossesse a donc conduit à l'augmentation de l'incidence de l'infertilité inexplicée due au déclin de la qualité de la réserve ovarienne des ovocytes liés à l'âge. De plus, le taux d'obésité chez des jeunes femmes a significativement augmenté, conduisant à l'augmentation de l'anovulation et du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), ainsi qu'à une faible réponse aux traitements de fertilité (WHC, 2009). De même, l'incidence des cas d'infections aux chlamydias augmente chaque année. Il est estimé qu'environ 3% des femmes ayant une infection aux chlamydias dans le tractus génital inférieur deviendront infertiles (Paavonen et Eggert-Kruse, 1999).

Cependant, selon une commission d'inspection faite par la « Human Fertilisation and Embryology Authority » (HFEA), en dehors de la grossesse, l'infertilité serait la plus grande cause des consultations gynécologiques chez la femme âgée de 20 à 45 ans (HFEA, 2005).

### **I.3.2. Diagnostic de l'infertilité chez la femme**

Une évaluation par un examen physique complet et des antécédents médicaux, est généralement recommandée pour le diagnostic. Des tests diagnostiques spécifiques sont effectués pour vérifier les domaines suivants: le système hormonal (pour la croissance pondérale, le métabolisme et le développement sexuel), l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure, la réserve ovarienne et/ou le tractus reproducteur, et l'aménorrhée qu'elle soit primaire ou secondaire. La grossesse et l'allaitement doivent être exclus (Terranova, 2004).

### **I.3.3. Impact socio-économique**

L'infertilité a un impact profond sur les couples, les familles, les communautés et l'individu. Elle oblige souvent les couples à remettre en question leur but et leur sens dans la vie et à commencer un voyage spirituel (Romeiro *et al.*, 2017). C'est une condition dévastatrice commune pour les couples, car elle est très souvent associée à la perte de ressources économiques et à des sentiments tels que : la colère, la dépression (15 à 54% de couples), l'anxiété (08 à 28% de couples), l'angoisse, le rejet, la culpabilité, la honte, la faible estime de soi, le choc, l'isolement et l'embarras (Wright *et al.*, 1991). Ce stress psychologique s'amplifie à travers des insultes/abus, la perte du respect de la famille étendue, l'annulation du droit à une pierre tombale et le divorce (Chachamovich *et al.*, 2010; Cui, 2010; Greil *et al.*, 2010; Nguimfack *et al.*, 2016; Deka et Sarma, 2010; Leke *et al.*, 1993, Boivin *et al.*, 2007 ;

Larsen, 2000). Bref, c'est une expérience habituellement associée à une détresse psychologique, émotionnelle et spirituelle, qui détériore non seulement la qualité de vie des couples (sociale, professionnelle) mais affecte aussi la capacité reproductive lors du traitement, ceci à travers une diminution de la libido, une augmentation de la consommation d'alcool et de cigarette.

Compte tenu des nombreuses conséquences rapportées sur la santé mentale et le manque de soutien de la famille, ces couples utilisent de nombreuses stratégies d'adaptation malsaines. Par exemple, décider d'avoir des relations extra-conjugales supplémentaires pour tenter d'augmenter leur chance d'enfanter ; ceci les prédisposent à des infections sexuellement transmissibles, y compris le VIH / SIDA (Naab, 2014).

Bien que l'infertilité soit souvent observée, en particulier dans les pays développés, comme une condition qui affecte un couple quel que soit le partenaire qui peut avoir une déficience fonctionnelle (Greil *et al.*, 2010), les femmes sont souvent incriminées en Afrique subsaharienne où le mariage n'a de sens que si le couple conçoit et porte des enfants (Leke *et al.*, 1993). Dans cette région, l'infertilité a généralement été considérée comme un problème de femme car la fonction principale des femmes est résumée à la maternité. Par conséquent, l'incapacité de procréer est considérée comme étant la responsabilité des femmes et le fardeau de cette condition beaucoup plus subis par elles. En d'autres termes, les conséquences sociales de la stérilité sont particulièrement sévères pour les femmes par rapport aux hommes. Selon Nguimfack *et al.* (2016), parmi les Yemba de l'Ouest Cameroun, la stérilité masculine pose moins d'inquiétudes, mais celle de la femme soulève beaucoup de poussière. Les hommes sans enfants sont encore moins identifiables et moins influencés par ce statut. Pour masquer leur stérilité, les hommes s'arrangent pour que leurs partenaires aient des relations sexuelles avec des parents ou des amis proches ou revendiquent des enfants ailleurs. De même, les femmes qui soupçonnent leurs maris d'être infertiles se font enceinter par d'autres hommes (Van Zandvoort *et al.*, 2001). C'est pourquoi dans le cadre de cette thèse, un accent sera mis sur l'infertilité féminine.

### **I.3.4. Causes d'infertilité chez la femme**

Plus de 35% des cas d'infertilité sont attribuables à un facteur lié à la femme, 20% aux deux sexes et 15% des cas restent inexplicables (Forti et Krausz, 1998; Unuane *et al.*, 2011). Les causes de l'infertilité chez la femme regroupent :

- Les troubles organiques (les désordres ovariens, hypothalamiques, pituitaires, thyroïdiens et surrénaliens ; les anomalies/maladies de l'utérus ou des trompes de Fallope, l'adhésion pelvienne, le syndrome de Rokitansky-Küster-Hauser, la mauvaise qualité de la glaire cervicale, le fibrome, l'endométriose, la maladie d'Asherman, les ovaires polykystiques et la sténose cervicale) ;
- Les séquelles d'infections (la salpingite) ;
- Les infections latentes (Chlamydiae, mycoplasme) ;
- Des phénomènes fonctionnels et hormonaux tels que l'hypoprogéstéronémie (insuffisance du corps jaune) et l'insuffisance œstrogénique ;
- L'hyperprolactinémie, des anomalies génétiques (syndrome de Turner) et ;
- Des troubles fonctionnels sexuels (absence de libido, vaginisme). Cependant, l'obésité, l'âge avancé et certains médicaments peuvent également affecter la fertilité (Templeton, 2000 ; Unuane *et al.*, 2011 ; Weiss et Clapauch, 2014 ; Hall, 2015 ; Goetz, 2016).

### **I.3.4.1. Dysfonctionnement ovulatoire**

Vingt-cinq à 50% des causes d'infertilité chez la femme sont dues à un défaut d'ovulation (Templeton, 2000 ; Unuane *et al.*, 2011). Si l'ovulation est complètement absente on parle d'anovulation ou si elle est présente mais de mauvaise qualité on parle de dysovulation. Ce défaut peut être dû à : un problème génétique, hormonal, folliculaire, ou à des ovaires traumatisés ou cicatrisés.

#### **I.3.4.1.1. Facteur génétique**

Il contribue dans la survenue de plusieurs maladies communes qui affectent la reproduction et la fertilité, tels que l'endométriose, les fibromes utérins, l'âge des ménarches et l'âge de la ménopause (Montgomery *et al.*, 2014 ; Weiss et Clapauch., 2014).

#### **I.3.4.1.2. Facteurs modifiables (comportementaux, environnementaux ou occupationnels)**

Les facteurs qui réduisent les chances de concevoir à chaque cycle, que ce soit naturellement ou par une assistance médicale sont l'âge, l'obésité, l'alcool, la cigarette,

certains médicaments (marijuana, cocaïne, stéroïdes anabolisants) et la période inadaptée pour avoir des relations sexuelles (Gungor *et al.*, 2013).

Un fonctionnement reproducteur optimal nécessite une hygiène de vie saine, des niveaux d'exercices physiques appropriés. De nos jours, l'obésité a pris des proportions épidémiques. Près de la moitié des femmes en âge de se reproduire sont en surpoids ou obèses. Il existe une relation entre l'augmentation de l'indice de masse corporelle, le faible taux de grossesse et des naissances vivantes, et l'augmentation des avortements. Egalement, des caractéristiques de stimulation ovarienne non favorable ont été observées chez les femmes obèses soumises aux techniques de reproduction assistée. Il s'agit de l'augmentation du taux de gonadotrophines, la faible sélection des follicules et du faible nombre des oocytes récoltés. Toutefois, le mécanisme qui souligne de tels effets adverses sur l'ovaire et l'endomètre restent à clarifier (Yilmaz *et al.*, 2009).

Fumer activement a été associé à un pool ovarien réduit ; ceci se reflète dans la diminution du nombre de follicules antraux et du taux d'hormone anti-Müllerienne, conduisant à un faible pronostic dans les cycles de fécondation *in vitro* (FIV) quel que soit le protocole de stimulation ovarienne utilisé. Par ailleurs, fumer passivement conduit à un développement des embryons de mauvaise qualité (Meeker et Benedict, 2013). Cependant, fumer activement ou passivement épaissit la membrane qui recouvre les oocytes (zone pellucide), rendant difficile la pénétration du spermatozoïde lors de la fécondation. Les autres conséquences associées aux fumeurs sont le retard dans la conception, l'augmentation du risque d'avortement et des malformations à la naissance. Quant à l'alcool, il augmente le risque de fausses couches et d'anomalies chez le fœtus (WHC, 2009).

L'âge de la femme est le facteur le plus important pour une conception spontanée et un traitement lié à la conception (Maheshwari *et al.*, 2008a). La période biologique optimale pour concevoir chez elle se situe entre 18 et 30 ans. Passée cet âge la fertilité décroît, car le nombre d'oocytes compétents diminue dans les ovaires avec l'augmentation de l'âge. De plus, même avec la cryopréservation et le don des ovocytes, les technologies médicalement assistées n'ont pas encore de réponse au déclin de la fertilité chez la femme avec l'âge (Weiss et Clapauch, 2014; Taylor, 2003). Ce facteur s'observe de plus en plus chez des personnes qui se marient tardivement puis dans le retard pour avoir le premier enfant, qui se situe entre 25 et 49 ans. L'âge avancé des couples qui s'engagent dans la parentalité est un aspect important de la

fertilité, car il est lié à la diminution de la capacité physique d'avoir un enfant (Romeiro *et al.*, 2017).

Plusieurs médicaments ont montré des effets délétères sur la fertilité, à l'instar des anti-inflammatoires non stéroïdiens communément utilisés pour traiter les douleurs et les inflammations et des médicaments cytotoxiques utilisés en chimiothérapie. Ils sont reconnus comme des inhibiteurs de l'ovulation. De même, les médicaments de récréation tels que la marijuana et la cocaïne semblent avoir des effets néfastes respectivement sur l'ovulation et la fonction des trompes (WHC, 2009). La conception peut être également affectée par une exposition à des toxines ou substances chimiques présentes dans notre environnement. Ils se regroupent sous le terme de toxines reproductives c'est-à-dire des substances pouvant causer des mutations, des malformations, des avortements, l'infertilité ou la stérilité. Les plus incriminés sont: le plomb qui cause la tératospermie et l'avortement ; les expositions répétées aux radiations qui altèrent la production de sperme et la fonction ovarienne ; l'oxyde d'éthylène utilisé dans la fabrication de certains pesticides et dans la stérilisation du matériel chirurgical cause des malformations en début de grossesse et des avortements ; et enfin le dibromochloropropane (DBCP) retrouvé dans les pesticides qui cause un épuisement prématuré des ovaires (ménopause précoce) (Homan *et al.*, 2007 ; Mendola *et al.*, 2008).

### **I.3.4.1.3. Désordres endocriniens**

Plusieurs conditions endocriniennes conduisent à un dysfonctionnement ovulatoire et à l'infertilité :

- L'aménorrhée hypothalamique qui se traduit par un changement dans le mode de sécrétion épisodique normale de la gonadolibérine (GnRH : « Gonadotropin Releasing Hormone »), avec échec de l'ovulation suivi de l'aménorrhée (pendant plus de 6 mois sans anomalies organiques ou anatomiques). Elle peut être dûe à un déficit congénital de GnRH, une lésion hypothalamique ou pourrait être fonctionnelle (Linna *et al.*, 2013).

- Les adénomes fonctionnels hypophysaires qui regroupent les différentes maladies pituitaires telles que les tumeurs (prolactinomes), la compression ou la destruction des cellules gonadotropes et la compression du tube pituitaire observée chez des sujets souffrant d'acromégalie, et la maladie de Cushing. Elle se caractérise par des anomalies/dysfonctions menstruelles, des galactorrhées, des cycles irréguliers et une diminution de la sécrétion de la GnRH et de la fertilité. L'administration de la GnRH restaure le cycle ovulatoire (Melmed *et al.*, 2011; Kaltsas *et al.*, 2007).

#### **I.3.4.1.4. Désordres thyroïdiens**

Ils regroupent l'hyperthyroïdisme et l'hypothyroïdisme caractérisés par une variation des taux d'œstradiol, d'androgènes, de globuline liant des hormones sexuelles (SHBG : « Sex Hormone Binding Protein ») et d'hormone lutéinisante (LH : « Luteinizing Hormone »), conduisant à des avortements précoces (Krassas *et al.*, 2010).

#### **I.3.4.1.5. Désordres surrénaliens**

Ils regroupent la maladie d'Addison et l'hyperplasie congénitale des surrénales, caractérisés respectivement par un déficit des précurseurs d'androgènes, du cortisol et d'aldostérone ; et par une inhibition du cycle hormonal normal conduisant à l'anovulation et l'aménorrhée (Ambrosi *et al.*, 2003 ; Unuane *et al.*, 2011).

#### **I.3.4.1.6. Désordres ovariens**

L'ovulation dépend de la balance complexe des hormones hypophyso-gonadiques et du succès de leur interaction. Toute perturbation de cet équilibre pourrait l'impacter. Les causes des désordres ovariens regroupent l'échec de la production des follicules matures (le syndrome des ovaires polykystiques et l'insuffisance ovarienne prématurée), des dysfonctionnements de l'hypothalamus ou de la glande pituitaire, des ovaires traumatisés ou marqués d'une cicatrice, et le syndrome du follicule non rompu. Ici l'ovulation est rare et les chances de fertilisation deviennent inexistantes. Ceci inclut des symptômes tels que l'aménorrhée.

Le syndrome des ovaires polykystiques est la plus fréquente endocrinopathie chez la femme, qui résulte d'un développement des follicules arrêté prématurément à cause d'une situation biochimique complexe dans les ovaires (Cedars-Sinai, 2008). Il est caractérisé par un dysfonctionnement ovulatoire (anovulation ou dysovulation), l'hyperandrogénisme, plusieurs kystes ovariens et des changements métaboliques (Terranova, 2004). L'hypothèse du dysfonctionnement ovulatoire repose ici sur l'augmentation du taux d'hormone antimüllérienne qui inhibe le recrutement des follicules primordiaux et réduit la réponse du recrutement des follicules par l'hormone folliculostimulante (FSH : « Follicle-Stimulating Hormone »), prévenant ainsi la sélection du follicule dominant (Weiss et Clapauch, 2014).

L'insuffisance ovarienne prématurée est un désordre caractérisée par l'aménorrhée, le faible taux d'estrogènes et l'augmentation du taux de gonadotrophines chez des femmes âgées

de moins de 40 ans (Terranova, 2004). Il résulte d'un épuisement du pool de follicules ou pourrait être attribué à un dysfonctionnement folliculaire par exemple dû à une altération des récepteurs de la FSH ou de la stéroïdogénèse (Unuane *et al.*, 2011). Elle peut être due à un problème génétique, un faible poids corporel ou à des efforts physiques intenses. Elle est rare et reste encore une cause inexplicable de l'anovulation.

Un dysfonctionnement de l'hypothalamus ou de la glande pituitaire peut conduire à un faible ou une forte sécrétion hormonale (FSH, LH). Ces stimuli hormonaux inadaptés aux ovaires, vont entraver la maturation des ovocytes et empêcher l'ovulation. Ceci pourrait avoir pour origine une lésion physique, une tumeur ou un déséquilibre chimique dans ladite glande (WHC, 2009).

Les ovaires traumatisés ou marqués d'une cicatrice constituent une cause qui englobe les infections ovariennes, les dommages physiques des ovaires suite à de multiples chirurgies et enfin les kystes ovariens répétés pouvant entraîner la capsule de l'ovaire lors de la cicatrisation (Legendre *et al.*, 2014).

Dans le cas du syndrome du follicule non rompu, les follicules normaux avec des ovocytes se développent jusqu'à la maturité mais sa rupture échoue ; ainsi les ovocytes restent confinés dans l'ovaire et leur libération dans la trompe n'arrive jamais. Dans cette situation des changements sécrétoires sont observés dans le mucus et la cytologie vaginale (Weiss et Clapauch, 2014).

### **I.3.4.2. Faible fonctionnement de la trompe de Fallope**

Il constitue 25% des causes d'infertilité. Il peut être dû soit à des infections causées par des bactéries et des virus, très souvent issus des maladies sexuellement transmissibles et, à des douleurs abdominales telles que l'appendicite et les coliques qui peuvent entraîner une inflammation de la cavité abdominale pouvant à leur tour affecter la trompe de Fallope et conduire à un blocage ou un traumatisme. Les infections conduisent généralement à des inflammations qui traumatisent et endommagent la trompe de Fallope. Même des antécédents chirurgicaux tels que des chirurgies abdominale et pelvienne peuvent conduire à une adhésion qui altère le tube de Fallope et empêche le passage des gamètes (Low *et al.*, 2007).

### **I.3.4.3. Endométriose**

Touchant environ 10% de couples infertiles, l'endométriose est caractérisée par une prolifération anormale de l'endomètre qui s'étend souvent en dehors de l'utérus (trompe de Fallope, ovaires et le péritoine pelvien), pouvant perturber la rencontre de l'ovocyte et des spermatozoïdes et même influencer sur la qualité de l'ovulation. Ses symptômes incluent les douleurs pelviennes, les dysménorrhées, les douleurs pendant et après les rapports sexuels (Farquhar, 2007).

### **I.3.4.4. Autres facteurs**

#### **I.3.4.4.1. Utérus anormal**

Les malformations utérines touchent 10% des femmes infertiles. Elles peuvent conduire à l'obstruction de l'utérus et de la trompe de Fallope. Les adhésions ou les tissus cicatrisés, et les croissances non cancéreuses trouvées dans l'utérus peuvent provoquer l'infertilité (WHC, 2009).

#### **I.3.4.4.2. Anomalies congénitales**

C'est le cas du septum utérin qui est une malformation congénitale dans laquelle l'utérus est divisé en plusieurs parois (ou septum), conduisant à des avortements ou à l'incapacité de concevoir naturellement. C'est la cause la plus importante des anomalies congénitales chez des femmes infertiles. Quatre femmes sur cinq non traitées ont des fausses couches et une sur dix font des prématurés. Les anomalies congénitales utérines touchent approximativement 6,7% de la population mondiale et 7,3% des femmes infertiles (Saravolos *et al.*, 2008).

#### **I.3.4.4.3. Mucus cervical anormal**

Il est la cause de 3% des cas d'infertilité et peut être secrété de façon inadéquate (quantité, qualité et pH) ; ceci à cause des infections, du dysfonctionnement des glandes endocervicales ou suite à des traitements de lésions du col de l'utérus. Les causes d'un mucus cervical anormal sont généralement liées à un déséquilibre hormonal (peu d'œstrogènes et trop de progestérone). Il peut également contenir des anticorps anti-spermatozoïdes qui pourraient empêcher le déplacement du spermatozoïde vers le tractus génital supérieur. Le mucus cervical doit donc être disponible et avoir une consistance adéquate (WHC, 2009).

#### **I.3.4.4. Fausses couches**

Une fausse couche se définit comme une expulsion d'un embryon ou d'un fœtus hors de la mère avant le terme de la grossesse. Douze à 15% des grossesses cliniquement reconnues et 50 à 60% de toutes les grossesses se terminent par une fausse couche dans l'espèce humaine pour la majeure partie autour de la période d'implantation. Un à 5% des couples serait concerné par des avortements spontanés à répétition et leurs causes restent inconnues dans 50 à 80% des cas. Cependant, les causes récentes peuvent être, la qualité de l'implantation, la fréquence des malformations congénitales, le cloisonnement utérin, les anomalies chromosomiques (un caryotype anormal de l'embryon), immunologiques (syndrome anti-phospholipide ou une réponse immunitaire inappropriée envers l'embryon pouvant diminuer la tolérance maternelle) ou endocriniennes (Vatin, 2012). Le risque d'avortement augmente en fonction du nombre d'accidents précédents ou encore du succès des gestations précédentes (Knudsen *et al.*, 1991).

En résumé, les facteurs environnementaux, les troubles du système nerveux central, la maladie de l'hypothalamus, les troubles de l'hypophyse et les anomalies ovariennes peuvent entraver le développement folliculaire et/ou l'ovulation. Si une ovulation normale survient, les problèmes structurels, pathologiques et/ou endocriniens associés à l'oviducte et/ou à l'utérus peuvent empêcher la fertilisation, entraver le transport ou l'implantation de l'embryon et, en fin de compte, entraver l'établissement ou le maintien de la grossesse (Terranova, 2004).

Bien que l'infertilité soit identifiée, d'abord, en tant que problème physique, une compréhension approfondie de l'endocrinologie, de l'anatomie et de la physiologie de la femme est essentielle pour obtenir des solutions à ce grave problème de santé.

### **I.4. COMPORTEMENT SEXUEL CHEZ LES MAMMIFERES ET INFERTILITE**

Le comportement sexuel chez les mammifères est une séquence de réponses comportementales qui inclut la copulation, sans être limité à elle (Ågmo, 1999 ; Pfaus *et al.*, 2001). Il est constitué de l'ensemble des comportements qui motive le désir et la réponse de copulation, ou est renforcé par la réponse copulatoire et s'achève par cette dernière. La copulation quant à elle, implique l'insertion du pénis du mâle dans le vagin de la femelle, pour permettre la libération du sperme nécessaire à la fécondation, et pour une stimulation

vagino-cervicale qui va faciliter la grossesse. La réussite du développement du comportement sexuel nécessite des changements neuroendocriniens importants qui commencent à la puberté, mais aussi l'influence psychologique et sociale qui arrive avant et après la puberté. Le comportement sexuel est dirigé par une interaction sophistiquée entre l'action des hormones stéroïdiennes d'origine ovarienne sur le système nerveux central (au niveau du noyau ventromedial de l'hypothalamus, de la zone preoptique, du mésencéphale central gris, et au niveau de la zone cervicale et lombaire des cordes spinales) (Olivier *et al.*, 2011). Il donne naissance à l'éveil/excitation sexuel, et une expérience sexuelle qui accroît les attentes à une activité sexuelle de qualité, l'excitation et la performance/motivation (Pfaus *et al.*, 2001). Les séquences de réponses qui se regroupent dans le comportement sexuel sont l'attraction sexuelle, le comportement appétitif ou pro-réceptif, la copulation ou réceptivité (Pfaus *et al.*, 2001 ; Olivier *et al.*, 2011; Yakubu et Olutoye, 2016) et le comportement post copulatoire (Vellanikaran, 2015).

- **La phase attractive ou attraction sexuelle** : est la première étape où le mâle et la femelle se rapprochent. Les attributs physiques, les phéromones/l'action hormonale, les postures, les gestes, le contact visuel, la communication verbale/non verbale initient cette étape. Bref elle regroupe l'ensemble des comportements qui indiquent l'éveil et l'excitation sexuel (désir sexuel, fantasme, excitation, odeur, cris, préparation des instruments de préférence). Une fois mutuellement attirés, cette étape peut conduire le couple à l'étape suivante qui est celle des comportements pro-réceptifs.

- **La phase appétitive ou pré-copulatoire ou pro-réceptive** : est la période au cours de laquelle les comportements établissent, maintiennent ou favorisent l'interaction sexuelle. Elle regroupe l'ensemble des comportements tels que la sollicitation et la cour (sollicitation, « darting », « hopping », préliminaires, défense, agitation). Lorsque le couple présente un tel comportement, il peut passer à l'étape suivante d'accouplement.

- **La phase de consommation, ou de copulation ou réceptive** : est la période où l'on observe la réponse copulatoire encore appelée coït (stimulation génitale, masturbation, orgasme, lordose). Durant cette phase, les espèces sexuées s'engagent à fournir le sperme du mâle à la femelle à partir de l'insertion des organes génitaux masculins dans les organes génitaux féminins.

- **La phase post-copulatoire** : elle varie d'une espèce à l'autre et n'est pas exprimée chez l'humain. Elle regroupe les comportements parentaux tels que la ponte, l'incubation.

Lors des travaux sur les effets des hormones et des médicaments sur le comportement sexuel femelle chez les rongeurs, le quotient de lordose est le paramètre le plus utilisé. Le réflexe de lordose étant une posture stéréotypée en réponse à la monte du mâle. Il est caractérisé par la cambrure du dos, une élévation du postérieur, une flexion dorsale de la queue et une extension du cou chez la femelle. Une stimulation tactile des récepteurs cutanés du flanc, du postérieur, de la queue et du périnée, transmet leurs informations au cerveau, notamment dans la zone ventromédiale de l'hypothalamus (VMH) qui joue un rôle crucial dans le contrôle de la lordose. L'activation du récepteur des œstrogènes (ER $\alpha$ ), est nécessaire pour induire le réflexe de lordose. De plus une quantité minimum d'œstrogènes circulants est nécessaire pour atteindre un certain seuil de lordose. Dans plusieurs espèces, l'œstrogène et la progestérone sont utilisés pour organiser de façon optimale le réflexe de lordose. Cependant, la progestérone n'est pas nécessaire si la dose d'œstrogène est très élevée. Les études pharmacologiques utilisent souvent des doses sous-maximales d'œstrogène (ou de progestérone) chez les femelles ovariectomisées qui produisent des quotients de lordose sous-maximaux et génèrent un modèle qui peut être manipulé pharmacologiquement (Olivier *et al.*, 2011 ; Powers, 1972).

## **I.5. TRAITEMENTS DE L'INFERTILITE**

### **I.5.1. Traitements par des médicaments**

Les médicaments relatifs à l'infertilité, sont généralement utilisés pour traiter non seulement des femmes sujettes à des désordres ovulatoires, mais aussi pour booster l'ovulation lors de la procréation médicalement assistée. Ces traitements médicaux regroupent les anti-œstrogènes, les gonadotrophines exogènes, les agents augmentant la sensibilité à l'insuline, les inhibiteurs de l'aromatase et les agonistes à la dopamine.

#### **I.5.1.1. Les anti-œstrogènes**

Depuis 1960, le clomiphène citrate et le tamoxifène ont été les premiers agents utilisés dans le traitement de l'oligo-ovulation et de l'anovulation dans différentes pathologies reproductives chez la femme (Tomao *et al.*, 2014; Gorthi *et al.*, 2012). Ils induisent la libération des gonadotrophines par la glande pituitaire en occupant le site des récepteurs des œstrogènes au niveau de l'hypothalamus. Par ce mécanisme, ces anti-œstrogènes bloquent l'effet normal du feedback négatif des œstrogènes, qui contribuera à augmenter la sécrétion de

FSH et par ricochet stimuler la croissance folliculaire, augmenter les taux d'œstradiol et de progestérone. Enfin ils sont capables d'augmenter la prolifération cellulaire (Gorthi *et al.*, 2012 ; WHC, 2009).

Cependant, environ 15% des femmes ne répondent pas positivement à ce traitement, et sont considérées comme résistantes (Brown *et al.*, 2009). A cause de son effet anti-œstrogénique, le clomiphène citrate inhiberait aussi la croissance utérine normale et la production adéquate du mucus cervical qui pourrait affecter respectivement l'implantation et la rencontre du spermatozoïde et de l'ovule. D'où un taux de conception autour de 22% seulement chez des femmes ayant ovulé (WHC, 2009). Par ailleurs les autres effets adverses des anti-œstrogènes regroupent les bouffées de chaleur, les grossesses multiples (2-13%), les douleurs abdominales, l'hyperstimulation ovarienne (1-6%) (Brown *et al.*, 2009 ; Gorthi *et al.*, 2012). Lorsque la femme n'ovule pas en réponse à ces traitements, l'utilisation des gonadotrophines exogènes constitue l'étape suivante dans le traitement.

### **I.5.1.2. Les gonadotrophines exogènes**

Les gonadotrophines exogènes viennent compenser un déficit quantitatif ou qualitatif de la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires. Elles sont nécessaires pour une stimulation ovarienne et une maturation folliculaire. Il s'agit de la r-FSH (« recombinant-Follicle Stimulating Hormone »), la r-LH (« recombinant-Luteinizing Hormone »), hCG (« human chorionic Gonadotrophin ») et la hMG (« human Menauposal Gonadotrophin »). Elles sont administrées par voie sous-cutanée ou musculaire chez des femmes ayant des faibles taux de gonadotrophines. La FSH ou la hMG est administrée pour stimuler la croissance folliculaire. Mais lorsque les tests sanguins ou l'ultrason des ovaires indiquent la maturité des ovocytes, alors la hCG ou la LH est administrée pour induire l'ovulation (Nugent *et al.*, 2000).

Par ailleurs, le taux de succès de ce traitement reste faible, avec un taux global d'ovulation de 67,4%, un taux global de grossesse clinique de 47,7% après 5 cycles d'essais et un taux de grossesses multiples de 10,8%. De plus en fonction du type de protocole utilisé, l'utilisation des gonadotrophines pourrait être corrélée au syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Cependant dans le but de réduire ces risques, un contrôle soigneux à l'aide d'un scanner à ultrason couplé à de faibles doses de gonadotrophines est recommandé. Les femmes obèses avec un IMC >30, nécessitent une thérapie plus longue et leur chance d'avoir des

enfants vivants à la naissance est très faible, d'où l'importance de corriger le style de vie avant le traitement de l'infertilité (Gorthi *et al.*, 2012). Ce traitement est souvent associé à une thérapie adjuvante, il s'agit de l'utilisation de l'hormone de croissance humaine chez certaines femmes ayant une faible réponse à cette méthode d'induction de l'ovulation. Cependant, les autres effets secondaires incluent les maux de tête, les douleurs abdominales, les ballonnements, la sensibilité mammaire, les saignements, les éruptions sur le site d'injection (WHC, 2009).

Toutefois, avant de démarrer un traitement chez des patientes, il est impératif de bien caractériser l'origine de l'anovulation et en particulier d'éliminer préalablement une pathologie organique : pathologie tumorale hypothalamo-hypophysaire (en particulier une hyperprolactinémie qui justifie un traitement spécifique) et insuffisance ovarienne (élévation de la FSH) qui annonce une résistance aux gonadotrophines exogènes.

### **I.5.1.3. Agents augmentant la sensibilité à l'insuline**

La metformine réduit la néoglucogenèse hépatique et la glycogénolyse et, chez certaines personnes, elle augmente la sensibilité à l'insuline des tissus musculaires (Inzucchi, 2002). Son rôle dans le traitement des femmes souffrant du syndrome des ovaires polykystiques a été suggéré, mais une large gamme d'essais récents a échoué dans la démonstration d'un effet bénéfique significatif (Gorthi *et al.*, 2012).

### **I.5.1.4. Inhibiteurs de l'aromatase**

L'inhibition de l'enzyme aromatase diminue l'aromatation des androgènes en œstrogènes, qui en retour libérera l'axe hypothalamo-hypophysaire du feedback négatif des œstrogènes (Polyzos *et al.*, 2009). C'est le cas du letrozole et de l'anastrozole qui, utilisés à l'origine pour traiter le cancer du sein a été introduit comme médicament pour induire l'ovulation (Casper et Mitwally, 2006). Par ailleurs, bien que ces thérapies présentent un fort taux de grossesses avec une incidence faible de grossesses multiples, leur utilisation est découragée dans l'induction de l'ovulation. Ceci à cause de leur effet tératogénique, car le letrozole a montré une augmentation significative de malformations congénitales cardiaques et osseuses chez des nouveaux-nés (Biljan *et al.*, 2005).

### **I.5.1.5. Agonistes de la dopamine**

A cause d'un taux exagéré de prolactine libérée par la glande pituitaire, certaines femmes présentent des ovulations irrégulières. Cette pathologie est connue sous le terme d'hyperprolactinémie, qui supprime la sécrétion pulsatile de GnRH et empêche ainsi l'ovulation. Il en résulte des dysovulations, des oligoménorrhées et même l'aménorrhée. Les agonistes de la dopamine tels que la bromocriptine ou la cabergoline, sont donc utilisés pour réduire cette sécrétion excessive de prolactine permettant ainsi une ovulation normale. Les effets délétères liés à ce traitement regroupent les maux de tête, la somnolence, les vertiges, les nausées, les congestions nasales (WHC, 2009).

### **I.5.1.6. Complications des thérapies induisant l'ovulation.**

L'induction de l'ovulation avec des médicaments conduit généralement à une surproduction de follicules matures pouvant entraîner le syndrome d'hyperstimulation ovarienne, des grossesses multiples, et même le cancer de l'ovaire. D'ailleurs, les grossesses multiples même des jumeaux ne sont pas recommandables, à cause du risque élevé de mortalité périnatale et de morbidité. Ce syndrome d'hyperstimulation ovarienne peut également entraîner l'infarctus du myocarde, ainsi qu'être associé à des symptômes tels que les douleurs abdominales, les nausées, les vomissements, les difficultés respiratoires, l'haemoconcentration et la coagulopathie, la thromboembolie (NICE, 2004 ; Gorthi *et al.*, 2012, Duran and Raja, 2007; O'Donovan *et al.*, 2015 ; Tomao *et al.*, 2014; US Food and Drug Administration, 2014). En outre, les gonadotrophines bien qu'efficaces sont coûteuses et demandent du temps et leur utilisation nécessite une surveillance intensive. Cependant, à cause de leur faible taux de succès, toutes ces techniques nécessitent généralement des associations thérapeutiques (NICE, 2004 ; Gorthi *et al.*, 2012 ).

## **I.5.2. Traitements par chirurgie**

Certaines causes de l'infertilité (les dommages des trompes, le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), les adhésions, l'endométriose, les anomalies de l'utérus) requièrent des interventions chirurgicales. Cependant ces méthodes restent invasives et très coûteuses.

### **I.5.2.1. Perforation de l'ovaire par voie laparoscopique**

Cette thérapie est une alternative aux thérapies à base de gonadotrophines chez les femmes avec le SOPK et résistantes au clomiphène citrate. Elle consiste à créer de multiples perforations à la surface de l'ovaire en utilisant soit la chaleur, soit le lazer, ceci dans l'optique d'activer le développement folliculaire et l'ovulation (Farquhar *et al.*, 2005). Son avantage repose sur le fait qu'elle réduit le risque de grossesses multiples et de syndrome d'hyperstimulation ovarienne, sans diminuer le taux de grossesses. Cependant, elle nécessite une chirurgie avec toutes les complications qui l'entourent, telles que le traumatisme, la formation des adhérences post-opératoires et les insuffisances ovariennes par destruction d'un nombre significatif de follicules ovariens, pouvant conduire à des douleurs pelviennes et à une stérilité mécanique. De plus, les femmes traitées avec cette méthode mettent plus de temps à concevoir et 54% ont besoin d'une thérapie médicale additionnelle d'induction de l'ovulation (clomiphène et ensuite r-FSH) (NICE, 2004 ; Gorthi *et al.*, 2012).

### **I.5.2.2. Chirurgie de la trompe de Fallope**

Les dommages de la trompe sont souvent dus à des infections pelviennes qui peuvent détruire les cellules situées le long du tube, puis entraîner des adhésions ou des cicatrices. Les infections sexuellement transmissibles telles que la chlamydia ou la gonococcie, les infections après un accouchement et des fausses couches, l'utilisation de certains contraceptifs intra-utérins, l'endométriose, l'appendicite ou la tuberculose peuvent entraîner des dommages de la trompe. Une cicatrisation des tissus dans la trompe empêche le mouvement des ovocytes des ovaires vers l'utérus, et est souvent associée à une augmentation du risque de grossesses extra-utérines. Plusieurs procédures chirurgicales sont utilisées en fonction de la localisation du blocage et du type de dommages (WHC, 2009). Il existe entre autres l'hysterosalpingographie qui est une procédure utilisée non seulement pour diagnostiquer le problème de blocage dans l'utérus ou la trompe de Fallope, mais aussi pour traiter certains blocages. Elle implique une radiologie du tractus reproducteur après injection d'une solution radio-opaque ou colorée à travers un cathéter placé dans le col utérin. La solution utilisée ici débouche parfois la trompe (Johnson, 2014). Lorsque le type de blocage est dû à une adhésion, la salpingolyse peut être effectuée. Elle consiste à couper les adhésions ou cicatrices par une électrochirurgie par laser, à partir d'une laparotomie ou d'une laparoscopie. Cependant si l'infertilité est due à un dommage de l'extrémité de la trompe, alors une accumulation de fluide va se produire dans la trompe et causer l'hydrosalpinx. Ainsi le

traitement approprié consiste à créer une nouvelle ouverture pour remplacer l'ouverture normale et permettre à la trompe de collecter les ovocytes libérés par l'ovaire (salpingostomie). Dans le cas d'une infection de la trompe ou d'une grossesse extra-utérine, le retrait d'une ou des trompes de Fallope (salpingectomie) est recommandé. Mais lorsque le blocage est circonscrit, alors une canalisation du tube est appropriée ; il consiste à faire passer un fil ou un cathéter à travers le blocage pour l'ouvrir (WHC, 2009).

### **I.5.2.2. Chirurgie utérine**

Elle est nécessaire pour traiter les anomalies de l'utérus tels que les myomes (inflammations bénignes du muscle utérin), les adhésions utérines ou syndrome d'Asherman (fusion du tissu utérin suite à un traumatisme ayant déclenché un processus de cicatrisation) et l'utérus cloisonné (utérus extérieurement normal avec un septum interne). Les myomes peuvent être traités chirurgicalement par une myomectomie impliquant un retrait soigneux du fibrome ou par embolisation de l'artère ou du fibrome utérin consistant à injecter de petites particules dans un cathéter placé dans l'artère alimentant le fibrome ; ces particules vont bloquer le sang de cette artère et entraîner une réduction du fibrome. Le but étant de restaurer les structures utérines normales, la fonction menstruelle et améliorer la fertilité (Taylor et Gomel, 2008). Le traitement des adhésions utérines ici, consiste à couper la zone cicatrisée et à administrer les œstrogènes pour stimuler la guérison et la croissance de l'utérus (Yu *et al.*, 2008). Le traitement de l'utérus cloisonné quant à lui, consiste à insérer un mince tube dans l'utérus pour une chirurgie reconstructive de l'utérus (Saravolos *et al.*, 2008). Les conséquences post-opératoires regroupent la rupture de l'utérus lors de la grossesse, les avortements spontanés, les naissances prématurés, le placenta praevia et les hémorragies post-partum (WHC, 2009).

### **I.5.2.3. Chirurgie pour endométriose**

Cette chirurgie consiste à enlever ou détruire toute croissance d'endométriose visible, en coupant ou brûlant par la chaleur ou le laser (Vercellini *et al.*, 2009).

## **I.5.3. Techniques de reproduction médicalement assistée**

Elles regroupent tous les traitements qui utilisent les méthodes de conception autres que les rapports sexuels.

### **I.5.3.1. Fécondation *in vitro* (FIV)**

C'est une technique médicale par laquelle un ovocyte/ovule est fécondé par un spermatozoïde hors du corps. Elle nécessite une hyperstimulation ovarienne pharmacologique. Le zygote issu de cette fécondation est par la suite transféré dans l'utérus du patient ; ceci dans l'intention d'établir une grossesse réussie. Un support lutéal est nécessaire ici pour permettre l'implantation de l'ovocyte. Cette technique est utilisée pour le traitement de tous types d'infertilité (Tomao *et al.*, 2014).

### **I.5.3.2. Injection intra-cytoplasmique du spermatozoïde**

Cette procédure est recommandée lorsque la qualité ou la quantité de spermatozoïdes est faible et ne permet pas le succès d'une FIV chez un couple. Elle consiste à injecter directement à l'aide d'une micro-seringue, un seul spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovule, qui sera par la suite placé par succion dans l'utérus (Hodes-Wertz *et al.*, 2012).

### **I.5.3.3. Insémination intra-utérine**

Elle est principalement utilisée pour les cas d'infertilité inexplicée. Elle consiste à insérer le gamète ou le zygote dans la trompe de Fallope ou dans l'utérus à partir d'un cathéter à travers le col utérin ou par voie laparoscopique. Cette technique permet au spermatozoïde de fertiliser naturellement l'ovule, mais aussi d'éviter des grossesses extra-utérines (WHC, 2009).

### **I.5.3.4. Don d'ovocytes ou de spermatozoïdes**

Ce traitement est recommandé dans des cas de défaillances ovariennes, à l'instar de l'anovulation hypergonadotrophique. Cependant, un long traitement hormonal substitutif est nécessaire pour prévenir les effets délétères de l'hypoestrogénisme dans les os. Il peut aussi être utilisé lorsque l'un des partenaires n'aimerait pas transmettre un héritage génétique ou une infection telle que le VIH. Tous les dons sont cryopréservés et testés pour diverses infections (VIH, hépatites B et C). Cette procédure est répétée après 6 mois (NICE, 2004 ; WHC, 2009).

### **I.5.3.5. Autres méthodes**

Pour éviter le syndrome de stimulation ovarienne généralement observé chez les femmes ayant le SOPK, la maturation *in vitro* est souvent utilisée. Elle consiste à prélever des

ovocytes immatures chez des femmes n'ayant pas subi de superovulation ou ayant subi une stimulation ovarienne minimale, puis leur faire atteindre la maturité en laboratoire (*in vitro*) avant de les fertiliser et les implanter (WHC, 2009). Par ailleurs, pour améliorer le taux de gestation chez des couples d'âge avancé, avec des fausses couches répétées ou ayant échoué plusieurs fois à la FIV, à cause de la transmission de désordres génétiques chez des fœtus (la fibrose kystique, l'anémie falciforme et la maladie de Huntington), le diagnostic ou encore screening génétique après implantation est recommandé. Il consiste à faire une biopsie de l'embryon afin d'examiner le matériel génétique (Thornhill *et al.*, 2005).

A cause de leur faible taux de succès (15% d'efficacité dans tous les traitements) (Boivin *et al.*, 2007), toutes ces différentes techniques nécessitent généralement des associations thérapeutiques (NICE, 2004 ; Gorthi *et al.*, 2012 ). De plus, elles sont inaccessibles pour la très large majorité des couples, très coûteuses, associées à plusieurs risques de cancers gynécologiques (ovarien, utérin et mammaire) et de maladies cardiovasculaires, et souvent liées à des problèmes d'éthique (Duran and Raja, 2007; O'Donovan *et al.*, 2015; Tomao *et al.*, 2014; US Food and Drug Administration, 2014). Hormis le risque additionnel associé à l'utilisation de ces traitements de l'infertilité, le statut infertile parait augmenter l'incidence de ces cancers (Tomao *et al.*, 2014; Gorthi *et al.*, 2012 ; Klip *et al.*, 2000), d'où l'augmentation de l'utilisation de la médecine complémentaire par les femmes au cours de ces dix dernières années avec des taux d'utilisation allant de 26 à 91% ; et l'un des traitements les plus populaires reste la phytothérapie (Bishop *et al.*, 2011 ; Smith *et al.*, 2013 ; Arentz *et al.*, 2014 ).

Ainsi l'intérêt d'un planning soigneux et le contrôle de ces traitements s'imposent. Par ricochet, la mise sur pied de traitements alternatifs (nouveaux médicaments ou technologies) est nécessaire afin de tester leur sécurité (Tomao *et al.*, 2014). Les plantes médicinales largement utilisées dans des pays en développement constituent une source potentielle de produits pharmacologiquement actifs.

#### **I.5.4. Phytothérapie et troubles de la fertilité chez la femme**

La fertilité et la stérilité sont des problématiques souvent soumises aux phytothérapeutes. Elles constituent un domaine où il existe de nombreux remèdes de "grand-mères" utilisées depuis des siècles, parfois sans vérification scientifique. Il est connu que les plantes médicinales contiennent des constituants pharmacologiquement actifs ayant des effets physiologiques sur l'endocrinologie de la femme (améliorer la fertilité et permettre la

conception) et ont été positivement associées à une incidence réduite du cancer du sein, de l'ostéoporose et des maladies cardiovasculaires. Certaines en « mimant » l'action d'une hormone de reproduction (œstradiol ou progestérone), d'autres en agissant directement sur les organes de la reproduction (Whitten et Naftolin 1998 ; Wolff *et al.*, 2010 ; Wei *et al.*, 2012 ; Grant et Ramasamy, 2012 ; Francis *et al.*, 2002). Citons toutefois les plantes phares de la fertilité :

- Le gattilier (*Vitex agnus-castus*) sous la forme commerciale Mastodynon® est souvent prescrit pour régulariser les cycles. Grâce à son action semblable à celle de la progestérone, il permet d'améliorer la phase lutéale. Ce traitement s'adresse à des femmes souffrant d'aménorrhée et d'insuffisance lutéale. *Vitex agnus-castus* est cependant à éviter en cas d'antécédent de cancer du sein hormono-dépendant. Une fois la grossesse installée, il faut s'abstenir de l'utiliser (Arentz *et al.*, 2014 ; Goetz, 2016).

- Le trèfle rouge (*Trifolium pratense*) possède des propriétés phyto-œstrogéniques, améliorant les troubles ménopausiques et sexuels en réduisant les bouffées de chaleur. En infusion, il contribue à rétablir le bon équilibre acide-base du vagin et de l'utérus (del Giorno *et al.*, 2010) ;

- L'huile d'onagre (*Oenothera biennis*), prise sous forme de capsule, améliorerait la qualité des cycles en augmentant la progestérone naturelle ;

- Les feuilles d'avoine (*Avena sativa*) stimulent la libération de la FSH et de la LH, mais ont cependant une activité anti-œstrogénique chez la souris (Goetz, 2016) ;

- La maca (*Lepidium meyenii*) semble ne pas modifier le taux d'implantation chez des souris, mais entraîne un plus grand nombre de descendants. Cette plante consommée quotidiennement par les Péruviens sous forme de farine est disponible en France en gélules (Ruiz-Luna *et al.*, 2005).

Cependant, d'autres plantes ont également montré des effets en gynécologie dans le cadre du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) avec oligo- ou aménorrhée. Il s'agit de *Vitex agnus-castus*, *Cimicifuga racemosa*, *Tribulus terrestris*, *Glycyrrhiza spp.*, *Paeonia lactiflora* et *Cinnamomum cassia*, *Chamaemelum nobile*, *Vitex agnus-castus* se rapproche de la bromocriptine et *Cimicifuga racemosa* du citrate de clomifène (Goetz, 2016). Sur la structure génitale, Kudzu (*Pueraria lobata*) augmente la cornification vaginale sans aucun changement sur l'épithélium vaginal des rates ovariectomisées et réduit légèrement la FSH chez la femme ménopausée (Malaivijitnond *et al.*, 2006 ; Goetz, 2016). Sur la libido, l'extrait de racine de *Withania somnifera* conduit à une amélioration significative, par rapport au

placebo, de l'index total de la fonction sexuelle femelle, l'index d'excitation, de la lubrification, de l'orgasme, de la satisfaction, et le nombre de rencontres sexuelles réussies après 8 semaines de traitement (Dongre *et al.*, 2015). *Rhodiola rosea* a un effet emménagogue chez 25 sur 40 femmes souffrant d'aménorrhée. Les règles reviennent au bout de deux à huit semaines de traitement, et par la suite, une grossesse est survenue chez 11 des femmes (Brown *et al.*, 2002). *Turnera aphrodisiaca*, considéré comme un adaptogène (une herbe qui protège le corps du stress et aide le corps à faire face aux effets du stress), a un effet sur la libido féminine de la même manière que chez l'homme. La libido féminine est aussi stimulable par l'apport de testostérone, et *Tribulus terrestris* peut apporter une amélioration de la libido, lorsque administré pendant 8 jours (Gama *et al.*, 2014 ; Goetz, 2016 ).

Cependant, pour maximiser le succès de tous ces traitements (traitement conventionnel ou phytothérapie), il est nécessaire d'apporter des modifications dans le style de vie avant le début de toute thérapie, à savoir optimiser l'indice de masse corporelle (IMC), arrêter la cigarette et minimiser la consommation d'alcool. Puis traiter les désordres tels que l'hyperprolactinémie, l'hypothyroïdisme ainsi que les désordres surrénaliens, s'ils existent.

## **I.6. TOXICITE**

### **I.6.1. Généralités**

La notion de toxicité, est la capacité qu'a une substance ou un mélange de substances, à produire des effets néfastes chez un organisme vivant (être humain, microorganisme, plante) ou une sous structure de cet organisme (Schorderet, 1992), de façon passagère ou durable et qui font d'elle une substance dangereuse. L'effet néfaste est lié à la dose, à la voie d'absorption, au type et à la gravité des lésions ainsi qu'au temps nécessaire à l'apparition d'une lésion. Un effet aigu apparaît dans un temps relativement court, tandis qu'un effet chronique ne se manifeste qu'après un temps d'exposition relativement long (Lapointe, 2004). Cependant, les toxiques n'ont pas tous le même degré de toxicité ; certains absorbés à dose élevée vont produire une faible toxicité alors que d'autres seront très toxiques même à faible dose. De telles variations pourraient s'expliquer par l'affinité de ces substances pour certaines cibles (Lapointe, 2004). Toutefois, des substances qui s'inactivent ou s'éliminent difficilement, s'accumulent dans l'organisme et sont susceptibles de provoquer des troubles aux symptômes variés (sur la croissance, l'alimentation, la fécondité et le comportement général), des modifications dans la formule sanguine, la composition chimique des

compartiments liquidiens et la structure histologique des organes vitaux tels que le cerveau, le cœur, les poumons, le foie et les reins (Valette, 1972).

Pendant des millénaires, les plantes ont été une source précieuse de nourriture et de médicaments. Cependant, la plupart d'entre elles ne sont appliquées que sur une base empirique sans connaître leur innocuité. L'innocuité étant liée à l'absence de toxicité. Ainsi, il serait naïf de penser que de telles plantes sont nécessairement non toxiques parce qu'elles sont « naturelles ». L'origine naturelle des herbes médicinales ne garantit pas leur innocuité (Lanini *et al.*, 2012). En outre, le manque de signes extérieurs ou phénotypiques de toxicité suite à une consommation aiguë ou chronique d'un aliment ou d'une plante ne signifie pas qu'il n'y ait pas de toxicité. Beaucoup d'aliments ordinaires et très consommés contiennent des constituants qui peuvent être considérés comme toxiques, tels que l'alpha gliadine produite par le gluten dans l'avoine et le seigle, les glycosides cyanogènes dans de nombreuses graines de fruits, les thiocyanates des légumes brassica, les alcaloïdes des solanacées et les lectines de nombreuses légumineuses, tels que le soja et les haricots rouges (George, 2011). Généralement, chaque substance, même naturelle n'est toxique qu'en fonction de la dose. Par conséquent, il serait judicieux d'évaluer l'innocuité des médicaments formulés selon les préparations traditionnelles ou des extraits standardisés pour valider leur utilisation, surtout l'efficacité et la sécurité des médicaments traditionnels (David *et al.*, 2015).

## **1.6.2. Evaluation de la toxicité**

L'étude de la toxicité d'une substance peut être évaluée par essai aigu, sub-aigu et chronique. Ces études sont fonction de la dose, de la fréquence d'administration et de la durée d'exposition de l'organisme à la substance administrée.

### **1.6.2.1. Toxicité aiguë**

L'ensemble des effets néfastes se produisant immédiatement ou peu de temps après une exposition unique ou répétée, sur une période de moins de 24 heures à une ou plusieurs substances constitue la toxicité aiguë (Wallum, 1998). Son étude se fait par détermination de la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>), qui est la dose unique d'une substance susceptible d'entraîner après administration la mort de 50% des animaux (Lechat *et al.*, 1990). Une substance est considérée comme toxique si elle est létale à une dose inférieure à 5000 mg/kg du poids corporel de l'animal (Kennedy *et al.*, 1986 ; Ateba *et al.*, 2014, Tchoumtchoua *et al.*, 2014).

### **1.6.2.2. Toxicité sub-aiguë**

La toxicité sub-aiguë ou toxicité à court terme concerne les effets nocifs dûs à une exposition répétée des doses ne produisant pas d'effets toxiques immédiats. C'est la forme commune d'exposition humaine à de nombreux produits chimiques. Ici, la substance à étudier est administrée quotidiennement pendant une période allant de un à trois mois. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans le tissu (OCDE, 1979).

### **1.6.2.3. Toxicité chronique**

Dans l'essai chronique ou toxicité à long terme, la substance à étudier est administrée quotidiennement pendant une période de 12 mois, bien que des durées plus étendues ou plus courtes puissent aussi être choisies. Cette durée est assez longue pour permettre aux effets de toxicité cumulée de se manifester, tout en évitant des effets perturbateurs des changements liés au vieillissement. A moins de contraintes dûes à la nature physico-chimique ou aux effets biologiques de la substance d'essai, le niveau de dose le plus élevé est choisi de manière à permettre l'identification des principaux organes cibles et des effets toxiques, tout en évitant la souffrance, une toxicité sévère ou une forte morbidité et/ou létalité chez les animaux testés (OCDE, 2009). Son étude a pour but de rechercher les effets tératogènes, cancérigènes, mutagènes et toxicomanogènes éventuels de la substance administrée (Telefo, 1998).

## **1.6.3. Effets toxiques**

### **1.6.3.1. Hépatotoxicité**

Le foie est divisé en lobes entourés d'une mince couche de tissu conjonctif, dont le droit contient la vésicule biliaire. Son parenchyme est composé des hépatocytes, des lames hépatocytaires, de l'artère hépatique, de la veine porte hépatique, et des capillaires sinusoidaux séparés par l'espace de Disse. Entre les hépatocytes se trouvent les sinusoides hébergeant des macrophages stellaires qui débarrassent le sang des bactéries et des globules rouges usés (Smeltzer et Bare, 2006). Le foie élimine les déchets de la circulation sanguine (bilirubine, acides biliaires, cholestérol) sous forme de bile. Il contribue à la phagocytose des globules rouges et blancs usés. Les hépatocytes fabriquent le fibrinogène, l'héparine, les protéines de transport (lipoprotéines) et les protéines de liaison des stéroïdes telles que la *Sex binding globulin* (SBG) et la *Thyroxin Binding globulin* (TBG) (Silverthorn, 2007).

Les affections du foie atteignant l'ensemble du parenchyme et s'accompagnant d'une réaction inflammatoire, de modifications structurales, d'une dégénérescence et de la mort (nécrose) des hépatocytes, se regroupent sous le terme d'hépatite. L'atteinte du foie peut aussi s'exprimer soit par une accumulation anormale des graisses (stéatose), une infiltration de collagène dans la masse hépatique (cirrhose) ou par une altération de la formation de la bile (cholestase) (Muller, 1998) et une élévation persistante des transaminases et de bilirubine (Ramaiah, 2007 ; Bearman, 1995)

### **1.6.3.2. Néphrotoxicité**

Le rein est constitué d'unités fonctionnelles appelées néphrons. Son histologie révèle la présence de la capsule de Bowman, l'espace de Bowman, le glomérule et des tubules rénaux (tubule contourné proximal, du tubule contourné distal et du tubule collecteur) (Lechat *et al.*, 1990). Il exerce diverses fonctions dont le maintien de la pression artérielle, la production d'érythropoïétine qui incite la moelle osseuse à produire des globules rouges. Il assure l'équilibre acido-basique, transforme la vitamine D en sa forme active (1,25-dihydroxycholecalciferol ou calcitriol), participe à la néoglucogenèse à partir des acides aminés et de l'acide lactique et excrète les produits terminaux du métabolisme (de l'urée, de l'acide urique, de la créatinine, des médicaments et des substances toxiques) en conservant les composants essentiels (glucose, acides aminés) (Marieb, 1999 ; Silverthorn, 2007).

Les néphropathies sont des affections rénales. Le mauvais fonctionnement du rein peut être dû aux néphrites, aux nécroses ou à l'obstruction des voies urinaires. Ces atteintes rénales se traduisent par une élévation de la créatininémie au-dessus du seuil normal (supérieure à 40 mg/L) témoignant d'une détérioration considérable de la fonction du rein chez l'Homme (Tanner, 2004).

### **1.6.3.3. Pneumotoxicité**

De l'intérieur vers l'extérieur, sur une coupe de poumon, se distingue l'alvéole, le canal alvéolaire, la bronchiole terminale, la bronche intra-lobulaire et la trachée. Les échanges gazeux respiratoires se déroulent dans les alvéoles pulmonaires. En leur sein, se retrouve les macrophages impliqués dans le processus inflammatoire et la phagocytose des particules inhalées (Marieb, 1999 ; Lombry *et al.*, 2004). Ils assurent deux fonctions principales, une respiratoire et l'autre non respiratoire. La fonction non respiratoire concerne les phénomènes biochimiques et immunologiques (Stuart, 1999) d'épuration qui englobent tous les

mécanismes physiques, chimiques et immunologiques assurant la détoxification des poumons des éléments étrangers (Chrétien et Marsac, 1990).

L'exposition des poumons aux agents toxiques peut provoquer des lésions et œdèmes pulmonaires survenant après inhalation des toxiques sous forme de particules de petite taille ; des fibroses et emphysèmes (dilatation ou gonflement des poumons produit par une infiltration d'air et/ou de gaz) ; des allergies pulmonaires (certains toxiques en se liant aux protéines sanguines et pulmonaires forment des antigènes qui entraînent la formation d'anticorps ; l'asthme est la principale réponse) ; une bronchite chronique ; des cancers des poumons et la pneumoconiose (affection pulmonaire entraînée par une exposition prolongée à des poussières et des particules produites pendant les travaux miniers).

Cependant, une attention pourrait également être portée sur les principaux organes de reproductions (ovaire, vagin, utérus, testicules, prostate, vésicules séminales), car ce sont des organes fondamentaux de la pérennisation d'une espèce.

## **I.6.4. Quelques marqueurs sanguins d'évaluation de la toxicité**

### **I.6.4.1. Paramètres hématologiques**

Les paramètres hématologiques sont caractérisés par la numération formule sanguine, qui consiste à compter les différents éléments cellulaires du sang tels que : les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes sanguines, l'hémoglobine. Leurs valeurs peuvent être influencées par des facteurs tels que l'âge, le sexe, l'activité physique et les facteurs climatiques (Bernard *et al.*, 1983). L'évaluation de ces paramètres permet d'apprécier un dysfonctionnement de la moelle osseuse (cas des fibroses et de la leucémie) ou des perturbations tels que l'anémie, les problèmes de coagulations, l'augmentation des globules blancs lors d'une infection (Kathleen et James, 1992).

#### **I.6.4.1.1. Globules rouges**

Encore appelés hématies, ce sont des cellules anucléées en forme de disque biconcaves aplaties, dont le cytoplasme est riche en hémoglobine. Le nombre d'hématies est relativement constant chez les individus de la même espèce. Il est d'environ  $4 \text{ à } 6 \times 10^9/\mu\text{L}$  chez l'humain et  $7,2 \text{ à } 9,6 \times 10^6/\mu\text{L}$  chez le rat (Ruckebusch, 1981).

### **I.6.4.1.2. Globules blancs**

Ce sont des cellules du système immunitaire encore appelées leucocytes. Chez un humain adulte en bonne santé, leur taux se situe entre 4 et  $14 \times 10^6/\mu\text{L}$  (Descat, 2002) et chez le rat, il est d'environ  $14000/\mu\text{L}$  (Ruckebusch, 1981).

### **I.6.4.1.3. Plaquettes sanguines**

Les plaquettes sanguines encore appelées thrombocytes sont issues de la fragmentation des mégacaryocytes. Elles participent à la coagulation sanguine et interviennent aussi dans le processus de thrombose, d'hémostase, d'inflammation et d'athérosclérose (Harrison, 2005). Leur concentration normale chez l'Homme est de 150 à  $400 \times 10^6/\mu\text{l}$  (Descat, 2002) et de  $1,2 \times 10^5$  à  $3,2 \times 10^5/\mu\text{L}$  chez le rat (Ruckebusch, 1981). La variation de leur taux suggère un trouble du métabolisme qui pourrait être attribué à la présence d'une toxine.

### **I.6.4.1.4. Hémoglobine**

Elle est une protéine dont la principale fonction est le transport du dioxygène et dioxyde de carbone dans l'organisme. Ses valeurs normales moyennes chez l'adulte humain sont : 13-17,87 g/dL chez l'homme et 12,10- 16,40 g/dL chez la femme (Descat, 2002). Chez le rat, ce taux se situe entre 12 et 17,5 g/dL (Ruckebusch, 1981). En cas d'intoxication, le taux d'hémoglobine peut décroître et aboutir à une anémie, ou augmenter et entraîner une hyperviscosité du sang pouvant être à l'origine de la survenue des thromboses (Descat, 2002).

## **I.6.4.2. Paramètres biochimiques**

### **I.6.4.2.1. Créatinine**

La créatinine est un produit final de dégradation par déshydratation spontanée du phosphate de créatine dans le muscle. Elle est produite en fonction de la masse musculaire de l'individu et excrétée dans l'urine via les reins (Tanner, 2004). Chez l'Homme, la créatininémie se situe entre 7 et 13 mg/mL. Sa clairance endogène est utilisée cliniquement pour estimer le taux de filtration glomérulaire, elle représente de ce fait un bio-marqueur pour la toxicité rénale. Puisque la concentration de créatinine est normalement stable dans le plasma, toute augmentation indique une sous-excrétion associée à une insuffisance rénale (Adekola *et al.*, 2015).

### **I.6.4.2.2. Cholestérol**

Il est un composant essentiel qui entre dans la structure des membranes et de la couche externe de lipoprotéines plasmatiques. Sa synthèse peut se faire dans le foie à partir de l'acétylcoenzyme A. chez l'Homme, les taux normaux moyens sont généralement de 1,5 à 2,0 g/L avant 30 ans et de 2,0 à 2,5 g/L après 30 ans. Le cholestérol (total) à des taux élevés agit comme intermédiaire dans la genèse de l'athérosclérose responsable des accidents cardiovasculaires, des maladies coronaires et des maladies vasculaires périphériques (Rachid et Hassan, 2007, Kurth *et al.*, 2007; Uddin *et al.*, 2009). Son dosage dans des études toxicologiques permet d'évaluer les risques cardiovasculaires de la consommation de la substance à tester.

### **I.6.4.2.3. Triglycérides**

Les triglycérides sont encore appelés triacylglycérols ou triacylglycérides. Leur hydrolyse libère des acides gras et du glycérol. Leur taux sérique chez l'homme est normalement compris entre 0,4 et 1,6 g/L et varie aussi en fonction du poids, de la consommation de tabac et d'alcool, de l'alimentation et de la pratique de l'exercice physique. Une élévation est généralement liée à un risque cardiovasculaire (Champigny *et al.*, 2003 ; Manninen *et al.*, 1992).

### **I.6.4.2.4. Transaminases (ALAT et ASAT)**

Les transaminases ou aminotransférases sont des enzymes ayant une activité métabolique à l'intérieur des cellules. Il existe deux types de transaminases : l'Aspartate-Aminotransférase (ASAT) et l'Alanine-Aminotransférase (ALAT). Elles catalysent en présence d'une coenzyme, le pyridoxal-5'-phosphate, le transfert des groupes d'alpha-aminés de l'acide aspartique (pour l'ASAT) ou de l'alanine (pour l'ALAT) sur le groupe alpha-cétonique de l'acide céto-glutarique (acide alpha-cétonique) pour produire respectivement l'acide oxaloacétique et l'acide pyruvique avec le glutamate (Libbey, 1998 ; Davern et Sharshmidt, 2002). L'ALAT est exclusivement présente dans le cytoplasme des hépatocytes tandis que l'ASAT est principalement trouvée dans le foie, le muscle cardiaque et le rein (Han *et al.*, 2011). Leurs activités sériques sont largement utilisées comme bio-marqueurs des lésions tissulaires (Ramaiah, 2007). En cas de lésion de ces différents organes, les niveaux de ces deux paramètres dans le sérum augmentent (Hyder *et al.*, 2013). De même, les facteurs tels que la grossesse et le déficit en vitamine B6 diminuent le taux sanguin de transaminases

(Simon, 2005). La valeur normale moyenne du taux d'ASAT se situe entre 20 et 40 UI/L chez l'Homme, tandis que celui de L'ALAT est de 6 à 35 UI/L (Sirli et Sporea, 2011).

#### **I.6.4.2.5. Protéines**

Les protéines sont des principaux constituants structuraux des cellules et des tissus. Elles sont fabriquées en grande partie par le foie. Les principales protéines plasmatiques sont l'albumine, les globulines et le fibrinogène. Elles interviennent dans le transport des lipides (acides gras), du fer et de nombreux médicaments. Elles participent également à la coagulation du sang, aux défenses immunitaires et au maintien de la pression sanguine. Leur dosage est utilisé pour évaluer l'état d'hydratation, l'état nutritionnel, le fonctionnement du foie, du rein ou des états pathologiques tels qu'une inflammation ou une altération des défenses immunitaires (Carole, 2002). Les valeurs normales des protéines plasmatiques sont de 65 à 80 g/L chez l'Homme et d'environ 5g/100 mL chez le rat Sprague-Dawley (Estepa, 2006). Le taux de protéines totales sériques est une mesure approximative du statut protéique, mais reflète des changements fonctionnels majeurs dans le rein et le foie. Sa mesure peut également refléter l'état nutritionnel. Des taux élevés peuvent être associés à une inflammation chronique ou à des infections hépatiques. Les faibles taux de protéines totales peuvent suggérer un trouble dans lequel la protéine n'est pas digérée ou absorbée correctement (Djami Tchatchou *et al.*, 2011).

#### **I.6.4.2.7. Bilirubine**

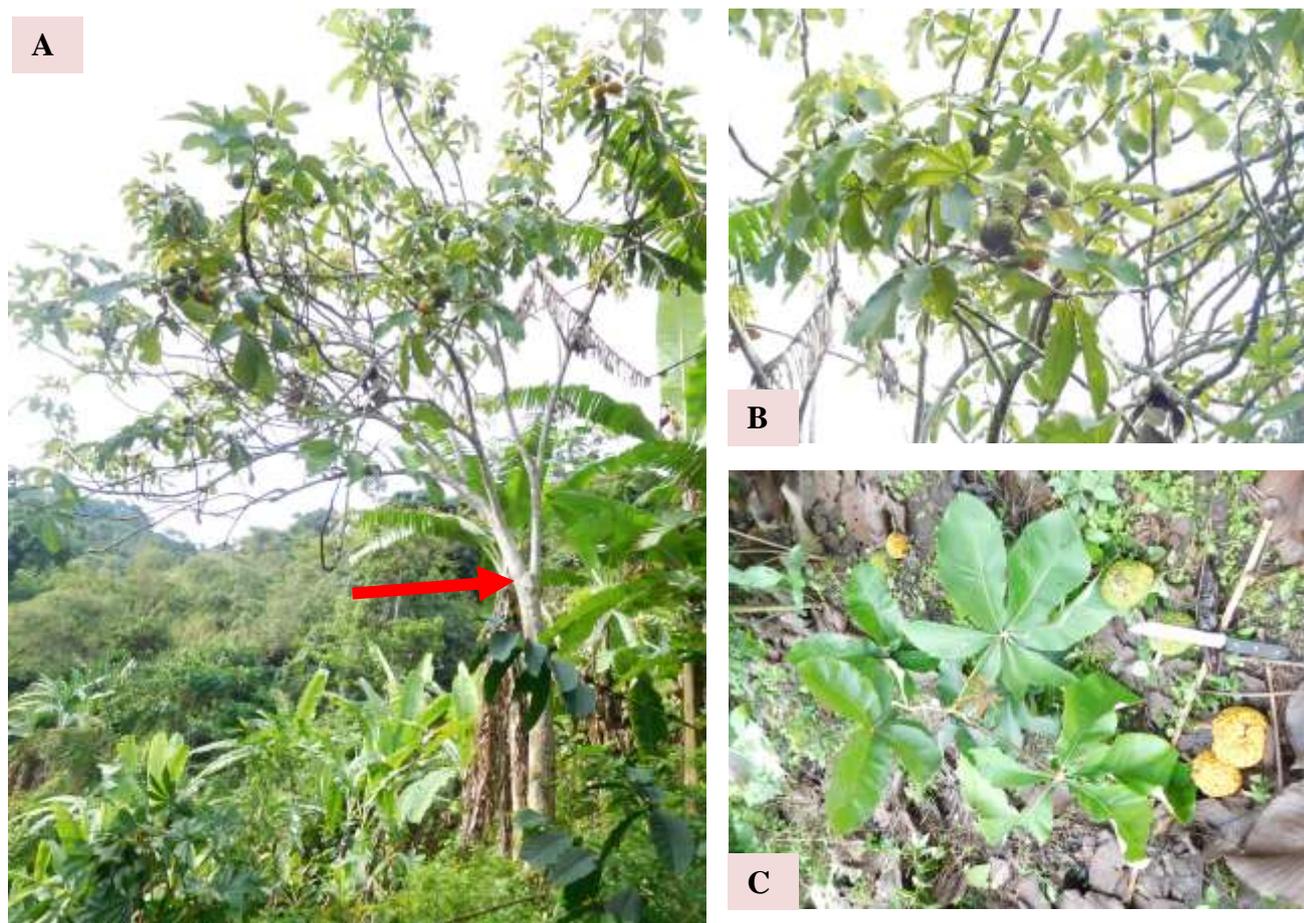
La bilirubine est un produit final de la dégradation de l'hémoglobine dans le système monocyte-macrophage de la rate, de la moelle osseuse et du foie. Elle est transportée dans le sang par l'albumine (Tso, 2004). Une forte hausse de bilirubine totale sérique est liée à une augmentation de l'hémolyse (Orisakwe *et al.*, 2003), à une conséquence de la cirrhose biliaire et des maladies d'obstruction des veines hépatiques (cholestase), ou est un signe précurseur des nécroses massives des cellules hépatiques (Shapiro *et al.*, 1979 ; Bearman, 1995).

### **I.7. *Myrianthus arboreus* Palisot de Beauvois (*Myrianthus arboreus* P. Beauv.)**

Systématique de *Myrianthus arboreus* P. Beauv (Cecropiaceae) selon Cronquist (1981):

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Tracheophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Hamamelidae
Ordre	Urticales
Famille	Cecropiaceae
Genre	<i>Myrianthus</i>
Espèce	<i>Myrianthus arboreus</i>
Nom botanique	<i>Myrianthus arboreus</i> P. Beauv.

*Myrianthus arboreus* P. Beauv., communément appelée «géant mûrier jaune» ou « arbre à pain indigène », est un arbre fruitier dioïque de la famille des Cecropiaceae (Photo 1). Il est largement distribué dans les forêts et les régions humides ou marécageuses d’Afrique tropicale, et peut atteindre une hauteur de 15 mètres. On le retrouve en Angola, au Bénin, au Congo, en Côte d’Ivoire, au Gabon, au Ghana, en Guinée, en Guinée équatoriale, au Liberia, au Nigeria, en République centrafricaine, en République démocratique du Congo, en Sierra Leone, en Tanzanie, en Ouganda et au Cameroun (Burkill, 1985; Amata, 2010; Konan *et al.*, 2014; Oyeyemi *et al.*, 2014). Au Cameroun, la plante est appelée « Kogom » par les Bassa, « Angokong » par les Bulu et « lilanka » par les Dschang. L’arbre possède un tronc court qui porte de larges feuilles dentées sur ses branches étalées. Les jeunes feuilles sont rouges. Les fruits sont jaunes et ressemblent à des drupes dont le périanthe qui contient une graine est charnu. La pulpe sucrée qui entoure ses graines de même que ses jeunes feuilles sont comestibles.



**Figure 6:** *Myrianthus arboreus* P. Beauv. A : arbre, B : branches, C : feuilles et fruits. (AWOUNFACK Charline Florence, à Dschang, Juin 2015).

Les jeunes feuilles de *Myrianthus arboreus* sont consommées comme légumes (Burkill, 1985 ; Amata, 2010 ; Konan *et al.*, 2014 ; Oyeyemi *et al.*, 2014), tandis que des extraits aqueux (décoctions, infusions ou macérés) des feuilles, des racines ou des écorces sont traditionnellement utilisés dans le traitement de diverses maladies telles que la dysenterie, la diarrhée, le diabète, les douleurs, les tumeurs, l'anémie, le paludisme, le mal d'estomac, et même pour améliorer la lactation (Olonode *et al.*, 2015; Agyare *et al.*, 2014 ; Okafor, 2004 ; Burkill, 1985). Ses graines sont utilisées pour traiter les furoncles. Dans la région du mont Cameroun, les extraits de feuilles sont utilisés pour traiter la dysenterie, la diarrhée et les vomissements (Okafor, 2004). Dans la région du centre au Cameroun, des extraits aqueux d'écorces et de feuilles sont utilisés contre l'anémie, la toux et les troubles digestifs (Jiofack *et al.*, 2009). Les macérés et les décoctions de feuilles de *Myrianthus arboreus* sont également utilisés contre l'aménorrhée, les dysménorrhées, l'infertilité chez la femme (primaire et secondaire) et pour améliorer la lactation (Adjanooun *et al.*, 1996 ; Burkill, 1985).

Des travaux antérieurs ont révélé que *M. arboreus* possède des propriétés antioxydantes (Kasangana *et al.*, 2015, Biapa *et al.*, 2011; Konan *et al.*, 2014), antibactériennes (Seukep *et al.*, 2015), anti-infectieuses et cicatrisantes (Agyare *et al.*, 2014), et une activité hypoglycémiant et anti-hyperlipidémique (Dickson *et al.*, 2016). La pulpe du fruit frais de *M. arboreus* a révélé des taux élevés de protéines, de calcium, de fer et une bonne source d'énergie métabolisable (Okafor, 2004). La valeur nutritive des feuilles de *M. arboreus* a été évaluée par Amata (2010) et les résultats ont montré une teneur en protéines (18,74%), en fibres (11,6%) et en sels minéraux (16,4%), tandis que l'énergie métabolisable était de 1333,4 kcal/kg. Récemment, Oyeyemi *et al.* (2014) ont suggéré que *M. arboreus* est une bonne source de nutriments pour l'alimentation humaine et les usages thérapeutiques. Une étude de Biapa *et al.* (2011) a également indiqué que *M. arboreus* serait utile dans l'industrie alimentaire et agricole pour la conservation des produits, grâce à sa capacité à éradiquer les radicaux libres avec une cinétique lente ou intermédiaire.

Un screening phytochimique a révélé plusieurs composés parmi lesquels les tannins, alcaloïdes, glycosides, terpenoïdes et les flavonoïdes (Agyare *et al.*, 2014). Les composés isolés sont : l'acide arjunolique, l'acide myrianthique, l'acide ursolique, l'acide arboreique, l'acide tormentique, l'acide euscaphique, l'acide myrianthinique, l'acide myriaborique (Ojinnaka *et al.*, 1984 ; Ngounou *et al.*, 1988) (Figure 6).

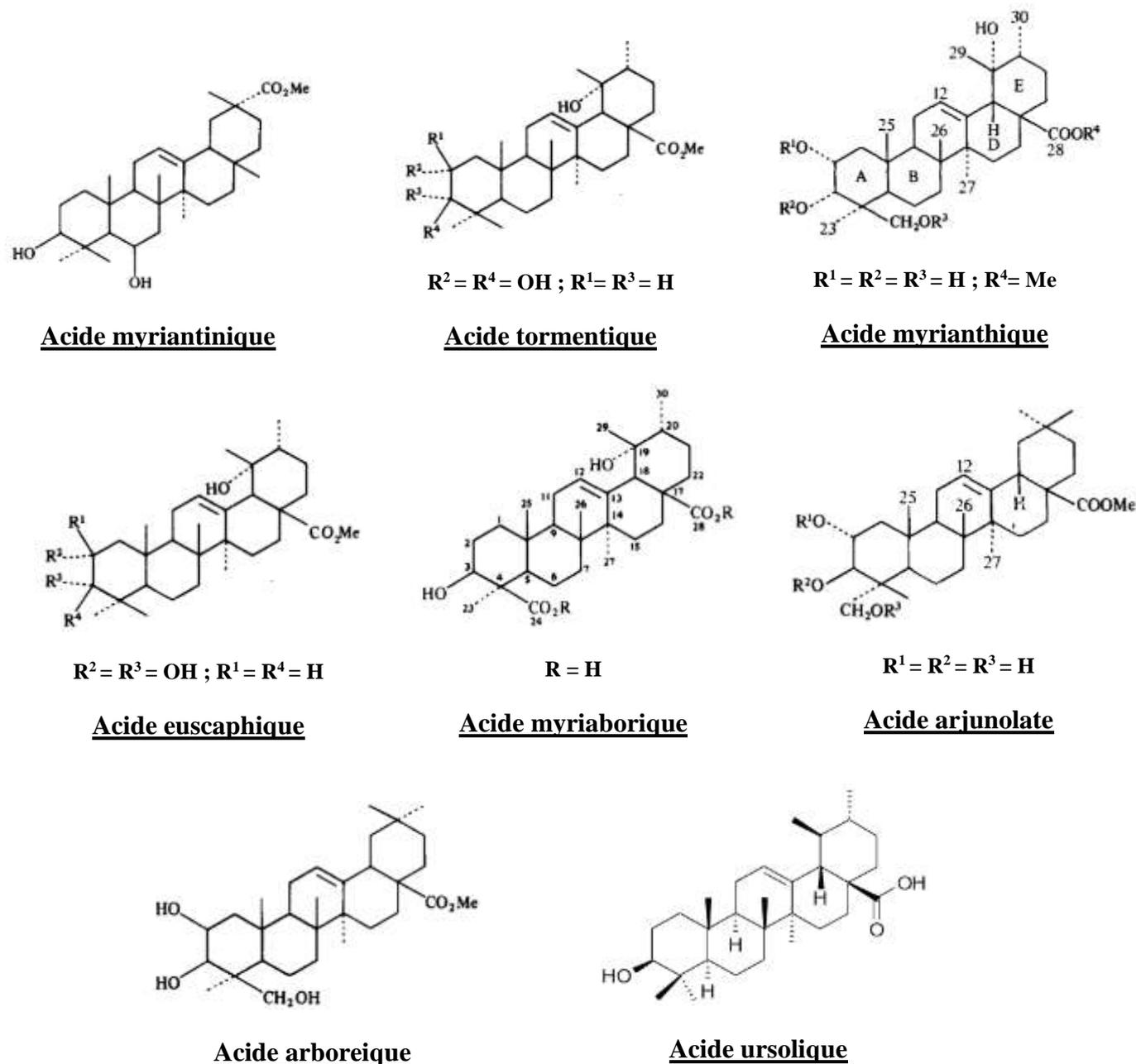


Figure 7 : Structures chimiques des composés isolés de *Myrianthus arboreus* P. Beauv. (Ojinnaka *et al.*, 1984 ; Ngounou *et al.*, 1988)

## I.8. METHODES ET TECHNIQUES D'ETUDES PHYTOCHIMIQUES : LA CHROMATOGRAPHIE

Les plantes sont utilisées comme aliment et/ou médicament, ainsi que comme matériel de départ pour la synthèse de médicaments (Gurib-Fakim, 2006). Cependant leurs extraits restent des mélanges complexes de centaines de composés dans lesquels seuls quelques-uns (ou un seul) sont responsables des effets thérapeutiques ou toxiques observés sur la santé humaine. D'où la nécessité de les identifier, voir les quantifier. Ceci est rendu possible par différentes techniques chromatographiques qui assurent la séparation des constituants d'un

mélange en utilisant deux phases non miscibles: une phase mobile et une phase stationnaire (Allwood et Goodacre, 2010). La nature des deux phases varie suivant la technique chromatographique utilisée et la nature des molécules à analyser. Il existe plusieurs types de techniques chromatographiques ; on peut notamment les classer selon :

- La nature de la phase mobile qui peut être un liquide (la chromatographie en phase liquide dont la chromatographie sur couche mince -CCM, la chromatographie sur colonne -CC et la chromatographie à haute performance - CLHP), un gaz (chromatographie en phase gazeuse -CPG) ou un fluide supercritique (chromatographie en phase supercritique -CPS).
- Les interactions développées par la phase stationnaire : la chromatographie d'adsorption/d'affinité, la chromatographie de partage, la chromatographie à échange d'ions, la chromatographie chirale (CPG, CPL), la chromatographie d'exclusion stérique (CES) ;
- Le support de la phase stationnaire : La chromatographie planaire (CCM) ; la chromatographie sur colonne (CLPH et CPG) ; la chromatographie à 2 dimensions.

## **I.8.1. Chromatographie en phase liquide**

### **I.8.1.1. Chromatographie sur couche mince**

Dans cette technique, la phase stationnaire est une couche mince de matériel absorbant (gel de silice, oxyde d'aluminium ou cellulose) fixée sur une plaque (de verre, plastique ou aluminium). La migration de la phase liquide par capillarité le long de la phase stationnaire entraîne la séparation des composants de l'échantillon selon leur affinité respective pour les deux phases (Harborne, 1984).

### **I.8.1.2. Chromatographie sur colonne**

C'est une méthode préparative permettant la séparation des mélanges dont la masse peut atteindre plusieurs grammes. En chromatographie sur colonne, un réservoir de phase mobile vient alimenter une colonne qui porte, entassée dans sa structure cylindrique, la phase stationnaire (gel de silice ou gel de dextrane) sous forme de petites particules (Harborne, 1984).

### **I.8.1.3. Chromatographie en phase liquide à haute performance**

Plus connue sous l'abréviation anglaise HPLC (« High Performance Liquid Chromatography »), c'est une technique de séparation adaptant les méthodes chromatographiques usuelles sur un montage sous haute pression. L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire constituée de granulométrie fine et homogène. Le débit d'écoulement élevé de la phase liquide augmente la pression dans le système et une diminution considérable du temps nécessaire à l'élution (temps de rétention). La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. L'augmentation de l'efficacité de la séparation, ou de la résolution, observée dans cette technique lui vaut l'appellation "haute performance" (Harborne, 1984).

### **I.8.2. Chromatographie en phase gazeuse**

C'est une technique qui s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être volatilisés par élévation de la température. Permet la séparation des molécules de faible poids moléculaires ( $PM < 500 \text{ g/mol}$ ) et stables avec la température. Dans cette technique, la phase stationnaire est soit un liquide à haut point d'ébullition (G/L), ou un solide appelé polymère poreux (G/S) et la phase mobile est un gaz inerte (hélium, argon, azote, hydrogène) encore appelé gaz vecteur ou gaz porteur qui balaie en permanence la colonne (Ouenada, 2015).

### **I.8.3. Détermination des structures**

Les méthodes courantes utilisées dans l'élucidation des structures englobent la spectrométrie de masse (MS) et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN), très souvent combinées aux techniques usuelles de chromatographie telles que CPG et HPLC.

La spectrométrie de masse est une technique qui permet de détecter, d'identifier et de quantifier les molécules d'intérêt par mesure de leur masse. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions), issue de la fragmentation, en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ).

La RMN quant à elle permet d'obtenir des informations détaillées sur la structure et les propriétés physico-chimiques qui caractérisent un système. Elle se base sur la propriété de la plupart des noyaux atomiques, à savoir de posséder un moment angulaire intrinsèque, appelé spin nucléaire, résultat du couplage entre les moments angulaires des neutrons et des protons constituant le noyau.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left side and rounded corners on the right side, framing the chapter title.

## **CHAPITRE II**

### **MATERIEL ET METHODES**

## II.1. MATERIEL

### II.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Myrianthus arboreus*. P. Beauv (Cecropiaceae) ont été récoltées à Dschang (falaise) en Juin 2013 aux environs de 7 heures du matin. Le matériel végétal a été identifiée et authentifiée par M. NANA Victor, Botaniste à l'herbier national du Cameroun, par comparaison à l'échantillon 34045/HNC.

### II.1.2. Animaux expérimentaux

Des rats mâles et femelles de souche Wistar (Tableau I) ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Yaoundé I (Cameroun) et avaient un accès libre à l'eau et à l'aliment (Tableau II). Ils ont été séparés en fonction du sexe et logés dans des cages en plastiques, dans une salle ayant une température ambiante et avec une alternance jour/nuit. Les conditions d'expérimentation ont été en accord avec les lignes directrices 86/609/CEE de l'Union Européenne adoptées par le Comité d'Ethique du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation du Cameroun (Reg. No. FWA-IRD 0001954, 04/09/2006).

**Tableau I:** Age et poids corporel des animaux au début de chaque expérience

Types d'expérimentation	Âges des rats	Poids corporel (g)
<b>Maturation sexuelle</b>	Femelles immatures de 21 à 22 jours	26-32
	Mâles de fertilité prouvée de 84 à 112 jours	-
<b>Fertilité (paramètre de gestation)</b>	Femelles vierges de 90 jours	130 - 150
	Mâles de fertilité prouvée de 84 à 112 jours	-
<b>Activité oestrogénique et anti-oestrogénique</b>	Femelles vierges de 80 à 90 jours	130 – 150
<b>Comportement sexuel</b>	Femelles vierges pubères de 45 jours	70 – 80
	Mâles de fertilité prouvée de 84 à 112 jours	-
<b>Toxicité aiguë</b>	Femelles vierges de 65 à 70 jours	120 – 140
<b>Toxicité sub-aiguë</b>	Femelles vierges de 55 à 60 jours	80 – 110
	Mâles vierges de 55 à 60 jours	90 – 120

**Tableau II:** Composition de l'aliment des animaux pour les différents tests.

Constituants de l'alimentation	(g/100 g)	
	Avec soja	Sans soja
Farine de maïs	40,00	50,00
Farine de blé et son de blé	20,00	15,00
Farine de poisson	12,00	14,00
Farine de soja	14,00	0,00
Farine d'os	3,00	5,00
Tourteaux de palmiste	4,00	7,50
Tourteaux d'arachide	6,00	8,50
Complex vitamine	0,18	0,50
Sel de cuisine	0,82	0,50

### II.1.3. Substances de référence

L'œstradiol valérate (Progynova® 2 mg) a été obtenu de Delpharm (Lille, France), le Fulvestrant (ICI 182,780) et le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE™) ont été fournis par le laboratoire JUVAMINE (Paris, France).

### II.1.4. Investigation phytochimique

#### II.1.4.1. Solvants et réactifs

Les solvants utilisés pour le fractionnement, et la CCM (chromatographie sur couche mince) tels que l'hexane, le méthanol et l'acétate d'éthyle ont été obtenus auprès de "VWR International" (West Chester, Pennsylvanie, USA). Ceux utilisés dans la réalisation des profils « Gaz Chromatography coupled to Mass Spectrometry » (GC-MS), « Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry » (LC-MS) et résonnance magnétique nucléaire (RMN) tels que le chloroforme (chloroform B&J Brand®) et le méthanol (methanol B&J Brand®) ont été obtenus auprès de Burdick and Jackson® (Honeywell International Inc, Michigan, USA).

#### II.1.4.2. Plaques de chromatographie sur couche mince, colonnes et appareillages

La chromatographie sur couche mince a été effectuée sur des plaques de gel de silice Xtra Sil G/UV254 (ALUGRAM®, Düren, Allemagne). La chromatographie sur colonne a été effectuée sur des colonnes de 1 mètre de long et 5 cm de diamètre, et de 50 cm de long et 1 cm de diamètre, contenant de la silice 60 (0,063 – 0,2mm) provenant de MACHEREY-NAGEL GmbH&Co. KG (Düren, Allemagne)

Le profil (GC-MS) a été effectué sur un système constitué d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890A (Agilent Technologies, Inc., Wilmington, Delaware, USA) couplé à un spectromètre de masse LECO Pegasus 4D-CGCxGC-TOFMS (LECO Corporation, St Joseph, MI, USA). Le système de colonne primaire et secondaire utilisé était respectivement : Rxi-5 SilMS (29.5 m × 0.25 mm × 0.25 µm) et Rxi 17 Sil MS (0.95 m × 0.25 mm × 0.25 µm) (Restek, Bellefonte, PA, USA). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur. L'alignement du temps de rétention, la filtration appariée, la détection des pics et l'appariement des pics ont été effectués à l'aide du logiciel ChromaTOF (LECO, St Joseph, MI, USA). Ensuite l'identification des composés a été effectuée par comparaison à la base de données du spectre de masse (NIST, Adams and EO libraries).

## **II.1.5. Solutions, colorants et tampons**

### **II.1.5.1. Solutions des substances testées**

Pour les tests *in vivo*, les extraits de *M. arboreus*, l'œstradiol valérate et le Macaginseng- gingembre ont été dissous dans de l'eau distillée (10 mL/kg PC) et conservés entre +2 et +8°C. Le Fulvestrant (ICI 182, 780) a été dissous dans de l'huile de maïs (0,3 ml/150 g)

### **II.1.5.2. Colorants utilisés pour les frottis vaginaux**

L'éosine pour cytologie vaginale (EOSINE-RAL-555, Martillac, France) a été utilisée pour la coloration des lames.

### **II.1.5.3. Solutions et colorants utilisés pour l'histologie**

Les solutions et colorants utilisés ont été : le formol à 10% ; les alcools à 50, 70 et 80% ; l'hématoxyline de Harris : l'éosine alcoolique à 0,5% : Solution d'Orange G à 10% : la solution d'éthanol/xylène ; la solution d'eau gélatinée :

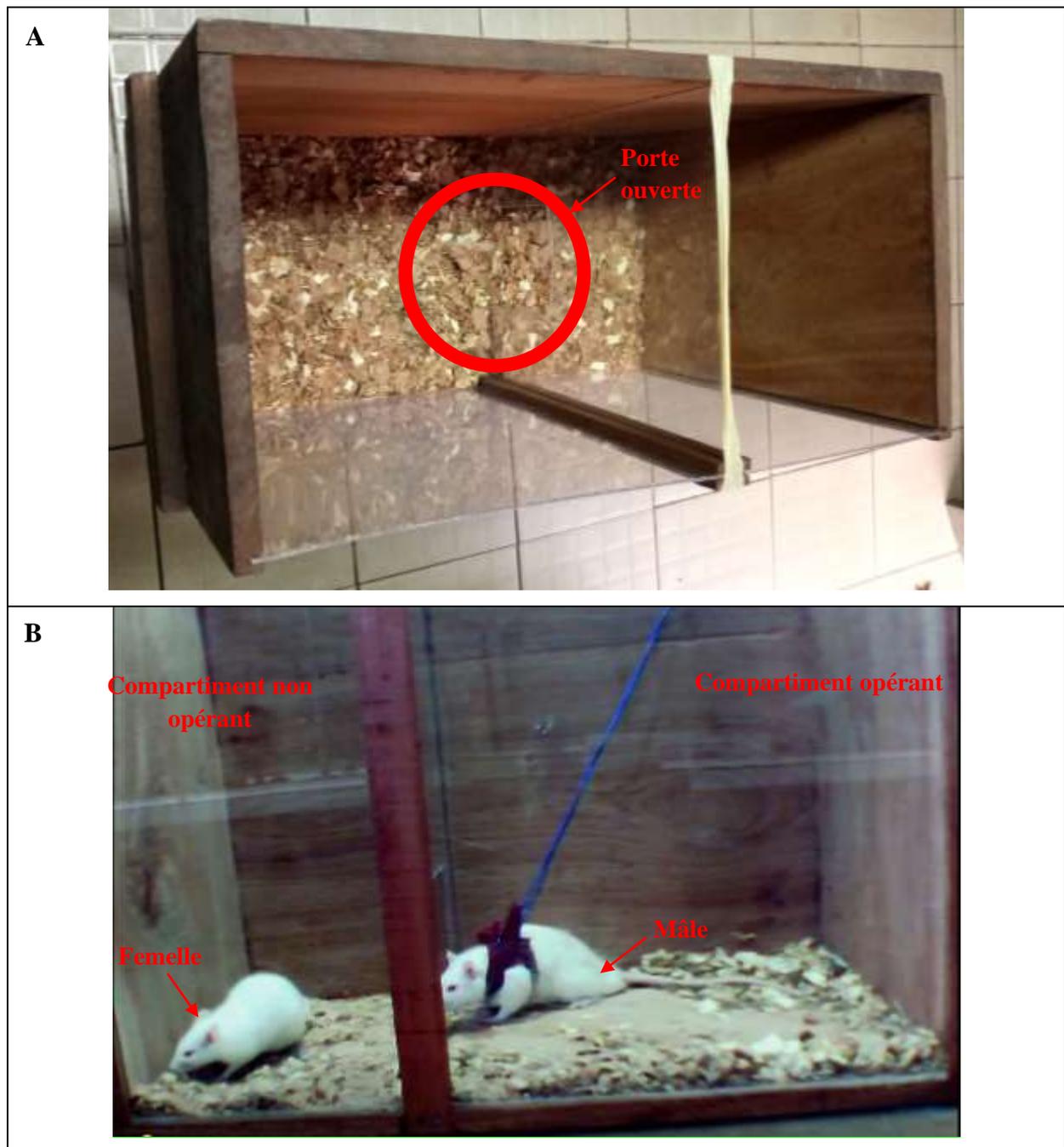
## **II.1.6. Matériel d'évaluation des paramètres hématologiques et biochimiques**

L'évaluation des paramètres hématologiques s'est faite à l'aide d'un analyseur Human count 30<sup>TS</sup>. L'évaluation de l'Aspartate-Aminotransférase (ASAT), l'Alanine-Aminotransférase (ALAT), le cholestérol total, le cholestérol-HDL, la créatinine et les triglycérides s'est faite à l'aide des kits *Fortress Diagnostics Limited* (Muckamore, United

Kingdom); celle de la bilirubine totale s'est faite à l'aide du kit *cypress diagnostics* (Langdorp, Belgium). L'évaluation des hormones stéroïdiennes (œstradiol et progestérone) et des gonadotrophines (LH et FSH) quant à elle, a été faite à l'aide du kit ELISA de HUMAN (Wiesbaden, Germany).

### **II.1.7. Matériel d'évaluation des paramètres de comportement sexuel**

Pour évaluer la motivation sexuelle chez les rates, un dispositif expérimental a été conçu selon le modèle modifié de Kops (2012). Il s'agit d'un appareil constitué d'une chambre à 2 compartiments séparés d'un plexiglas (Photo 2). Trois des côtés de la chambre sont en bois avec un côté long (l'avant de la chambre) en plexiglas transparent pour permettre aux sujets d'être visualisés. Le plus large compartiment (compartiment opérant ou compartiment mâle) mesure 36 cm de large x 30 cm de profondeur et 45 cm de hauteur, et le plus petit des 2 compartiments (compartiment non opérant, compartiment dans lequel est initialement placée la femelle durant l'expérimentation et où elle retourne après les interactions avec le mâle) mesure 22 cm de large x 30 cm de profondeur et 45 cm de haut. Les deux compartiments communiquent à l'aide d'une porte ouverte de 12 cm de large. Elle permet ainsi à la femelle d'aller d'un compartiment à l'autre. Le mâle est attaché au coin de la chambre très éloigné de la porte par un fil solide qui s'attache à un vêtement (veste) en dain amovible. L'attachement permettant au mâle d'effectuer la totalité du comportement sexuel (montées, intromissions, éjaculations, poursuites) tout en limitant sa capacité à traverser le compartiment opérant. Pour éviter que la présence humaine n'interfère avec le comportement des animaux, ils ont été suivis à l'aide d'une caméra (Youcam, Freetalk+) fixée en face du dispositif expérimental et connecté à l'ordinateur pour contrôler le comportement des animaux dans la chambre.



**Figure 8:** Dispositif expérimental du comportement sexuel sans animaux (A) vue de dessus et avec animaux (B) vue de profil (photo prise le 23 juin 2017 par Awounfack Charline Florence).

## II.2. METHODES

### II.2.1. Extraction de la plante et choix des doses utilisées

Après avoir été récoltées, les feuilles de *Myrianthus arboreus* ont été lavées, séchées à l'ombre et broyées. Pour l'obtention de l'extrait aqueux, 250 g de poudre ont été macérés dans

5 L d'eau de robinet pendant 12 heures à température ambiante. Après filtration, le filtrat a été lyophilisé à l'Institut de Recherches Médicale et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM, MINRESI Cameroun) en utilisant le lyophilisateur (Christ Beta 1-8K, Bioblock Scientific, Germany) permettant d'obtenir 13,94 g d'extrait brut, soit un rendement de 5,57%. Une autre portion de la poudre des feuilles de *M. arboreus* (500 g) a été macérée dans 5 L de méthanol 95% pendant 72 heures à température ambiante. Ce procédé a été répété une fois avec le résidu de poudre. Après filtration, le filtrat obtenu a été concentré à 40°C à l'évaporateur rotatif sous pression réduite (300 mbar). Ce qui a permis d'obtenir un extrait méthanolique de 26 g, soit un rendement de 5,2% (Figure 7).

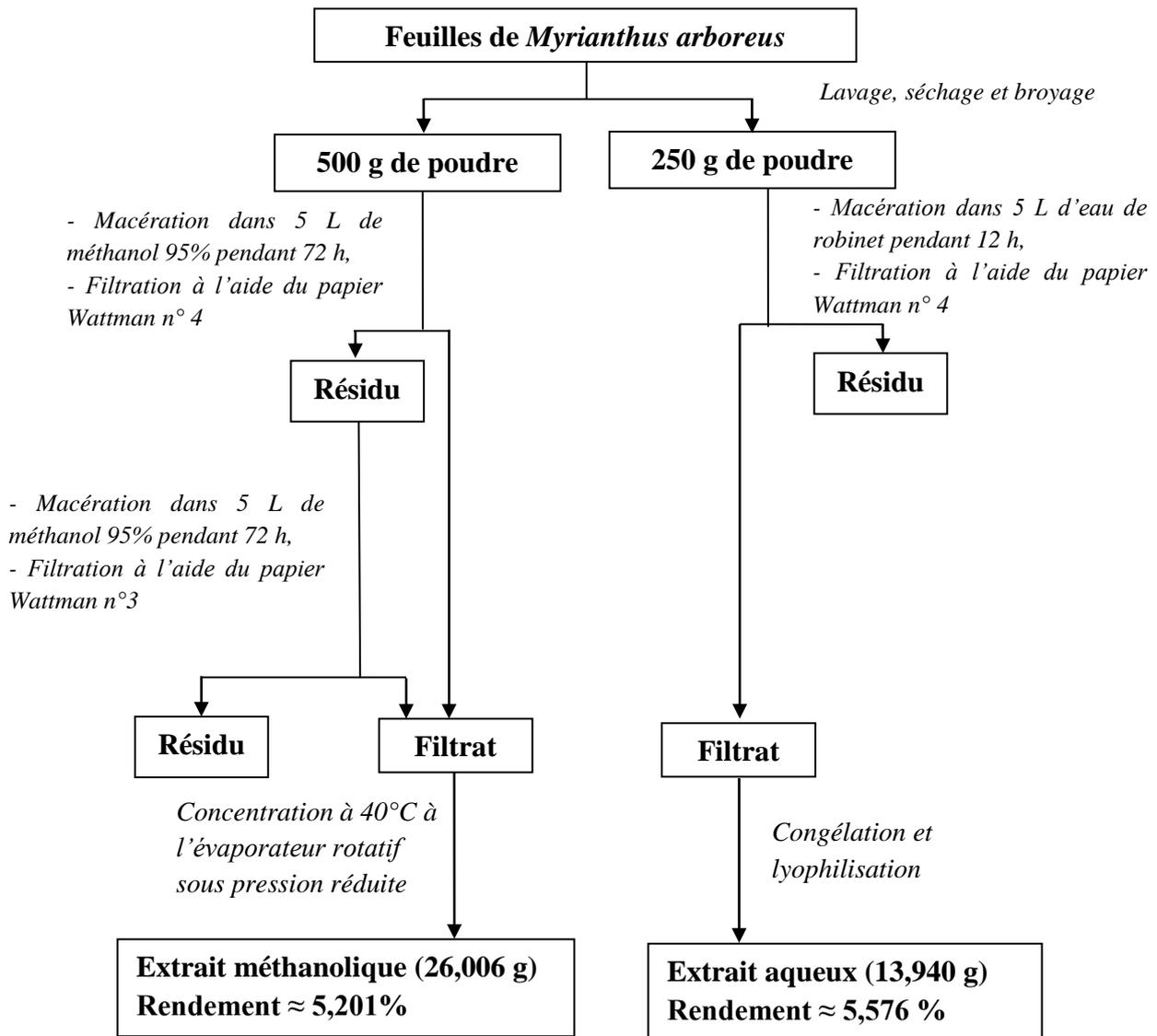


Figure 9 : Protocole d'extraction des feuilles de *Myrianthus arboreus*

Les doses d'extraits administrées aux animaux ont été extrapolées des données recueillies auprès d'un naturopathe (Dschang). Après lyophilisation des deux verres d'extrait aqueux de *M. arboreus* administré matin et soir à une femme d'environ 70 kg par ce dernier, une dose journalière de ~20 mg/kg de poids corporel (PC) a été obtenue. Cette dose a été multipliée par dix pour obtenir la dose thérapeutique chez l'animal, soit 200 mg/kg PC. La dose intermédiaire de 110 mg/kg PC a été calculée comme étant la moyenne des deux premières doses, soit  $[(20+200)/2]$ .

## II.2.2. Protocole d'étude pharmacologique

### II.2.2.1. Evaluation des effets d'une exposition des rates pré-pubère aux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Myrianthus arboreus* sur la maturation sexuelle et quelques paramètres de la fertilité

Onze jours avant le début des traitements (J-11), 96 femelles âgées de 10 à 11 jours ont été séparées des mâles et distribuées à des mères nourricières (jusqu'au sevrage) à raison de 6 femelles par nourrice. Au premier jour de l'expérimentation (J 1), les jeunes femelles alors âgées de 21 à 22 jours ont été pesées et regroupées en 8 lots de 12 animaux chacun. Le premier lot servant de témoin normal (TEMOIN) a reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée : 10 mL/kg PC/j). Afin de vérifier l'impact du soja sur la maturation sexuelle, un second lot témoin (SOJA) nourrit avec une alimentation contenant du soja (14%) contrairement aux autres lots, a également reçu de l'eau distillée (10 ml/kg PC/j). Trois autres lots ont été traités avec l'extrait aqueux (EA) des feuilles de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Les trois lots restants ont reçu l'extrait méthanolique (EM) des feuilles de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Les animaux ont reçu les extraits par gavage (entre 10 et 11 h du matin) pendant 30 jours et ils étaient pesés tous les trois jours. L'ouverture vaginale (marquant le début de la puberté) a quotidiennement été vérifiée jusqu'au jour où elle a eu lieu. Vingt-quatre heures après la dernière administration, ils ont été soumis à un jeûne de 10 à 12 h, puis 5 animaux de chaque lot ont été sacrifiés par décapitation sous anesthésie (50 mg/kg PC de diazépam, *i.p* + 10 mg/kg PC de la kétamine, *i.p*). Avant chaque sacrifice, le frottis vaginal a été réalisé chez tous les animaux présentant une ouverture vaginale.

Pour la réalisation du frottis, 10 µl de NaCl a été injecté dans le vagin et le contenu vaginal des rates a été prélevé et déposé individuellement sur une lame à bord rodé à l'aide d'une micropipette, puis séché à température ambiante pendant quelques minutes. Par la suite, lesdites lames ont été colorées à l'aide de l'éosine (EOSINE-RAL-555 fourni par RAL Diagnostics, Martillac, France) pour cytologie vaginale (EOSINE-RAL-555 fourni par RAL Diagnostics, Martillac, France) et lues au microscope Axioskop 40 (Zeiss, Allemagne).

A l'issue du sacrifice, le sang, le vagin, l'utérus et les ovaires ont été prélevés. L'utérus et les ovaires ont été pesés immédiatement après et le sérum obtenu après centrifugation du sang (3000 rpm à 5°C pendant 15 min) a été conservé à -20°C en vue du

dosage des hormones (FSH, LH, progestérone et œstradiol) et du cholestérol total. L'ovaire et la corne utérine gauches ont été broyés séparément à l'aide du potter-téflon de verre, dans du tampon phosphate/sodium (pH = 7,1), de manière à obtenir un homogénat de concentration final 10 % (0,1 g d'organe pour 1 mL de tampon) ; après centrifugation (3000 rpm à 5°C pendant 15 min), le surnageant a été prélevé et conservé à -20°C en vue du dosage du cholestérol total (ovarien) et du taux de protéines totales (ovarien et utérin). Les autres organes ont été fixés dans du formol 10% pour analyse histologique.

Les animaux restants (7/lot) ont été croisés avec des mâles de fertilité prouvée jusqu'à l'âge nubile ( $\approx 90$  jours) à défaut d'avoir une fécondation (présence d'un bouchon vaginal ou tout au moins des spermatozoïdes dans les frottis vaginaux) entre temps. La vérification de cette première fécondation a été quotidienne (entre 8 et 9 h du matin) jusqu'au jour de confirmation considéré comme le premier jour de gestation. Après 10 jours de gestation, une laparotomie sous anesthésie (30 mg/kg PC diazépam, *i.p* + 5 mg/kg PC kétamine, *i.p*) a été effectuée chez des femelles fécondées afin de compter le nombre de sites d'implantation au niveau des cornes utérines. Après suture de l'ouverture réalisée, ces femelles ont été mises dans des cages individuelles, et traités à l'aide de la betadine (solution antiseptique) puis suivies jusqu'à la délivrance. La taille de la portée a permis le calcul de l'index de fertilité (= nombre de femelles gestantes/nombre de femelles croisées  $\times 100$ ) et le taux de gestation (= nombre de femelles ayant un fœtus viable à la naissance/nombre total de femelles gestantes  $\times 100$ ) (Silva *et al.*, 2009, Lienou *et al.*, 2012 ; Gonçalves *et al.*, 2014) (Figure 8).

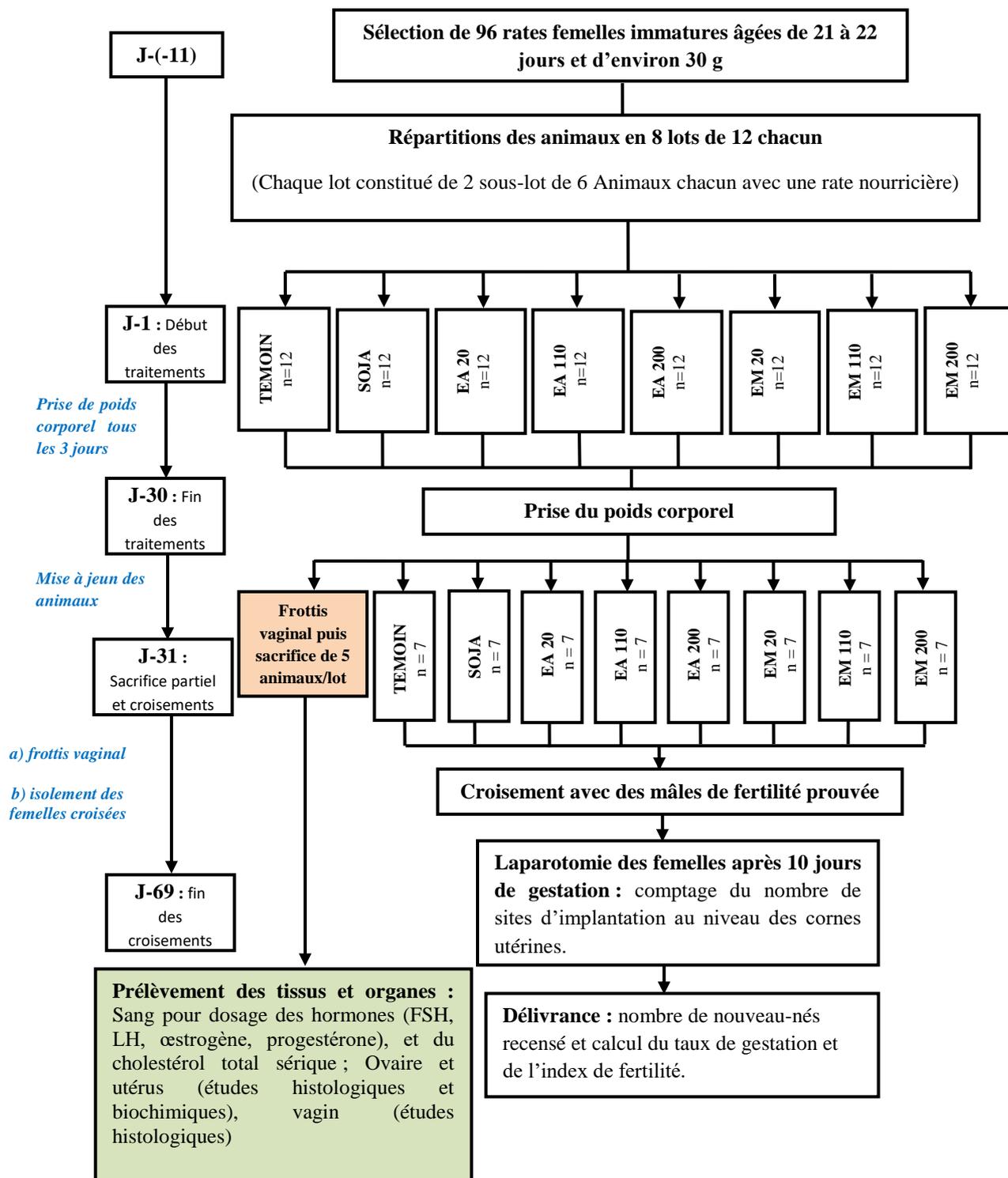


Figure 10 : **Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* sur la maturation sexuelle des rates de souche Wistar.**

TEMOIN = rates immatures ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; SOJA = rates immatures nourries à l'aliment contenant du soja et ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 ml/kg PC/j) ; EA = rates immatures ayant été traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j ; EM= rates immatures ayant été traitées à l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j.

### **II.2.2.2. Evaluation des effets des extraits des feuilles de *Myrianthus arboreus* sur les paramètres de gestation chez des rates**

Dans cette expérience (Figure 9), des jeunes rates adultes (90 jours) et nullipares ont été utilisées. Quinze jours avant le début des traitements, le cycle œstral de ces animaux a été déterminé par des frottis vaginaux effectués quotidiennement entre 7 et 8 heures du matin, tels que décrits plus haut. Au terme de ce travail, seules les femelles ayant un cycle œstral régulier compris entre 4 et 5 jours ont été sélectionnées pour la suite de l'expérimentation. Au Jour 16, les animaux ont été pesés, répartis en 5 lots de 5 animaux chacun et soumis au traitement. Le lot témoin négatif (TEMOIN) recevait le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; Le lot témoin SOJA recevait également le solvant de dilution des substances. Les lots restants recevaient l'extrait aqueux (EA) ou l'extrait méthanolique (EM) des feuilles de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Du jour 16, les traitements par gavage, se sont étendus à toute la période de croisement jusqu'à la mise-bas. Concernant le croisement, les femelles ont été mises en présence des mâles de fertilité prouvée tous les jours entre 19 h et 7 h du matin, jusqu'à la confirmation de la fécondation (jour 26 pour le dernier animal). Les femelles gestantes ont été logées par la suite dans des cages individuelles. Après 10 jours de gestation, une laparotomie a été effectuée, afin de déterminer le nombre de sites d'implantation sur les cornes utérines et le nombre de sites hémorragiques (corps jaunes) sur les ovaires. Puis elles ont été observées jusqu'au jour de la mise bas. La prise du poids corporel s'est faite une fois par semaine. A la naissance, les nouveaux nés ont été comptés et pesés ; les différents paramètres de fertilité et de gestation ont été évalués par le calcul du nombre de site de résorption et d'implantation, l'index d'implantation  $[(\text{nombre d'implantation}/\text{nombre de corps jaunes}) \times 100]$ , l'index de résorption  $[(\text{nombre de résorption}/\text{nombre d'implantation}) \times 100]$ , la perte d'embryons avant l'implantation  $[(\text{nombre de corps jaunes} - \text{nombre d'implantation})/\text{nombre de corps jaunes} \times 100]$ , la perte de fœtus après l'implantation  $[(\text{nombre d'implantation} - \text{nombre de fœtus en vie})/\text{nombre d'implantation} \times 100]$ , l'index de fertilité et le taux de gestation (Lilaram et Raichur, 2014 ; Silva *et al.*, 2009).

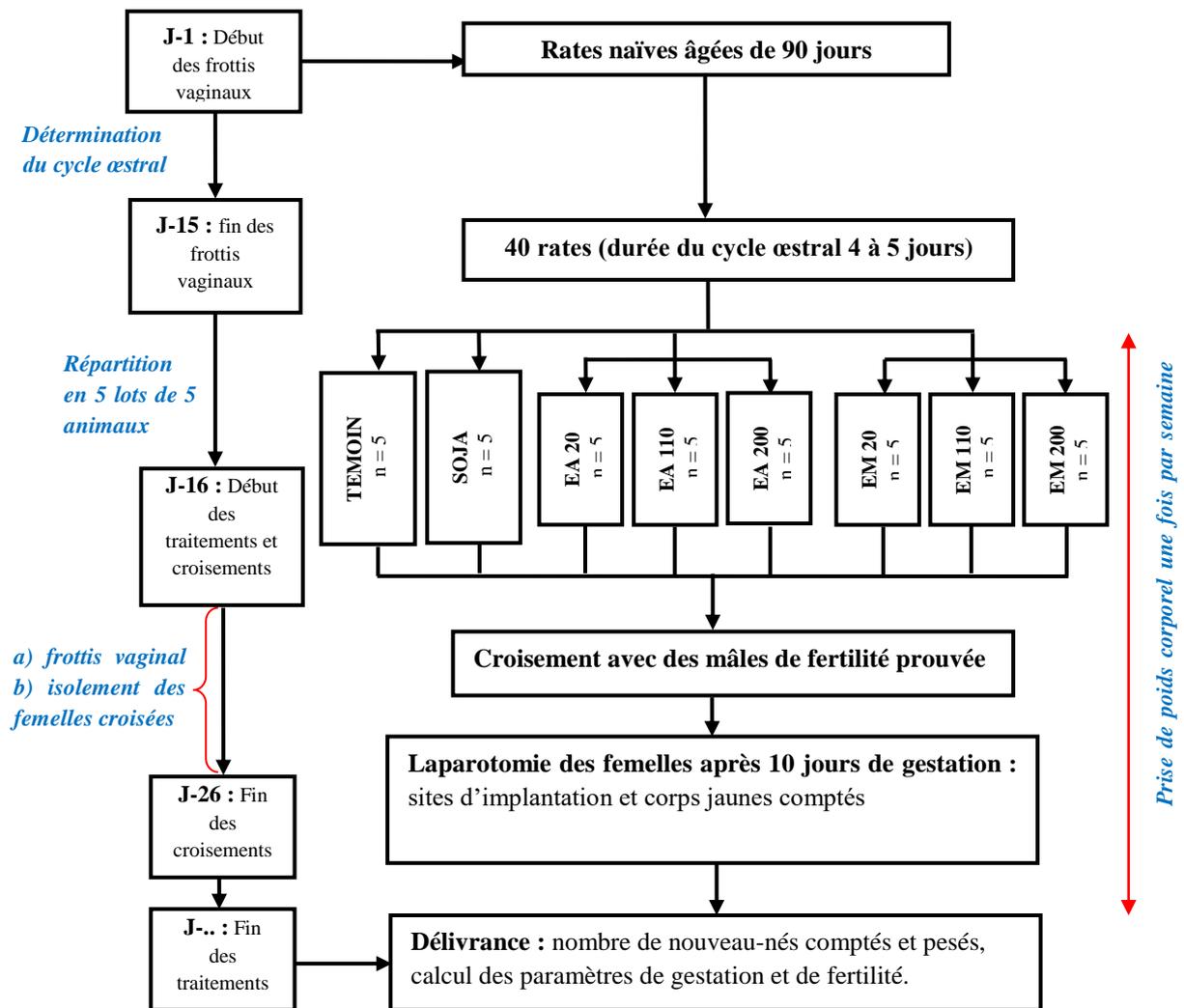


Figure 11 : Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* sur les paramètres gestationnels de jeunes rates adultes de souche Wistar. TEMOIN = rates ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 ml/kg PC/j) ; SOJA = rates nourries à l'aliment contenant du soja et ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 ml/kg PC/j) ; EA = rates traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j ; EM = rates traitées à l'extrait méthanolique des

### II.2.2.3. Evaluation des effets œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique de *Myrianthus arboreus* chez des rates

Pour ce travail, 40 rates adultes ont été ovariectomisées (n = 40 ; OVX) sous anesthésie et 5 ont subi un simulacre d'intervention (n = 5 ; SHAM).

Pour cette ovariectomie, les rates ont préalablement été anesthésiées avec du diazépam (50 mg/kg PC) et de la kétamine (10 mg/kg PC) administrés par voie intra-péritonéale. Les animaux ont ensuite été placés en décubitus ventral dans un bac à dissection et une petite boutonnière d'environ 1 cm a été faite sur le dos. A partir de cette ouverture, une légère

incision du péritoine a été réalisée de chaque côté de l'abdomen avec une pince à bout pointu. Les amas de graisse entourant les ovaires ont ainsi été mis en évidence. Les ovaires directement observables ont été séparés des cornes utérines dont ils faisaient suite après une ligature effectuée entre la corne utérine et l'ovaire. L'ouverture dorsale a ensuite été refermée avec des points de suture et traitée à l'aide d'une solution antiseptique (betadine) afin d'éviter les infections.

Quatorze jours après ovariectomie, les animaux ont été répartis en 9 lots de 5 animaux chacun. Les lots témoins SHAM et OVX ont reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée) à la dose de 10 mL/kg PC/j, le groupe E<sub>2</sub>V servant de témoin positif a reçu l'œstradiol valérate à la dose 1 mg/kg PC/j (Progynova® 2 mg a été obtenu de Delpharm, Lille, France). Six autres lots ont reçu l'extrait aqueux (EA) ou l'extrait méthanolique (EM) de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Les traitements ont été administrés par gavage pendant 3 jours. A l'issue de ces traitements, les animaux ont été soumis à un jeûne non hydrique de 10 à 12 heures. Au terme du jeûne, ils ont été pesés puis sacrifiés. L'utérus et le vagin ont été prélevés et fixés dans du formol 10% pour analyse histologique. L'utérus a préalablement été pesé avant fixation (Figure 10).

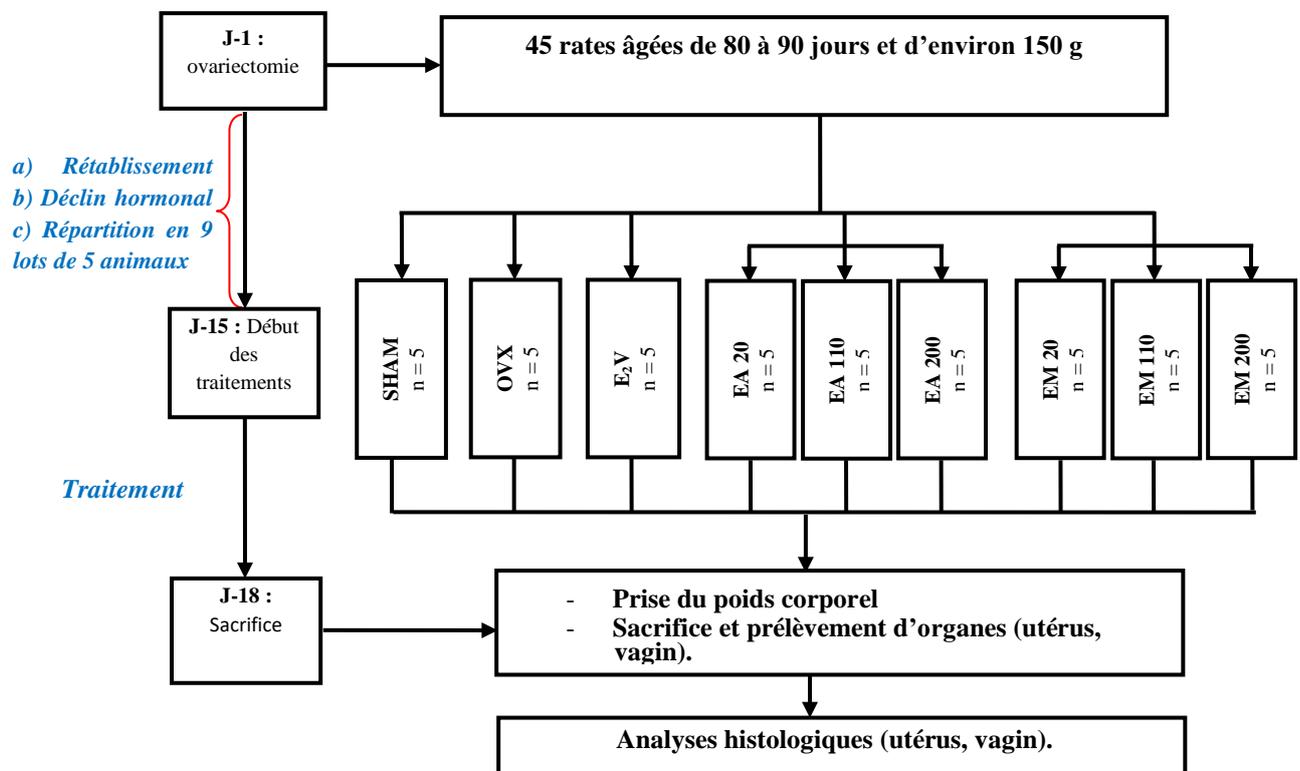


Figure 12 : Protocole d'évaluation des effets œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* chez la rate de souche Wistar.

SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie ; OVX = animaux ovariectomisés ; E<sub>2</sub>V = animaux OVX traités à l'œstradiol valérate (1 mg/kg PC/j) ; EA = animaux OVX traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j ; EM = animaux OVX traités à l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus* à la dose de

#### **II.2.2.4. Evaluation des effets anti-œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique de *Myrianthus arboreus* chez des rates**

Pour ce travail, 45 rates adultes ont été ovariectomisées (n = 45 ; OVX) sous anesthésie (50 mg/kg PC diazépam, *i.p* + 10 mg/kg PC kétamine, *i.p*) et 5 autres ont subi un simulacre d'intervention chirurgicale (n = 5 ; SHAM) tel que décrit plus haut. Quatorze jours après ovariectomie, les animaux ont été répartis en 10 lots de 5 animaux chacun. Les lots SHAM et OVX ont reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée) à 10 mL/kg PC/j, le groupe E<sub>2</sub>V servant de témoin positif a reçu l'œstradiol valérate à la dose 1 mg/kg PC/j, et le troisième lot a reçu l'E<sub>2</sub>V (0,75 mg/kg PC) combiné au Fulvestrant (ICI 182, 780 fourni par Sigma-Aldrich, Hambourg, Allemagne) à la dose de 300 µg/kg PC *s.c*. Le Fulvestrant a été au préalable dissous dans de l'huile de maïs 0,3 ml/150 g PC. Six autres lots ont été co-traités avec l'E<sub>2</sub>V (0,75 mg/kg PC) et l'extrait aqueux (EA) ou l'extrait méthanolique (EM) de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Les traitements ont été administrés par gavage pendant 3 jours. A l'issue de ces traitements, les animaux ont été soumis à un jeûne non hydrique de 10 à 12 heures. Au terme du jeûne, ils ont été pesés puis sacrifiés. L'utérus et le vagin ont été prélevés et fixés dans du formol 10% pour analyse histologique. L'utérus a préalablement été pesé avant sa fixation (Figure 11).

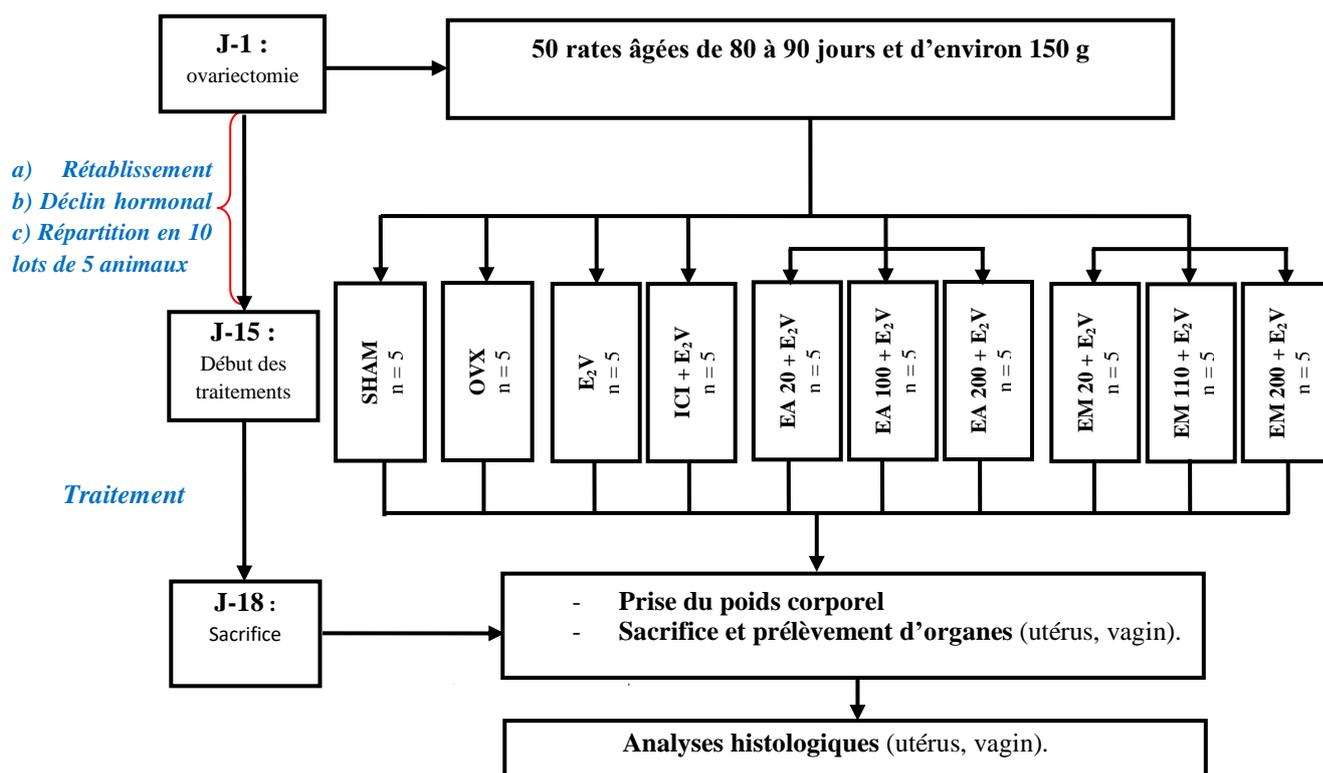


Figure 13 : Protocole d'évaluation des effets œstrogéniques des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* chez la rate de souche Wistar.

SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie; OVX = animaux ovariectomisés; E<sub>2</sub>V = animaux OVX traités à l'œstradiol valérate (1 mg/kg PC/j) ; ICI + E<sub>2</sub>V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + Fulvestrant (ICI 182, 780 ; 300 µg/kg PC) ; EA + E<sub>2</sub>V = animaux OVX co-traités avec E<sub>2</sub>V (0,75 mg/kg PC) et à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j ; EM+E<sub>2</sub>V = animaux OVX co-traités à E<sub>2</sub>V (0,75 mg/kg PC/j) et à l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus* à la dose

#### II.2.2.5. Evaluation des effets de l'extrait aqueux de *M. arboreus* sur le comportement sexuel chez des rates

Pour évaluer la motivation sexuelle chez les rates, trente-cinq rates naïves âgées de 45 jours, nourries avec un aliment dépourvu de soja et présentant une ouverture vaginale ont été réparties en 6 lots de 7 animaux chacun. Le premier lot (TEMOIN) servant de témoin négatif a reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée: 10 mL/kg/J). Le second lot (PERFORMANCE 1) a aussi reçu de l'eau distillée sauf au dernier jour du traitement où il a reçu le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE™ fourni par le laboratoire JUVAMINE, Paris, France) à la dose de 28,39 mg/kg PC ; les animaux du lot 3 (PERFORMANCE-2) ont reçu la même dose du Maca-ginseng-gingembre pendant toute la période de traitement tandis que les 3 lots restants ont reçu l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Pendant la période de traitement (par gavage) qui a duré 30 jours consécutifs à 16 h, un frottis vaginal a quotidiennement (entre 9 h à 10 h) été effectué chez

tous les animaux. Les animaux ont été pesés une fois par semaine et le dernier jour du traitement. Au terme du traitement, les femelles en phase de proestrus étaient soumises à un test de comportement sexuel en soirée (18 h-22 h).

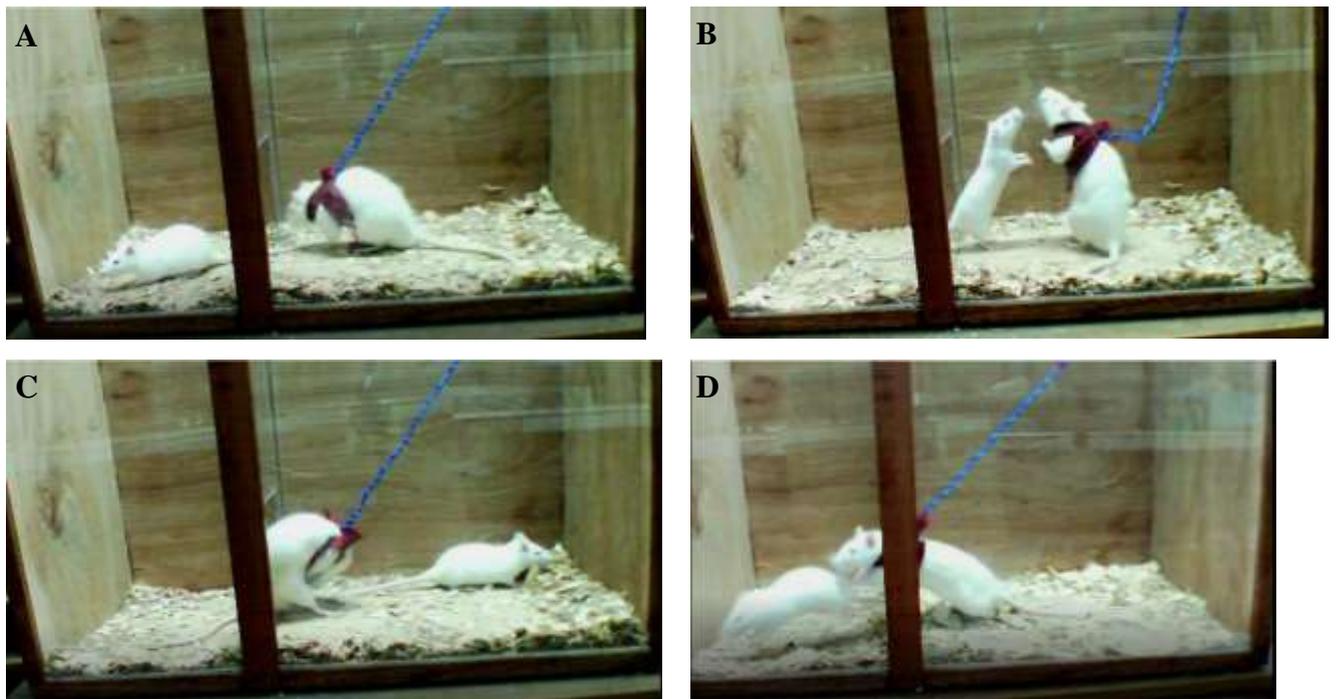
Par ailleurs une semaine avant le début du test de comportement, des rats mâles de fertilité prouvée ont été quotidiennement immobilisés (pendant 5 min) dans un des compartiments à l'aide d'une veste reliée à une corde fixée dans le but de les habituer au dispositif contraignant. Puis les femelles étaient individuellement introduites dans le dispositif (pendant 5 min) dans le but de les acclimater au nouvel environnement à deux compartiments. Le jour du test et une heure après la dernière administration, les femelles ont été mises avec le mâle dans un environnement autre que le dispositif d'évaluation jusqu'à initiation du comportement copulatoire (30 secondes). Pour le déroulement du test, le mâle était préalablement introduit dans le dispositif et rendu immobile. Par la suite la femelle a été introduite et le comportement des animaux filmé pendant 30 minutes à l'aide d'une caméra (Youcam, Freetalk+) connectée à un ordinateur (la présence humaine étant proscrite pendant ce temps). A l'issue du test, les enregistrements vidéo de chaque couple d'animaux ont été visualisés et analysés (Figure 12). Les paramètres évalués ont été répartis en trois phases (Pfaus *et al.*, 2001 ; Olivier *et al.*, 2011 ; Yakubu et Olutoye, 2016) dont :

- **La phase appétitive** : la latence de changement de compartiment (temps mis par la femelle pour se rendre dans le compartiment du mâle ou compartiment opérant) ; la fréquence de changement de compartiment (nombre de fois qu'elle change de compartiment/temps mis dans son compartiment ou compartiment non opérant) (Photo 3).



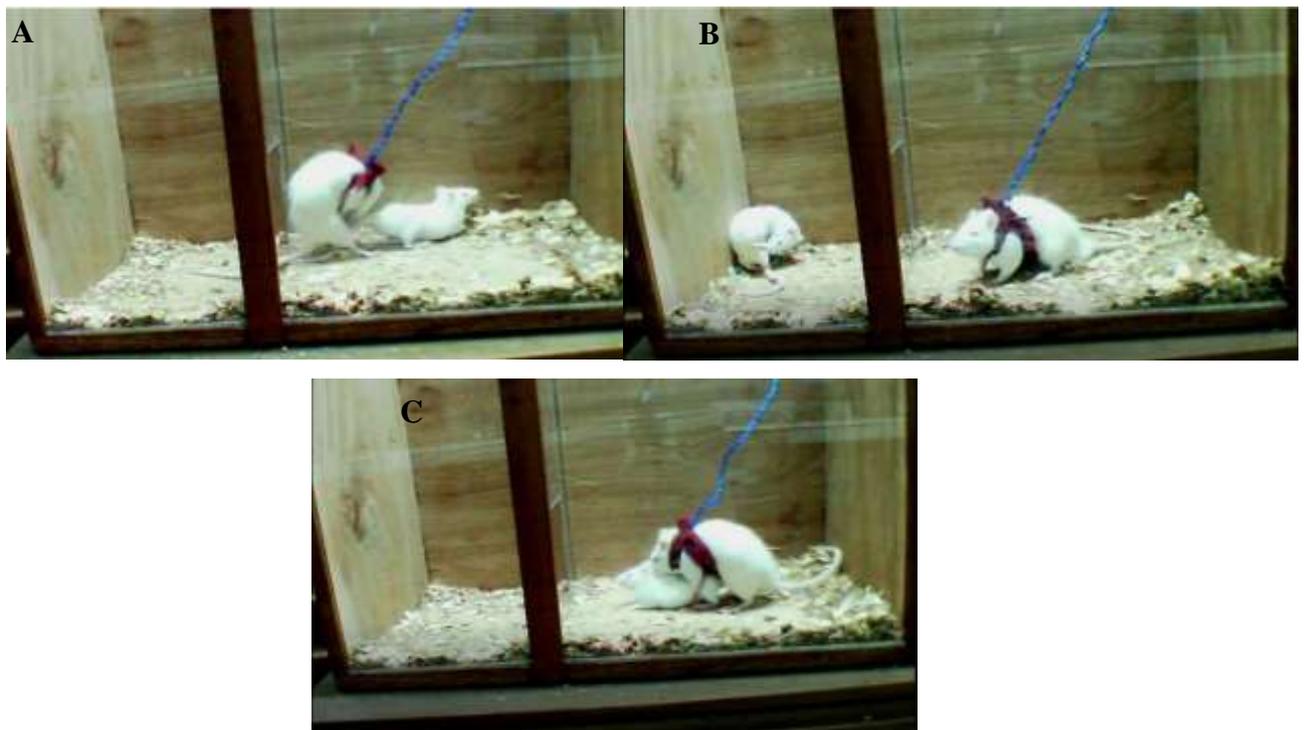
**Figure 14:** Dispositif expérimental présentant la femelle changeant de compartiment (photo prise le 23 juin 2017 par Awounfack Charline Florence).

- **La phase pré-copulatoire ou phase pro-réceptive :** nombre de sollicitations (nombre de fois que la femelle fait une orientation avec la tête au mâle suivit d'une fuite vers son compartiment initial) ; nombre de rejets (nombre de fois que la femelle adopte une posture de défense, boxe, donne des coups de pied) ; la latence de « darting » (temps pris par la femelle pour initier une fuite vers l'avant suivit d'un arrêt brusque avec orientation du postérieur vers le mâle) ; la latence de « hopping » (temps pris par la femelle pour faire un saut court avec des pattes figées) ; la fréquence de « darting » (le nombre de « darting » sur la durée de l'observation) ; fréquence de « hopping » (le nombre de « hopping » sur la durée de l'observation) (Photo 4);

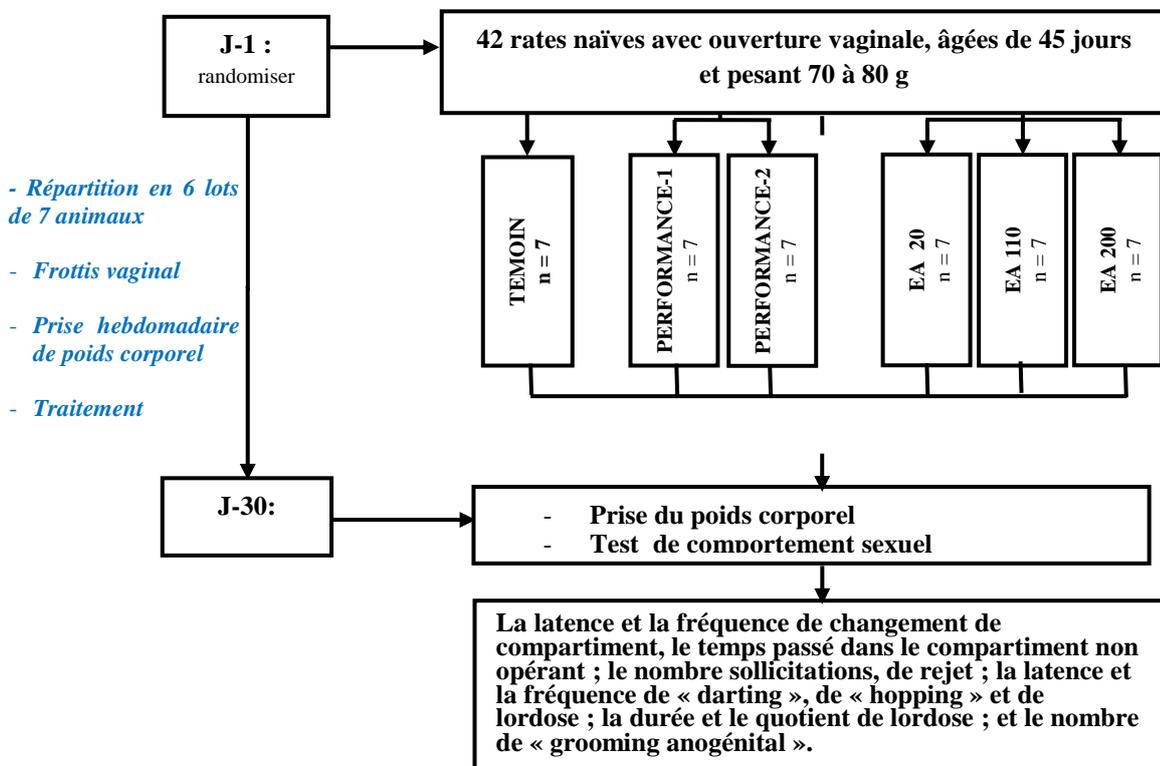


**Figure 15:** Dispositif expérimental présentant la femelle effectuant une sollicitation (A), un rejet (B), un « darting » (C) et un « hopping » (D) (photo prise le 23 juin 2017 par Awounfack Charline Florence).

- **La phase de consommation ou phase réceptive :** le temps de latence de lordose (temps mis par la femelle pour adopter une courbure concave de la colonne vertébrale, en réaction à la monte réalisée par le mâle afin de faciliter l'intromission) ; durée de la lordose ; fréquence de la lordose (nombre de lordose sur la durée de l'observation) ; quotient de lordose (nombre de monte reçu, sur le nombre de lordose) ; nombre de « grooming » anogénital (le nombre de fois que la femelle se nettoie la zone anogénitale) (Photo 5).



**Figure 16:** Dispositif expérimental présentant la femelle effectuant une lordose (A) et un « grooming » anogénital (B), puis le mâle effectuant une monte (C) (photo prise le 23 juin 2017 par Awounfack Charline Florence).



**Figure 17 :** Protocole d'évaluation des effets des extraits aqueux des feuilles de *M. arboreus* sur le comportement sexuel chez des rates de souche Wistar.

**TEMOIN :** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le

**Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE™; 28,39 mg/kg PC) 2 h avant l'expérimentation ; PERFORMANCE-2 = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE™; 28,39 mg/kg PC) pendant 30 jours ; EA = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC/j.**

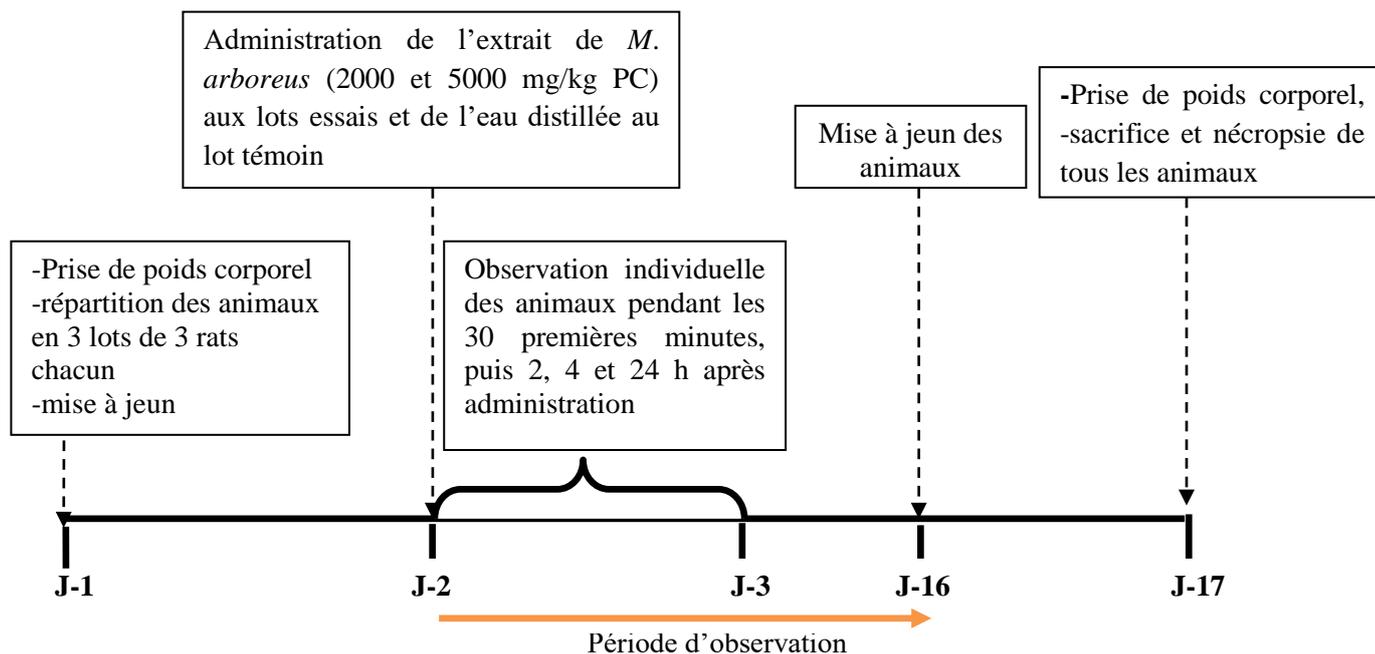
## **II.2.2.6. Evaluation de la toxicité de l'extrait aqueux de *M. arboreus***

### **II.2.2.6.1. Toxicité aiguë**

Le but de cette expérience était d'évaluer l'ensemble des effets néfastes se produisant immédiatement (24 heures) et peu de temps après administration (14 jours) d'une dose unique de l'extrait aqueux de *Myrianthus arboreus*.

La toxicité aiguë par voie orale a été évaluée en utilisant une méthode modifiée par classe de toxicité aiguë (ligne directrice n° 423 de l'OCDE) (OCDE, 2001) avec une dose initiale de 2000 mg/kg PC et une dose prédéterminée maximale supplémentaire de 5000 mg/kg PC. Pour cette expérience, 9 rates naïves et saines âgées de 65-70 jours (120-140 g) ont été réparties en trois lots de trois animaux chacun. Le premier lot (Témoin) a reçu de l'eau distillée, tandis que le deuxième et le troisième lot ont respectivement reçu l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* fraîchement préparé aux doses uniques de 2000 et 5000 mg/kg PC. Dans le souci de faciliter le gavage, les solutions ont été administrées aux animaux par gavage à raison de 20 mL/kg PC. Avant traitement, les animaux ont été pesés, marqués et soumis à un jeûne nocturne non hydrique (10 heures). Après traitement, les animaux ont été de nouveau privés de nourriture pendant 4 heures et observés individuellement pendant les 30 premières minutes, ensuite 2, 4, 24 h après traitement et enfin quotidiennement pendant 14 jours. L'expérience a été répétée avec les mêmes doses et le même nombre d'animaux suivant le même protocole. Les observations portaient sur la mortalité, les éventuelles modifications du pelage, des yeux, de l'activité somato-motrice et du comportement. L'attention a aussi été portée sur les tremblements, les convulsions, la salivation, la diarrhée, la léthargie et l'état d'inactivité. L'évolution pondérale de chaque animal a été évaluée tous les 4 jours. A la fin de la période d'observation, les animaux ont été pesés et sacrifiés par décapitation sous anesthésie (50 mg/kg diazépam, *i.p.* et 10 mg/kg kétamine, *i.p.*). Les organes tels que le foie, les poumons, le cœur, l'estomac, la rate, les reins, les surrénales, l'utérus, le vagin, et les ovaires ont été prélevés, observés et fixés dans du formol 10 %. Tous ces organes hormis le vagin ont été préalablement pesés immédiatement après le sacrifice et leur poids relatif

calculé. L'histologie du foie, des reins, des poumons, de l'utérus, du vagin et de l'ovaire droit a été également effectuée (Figure 13).



**Figure 18** : Protocole d'évaluation de la toxicité aiguë par voie orale de *M. arboreus* (OCDE, 2001).

## II.2.2.6.2. Evaluation de la toxicité sub-aiguë

La toxicité sub-aiguë (28 jours) par voie orale de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* a été évaluée conformément à la ligne directrice n°407 de l'OCDE (OCDE, 2008). Partant des résultats obtenus sur les effets pharmacologiques, les doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j ont été maintenues. Cette expérience a nécessité 60 animaux âgés de 55 à 60 jours (90-120 g pour les mâles et 80-110 g pour les femelles) avec autant de mâles que de femelles. Après une acclimatation de 7 jours, ils ont été répartis en 6 lots de 10 animaux chacun dont 5 mâles et 5 femelles séparés selon les sexes. Les animaux ont été soumis à un traitement quotidien de 28 jours par gavage à raison de 10 mL/kg PC de solution. Le premier lot (TEMOIN) a reçu quotidiennement le solvant de dilution des substances (eau distillée). Les lots 2, 3 et 4 ont reçu l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses respectives de 20, 110 et 200 mg/kg PC/j. Les lots 5 et 6 servant de lots satellites ont respectivement reçus de l'eau distillée (témoin SAT) et l'extrait à la dose maximale de 200 mg/kg PC/j (EA 200 SAT). Les animaux ont reçu une administration quotidienne (de 13 à 14 heures) de substances et observés une fois par jour (5-10 min) afin de détecter des signes de toxicité. L'observation des lots satellites s'est poursuivie 14 jours après arrêt du traitement (après 28 jours de traitement).

afin d'évaluer la réversibilité, la persistance ou l'apparition tardive des effets toxiques. Les animaux ont été pesés en début de traitement, tous les 4 jours et enfin, le jour du sacrifice. A la fin du traitement (lots 1 à 4) et de la période d'observation (groupes satellites), les animaux ont été sacrifiés par décapitation sous anesthésie (50 mg/kg diazépam, *i.p.* et 10 mg/kg kétamine, *i.p.*) après un jeûne nocturne non hydrique (10-12 h); le sang et les organes tels que le foie, le poumon, la rate, les surrénales, l'estomac, les reins, le cœur, le vagin, l'utérus, les ovaires, les épидидymes, la prostate, les testicules et la vésicule séminale ont été prélevés et pesés. Après analyse macroscopique, ces organes ont été fixés dans du formol à 10%. Une partie du sang prélevé a été introduite dans des tubes à EDTA en vue de la numération et formule sanguine (NFS) et l'autre partie a été introduite dans des tubes secs et centrifugée à 3000 tr/min (15 min à -5°C). Le sérum obtenu a été conservé à -20°C pour des analyses biochimiques. L'analyse histologique a été effectuée sur des organes tels que le foie, le rein, le poumon, le vagin, l'utérus, l'ovaire, l'épididyme, la prostate, le testicule et la vésicule séminale (Figure 14).

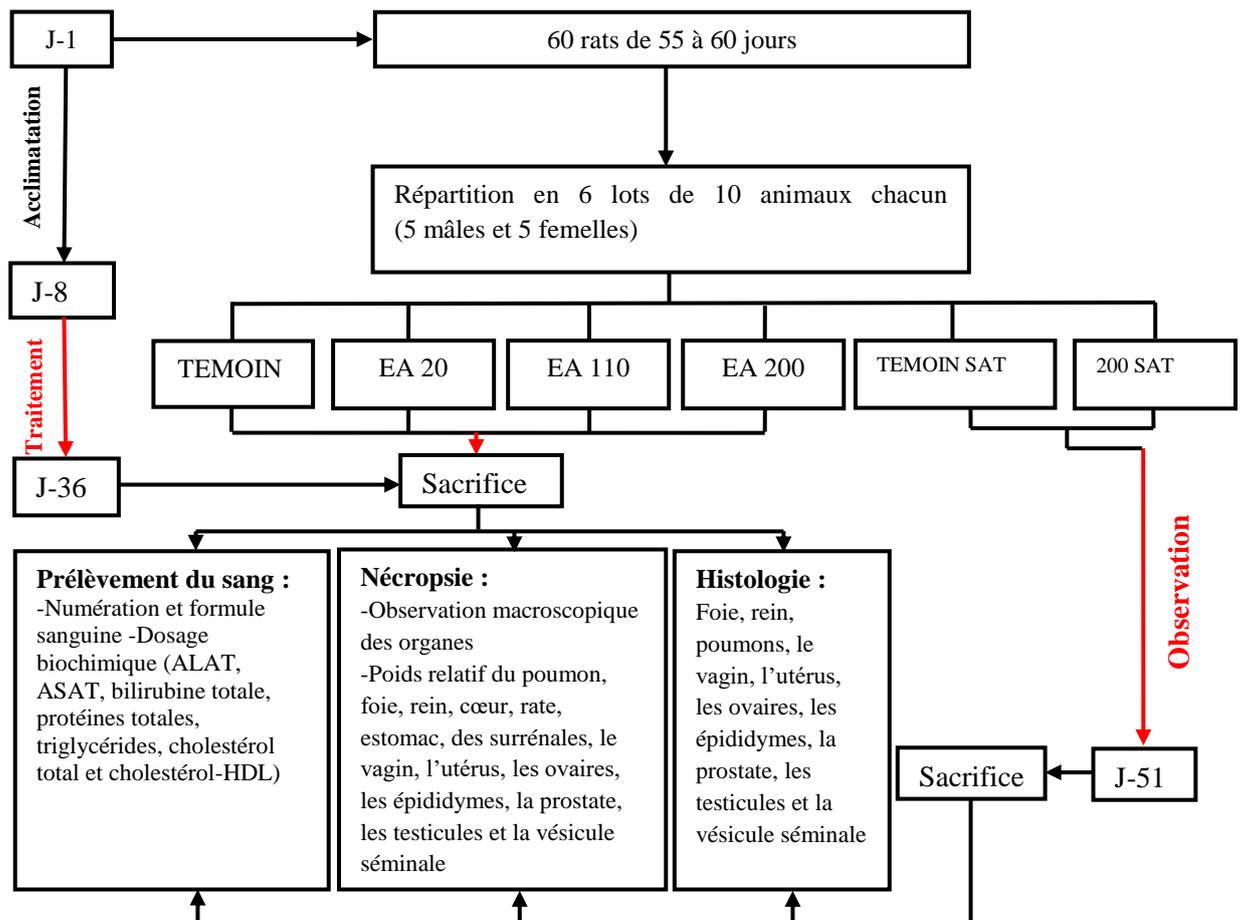


Figure 19 : Protocole d'évaluation de la toxicité sub-aiguë par voie orale de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* (OCDE, 2008).

**TEMOIN** = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j); **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j; **TEMOIN SAT** = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) et sacrifiés 14 jours après arrêt des traitements ; **200 SAT** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC/j et sacrifiés 14 jours après arrêt des traitements

## II.2.3. Protocole d'étude histologique

### II.2.3.1. Préparation des solutions et colorants utilisés pour l'histologie

La préparation des solutions et colorants a été effectuée de la manière suivante :

▪ **Formol à 10%** : La préparation s'est faite à partir du formol commercial (solution concentrée à 35%) d'après la formule suivante :

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f : \begin{cases} C_i = \text{concentration initiale du formol (35\%)} \\ V_i = \text{volume du formol introduit dans l'éprouvette ;} \\ C_f = \text{concentration désirée (10\%)} \\ V_f = \text{volume final du formol dilué désiré} \end{cases}$$

Pour obtenir un volume final ( $V_f$ ) de 1000 mL, 286 mL représentant le volume initial ( $V_i$ ) ont été introduits dans une éprouvette graduée de 1000 mL et le  $V_f$  a été atteint par ajout d'eau distillée.

▪ **Alcools à 50, 70 et 80%** : en fonction de la concentration désirée, la préparation s'est faite à partir de l'alcool à 95%, d'après la table de Gay-Lussac (voir Annexe 1).

▪ **Hématoxyline de Harris** : Cette solution colore les noyaux cellulaires (basophiles) en bleu/violet en se fixant sur les acides nucléiques. Pour la préparation de 200 mL de solution, 1 mg d'hématoxyline, 20 g d'alun potassique dissout à chaud et 0,5 g d'oxyde de mercure rouge ont été mélangés à 10 mL d'éthanol absolu et le volume complété à 200 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est porté à ébullition puis refroidi. Après dissolution et filtration du mélange, la solution d'hématoxyline de Harris a été obtenue.

▪ **Eosine alcoolique à 0,5%** : Il colore les éléments éosinophiles (cytoplasme, collagène, fibres musculaires et hématies) en rose/rouge. Pour préparer cette solution, 5 g d'éosine ont été dissous dans 50 mL d'eau distillée et le volume a été complété à 1000 mL par ajout de 2 gouttes d'acide acétique et de l'éthanol absolu.

▪ **Solution d'Orange G à 10%** : Ce colorant est obtenu par dissolution de 10 g d'Orange G dans un volume d'eau distillée qui est par la suite complété à 100 mL.

▪ **Solution d'éthanol/xylène** : cette solution résulte du mélange d'éthanol absolu avec du xylène dans les proportions d'un volume d'éthanol absolu pour un volume de xylène (1:1 v/v)

▪ **Solution d'eau gélatinée** : cette solution permet d'étaler les coupes histologiques et une bonne adhésion de celles-ci sur les lames. Pour la préparation de 100 mL de cette

solution, 5 mg de poudre de gélatine ont été dissous dans un certain volume d'eau distillée (45°C) avant de le compléter à 100 mL.

### **II.2.3.2. Techniques histologiques**

L'histologie permet la préparation des tissus/organes en vue de leur observation au microscope. Les techniques utilisées sont celles décrites par Cannet (2004, 2006a, b).

#### **II.2.3.1. Fixation par immersion**

La première étape d'histologie, c'est la fixation. Elle constitue la base de la préparation des tissus en vue de leur observation au microscope. Son but est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant et de permettre au tissu de passer par les étapes de la technique histologique sans changement ni déformation. Les organes fixés, étaient immergés dans du formol à 10 %.

Le "Trimming" s'est déroulée comme suit : Les différents organes fixés ont été sectionnés suivant un plan transversal ou longitudinal, puis disposés dans des cassettes histologiques étiquetées.

#### **II.2.3.2. Déshydratation ou circulation**

Elle est constituée de trois étapes à savoir :

- **Déshydratation** : La paraffine n'étant pas miscible avec de l'eau, les tissus fixés ont été débarrassés de toute trace d'eau avant de pouvoir être inclus dans ce milieu. Pour ce procédé, 8 bacs d'alcool, à raison de 2 heures dans chaque bac, ont été utilisés successivement dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 80 % (1 x 2h), 4 bacs d'éthanol à 95 % (4 x 2h) et 3 bacs d'éthanol à 100 % (3 x 2h).
- **Eclaircissement** : Il consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. C'est une étape de transition réalisée par des hydrocarbures benzéniques (xylène ou toluène). Ainsi, après déshydratation, deux bains dans du xylène (2 x 2h) ont suffi pour réaliser cette opération.
- **Imprégnation** : L'obtention des coupes fines passe par l'incorporation d'une substance neutre (la paraffine) dans les tissus. L'imprégnation consiste au remplacement de l'eau des cellules et des tissus par la paraffine qui durcit les prélèvements. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4h (2 x 2h) dans de la paraffine en fusion (60°C).

### II.2.3.3. Inclusion et coupes

L'inclusion fournit un support externe aux tissus ce qui permet la réalisation des coupes au microtome. Les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion (60°C) qui est mise à solidifier sur une surface froide, après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque LEICA RM 2125 RT. Des rubans de coupe de 5 µm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie contenant de l'eau gélifiée. Aux moyens de lames porte-objet propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve à 45°C pendant 24 h.

### II.2.3.4. Coloration

La coloration permet de voir les constituants d'une cellule et d'un tissu en leur faisant capter et fixer des colorants de façon sélective. La coloration utilisée dans ce travail est la coloration à l'hématoxyline-éosine. L'hématoxyline colore les constituants acides du noyau en bleu-violacé et l'éosine colore les constituants basiques du cytoplasme en rose-rouge. La coloration s'est déroulée en deux étapes à savoir :

- **Déparaffinage et réhydratation :** Il s'agit d'une étape au cours de laquelle les coupes sont débarrassées de la paraffine dans des bains de xylène et réhydratées dans des bains d'alcool à concentration décroissante jusqu'à l'eau distillée ; chaque bain ayant une durée de 5 min. Les coupes ont donc été passées dans les bains suivants : Xylène (3 x 5 min), éthanol à 100 % (3 x 5 min), éthanol à 95 % (1 x 5 min), éthanol à 80 % (1 x 5 min) et eau distillée (1 x 5 min).
- **Coloration proprement dite :** Après déparaffinage, les lames contenant les coupes d'organes, ont par la suite été passées successivement dans les bains suivants : Hématoxyline de Harris (2 x 5 min), eau de robinet (2 x 5 min), éthanol à 70 % (1 x 5 min), éthanol à 95 % (1 x 5 min), éosine alcoolique à 0,5 % (1 x 5 min) et eau de robinet (1 x 5 min).

### II.2.3.5. Montage

Il permet de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver. Les coupes colorées doivent être déshydratées avant d'être montées. Cette opération se fait en deux étapes : la première consiste en la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu (3 x 5

minutes) et en l'éclaircissement dans trois bains de xylène (3 x 5 minutes). Par la suite, les coupes déshydratées ont été montées entre lame et lamelle, en utilisant comme milieu de montage la résine synthétique (le Baume de Canada) qui est non miscible à l'eau.

## **II.2.4. Analyses des paramètres hématologiques et biochimiques**

### **II.2.4.1. Analyses hématologiques**

Les analyses étaient effectuées avec le sang prélevé et introduit dans des tubes à EDTA en vue de la numération et formule sanguine (NFS). L'évaluation des paramètres hématologiques s'est faite à l'aide d'un analyseur Human count 30<sup>TS</sup>. Ces paramètres étaient le nombre de globules blancs, de lymphocytes, de monocytes, de granulocytes, de plaquettes et de globules rouges ; le pourcentage de l'hématocrite ; la concentration en hémoglobine ; le volume corpusculaire moyen (VCM) ; de la quantité d'hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM) ; et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

### **II.2.4.2. Analyses biochimiques**

Les différents dosages étaient effectués dans les homogénats d'utérus, d'ovaire et dans le sérum.

L'évaluation de l'Aspartate-Aminotransférase (ASAT), l'Alanine-Aminotransférase (ALAT), le cholestérol total, le cholestérol-HDL, la créatinine et les triglycérides s'est faite à l'aide des kits *Fortress Diagnostics Limited* (Muckamore, United Kingdom); celle de la bilirubine totale s'est faite à l'aide du kit *cypress diagnostics* (Langdorp, Belgium). L'évaluation des hormones stéroïdiennes (œstradiol et progestérone) et des gonadotrophines (LH et FSH) quant à elle, a été faite à l'aide du kit ELISA de HUMAN (Wiesbaden, Germany). Les instructions fournies par ces différents laboratoires ont été suivies.

#### **II.2.4.2.1. Evaluation des paramètres du profil lipidique**

##### **II.2.4.2.1.1. Dosage du cholestérol total**

Le cholestérol est présent dans le sérum sous forme d'esters et sous forme libre. Les esters de cholestérol présents sont hydrolysés par le cholestérol estérase et le cholestérol total

est mesuré par oxydation avec le cholestérol oxydase. Le peroxyde d'hydrogène libéré réagit à son tour avec le phénol et le 4-aminoantipyrine pour produire la quinonéimine à coloration rouge. L'intensité de coloration de la solution est proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon.

Comme mode opératoire, le standard ou l'échantillon et le réactif ont été pipetés dans les tubes tel que dans le tableau III.

**Tableau III:** Mode opératoire du dosage du cholestérol total

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Essai</b>
Réactif	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Eau distillée	10 µL	-	-
Standard (cholestérol 200 mg/dL)	-	10 µL	-
Echantillon	-	-	10 µL

Après avoir bien mélangé et incubé le contenu de chaque tube pendant 10 min à température ambiante, les absorbances ont été lues à 500 nm contre le blanc réactif et les taux sériques (mg/dL) déterminés d'après la formule suivante :

$$\text{Concentration (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance (échantillon)}}{\text{Absorbance (Standard)}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

Les taux de cholestérol supérieurs ou égales à 0,20 mmol/L (7,74 mg/dL) peuvent être mesurés avec précision par cette méthode.

#### **II.2.4.2.1.2. Dosage du cholestérol-HDL**

Les lipoprotéines autres que les HDL présentes dans le sérum sont précipitées par addition de l'acide phosphotungstique (PTA) et du chlorure de magnésium. Après centrifugation, la concentration de cholestérol-HDL restante dans le surnageant a été déterminée par le réactif de dosage du cholestérol total (Tietz, 1999).

Pour la précipitation, le précipitant a premièrement été pré-dilué dans de l'eau distillée (4:1 v/v). Par la suite, 500 µL de ce précipitant et 200 µL de l'échantillon ont été introduits dans les tubes test et mélangé. Après 10 min d'incubation à température ambiante, le mélange a été centrifugé pendant 15 minutes (à 5°C) à 3500 tr/min. le surnageant a ensuite été recueilli et sa teneur en cholestérol déterminée en utilisant le réactif de cholestérol total comme décrit plus haut.

La méthode de mesure serait linéaire au-delà de 20 mmol/L (774 mg/dL).

### II.2.4.2.1.3. Dosage des triglycérides

En présence de lipoprotéine lipase, les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et acides gras. Le glycérol réagit avec le glycérol kinase en présence de  $Mg^{+}$  pour donner le glycérol-3-phosphate qui, à son tour produit le peroxyde d'hydrogène en présence du glycérol-3-Phosphate oxydase. En présence de la peroxydase, le peroxyde d'hydrogène réagit avec le 4-aminoantipyrine et le p-chlorophénol pour former le 4-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides dans le milieu.

Le standard ou l'échantillon et le réactif ont été pipetés dans les tubes tel que présenté dans le tableau IV.

**Tableau IV:** Mode opératoire du dosage des triglycérides

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Essai</b>
Réactif	1 mL	1 mL	1 mL
Eau distillée	10 $\mu$ L	-	-
Etalon (triglycérides 200 mg/dL)	-	10 $\mu$ L	-
Echantillon	-	-	10 $\mu$ L

Après avoir bien mélangé et incubé le contenu de chaque tube pendant 10 min à température ambiante, les absorbances ont été lues à 546 nm contre le blanc réactif et les taux sériques (mg/dL) déterminés d'après la formule suivante :

$$\text{Concentration (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance (échantillon)}}{\text{Absorbance (étalon)}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

La détection limite doit être supérieurs ou égales à 3 mg/dL (0,05 mmol/L).

### II.2.4.2.2. Dosages des transaminases: alanine aminotransférase (ALAT) et aspartate aminotransférase (ASAT)

La  $\alpha$ -oxoglutarate et la L-alanine en présence de l'alanine aminotransférase sont transformés en L-glutamate et pyruvate. Le pyruvate ainsi formé et le NADH sont transformés par le lactate déshydrogénase en L-lactate et  $NAD^{+}$ .

Par ailleurs, en présence de l'aspartate aminotransférase, la  $\alpha$ -oxoglutarate et la L-aspartate sont transformés en L-glutamate et oxaloacétate. La conversion de l'oxaloacétate, en présence de NADH, par le malate déshydrogénase aboutit au malate et  $\text{NAD}^+$ .

Dans les deux cas la conversion de NADH en  $\text{NAD}^+$  est directement proportionnelle au niveau de l'enzyme ALAT ou ASAT dans l'échantillon.

Pour la préparation de 100 mL d'hydroxyde de sodium dilué (NaOH dilué), 10 mL d'hydroxyde de sodium ont été mélangés à 90 mL d'eau distillée.

- **Mode opératoire :** Le protocole du dosage des transaminases (ALAT et ASAT) est résumé dans le tableau V.

**Tableau V:** Mode opératoire du dosage des transaminases (ALAT et ASAT)

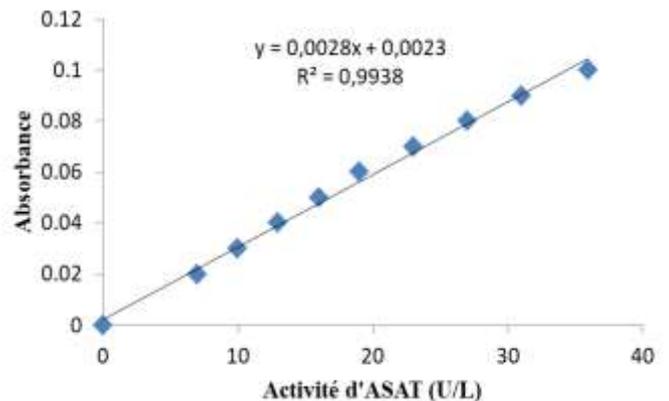
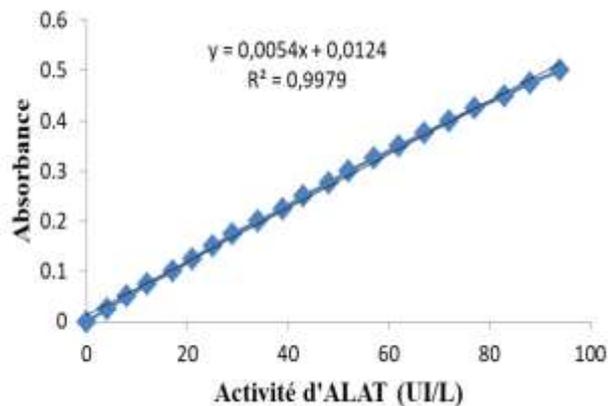
<b>Tubes</b>	<b>Blanc</b>	<b>Test</b>
<b>Echantillon</b>	-	100 $\mu\text{L}$
<b>Tampon</b>	500 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$
<b>Eau distillée</b>	100 $\mu\text{L}$	-

Après incubation du mélange pendant 30 min à  $37^\circ\text{C}$ , 500  $\mu\text{L}$  de colorant (2,4 Dinitrophenyl hydrazine) ont été introduits dans chaque tube. Au bout de 20 min à température ambiante ( $20\text{-}25^\circ\text{C}$ ), chaque tube a reçu 5 mL d'hydroxyde de sodium dilué et l'absorbance a été lue à 540 nm après 5 min et ceci, contre le blanc réactif.

A partir des densités optiques obtenus suite au protocole présenté dans le tableau VI, des courbes d'étalonnage (Figure 15 A et 15 B) ont été réalisées.

**Tableau VI:** Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des transaminases (ALAT et ASAT)

Tubes	Dosage ALAT		Dosage ASAT	
	Concentration (UI/L)	Densité optique	Concentration (UI/L)	Densité optique
1	0	0	0	0
2	4	0,025	7	0,02
3	8	0,05	10	0,03
4	12	0,075	13	0,04
5	17	0,1	16	0,05
6	21	0,125	19	0,06
7	25	0,15	23	0,07
8	29	0,175	27	0,08
9	34	0,2	31	0,09
10	39	0,225	36	0,10
11	43	0,25		
12	48	0,275		
13	52	0,3		
14	57	0,325		
15	62	0,35		
16	67	0,375		
17	72	0,4		
18	77	0,425		
19	83	0,45		
20	88	0,475		
21	94	0,5		



**Figure 20 :** Courbes d'étalonnage de l'alanine aminotransférase (A) et de l'aspartate aminotransférase (B)

Les quantités d'ALAT et d'ASAT ont été respectivement déterminées à partir des équations  $y = 0,005x - 0,012$  et  $y = 0,002x - 0,002$  issues des courbes d'étalonnage où  $y$  représente l'absorbance de l'échantillon et  $x$  la concentration d'ALAT ou d'ASAT dans l'échantillon.

### II.2.4.2.3. Dosage de la créatinine

La créatinine réagit avec l'acide picrique en milieu alcalin pour former un complexe jaune foncé. La quantité de complexe formé est directement proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon.

Pour la préparation du réactif de travail, des quantités égales de solution de NaOH et d'acide picrique ont été mélangées pour le nombre de tests à effectuer. Par la suite 1 mL de la solution de travail et 100 µL de standard ou d'échantillon ont été introduits dans les tubes test. Une fois mélangé, l'absorbance de la solution de chaque tube a été lue après 30 et 120 secondes à 492 nm.

Les taux sériques, exprimés en mg/dL, sont déterminés d'après la formule suivante :

$$\text{Concentration (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance échantillon 120 secs} - \text{Absorbance échantillon 30 secs}}{\text{Absorbance standard 120 secs} - \text{Absorbance standard 30 secs}} \times 2$$

Les taux de créatinine supérieurs ou égales à 14 µmol/L (0,15 mg/dL) peuvent être mesurés avec précision en utilisant cette méthode.

### II.2.4.2.4. Dosage des protéines totales

En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forment avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le complexe avec le tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette qui présente un maximum d'absorption à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans le milieu (Gornall et *al.*, 1949).

Pour ce dosage, 400 µL de réactif de Biuret et 600 µL d'eau distillée ont été introduits dans le tube servant de blanc alors que 10 µL de sérum, 400 µL de Biuret et 590 µL d'eau distillée étaient introduits dans les autres tubes. Après 5 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance de chaque tube a été lue à 540 nm contre le blanc réactif.

A partir d'une gamme de solutions du tableau VII, des courbes d'étalonnage ont été réalisées (Figure 16).

**Tableau VII:** Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

N° tube	Blanc	Etalons					
	0	1	2	3	4	5	6
SAB (ml)	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Eau distillée (mL)	3	2,75	2,5	2,25	2	1,75	1,5
Réactif de Biuret (mL)	2	2	2	2	2	2	2
Quantité de protéine (mg/mL)	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Densité optique (Absorbance)	0	0,041	0,083	0,123	0,161	0,195	0,233

SAB : Sérum Albumine Bovin

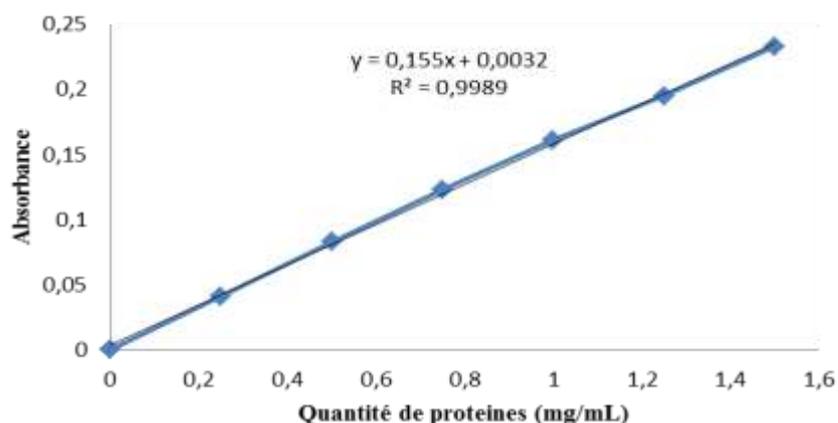


Figure 21 : Courbe d'étalonnage des protéines.

La quantité de protéines a été déterminée à partir de l'équation  $y = 0,155x + 0,0032$  issue de la courbe d'étalonnage où y représente l'absorbance de l'échantillon et x la quantité de protéines dans l'échantillon.

#### II.2.4.2.5. Dosage de la bilirubine totale

La bilirubine dans une solution alcaline forme, en présence des sels d'acide sulphanilique diazoté, un composé coloré rouge (azo-bilirubine). Des deux fractions présentes dans le sérum (la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre), seule la bilirubine-glucuronide réagit avec la solution aqueuse alors que la bilirubine libre exige de la solubilisation avec du diméthylsulphoxyde (DMSO) avant de réagir (tableau VIII).

**Tableau VIII:** Dosage de la bilirubine

	<b>Blanc</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif T</b>	1,5 MI	1,5 MI
<b>Réactif N</b>	-	50 µL
<b>Echantillon</b>	100 µL	100 µL

Les préparations ont été homogénéisées et incubées pendant 10 min à une température comprise entre 20°C. L'absorbance des échantillons et du standard a été lue à 555 nm contre le blanc réactif.

Le calcul de la concentration de la bilirubine totale (mg/dL) s'est fait suivant la formule :

$$\text{Bilirubine} = (\text{Absorbance échantillon} - \text{Absorbance blanc}) \times 29$$

Les taux de bilirubine supérieurs ou égales à 1 mg/dL (0,034 Abs) peuvent être mesuré avec précision en utilisant cette méthode.

#### **II.2.4.2.6. Dosage des hormones**

Les concentrations sériques des gonadotrophines hypophysaires (LH et FSH) et des stéroïdes sexuels (œstrogènes et progestérone) ont été déterminées par la technique ELISA (« Enzyme Linked Immuno Sorben Assay ») selon le protocole expérimental fourni par le kit HUMAN. Les réactifs et les échantillons ont été ramenés à température ambiante avant utilisation, puis les hormones ont été dosées en duplicat.

##### **II.2.4.2.6.1. Gonadotrophines (FSH et LH)**

La technique ELISA Sandwich utilisée dans le dosage de la FSH et de la LH consiste à piéger, entre un « anticorps de capture » et un « anticorps de détection », les antigènes (hormones) d'intérêt. Fixée à la surface des puits de microtitration, la streptavidine interagit avec l'anticorps monoclonal de capture biotinylé anti-LH ou anti-FSH (qui fixe l'hormone). Par la suite, l'anticorps de détection anti-LH ou anti-FSH marqué à la peroxydase se combine à cet ensemble pour former un immuno-complexe spécifique. La détermination des concentrations en antigène se fait en ajoutant un substrat chromogène ou un fluorogène à ces complexes, suivie de la lecture des densités optiques. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'hormone.

Après distribution de 100 µL du conjugué (anticorps de capture biotinylé + anticorps de détection marqué à la peroxydase) dans chaque puits, 50 µL des différents calibrateurs et échantillons y ont été ajoutés (en duplicat) dans les puits préparés à cet effet. Par la suite la plaque a été couverte et incubée pendant 1 heure à température ambiante en agitant doucement. A la fin de l'incubation, les différents puits ont été rincés 3 fois avec 300 µL de tampon de rinçage ou lavage. Pour terminer le lavage, la plaque a été inversée et époncée soigneusement contre des essuie-tout propres. Par la suite, 100 µL de substrat chromogène TMB (tétraméthylbenzidine) ont été distribués dans chaque puits, la plaque couverte et incubée pendant 15 minutes à température ambiante. Au bout de cette période, 50 µL de la solution STOP (acide sulfurique 1M) ont été ajoutés à chaque puits pour arrêter la réaction et la lecture de l'absorbance à 450 nm effectuée dans les 30 minutes qui ont suivi. A partir des absorbances individuelles contre les concentrations des calibrateurs du tableau IX, les courbes d'étalonnage obtenues à l'issue du dosage sont présentées sur la figure 17.

**Tableau IX:** Etablissement de la courbe d'étalonnage pour le dosage des gonadotrophines (FSH, LH)

Tube	Calibrateurs					
	A	B	C	D	E	F
Concentration de FSH (UI/L)	0	5	10	25	50	100
Densité optique de FSH	0,050	0,179	0,3145	0,804	1,479	2,451
Concentration de LH (UI/L)	0	5	25	50	100	200
Densité optique de LH	0,045	0,174	0,691	1,116	1,845	2,545

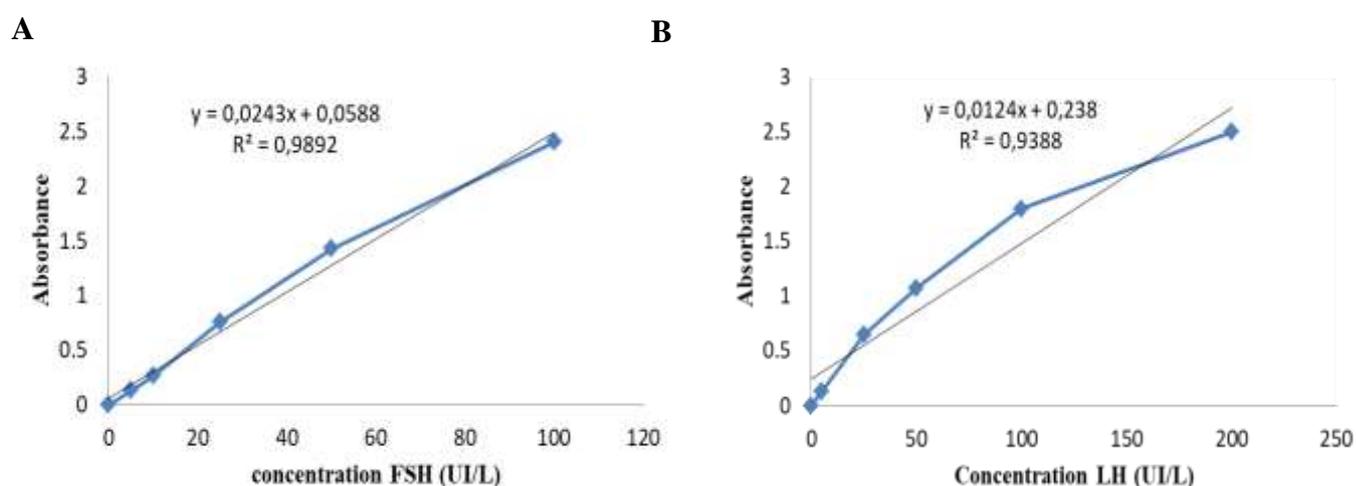


Figure 22 : Courbes d'étalonnages de FSH (A) et de LH (B).

## II.2.4.2.6.2. Dosage de l'œstradiol et de la progestérone

La technique ELISA par compétition utilisée dans le dosage de l'œstradiol et de la progestérone se résume en une fixation compétitive à un nombre limité d'anticorps anti-œstradiol (ou anti-progestérone) immobilisés dans chaque puits. La quantité du conjugué enzymatique hormonal fixée est inversement proportionnelle à la concentration de l'œstradiol (ou de progestérone) dans les échantillons.

Après distribution de 200 µL du conjugué (anticorps de capture biotinylé + anticorps de détection marqué à la peroxydase) dans chaque puits, 25 µL des différents calibrateurs et échantillons y ont été ajoutés (en duplicat). Ensuite la plaque a été couverte d'un feuillet adhésif puis laissée au repos pendant 60 minutes à température ambiante. A la fin de l'incubation les différents puits ont été rincés 3 fois avec 300 µL de tampon de rinçage ou lavage (WASH) et le fluide résiduel a été ôté à l'aide d'un papier absorbant (essuie-tout propre) par inversion de la plaque. Par la suite, 100 µL (pour l'œstradiol) ou 200 µL (pour la progestérone) de chromogène TMB (tétraméthylbenzidine) ont été distribués dans chaque puits, la plaque de microtitration couverte d'un feuillet adhésif, puis incubé pendant 15 minutes à température ambiante. Au terme de cette période, 100 µL de la solution STOP (acide sulfurique 1M) ont été ajoutés à chaque puits pour arrêter la réaction. Après avoir soigneusement mélangé, la lecture de l'absorbance à 450 nm s'est faite dans les 30 minutes qui ont suivi. A partir des absorbances individuelles contre les concentrations des calibrateurs du tableau X, les courbes d'étalonnage obtenues à l'issue du dosage sont présentées sur la figure 18.

**Tableau X:** Dosage de l'œstradiol et de la progestérone

Tube	Calibrateurs						
	A	B	C	D	E	F	G
Concentration d'œstradiol (pg/L)	0	25	100	250	500	1000	2000
Densité optique d'œstradiol	1,971	1,8325	1,0025	0,4645	0,2625	0,156	0,097
Concentration de progestérone (ng/L)	0,00	0,30	1,25	2,50	5,00	15,00	40,00
Densité optique de progestérone	0,885	0,807	0,653	0,555	0,441	0,300	0,201

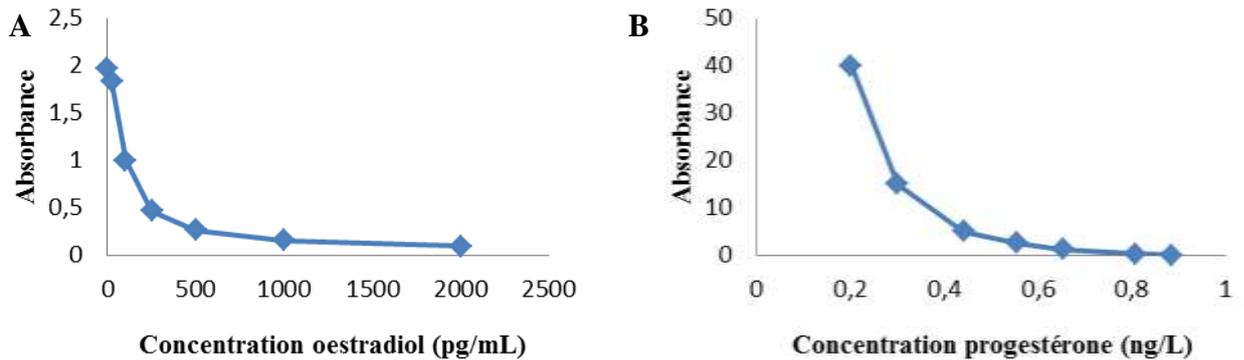


Figure 23 : Courbes d'étalonnages d'œstradiol (A) et de progestérone (B).

## II.2.5. Analyse microscopique des coupes histologiques

L'analyse microscopique s'est effectuée au moyen d'un équipement complet constitué d'un microscope Axioskop 40 avec une caméra reliée à un ordinateur où les images sont transférées et analysées avec les logiciels MRGrab 1.0 et AxioVision 3.1 tous fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne).

### II.2.5.1. Taille des épithéliums

Après une visualisation globale des coupes d'utérus et de vagin, les épithéliums ont été mesurés de la membrane basale à la surface apicale, sur une région représentant approximativement la moyenne de la taille. L'épithélium a été mesuré 10 fois pour une rate et la moyenne des valeurs obtenues exprimée en  $\mu\text{m}$  sur les microphotographies, grâce aux logiciels MRGrab 1.0 et AxioVision 3.1 tous fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne).

### II.2.5.2. Folliculogénèse

L'étude de la folliculogénèse a été réalisée par observation du nombre et de la taille des follicules. L'identification des follicules était basée sur la détection d'un noyau et du type de cellules épithéliales qui l'entoure. Des follicules étaient considérés comme primaires lorsqu'ils étaient composés d'ovocytes entourés d'une seule couche de cellules folliculaires cubiques ; ceux avec plus d'une couche de cellules folliculaires étaient des follicules préantraux (secondaires) ; les follicules antraux quant à eux présentaient un antrum de liquide folliculaire tandis que les follicules de Degraaf étaient ceux présentant un seul grand antrum de liquide folliculaire avec un ovocyte excentré. Les follicules rompus avec des cellules

folliculaires hypertrophiées et une cavité remplie de sang ont été considérés comme des corps jaunes.

## **II.2.6. Investigation phytochimique**

Dans le but d'identifier les métabolites secondaires responsables des activités biologiques observées, une analyse phytochimique des extraits aqueux et méthanolique a été entreprise.

### **II.2.6.1. Solvants et réactifs**

Les solvants utilisés pour le fractionnement, et la CCM (chromatographie sur couche mince) tels que l'hexane, le méthanol et l'acétate d'éthyle ont été obtenus auprès de "VWR International" (West Chester, Pennsylvanie, USA). Ceux utilisés dans la réalisation des profils « Gaz Chromatography coupled to Mass Spectrometry » (GC-MS), « Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry » (LC-MS) et résonance magnétique nucléaire (RMN) tels que le chloroforme (chloroform B&J Brand®) et le méthanol (methanol B&J Brand®) ont été obtenus auprès de Burdick and Jackson® (Honeywell International Inc, Michigan, USA).

### **II.2.6.2. Chromatographie sur colonne et chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince a été effectuée sur des plaques de gel de silice Xtra Sil G/UV254 (ALUGRAM®, Düren, Allemagne). Et la chromatographie sur colonne a été effectuée sur des colonnes de 1 mètre de long et 5 cm de diamètre, et de 50 cm de long et 1cm de diamètre, contenant de la silice 60 (0,063 – 0,2mm) provenant de MACHEREY-NAGEL GmbH&Co. KG (Düren, Allemagne).

Vingt-deux grammes de l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrianthus arboreus* ont été soumis à cette chromatographie sur de gel de silice et élués successivement avec des solvants de polarité croissante (hexane, hexane/acétate d'éthyle, acétate d'éthyle, acétate d'éthyle/méthanol, méthanol). Environ 2453 flacons de 22 mL ont été collectés puis regroupés en 98 (C1-98) fractions sur la base des CCM. Ces fractions ont de nouveau été combinées en 20 fractions (C<sub>1-2</sub>, C<sub>3-7</sub>, C<sub>8-12</sub>, C<sub>13-14</sub>, C<sub>15-23</sub>, C<sub>24-28</sub>, C<sub>29-33</sub>, C<sub>34-36</sub>, C<sub>37-39</sub>, C<sub>40-46</sub>, C<sub>47-50</sub>, C<sub>51-53</sub>, C<sub>54-59</sub>, C<sub>60-73</sub>, C<sub>74</sub>, C<sub>75-83</sub>, C<sub>84</sub>, C<sub>85-92</sub>, C<sub>93-96</sub>, C<sub>97-98</sub>). La fraction combinée C<sub>75-83</sub> a de nouveau été soumise à une chromatographie sur colonne (1 x 50 cm) de gel de silice et élué successivement avec les mêmes solvants sus-cités. Puis les 9 fractions obtenues ont été nommées N1-19 (N<sub>1-3</sub>, N<sub>4-7</sub>, N<sub>8</sub>, N<sub>9</sub>, N<sub>10-14</sub>, N<sub>15-16</sub>, N<sub>17</sub>, N<sub>18</sub>, N<sub>19</sub>). Par la suite, et par comparaison avec la littérature, un des composés purs obtenu, nommé C<sub>13</sub> (issue de la fraction

C<sub>13-14</sub>), a été identifié grâce à des méthodes spectroscopique et spectrométrie couplées au spectre de masse (infra rouge, résonance nucléaire magnétique) (Figure 19). Les composés restants sont en cours d'identification.

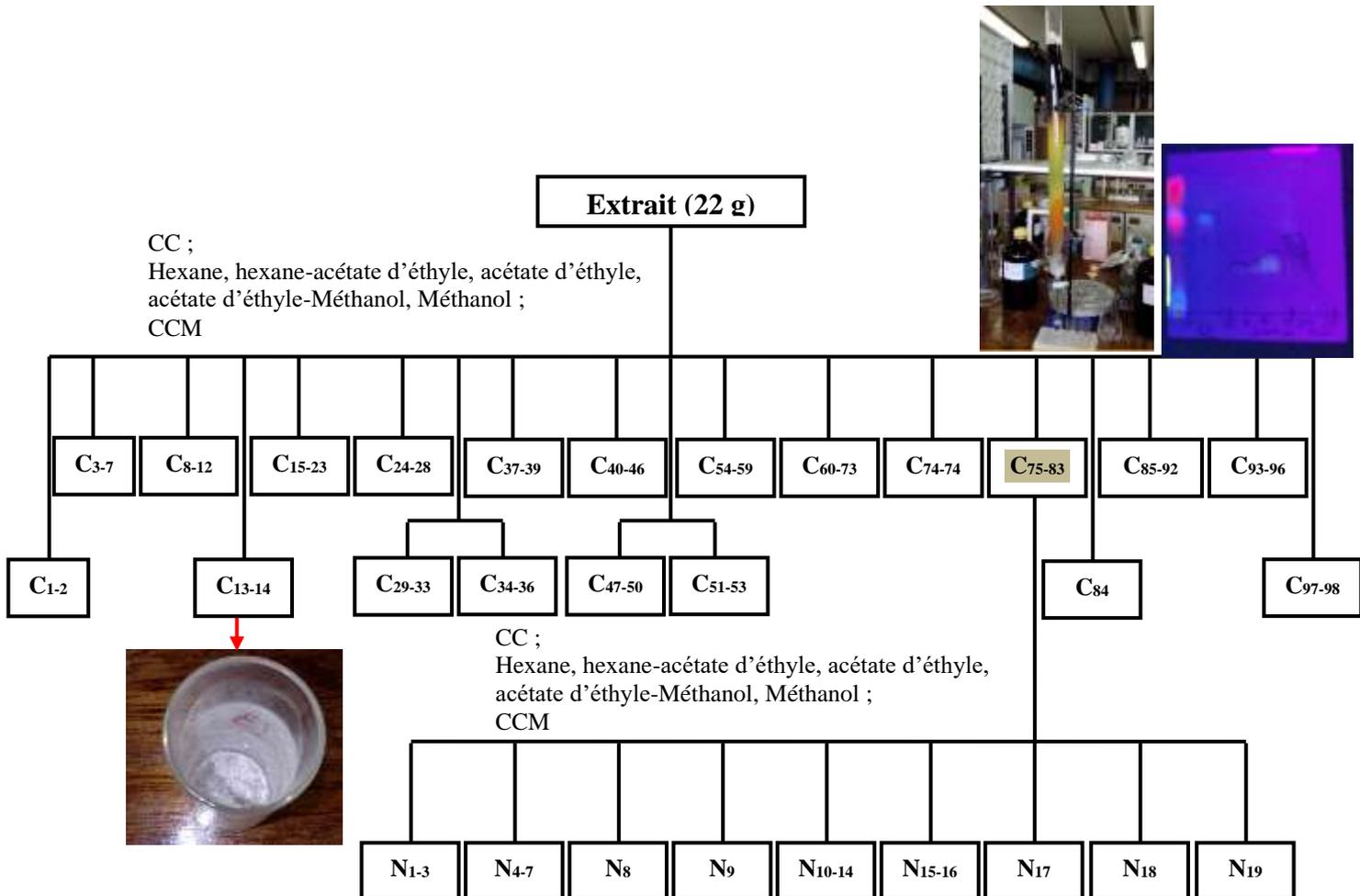


Figure 24 : Protocole de fractionnement de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus*

### II.2.6.3. Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse

Afin de prédire les poids moléculaires des composés majoritaires, une analyse par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS) a été effectuée.

### II.2.6.4. Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse

Dans le but de déterminer les composés volatiles des extraits aqueux et méthanolique et de prédire leurs poids moléculaires et leurs formules brutes, une analyse par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GCxGC-TOF-MS) a été effectuée.

Le profil (GC-MS) a été effectué sur un système constitué d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890A (Agilent Technologies, Inc., Wilmington, Delaware, USA) couplé à un spectromètre de masse LECO Pegasus 4D-CGCxGC-TOFMS (LECO Corporation, St Joseph, MI, USA). Le système de colonne primaire et secondaire utilisé était respectivement : Rxi-5 SilMS (29,5 m × 0,25 mm × 0,25 µm) et Rxi 17 Sil MS (0,95 m × 0,25 mm × 0,25 µm) (Restek, Bellefonte, PA, USA). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur. L'alignement du temps de rétention, la filtration appariée, la détection des pics et l'appariement des pics ont été effectués à l'aide du logiciel ChromaTOF (LECO, St Joseph, MI, USA).

Les échantillons ont été dissous dans du méthanol pour une concentration de 1mg/mL. Le volume d'injection était de 10 µL et le débit de 1 mL/min, le débit de l'hélium était constant (1 ml/min) et à une température d'entrée de 250 °C. La température initiale du four a été réglée à 40°C et maintenue pendant 30 secondes, ensuite a progressivement augmenté de 10 °C/60 secondes jusqu'à 300 °C puis a été maintenue pendant 30 secondes à 250 °C. Le modulateur et le four secondaire ont fonctionné à une température de décalage de 5°C au-dessus du four primaire. Le spectromètre de masse a été mis en place dans les conditions suivantes : retard au solvant de 180 secondes ; température de ligne de transfert à 300 °C ; ionisation d'électrons à -70eV ; température de la source à 250°C ; gamme de masse stockée : 45-600 u ; taux d'acquisition : 10 spectres/sec pour GC-TOF-MS ; la tension du détecteur a été réglée à 1650 V. L'alignement du temps de rétention, la filtration appariée, la détection des pics et l'appariement des pics ont été effectués grâce au logiciel ChromaTOF. L'identification subséquente des composés a été faite par comparaison avec les bases de données du spectre de masse (NIST, Adams and EO libraries) et leurs probables formules brutes ont été déterminés. Une semi-quantification de chaque composé a été calculée sur la base des zones de pics et la concentration relative présentée en %.

## **II.2.7. Analyse statistique**

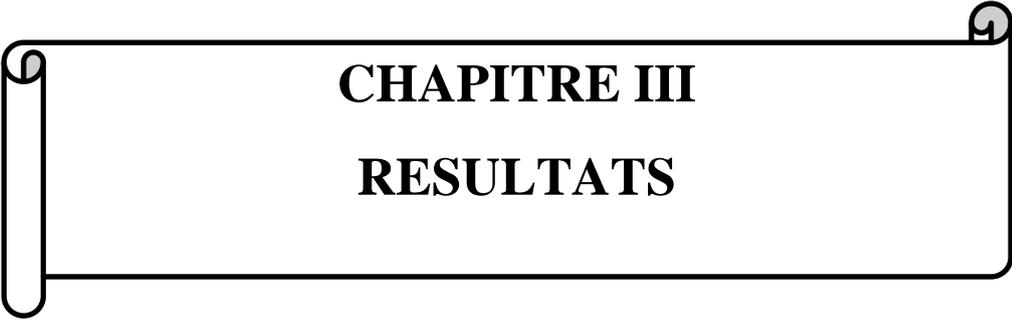
Toutes les données présentées dans ce travail sont exprimées sous forme de moyenne ± erreur standard sur la moyenne (ESM).

La significativité de la différence entre le témoin et les animaux traités dans les tests de maturation sexuelle, de comportement sexuel et les tests d'oestrogénicité a été déterminée par le test d'analyse de la variance (one-way ANOVA) suivi du post-test de Dunnett.

Exception faite sur l'analyse du pourcentage de rates avec ouverture vaginale qui a été effectuée par l'analyse des variances (two-way ANOVA) suivi du test de Bonferroni ; et l'analyse de l'index de fertilité et du taux de gestation, qui a été effectuée par le test de Fisher exact.

La significativité de la différence entre les animaux témoins et les animaux traités dans le test de toxicité et de gestation a été déterminée par le test non paramétrique U de Mann-Whitney.

Les valeurs de « p » ont permis de déterminer le degré de significativité. Il a été fixé à  $p < 0,05$ .



**CHAPITRE III**  
**RESULTATS**

### III.1. EFFETS DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE *Myrianthus arboreus* SUR LA MATURATION SEXUELLE, L'INDEX DE FERTILITE ET LE TAUX DE GESTATION CHEZ DES RATES

#### III.1.1. Effets sur le poids corporel

La figure 20 illustre l'évolution du poids corporel des animaux durant les 30 jours de traitement. Du jour-1 au jour-30, le poids corporel des animaux a graduellement augmenté. A partir du jour-16 jusqu'à la fin de l'expérimentation, l'alimentation comprenant 14% de protéine de soja a significativement ( $p < 0,01$ ) augmenté le poids corporel des animaux de 23,01% (au jour-16), 44,91% (au jour-22), 48,69% (au jour-25), 50,82% (au jour-28) et de 54,88 % (au jour-30), comparé au Témoin. L'administration des extraits de *M. arboreus* n'a eu aucun effet sur le poids des animaux.

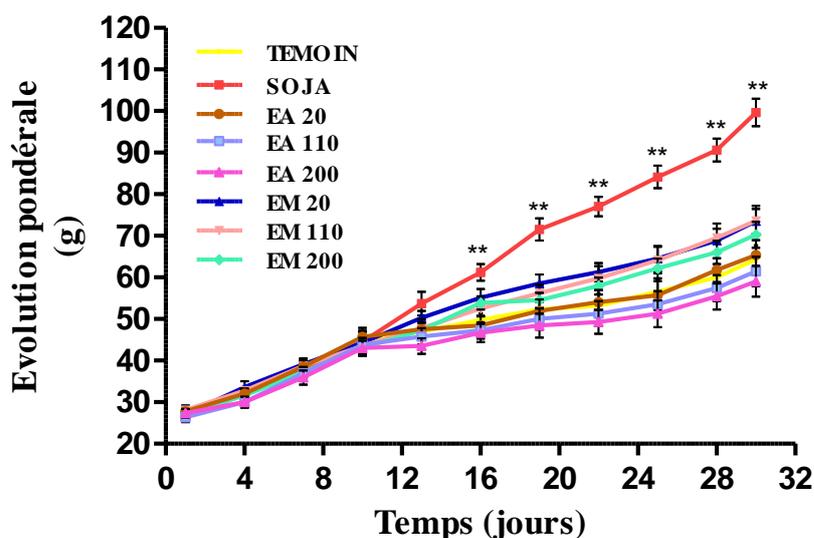


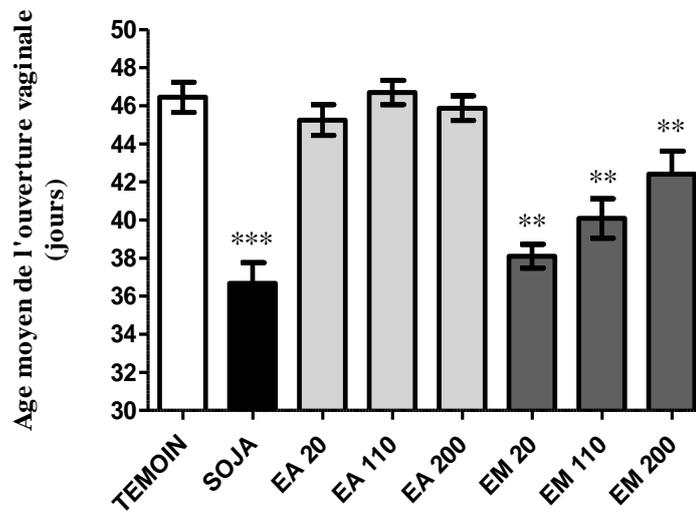
Figure 25 : Poids corporel des animaux pendant 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = animaux traités avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 12). \*\*:  $p < 0,01$  contre TEMOIN.

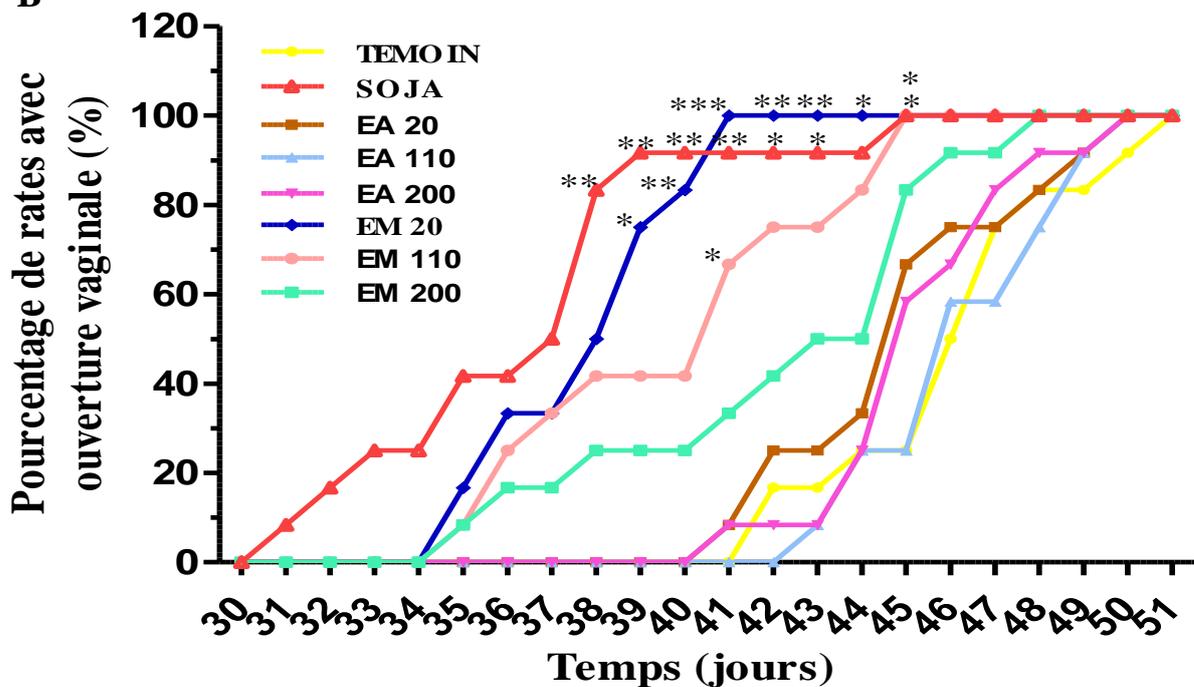
#### III.1.2. Effets sur l'ouverture vaginale

Les résultats sur l'âge moyen des animaux à l'ouverture vaginale et le pourcentage des rates présentant une ouverture vaginale à un âge donné sont illustrés sur la figure 21. Cette ouverture vaginale est survenue 10 jours plus tôt chez les animaux ayant reçu une alimentation contenant du soja ( $35,90 \pm 0,80$  jours contre  $46,44 \pm 0,78$  jours chez le TEMOIN;  $p < 0,001$ ); tandis qu'avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* administré aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC, l'ouverture vaginale est survenue respectivement 8, 6 et 4 jours plus tôt chez les animaux traités comparés au groupe TEMOIN (Figure 21 A). Environ 83,33% des rates nourries avec un régime contenant du soja ont eu une ouverture vaginale au jour 38 ( $p < 0,01$ ) par comparaison au groupe TEMOIN où aucun cas d'ouverture vaginale n'a été observé ce jour. A cette même période, l'extrait méthanolique de *M. arboreus* a eu un effet dose-dépendant, en augmentant le pourcentage de rates ayant une ouverture vaginale de 50%, 41% et 25% aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC, respectivement. Cependant l'effet de l'extrait méthanolique de *M. arboreus* (20 mg/kg PC) a surpassé celui de l'aliment contenant du soja au 41ème jour où 100% des rates ont une ouverture vaginale. Dans le groupe traité avec l'extrait aqueux de *M. arboreus*, l'ouverture vaginale s'est produite plus tard, soit à partir du jour 41, et seulement 90% des rates ont eu une ouverture vaginale au jour 49 (Figure 21 B).

A



B



**Figure 26 :** Age moyen des animaux à l'ouverture vaginale (A) et pourcentage d'animaux présentant une ouverture vaginale à un âge donné (B) pendant 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = animaux traités avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 12). \*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01; \*\*\*: p < 0,001 contre TEMOIN.

### III.1.3. Effets sur le poids relatif et les concentrations de protéines des ovaires et de l'utérus

Le poids relatif des ovaires (Figure 22 A) a augmenté de 55,15% chez les animaux nourris avec le régime contenant du soja ( $625,46 \pm 26,16$  mg/kg contre  $403,12 \pm 19,84$  mg/kg chez le TEMOIN;  $p < 0,001$ ), tandis que l'extrait aqueux de *M. arboreus* a augmenté ( $p < 0,01$ ) ce paramètre aux doses de 20 mg/kg PC ( $557,25 \pm 10,69$  mg/kg) et 110 mg/kg PC ( $504,43 \pm 19,91$  mg/kg). L'extrait méthanolique quant à lui, l'a augmenté d'environ 35% ( $p < 0,001$ ) à toutes les doses testées.

En ce qui concerne l'utérus, seul l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20 et 110 mg/kg PC a augmenté ( $p < 0,05$ ) le poids relatif de l'utérus. Les valeurs sont passées de  $602,01 \pm 114,41$  mg/kg chez le TEMOIN à  $1169,37 \pm 94,47$  mg/kg et  $1028,03 \pm 65,77$  mg/kg respectivement dans les groupes traités. Cet effet utérotrophique a également été observé chez des animaux nourris avec l'alimentation contenant du soja (augmentation de 2,12 fois,  $p < 0,001$ ) (Figure 22 B).

Le taux de protéines totales ovariennes a augmenté significativement ( $p < 0,01$ ) chez les animaux nourris avec l'aliment contenant du soja ( $0,045 \pm 0,003$  mg/dL) comparés aux animaux du groupe TEMOIN ( $0,018 \pm 0,003$  mg/dL). Après traitement, seul l'extrait méthanolique de *M. arboreus* a augmenté significativement ( $p < 0,01$ ) ce paramètre à toutes les doses testées, soient aux doses de 20 mg/kg PC ( $0,073 \pm 0,004$  mg/dL), 110 mg/kg PC ( $0,048 \pm 0,007$  mg/dL) et 200 mg/kg PC ( $0,060 \pm 0,003$  mg/dL) (Figure 22 C).

L'alimentation contenant du soja a augmenté ( $p < 0,001$ ) le taux de protéines totales utérines. Cette valeur est passée de  $0,038 \pm 0,008$  mg/dL chez le TEMOIN, à  $0,140 \pm 0,012$  mg/dL chez le groupe Soja. Les extraits de *M. arboreus* n'ont pas significativement affecté ce paramètre (Figure 22 D).

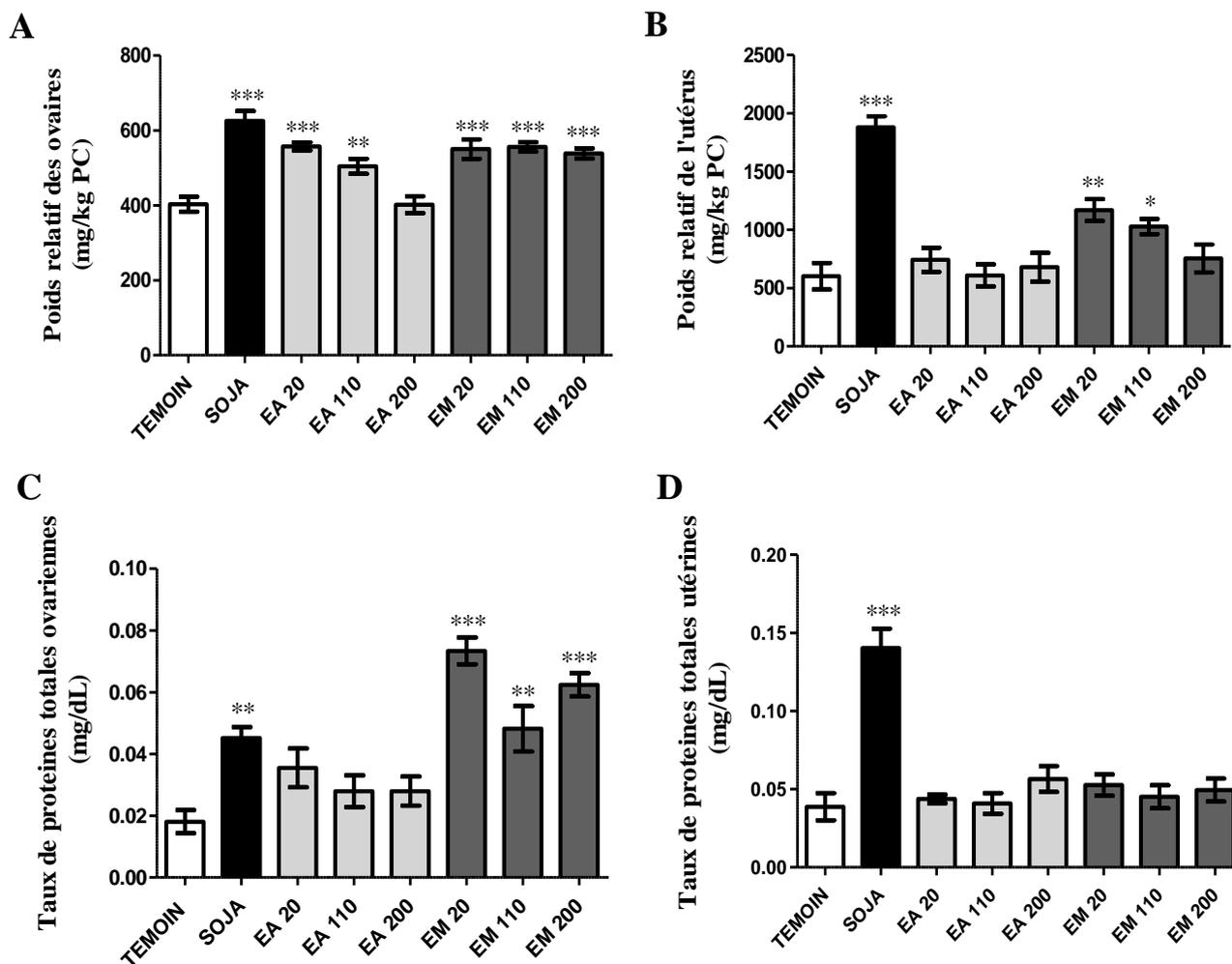


Figure 27 : Poids relatif des ovaires (A) et de l'utérus (B) ; taux de protéines totales ovariennes (C) et utérines (D) après 30 jours de traitement.

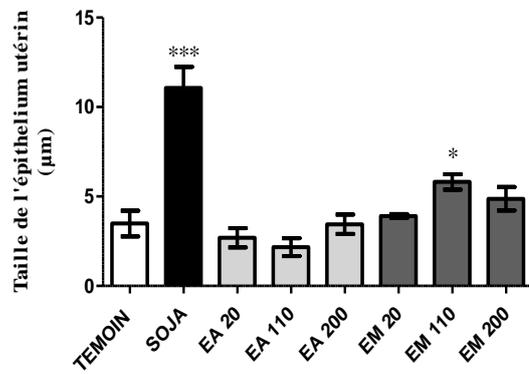
TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = animaux traités avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 12). \*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01; \*\*\*: p < 0,001 contre TEMOIN.

### III.1.4. Effets sur la taille de l'épithélium utérin

Après 30 jours de traitement, l'extrait méthanolique de *M. arboreus* (110 mg/kg PC) et l'alimentation contenant du soja ont augmenté la taille de l'épithélium utérin respectivement de 121,55% (p < 0,05) et 321,72% (p < 0,001) par comparaison au groupe témoin ( $3,49 \pm 0,71 \mu\text{m}$ ) (Figure 23 A). Sur les microphotographies (Figure 23 B), les uteri du groupe témoin et ceux ayant reçu l'extrait aqueux de *M. arboreus* ont présenté une mince couche de cellules cubiques tandis que cet épithélium dans les groupes des animaux nourris avec une alimentation contenant du soja et ceux traités avec l'extrait méthanolique (110 mg/kg PC)

s'est transformé en cellules cylindriques. Le stroma des animaux témoins et ceux traités avec l'extrait aqueux (toutes les doses) et au méthanol (20 mg/kg PC) est relativement indifférencié, tandis que dans les groupes SOJA et EM 110 et 200, il est différencié.

**A**



**B**

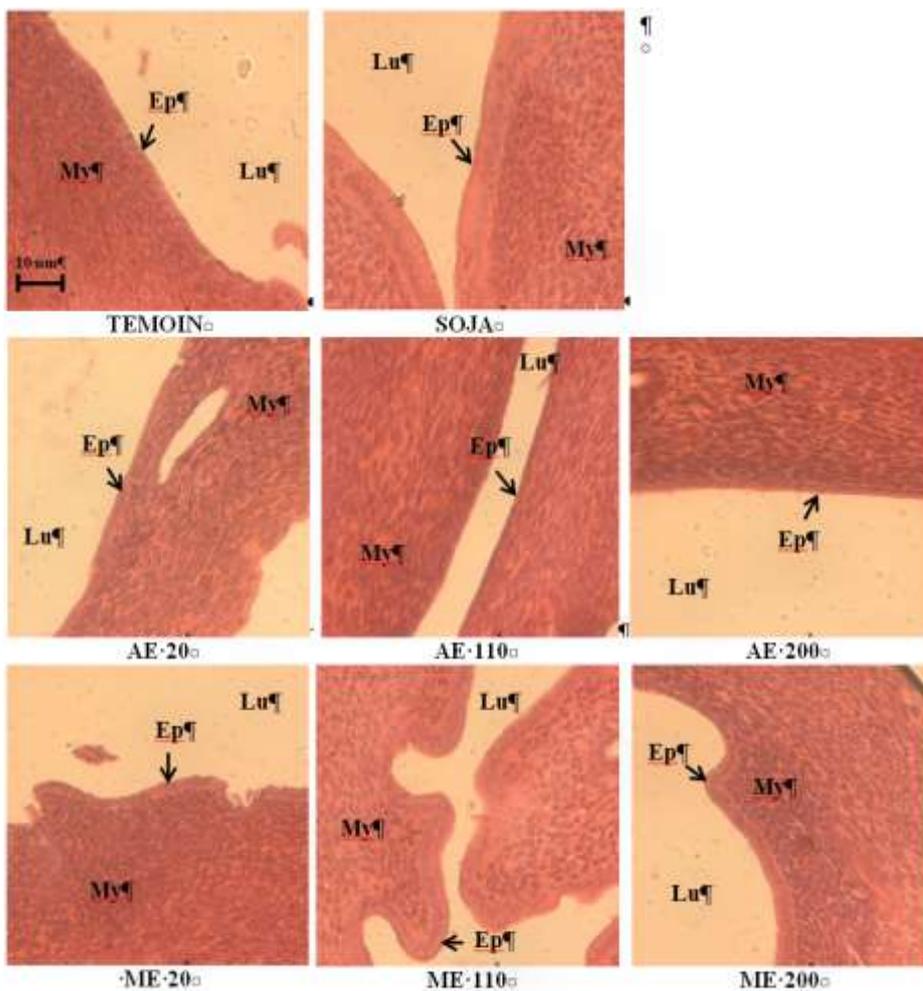


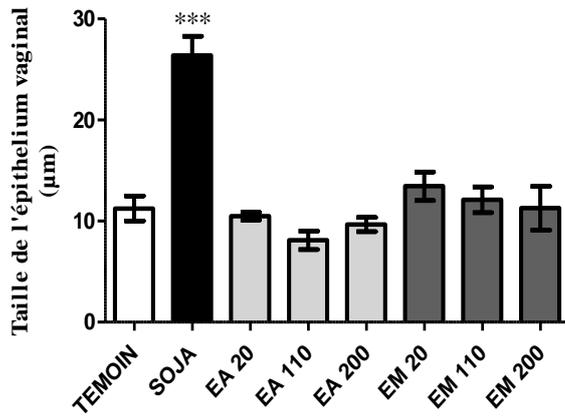
Figure 28 : Représentation graphique de la taille des épithélia utérins (A) et microphotographies (B) (hématoxyline-éosine, 400X) de coupe histologique d'utérus après 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = animaux traités avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Lu = lumière ; Ep = épithélium ou endomètre ; My = myomètre ; Ed = œdème. Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*: p < 0,05; \*\*\*: p < 0,001 contre TEMOIN.

### III.1.5. Effets sur la taille de l'épithélium vaginal

Les figures 24 A et 24 B représentent la taille de l'épithélium vaginal. Cet épithélium n'a augmenté significativement que chez les animaux nourris avec l'alimentation contenant du soja (134,55% ; p < 0,001) par rapport à la valeur du groupe TEMOIN ( $11,24 \pm 1,23 \mu\text{m}$ ). A l'exception du groupe SOJA, qui possède une couche supplémentaire (la couche granuleuse), l'épithélium de tous les animaux traités est constitué d'une seule couche de cellules pavimenteuses, la couche germinative, ceci en comparaison avec celle du TEMOIN (Figure 24 B).

**A**



**B**

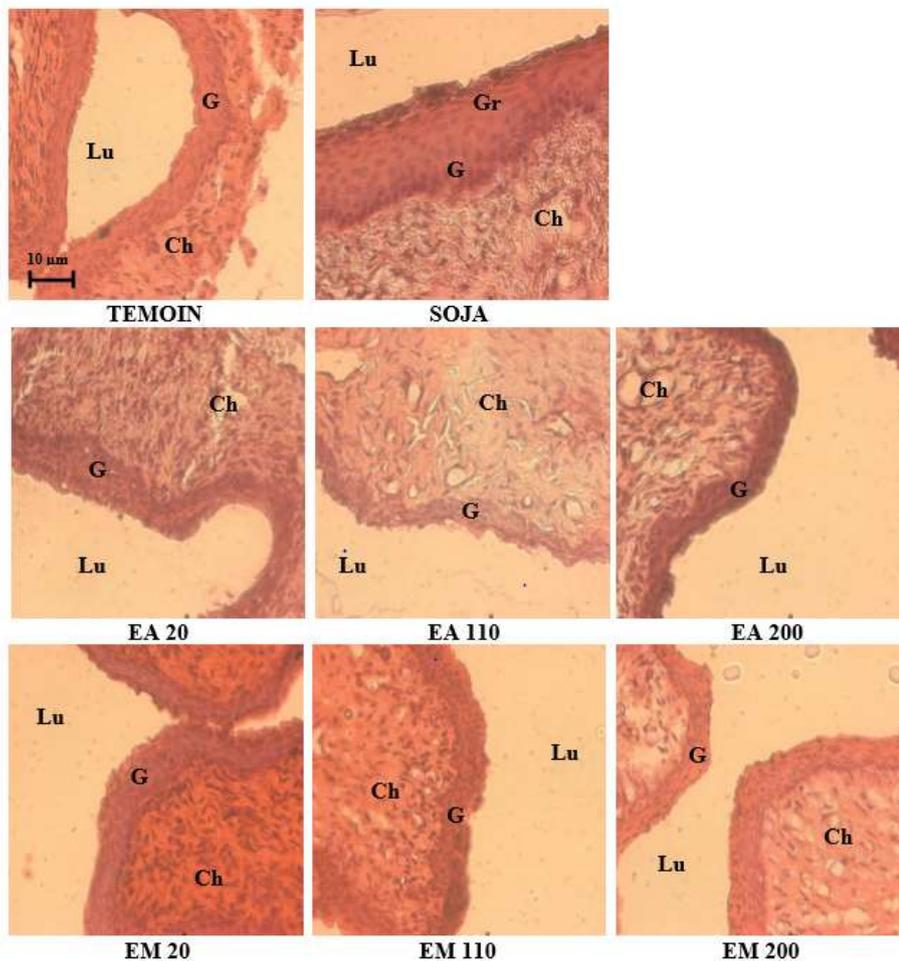


Figure 29 : Représentation graphique de la taille des épithélia vaginaux (A) et microphotographies (B) (hématoxyline-éosine, 400X) de coupe histologique du vagin après 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = extrait méthanolique de *M.*

*arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Lu = lumière ; Gr = couche granuleuse ; G = couche germinative ; Ch = chorion ; Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*\*\*: p < 0,001 contre TEMOIN.

### III.1.6. Effets sur les follicules ovariens

Les résultats consignés dans le tableau XI et la figure 25 représentent l'effet de 30 jours de traitement sur la folliculogénèse. Ces résultats montrent que l'alimentation au soja a augmenté le nombre de follicules. Cette augmentation n'est cependant significative que pour le nombre de follicules de DeGraaf et de corps jaunes (p < 0,05). Une augmentation significative a également été observée avec le traitement à l'extrait aqueux de *M. arboreus* (200 mg/kg PC ; p < 0,01) sur le nombre de follicules de DeGraaf, et à l'extrait méthanolique (110 mg/kg PC ; p < 0,05) sur le nombre de follicules antraux et de corps jaunes.

**Tableau XI:** Effets des extraits aqueux et au méthanol des feuilles de *M. arboreus* sur la croissance et la maturation des follicules ovariens chez des rates immatures.

Types de Follicules	TEMOIN	SOJA	Extrait aqueux de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Extrait méthanolique de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)		
			EA 20	EA 110	EA 200	EM 20	EM 110	EM 200
<b>Follicules Primaires</b>	5,00 ± 0,83	7,00 ± 0,54	5,40 ± 0,92	5,20 ± 0,48	6,80 ± 0,86	8,00 ± 1,14	5,80 ± 0,37	6,20 ± 0,73
<b>Follicules Préantraux</b>	9,00 ± 2,12	15,40 ± 2,89	14,20 ± 3,08	17,60 ± 2,22	12,60 ± 1,28	16,00 ± 3,11	15,00 ± 2,81	15,40 ± 5,51
<b>Follicules Antraux</b>	1,60 ± 0,24	2,40 ± 0,40	1,80 ± 1,11	0,80 ± 0,37	1,60 ± 0,67	3,40 ± 0,67	4,4 ± 0,74*	2,40 ± 0,50
<b>Follicules de DeGraaf</b>	0,40 ± 0,24	2,00 ± 0,31**	1,00 ± 0,31	0,60 ± 0,24	2,00 ± 0,31**	1,00 ± 0,31	1,40 ± 0,24	1,00 ± 0,31
<b>Corps jaunes</b>	0,60 ± 0,40	3,60 ± 0,87*	1,80 ± 0,86	0,50 ± 0,22	1,40 ± 0,67	1,40 ± 0,50	3,00 ± 0,89*	1,80 ± 0,20

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris au soja et recevant de l'eau distillée ; EA = animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = animaux traités avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01 vs TEMOIN.

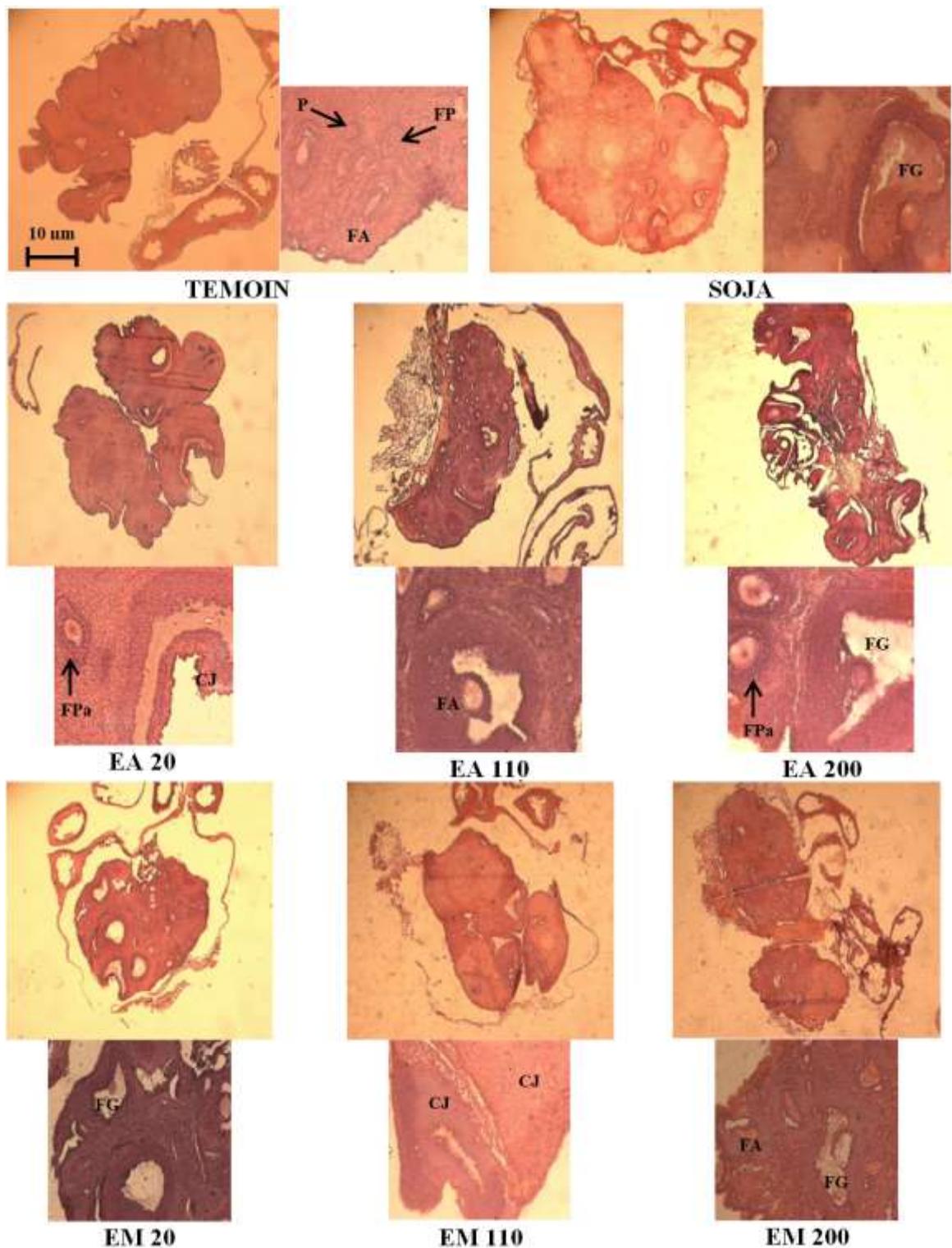


Figure 30 : Microphotographies (hématoxyline-éosine, 25X et 200X) de coupe histologique d'ovaires après 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. P: follicule primaire; FPa: follicule pre-antral; FA: follicule antral ; FG : follicule de DeGraaf ; CJ: Corps jaune (n = 5).

### III.1.7. Effets sur les concentrations de cholestérol total sérique et ovarien

Les résultats présentés sur la figure 26 A montrent que le cholestérol total sérique n'a pas été affecté par les traitements et l'alimentation contenant du soja. Par ailleurs, dans les ovaires, le cholestérol total a diminué de 61,97% chez les animaux nourris avec la diète standard contenant du soja ( $p < 0,05$ ) comparé au TEMOIN ( $5,95 \pm 0,95$  mg/dL) dont l'alimentation en était dépourvue (Figure 26 B). Une diminution de 58,33% ( $p < 0,05$ ) a également été observée après le traitement avec l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20 et 110 mg/kg PC.

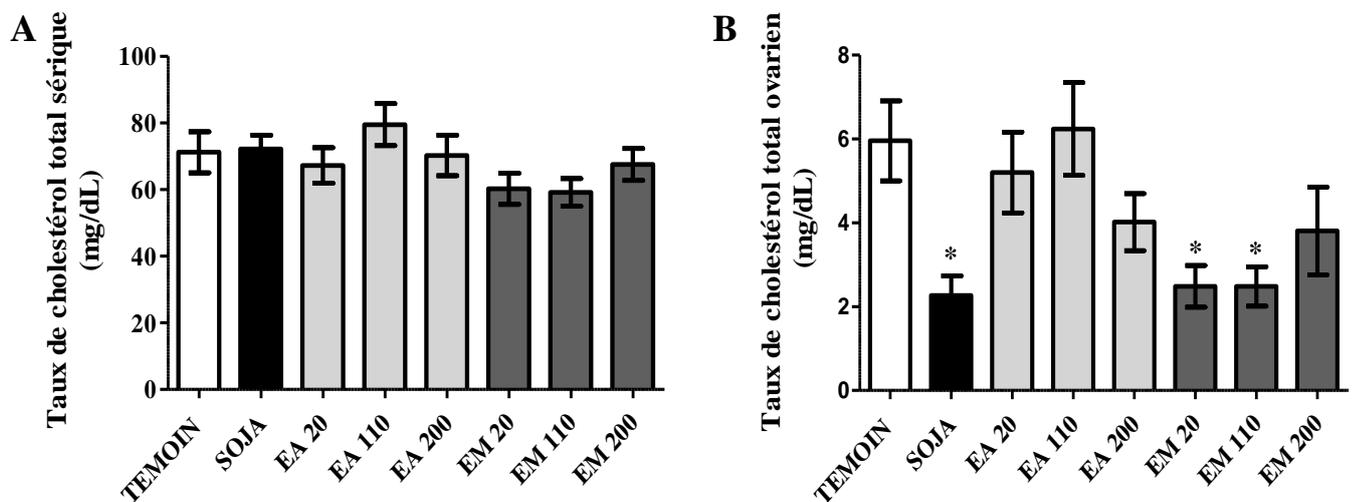


Figure 31 : Taux de cholestérol total sérique (A) et ovarien (B) après 30 jours de traitement.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 5$ ). \*:  $p < 0,05$  contre TEMOIN.

### III.1.8. Effets sur les concentrations en gonadotrophines

Après 30 jours de traitement, les taux sériques de LH ont significativement augmenté avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC (0,34%,  $p < 0,01$ ) par comparaison au groupe TEMOIN ( $0,121 \pm 3,992$  UI/L) (Figure 27 A). Une augmentation similaire a été observée avec l'extrait méthanolique aux doses de 20 mg/kg PC (0,52% d'induction,  $p < 0,001$ ) et 110 mg/kg PC (0,24% d'induction,  $p < 0,05$ ).

Par comparaison au groupe témoin ( $1,44 \pm 0,15$  UI/L), les taux sériques de FSH ont également augmenté après les traitements. Une augmentation significative a été observée chez

les animaux nourris avec l'alimentation contenant du soja (76,47% ;  $p < 0,001$ ), et chez ceux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC (64,11% d'induction ;  $p < 0,01$ ), et l'extrait méthanolique à la dose de 110 mg/kg PC (60,99% d'induction,  $p < 0,01$ ) (Figure 27 B).

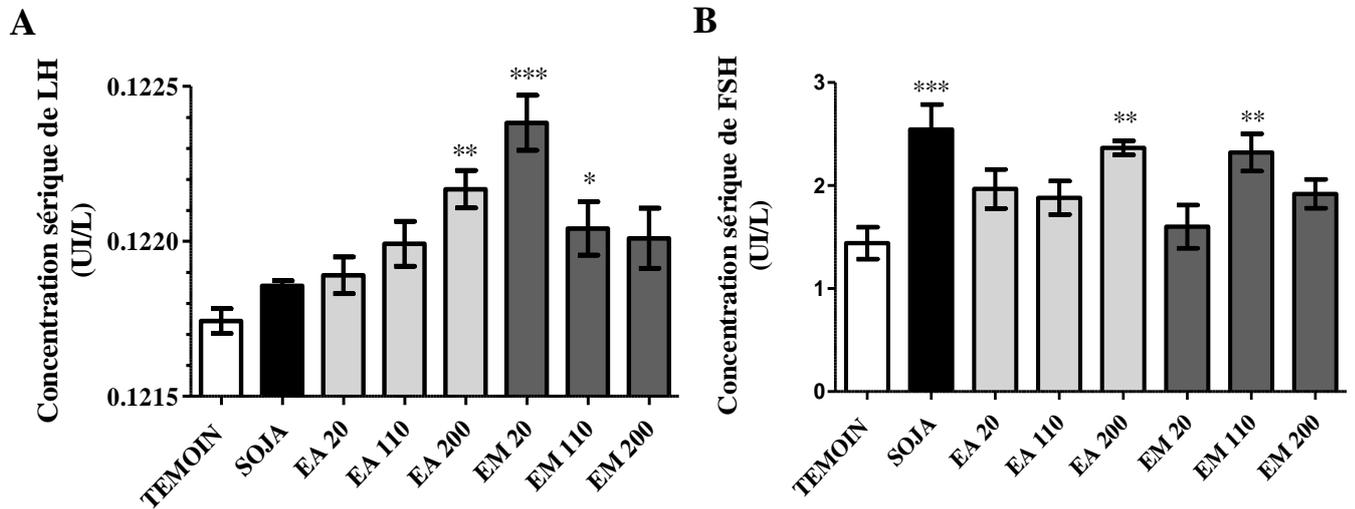


Figure 32 : Concentrations sériques de LH (A) et de FSH (B) après 30 jours de traitement.

**TEMOIN** = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; **SOJA** = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; **EA** = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; **EM** = extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$  contre TEMOIN.

### III.1.9. Effets sur les concentrations en stéroïdes sexuels (œstrogènes et progestérone)

Comme présenté sur la figure 28 A, en référence au groupe témoin ( $0,00 \pm 0,00$  pg/mL), une augmentation significative des taux sériques d'œstradiol a été observée chez des animaux nourris avec l'aliment contenant du soja ( $1,86 \pm 0,51$  pg/mL ;  $p < 0,01$ ). De même, une augmentation dose-dépendante de ce paramètre a été observée suite à l'administration de l'extrait méthanolique de *M. arboreus*, ceci avec des variations significatives ( $p < 0,01$ ) aux doses de 110 mg/kg PC ( $2,43 \pm 0,69$  pg/mL) et 200 mg/kg PC ( $13,57 \pm 0,56$  pg/mL).

Concernant les taux sériques de progestérone, le résultat présenté sur la figure 28 B montre que ce paramètre a significativement augmenté ( $p < 0,05$ ) chez les animaux ayant reçu l'aliment contenant du soja. Cette valeur est passée de  $0,59 \pm 0,12$  ng/mL chez le TEMOIN à

2,05 ± 0,32 ng/mL chez le groupe SOJA ; tandis qu'une réponse de type « hormesis » a été obtenue avec l'extrait aqueux de *M. arboreus*. Cet extrait a augmenté les concentrations sériques de progestérone aux doses de 20 mg/kg PC (481,42% ; p < 0,01) et 200 mg/kg PC (433,82% ; p < 0,01) tout en diminuant ce paramètre à 110 mg/kg PC. En revanche, l'extrait méthanolique de *M. arboreus* a eu un effet dose-dépendant en augmentant les taux sériques de progestérone de 159,72% (20 mg/kg PC), 327,05% (110 mg/kg PC ; p < 0,05) et 372,51% (200 mg/kg ; p < 0,05).

**A**

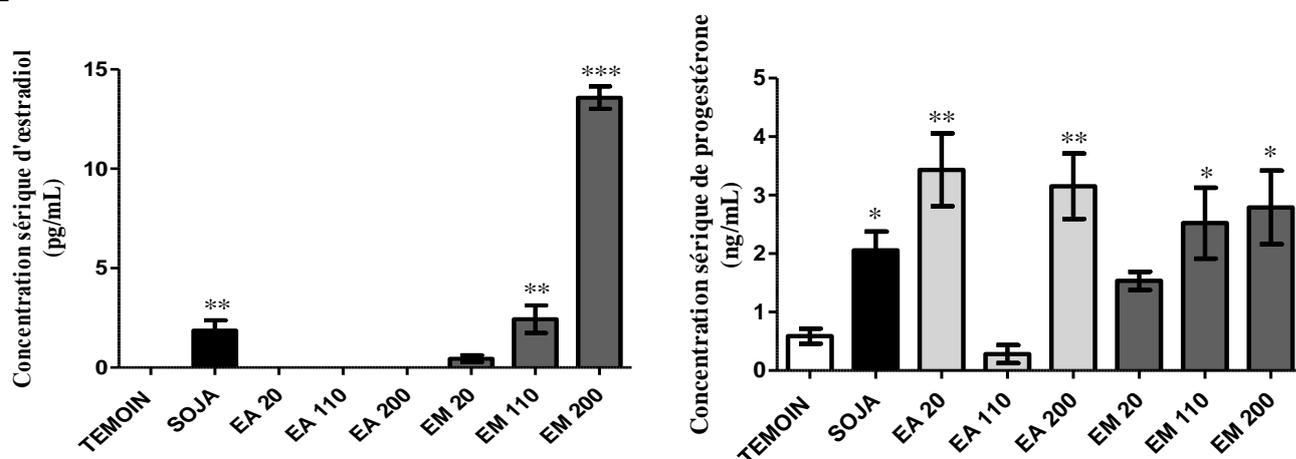


Figure 33 : Concentrations sériques d'œstradiol (A) et de progestérone (B) après 30 jours de traitement. (n = 5).

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01 contre TEMOIN.

### III.1.10. Effets sur la fertilité et la gestation

Le tableau XII montre les effets des traitements sur les paramètres de fertilité et de gestation après 30 jours de traitement. De manière générale, l'index de fertilité a augmenté avec les traitements. Cet index est de 100% chez les animaux nourris avec l'alimentation contenant du soja, et supérieur à 50% chez ceux traités avec l'extrait aqueux (110 mg/kg PC) et méthanolique (20 et 110 mg/kg PC) des feuilles de *M. arboreus*. En ce qui concerne le taux de gestation, les valeurs les plus faibles ont été observées seulement à la dose de 200 mg/kg PC aussi bien avec l'extrait aqueux (42, 85%) qu'avec l'extrait méthanolique (33,33%).

**Tableau XII:** Effets des extraits aqueux et méthanolique de *M. arboreus* sur l'index de fertilité et le taux de gestation.

Groupes expérimentaux	Index de fertilité (%)	Taux de gestation (%)
TEMOIN (Eau distillée 10 mL/kg)	14,28	100
SOJA (Eau distillée 10 mL/kg, alimenté au soja)	100	100
EA 20 (Extrait aqueux 20 mg/kg)	28,57	100
EA 110 (Extrait aqueux 110 mg/kg)	57,14	100
EA 200 (Extrait aqueux 200 mg/kg)	28,57	50
EM 20 (Extrait méthanolique 20 mg/kg)	71,42	100
EM 110 (Extrait méthanolique 110 mg/kg)	71,42	100
EM 200 (Extrait méthanolique 200 mg/kg)	42,85	33,33

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; SOJA = animaux nourris à l'aliment contenant du soja ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC) ; EA = extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC ; EM = extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 7).

### III.2. EFFETS DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE *M. arboreus* SUR LES PARAMETRES DE GESTATION CHEZ DES RATES

Au bout d'un cycle œstral (4 à 5 jours), la fécondation a été effective chez toutes les femelles ayant cohabité avec des mâles de fertilité prouvée, soit un index de fertilité de 100% pour tous les groupes traités (Tableau XIII). Seul l'extrait méthanolique, aux doses élevées (110 et 200 mg/kg PC) a baissé l'index de gestation, cette valeur est passée de 100% chez le témoin à 83,33% chez les animaux traités.

Les animaux ayant reçus l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 110 et 200 mg/kg PC, en plus d'avoir un index d'implantation comparable à celui du groupe TEMOIN, n'ont présenté aucune résorption ni perte de fœtus après implantation ( $0,00 \pm 0,00$  %). Une baisse ( $p \leq 0,05$ ) de l'index d'implantation ( $88,61 \pm 4,27$  %) et une perte significative de fœtus avant implantation ( $11,38 \pm 4,27$ ) ont cependant été observée à la plus petite dose de 20 mg/kg PC, contre  $100,00 \pm 0,00$  % et  $0,00 \pm 0,00$  % respectivement chez le témoin.

Concernant l'extrait méthanolique, en dehors de l'augmentation ( $p \leq 0,01$ ) du nombre de corps jaunes (110 et 200 mg/kg PC respectivement de  $9,32 \pm 0,70$  et de  $10,14 \pm 0,67$ ) et de sites d'implantation (200 mg/kg PC ;  $9,83 \pm 0,50$ ), contre  $7,57 \pm 0,29$  chez le témoin, son administration à la dose de 200 mg/kg a été associée à une perte de fœtus après implantation ( $37,19 \pm 12,96\%$ ), à une augmentation ( $p \leq 0,05$ ) du nombre de résorption ( $2,16 \pm 0,73$ ) et de l'index de résorption ( $26,25 \pm 10,60\%$ ) comparé au groupe TEMOIN ( $3,37 \pm 2,18\%$  ;  $0,28 \pm 0,18$  et  $3,37 \pm 2,18\%$  respectivement).

L'alimentation contenant du soja a significativement ( $p \leq 0,05$ ) augmenté le nombre de corps jaunes ( $8,77 \pm 0,42$ ) et réduit l'index d'implantation ( $89,12 \pm 5,11\%$  contre  $100,00 \pm 0,00\%$  chez le témoin).

Tous ces traitements n'ont eu aucun effet significatif sur le nombre de fœtus vivants à la naissance et le poids corporel des fœtus à la naissance.

**Tableau XIII:** Effet des extraits aqueux et méthanolique de *Myrianthus arboreus* avant le coït et pendant la gestation.

Paramètres	TEMOIN	SOJA	Extrait aqueux			Extrait méthanolique		
			de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)		
			EA 20	EA 110	EA 200	EM 20	EM 110	EM 200
<b>Index de fertilité (%)</b>	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>Taux de gestation (%)</b>	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	83,33	83,33
<b>Nombre de corps jaunes</b>	7,57 ± 0,29	8,77 ± 0,42*	8,71 ± 0,60	7,57 ± 0,57	8,66 ± 0,56	7,31 ± 0,28	9,32 ± 0,70*	10,14 ± 0,67**
<b>Perte avant implantation (%)</b>	0,00 ± 0,00	9,02 ± 0,29	11,38 ± 4,27*	3,62 ± 2,36	3,93 ± 2,10	9,69 ± 4,84	9,69 ± 5,95	10,25 ± 6,42
<b>Index d'implantation (%)</b>	100,00 ± 0,00	89,12 ± 5,11*	88,61 ± 4,27*	96,37 ± 2,36	96,06 ± 2,10	91,89 ± 5,58	90,30 ± 5,95	89,74 ± 6,42
<b>Nombre de sites d'implantation</b>	7,57 ± 0,29	8,66 ± 0,89	7,71 ± 0,68	7,28 ± 0,56	8,33 ± 0,60	7,00 ± 1,13	8,85 ± 0,76	9,83 ± 0,50**
<b>Perte après implantation (%)</b>	3,37 ± 2,18	24,28 ± 14,11	5,56 ± 3,26	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	16,54 ± 8,94	26,19 ± 14,75	37,19 ± 12,96*
<b>Nombre de sites de résorption</b>	0,28 ± 0,18	0,71 ± 0,47	0,28 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,57 ± 0,29	1,66 ± 1,40	2,16 ± 0,73*
<b>Index de résorption (%)</b>	3,37 ± 2,18	10,00 ± 6,54	3,57 ± 3,57	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	13,69 ± 9,21	14,28 ± 14,28	26,25 ± 10,60*
<b>Nombre de fœtus vivants</b>	6,28 ± 1,06	7,00 ± 0,84	5,57 ± 1,30	7,50 ± 0,52	8,33 ± 0,60	5,71 ± 0,99	5,83 ± 1,33	5,55 ± 0,96
<b>Poids corporel des fœtus (g)</b>	4,75 ± 0,11	5,17 ± 0,29	4,61 ± 0,17	4,85 ± 0,28	4,52 ± 0,17	4,99 ± 0,25	4,38 ± 0,09	4,65 ± 0,17

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 7). \*: p < 0,05 ; \*\*: p < 0,01 contre TEMOIN.

### III.3. EFFETS ŒSTROGENIQUES DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE *Myrianthus arboreus* CHEZ DES RATES

#### III.3.1. Effets sur l'utérus

##### III.3.1.1. Effets sur le poids relatif de l'utérus

Le résultat présenté sur la figure 29 montre les effets de l'ovariectomie et des traitements sur le poids relatif de l'utérus après 3 jours de traitement. Il ressort de cette figure que l'ovariectomie a induite une diminution significative ( $p < 0,01$ ) du poids relatif de l'utérus. Il est passé de  $1085,28 \pm 205,44$  mg/kg chez les animaux non ovariectomisés (SHAM) à  $301,15 \pm 30,71$  mg/kg chez le témoin négatif (OVX), soit une diminution de 72,25%. Après traitement, l'E<sub>2</sub>V a augmenté le poids relatif de l'utérus de 80,76% ( $p < 0,001$ ). Les extraits de *M. arboreus* n'ont induit aucun effet aux doses testées.

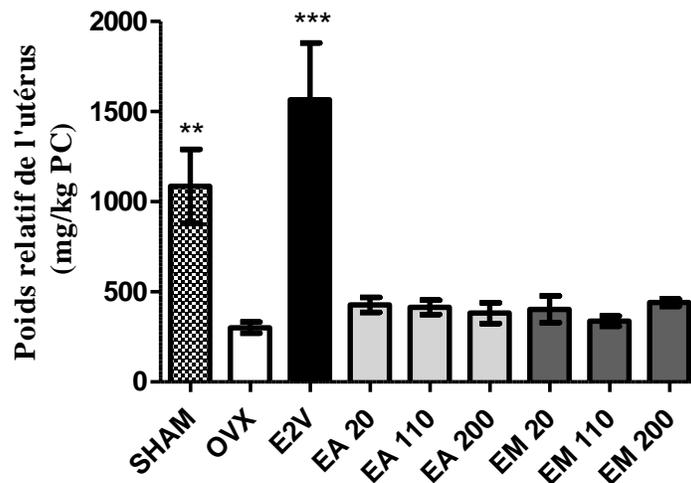


Figure 34 : Poids relatif de l'utérus frais des rates après 3 jours de traitement.

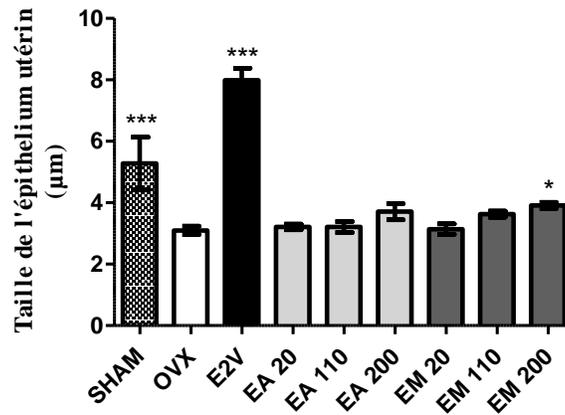
SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés ; E<sub>2</sub>V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate; EA = animaux OVX recevant l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC; EM = animaux OVX recevant l'extrait méthanolique de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*\*\*  $p < 0,001$  contre OVX.

### III.3.1.2. Effets sur l'histomorphologie et la taille de l'épithélium utérin

Quatorze jours de déclin en œstrogènes ovariens suite à l'ovariectomie ont induit une diminution significative ( $p < 0,01$ ) de la taille de l'épithélium utérin. Elle est passée de  $5,28 \pm 0,85 \mu\text{m}$  chez le groupe SHAM à  $3,10 \pm 0,13 \mu\text{m}$  chez le témoin négatif, soit une diminution de 41,28%. Suite au traitement de 3 jours, l'E<sub>2</sub>V a induit une augmentation de 61,18% ( $p < 0,001$ ) de ce paramètre. Seul l'extrait méthanolique de *M. arboreus* a augmenté ( $3,91 \pm 0,09 \mu\text{m}$ ) la taille de l'épithélium utérin des animaux a la dose de 200 mg/kg PC (Figure 30 A).

L'analyse des coupes histologiques de l'utérus (Figure 30 B) montre que les cellules épithéliales utérines sont passées de la forme cylindrique chez le SHAM à la forme cubique chez le témoin négatif. Suite au traitement de 3 jours avec l'E<sub>2</sub>V, ces cellules épithéliales utérines ont repris une forme cylindrique similaire à celle observée chez le SHAM. Aucune modification structurale n'a cependant été observée avec les extraits.

A



B

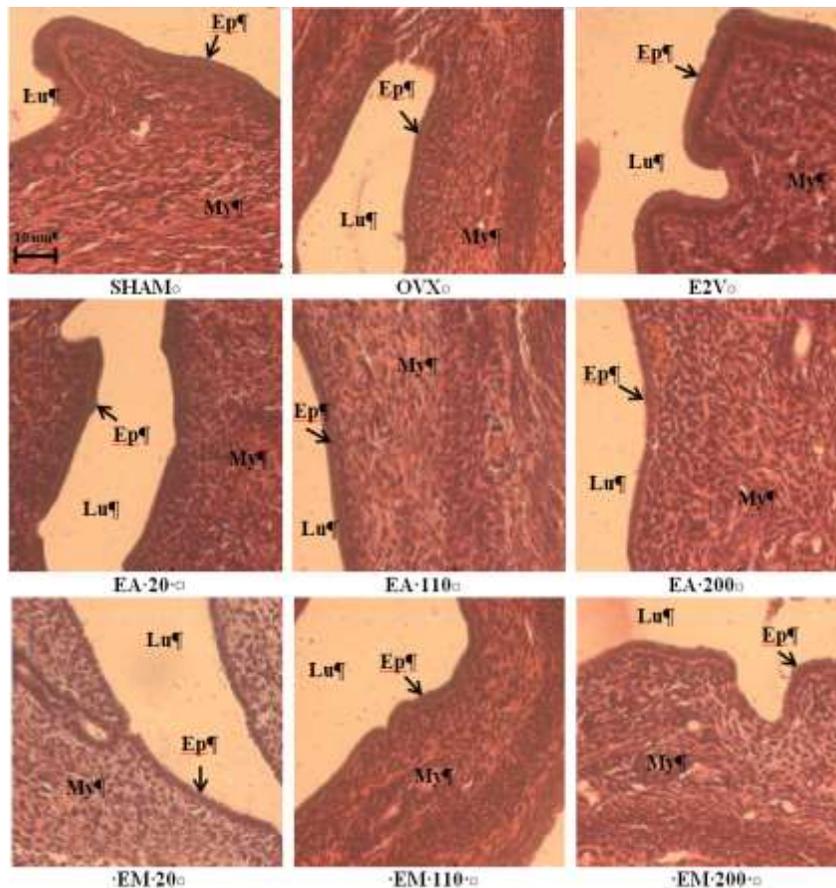


Figure 35 : Taille de l'épithélium utérin (A) et microphotographies de coupe histologique de l'utérus (B).

(400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine) des rates après 3 jours de traitement. (Barre d'échelle : 10 µm). SHAM: animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés; E2V = animaux OVX traités avec l'œstradiol valérate; EA = animaux OVX traités avec l'extrait aqueux aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC; EM = animaux OVX traités avec l'extrait méthanolique aux doses de 20,

**110 et 200 mg/kg PC. Lu: Lumière utérine; Ep: Epithélium utérin ou endomètre; My : Myomètre. Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*\*\* p < 0,001 contre OVX.**

### **III.3.2. Effets sur le vagin**

Le résultat sur la taille des épithélia vaginaux (Figure 31 A) montre que, l'œstrogénopénie induite par ovariectomie a entraîné une baisse significative (65,30% ; p < 0,01) de la taille de l'épithélium vaginal. Le traitement avec l'E<sub>2</sub>V a augmenté (p < 0,001) cette taille de 79,09%, passant de  $6,98 \pm 0,78 \mu\text{m}$  (chez le témoin négatif) à  $33,41 \pm 2,38 \mu\text{m}$ . Les extraits de *M. arboreus* n'ont induit aucun effet significatif aux doses testées.

L'épithélium vaginal du témoin négatif était constitué d'une couche de cellules cubiques de faible épaisseur encore appelée couche germinative. Après traitement à l'E<sub>2</sub>V, cet épithélium s'est stratifié et trois couches cellulaires se sont distinguées à savoir la couche germinative à la base, la couche granuleuse au milieu et la couche cornée superficielle en contact avec la lumière vaginale (Figure 31 B). Aucune variation significative n'a été observée avec les traitements aux extraits de plante (Figure 31 A).

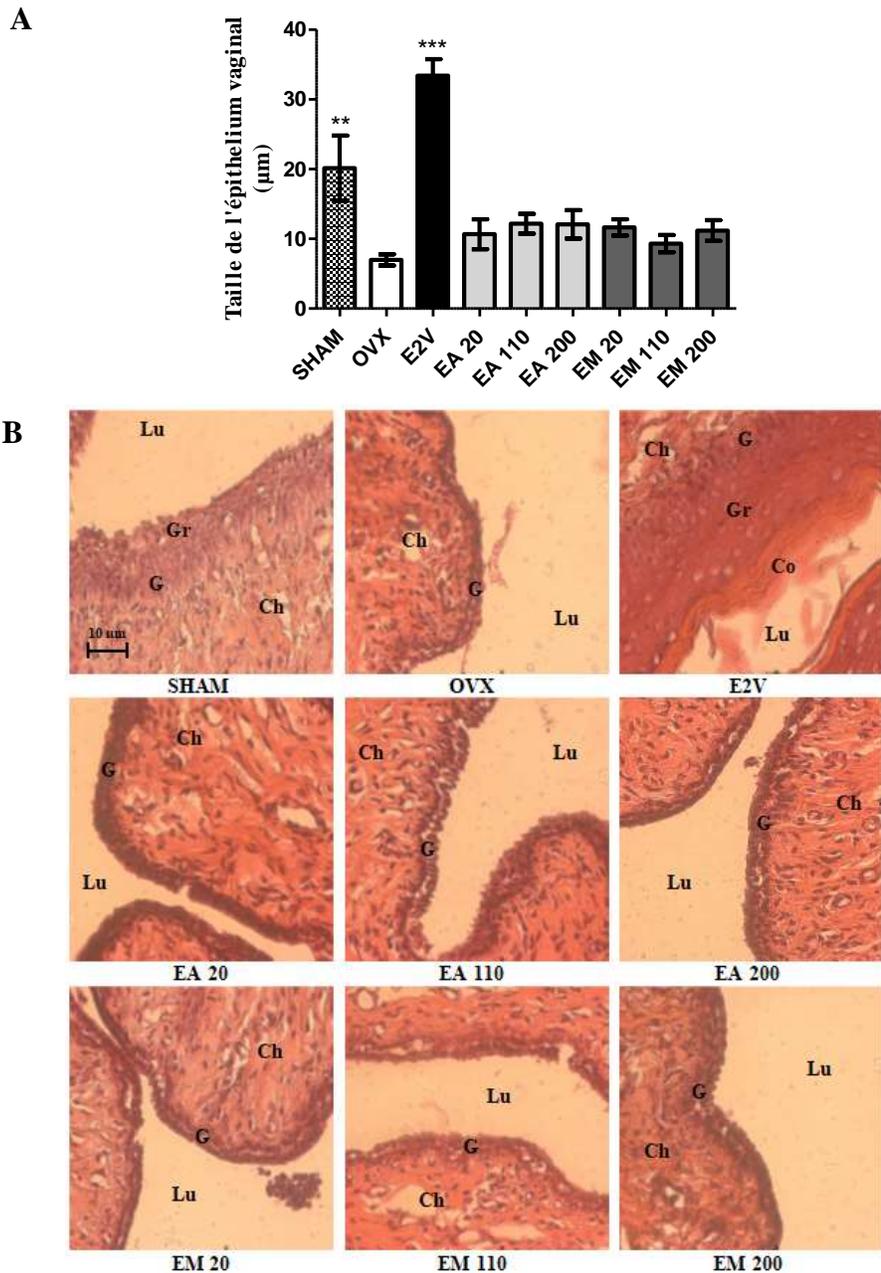


Figure 36 : Taille de l'épithélium vaginal (A) et microphotographies de coupe histologique du vagin (B)

(400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine) des rates après 3 jours de traitement. (Barre d'échelle : 10 µm). SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés; E2V = animaux OVX traités avec l'œstradiol valérate; EA = animaux OVX traités avec l'extrait aqueux aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC; EM = animaux OVX traités avec l'extrait méthanolique aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. Lu: Lumière vaginale; Co: Couche cornée; Gr: Couche granuleuse;

G: Couche germinative; Ch : Chorion. Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*\* p < 0,01 ; \*\*\* p < 0,001 contre OVX.

### III.4. EFFETS ANTI-ŒSTROGENIQUES DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DES FEUILLES DE *Myrianthus arboreus* CHEZ DES RATES

#### III.4.1. Effets sur l'utérus

##### III.4.1.1. Effets sur le poids relatif de l'utérus

Le résultat présenté sur la figure 32 montre le poids relatif des uteri frais des rates après 3 jours de traitement. Il en ressort que l'ovariectomie a induit une diminution significative de ce paramètre. Il est passé de  $1085,28 \pm 205,44$  mg/kg PC (p < 0,01) chez les animaux non ovariectomisés recevant le solvant de dilution des substances à  $301,15 \pm 30,71$  mg/kg PC chez le témoin négatif. L'administration de l'E2V a induit une augmentation significative (p < 0,001) du poids de l'utérus ( $1565,47 \pm 316,13$  mg/kg PC) en comparaison avec le témoin négatif. Les résultats des co-traitements montrent que le Fulvestrant (258,30%) et l'extrait aqueux à toutes les doses testées (102,95% ; 107,41% ; 106,58% respectivement aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC), ont inhibé (p < 0,01) l'effet utérotrophique de l'E<sub>2</sub>V. Un effet similaire a été obtenu avec l'extrait méthanolique aux doses de 20 mg/kg PC (p < 0,01 ; 61,59%) et 110 mg/kg PC (47,76%).

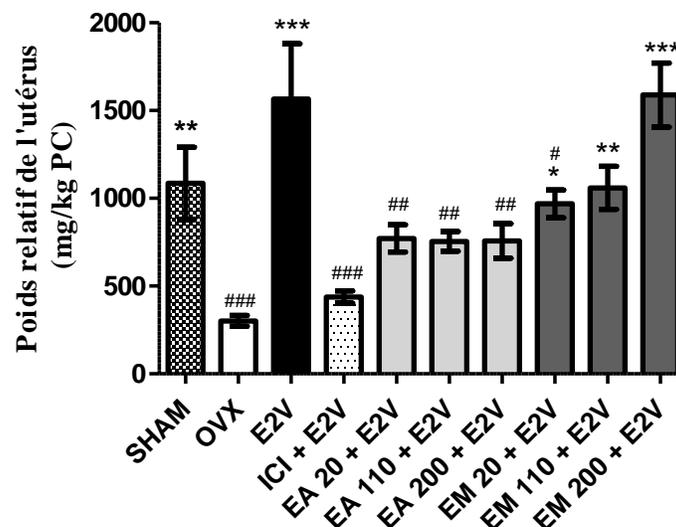


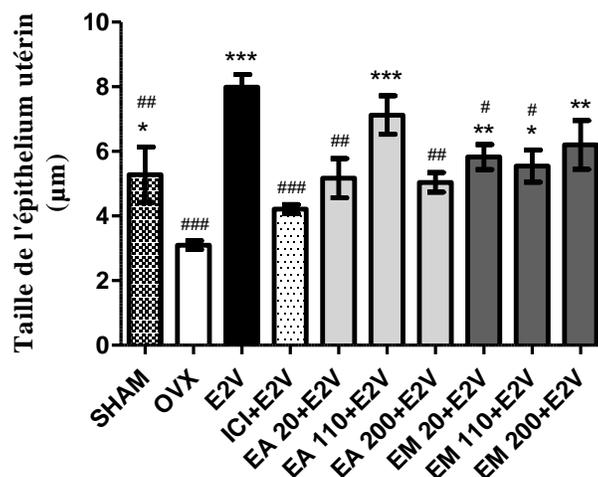
Figure 37 : Poids relatif de l'utérus frais des rates après 3 jours de traitement. (n = 5). SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés ; E2V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate; ICI + E2V =

animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + Fulvestrant (ICI 182, 780) ; EA+E2V= animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + extrait aqueux ; EM+E2V= animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + extrait méthanolique. \* p < 0,05 ; \*\* p < 0,01 ; \*\*\* p < 0,001 contre OVX. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ESM (n = 5). # p < 0,05 ; ## p < 0,01 ; ### p < 0,001 contre E<sub>2</sub>V.

### III.4.1.2. Effets sur l'histomorphologie et la taille de l'épithélium utérin

Les tailles des épithélia utérins sont représentées sur la figure 33 A. Ce résultat montre que l'effet œstrogénique observé après le traitement à l'E<sub>2</sub>V a significativement baissé (p < 0,001) avec le co-traitement au Fulvestrant (ICI). La taille de l'épithélium utérin est ainsi passée de 7,98 ± 0,39 µm chez les animaux recevant l'E<sub>2</sub>V à 4,21 ± 0,14 µm chez ceux recevant l'E<sub>2</sub>V + ICI, soit une baisse de 89,57%. Un effet similaire a été observé avec le co-traitement à l'E<sub>2</sub>V et les extraits de *M. arboreus*. L'extrait aqueux a inhibé l'effet de l'E<sub>2</sub>V aux doses de 20 mg/kg PC et de 200 mg/kg PC (p < 0,01) respectivement de 54,45 et 58,43%. L'extrait méthanolique a induit un effet identique aux doses de 20 mg/kg PC (p < 0,01) et 110 mg/kg PC (p < 0,05) respectivement de 37,02 et 43,97%. L'analyse histomorphologique montre que les cellules épithéliales utérines qui se sont hypertrophiées (forme cylindrique) avec le traitement à l'E<sub>2</sub>V (Figure 33 B), ont perdu en taille (cylindrique de plus petite taille) suite aux co-traitements.

A



**B**

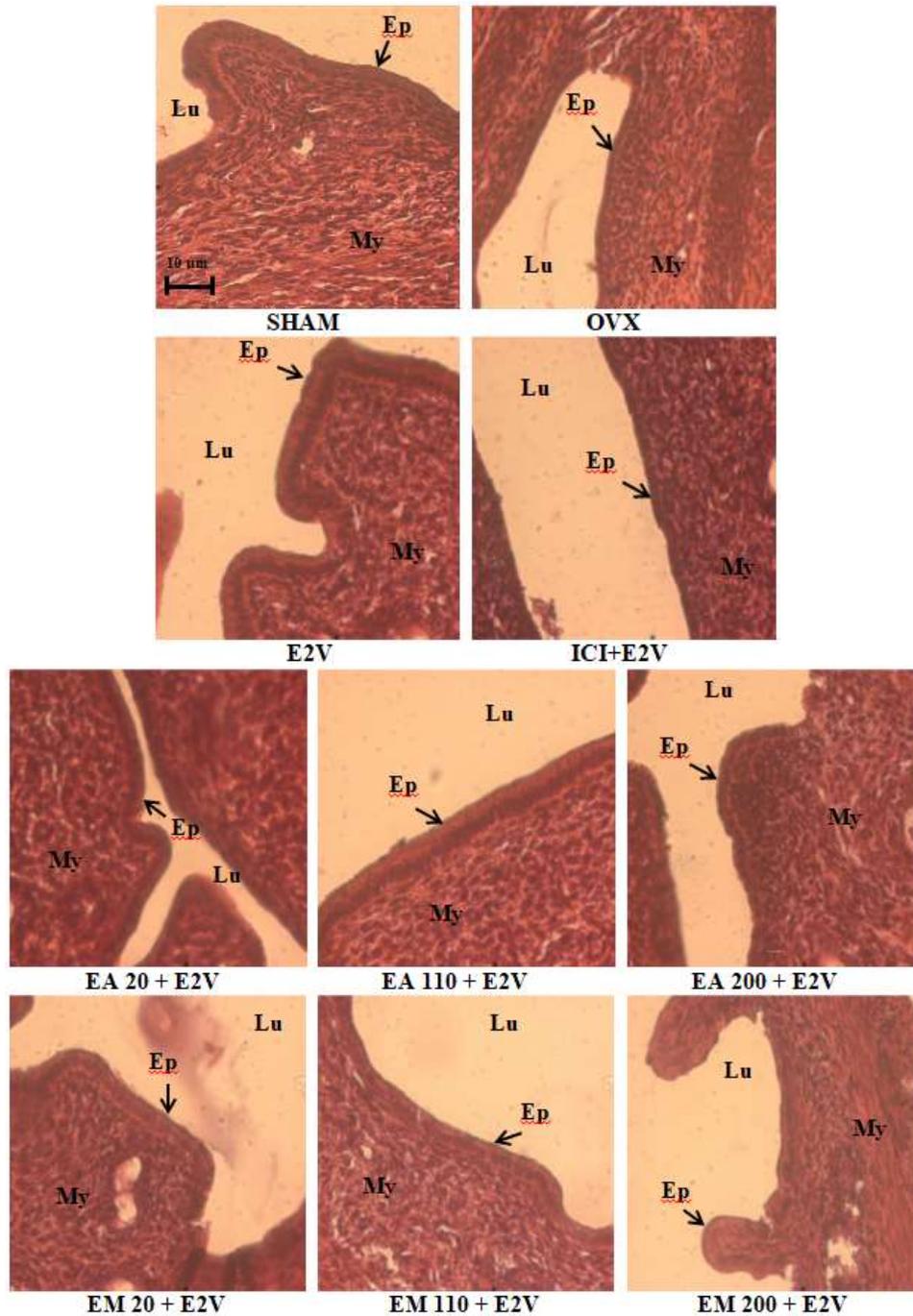


Figure 38 : Taille de l'épithélium utérin (A) et microphotographies de coupe histologique de l'utérus (B)

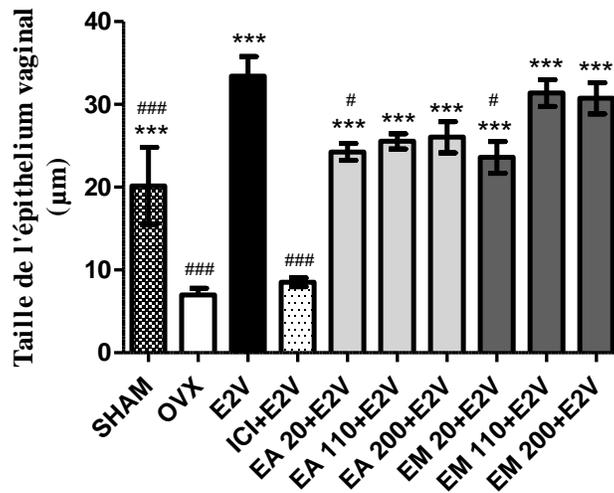
(400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine) des rates après 3 jours de traitement. (Barre d'échelle : 10 µm). SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés; E2V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate; ICI+E2V= animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + Fulvestrant (ICI 182, 780); EA+E2V= animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + extrait aqueux; EM+E2V= animaux OVX recevant l'animaux œstradiol valérate + extrait méthanolique.

**Lu: Lumière utérine; Ep: Epithélium utérin ou endomètre; My : Myomètre. Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \* p < 0,05 ; \*\* p < 0,01 ; \*\*\* p < 0,001 contre OVX. # p < 0,05 ; ## p < 0,01 ; ### p < 0,001 contre E2V.**

### III.4.2. Effets sur le vagin

Les résultats sur la taille des épithélia vaginaux, représentés graphiquement sur les figures 34 A et 34 B montrent que le Fulvestrant a réduit l'effet induit par l'E<sub>2</sub>V (p < 0,001). Cette valeur est passée de 33,41  $\pm$  2,38  $\mu$ m à 8,51  $\pm$  0,54  $\mu$ m avec le Fulvestrant soit une inhibition de 74,52%. De même, comparativement à E<sub>2</sub>V, les co-traitements avec les extraits de *M. arboreus* ont significativement diminué (p < 0,001) la taille de l'épithélium vaginal. Elle est passée de 33,41  $\pm$  2,38  $\mu$ m à 24,25  $\pm$  1,01  $\mu$ m avec l'extrait aqueux à la dose de 20 mg/kg PC et à 29,60  $\pm$  1,92  $\mu$ m avec l'extrait méthanolique à la même dose (p < 0,05), en des pourcentages d'inhibition respectifs de 27,41 et 29,36%.

A



**B**

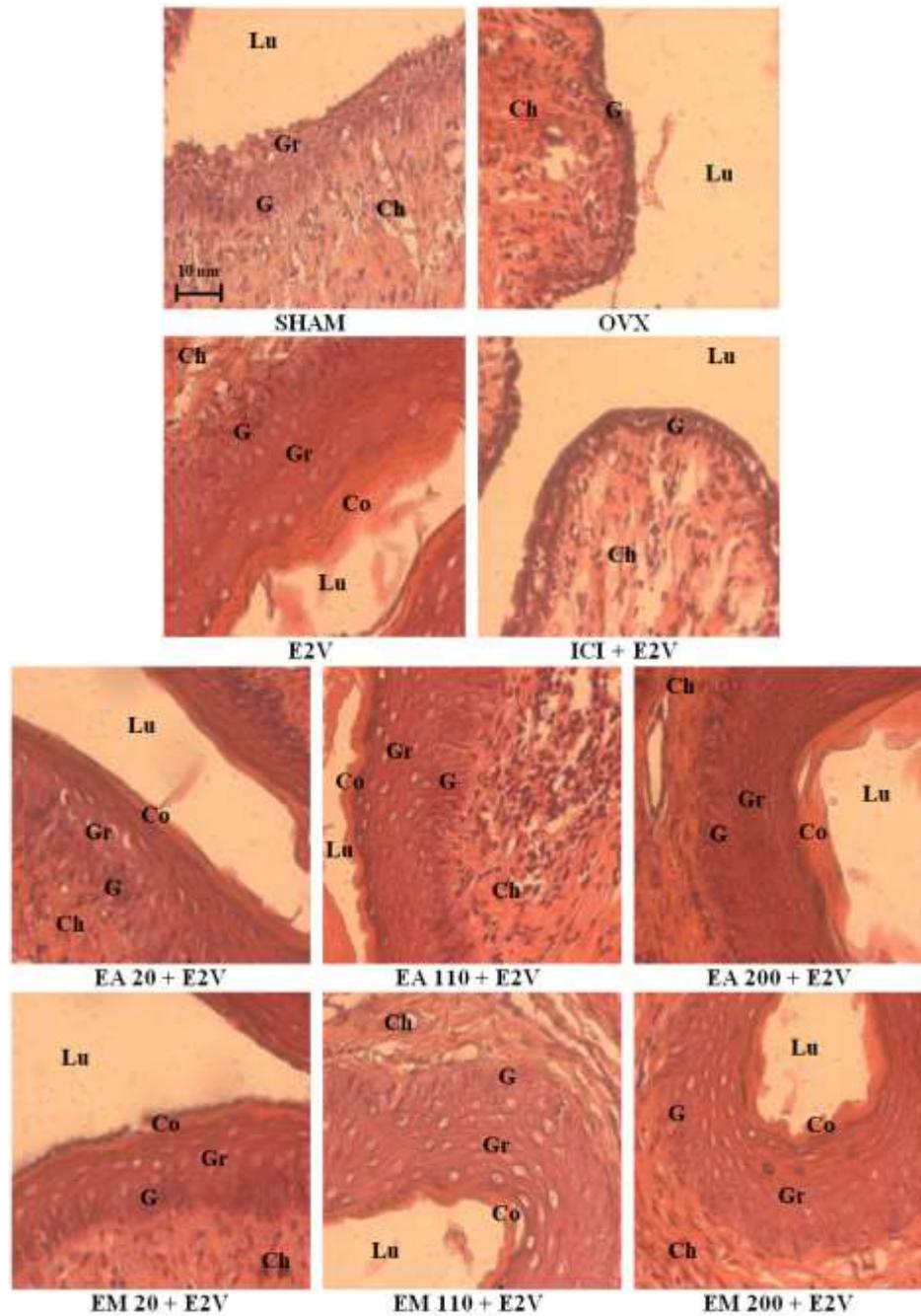


Figure 39 : Taille de l'épithélium vaginal (A) et microphotographies de coupe histologique du vagin (B)

(400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine) des rates après 3 jours de traitement. (Barre d'échelle : 10 µm). SHAM : animaux ayant subi un simulacre d'ovariectomie (non ovariectomisés); OVX = animaux ovariectomisés ; E2V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate; ICI+E2V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + Fulvestrant (ICI 182, 780) ; EA+E2V = animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + extrait aqueux ; EM+E2V= animaux OVX recevant l'œstradiol valérate + extrait méthanolique. Lu: Lumière vaginale; Co: Couche cornée; Gr: Couche granuleuse; G: Couche germinative; Ch

**: Chorion. Les résultats de la figure A sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 5).  
\*\*\* p < 0,001 contre OVX. # p < 0,05 ; ## p < 0,01 ; ### p < 0,001 contre E2V.**

### **III.5. EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Myrianthus arboreus* SUR LE COMPORTEMENT SEXUEL CHEZ DES RATES**

#### **III.5.1. Effets sur la phase appétitive**

Les différents traitements ont réduit la latence de changement de compartiment (Figure 35 A). Cette diminution est significative pour les groupes ayant reçu l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 110 mg/kg PC (p < 0,05 ; 59,90%) et la substance de référence Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE-2) à la dose de 28,39 mg/kg PC (p < 0,01 ; 71,98%), par comparaison au groupe témoin ayant reçu le solvant de dilution des substances (4,14  $\pm$  0,91 s).

Un effet non significatif a été observé sur la fréquence de changement de compartiment (Figure 35 B) et sur le temps passé dans le compartiment non opérant (compartiment initial de la femelle) (Figure 35 C).

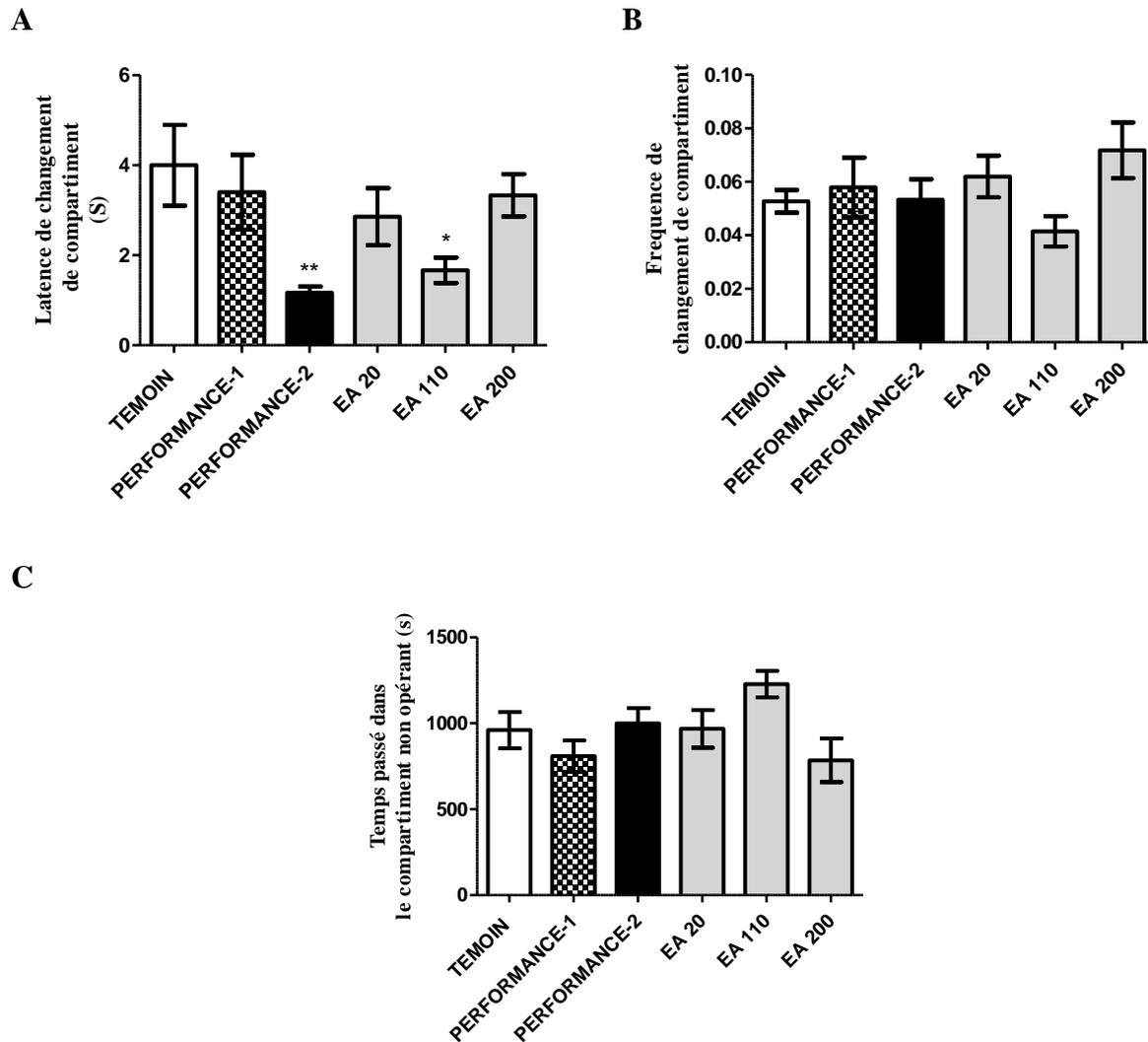


Figure 40 : Latence de changement de compartiment (A), fréquence de changement de compartiment et temps passé dans le compartiment non opérant (C) des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (**PERFORMANCE<sup>TM</sup>**; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (**PERFORMANCE<sup>TM</sup>**; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 7). \* p < 0,05 et \*\* p < 0,01 contre TEMOIN.

### III.5.2. Effets sur la phase pré-copulatoire ou pro-réceptive

#### III.5.2.1. Effets sur le comportement de sollicitation et de rejet

Les résultats présentés à la figure 36 montrent le nombre de sollicitations (A) et de rejets (B) des mâles par des femelles après 30 jours de traitement. Ces résultats montrent que l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 110 et 200 mg/kg PC a induit une augmentation significative du nombre de sollicitations par les femelles traitées. On note ainsi une augmentation de 44,97% à la dose de 110 mg/kg PC ( $p < 0,05$ ) et de 44,66% à la dose de 200 mg/kg PC ( $p < 0,05$ ), en comparaison avec les femelles du groupe TEMOIN. Le nombre de rejet n'a quant à lui subi aucune variation significative à la suite des traitements.

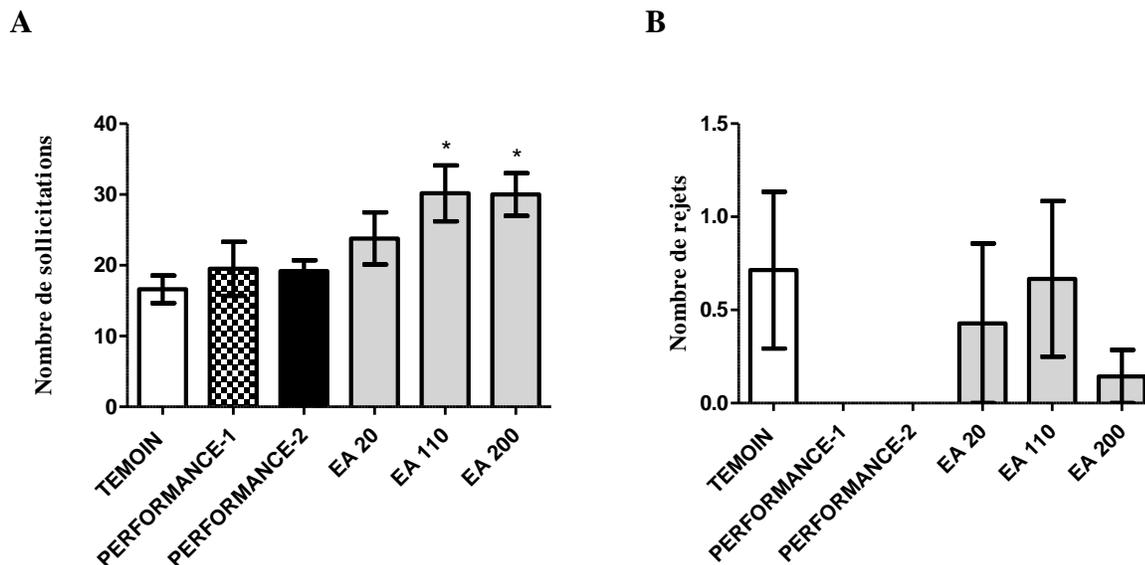


Figure 41 : Nombre de sollicitations (A) et nombre de rejets (B) chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ESM (n = 7). \*  $p < 0,05$  contre TEMOIN.

### III.5.2.2. Effets sur le « darting »

Le résultat représenté sur la Figure 37 A montre que 30 jours de traitement ont réduit significativement le temps de latence du « darting ». Sa valeur est passée de  $10,40 \pm 1,12$  s chez le TEMOIN à  $5,28 \pm 1,08$  s et  $5,63 \pm 1,56$  s respectivement chez les groupes PERFORMANCE-1 et-2, soit une baisse respective de 49,23 et 45,86% ( $p < 0,05$ ). L'extrait aqueux de *M. Arboreus* a induit un effet similaire ( $p < 0,05$ ) à celui du « Performance » en diminuant la latence du « darting » de 43,75 et 44,23% aux doses de 20 et 200 mg/kg PC, respectivement.

La fréquence de « darting » a augmenté de manière significative (81,53 et 77,66%,  $p < 0,05$ ) après 2 heures et 30 jours de traitement avec le Maca-ginseng-gingembre. Ce paramètre a également augmenté à l'issue des traitements avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC (71,53% d'induction,  $p < 0,05$ ) (Figure 37 B).

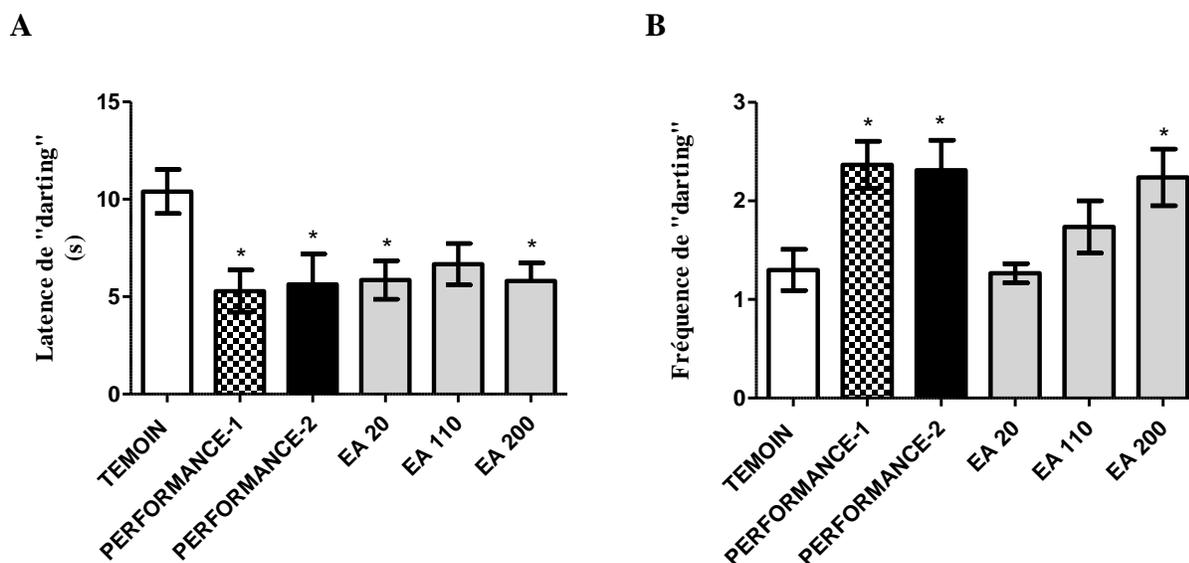


Figure 42 : Latence (A) et fréquence (B) de « darting » chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ESM (n = 7). \*  $p < 0,05$  contre TEMOIN.

### III.5.2.3 Effets sur le « hopping »

Après 30 jours de traitement, aucune variation significative n'a été observée sur le temps de latence du « hopping » (Figure 38 A), tandis que sur la fréquence du « hopping », seul l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC a significativement augmenté (120,00%,  $p < 0,05$ ) ce paramètre par comparaison au groupe TEMOIN ( $1,00 \pm 0,33$ ) (Figure 38 B). Cependant après 2 heures de traitement, la substance de référence, « performance » a significativement ( $p < 0,05$ ) réduit la latence du « hopping » de 55,29% et augmenté la fréquence du « hopping » de 104,00%.

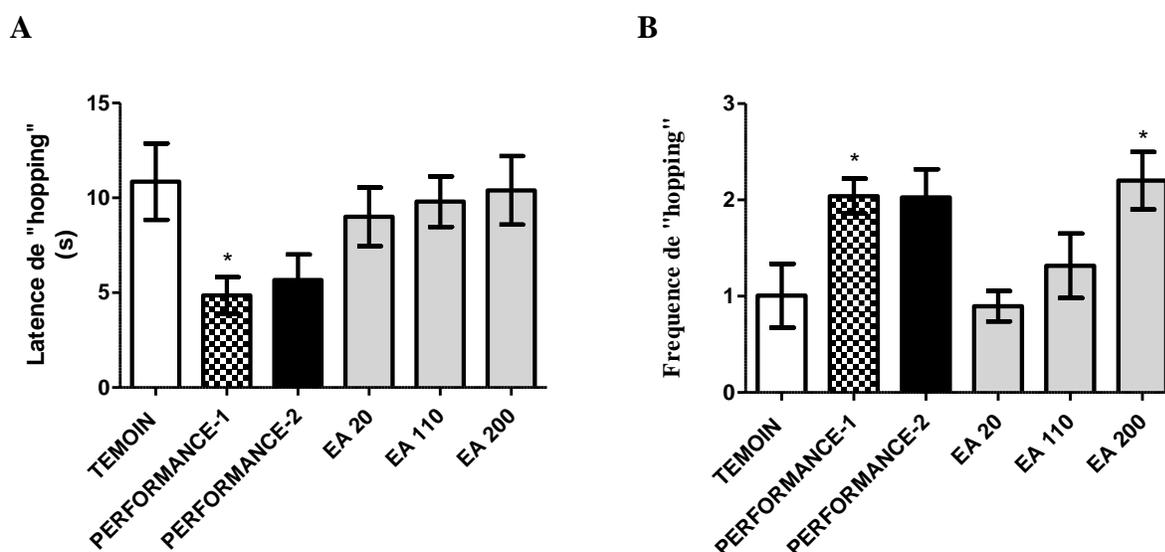


Figure 43 : Latence (A) et fréquence (B) de « hopping » chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 7$ ). \*  $p < 0,05$  contre TEMOIN.

### **III.5.3. Effets sur la phase de consommation ou réceptive**

#### **III.5.3.1. Effets sur la lordose**

Les traitements n'ont induit aucune variation significative sur la latence, la fréquence et le quotient de lordose après 30 jours de gavage (Figure 39 A, B et D). L'extrait aqueux de *M. arboreus*, à la dose de 200 mg/kg PC a par ailleurs significativement augmenté (55,70%,  $p < 0,05$ ) la durée de la lordose par comparaison au groupe TEMOIN (Figure 39 C). De même, 2 heures après une administration unique de la substance de référence (PERFORMANCE™) à la dose de 28,39 mg/kg, la latence de lordose a significativement diminué de 63,16% ( $p < 0,01$ ), tandis que la fréquence de lordose a augmenté significativement de 108,69% ( $p < 0,001$ ).

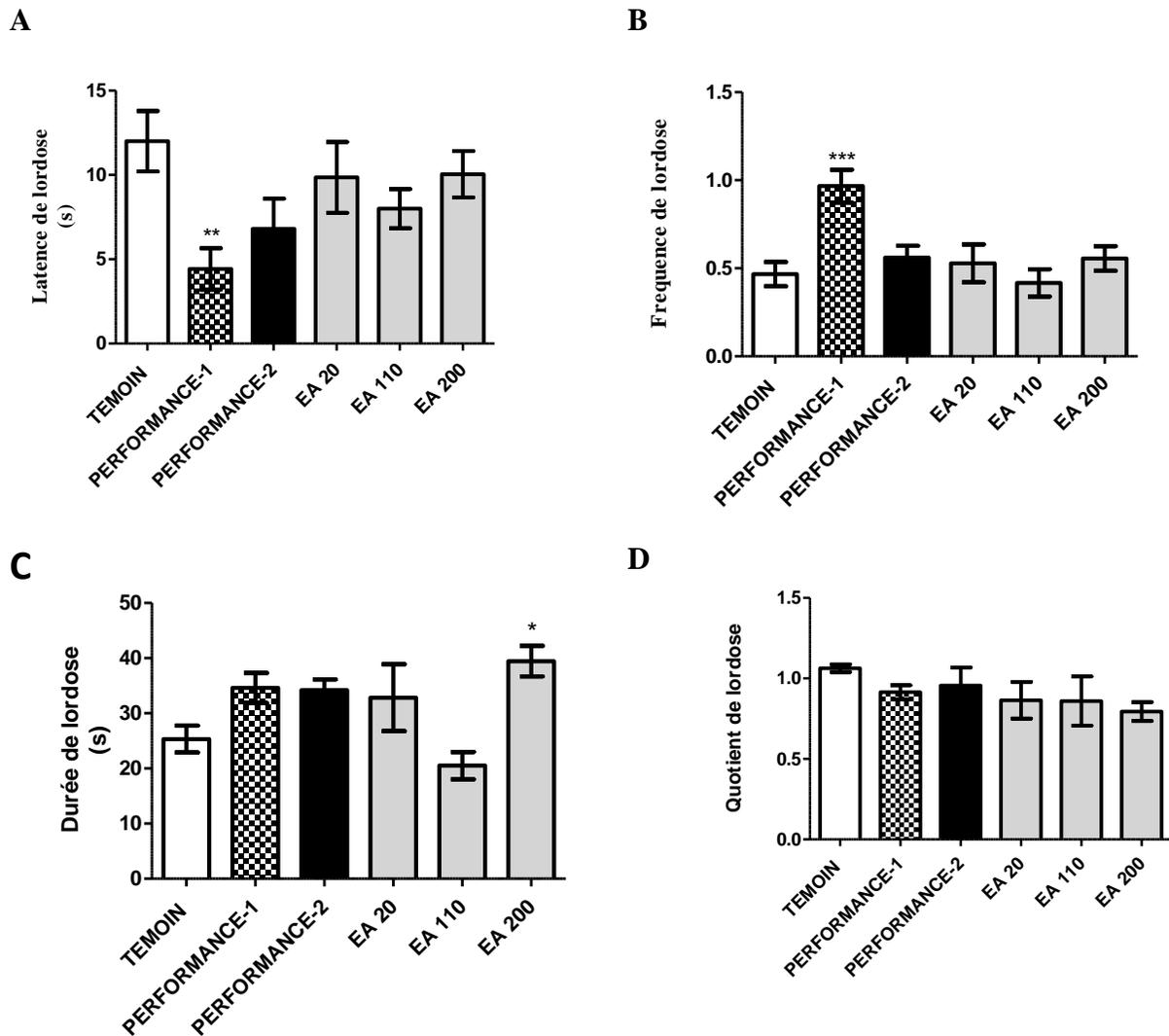


Figure 44 : Représentation graphique de la latence de lordose (A), de la fréquence de lordose (B), de la durée de lordose (C) et du quotient de lordose (D) chez des jeunes rats Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (**PERFORMANCE<sup>TM</sup>**; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (**PERFORMANCE<sup>TM</sup>**; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux dose de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 7). \* p < 0,05 ; \*\* p < 0,01 ; \*\*\* p < 0,001 contre TEMOIN.

### III.5.3.2. Effets sur le « grooming » anogénital

Les traitements n'ont induit aucune variation significative sur le nombre de « grooming » anogénital après 30 jours de gavage (Figure 40).

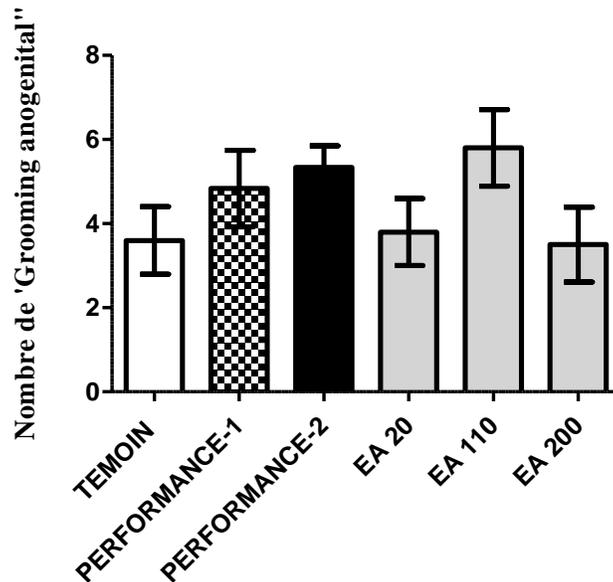


Figure 45: Représentation graphique du nombre de « grooming » anogénital (D) chez des jeunes rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

**TEMOIN:** animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; **PERFORMANCE-1** = animaux traités à la substance de référence, le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) 2 h avant l'expérimentation ; **PERFORMANCE-2** = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE<sup>TM</sup>; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; **EA** = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 7).

### III.5.4. Effets sur le cycle œstral

Le tableau XIV représente les effets de 30 jours de traitement sur le cycle œstral. Le Maca-ginseng-gingembre et l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg PC ont significativement ( $p < 0,05$ ) augmenté le nombre de cycle œstral et diminué la durée de chaque cycle. Concernant le nombre de cycle œstral, cette valeur est passée de  $4,28 \pm 0,35$  chez le groupe TEMOIN à  $5,85 \pm 0,26$  et  $6,00 \pm 0,30$  respectivement dans les groupes PERFORMANCE-2 et EA 200. Tandis que la durée de chaque cycle passait de  $7,28 \pm 0,58$  jours chez le témoin à  $5,18 \pm 0,23$  jours chez le

groupe PERFORMANCE-2 ( $p < 0,05$ ) et à  $5,08 \pm 0,26$  jours chez les animaux recevant l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg ( $p < 0,01$ ).

Les traitements ont induit une variation significative sur les différentes phases du cycle œstral (Figure 41 et tableau XIV). Le Maca-ginseng-gingembre a augmenté ( $8,57 \pm 0,52$  jours ;  $p < 0,001$ ) le temps passé dans la phase du proestrus tandis que l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg PC ( $2,71 \pm 0,60$  jours ;  $p < 0,05$ ) diminuait ce temps. Seul l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg PC a augmenté le temps passé en œstrus ( $10,20 \pm 0,70$  jours ;  $p < 0,05$ ) et diminué le temps passé en métœstrus ( $7,57 \pm 0,64$  jours ;  $p < 0,05$ ).

**Tableau XIV:** Effets de l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC sur le cycle œstral des rates Wistar après 30 jours de traitement par voie orale.

Paramètres	Nombre de cycle observé	Durée de chaque cycle (jours)	Phases du cycle oestral (jours)			
			Proestrus	Œstrus	Metœstrus	Diœstrus
<b>TEMOIN</b>	$4,28 \pm 0,35$	$7,28 \pm 0,58$	$4,85 \pm 0,50$	$6,85 \pm 0,70$	$10,8 \pm 0,50$	$7,48 \pm 0,85$
<b>PERFORMANCE-2</b>	$5,85 \pm 0,26^*$	$5,18 \pm 0,23^*$	$8,57 \pm 0,52^{***}$	$5,14 \pm 0,88$	$8,14 \pm 0,96$	$8,14 \pm 0,63$
<b>EA 20</b>	$5,42 \pm 0,61$	$5,93 \pm 0,61$	$4,71 \pm 0,47$	$7,14 \pm 0,76$	$9,42 \pm 0,71$	$8,71 \pm 1,01$
<b>EA 110</b>	$5,00 \pm 0,37$	$6,21 \pm 0,47$	$4,28 \pm 0,52$	$7,14 \pm 0,79$	$9,00 \pm 0,97$	$9,57 \pm 0,81$
<b>EA 200</b>	$6,00 \pm 0,30^*$	$5,08 \pm 0,26^{**}$	$2,71 \pm 0,60^*$	$10,20 \pm 0,70^*$	$7,57 \pm 0,64^*$	$9,51 \pm 0,77$

TEMOIN: animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 10 mL/kg PC/j) ; PERFORMANCE-2 = animaux traités avec le Maca-ginseng-gingembre (PERFORMANCE™; 28,39 mg/kg) pendant 30 jours ; EA = animaux traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110, 200 mg/kg PC/j. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 7$ ). \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$  contre TEMOIN.

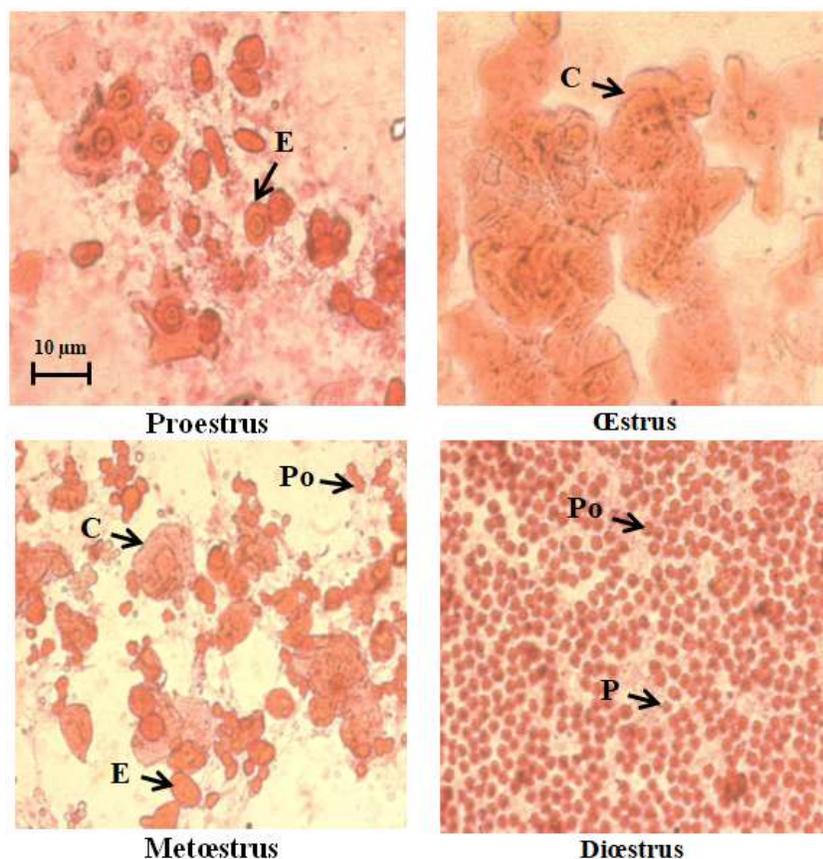


Figure 46 : Microphotographies (400 X, coloration à l'éosine) des frottis vaginaux des animaux expérimentaux.

P= Cellules parabasales, C= Cellules superficielles kératinisées et anuclées ou encore cellules épithéliales cornifiées, E= Cellules intermédiaires ou cellules épithéliales nucléées ; Po = Polynucléaires.

### III.6. TOXICITE AIGÛE ET SUB-AIGÛÈ DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES DE *Myrianthus arboreus*

#### III.6.1. Toxicité aigüe de l'extrait aqueux des feuilles de *Myrianthus arboreus*

L'administration des doses uniques (2000 et 5000 mg/kg PC) de l'extrait aqueux des feuilles de *Myrianthus arboreus* (EA) par voie orale, même après une répétition de l'expérimentation, n'a entraîné ni mortalité, ni signes phénotypiques de toxicité après 14 jours d'observation ; ceci indique que la DL<sub>50</sub> de cet extrait est supérieure à 5000 mg/kg PC. Par comparaison au TEMOIN, aucune différence significative n'a été observée, après traitement, sur l'évolution du poids corporel (Figure 42), le poids relatif des organes et la hauteur des épithélia

utérin et vaginal (Tableau XV). De même, aucune modification du comportement, de la respiration, de la peau, des yeux, du pelage et de l'activité somatomotrice n'a été observée.

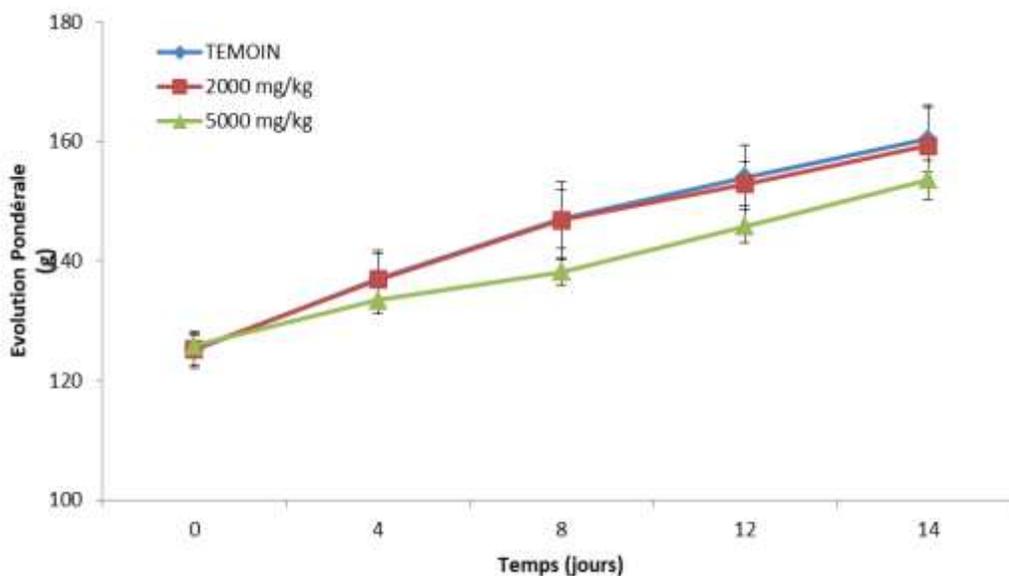


Figure 47: Evaluation du poids corporel des rats après une administration unique par voie orale de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 2000 et 5000 mg/kg PC.

TEMOIN = animaux ayant reçu le solvant de dilution des substances (eau distillée, 20 mL/kg PC). Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 6). Pas de différence significative.

**Tableau XV:** Poids relatif des organes (g/100 g PC), et taille des épithélia utérin et vaginal ( $\mu\text{m}$ ) des rates après une administration orale unique de l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 2000 et 5000 mg/kg de PC.

Organes	TEMOIN	2000 mg/kg	5000 mg/kg
<b>Poids relatif (g/100 g PC)</b>			
Foie	3,8786 $\pm$ 0,3055	3,9729 $\pm$ 0,3038	4,0419 $\pm$ 0,2946
Estomac	1,0286 $\pm$ 0,0491	1,0242 $\pm$ 0,0466	1,1029 $\pm$ 0,0642
Rein	0,6586 $\pm$ 0,0253	0,6374 $\pm$ 0,0167	0,6840 $\pm$ 0,0307
Poumon	0,7478 $\pm$ 0,0428	0,8352 $\pm$ 0,0412	0,7444 $\pm$ 0,0285
Rate	0,3178 $\pm$ 0,0204	0,3236 $\pm$ 0,0206	0,3290 $\pm$ 0,0187
Cœur	0,3630 $\pm$ 0,0110	0,3943 $\pm$ 0,0110	0,3650 $\pm$ 0,0094
Surrénales	0,0389 $\pm$ 0,0027	0,0435 $\pm$ 0,0022	0,0335 $\pm$ 0,0025
Ovaires	0,0671 $\pm$ 0,0028	0,0756 $\pm$ 0,0026	0,0671 $\pm$ 0,0029
Utérus	0,1971 $\pm$ 0,0179	0,1802 $\pm$ 0,0139	0,1979 $\pm$ 0,0171
<b>Taille épithélium (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
Vagin	19,50 $\pm$ 3,10	20,20 $\pm$ 5,16	22,72 $\pm$ 6,55
Utérus	7,90 $\pm$ 2,48	6,03 $\pm$ 0,74	6,42 $\pm$ 1,48

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). Pas de différence significative.

### III.6.2. Toxicité sub-aigüe de l'extrait aqueux des feuilles de *Myrianthus arboreus*

#### III.6.2.1. Effets sur l'aspect général, le comportement et la mortalité des animaux

Tout au long de cette expérience de 28 jours, aucun décès et aucun signe extérieur de toxicité n'a été enregistré (Tableau XVI).

**Tableau XVI:** Observations en essai sub-aigu de la morbidité et/ou de la mortalité des animaux

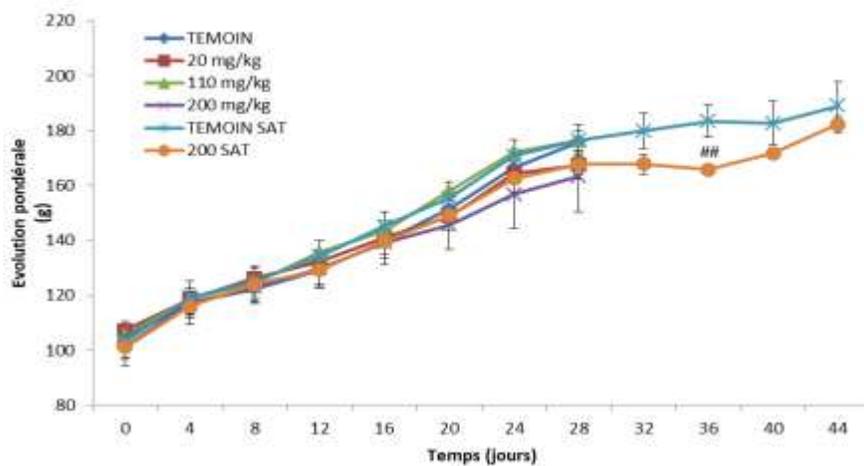
		Semaine 1		Semaine 2		Semaine 3		Semaine 4		Semaine 5		Semaine 6	
		Morbidité	Mortalité										
<b>Males</b>	<b>TEMOIN</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>20 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>110 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>200 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>TEMOIN SAT</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	<b>200 SAT</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
<b>Femelles</b>	<b>TEMOIN</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>20 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>110 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>200 mg/kg</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	DS	DS	DS	DS
	<b>TEMOIN SAT</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	<b>200 SAT</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

**DS : déjà sacrifié. TEMOIN SAT: Animaux témoin satellite ; 200 SAT : Animaux satellite ayant reçu l'extrait à la dose de 200 mg/kg.**

### III.6.2.2. Effets sur le poids corporel

Aucune variation significative du poids corporel, tant chez les mâles que chez les femelles, n'a été observée pendant les 28 jours de traitement (Figure 43 A et B). Cependant, 8 jours après arrêt des traitements, soit 36 jours après le début de l'expérimentation, une diminution significative ( $p \leq 0.01$ ) mais fugace du poids corporel des animaux a été observée dans le groupe SAT traité à la dose de 200 mg/kg PC de *M. arboreus* comparé au groupe TEMOIN SAT (Figure 43 A).

A



B

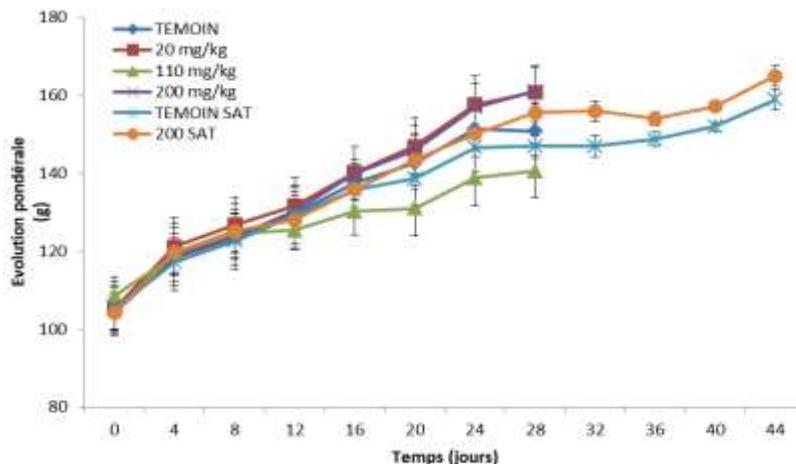


Figure 48 : Evaluation du poids corporel des rats mâles (A) et femelles (B) après 28 jours de traitement par voie orale, avec l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC. TEMOIN SAT = témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des

**substances ; 200 SAT = satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). ##  $p \leq 0,01$  contre TEMOIN SAT.**

### **III.6.2.3. Effets sur le poids relatif des organes**

Le résultat représenté dans le tableau XVII montre les poids relatifs des organes des animaux après 28 jours de traitement et 14 jours post-traitement. Par comparaison au groupe TEMOIN, une diminution significative ( $p \leq 0,01$ ) du poids relatif des poumons a été observée à la dose de 20 mg/kg PC chez les mâles (mais pas aux doses élevées de 110 et 200 mg/kg PC). A la dose de 200 mg/kg PC, l'extrait aqueux de *M. arboreus* a induit une augmentation de 18,76% du poids relatif des testicules ( $p \leq 0,001$ ), et une réduction du poids relatif des vésicules séminales (71,05% ;  $p \leq 0,05$ ). Une réduction tardive du poids relatif de la prostate (27,95% d'induction ;  $p \leq 0,05$ ) a été observée dans le groupe 200 SAT.

**Tableau XVII:** Poids relatif (g/100 g PC) des organes chez les rats Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Organs	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
		20	110	200	Control SAT	200 SAT
<b>Foie</b>	2,9756 ± 0,0737	2,7904 ± 0,0757	2,9153 ± 0,0667	3,0947 ± 0,0666	2,8309 ± 0,0428	3,0184 ± 0,1204
<b>Estomac</b>	0,9195 ± 0,0294	0,9107 ± 0,0289	0,8701 ± 0,0486	0,8485 ± 0,0385	0,9614 ± 0,0333	0,9275 ± 0,0282
<b>Rein</b>	0,6259 ± 0,0101	0,5989 ± 0,0179	0,5972 ± 0,0131	0,6480 ± 0,0207	0,5782 ± 0,0210	0,5909 ± 0,0204
<b>Poumon</b>	0,9001 ± 0,0242	0,7172 ± 0,0202**	0,8475 ± 0,0857	0,8444 ± 0,0407	0,8742 ± 0,0394	0,9988 ± 0,0469
<b>Rate</b>	0,4361 ± 0,0188	0,4800 ± 0,0163	0,4141 ± 0,0192	0,3647 ± 0,0217	0,4138 ± 0,0223	0,4135 ± 0,0277
<b>Coeur</b>	0,3373 ± 0,0074	0,3245 ± 0,0134	0,3024 ± 0,0111	0,3589 ± 0,0166	0,3314 ± 0,0072	0,3200 ± 0,0069
<b>Surrénales</b>	0,0199 ± 0,0017	0,0181 ± 0,0012	0,0219 ± 0,0017	0,0224 ± 0,0013	0,0142 ± 0,0014	0,0153 ± 0,0020
<b>Testicules</b>	1,2620 ± 0,0541	1,2841 ± 0,0316	1,2641 ± 0,0282	1,5535 ± 0,0578 ***	1,2570 ± 0,0653	1,3384 ± 0,0590
<b>Prostate</b>	0,1172 ± 0,0072	0,1143 ± 0,0089	0,0926 ± 0,0096	0,0903 ± 0,0074	0,1141 ± 0,0056	0,0822 ± 0,0090#
<b>Vésicules séminales</b>	0,2767 ± 0,0354	0,2612 ± 0,0151	0,2046 ± 0,0247	0,0801 ± 0,0318*	0,4188 ± 0,0305	0,3013 ± 0,0410
<b>Epididyme</b>	0,2925 ± 0,0212	0,3199 ± 0,0197	0,2881 ± 0,0138	0,3025 ± 0,0145	0,3598 ± 0,0116	0,3737 ± 0,0129

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5)\* p ≤ 0,05, \*\*p ≤ 0,01, \*\*\*p ≤ 0,001 contre TEMOIN ; # p ≤ 0,05 contre TEMOIN SAT.

Chez les femelles (Tableau XVIII), une augmentation significative (p ≤ 0,01) du poids relatif des poumons a été observée à la dose de 20 mg/kg PC, tandis qu'aucun effet n'a été observé avec les doses plus élevées de 110 et 200 mg/kg PC. D'autre part, l'extrait aqueux de *M. arboreus* a significativement augmenté le poids relatif des ovaires (p ≤ 0,01; 200 mg/kg PC) et de l'utérus frais (p ≤ 0,01 ; 110 mg/kg PC). Cette augmentation utérine a persisté à la dose de 200 mg/kg PC, 14 jours après l'arrêt des traitements, dans le groupe 200 SAT comparé au groupe TEMOIN SAT.

**Tableau XVIII:** Poids relatif (g/100 g PC) des organes chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Organes	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
		20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
<b>Foie</b>	3,3288 ± 0,1125	3,0906 ± 0,0655	3,2691 ± 0,1151	3,2306 ± 0,0968	3,1873 ± 0,1357	3,2246 ± 0,1632
<b>Estomac</b>	1,0029 ± 0,0515	0,9816 ± 0,0180	0,9772 ± 0,0513	1,1051 ± 0,0643	0,9102 ± 0,0482	0,9990 ± 0,0234
<b>Rein</b>	0,6129 ± 0,0231	0,6403 ± 0,0423	0,6153 ± 0,0084	0,6211 ± 0,0099	0,5780 ± 0,0189	0,6069 ± 0,0288
<b>Poumons</b>	0,8037 ± 0,0423	0,9502 ± 0,0251**	0,8134 ± 0,0220	0,7902 ± 0,0074	0,8073 ± 0,0253	0,8687 ± 0,5640
<b>Rate</b>	0,4188 ± 0,0257	0,4266 ± 0,0211	0,3745 ± 0,0265	0,4490 ± 0,0185	0,4677 ± 0,0014	0,4651 ± 0,0390
<b>Coeur</b>	0,3610 ± 0,0114	0,3328 ± 0,0123	0,3699 ± 0,0150	0,3766 ± 0,0062	0,3569 ± 0,0124	0,3430 ± 0,0078
<b>Surrénales</b>	0,0331 ± 0,0030	0,0321 ± 0,0025	0,0386 ± 0,0022	0,0336 ± 0,0041	0,0356 ± 0,0038	0,0271 ± 0,0027
<b>Ovaires</b>	0,0571 ± 0,0033	0,0609 ± 0,0026	0,0605 ± 0,0015	0,0727 ± 0,0020**	0,0576 ± 0,0024	0,0551 ± 0,0011
<b>Utérus</b>	0,1655 ± 0,0169	0,1662 ± 0,0066	0,2205 ± 0,0110**	0,2984 ± 0,0424**	0,1466 ± 0,0098	0,2706 ± 0,0236##

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*\*p ≤ 0,01 contre TEMOIN ; ## p ≤ 0,01 contre TEMOIN SAT.

#### **III.6.2.4. Effets sur les paramètres hématologiques**

Après 28 jours de traitement, l'extrait aqueux de *M. arboreus*, a induit une diminution de 38,42% du nombre de globules blancs à la dose de 200 mg/kg PC par comparaison au TEMOIN chez les mâles (Tableau XIX). Cette réduction quoique non significative a été associée à une réduction significative et persistante des lymphocytes à la même dose. Une augmentation significative du nombre de globules rouges et une diminution significative du volume corpusculaire moyen (VCM), ont par ailleurs été observées à la dose de 110 mg/kg PC ( $p \leq 0,01$ ). Une diminution des monocytes et une augmentation de l'hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM) a également été notée dans le groupe 200 SAT comparé au TEMOIN SAT. Malgré les variations de VCM et du nombre de monocytes observées, leurs valeurs restent cependant dans les valeurs biologiques normales.

**Tableau XIX:** Paramètres hématologiques chez les rats Wistar soumis à 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Paramètres	Valeurs normales	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
			20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
<b>Globules blancs (10<sup>3</sup>/μL)</b>	5-16	6,95 ± 0,75	7,12 ± 0,82	12,40 ± 1,93	4,28 ± 0,19	5,67 ± 1,07	6,04 ± 0,35
<b>Lymphocytes (%)</b>	65-85	81,56 ± 2,33	78,15 ± 2,82	81,30 ± 1,67	13,56 ± 0,97**	78,10 ± 2,68	45,99 ± 2,66 <sup>##</sup>
<b>Monocytes (%)</b>	0-20	9,96 ± 1,17	10,67 ± 1,08	9,2 ± 1,65	11,58 ± 0,81	10,60 ± 1,12	15,70 ± 0,74 <sup>#</sup>
<b>Granulocytes (%)</b>	0-27	8,48 ± 1,33	8,20 ± 0,76	8,17 ± 1,20	9,00 ± 1,37	9,06 ± 1,84	11,96 ± 2,19
<b>Globules rouges (10<sup>6</sup>/μL)</b>	5-10	6,09 ± 0,80	5,47 ± 0,88	8,80 ± 0,44**	6,58 ± 0,20	6,86 ± 0,62	8,15 ± 0,46
<b>Hématocrite (%)</b>	32-53	38,90 ± 2,49	37,45 ± 2,64	47,56 ± 2,54	37,16 ± 1,34	30,65 ± 0,58	35,52 ± 2,81
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	12-18	13,36 ± 0,91	14,50 ± 0,83	14,44 ± 1,99	13,76 ± 0,50	12,06 ± 0,25	13,95 ± 0,90
<b>VCM (fL)</b>	52-60	60,99 ± 1,58	61,51 ± 1,90	53,99 ± 0,17**	56,83 ± 3,46	56,36 ± 4,92	53,37 ± 1,57
<b>HCM (pg)</b>	17-29	27,78 ± 3,17	32,22 ± 5,35	31,22 ± 8,95	24,16 ± 1,77	28,15 ± 0,07	32,91 ± 1,30 <sup>##</sup>
<b>CCMH (g/dL)</b>	32-45	37,36 ± 0,92	41,95 ± 3,09	43,37 ± 5,37	39,22 ± 1,99	38,00 ± 0,40	39,10 ± 1,18
<b>Plaquettes (10<sup>3</sup>/μL)</b>	200-1100	592,60 ± 69,64	482,75 ± 27,57	469,75 ± 67,33	552,00 ± 17,70	543,00 ± 59,26	463,40 ± 26,56

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). HCM : Hémoglobine corpusculaire moyenne, CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, VCM : Volume corpusculaire moyen. Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*\*p ≤ 0,01 contre TEMOIN ; #p ≤ 0,05, ##p ≤ 0,01 contre TEMOIN SAT.

Chez les femelles, une augmentation significative du nombre de lymphocytes ( $p \leq 0,05$ ) et de globules blancs ( $p \leq 0,01$ ) a été observée aux doses de 20 et de 200 mg/kg PC, respectivement (Tableau XX). Une diminution des monocytes (20 mg/kg PC ;  $p \leq 0,05$ ) et des granulocytes (20 and 200 mg/kg PC ;  $p \leq 0,01$ ) a également été observée. Toutes ces variations restent cependant incluses entre les limites des valeurs normales. L'extrait aqueux de *M. arboreus*, a également induit une augmentation significative du nombre de globules rouges, de l'hématocrite et l'hémoglobine à la dose de 200 mg/kg PC comparé au groupe TEMOIN, tandis que la diminution de l'hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) observée à la même dose est restée dans les limites des valeurs normales.

**Tableau XX:** Paramètres hématologiques chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Paramètres	Valeurs normales	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
			20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
<b>Globules blancs (<math>10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	5-16	5,50 ± 0,63	4,60 ± 0,10	4,56 ± 0,92	8,07 ± 0,71**	6,20 ± 0,44	6,15 ± 0,67
<b>Lymphocytes (%)</b>	65-85	69,97 ± 2,24	81,58 ± 1,96*	75,62 ± 3,20	71,77 ± 5,11	68,60 ± 5,88	58,46 ± 5,56
<b>Monocytes (%)</b>	0-20	11,52 ± 0,39	9,58 ± 0,43*	10,40 ± 1,15	12,42 ± 4,62	12,87 ± 0,95	13,47 ± 1,38
<b>Granulocytes (%)</b>	0-27	17,40 ± 1,23	9,75 ± 1,37**	14,02 ± 2,14	6,80 ± 1,38**	14,63 ± 2,74	14,43 ± 3,04
<b>Globules rouges (<math>10^6/\mu\text{L}</math>)</b>	5-10	6,42 ± 1,05	8,64 ± 1,41	7,14 ± 1,46	13,20 ± 0,50**	8,41 ± 0,69	8,21 ± 0,78
<b>Hématocrite (%)</b>	32-53	36,73 ± 5,53	43,20 ± 7,64	41,56 ± 6,36	65,52 ± 2,69**	45,66 ± 4,66	46,48 ± 6,45
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	12-18	14,00 ± 0,96	19,25 ± 2,12	17,10 ± 3,14	26,58 ± 0,97**	13,04 ± 1,12	12,78 ± 0,15
<b>VCM (fL)</b>	52-60	58,10 ± 3,99	61,40 ± 4,61	59,75 ± 5,50	55,60 ± 1,07	54,50 ± 3,54	52,50 ± 1,11
<b>HCM (pg)</b>	17-29	27,98 ± 1,03	22,02 ± 7,02	38,50 ± 5,70	19,22 ± 0,44**	27,22 ± 1,10	29,37 ± 0,61
<b>CCMH (g/dL)</b>	32-45	41,42 ± 0,55	44,86 ± 3,54	39,72 ± 7,04	36,40 ± 0,68**	40,90 ± 1,12	39,22 ± 0,54
<b>Plaquettes (<math>10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	200-1100	262,25 ± 54,37	286,00 ± 73,51	415,33 ± 38,86	489,80 ± 72,46	228,00 ± 35,17	274,75 ± 25,32

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). HCM : Hémoglobine corpusculaire moyenne, CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, VCM : Volume corpusculaire moyen. Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 5). \*p ≤ 0,05, \*\*p ≤ 0,01 contre TEMOIN.

### III.6.2.5. Effets sur les paramètres biochimiques

Le tableau XXI résume la variation des paramètres biochimiques chez les mâles. Une diminution significative du taux de cholestérol total (CHOL-T), de triglycérides (TG), du rapport CHOL-T/CHOL-HDL et de l'indice athérogène du plasma (Log10 (TG/HDL- C)) a été observée quasiment à toutes les doses testées de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus*. La diminution de l'indice athérogène du plasma a persisté 14 jours après la fin des traitements, à la dose de 200 mg/kg PC ( $p \leq 0,05$ ). Une diminution de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) a également été observée à la dose de 200 mg/kg PC ( $p \leq 0,05$  ; 27,77%), tandis qu'aucune variation significative n'a été observée sur l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT), du taux de protéines totales et de la créatinine à toutes les doses testées. Une augmentation de la bilirubine totale (20 mg/kg PC ;  $p \leq 0,01$ ) a été notée. Cependant cette variation n'a pas été observée à de fortes doses (200 mg/kg PC).

**Tableau XXI:** Paramètres biochimiques chez les rats Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Paramètres	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
		20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
TG (mg/dL)	71,01 ± 5,44	33,61 ± 5,11**	35,37 ± 5,95**	30,63 ± 5,89**	71,01 ± 5,44	72,28 ± 4,87
CHOL-T (mg/dL)	70,91 ± 2,64	58,17 ± 2,36*	69,80 ± 3,41	50,30 ± 1,95**	63,15 ± 2,92	68,12 ± 2,86
CHOL-HDL (mg/dL)	10,91 ± 1,39	14,79 ± 1,27	17,60 ± 0,83**	13,41 ± 0,83	11,18 ± 0,89	15,68 ± 0,63##
CHOL-T/CHOL-HDL	6,37 ± 0,41	3,99 ± 0,20**	3,98 ± 0,20**	3,80 ± 0,24**	5,79 ± 0,53	4,37 ± 0,25
Log 10 (TG/CHOL-HDL)	0,84 ± 0,06	0,34 ± 0,05**	0,27 ± 0,06**	0,32 ± 0,09**	0,80 ± 0,05	0,66 ± 0,02#
ALAT (U/L)	25,92 ± 2,78	25,36 ± 1,52	25,64 ± 1,39	18,72 ± 1,27*	29,75 ± 3,18	22,4 ± 2,20
ASAT (U/L)	36,08 ± 0,63	38,03 ± 1,07	37,28 ± 0,75	35,85 ± 1,11	29,31 ± 5,92	33,08 ± 3,66
Bilirubine Totale (mg/dL)	2,088 ± 0,04	2,39 ± 0,06**	2,18 ± 0,02	2,23 ± 0,10	1,94 ± 0,23	1,67 ± 0,22
Créatinine (mg/dL)	1,03 ± 0,08	1,08 ± 0,04	1,03 ± 0,06	1,24 ± 0,09	0,88 ± 0,07	0,86 ± 0,05
Protéines Totales (g/dL)	3,39 ± 0,28	3,85 ± 0,25	3,27 ± 0,24	4,00 ± 0,19	3,37 ± 0,42	3,70 ± 0,36

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). CHOL-T: cholestérol total, CHOL-HDL: cholestérol-HDL, TG: triglycérides, ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate

aminotransférase. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*p  $\leq$  0,05, \*\*p  $\leq$  0,01 vs TEMOIN) ; # p  $\leq$  0,05, ## p  $\leq$  0,01 contre TEMOIN SAT.

Chez les femelles, après 28 jours de traitement (Tableau XXII), l'administration de l'extrait aqueux de *M. arboreus* a diminué le taux de triglycérides (TG ; p  $\leq$  0,05), à toutes les doses testées. Le rapport CHOL-T/CHOL-HDL et l'indice athérogène du plasma (Log10 (TG/HDL- C)) a également diminué à la dose de 20 et 200 mg/kg PC (p  $\leq$  0,05). Quatorze jours après la fin des traitements, une diminution persistante du rapport CHOL-T/CHOL-HDL, de l'indice athérogène du plasma (Log10 (TG/HDL- C)) et une augmentation du CHOL-HDL ont été observées dans le groupe 200 SAT comparé au TEMOIN SAT. *M. arboreus* a d'autre part, réduit le taux de créatinine, de bilirubine totale à toutes les doses testées, tandis qu'une diminution significative de l'activité de l'ALAT et l'ASAT a été observée respectivement aux doses de 110 et 200 mg/kg PC.

**Tableau XXII:** Paramètres biochimiques chez les rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

Paramètres	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes satellites	
		20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
TG (mg/dL)	78,36 $\pm$ 10,61	33,61 $\pm$ 3,80**	38,56 $\pm$ 4,26*	33,40 $\pm$ 10,45*	74,11 $\pm$ 6,02	55,10 $\pm$ 6,93
CHOL-T (mg/dL)	55,95 $\pm$ 3,61	53,32 $\pm$ 3,41	50,41 $\pm$ 3,22	68,36 $\pm$ 3,44	54,13 $\pm$ 4,39	49,77 $\pm$ 4,27
CHOL-HDL (mg/dL)	10,77 $\pm$ 1,15	13,91 $\pm$ 0,37	12,21 $\pm$ 0,73	16,79 $\pm$ 1,01*	9,75 $\pm$ 0,69	12,64 $\pm$ 0,57#
CHOL-T/CHOL-HDL	6,05 $\pm$ 0,63	3,85 $\pm$ 0,28**	4,22 $\pm$ 0,50	4,12 $\pm$ 0,29*	5,85 $\pm$ 0,33	3,94 $\pm$ 0,32#
Log 10 (TG/CHOL-HDL)	0,85 $\pm$ 0,11	0,37 $\pm$ 0,04**	0,49 $\pm$ 0,07	0,13 $\pm$ 0,03**	0,87 $\pm$ 0,02	0,62 $\pm$ 0,05#
ALAT (U/L)	28,30 $\pm$ 0,87	24,96 $\pm$ 0,98	19,12 $\pm$ 1,14**	20,37 $\pm$ 1,12	27,56 $\pm$ 0,94	13,6 $\pm$ 1,00##
ASAT (U/L)	42,48 $\pm$ 1,02	44,28 $\pm$ 0,94	39,20 $\pm$ 1,40	37,35 $\pm$ 1,84*	41,78 $\pm$ 5,14	27,40 $\pm$ 2,68
Bilirubine Totale (mg/dL)	2,42 $\pm$ 0,01	2,14 $\pm$ 0,01**	2,16 $\pm$ 0,05**	2,18 $\pm$ 0,05*	1,76 $\pm$ 0,04	1,72 $\pm$ 0,04
Créatinine (mg/dL)	1,30 $\pm$ 0,05	1,14 $\pm$ 0,03*	0,95 $\pm$ 0,03**	0,97 $\pm$ 0,05**	1,10 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,04
Proteins Totales (g/dL)	3,84 $\pm$ 0,09	3,71 $\pm$ 0,10	3,49 $\pm$ 0,10*	3,14 $\pm$ 0,11**	3,71 $\pm$ 0,19	3,80 $\pm$ 0,26

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). CHOL-T: cholestérol total, CHOL-HDL: cholestérol-HDL, TG: triglycérides, ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*p  $\leq$  0,05, \*\*p  $\leq$  0,01 vs TEMOIN ; # p  $\leq$  0,05, ## p  $\leq$  0,01 contre TEMOIN SAT.

### III.6.2.6. Histomorphologie des organes

Chez les mâles, l'analyse histomorphologique du foie, des reins et des poumons des animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* n'a montré aucune différence significative par comparaison aux groupes témoins (TEMOIN, TEMOIN SAT) (Figure 44 A et 44 B). Les tubes séminifères des animaux traités avec l'extrait aux doses de 110 et 200 mg/kg PC, ont présenté dans leur lumière plus de cellules germinales comparés au TEMOIN (Figure 44 A). Une réduction dose-dépendante de la lumière des vésicules séminales et la formation de plis muqueux secondaires ont été observées. Egalement, une perte dose-dépendante de gouttelettes sécrétoires (encore appelé « *corpora amylacea* »), accompagnée d'une atrophie des glandes prostatiques ont été observées. Même 14 jours après arrêt des traitements, ces effets étaient maintenus dans le groupe 200 SAT (Figure 44 B).

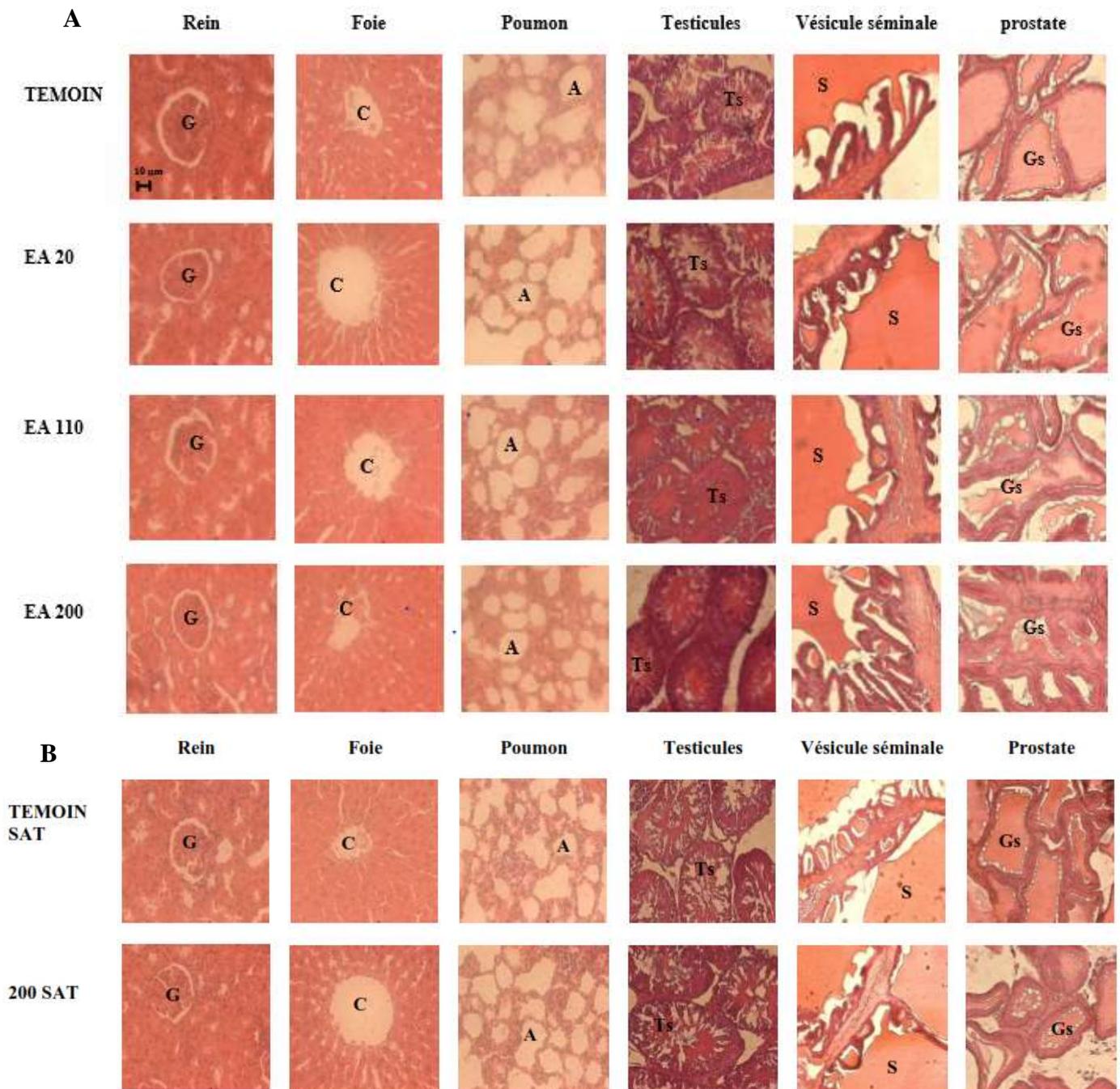


Figure 49 : Microphotographies de coupe histologique de rein, du foie et des poumons (hématoxyline-éosine, 400X), et des testicules, des vésicules séminales et de prostate (hématoxyline-éosine, 200X) chez le raat après 28 jours de traitement par voie orale (A), puis après 14 jours post-traitement (B), avec l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg).

**G: Glomérule; C: Veine centro-lobulaire; A: alvéole; St: Tube séminifère; S: Sécrétion; Gs: gouttelettes sécrétoires. (n = 5).**

Chez les femelles, aucune différence significative par comparaison aux groupes témoins, n'a été relevée sur le foie, les reins et les poumons (Figure 45 A, 45 B). L'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC a induit une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ; 39,99%) de la taille de l'épithélium utérin (Figure 45 A et Tableau XXIII). Cependant, une diminution tardive ( $p \leq 0,05$  ; 22,18%) de ce dernier paramètre a été observée dans le groupe satellite même 14 jours après arrêt du traitement. *M. arboreus* a induit une augmentation significative des follicules de De Graaf à des fortes doses (110 mg/kg and 200 mg/kg), et cette augmentation (166,67%) a persisté après 14 jours post-traitement à la dose de 200 mg/kg PC (groupe 200 SAT) (Figure 45 B). Egalement, *M. arboreus* a augmenté le nombre de corps jaunes de 64,28% à la dose de 110 mg/kg puis de 92,86% à la dose de 200 mg/kg PC, 14 jours après l'arrêt des traitements.

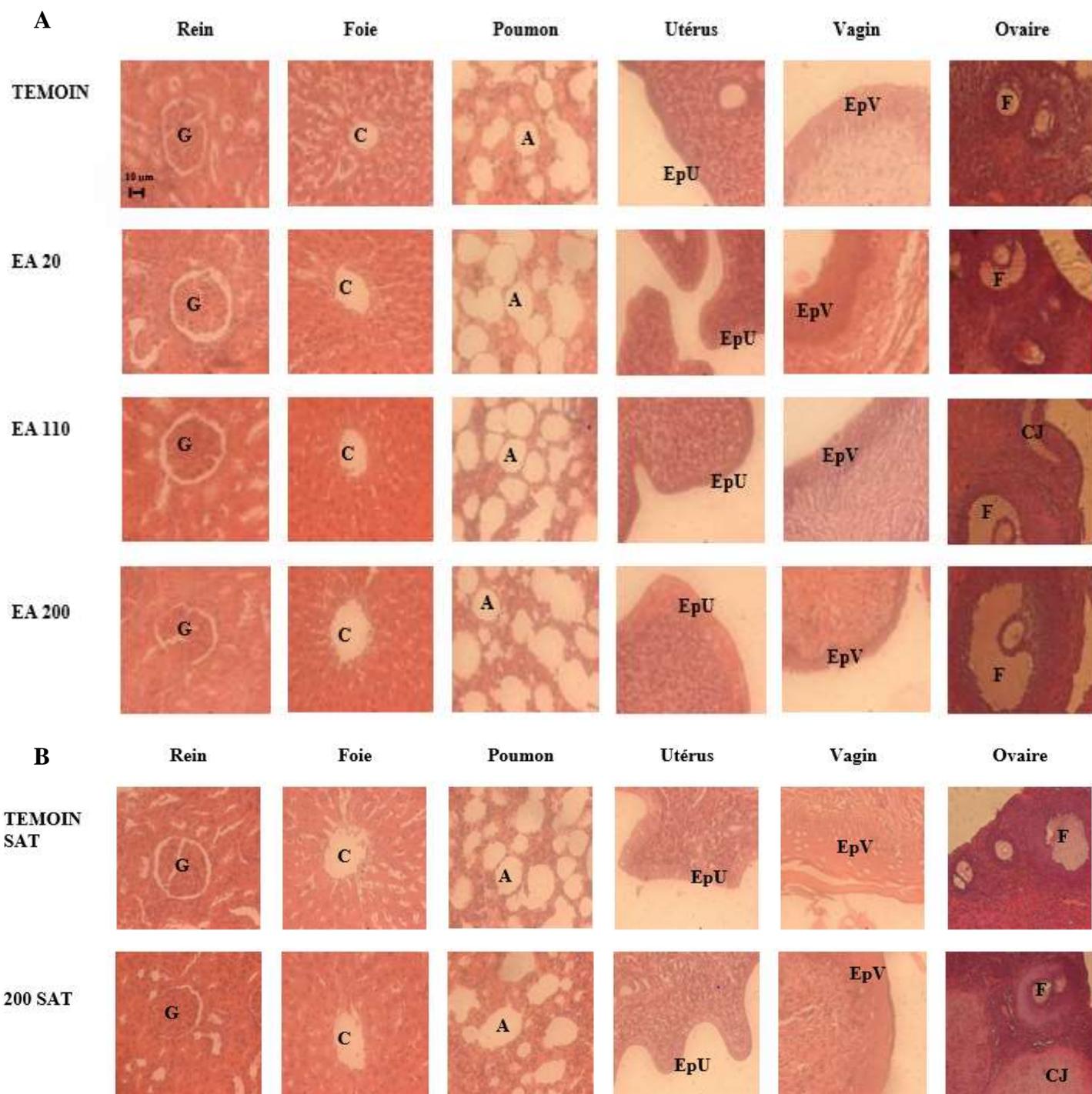


Figure 50 : Microphotographies de coupe histologique de rein, du foie, des poumons, de l'utérus, et du vagin (hématoxyline-éosine, 400X), et des ovaires (hématoxyline-éosine, 200X) chez la rate après 28 jours de traitement par voie orale (A), puis après 14 jours post-traitement (B), avec l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg).

**G: Glomérule; C: Veine centro-lobulaire; A: alvéole ; EpU: Epithelium utérin; EpV: Epithelium vaginal; F: Follicules; CJ: Corps jaune. (n = 5).**

**Tableau XXIII:** Taille de l'épithélium vaginal et utérin ( $\mu\text{m}$ ) et nombre de follicules matures chez des rates Wistar après 28 jours de traitement par voie orale avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* aux doses de 20, 110 et 200 mg/kg PC.

	TEMOIN	Différentes doses de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. arboreus</i> (mg/kg PC)			Groupes Satellites	
		20	110	200	TEMOIN SAT	200 SAT
<b>Taille de l'épithélium (<math>\mu\text{m}</math>)</b>						
Vagin	21,13 $\pm$ 4,89	25,46 $\pm$ 3,57	21,75 $\pm$ 2,62	19,66 $\pm$ 5,05	24,24 $\pm$ 2,57	22,17 $\pm$ 3,70
Utérus	6,41 $\pm$ 0,71	6,97 $\pm$ 1,04	6,24 $\pm$ 0,30	8,97 $\pm$ 0,42*	6,40 $\pm$ 0,40	4,98 $\pm$ 0,30#
<b>Nombres de follicules matures</b>						
Follicules antraux	2,20 $\pm$ 0,37	2,75 $\pm$ 0,48	3,25 $\pm$ 0,48	3,20 $\pm$ 0,58	1,20 $\pm$ 0,37	1,00 $\pm$ 0,54
Follicules de DeGraaf	0,40 $\pm$ 0,24	0,80 $\pm$ 0,58	1,75 $\pm$ 0,37*	2,31 $\pm$ 0,31*	0,60 $\pm$ 0,40	1,60 $\pm$ 0,50
Corps jaunes	5,60 $\pm$ 1,32	5,20 $\pm$ 1,71	9,20 $\pm$ 0,86	5,20 $\pm$ 1,65	5,60 $\pm$ 1,69	10,80 $\pm$ 2,41

TEMOIN SAT : témoin satellite ayant reçu le solvant de dilution des substances ; 200 SAT : satellite ayant reçu l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* à la dose la plus élevée (200 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n = 5). \*p  $\leq$  0,05 contre TEMOIN ; # p  $\leq$  0,05 contre TEMOIN SAT.

### III.7. INVESTIGATION PHYTOCHIMIQUE : IDENTIFICATION ET ISOLEMENT DES METABOLITES SECONDAIRES DE *M. arboreus*.

Les différentes méthodes de chromatographie en phase liquide et gazeuse utilisées ont permis d'isoler et/ou identifier de nombreux composés dont 113 de l'extrait aqueux et 104 de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus*. Sur la base des caractéristiques chromatographiques (temps de rétention, polarité) et spectrométriques (spectres ultraviolets, valeur m/z des ions quasi moléculaires), ainsi que les données HRMS/MS (valeurs m/z des principaux ions issus de la fragmentation), les structures de 35 composés issus de l'extrait aqueux et de 23 issus de l'extrait méthanolique ont été élucidées par comparaison avec les

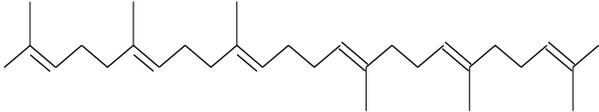
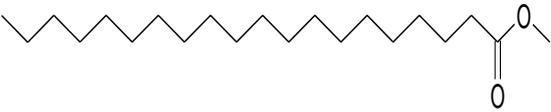
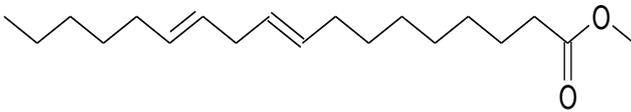
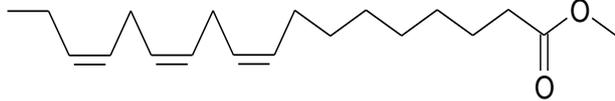
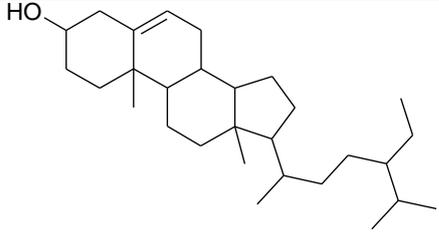
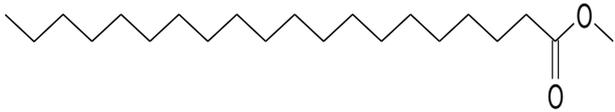
données publiées ou existant en bibliothèque interne (voir Annexe 2). Certains de ces composés sont représentés dans le tableau XXIV. L'analyse chimique a montré que l'extrait

aqueux était constitué d'acides gras (79,28 %), de terpenoïdes (4,89%). Les acides gras majoritaires étaient le palmitate de méthyle (63,65%), méthyl tetradecanoate (2,90%), méthyl 12-methyltetradecanoate (2,06%), (Z)-Méthyl hexadec-7-enoate (1,53%), méthyl docosanoate (1,26%), méthyl 8-(2-hexylcyclopropyl) octanoate (1,24%), méthyl tetracosanoate (1,23%), méthyl stéarate (1,12%), méthyl pentadecanoate (1,05%), méthyl (Z)-9-octadecenoate ou méthyl oléate (1,23%), et du méthyl tridecanoate, méthyl eicosanoate ou méthyl arachidate, méthyl 9,12-octadecadienoate ou méthyl linoléate, méthyl (9E)-9-dodecenoate, méthyl 11,14-eicosadienoate, méthyl cis-10-heptadecenoate. Les terpènes majoritaires identifiés étaient le squalène (3,94%), et l'isocaryophyllène (0,08%).

Cependant l'extrait méthanolique quant à lui était constitué de 70,90% d'acides gras, 0,82% de phytostérols ( $\beta$ -sitostérol), 2,34% de terpenoïdes (phytol, neophytadiène), puis d'hydrocarbures (hexadécane), d'ester d'acide dicarboxylique (phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester), de cétones (2-dodécane), et des organosilicones (hexaméthylcyclotrisiloxane). Les acides gras obtenus étaient majoritairement le palmitate de méthyle (51,50%), méthyl stéarate (8,84%), méthyl linoléate (7,04%), méthyl linoléate (0,04%) ; méthyl (Z)-9-octadecenoate (1,58%) ; méthyl eicosanoate (0,58%) ; méthyl tridecanoate (0,11%) ; méthyl (E) hexadec-2-enoate (0,09%) ; méthyl decanoate (0,09%) ; méthyl linoléate (0,03%),

L'élucidation des structures des autres composés est en cours.

**Tableau XXIV:** Composés identifiés dans les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus*.

<b>Extrait aqueux</b>	
	
<p><b>Nom du composé :</b> Squalène (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 3,9473%</p> <p><b>Nature du composé :</b> triterpène</p>	<p><b>Nom du composé :</b> Methyl eicosanoate ou Methyl arachidate (C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 0,24547 %</p> <p><b>Nature du composé :</b> Ester de méthyle d'acide gras</p>
	
<p><b>Nom du composé :</b> Methyl 9,12-Octadecadienoate ou Methyl linoleate (C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 0,2123 %</p> <p><b>Nature du composé :</b> Ester de méthyle d'acide gras</p>	
<b>Extrait méthanolique</b>	
	
<p><b>Nom du composé :</b> Méthyl octadeca-9,12,15-trienoate ou Méthyl linolenate (C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 7,0499%</p> <p><b>Nature du composé :</b> Ester de méthyle de l'acide linoléique</p>	<p><b>Nom du composé :</b> β-Sitostérol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 0,82382 %</p> <p><b>Nature du composé :</b> phytostérol</p>
	
<p><b>Nom du composé :</b> Methyl eicosanoate ou Methyl arachidate (C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 0,58689 %</p> <p><b>Nature du composé :</b> Ester de méthyle d'acide gras</p>	<p><b>Nom du composé :</b> Methyl (9E,12E)-Octadeca-9,12-dienoate ou Methyl linolelaidate (C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>)</p> <p><b>Abondance relative :</b> 0,3560%</p> <p><b>Nature du composé :</b> Ester de méthyle d'acide gras</p>



**CHAPITRE IV**  
**DISCUSSION**

Le présent travail de recherche avait pour objectif principal d'apporter des bases scientifiques aux supposés effets bénéfiques de *Myrianthus arboreus* sur la fonction de reproduction femelle. Deux extraits ont été évalués dont l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique. Les effets de ces extraits ont été évalués sur la maturation sexuelle des rates Wistar et leur fertilité, les paramètres de gestation et le comportement sexuel desdites rates. La toxicité de l'extrait aqueux, traditionnellement utilisé, a également été évaluée afin de déterminer ses limites d'utilisation. Les résultats ont montré que chez les animaux nourris au soja, l'ouverture vaginale a eu lieu 10 jours plus tôt que chez les animaux du groupe TEMOIN. Cet effet serait dû à la présence, dans le soja, de composés à potentiel œstrogénique. En effet, Thigpen *et al.* (2003) et Li *et al.* (2014) ont rapporté que les isoflavones contenus dans le soja stimulent une ouverture vaginale précoce chez les rates. Ces composés, connus sous le terme phytoœstrogènes, sont capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes et d'induire des effets œstrogéniques dont l'ouverture vaginale chez les rates (Gallo *et al.*, 1999). Contrairement à l'extrait aqueux qui n'a pas significativement affecté l'âge de l'ouverture vaginale en comparaison avec les animaux du groupe TEMOIN, l'extrait méthanolique de *M. arboreus*, à toutes les doses testées, a induit un effet similaire à celui observé chez les animaux nourris au soja, suggérant que l'extrait méthanolique contiendrait des métabolites secondaires œstrogéno-mimétiques absents ou présents en faible quantité dans l'extrait aqueux, et qui seraient responsables de la puberté précoce. De plus, comparé à l'eau, il est connu qu'une extraction avec du méthanol donne un rendement d'extraction beaucoup plus élevé en composés phénoliques totaux ainsi qu'en flavonoïdes, reconnus comme étant une classe de phytoœstrogènes (Do *et al.*, 2014).

Les résultats montrent également que les extraits aqueux (20 et 110 mg/kg PC) et méthanolique (à toutes les doses testées) de *M. arboreus* ont augmenté le poids des ovaires. Cet effet trophique au niveau des ovaires serait dû à la présence de follicules matures (follicules antraux et de DeGraaf) dans les ovaires. La littérature rapporte que ces follicules produisent de grandes quantités d'œstrogènes (Marieb et Hoehn, 2010). Le poids de l'utérus quant à lui, a augmenté uniquement après traitement avec l'extrait méthanolique aux doses de 20 et 110 mg/kg PC. Au niveau de l'utérus, les phytoœstrogènes tout comme les œstrogènes stimulent l'imbibition d'eau et/ou la prolifération cellulaire, toutes dépendantes du récepteur  $\alpha$  aux œstrogènes (ER $\alpha$ ) et à l'origine de la croissance utérine (augmentation du poids et de la taille de l'épithélium) (Hewitt *et al.*, 2003 ; Ateba *et al.*, 2013). Concernant la stéroïdogénèse, les résultats montrent que les deux extraits de *M. arboreus* ont diminué le taux de cholestérol

ovarien quasiment à toutes les doses testées. Cette baisse du taux de cholestérol ovarien était associée à une augmentation des taux sériques d'œstradiol et de progestérone uniquement après traitement à l'extrait méthanolique, suggérant une stéroïdogénèse soutenue telle que l'ont rapporté Henderson *et al.* (1981). La production d'œstradiol est stimulée par des concentrations élevées de FSH et de LH. Ces gonadotrophines par leur action sur la croissance des follicules ovariens, induisent la production d'œstrogènes (Marieb et Hoehn, 2010). Cependant, malgré l'augmentation de la FSH et de la LH observée avec l'extrait aqueux, à la dose de 200 mg/kg, le taux d'œstradiol n'a pas été détecté dans le sérum des animaux. Le mécanisme sous-jacent de ce résultat n'est pas encore élucidé. Toutefois, ce taux circulant faible et non détectable d'œstradiol corrobore ou explique l'absence de croissance utérine observée, et par la même occasion confirme l'aspect inachevé de la maturation sexuelle des animaux traités avec l'extrait aqueux de *M. arboreus*.

A l'instar du soja, les deux extraits testés de *M. arboreus* ont augmenté l'index de fertilité. Plus de 50% des femelles étaient gestantes après traitement avec l'extrait aqueux à la dose de 110 mg/kg et l'extrait méthanolique aux doses de 20 et 110 mg/kg. Dans ces groupes respectifs, 100% des femelles gestantes ont eu des fœtus viables à la naissance, suggérant qu'à ces doses, les extraits de *M. arboreus* et les isoflavones de soja seraient capables d'induire des changements hormonaux et des modifications sur les organes reproducteurs (ovaires et utérus) pouvant conduire à l'implantation et au développement des embryons. La littérature rapporte que l'implantation est un événement crucial dans la croissance et le développement embryonnaire des mammifères qui se produit 4-8 jours après la fécondation chez les humains et les rongeurs (Oludare et Iranloye, 2016). Il est reconnu comme étant régulé par une interaction adaptée des hormones ovariennes (œstrogènes et progestérone) et toute perturbation dans l'équilibre de ces hormones pourrait entraîner des avortements et causer l'infertilité (Hiremath *et al.*, 1999). Par conséquent, ces traitements auraient activé l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien chez les rates immatures en induisant la libération des hormones qui ont contribué à la mise en place de certaines modifications de l'endomètre (Deb *et al.*, 2006). Ces changements hormonaux ont transformé l'utérus en un organe réceptif, favorable à l'implantation et au développement du blastocyste (Watcho *et al.*, 2009). D'après le test utérotrophique de 3 jours, seul l'extrait méthanolique a été capable d'induire un faible effet utérotrophique et ceci à la dose la plus élevée de 200 mg/kg. Dans ce test, les ovaires (source endogène d'œstrogènes) étant absents, la faible croissance utérine observée serait due à la capacité de certains composés présents dans l'extrait à interagir directement avec l'ER $\alpha$

(non via la production d'œstrogènes endogènes). Cependant, aux doses testées, cette activité est assez faible pour avoir un impact sur la fertilité. D'après Goetz (2016), l'efficacité des plantes à effet œstrogénique est trop faible pour obtenir une grossesse (implantation et développement du blastocyste). L'augmentation du taux de gestation observé dans cette étude pourrait reposer sur un effet utéro-trophique prolongé, comme observé par Watcho *et al.* (2009). Bien que les extraits aqueux et méthanolique de *M. arboreus*, à la dose de 200 mg/kg PC, montrent un index de fertilité supérieur à celui du témoin, cette dose a été associée à des taux de gestation inférieurs ou égaux à 50% (soit 50 et 33,33% respectivement), suggérant que ladite dose augmenterait les fausses couches et/ou la mortalité et la résorption des fœtus in utero. Ces données fournissent donc des preuves scientifiques indiquant que la dose utilisée par les médecins traditionnels (19,28 mg/kg soit environ 20 mg/kg équivalent à environ 120 mg/kg chez la rate) serait efficace pour le traitement de l'infertilité et décourage fortement l'utilisation des doses plus élevées (par exemple 1,6 fois plus élevées). Globalement, un index de fertilité et un taux de gestation plus élevés ont été obtenus avec l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux de feuilles de *M. arboreus* couramment utilisé par les populations. Ces résultats suggèrent que pour avoir de meilleurs effets thérapeutiques sur l'infertilité primaire chez la femme, il faudrait macérer les feuilles de *M. arboreus* dans un solvant alcoolique. Le jus de raphia ou encore vin de palme connu sous le nom de «matango» qui constitue le solvant alcoolique le plus utilisé dans la médecine populaire au Cameroun pour l'extraction des plantes peut être plus approprié.

Sur les paramètres gestationnels, le nombre de corps jaunes a augmenté chez les animaux traités avec l'extrait méthanolique aux doses de 110 et 200 mg/kg PC. L'extrait aqueux a eu le même effet (bien que non significatif) aux doses de 20 et 200 mg/kg PC. Ces résultats suggèrent que ces extraits pourraient influencer la folliculogénèse en stimulant l'ovulation car la présence de corps jaunes est indicatrice de l'effectivité du processus d'ovulation dans les ovaires (Baerwald *et al.*, 2005). Les animaux ayant reçus l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* aux doses de 110 et 200 mg/kg PC, en plus d'avoir un index de fertilité, de gestation et d'implantation comparable à celui du groupe témoin, n'ont présenté aucune résorption ni perte de fœtus après implantation contrairement au groupe témoin. Cependant une diminution significative de l'index d'implantation et une augmentation de la perte de fœtus avant implantation ont été observés à la dose de 20 mg/kg PC. Ces résultats suggèrent que si à la dose 20 mg/kg PC de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* altère l'implantation, aux doses de 110 et 200 mg/kg PC bien que n'ayant aucun impact sur

l'ovulation et l'implantation, cet extrait promeut le maintien de la grossesse. La corrélation entre le nombre de blastocystes implantés dans l'utérus et ceux qui ne se sont pas développés, est établie grâce à l'index de résorption et la perte après implantation (Almeida et Lemonica, 2000). Concernant l'extrait méthanolique, en dehors de l'augmentation significative du nombre de corps jaunes (110 et 200 mg/kg PC) et de sites d'implantation (200 mg/kg PC), son administration à la dose de 200 mg/kg a été associée à une augmentation significative du nombre de résorption et une perte significative de fœtus après implantation comparé au groupe témoin. Ces résultats suggèrent que l'effet bénéfique de cet extrait sur l'ovulation et l'implantation, à la dose de 200 mg/kg PC serait associée à une inhibition du développement du blastocyste implanté (ou embryon). Des effets similaires avaient été observés avec l'huile des graines de *Azadirachta indica* lorsque administrée à des femelles gestantes pendant les 6 premiers jours de gestation (Lyra *et al.*, 2005).

En plus des troubles physiologiques, des altérations du comportement sexuel ont également été impliquées dans l'infertilité féminine (Yakubu et Olutoye, 2016 ; Goldstein *et al.*, 2000 ; Bermen *et al.*, 2000). Chez la femme, le comportement sexuel inclut une meilleure qualité de vie (Yakubu et Olutoye, 2016) et le succès de la fertilité (Bokaie *et al.*, 2015). La période de chaleur survient généralement aux alentours de l'ovulation. Des études expérimentales ont montré que durant cette période, les rates acceptent l'accouplement avec des mâles, sollicitent leur attention, bref affichent un comportement sexuel en leur présence (Yakubu et Olutoye, 2016). Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 110 mg/kg PC a significativement réduit le temps de latence de changement de compartiment. Sur la phase pro-réceptive, ce traitement a augmenté le nombre de sollicitations du mâle sans effet sur le nombre de rejet (110 et 200 mg/kg PC), la fréquence de « darting » (200 mg/kg PC) et la fréquence de « hopping » (200 mg/kg PC). La latence de « darting » a cependant diminué à la suite du traitement. Enfin, l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg PC a augmenté la durée de lordose. Ces résultats indiquent que cet extrait aurait un effet sur les 3 phases du comportement sexuel ; à savoir appétitive (110 mg/kg PC), pro-réceptive (20 et 200 mg/kg PC) et de consommation (200 mg/kg PC). Le comportement sexuel chez la femme dépend fortement des stéroïdes sexuels d'origine gonadique, qui ont non seulement des effets périphériques, mais aussi des effets sur le système nerveux central (Aswar *et al.*, 2010 ; Pfaus *et al.*, 2001 ; Olivier *et al.*, 2011). L'effet observé avec l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg PC, est également caractérisé par une diminution bien que non significative du temps passé dans le compartiment non opérant. Ceci

suggère que cette dose stimulerait l'excitation/éveil sexuel qui se matérialise chez ces animaux par l'augmentation de l'activité locomotrice. Cette dose serait la meilleure par son action sur les 3 phases du comportement sexuel et conforte l'idée selon laquelle l'extrait aqueux de *M. arboreus* rehausse le taux sérique de LH et FSH, et par ricochet booste le taux sérique des hormones sexuelles en stimulant la folliculogénèse et déclenche l'action de ces hormones dans l'organisme, tels que relevés dans le test de maturation sexuelle. Il est connu que les stéroïdes sexuels (œstradiol et progestérone) jouent un rôle très important dans le maintien d'un comportement sexuel normal qui est cyclique chez la rate. Et les sites neuro-anatomiques par lesquels ces hormones agissent pour faciliter le comportement sexuel ont été rapportés comme étant le noyau ventro-médial de l'hypothalamus, la zone pré-optique, le mésencéphale central gris, et les zones cervical et lombaire des cordes spinales (Olivier *et al.*, 2011 ; Spiteri *et al.*, 2010 ; Aswar *et al.*, 2010).

Le cycle œstral est caractérisé par des changements histologiques dans les ovaires, l'utérus et le vagin (Goldman *et al.*, 2007) qui surviennent durant les différentes phases dont le proestrus, l'œstrus, le metœstrus et le diœstrus (Westwood, 2008). Ces phases sont identifiées en fonction du type de cellules observées dans le frottis vaginal. L'étude sur ces différentes phases du cycle œstral contribue à une détection plus précise des altérations cycliques. Les résultats de cette étude ont montré qu'après 30 jours de traitement, le Maca-ginseng-gingembre ainsi que l'extrait aqueux de *M. arboreus* à la dose de 200 mg/kg ont significativement augmenté le nombre de cycle œstral, et diminué la durée de chaque cycle soit d'environ 5 jours. Ce résultat est en accord avec celui de Westwood. (2008), qui stipule que la réceptivité sexuelle (chaleur) chez une rate sexuellement mature apparaît seulement tous les 4 ou 5 jours dans un cycle subdivisé en 4 phases (proestrus, œstrus, diœstrus I ou metœstrus et diœstrus II). De même, ces traitements ont induit une variation significative sur les différentes phases du cycle œstral, car l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg PC a diminué le temps passé dans la phase du proestrus et du metœstrus puis augmenté le temps passé en œstrus tandis que, le Maca-ginseng-gingembre a uniquement augmenté le temps passé dans la phase du proestrus. Durant le proestrus, le taux d'œstrogènes augmente et les follicules croissent rapidement (Maeda *et al.*, 2000). L'ovulation survient durant la nuit de l'œstrus 10 à 12 h après le pic de l'hormone lutéinisante (LH) qui achève la maturation folliculaire et provoque l'ovulation (Johnson, 2007 ; Paccola *et al.*, 2013). Une explication à cet œstrus prolongé pourrait être la maturation des vagues chevauchantes de croissances folliculaires, avec une concentration plasmatique d'œstrogènes qui reste élevée pendant toute

cette durée. Cette sécrétion tonique en œstrogènes stimule la cornification persistante de l'épithélium vaginal (Westwood, 2008), qui s'est caractérisée dans le test de comportement sexuel par une réceptivité sexuelle maximale des femelles ; d'où l'extrait aqueux (200 mg/kg PC) utilisé ici pourrait être considéré comme un stimulateur d'ovulation puisqu'il allonge la phase de l'œstrus par une induction du pic de LH et une augmentation de la motivation sexuelle tels que présentés respectivement dans les tests de maturation et de comportement sexuel.

Pour déterminer les limites d'utilisation de *M. arboreus*, l'étude de la toxicité de l'extrait aqueux a été entreprise. Pour son utilisation traditionnelle, seule la toxicité de l'extrait aqueux a été investiguée. En essai aigu, nous n'avons enregistré aucune mortalité, aucun signe extérieur de toxicité après 14 jours d'observation et ceci même après la reprise de l'expérience. Cet extrait peut être classé en catégorie 5 ou non classé selon le système de classification globalement harmonisé des substances et mélanges chimiques adopté par l'OCDE (OCDE, 2001b), et sa DL<sub>50</sub> pourrait être estimée supérieure à 5000 mg/kg. De telles substances sont considérées comme substances pratiquement non toxiques (Kennedy *et al.*, 1986). Ces valeurs de DL<sub>50</sub> sont généralement obtenues avec des plantes largement utilisées comme aliments et/ou légumes (Ateba *et al.*, 2014; Tchoumtchoua *et al.*, 2014).

En traitement subaigu, aucune modification du comportement, de la respiration et des changements somatomoteurs n'a été observé dans les deux sexes (mâles et femelles) pendant toute la période de traitement et même 14 jours après arrêt des traitements. Outre la diminution transitoire (non constante) du poids corporel observée 8 jours après la fin du traitement chez les mâles (groupe 200 SAT), ce paramètre n'a pas changé pendant les 28 jours de traitement chez les deux sexes, indiquant que l'administration de l'extrait aqueux de *M. arboreus* n'a pas modifié la croissance normale des animaux.

Le poids relatif des organes est un indicateur des effets toxiques des médicaments (Piao *et al.*, 2013). La variation significative du poids relatif des poumons observée dans les deux sexes à la dose de 20 mg/kg pourrait être cependant considérée comme non toxique puisqu'aucun effet n'a été observé sur ce paramètre aux doses les plus élevées de 110 et 200 mg/kg PC. De même, aucune altération histologique n'a été notée dans les poumons.

Chez les mâles, l'extrait aqueux de *M. arboreus* a induit une augmentation légère du poids relatif des testicules tout en réduisant le poids des vésicules séminales à la dose de 200 mg/kg PC. En outre, une diminution tardive du poids relatif de la prostate a été observée dans

le groupe satellite (200 SAT). L'examen histologique des vésicules séminales, a indiqué une réduction dose-dépendante des sécrétions dans la lumière, ainsi qu'une formation de plusieurs plis muqueux secondaires. De même, une perte dose-dépendante des corps amylicés accompagnée d'une atrophie marquée des glandes prostatiques a été observée avec la dose de 200 mg/kg PC. Cet effet s'est maintenue 14 jours après la fin du traitement. Il est bien connu que le développement, la croissance et le fonctionnement normal des testicules et des glandes accessoires mâles dépendent du ratio local androgènes/œstrogènes et de la capacité de chaque hormone à activer ses récepteurs. La diminution du taux d'androgènes seul normalement devrait entraîner une diminution du poids de tous les organes sexuels masculins et une perte de l'activité sécrétrice des glandes accessoires. L'effet complexe obtenu dans la présente étude suggère cependant que l'extrait aqueux de *M. arboreus* a augmenté le ratio androgènes/œstrogènes dans les testicules et l'a diminué dans les glandes sexuelles accessoires. Les mécanismes sous-jacents d'un tel effet sont encore inconnus.

Chez les femelles, l'extrait aqueux a induit une augmentation du poids relatif de l'ovaire (200 mg/kg PC) ainsi qu'une augmentation persistante du poids frais de l'utérus aux doses de 110 et 200 mg/kg PC. De plus, la taille de l'épithélium utérin a augmenté à la dose de 200 mg/kg PC tandis qu'une diminution tardive de ce paramètre a été observée dans le groupe 200 SAT. L'augmentation du poids des ovaires et de l'utérus est un processus physiologique biphasique combinant l'imbibition de l'eau et/ou la prolifération cellulaire (Jablonski *et al.*, 2003 ; Hewitt *et al.*, 2003 ; Archer, 2004). Le poids de l'ovaire est généralement utilisé comme critère d'évaluation des effets des composés et des plantes médicinales sur la folliculogénèse ovarienne (propriétés pro-fertilisante). L'augmentation de ce paramètre est généralement attribuée à la maturation et à la différenciation des follicules, à la prolifération des tissus fibreux et au remplissage de fluide dans la cavité centrale. Tandis que la croissance ovarienne est induite par des composés gonadotropes et œstrogéniques (Müller *et al.*, 2009; Onyeka *et al.*, 2012), les œstrogènes et les composés œstrogéniques sont responsables de la croissance utérine (Mvondo *et al.*, 2011; Ateba *et al.*, 2013). Dans cette étude, une augmentation du nombre de follicules de DeGraaf a été observée avec les doses de 110 et 200 mg/kg PC, puis 14 jours après arrêt des traitements à la dose de 200 mg/kg PC. Pareillement, le nombre de corps jaunes a augmenté à la dose de 110 mg/kg alors qu'une augmentation tardive a été observée avec la dose de 200 mg/kg PC. Tous ces résultats indiquent que l'extrait aqueux de *M. arboreus* favorise la maturation folliculaire et l'ovulation. Il est bien connu que l'hormone folliculo-stimulante (FSH) est responsable du développement

des follicules ovariens alors que l'hormone lutéinisante (LH) stimule l'ovulation et la formation du corps jaune ainsi que la production d'œstrogènes et de progestérone par ce dernier. Sur cette base, l'extrait aqueux de *Myrianthus arboreus* pourrait induire la production de FSH, de LH et d'œstrogènes, et ceci constituerait le support scientifique à son utilisation traditionnelle contre l'infertilité chez la femme. La production probable d'œstrogènes serait responsable, au moins en partie, des effets œstrogéniques observés (croissance utérine). Par ailleurs, la croissance utérine observée dans la toxicité sub-aiguë n'est toutefois pas un effet recherché car elle pourrait conduire à une hyperplasie atypique, des précurseurs de lésion de nombreux carcinomes de l'endomètre. La diminution tardive de la taille de l'épithélium utérin observée dans le groupe satellite (200 SAT) suggère cependant un effet anti-prolifératif, qui pourrait être considéré comme un effet bénéfique, car les suppresseurs de tumeurs de l'endomètre inhibent principalement la division cellulaire et favorisent l'apoptose.

Dans le sang total des mâles, l'extrait aqueux a induit une diminution du nombre de globules blancs de 38,42% à la dose de 200 mg/kg PC. En dehors de la réduction des lymphocytes, aucune variation significative n'a été observée dans les autres types de leucocytes, ce qui suggère que l'extrait aqueux aurait conduit à la destruction des cellules T ou B immatures dans leur site de production ou des lymphocytes matures dans la circulation sanguine. Outre l'augmentation significative du nombre de globules rouges et la diminution du volume corpusculaire moyen (VCM) observées à la dose de 110 mg/kg PC (dans les limites normales), une augmentation tardive de l'hémoglobine corpusculaire moyen (HCM) a été notée (Groupe 200 SAT) tandis que, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) est restée normale. Le VCM doit être considéré avec le HCM puisque le volume cellulaire (VCM) affecte la quantité d'hémoglobine présente par cellule (HCM). Les anomalies de la maturation nucléaire, caractérisées par des globules rouges macrocytaires, une hémoglobine et des taux de CCMH normaux, résultent généralement d'une carence en vitamine B12 ou en folate (Sarma, 1990). Ce résultat suggèrent que l'effet tardif observé serait probablement dû à une diminution de l'absorption de la vitamine B12 ou du folate. Chez les femelles, toutes les variations globales et spécifiques aux globules blancs sont restées dans les limites biologiques normales. Des augmentations significatives du nombre de globules rouges, de l'hématocrite, de la HCM et de l'hémoglobine ont cependant été observées à la dose de 200 mg/kg PC. Ce résultat pourrait soutenir l'utilisation traditionnelle de cette plante contre l'anémie (Biapa *et al.*, 2011).

Le profil lipidique athérogène, caractérisé par une augmentation des taux de CHOL-T, de CHOL-LDL, de triglycérides, de CHOL-T/CHOL-HDL et de faible taux de CHOL-HDL, est la principale cause de l'augmentation du risque de maladie cardiovasculaire (Manninen *et al.*, 1992 ; Dobiášová, 2004 ; Kurth *et al.*, 2007 ; Uddin *et al.*, 2009). Globalement, une diminution des taux de triglycérides, du ratio CHOL-T/ CHOL-HDL et de l'indice athérogène du plasma a été observée à toutes les doses testées chez les deux sexes, indiquant que le traitement de 28 jours avec l'extrait aqueux a amélioré le profil lipidique.

Les activités sériques des transaminases (ALAT et ASAT) sont très utilisées comme des marqueurs biologiques sensibles aux lésions tissulaires (Ramaiah, 2007). L'ALAT est exclusivement présente dans le cytoplasme des hépatocytes et l'ASAT principalement dans le foie, le muscle cardiaque et le rein (Han *et al.*, 2011). En cas de lésion, les taux de ces deux paramètres dans le sérum augmentent. Seule une diminution significative de l'ALAT à 200 mg/kg a été observée chez les mâles tandis que chez les femelles, l'extrait aqueux a diminué ALAT et ASAT aux doses de 110 et 200 mg/kg PC, respectivement. Ces résultats suggèrent que l'administration subaiguë de l'extrait aqueux n'a pas altéré l'intégrité des hépatocytes et des cellules rénales. Ces résultats ont été confirmés par l'absence d'altérations histomorphologiques dans le foie et les reins des animaux traités par rapport aux témoins.

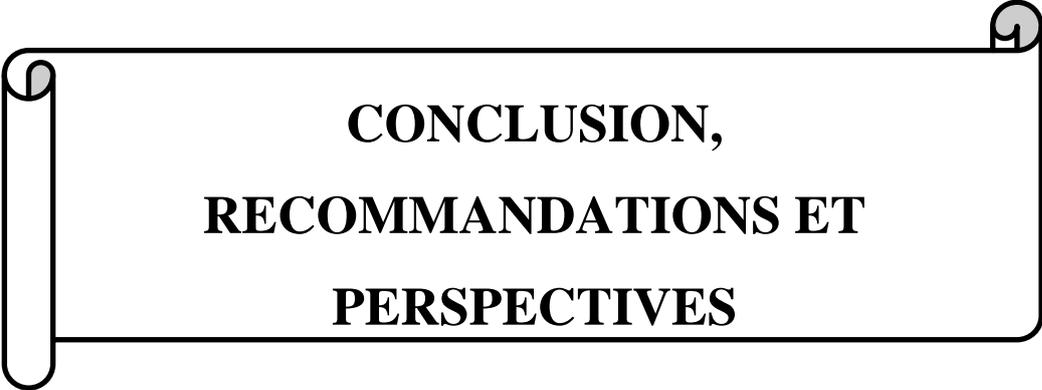
Les taux élevés de bilirubine totale sérique sont liés à une augmentation de l'hémolyse (Orisakwe *et al.*, 2003) ou une conséquence de la cirrhose biliaire primaire et des maladies hépatiques veino-occlusive (cholestase), qui sont des précurseurs des nécroses massives hépatocellulaires (Shapiro *et al.*, 1979 ; Bearman, 1995). L'augmentation significative de la bilirubine totale observée dans cette étude à la dose de 20 mg/kg chez les mâles s'est cependant produite dans les limites normales et ne saurait être considérée comme toxique. Cet effet n'a pas été observé aux doses plus élevées de 110 et 200 mg/kg PC. En plus des caractéristiques histologiques normales dans le foie, aucune diminution du nombre de globules rouges (hémolyse) n'a été observée. Chez les femelles, des diminutions significatives de la bilirubine totale sérique ont été observées à toutes les doses testées. Les taux sériques de protéines totales sont une mesure approximative de l'état des protéines mais reflètent des changements fonctionnels majeurs dans les fonctions rénales et hépatiques. Des niveaux élevés peuvent être associés à une inflammation chronique ou à des infections hépatiques (Djami Tchatchou *et al.*, 2011). Dans cette étude, l'administration subaiguë de l'extrait aqueux a entraîné une diminution significative de ce paramètre aux doses de 110 et 200 mg/kg

PC chez les femelles tandis qu'aucun effet n'a été observé chez les mâles suggérant un effet hépato- et néphroprotecteur probable de cet extrait chez les rates.

La créatinine, un produit final du métabolisme musculaire, est produite en continu dans le corps, filtrée et excrétée dans l'urine par les reins (Tanner, 2004). La clairance de la créatinine endogène est utilisée cliniquement pour estimer le taux de filtration glomérulaire, un biomarqueur de la toxicité rénale. Puisque la concentration de créatinine est normalement stable dans le plasma, par conséquent, l'augmentation de son taux indique une faible excrétion associée à une insuffisance rénale (Adekola *et al.*, 2015). Aucune variation significative des taux sériques de créatinine n'a été observée chez les mâles, alors que l'extrait aqueux a diminué ce paramètre à toutes les doses chez les femelles suggérant l'activité néphroprotectrice de l'extrait aqueux de *M. arboreus*.

L'analyse phytochimique montre que les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* sont majoritairement constitués d'acides gras. Cependant, au stade actuel de l'élucidation structurale, il apparaît qu'en dehors des composés tels que le méthyl hexadecanoate ou palmitate de méthyle, méthyl stéarate ou acide stéarique, méthyl (Z)-9-octadecenoate, méthyl eicosanoate ou méthyl arachidate qui leur sont communs, ces extraits sont très différents. C'est cette différence structurale qui pourrait, au moins en partie, justifier la différence dans les profils d'activités observés. Les acides gras, surtout insaturés, sont connus pour leur importance dans la promotion de la fertilité féminine (Parlanti et Orellana 1985). Chez les mammifères, ceux qualifiés de polyinsaturés (AGPI) jouent un rôle clé dans la maturation, le développement et la fertilité des ovocytes (Marei *et al.*, 2009), la croissance des glandes mammaires, du placenta, de l'utérus et du fœtus (Morse, 2012 ; Williamson, 2006). Des taux sériques élevés d'AGPI  $\omega$ -6 et  $\omega$ -3 à longue chaîne chez les femmes subissant une fécondation *in vitro* ont été corrélés à une augmentation des taux d'implantation, de grossesse et de naissance vivante (Jungheim *et al.*, 2013 ; Chiu *et al.*, 2018) suggérant que la manipulation de leurs taux sériques ou ovocytaires (fluide folliculaire) par un régime alimentaire ou une intervention pharmacologique peut être bénéfique pour les femmes qui envisagent de concevoir. L'acide arachidonique (AA) et l'acide linoléique (AL) (ainsi que leurs dérivés) sont les principaux AGPI pouvant influencer sur les performances de reproduction chez le rat et l'humain (Huang *et al.*, 2018 ; Marei *et al.*, 2009; Wathes *et al.*, 2007). L'efficacité de chacun dépend entièrement de la dose, de la dynamique du microenvironnement de l'ovocyte et de la période d'administration (Ciepiela *et al.*, 2015 ; Khajeh *et al.*, 2017). Cette complexité d'action est d'autant plus élevée que le nombre d'AGPI

en présence est élevé. Sans toutefois exclure l'action d'autres types ou classes de composés, la présence dans les extraits de *M. arboreus* de dérivés de AL et AA (méthyl arachidate, méthyl octadeca-9,12,15-trienoate) justifierait, au moins en partie, les effets bénéfiques observés sur la fertilité. Par ailleurs, le faible effet œstrogénique observé à la dose la plus élevée avec l'extrait méthanolique pourrait se justifier par la présence dans celui-ci de  $\beta$ -sitostérol, un stérol largement reconnu pour son faible effet œstrogénique (Malini et Vanithakumari, 1993 ; Rosenblum *et al.*, 1993).



**CONCLUSION,  
RECOMMANDATIONS ET  
PERSPECTIVES**

## Conclusion

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer l'impact des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Myrianthus arboreus* P. Beauv (plante largement utilisée en Afrique contre l'infertilité, l'aménorrhée et pour améliorer la lactation), sur la maturation sexuelle, la gestation et le comportement sexuel. En parallèle, la caractérisation phytochimique de ces extraits et une évaluation de l'innocuité de l'extrait aqueux (extrait traditionnellement utilisé) ont respectivement été menées. Les résultats obtenus montrent que, les extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de *Myrianthus arboreus* P. Beauv ont des effets œstrogéniques et prometteurs sur la fertilité femelle. L'extrait méthanolique, plus que l'extrait aqueux, favorise la maturation sexuelle par activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien qui s'accompagne de la libération des hormones sexuelles, la folliculogénèse et la stimulation de l'ovulation ainsi que de la transformation de l'utérus. Ces traitements chez des rates pré-pubères (chez des rates immatures) aux doses élevées (200 mg/kg) affectent négativement l'index de fertilité et le taux de gestation à l'âge adulte. Sur les paramètres gestationnels des animaux matures, l'extrait aqueux administré pendant le coït et la gestation, présente un meilleur profil comparé à l'extrait méthanolique et au groupe témoin. En plus d'assurer une fécondation effective chez toutes les femelles croisées, cet extrait favoriserait (110 et 200 mg/kg) le développement embryonnaire en inhibant la résorption et la perte de fœtus après implantation. De plus, cet extrait améliorerait le comportement sexuel des rates en stimulant l'excitation/éveil sexuel et régulariserait leur cycle œstral (diminution de la durée du cycle, augmentation du nombre de cycle et le temps passé en œstrus). Concernant l'innocuité, il existe une grande marge de sécurité à l'usage de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus* chez la femelle aux doses thérapeutiques. L'administration répétée pendant 28 jours par voie orale de cet extrait améliorerait le profil lipidique et aurait un effet hépatoprotecteur et des propriétés anti-anémiques. A partir des investigations phytochimiques, il ressort que les extraits aqueux et méthanolique de *M. arboreus* contiennent majoritairement des acides gras, des terpenoïdes et des phytostérols. Dans l'ensemble, toutes ces données fournissent une base scientifique substantielle à l'utilisation traditionnelle des feuilles de *M. arboreus* au Cameroun contre l'infertilité liée à un dysfonctionnement ovulatoire dû à un problème hormonal ou folliculaire et contre l'aménorrhée.

## Recommandations

Il ressort de cette étude, que l'extrait aqueux à la dose thérapeutique de 200 mg/kg PC chez la rate adulte, posséderait des effets bénéfiques sur la majorité des paramètres évalués. Ceci permet de recommander au tradithérapeute d'augmenter sa dose thérapeutique (à 32 mg/kg PC au lieu de 20 mg/kg PC) au cours de ses prescriptions chez des femmes matures. Dans un organisme intact souffrant d'une aménorrhée primaire, nous recommandons cependant au tradithérapeute de macérer ces feuilles plutôt dans un solvant alcoolique avant administration de la dose usuelle (20 mg/kg PC).

## Perspectives

Le présent travail n'étant pas exhaustif, d'autres investigations seraient nécessaires. Ainsi, ces travaux de recherche pourraient s'étendre en évaluant les effets des extraits de *M. arboreus* sur:

- Les marqueurs de la prolifération, de l'apoptose et l'activité sécrétrice directe des cellules hypophysaires et de la granulosa ; et
- un modèle animal d'infertilité (endométriose).



**REFERENCES**

- Adekola M.B., Areola J.O., Tijani A.S., Adebisi A.E., Olatoye T.R., Babalola O.O., 2015.** Toxicological profiles of direct administration of extract of *Gossypium barbadense* (Linnaeus) leaves. *J Med Med Sci*; 6: 162-171.
- Adjanooun J.E., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M.E., Ekpere J.A., Enow-Orock E.G., Focho D., Gbile Z.O., Kamanyi A., Kamsu Kom J., Keita A., Mbenkum T., Mbi C.N., Mbiele A.L., Mbome I.L., Mubiru N.K., Nancey W.L., Nkongmeneck B., Satabie B., Sofowora A., Tamze V., Wirmum C.K., 1996.** Traditional medicine and pharmacopoeia: contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. OAU Scientifics Technical Research Commission CNPMS, Porto Novo. Publish. House editions, Benin. 12-607 P.
- Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R., 2015.** A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrin*; 13: 37.
- Ågmo A., 1999.** Sexual motivation an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behav Brain Res*; 105: 129-150.
- Agyare C., Ansah A.O., Ossei P.P.S., Apenteng J.A., Boakye Y.D., 2014.** Wound Healing and Anti-Infective Properties of *Myrianthus arboreus* and *Alchornea cordifolia*. *Med Chem*; 4: 533-539.
- Ahrens-Fath I., Politz O., Geserick C., Haendler B., 2005.** Androgen receptor function is modulated by the tissue-specific AR45 variant. *Febs J*; 272: 74-84.
- Aittomäki K., Herva R., Serman U.H., Juntunen K., Ylostalo P., Hovatta O., De La Chapelle A., 1996.** Clinical features of primary ovarian failure caused by a point mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab*; 81: 3722-3726.
- Allwood J.W1., Goodacre R., 2010.** An introduction to liquid chromatography-mass spectrometry instrumentation applied in plant metabolomic analyses. *Phytochem Anal*; 21: 33-47.
- Almeida F.C., Lemonica I.P., 2000.** The toxic effects of *coleus barbatus* B. on the different periods of pregnancy in rats. *J Ethnopharmacol*; 73: 53-60
- Amata I.A., 2010.** Nutritive value of the leaves of *Myrianthus arboreus*: a browse plant. *Int J Agric Res*; 5: 576-581.
- Ambrosi B., Barbetta L., Morricone L., 2003.** Diagnosis and management of Addison's disease during pregnancy. *J Endocrinol Invest*; 26: 698-702.
- Andersen A.N., Goossens V., Ferraretti A. P., Bhattacharya S., Felberbaum R., de Mouzon J., Nygren K.G., 2008.** Assisted reproductive technology in Europe, 2004: Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*; 23: 756-771.
- Archer D.F., 2004.** Neoplasia of the female reproductive tract: effects of hormone therapy. *Endocrine*; 24: 259-263.
- Arentz S., Abbott J.A., Smith C.A., Bensoussan A., 2014.** Herbal medicine for the management of polycystic ovary syndrome (PCOS) and associated oligo/amenorrhoea and hyperandrogenism: a review of the laboratory evidence for effects with corroborative clinical findings. *BMC Complement Altern Med*; 14: 511.
- Aswar U.M., Bhaskaran S., Mohan V., Bodhankar S.L., 2010.** Estrogenic activity of friedelin rich fraction (IND-HE) separated from *Cissus quadrangularis* and its effect on female sexual function. *Pharmacogn Res*; 2: 138-145.
- Ateba S.B., Njamen D., Medjakovic S., Hobiger S., Mbanya J.C., Jungbauer A., Krenn L., 2013.** *Eriosema laurentii* De Wild (Leguminosae) methanol extract has estrogenic properties and prevents menopausal symptoms in ovariectomized *Wistar* rats. *J. Ethnopharmacol*; 150: 298-307.

- Ateba S.B., Simo R.V., Mbanya J.C., Krenn L., Njamen D., 2014.** Safety profile and gender specific differences of a methanol extract of *Eriosema laurentii* (Leguminosae) in acute and subchronic (28 days) oral toxicity studies in Wistar rats. *Food chem Toxicol*; 65: 27-32.
- Audibert C., Glass D., 2015.** A global perspective on assisted reproductive technology fertility treatment: an 8-country fertility specialist survey. *Reprod Biol Endocrinol*; 13:133
- Baerwald A. R., Adams G.P., Pierson R.A., 2005.** Form and function of the *corpus luteum* during the human menstrual cycle. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 25: 498-507.
- Baldi E., Luconi M., Muratori M., Marchiani S., Tamburrino L., Forti G., 2009.** Nongenomic activation of spermatozoa by steroid hormones: facts and fictions. *Mol Cell Endocrinol*; 308: 39-46.
- Bearman S.I., 1995.** The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood*; 85:3005-3020.
- Belanger C., Luu-The V., Dupont P., Tchernof A., 2002.** Adipose tissue intracrinology: potential importance of local androgen/estrogen metabolism in the regulation of adiposity. *Horm Metab Res*; 34: 737-745.
- Bermen J.R., Adhiara S.P., Goldstein I., 2000.** Anatomy and physiology of female sexual function and dysfunction: classification, evaluation and treatment options. *Eur Urol*; 38: 20-29.
- Bernard D.J., Levy J.P., Varet B., Claudel J.P., Rain J.D., Sultanyo, 1983.** Abrégé d'hématologie. Editions Masson. 346 P.
- Biapa N.P.C., Oben J.E., Ngogang J.Y., 2011.** Scavenging radical kinetic and antianaemic screening properties of some medicinal plants used in Cameroon. *Int J App Res Nat Prod*; 4: 29-35.
- Biljan M.M., Hemmings R., Brassard N., 2005.** The outcome of 150 babies following the treatment with letrozole or letrozole and gonadotrophins. *Fertil Steril*; 84: 0-231.
- Bishop JL, Northstone K., Green J.R., 2011.** The use of complementary and alternative medicine in pregnancy: data from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Complement Ther Med*; 19: 303-310.
- Boivin J., Bunting L., Collins J.A., Nygren K.G., 2007.** International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*; 22: 1506-1512.
- Bokaie M, Simbar M, assini Ardekani S.M., 2015.** Sexual behavior of infertile women: a qualitative study. *Iran J Reprod Med*; 13: 645-656.
- Boubli L., BrueT., 2005.** Anomalies du cycle menstruel, Métrorragies (26). DCEM 3 R Module n° 2 De la Conception à la Naissance. Faculté de Médecine de Marseille. 10.
- Boudalia S., 2012.** Exposition continue aux xéno-hormones à faibles doses chez le rat : Effets multi-générationnels de mélanges sur les préférences gustatives le comportement maternel et le développement. Thèse doctorat, Sciences de l'alimentation. Université de Bourgogne. 2-67 P.
- Brown J., Farquhar C., Beck J., Boothroyd C., Hughes E. 2009.** Clomifene and anti-estrogens for ovulation induction in PCOS. *Cochrane Database Syst Rev* ; 4:CD002249
- Brown R.P., Patricia L., Gerbarg M.D., Ramazanov Z., 2002.** *Rhodiola rosea* L. A phytomedical overview. *ABC's HerbalGram*; 56:40-52.
- Burkill H.M., 1985.** The useful plants of West Tropical Africa. Families JL. *RBGK*; 3: 875.
- Cannet C., 2004.** Artéfacts - Les difficultés de la technique histologique : les gageures de la fixation. *Rev Fr Histotechnol*; 17: 11-20.
- Cannet C., 2006a.** Artéfacts - Les difficultés de la technique histologique : de la circulation à la coupe. *Rev Fr Histotechnol*; 19: 71-84.

- Cannet C., 2006b.** Artéfacts - Les colorations topographiques. *Rev Fr Histotechnol*; 19: 85-98.
- Carole E., 2002.** Estimation de la clairance de la créatinine. *Clin Chem*; 27: 173
- Carreau C., 2008.** Propriétés œstrogéniques des phyto-œstrogènes dans une lignée de cancer du sein. Implication des domaines de transactivation du récepteur aux œstrogènes alpha. Thèse dotorat, Siècles de la vie et siècles de la santé. Université de Bordeaux. 194 P.
- Casper R.F., Mitwally M.F., 2006.** Review: aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab*; 91: 760-771.
- Cedars-Sinai., 2008.** Centre for Androgen-Related Disorders: Polycystic ovaries. Los Angeles: Cedars-Sinai. From: <http://www.csmc.edu/5531.html> (Accessed: 28th August 2008).
- Chachamovich J.R., Chachamovich E., Ezer H., Fleck M.P., Knauth D., Passos E.P., 2010.** Investigating quality of life and health-related quality of life in infertility: a systematic review. *J Psychosom Obstet Gynecol*; 31: 101-110.
- Chambers G. M., Wand H., Macaldowie A., Chapman M. G., Farquhar C. M., Bowman M., Molloy D., Ledger W., 2016.** Population trends and live birth rates associated with common ART treatment strategies. *Hum Reprod*; 31: 2632-2641.
- Champigny G., Guesnet P., Marguant L.B., Heyman Y., Mermillod P., 2003.** Composition en acides gras des triglycérides, phosphatidylcholines et phosphatidyléthanolamines de l'embryon bovin. *Les actes du BRG*; 4: 159-172.
- Chiu YH., Karmon A.E., Gaskins A.J., Arvizu M., Williams P.L., Souter I., Rueda B.R., Hauser R., Chavarro J.E., 2018.** Serum omega-3 fatty acids and treatment outcomes among women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod*; 33: 156-165.
- Chrétien J., Marsac J., 1990.** Abrégé de pneumonie. Editions Masson. 553 P.
- Ciepiela P., zkowski T., Drozd A., Kazienko A., Stachowska E., Kurzawa R., 2015.** Arachidonic and Linoleic Acid Derivatives Impact Oocyte ICSI Fertilization – A Prospective Analysis of Follicular Fluid and a Matched Oocyte in a ‘ One Follicle – One Retrieved Oocyte – One Resulting Embryo ’ Investigational Setting. *PLoS ONE*; 10: e0119087.
- Considine R.V., 2004.** The Hypothalamus and the Pituitary Gland: In Medical Physiology, Edited by Rhoades R.A. et Tanner G.A. Lippincott Williams & Wilkins Editions. 581-594 P.
- Cronquist A., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, ISB 0231038801, 9780231038805, New York, United States of America.
- Cui W., 2010.** Mother or nothing: the agony of infertility. *Bull World Health Organ*; 88: 881-882.
- Dahlman-Wright K., Cavailles V., Fuqua S.A., Jordan V.C., Katzenellenbogen J.A., Korach K.S., Maggi A., Muramatsu M., Paker M.G., Gustafsson J-A., 2006.** International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacol Rev*; 58: 773-781.
- Davern T.L., Sharshmidt B.F., 2002.** Biochemical liver function tests, In Sleisenger and Fordtrans, gastrointestinal and liver disease pathology. Diagnostic and management. Edited by Feldman M.L.C., Friedman M.H., Sleisenger. 7<sup>th</sup> Edition Saunders, Philadelphia. 1227-1238 P.
- David B., Wolfender J.L., Dias D.A., 2015.** The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochem Rev*; 14: 299-315.
- Deb K., Reese J., Paria B.C., 2006.** Methodologies to study implantation in mice. *Methods Mol. Med*; 121, 9-34.
- Deka P.K., Sarma S., 2010.** Psychological aspect of infertility. *Br J Med Pract*; 3: 336.

- Del Giorno C., Fonseca A.M., Bagnoli V.R., De Assis J.S., Soares Jr J.M., Braracat E.C., 2010.** Effects of *Trifolium pratense* on the climacteric and sexual symptoms in postmenopause women. *Rev Assoc Med Bras*; 56: 558-562.
- Descat F., 2002.** Hématologie du rat: hémogramme et myélogramme. Thèse doctorat, vétérinaire. Université de Toulouse. 40-46 P.
- Dickson R.A., Harley B.K., Berkoh D., Ngala R.A., Titiloye N.A., Fleischer T.C., 2016.** “antidiabetic and haematological effect of *Myrianthus arboreus* P. Beauv. Stem bark extract in streptozotocin-induced diabetic rats,” *Int J Pharm Sci Res*; 7: 4812- 4826.
- Direkvand-Moghadam A., Delpisheh A., Khosravi A., 2013.** Epidemiology of Female Infertility; A Review of Literature. *Biosci Biotech Res Asia*; 10: 559-567.
- Djami Tchatchou T.A., Asongalem E.A., Nana P., Choumessi A., Kamtchouing P., 2011.** Subacute toxicity study of the aqueous extract from *Acanthus montanus*. *eJBio*; 7: 11-15
- Do K.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetaredjo F.E., Ismadji S., Ju Y-H., 2014.** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *J. Food Drug Anal*; 22: 296-302.
- Dobiášová M., 2004.** Atherogenic index of plasma [log (triglycerides/HDL-cholesterol)]: theoretical and practical implications. *Clin Chem*; 50: 1113-1115.
- Dong J., Albertini D.F., Nishimori K., Rajendra K.T., Lu N., Matzuk M.M., 1996.** Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*; 383: 531-535.
- Dongre S., Langade D., Bhattacharyya S., 2015.** Efficacy and safety of ashwagandha (*Withania somnifera*) root extract in improving sexual function in women: a pilot study. *Biomed Res Intel*; 1-9.
- Duran J.R., Raja M.L., 2007.** Myocardial infarction in pregnancy associated with clomiphene citrate for ovulation induction: a case report. *J Reprod Med*; 52: 1059-1062.
- El Hilaly J., Israili Z.H., Lyoussi B., 2004.** Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *J Ethnopharmacol*; 91: 43-50.
- Enmark E., Gustafsson J.A., 1999.** Estrogen receptors - an overview. *J Intern Med*; 246: 133-138.
- Estepa L., 2006.** Protéines totales. Sciences Medicine Editions. 1 P.
- Evers J. L., 2002.** Female subfertility. *Lancet*; 360: 151-159.
- Farquhar C., 2007.** Endometriosis. *BMJ*; 334: 249-253.
- Farquhar C., Vandekerckhove P., Lilford R., 2005.** Laparoscopic ‘drilling’ by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*; 3:CD001122.
- Faure M.O., Nicol L., Fabre S., Fontaine J., Mohoric N., McNeilly A., Taragnat C., 2005.** BMP-4 inhibits follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary. *J Endocrinol*; 186: 109-121.
- Feldman C., 2007.** Bilan d’une aménorrhée. <http://www.amenorrhoea.ogr/2007>. Vue le 20 Août 2014.
- Flototto T., Niederacher D., Hohmann D., Heimerzheim T., Dall P., Djahansouzi S., Bender H.G., Hanstein B., 2004.** Molecular mechanism of estrogen receptor (ER) alpha-specific, estradiol-dependent expression of the progesterone receptor (PR) B-isoform. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 88: 131-142.
- Forti G.; Krausz C., 1998.** Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Met*; 83: 4177-4188.
- Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K., 2002.** The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br J Nut*; 88: 587-605.
- Freeman M.E., 1988.** The ovarian cycle of the rat. In: *Physiology of reproduction*. Edited by Knobil E., Neil J., Raven Press Ltd Editions, New York. P. 1893-1928.

- Furukawa T., Kurokawa J., 2007.** Regulation of cardiac ion channels via non-genomic action of sex steroid hormones: implication for the gender difference in cardiac arrhythmias. *Pharmacol Ther*; 115: 106-115.
- Gaillard RC., 2003.** Le tissu adipeux : un véritable organe endocrine. *Rev Méd Suisse*; 22: 8-22.
- Gallo D., Cantelmo F., Distefano M., Ferlini C., Zannoni G. F., Riva A., Morazzoni P., Bombardelli E., Mancuso S., Scambia G., 1999.** Reproductive effects of dietary soy in female Wistar rats. *Food Chem Toxicol*; 37: 493-502.
- Gama C.R., Lasmar R., Gama G.F., Abreu C.S., Nunes C.P., Geller M., Oliveira L., Santos A., 2014.** Clinical assessment of *Tribulus terrestris* extract in the treatment of female sexual dysfunction. *Clin Med Insights Womens Health*; 7: 45-50.
- Gennaoui J.P., 2013.** Les aménorrhées primaires et secondaires. *Fédération des médecins omniprat. du Québec*; 246: 1-26.
- George, P., 2011.** Concerns regarding the safety and toxicity of medicinal plants - An overview. *J Appl Pharm Sci*; 1: 40-44.
- Ghinea N., 2002.** Comment les hormones glycoprotéiques hypophysaires franchissent la barrière endothéliale pour atteindre leurs cellules cibles. *Actualités de Médecine Interne*; 6: 128-132.
- Ghinea N., Mai T. V., Groyer-Picard M.T., Milgrom E., 1994.** How protein hormones reach their target cells. Receptor-mediated transcytosis of hCG through endothelial cells. *J Cell Biol*; 125:87-97.
- Giangrande P.H., Pollio G., McDonnell D.P., 1997.** Mapping and characterization of the functional domains responsible for the differential activity of the A and B isoforms of the human progesterone receptor. *J Biol Chem*; 272: 32889-32900.
- Gnoth C., Godehardt E., Frank-Herrmann P., Friol K., Tigges J., Freundl G., 2005.** Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod*; 20: 1144-1147.
- Goetz P., 2016.** Fertilité - stérilité et phytothérapie. *Phytothérapie*; 14: 251-257.
- Goldman J.M., Murr A.S., Cooper R.L., 2007.** The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*; 80: 84-97.
- Goldstein S.R., Siddhanti S., Ciaccia A.V., Plouffe L., 2000.** A pharmacological review of selective oestrogen receptor modulators. *Hum Reprod Update*; 6: 212-224.
- Gonçalves E.S., Silva J.R., Gomes C.L., Nery M.B.L., Navarro D.M.A.F., Santos G.K.N., Silva-Neto J.C., Costa-Silva J.H., Araújo A.V., Wanderley A.G., 2014.** Effects of the oral treatment with *Copaifera multijuga* oil on reproductive performance of male Wistar rats. *Rev Bras Farmacogn* 24: 355-362.
- Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M., 1949.** Determination of serum proteins by the means of biuret reactions. *J Biol Chem*; 177: 751-766.
- Gorthi S., Balen A.H., Tang T., 2012.** Current issues in ovulation induction. *The Obstet Gynecol*; 14: 188-196.
- Grant P., Ramasamy S., 2012.** An Update on Plant Derived Anti-Androgens. *Int J Endocrinol Metab*; 10: 497-502.
- Greene G.L., Gilna P., Waterfield M., Baker A., Hort Y., Shine J., 1986.** Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science*; 231: 1150-1154.
- Greil A.L., Slauson-Blevins K., McQuillan J., 2010.** The experience of infertility: a review of recent literature. *Sociol Health Illn*; 32: 140-162.
- Gruber C.J., Tschugguel W., Schneeberger C., Huber J.C., 2002.** Mechanism of disease: production and actions of estrogens. *N Engl J Med*; 346: 340-352.
- Gungor I., Rathfisch G., Kizilkaya Beji N., Yazar M., Karamanoglu F., 2013.** Risk-taking behaviours and beliefs about fertility in university students. *J Clinl Nurs*; 22: 3418-3427.

- Gurib-Fakim A., 2006.** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med*; 27: 1-93.
- Gurunath S., Pandian Z., Anderson R., A., Bhattacharya S., 2011.** "Defining infertility-A systematic review of prevalence studies." *Hum Reprod Update*; 17: 575-588.
- Hall J.E., 2015.** Infertility and contraception. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 19<sup>th</sup> Edition McGraw-Hill Medical, New York. 2387-2391 P.
- Hall, J.M., Couse J.F., 2001.** "The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Bioll Chem*; 276: 36869-36872.
- Han Y.D., Song S.Y., Lee J.H., Lee D.S., Yoon H.C., 2011.** Multienzyme- modified iosensing surface for the electrochemical analysis of aspartate transaminase 407 and alanine transaminase in human plasma. *Anal Bioanal Chem*; 400: 797-805.
- Handgraaf S., 2013.** Prévention de l'obésité et du diabète de type 2 par les œstrogènes : rôle des fonctions transactivatrices du récepteur des œstrogènes  $\alpha$ . Thèse doctorat, Physiopathologie. Université de Toulouse. 17-49 P.
- Harborne J.B., 1984.** Phytochemical methods. A guide to modern technique of plant analysis. 2<sup>nd</sup> edition Chapman and Hall, London. 302 P.
- Harrison P., 2005.** Plateled function analysis. *Blood. Rev*; 19: 111-123.
- Hasbi A., O'Dowd B.F., George S.R., 2005.** A G protein-coupled receptor for estrogen: the end of the search. *Molecular Interventions*; 5: 158-161.
- Henderson K.M., Gorban A.M., Boyd G.S., 1981.** Effect of LH factors regulating ovarian cholesterol metabolism and progesterone synthesis in PMSG-primed immature rats. *J. Reprod. Fertil*; 61: 373-380.
- Heshmat SWH., 2016.** Reproductive Cycles in Females. Faculty of Medicine, Cairo University, Egypt. 2: 28.
- Hewitt S.C., Deroo B.J., Hansen K., Collins J., Grissom S., Afshari C.A., Korach K.S., 2003.** Estrogen receptor-dependent genomic responses in the uterus mirror the biphasic physiological response to estrogen. *Mol Endocrinol*; 17: 2070-2083.
- HFEA (Human Fertilisation and Embryology Authority). (2005)** Infertility - the real issues. Parlimentary Briefing Newsletter. London: HFEA. From: [http://www.hfea.gov.uk/docs/Infertility\\_Final\\_\(2\).pdf](http://www.hfea.gov.uk/docs/Infertility_Final_(2).pdf) (Accessed: 17th September 2008).
- Hilal J., 2011.** Étude sur l'oxygénation des lits capillaires du disque optique au cours du cycle menstruel chez les femmes. Mémoire maitrise, École d'optométrie. Université de Montréal. 3-12 P.
- Hiremath S.P., Rudresh K., Shrishailappa B., Patil S.B., Patil S.R., 1999.** Post-coital antifertility activity of *Acalypha indica* L. *J. Ethnopharmacol*; 67: 253-258.
- Hodes-Wertz B., Mullin C.M., Adler A., Noyes N., Grifo J.A., Berkeley A.S., 2012.** Is Intracytoplasmic Sperm Injection Overused? *J Urol*; 187: 602-606.
- Homan G. F., Davies M., Norman R., 2007.** The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: A review. *Hum Reprod*; 13: 209-223.
- Huang R., Xue X., Li S., Wang Y., Sun Y., Liu W., Yin H., Tao T., 2018.** Alterations of polyunsaturated fatty acid metabolism in ovarian tissues of polycystic ovary syndrome rats. *J Cell Mol Med*; 22: 3388-3396.
- Hyder O., Pulitano C., Firoozmand A., Dodson R., Wolfgang C.L., Choti M.A., Aldrighetti L., Pawlik T.M., 2013.** A risk model to predict 90-day mortality among patients undergoing hepatic resection. *J Am Coll Surg*; 216: 1049-1056.
- Inhorn M.C., Patrizio P., 2015.** Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*; 21: 411-426.

- Inzucchi S.E.; 2002.** Oral Antihyperglycemic Therapy for Type 2 Diabetes. *JAMA*; 287: 360-372.
- Jablonski E.M., McConnell N.A., Hughes F.M., Jr, Huet-Hudson Y.M., 2003.** Estrogen regulation of aquaporins in the mouse uterus: potential roles in uterine water movement. *Biol. Reprod*; 69: 1481-1487.
- Jiang D., Li L., Zeng B-Y., 2017.** Treatment of chinese herbal medicine for female Infertility. *Intl Rev Neurobiol*; 135: 233-247.
- Jiofack T., Ayissi I., Fokunang C., Guedje N., Kemeuze V., 2009.** Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *Afr J Pharm Pharmacol*; 3: 144-150.
- Joel P.B., Smith J., Sturgill T.W., Fisher T.L., Blenis J., Lannigan D.A., 1998.** pp90rsk1 regulates estrogen receptor-mediated transcription through phosphorylation of Ser-167. *Mol Cell Biol*; 18: 1978-1984.
- Johnson M.H., 2007.** Essential reproduction. Wiley-Blackwell editions, New Jersey. P. 316.
- Johnson N.P., 2014.** Review of lipiodol treatment for infertility – an innovative treatment for endometriosis-related infertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*; 54: 9-12.
- Jungheim E.S., Frolova A.I., Jiang H., Riley J.K., 2013.** Relationship between serum polyunsaturated fatty acids and pregnancy in women undergoing in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*; 98: 1364-1368.
- Kaltsas G.A., Androulakis II, Tziveriotis K., Papadogias D., Tsikini A., Makras P., Dimitriou K., Stathopoulou A., Piaditis G., 2007.** Polycystic ovaries and the polycystic ovary phenotype in women with active acromegaly. *Clin Endocrinol*; 67: 917-922.
- Kasangana P.B., Nachar A, Eid H.M., Stevanovic T., Hadda P.S., 2018.** Root bark extracts of *Myrianthus arboreus* P. Beauv. (Cecropiaceae) exhibit anti-diabetic potential by modulating hepatocyte glucose homeostasis. *J Ethnopharmacol*; 211: 117-125.
- Kasangana P.B.; Selim Haddad P.; Stevanovic T., 2015.** Study of polyphenol content and antioxidant capacity of *Myrianthus arboreus* (Cecropiaceae) root bark extracts. *Antioxidants*; 4: 410-426.
- Kathleen D.P., James T.P., 1992.** Mosby's diagnostic and laboratory test reference. Mosb. Year book, S Louis USA. 843 P.
- Kato S., Sato T., Watanabe T., Takemasa S., Masuhiro Y., 2005.** Function of nuclear sex hormone receptors in gene regulation. *Cancer Chemother. Pharmacol*; 56: 4-9.
- Kennedy, G.L., Ferenz, R.L., Burgess, B.A., 1986.** Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD 50. *J Appl Toxicol*; 6: 145-148.
- Khajeh M., Rahbarghazi R., Nouri M., Darabi M., 2017.** Potential role of polyunsaturated fatty acids, with particular regard to the signaling pathways of arachidonic acid and its derivatives in the process of maturation of the oocytes: Contemporary review. *Biomed and Pharmacother*; 94: 458-467.
- Klip H., Burger C.W., Kenemans P., van Leeuwen F.E., 2000.** Cancer risk associated with subfertility and ovulation induction: a review. *Cancer Causes and Control*; 11: 319-344.
- Knudsen U. B., Hansen V., Juul, S., Secher N. J., 1991.** Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; 39: 31-36.
- Kobe B., Deisenhofer J., 1993.** Crystal structure of porcine ribonuclease inhibitor, a protein with leucine-rich repeats. *Nature*; 366: 751-756.
- Kochman K., Gajewska A., 1996.** Biosynthesis of gonadotropins in vivo. *Acta neurobiol exp*; 56: 753-756.
- Konan Y., witabouna K.M., Bassirou B., Kagoyire K., 2014.** Antioxidant activity and total phenolic content of nine plants from Cote d'Ivoire (West Africa). *J Appl Pharm Sci*; 4: 36-41.

- Kops K.A., 2012.** Delineating sexual and social motivation in the female rat using operant responding. Bachelor Thesis, honor in brain, behavior and cognitive science. University of Michigan. 1-24 P.
- Krassas G.E., Poppe K., Glinoe D., 2010.** Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev*; 31: 702-755.
- Kuiper G.G., Carlsson B., Grandien K., Enmark E., Haggblad J., Nilsson S., Gustafsson J.A., 1997.** Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*; 138: 863-870.
- Kurth T., Everett B.M., Buring J.E., Kase C.S., Ridker P.M., Gaziano J.M., 2007.** Lipid levels and the risk of ischemic stroke in women. *Neurology*; 68: 556-562.
- Lanini J., Duarte-Almeida J.M., Nappo S.A., Carlini E.A., 2012.** Are medicinal herbs safe? The opinion of plant vendors from Diadema (São Paulo, southeastern Brazil). *Braz J Pharmacog*; 22: 21-28.
- Lapointe G., 2004.** Notions de toxicologie. Commission de la santé et de la Sécurité du travail du Québec. 67 P.
- Larsen U., 2000.** Primary and secondary infertility in sub-Saharan Africa. *Int J Epidemiol*; 29: 285-291.
- Lechat G., Calvov F., Cremous P., Lagier G., Lechat P., Rouveix B., Webers S., 1990.** Pharmacologie médicale. 5<sup>ème</sup> Edition Masson, Paris. 15-95 P.
- Legendre G., Catala L., Morinière C., Lacoueille C., BouSSION F., Sentilhes L., Descamps P., 2014.** Relationship between ovarian cysts and infertility: what surgery and when? *Fertil Steril*; 101: 608-614.
- Leke R.J.I., Oduma J.A., Bassol-Mayagoitia S., Bacha A.M., Grigor K.M., 1993.** Regional and Geographical Variations in Infertility: Effects of Environmental, Cultural, and Socioeconomic Factors. *Environ Health Perspect*; 101: 73-80.
- Leonhardt S.A., Boonyaratankornkit V., Edwards D.P., 2003.** Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroid*; 68: 761-770.
- Li H., Fidler M.L., Lim C.S., 2005.** Effect of initial subcellular localization of progesterone receptor on import kinetics and transcriptional activity. *Mol Pharm*; 2:509-518.
- Li R., Zhao F., Diao H., Xiao S., Ye X., 2014.** Postweaning dietary genistein exposure advances puberty without significantly affecting early pregnancy in C57BL/6J female mice. *Reprod Toxicol*; 44: 85-92.
- Li X., Lonard D.M., Malley B.W., 2004.** A contemporary understanding of progesterone receptor function. *Mech. Ageing. Dev*; 125: 669-678.
- Libbey, J., 1998.** Augmentation de l'activité sérique des transaminases de cause non élucidée par les tests biologiques habituels. Service d'hépatogastroentérologie U.72, CHU, hôpital Robert-Debré, 51092 Reims Cedex-5: 4-133.
- Lienou L.L., Telefo B.P., Bale B., Yemele D., Tagne R.S., Goka S.C., Lemfack C.M., Mouokeu C., Moundipa P.F., 2012.** Effect of the aqueous extract of *Senecio biafrae* (Oliv. & Hiern) J. Moore on sexual maturation of immature female rat. *BMC. Complement Altern Med*; 12: 36.
- Lilaram, Raichur N.A., 2014.** Abortifacient potential of ethanolic seed extract of *Caesalpinia bonducella* in female albino rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*; 25: 445-451.
- Linna M.S., Raevuori A., Haukka J., Suvisaari J.M., Suokas J.T., Gissler M., 2013.** Reproductive health outcomes in eating disorders. *Int J Eat Disord*; 46: 826-833.
- Lombry C., Edwards D.E., Pr at V., Vanbever R., 2004.** Alveolar macrophages are a primary barrier to pulmonary absorption of macromolecules, *Am. J. Physiol. Lung. C*; 286: 1002-1008.

- Low N., McCarthy A., Macleod J., Salisbury C., Campbell R., Roberts TE., Horner P., Skidmore S, Sterne JA, Sanford E., Ibrahim F., Holloway A., Patel R., Barton PM., Robinson SM., Mills N., Graham A., Herring A., Caul EO., Davey Smith G., Hobbs FD., Ross JD, Egger M., 2007** Epidemiological, social, diagnostic and economic evaluation of population screening for genital chlamydial infection. *Health Technol Assess*; 11: 1-165.
- Luisi B.F., Schwabe J.W., Freedman L.P., 1994.** The steroid/nuclear receptors: from threedimensional structure to complex function. *Vitam. Horm*; 49: 1-47.
- Lyra M.M.A., Costa-Silva J.H., Lima C.R., Arruda V.M., Araujo A.V., Ribeiro e Ribeiro A., Arruda A.C., Fraga M.C.C.A., Lafayette S.S.L., Wanderley A.G., 2005.** Toxicological reproductive study of *Azadirachta indica* A JUSS. (neem) in female Wistar rats. *Fitos*; 1, 53-57.
- Mader S., Kumar V., de Verneuil H., Chambon P., 1989.** Three amino acids of the estrogen receptor are essential to its ability to distinguish an estrogen from a glucocorticoid-responsive element. *Nature*; 338: 271-274.
- Maeda K., Ohkura S., Tsukamura H., 2000.** The Laboratory Rat: Handbook of Experimental Animals. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ editions. 145-176 P.
- Maheshwari A., Hamilton M., Bhattacharya S., 2008a.** Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum Reprod*; 23: 538-542.
- Malaivijitnond S., Chansri K., Kijkuokul P., Urasopon N., Cherdshewasart W., 2006.** Using vaginal cytology to assess the estrogenic activity of phytoestrogen-rich herb. *J Ethnopharmacol*; 107: 354-360.
- Malini T., Vanithakumari G., 1993.** Effect of beta-sitosterol on uterine biochemistry: a comparative study with estradiol and progesterone. *Biochem Mol Biol Int*; 31: 659-668.
- Mangelsdorf D.J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schutz G., Umesono K., Blumberg B., Kastner P., Mark M., Chambon P., Evans R.M., 1995.** The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*; 83: 835-839.
- Manninen V., Tenkanen L., Koskinen P., Huttunen J.K., Manttari M., Heinonen O. P., Frick M.H., 1992.** Joint effects of serum triglycerides and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation*; 85: 37-45.
- Marei W.F., Wathes D.C., Fouladi-Nashta A.A., 2009.** The effect of linolenic acid on bovine oocyte maturation and development. *Biol. Reprod*; 81: 1064-1072.
- Marieb E.N., 1999.** Anatomie et Physiologie Humaines. Traduction de la 4e édition américaine, De Boeck and Lacier s.a., Paris. 589-624 P.
- Marieb E.N., Hoehn K., 2010.** Anatomie et Physiologie Humaines. Adaptation de la 8e édition américaine, Nouv. Hor.-ARS, Paris. 683-729 P.
- Martin M.B., Franke T.F., Stoica G.E., Chambon P., Katzenellenbogen B.S., Stoica B.A., McLemore M.S., Olivo S.E., Stoica A., 2000.** A role for Akt in mediating the estrogenic functions of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I. *Endocrinology*; 141: 4503-4511.
- Maruo T., Ladines-Llaves C.A., Samoto, 1996.** Expression of epidermal growth factor and its receptor in the human ovary during follicular growth and regression. *Endocrinology*; 132: 924-931.
- Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A., 2012.** National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: A systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*; 9: 1-12.
- McGrath D., O’Keeffe S., Smith M., 2005.** Crisis pregnancy agency statistical report 2005: Fertility and crisis pregnancy indices. Dublin: CPA.

- Meeker J.D., Benedict M.D., 2013.** Infertility, pregnancy loss and adverse birth outcomes in relation to maternal secondhand tobacco smoke exposure. *Curr Womens Health Rev*; 41-49.
- Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A., Wass J.A., 2011.** Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*; 2: 273-288.
- Mendola P., Messer L.C., Rappazzo K., 2008.** Science linking environmental contaminant exposures with fertility and reproductive health impacts in the adult female. *Fertil Steril*; 89: 81-94.
- Misrahi M., Beau I., Atger M., Loosfelt H., Ghinea N., Vu Hai M., Milgrom E., 1999.** Les récepteurs des gonadotrophines. *Méd sci*; 15: 175-182.
- Misrahi M., Loosfelt H., Atger M., Sar S., Guiochon-Mantel A., Milgrom E., 1990.** Cloning sequencing and expression of human TSH receptor. *Biochem Biophys Res Commun*; 166: 394-403.
- Montgomery G.W., Zondervan K.T., Nyholt D.R., 2014.** The future for genetic studies in reproduction. *Mol Hum Reprod*; 20: 1-14.
- Morse N.L., 2012.** Benefits of Docosahexaenoic Acid, Folic Acid, Vitamin D and Iodine on Foetal and Infant Brain Development and Function Following Maternal Supplementation during Pregnancy and Lactation. *Nutrients*; 4: 799-840.
- Mowa C., Iwanaga T., 2000.** Differential distribution of oestrogen receptor- $\alpha$  and - $\beta$  mRNAs in the female reproductive organ of rats as revealed by in situ hybridization. *J Endocrinol*; 165: 59-66.
- Muller C., 1998.** Les examens de laboratoire. Editions Maloine, Paris. 36-128 P.
- Müller J.C., Giuliana G.K., Botelho Aedra C.B., Boareto C.A., Rattmann D.Y., Martins E.S., Cabrini D.A., Otuki M.F., Paulo R.D., 2009.** *Morinda citrifolia* Linn (Noni): in vivo and in vitro reproductive toxicology. *J Ethnopharmacol*; 121: 229-233.
- Mvondo M.A., Njamen D., Fomum S.T., Wandji J., Vollmer G., 2011.** A postmenopause-like model of ovariectomized Wistar rats to identify active principles of *Erythrina lysistemon* (Fabaceae). *Fitoterapia*; 82: 939-949.
- Naab F., 2014.** Every month becomes a funeral when they menstruate: African women's beliefs about couple infertility. *J Infertil Reprod Biol*; 2: 92-100.
- Nathan B.W., Chimatata, Chikondi Malimba., 2016.** Infertility in Sub-Saharan Africa: A Woman's Issue for How Long? A Qualitative Review of Litterature. *J Soc Sc*; 4: 96-102
- Nelson P.S., Clegg N., Arnold H., 2002.** The program of androgen-responsive genes in neoplastic prostate epithelium. *Proc Natl Acad Sci*; 99: 11890-11895.
- Ngounou F.N., Lontsi D., Sondengam B.L., 1988.** A pentacyclic triterpene diacid from *Myrianthus arboreus*. *Phytochemistry*; 27: 2287-2289.
- Nguimfack L., Newsom K., Nguekeu M.R., 2016.** Brief report: A Cameroonian woman's cultural-bound experience of infertility. *J Fem Fam Ther*; 28: 100-110.
- NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence), 2004.** Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. London, UK.
- Nilsson S., Makela S., Treuter E., Tujague M., Thomsen J., Andersson G., Enmark E., Pettersson K., Warner M., Gustafsson J.A., 2001.** Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev*; 81: 1535-1565.
- Nugent, Vandekerckhove P., Hughes E., Arnot M., Lilford R., 2000.** Gonadotrophin therapy for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*; 4:CD0004a10
- Nussey S., Whitehead S., 2001.** Principles of endocrinology. In *Endocrinology: An Integrated Approach*. Bios Scientific Publishers Ltd editions, London. 376 P

- O'Donovan O., Al Chami A., Davies M., 2015.** Ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet. Gynaecol. Reprod. Med*; 25: 2.
- OCDE (Organisation pour la Coopération et le Développement Economique), 1979.** Résumé des considérations du rapport des groupes d'experts de l'OCDE sur la toxicologie à court et à long terme. In Lignes directrice de l'OCDE pour les essais chimiques ; 4: 1-15.
- OCDE (Organisation pour la Coopération et le Développement Economique), 2001b.** Toxicité orale aigue méthode de la dose prédéterminée. *Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*; 1: 1-15.
- OCDE (Organisation pour la Coopération et le Développement Economique), 2008.** Guidelines for testing of chemicals: repeated dose 28-day oral toxicity in rodents. Test no 407, adopted in 1981, and revised method adopted 3rd October 2008, OECD, Paris.
- OCDE (Organisation pour la Coopération et le Développement Economique), 2009.** Etude de la toxicité chronique. In *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*; 4 : 1-16.
- Ojinnaka C.M., Okogun J.I., Okorie D.A., 1984.** Myrianthnic acid: a triterpene acid from the rootwood of *Myrianthus arboreus*. *Phytochemistry*; 23: 1125-1127
- Okafor J.C., 2004.** *Myrianthus arboreus* P. Beauv. In: PROTA2: Vegetables/Legumes. Edited by Grubben G.J.H, Denton O.A. PROTA Foundation, Wageningen, Netherlands.
- Olivier B., Chan J.S., Snoeren E.M., Olivier J.D., Veening J.G., Vinkers C.H., 2011.** Waldinger MD, Oosting RS. Differences in sexual behavior in male and female rodents: role of serotonin. *Curr Top Behav Neurosci*; 8: 15-36.
- Olonode E.T., Aderibigbe A.O., Bakre A.G., 2015.** Antinociceptive activity of the crude extract of *Myrianthus arboreus* P. Beauv (Cecropiaceae) in mice. *J. Ethnopharmacol*; 171: 94-98.
- Olson S.H., Bandera E.V., Orlow I., 2007.** Variants in estrogen biosynthesis genes, sex steroid hormone levels, and endometrial cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*; 165: 235-245.
- Oludare G.O., Iranloye B.O., 2016.** Implantation and pregnancy outcome of Sprague-Dawley rats fed with low and high salt diet. *Middle East Fertil Soc J*; 21, 228-235.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2002.** Stratégies de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Organisation Mondiale de la santé Genève ; 65 P.
- Onyeka, C.A., Aligwekwe, A.U., Olawuyi, T.S., Nwakama, E.A., Kalu, E.C., Oyeyemi, A. W., 2012.** Antifertility effects of ethanolic root bark extract of *chrysophyllum albidum* in male albino rats. *Int. J Appl Res Nat Prod*; 5: 12-17.
- Orisakwe O.E., Hussaini D.C., Orish V.N., Obi E., Udemezue O.O., 2003.** Nephrotoxic effects of *Hibiscus Sabdariffa calyx* in Rats. *Eur Bull Drug Res*; 11: 99-103.
- Osawa Y., Higashiyama T., Shimizu Y., Yarborough C., 1993.** Multiple functions of aromatase and the active site structure: aromatase is the placental estrogen 2-hydroxylase. *J Ster Biochem Mol Biol*; 44: 469-480.
- Ouenada M., 2015.** Pratique de la chromatographie en phase gazeuse. Editions Edilivre-Paris. 172 P.
- Oyeyemi S.D., Arowosegbe S., Adebisi A.O., 2014.** Phytochemical and proximate evaluation of *Myrianthus arboreus* (P. Beauv.) and *Sparganophorus sparganophora* (Linn.) Leaves. *IOSR J. Agric. Vet. Sci*; 7: 1-5.
- Paavonen J., Eggert-Kruse W., 1999.** *Chlamydia trachomatis*: Impact on human reproduction. *Hum Reprod Update*; 5: 433-447.
- Paccola C.C., Resende C.G., Stumpp T., Miraglia S.M., Cipriano I., 2013.** The rat estrous cycle revisited: a quantitative and qualitative analysis. *Anim. Reprod*; 10: 677-683.

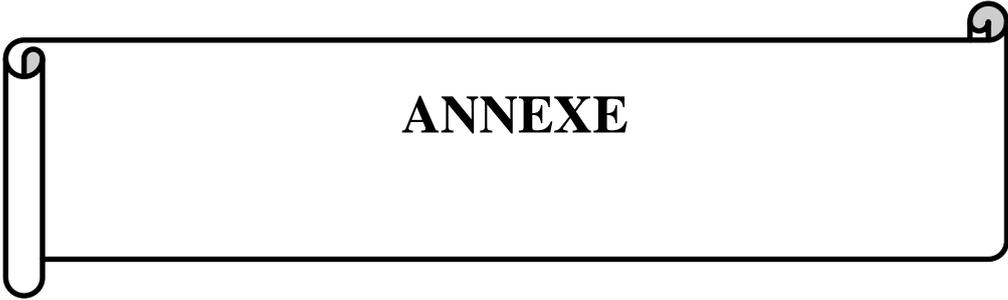
- Papreen N., Sharma A., Sabin K., Begum L., Ahsan S.K., Baqui A.H., 2000.** “Living with infertility: experiences among urban slum populations in Bangladesh,” *Reprod Health Matters*; 8: 33-44.
- Parlanti I.A., Orellana L.C., 1985.** The influence of an essential fatty acid deficient-diet on the reproductive performance of female rats. *Reprod Nutr Dévelop*; 25: 851-860.
- Pasqualini C., Guivarc'h D., Barnier J.V., Guibert B., Vincent J.D., Vernier P., 2001.** Differential subcellular distribution and transcriptional activity of sigma E3, sigma E4, and sigma E3-4 isoforms of the rat estrogen receptor-alpha. *Mol Endocrinol*; 15: 894-908.
- Pelletier G., Luu- The V., Li S., Labrie F., 2004.** Localization and estrogenic regulation of androgen receptor mRNA expression in the mouse uterus and vagina. *J Endocrinol*; 180: 77-85.
- Pfaus J. G., Kippin T. E., Centeno S., 2001.** Conditioning and sexual behavior: A review. *Horm Behav*; 40: 291-321.
- Philippe E., Charpin C., 1992.** "Pathologie gynécologique et obstétricale". Paris Masson Editions. P. 184-185.
- Piao, Y., Liu, Y., Xie, X., 2013.** Change trends of organ weight background data in *Sprague Dawley* rats at different ages. *J. Toxicol. Pathol*; 26: 29-34.
- Polyzos N.P., Tzioras S., Badawy A.M., Valachis A., Dritsas C., Mauri D., 2009.** Aromatase inhibitors for female infertility: a systematic review of the literature. *Reprod Biomed Online*; 19: 456-471.
- Powers J. B., 1972.** Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants. *Brain Res*; 48: 311-325.
- Pratt W.B., Galigniana M.D., Morishima Y., Murphy P.J., 2004.** Role of molecular chaperones in steroid receptor action. *Essays biochem*; 40: 41-58.
- Prescott J., Coetzee G.A., 2006.** Molecular chaperones throughout the life cycle of the androgen receptor. *Cancer Lett*; 231: 12-19.
- Rachid S., Hassan T., 2007.** Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose: de la biochimie à la physiopathologie. *Les technologies de laboratoire*; 2: 2-3.
- Ramaiah S.K., 2007.** A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food. Chem. Toxicol*; 45: 1551-1557.
- Renoir J.-M., Buchou T., Baulieu E.E., 1986.** Involvement of a non-hormone-binding 90-kilodalton protein in the nontrans-formed 8S form of the rabbit uterus progesterone receptor. *Biochemistry*; 25: 6405-6413.
- Ried K., Alfred A., 2013.** Quality of life, coping strategies and support needs of women seeking Traditional Chinese Medicine for infertility and viable pregnancy in Australia: A mixed methods approach. *BMC Women's Health*; 13: 17-19.
- Romeiro J., Caldeira S, Brady V., 2017.** Jenny Hall 3 and Fiona Timmins 2. The Spiritual Journey of Infertile Couples: Discussing the Opportunity for Spiritual Care. *Religions*; 76: 1-14.
- Rosenblum E. R., Stauber R. E., Van Thiel D. H., Campbell I. M., Gavalier J. S., 1993.** Assessment of the estrogenic activity of phytoestrogens isolated from bourbon and beer. *Alcohol Clin. Exp. Res*; 17: 1207-1209.
- Rouchou B., 2013.** Consequences of infertility in developing countries. *Perspect. Public Health*; 133: 174-179.
- Ruckebusch Y., 1981.** Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animale. Editions Maloine, Paris. P.110.
- Ruiz-Luna A.C., Salazar S., Aspajo N.J., Rubio J., Gasco M., Gonzales G.F., 2005** *Lepidium meyenii* (maca) increases litter size in normal adult female mice. *Reprod Biol Endocrinol*; 3:16.

- Safe S., Kim K., 2008.** "Non-classical genomic estrogen receptor (ER)/specificity and ER/activating protein-1 signaling pathways ". *J Mol Endocrinol*; 41:263-275.
- Saravelos S. H., Cocksedge K.A., Li T.C., 2008.** Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: A critical appraisal. *Hum Reprod Update*; 14: 415-429.
- Sarma P.R., 1990.** Red cell indices. In: Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations. Edited by Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W. Butterworths Editions, Boston. 720-723 P.
- Sartorius C.A., Melville M.Y., Hovland A.R., Tung L., Takimoto G.S., Horwitz K.B., 1994.** A third transactivation function (AF3) of human progesterone receptors located in the unique N terminal segment of the B-isoform. *Mol Endocrinol*; 8: 1347-1360.
- Schorderet M., 1992.** Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Editions Slatkine Genève et Frison-Roche, Paris-Grenoble. 920 P.
- Selcer K.W., Smith S., Clemens J.W., Palmer B.D., 2005.** Androgen receptor in the oviduct of the turtle, *Trachemys scripta*. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*; 141: 61-70.
- Serour G.I., Serour A.G., 2017.** Ethical issues in infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* ; 43 :21-31.
- Seukep J.A., Ngadjui B., Kuete V., 2015.** Antibacterial activities of *Fagara macrophylla*, *Canarium schweinfurthii*, *Myrianthus arboreus*, *Dischistocalyx grandifolius* and *Tragia benthamii* against multi-drug resistant Gram-negative bacteria. *Springer*; 4: 1-6.
- Shapiro, J.M., Smith, H., Schaffner, F., 1979.** Serum bilirubin: a prognostic factor in primary biliary cirrhosis. *Gut* 20; 137-140.
- Silbernagl S., Despopoulos A., 2004.** Atlas de poche de physiologie hormones et reproduction. Editions Flammarion-Médecine-Sciences, Paris. 266-308 P.
- Silva E.J.R., Costa-Silva J.H., Evêncio L.B., Fraga M.C.C.A., Coelho M.C.O.C., Wanderley A.G., 2009.** Reproductive assessment of hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. in Wistar Rats. *Phytother Res*; 23, 1392-1398.
- Silverthorn D.U., 2007.** Physiologie humaine: une approche intégrée. Pearson Education Editions, Londres. 625-657 P.
- Simon J.B., 2005.** Approche clinique de la maladie hépatique. In les principes fondamentaux de gastroentérologie. Editions Janssen-Ortho Inc. 524-533 P.
- Sirli R., Sporea I., 2011.** Aspartate aminotransférase to platelet ratio index for the assessment of liver fibrosis severity in patients with chronic hepatitis. *Hepat. Mon*; 11: 560-561.
- Smeltzer S., Bare B., 2006.** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie: trois fonctions digestive, métabolique et endocrinienne. De Boeck Medical Editions. 170-171 P.
- Smith C.A., Bateson D.J., Weisberg E., 2013.** A survey describing the use of complementary therapies and medicines by women attending a family planning clinic. *BMC Complement Altern Med*; 13: 224.
- Spiteri T., Musatov S., Ogawa S., Ribeiro A., Pfaff D.W., Agmo A., 2010.** The role of oestrogen receptor alpha in the medial amygdala and ventromedial nucleus of the hypothalamus in social recognition, anxiety and aggression. *Behav Brain Res*; 210: 211-220.
- Stocco D.M., Wang X., Jo Y., Manna P.R., 2005.** Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and StAR expression: more complicated than we thought. *Mol Endocrinol*; 19: 2647-2659.
- Stuart I.F., 1999.** Human physiology. Mc Graw Hills companies, Boston. P. 485-528.
- Tanner. G.A., 2004.** Kidney Function: In Medical Physiology. Edited by Rhoades R.A., Tanner G.A. Lippincott Williams & Wilkins Editions, Philadelphia. 377-402 P.
- Taylor A., 2003.** ABC of subfertility: Extent of the problem. *BMJ*; 327: 434-436.
- Taylor E., Gomel V., 2008.** The uterus and fertility. *Fertil steril*; 89: 1-16.

- Tchoumtchoua, J., Mouchili, O.R., Ateba, S.B., Zingue, S., Halabalaki, M., Mbanya, J.C., Skaltsounis, A.-L., Njamen, D., 2014.** Safety assessment of the methanol extract of the stem bark of *Amphimas pterocarpoides* Harms: Acute and subchronic oral toxicity studies in Wistar rats. *Toxicol Rep*; 1: 877-884.
- Teilmann G., Juul A., Skakkebaek N.E., Toppari J., Bourguignon J.P., 2003.** The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocrinol Rev*; 24: 668-693.
- Telefo, P.B., 1998.** Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cameroun : influence de l'extrait aqueux du mélange des feuilles d'*Alloe buettneri* A. Berger (Liliacées), *Dicliptera verticillata* GJH Amshoff (Acanthacées), *Hibiscus macranthus* Hochst ex A. Rich (Malvacees), *Justicia insularis* T. Aders (Acanthacées), sur certains paramètres biochimiques et physiologiques de la reproduction chez la rate. Thèse doctorat, biochimie. Université de Yaoundé I. 154 P.
- Templeton A., 2000.** Infertility and the establishment of pregnancy – overview. *Br Med Bull*; 56: 577-587.
- Terranova P.F., 2004.** The Female Reproductive System: In Medical Physiology, Edited by Rhoades R.A. et Tanner G.A. Editions Lippincott Williams & Wilkins. 640-679 P.
- Tetel M.J., 2009.** Modulation of steroid action in the central and peripheral nervous systems by nuclear receptor co-activators. *Psycho neuroendocrinol*; 34: 9-19.
- Thigpen J.E., Haseman J.K., Saunders H.E., Setchell K.D.R., Grant M.G., Forsythe D.B., 2003.** Dietary Phytoestrogens accelerate the time of vaginal opening in immature CD-1 mice. *Comp Med*; 53: 607-615.
- Thornhill A.R1., de Die-Smulders C.E., Geraedts J.P., Harper J.C., Harton G.L., Lavery S.A., Moutou C., Robinson M.D., Schmutzler A.G., Scriven P.N., Sermon K.D., Wilton L., 2005.** ESHRE PGD Consortium 'Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)'. *Hum Reprod*; 20: 35-48.
- Tietz N.W., 1999.** Text book of clinical chemistry. Edited by Burtis CA, Ashwood E.R. 3rd Editions. W.B. Saunders, Philadelphia. 819-861 P.
- Tomao F., Lo Russo G., Spinelli G.P., Stati V., Prete A.A., Prinzi N., Sinjari M., Vici P., Papa A., Chiotti, Pierluigi M.S., Panici B., Tomao S., 2014.** Fertility drugs, reproductive strategies and ovarian cancer risk. *J. Ovarian Res*; 7: 51.
- Toran-Allerand C.D., 2004.** Minireview: A plethora of estrogen receptors in the brain: where will it end? *Endocrinology*; 145: 1069-1074.
- Tsilchorozidou T., Overton C., Conway G.S., 2004.** The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*; 60: 1-17.
- Tso P., 2004.** Gastrointestinal Secretion, Digestion, and Absorption: In Medical Physiology. Edited by Rhoades R.A., Tanner G.A. Lippincott Williams & Wilkins Editions, Philadelphia. 481-513 P.
- Uddin M.J., Alam B., Jabbar M.A., Mohammad Q.D., Ahmed S., 2009.** Association of lipid profile with ischemic stroke. *Mymensingh Med J*; 18: 131-135.
- Unuane D., Tournaye H., Velkeniers B., Poppe K., 2011.** Endocrine disorders and female infertility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 25: 861-873.
- Uotinen N., Puustinen R., Pasanen S., Manninen K., Kivineva M., Syvälä H., Tuohimaa P., Ylikomi T., 1999.** Distribution of progesterone receptor in female mouse tissues. *Gen Comp Endocrinol*; 115: 429-441.
- US Food and Drug Administration, 2014.** Prescribing information for clomiphene citrate. Available at: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2012/016131s026lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/016131s026lbl.pdf). Accessed September 15, 2014.

- Valette G., 1972.** Essais biologiques des médicaments. Evaluation de la toxicité et de l'activité. Interprétation mathématique des résultats. Dans précis de pharmacodynamie. Editions Masson, Paris. 74-105 P.
- Van Zandvoort, H.K., de Koning, Gerrits T., 2001.** "View point: medical infertility care in low income countries: The case for concern in policy and practice". *Trop Med Int Health*; 6: 563-569.
- Vatin M.M., 2012.** Étude de gènes impliqués dans la fertilité humaine à partir d'un modèle de souris interspécifiques recombinantes congéniques (IRCS). Thèse doctorat, Médecine humaine et pathologies. Université Paris Descartes. 184 P.
- Vayena E., Peterson H.B., Adamson D., Nygren K-G., 2009.** Assisted reproductive technologies in developing countries: are we caring yet? *Fertil Steril*; 92: 413-416.
- Vellanikaran J.J., 2015.** Physiological basis of sexual behaviour. *Millennium Zoology journal*; 11: 39-46.
- Vercellini P., Somigliana E., Viganò P., Abbiati A., Barbara G., Crosignani P.G., 2009.** Surgery for endometriosis-associated infertility: a pragmatic approach. *Hum Reprod*; 2: 254-69.
- Wallum E., 1998.** Acute oral toxicity. *Env. Health persp*; 106: 497-503.
- Watcho P., Ngadjui E., Alango N-E.P., Benoît N.T., Kamanyi A., 2009.** Reproductive effects of *Ficus asperifolia* (Moraceae) in female rats. *Afr Health Sci*; 9, 49-53.
- Wathes D.C., Abayasekara D.R., Aitken R.J., 2007.** Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol Reprod*; 77: 190-201.
- Wei W., Zhao H., Wang A., Sui M., Liang K., Deng H., Ma Y., Zhang Y., Zhang H., Guan Y., 2012.** A clinical study on the short-term effect of berberine in comparison to metformin on the metabolic characteristics of women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*; 166: 99-105.
- Weiss R.V., Clapauch R., 2014.** Female infertility of endocrine origin. *Arq Bras Endocrinol Metab*; 58: 144-152.
- Westwood F.R., 2008.** The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol*; 36: 375-384.
- WHC (The Women's Health Council), 2009.** Infertility Treatments for Women. A Review of the Bio-medical Evidence. Full Report 2009. 116 P.
- Whitten P.L., Naftolin F., 1998.** Reproductive actions of phytoestrogens. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*; 12: 667-690.
- Wiersema N.J., Drukker A.J., Dung M.B.T., Nhu G.H., Nhu N.T., Lambalk C.B., 2006.** Consequences of infertility in developing countries: Results of a questionnaire and interview survey in the South of Vietnam. *J Transl Med*; 4: 54
- Williamson C.S., 2006.** Nutrition in pregnancy. British Nutrition Foundation. *Nutr Bull*; 31: 28-59.
- Wilson C.M., McPhaul M.J., 1996.** A and B forms of the androgen receptor are expressed in a variety of human tissues. *Mol Cell Endocrinol*; 120: 51-57.
- Wolff M.S., Teitelbaum S.L., Pinney S.M., Windham G., Liao L., Biro F., Kushi L.H., Erdmann C., Hiatt R.A., Rybak M.E., Calafat A.M., 2010.** Investigation of relationships between urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, and phenols and pubertal stages in girls. *Environ Health Perspect*; 118: 1039-1046.
- Wright J., Duchesne C., Sabourin, S., Bissonnette F., Benoit J., Girard Y., 1991.** Psychological distress and infertility, men and women respond differently. *Fertil Steril*. 55:100-108.
- Yakubu M.T., Olutoye A.F., 2016.** Aphrodisiac activity of aqueous extract of *Anthonotha macrophylla* P. Beauv. leaves in female Wistar rats. *J Integr Med*; 14: 400-408

- Yamoto M., Shima K., Nakano R.; 1992.** Gonadotropin receptors in human ovarian follicles and corpora lutea through the menstrual cycle. *Horm Res*; 37: 5-11.
- Yang J., Singleton D.W., Shaughnessy E.A., Khan S.A., 2008.** The F-domain of estrogen receptor-alpha inhibits ligand induced receptor dimerization. *Mol Cell Endocrinol*; 295: 94-100.
- Yeh S., Hu Y.C., Wang P.H., Xie C., Xu Q., 2003.** Abnormal mammary gland development and growth retardation in female mice and MCF7 breast cancer cells lacking androgen receptor. *J Exp. Med*; 198: 1899-1908.
- Yilmaz N., Kilic S., Kanat-Pektas M., Gulerman C., Mollamahmutoglu L., 2009.** The relationship between obesity and fecundity. *J Womens Health (Larchmt)*; 18: 633-636.
- Ylikomi T., Bocquel M.T., Berry M., Gronemeyer H., Chambon P., 1992.** Cooperation of protosignals for nuclear accumulation of estrogen and progesterone receptors. *EMBO J*; 11: 3681-3694.
- Yu D., Wong Y-M., Cheong Y., Xia E., Li T-C., 2008.** Asherman syndrome one century later. *Fertil Steril*; 89: 759-779.
- Zegers-Hochschild F., Adamson G.F., de Mouzon J., Shihara O., Mansour R., Nygren K.G., Elizabeth A., Sullivan, van der Poel S., 2009.** International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology, and World Health Organization, 2009. "The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology". *Hum Reprod*; 24 : 2683-2687.



**Annexe 1** : Tableau pour la dilution de l'alcool (Tableau de Gay-Lussac) appelée aussi  
Tableau de mouillage de l'alcool

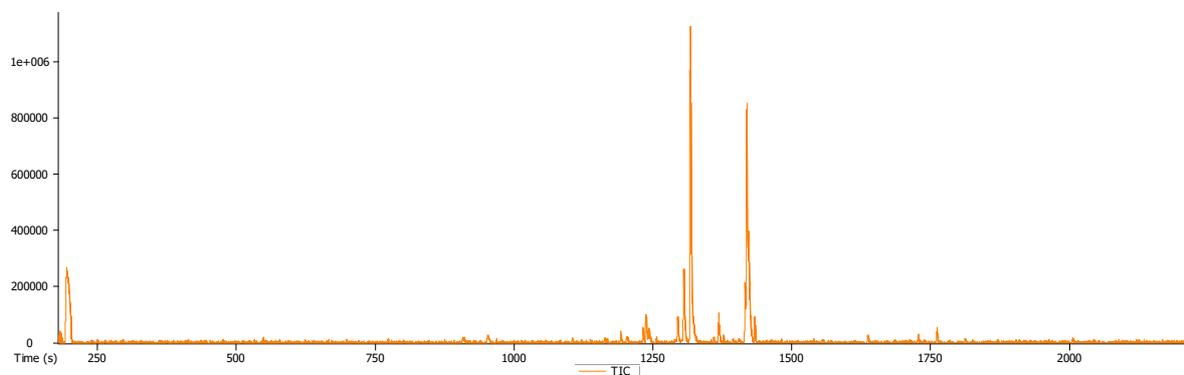
		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Les chiffres en noir indiquent la quantité d'eau en mL à ajouter à 100 mL d'alcool de concentration initiale x (**en bleu**) pour obtenir la concentration désirée.

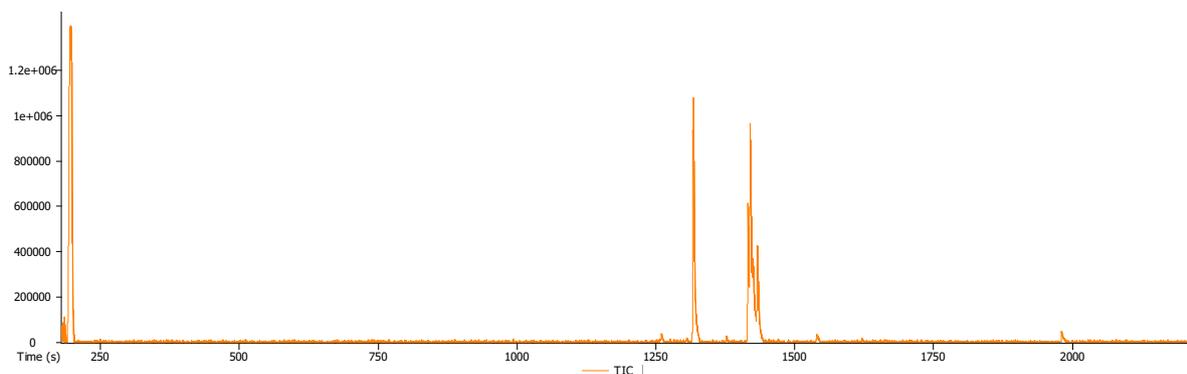
Exemple: la table indique qu'il faut ajouter 105,34 mL d'eau à 100 mL d'alcool à 90° pour obtenir de l'alcool à 45°.

**Attention** : Le volume final est inférieur à la somme des volumes mis en jeu! C'est le phénomène dit de 'contraction de volume', variable en fonction du titre de l'alcool initial.

**Annexe 2 : Spectres et composés identifiés dans les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* en GC-MS.**

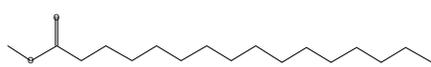


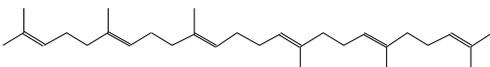
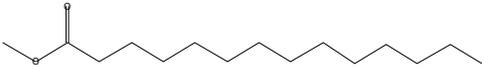
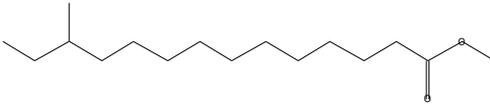
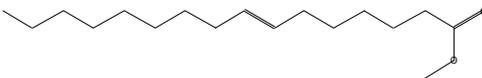
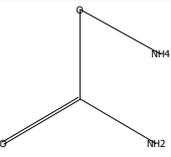
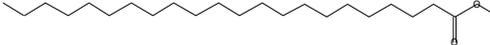
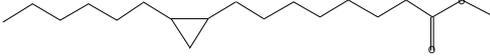
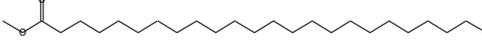
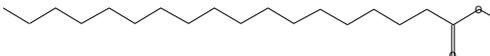
**Spectre GC-MS de l'extrait aqueux des feuilles de *M. arboreus*.**

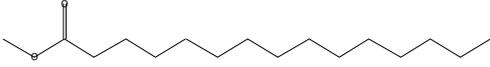
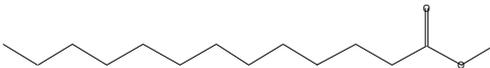
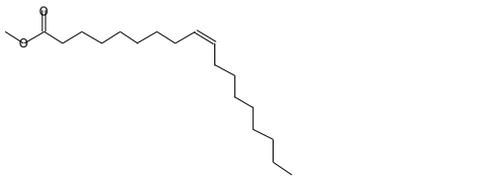
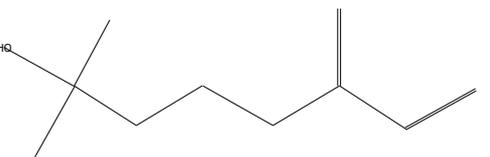
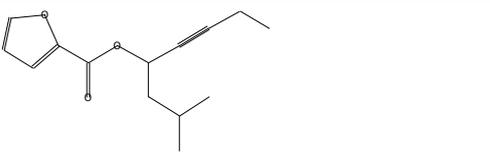
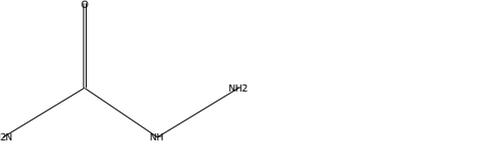
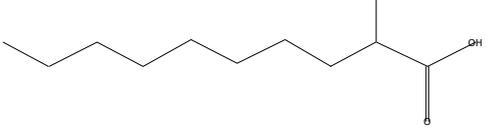
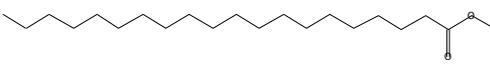


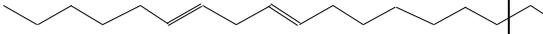
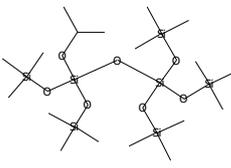
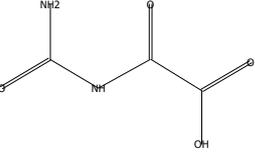
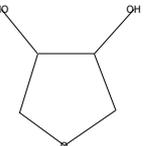
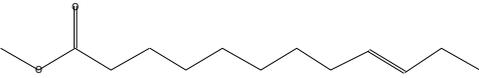
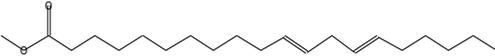
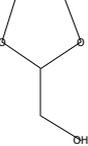
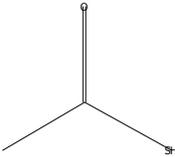
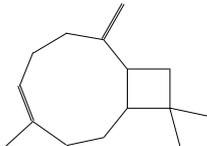
**Spectre GC-MS de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. arboreus*.**

Tableau des composés majoritaires identifiés dans les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. arboreus* en GC-MS.

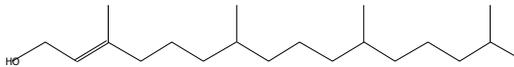
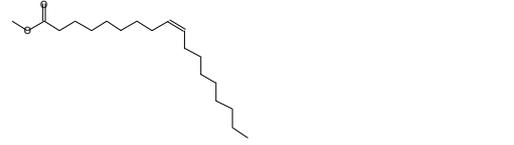
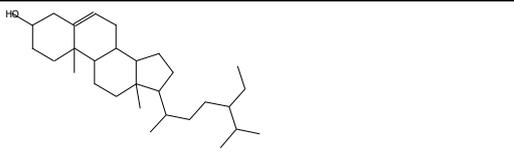
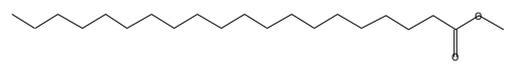
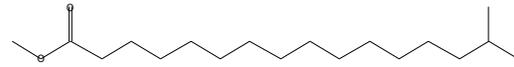
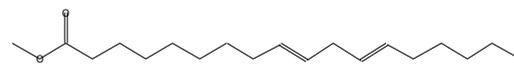
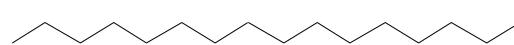
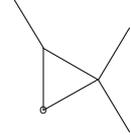
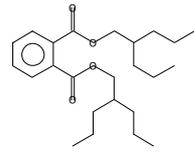
<i>M. arboreus</i>	Nom du composé	Formule moléculaire	Temps de rétention (s)	Abondance relative (%)	Nature du composé	Structures chimiques
Extrait Aqueux	Méthyl Hexadecanoate ou palmitate de méthyle	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1317,62	63,6520	Ester de méthyle d'acide gras	
	Diglycolamine	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	194,66	8,6345	Amine	

	<b>Squalène</b>	C30H50	1761,86	3,9473	triterpène	
	<b>Méthyl tetradécanoate</b>	C15H30O2	1192,6	2,9017	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl 12-méthyltetradécanoate</b>	C16H32O2	1237,88	2,0661	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>(Z)-Méthyl hexadéc-7-énoate</b>	C17H32O2	1305,76	1,5309	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Ammonium carbamate,</b>	CH6N2O2	189,22	1,3890	Composé inorganique,	
	<b>Méthyl Docosanoate</b>	C23H46O2	1637,3	1,2609	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl 8-(2-hexylcyclopropyl) octanoate</b>	C18H34O2	1368,82	1,2415	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl Tétracosanoate</b>	C25H50O2	1727,66	1,2386	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl stéarate</b>	C19H38O2	1433,4	1,1208	Ester de méthyle d'acide gras	

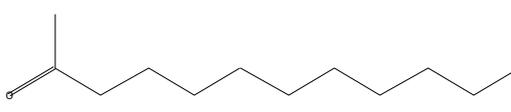
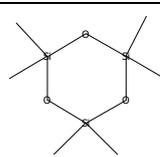
<b>Méthyl Pentadécanoate</b>	C16H32O2	1232,62	1,0548	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>Méthyl Tridécanoate</b>	C14H28O2	1377,14	0,96998	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>Méthyl (Z)- 9-octadécenoate ou Méthyl oleate</b>	C19H36O2	1419,34	1,2343	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>7-Octen-2-ol, 2-méthyl-6-méthylène- ou Myrcenol</b>	C10H18O	1243,22	0,58729	Terpénoid e	
<b>2-Furoic acid, 2-méthyl-5-yn-4-yl ester</b>	C14H18O3	1394,6	0,38353	Ester d'acide furoïque	
<b>Hydrazinecarbox amide</b>	CH5N3O	185,96	0,31541	Non identifié	
<b>Decanoic acid, 2-méthyl-</b>	C11H22O2	1055,8	0,30274	méthyle d'acide gras	
<b>Dodécaméthylcyclohexasiloxane</b>	C12H36O6Si6	860,08	0,25672	Groupe des Silicones	
<b>Méthyl eicosanoate ou Méthyl arachidate</b>	C21H42O2	1539,48	0,24547	Ester de méthyle d'acide gras	

	<b>Méthyl 9,12-Octadecadienoate ou Méthyl linoléate</b>	C19H34O2	1416,34	0,2123	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>3-Isopropoxy-1,1,1,7,7,7-hexaméthyl-3,5,5-tris(triméthyl-siloxy)tétrasiloxane</b>	C18H52O7Si7	992,52	0,20173	Diterpènes	
	<b>Acide acétique, [(aminocarbonyl) amino]oxo- ou acide Oxalorique</b>	C3H4N2O4	187,24	0,19445	acide Oxalorique	
	<b>3,4-Furandiol, tétrahydro-, trans-</b>	C4H8O3	181,02	0,15278	Furandiol	
	<b>Méthyl (9E)-9-dodecenoate</b>	C13H24O2	1481,22	0,11728	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl 11,14-eicosadienoate</b>	C21H38O2	1416,04	0,10886	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>1,3-Dioxolane-2-méthanol</b>	C4H8O3	1108,92	0,10578	Composé organique à chaîne de dioxolane	
	<b>Acide Thioacétique</b>	C2H4OS	183,28	0,1661	Composé organique acide	
	<b>Bicyclo[7.2.0]undéc-4-ène, 4,11,11-triméthyl-8-méthylène-, [1R-(1R*,4Z,9S*)]- ou Isocaryophyllène</b>	C15H24	1378,06	0,0850	Hydrocarbure et sesquiterpène	

	<b>1-Cyclohexanol, 2-(3-méthyl-1,3-butadienyl)-1,3,3-triméthyl-</b>	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O	1013,62	0,0839	Monoterpène	
	<b>Ethanethioic acid, S-[(méthylthio)méthyl] ester</b>	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> OS <sub>2</sub>	187,16	0,0594	Composé organique avec une fonction acide Thio-carboxylique	
	<b>Méthyl cis-10-Heptadécenoate</b>	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1368,66	0,0295	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>N,N,O-Triacétylhydroxylamine</b>	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	207,1	0,0290	Hydroxylamine	
	<b>1,2-Diamino-propane</b>	C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>	183,38	0,0252	Composé organique (diamine chirale)	
	<b>5-Méthyl-3-phenyl-1H-indazole</b>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	2038,56	0,0072	Composé indazole	
<b>Extrait au méthanol</b>	<b>Méthyl hexadécanoate ou palmitate de méthyle</b>	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1317,6	51,5080	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl stearate ou acide stéarique</b>	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	1433,04	8,8435	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl octadéca-9,12,15-trienoate ou Méthyl linoléate</b>	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	1420,46	7,0499	Ester de méthyle de l'acide linoléique	

	<b>Phytol</b>	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	1425,36	2,239	Diterpène	
	<b>Méthyl (Z)-9-octadécenoate</b>	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	1419,08	1,5842	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>â-Sitostérol</b>	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	1980,92	0,82382	phytostéro 1	
	<b>Méthyl eicosanoate ou Méthyl arachidate</b>	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	1540,4	0,58689	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Methyl 15-méthylhexadécanoate</b>	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	1377,64	0,6306	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Méthyl (9E,12E)-Octadeca-9,12-dienoate ou Méthyl linoléaidate</b>	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1416	0,3560	Ester de méthyle d'acide gras	
	<b>Hexadécane</b>	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	1620,82	0,21863	Hydrocarbone	
	<b>Oxirane, triméthyl-</b>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	185,54	0,18248	Oxirane	
	<b>Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester</b>	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	1643	0,16318	Ester d'acide dicarboxylique	

<b>Oxetane, 2,4-dimethyl-, trans-</b>	C5H10O	182,44	0,13853	Oxetane	
<b>Méthyl-6-deoxy-6-fluoro-2,3,4-tri-O-méthylá-d-galacto-pyranoside</b>	C10H19FO5	1358,4	0,1187	pyranoside	
<b>Méthyl tridécanoate</b>	C14H28O2	1728,22	0,11705	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>Neophytadiene</b>	C20H38	1260,6	0,11063	Sesquiterpénoïdes	
<b>Méthyl (E) hexadec-2-énoate</b>	C17H32O2	1352,18	0,09933	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>Méthyl decanoate ou Méthyl - caprate</b>	C11H22O2	1638	0,09811	Ester de méthyle d'acide gras	
<b>Acide 2-méthyl-décanoïque</b>	C11H22O2	1194,94	0,05588	méthyle d'acide gras	
<b>Méthyl (Z,Z)-9,12-octadécadiénoate ou Méthyl - linoléate</b>	C19H34O2	1416,22	0,04226	acide Linoléique	
<b>Méthyl (E,E)-9,12-octadécadiénoate ou Méthyl - linoléate</b>	C19H34O2	1415,88	0,03240	Ester de méthyle d'acide gras	

	<b>2-Dodécanone</b>	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O	1267,94	0,03078	Cétone	
	<b>Hexaméthylcyclotrisiloxane</b>	C <sub>6</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>3</sub>	2192,76	0,00567	Organosilicone	



**PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE**