

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

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

Effets de l'extrait aqueux de l'écorce du tronc de
Baillonella toxisperma Pierre (Sapotaceae) sur quelques
modèles de dysfonctions du système reproducteur chez le
rat Wistar.

Thèse présentée en vue de l'obtention du **Doctorat/Ph.D**

en Biologie des Organismes Animaux

Option: **Physiologie Animale**

Par

SIMO Rudy Valdès

Matricule: 07Q859

Master ès-sciences

Sous la Direction de:

NJAMEN Dieudonné

Professeur

FS, UYI

Année 2021



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
BP 812- Tél. : (237) 222-56-59-96

ATTESTATION DE CORRECTION

Conformément à l'autorisation de soutenance de Doctorat/Ph.D N°007-2022/UYI/CRFD/SVSE/URFD-SV/22 de Monsieur le Recteur, la thèse intitulée « Effets de l'extrait aqueux de l'écorce du tronc de *Baillonella toxisperma* Pierre sur quelques modèles de dysfonctions du système reproducteur chez le rat Wistar » a été présentée le **Lundi 07 Février 2022** par l'étudiant **SIMO Rudy Valdès**, Matricule **07Q859**. Le document final a été corrigé suivant les recommandations du jury.

En foi de quoi la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le

L'Examineur

Le Président du Jury

Le Chef de Département



*Charles Félix
Bilong Bilong*
Professeur

09 JUN 2022

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

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022
 (Par Département et par Grade)
DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*
VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*
VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*
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 :
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP

18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE 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	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste

35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste

11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
11	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

27	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste

31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
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	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	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	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste

18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

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	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste

11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste

8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	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	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBEA FOUA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UII</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT 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	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
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	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
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	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
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	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste

33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	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
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	3 (02)	38 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	46 (14)
BPV	07 (01)	10 (01)	9 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	02 (0)	34(7)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	02 (0)	40 (5)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42(7)
Total	75 (5)	105 (29)	116 (31)	43 (10)	339 (75)

Soit un total de **339 (75)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **105 (29)**
- Chargés de Cours **116 (31)**
- Assistants **43 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DEDICACE

A M. et Mme BOUDA et à tous ces hommes victimes des troubles de la fonction reproductrice, trouvez en ce travail une réelle source d'espérance...

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont à l'endroit :

- Du **Pr. NJAMEN Dieudonné** pour avoir accepté de diriger cette thèse. Merci Professeur pour m'avoir intégré dans votre équipe de recherche et pour la formation et la confiance manifestée à mon égard. Vos conseils avisés et vos compétences scientifiques ont été des éléments essentiels dans l'aboutissement de cette thèse ;
- Du **Dr. ATEBA Sylvain Benjamin** et du **Pr. ZINGUE Stéphane** pour leurs encadrements rigoureux tout au long de cette thèse. Merci pour votre investissement et disponibilité pour la réalisation des études expérimentales. Merci pour les discussions et les nombreuses corrections qui ont permis à l'élaboration de ce manuscrit ;
- Du **Pr. DJIOGUE Séfirin** et des **Pr. MVONDO Marie Alfred, Drs. TCHOUPANG NANA Edwige, ZEMO GAMO Franklin** et **AWOUNFACK Charline Florence**. Votre soutien multiforme et vos interventions critiques ont permis d'améliorer ce travail de recherche ;
- De tous mes collègues de l'équipe de recherche du Pr. NJAMEN: **Mmes. BAKAM YENGWA Berlise** et **YONKEU TATCHOU Floriane Gaëlle** ; **Milles MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure, SILIHE KAMGA Kevine, TOUOMO SANDOCK Aude Jaelle, MOTOUM TEDJO Florette** et **NDJENGUE MINDANG Elisabeth Louise** et **Ms. NANBO GUEYO Téléphone, RIEPOUO MOUCHILI Oumarou, GUEMNANG NGITEDEM Steve, BIKOI BIKOI René James, SIPPING KEMEGNE Marius, TCHATCHOU Jules, DJOUSSI NJIMFO Sosthène, DJIKEM TADAH Rudig Nikanor** pour votre assistance multiforme dans les différentes manipulations ;
- Du **Pr. PIEME Constant Anatole** pour sa disponibilité et son assistance matériel et technique dans la réalisation des tests biochimiques ;
- De **M. NJINKIO NONO Borgia Legrand** pour son aide apportée au cours du dosage des paramètres du stress oxydant ;
- De **M. NDANGA Thomas** pour son aide apportée au cours de la lyophilisation de l'extrait ;
- De **M. TAKALA Jean-Pierre** pour son assistance technique apportée lors de la réalisation de toute la partie histologique de ce travail ;
- Du **Dr. ESSONO Damien** pour son aide lors de la récolte et l'identification de la plante ;

- Des **Enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales** plus particulièrement ceux de l'option Physiologie Animale pour leur encadrement et les connaissances transmises ;
- De l'**Association des Universités Africaines(AUA)** pour l'appui financier qu'il m'est octroyé dans la réalisation d'une partie de ces travaux de recherche ;
- De l'**"International Brain Research Organisation" et l'"International Society for Neurochemistry" (IBRO-ISN)** pour le financement de ma participation aux séminaires de formation sur les techniques d'évaluation des effets des composés actifs sur le système nerveux à l'Université d'IBADAN (Nigeria) ;
- De tous mes amis. Merci pour le soutien moral qui m'a permis de tenir le coup jusqu'au terme de cette thèse. Merci particulièrement aux Ms. **KOUAM Aubin** et **FOKAM Paul Ernest** pour les moments de joie et de peine partagés ; merci également pour avoir été d'une compréhension et d'un soutien sans faille pendant toutes ces années ;
- De toute ma famille, pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté à mon égard et surtout pour tous les sacrifices consentis pour mon éducation et épanouissement. Merci pour la mobilisation et les aides de toutes natures ;
- De **Mlle. GUEMCHE SILLAG Jeanne Irène** et mon fils **BOUOPDA SIMO Joan Alberto**, pour m'avoir remonté le moral lorsque ma détermination flanchait, qu'ils apprécient ici le fruit de tant d'effort ;
- De toutes ces personnes que je n'aurais pas nommément citées et dont Dieu m'est témoin que je les porte dans mon cœur. Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon estime et de ma gratitude.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xii
RESUME.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I:.....	4
REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I.1. Appareil génital masculin.....	5
I.1.1. Testicule.....	5
I.1.2. Régulation des fonctions testiculaires.....	10
I.1.3. Epididyme.....	11
I.1.4. Glandes annexes.....	12
I.1.5. Structure et fonction du pénis.....	12
I.2. Comportement Sexuel.....	14
I.2.1. Rôle des Androgènes.....	14
I.2.2. Acte sexuel masculin.....	14
I.2.3. Cas particulier du rat.....	15
I.3. Facteurs et causes d'infertilité masculine.....	15
I.3.1. Insuffisance testiculaire.....	17
I.3.2. Pathologies post-testiculaires.....	19
I.3.3. Dysfonctions sexuelles.....	19

I.3.4. Impact de l'obésité et de l'alcool sur la fonction de reproduction masculine	20
I.3.5. Infection sexuellement transmissibles et fertilité masculine	21
I.3.6. Expositions et infertilité.....	22
I.4. Traitements de l'infertilité masculine	24
I.4.1. Traitements des étiologies curables	25
I.4.2. Aide médical à la procréation	25
I.5. Dysfonctionnement érectile (DE)	26
I.5.1. Facteurs étiologiques	26
I.5.2. Thérapeutiques.....	29
I.6. Généralités sur <i>Baillonella toxisperma</i>	30
I.6.1. Dénomination vernaculaire	30
I.6.2. Position systématique.....	30
I.6.3. Description morphologique	30
I.6.4. Utilisations phytothérapeutiques.....	31
I.6.5. Travaux pharmacologiques antérieurs	31
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	32
II.1. Matériel.....	33
II.1.1. Matériel végétal	33
II.1.2. Matériel animal.....	33
II.2. Méthodes	33
II.2.1. Préparation et détermination des doses de l'extrait	33
II.2.2. Détermination de la dose d'alcool utilisée pour induire l'infertilité	34
II.2.3. Choix des doses du manèbe.....	34
II.2.4. Procédures générales pour les évaluations pharmacologiques	34
II.2.5. Protocoles expérimentaux des études pharmacologiques.....	37
II.2.6. Protocoles des dosages biochimiques.....	48

II.2.7. Techniques histologiques	59
II.2.8. Analyse morphométrique	62
II.2.9. Analyse statistique	62
CHAPITRE III:RESULTATS.....	63
III.1. Extraction et composition phytochimique de la plante	64
III.1.1. Rendement de l'extraction	64
III.1.2. Quantification de quelques classes de composés dans l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	64
III.2. Effets de l'extrait sur l'activité copulatoire des rats normaux	64
III.2.1. Effets sur l'activité copulatoire	64
III.2.2. Effets sur la masse relative de quelques organes sexuels.....	66
III.3. Effets protecteurs de l'extrait contre une dysfonction reproductive chez des rats soumis au stress d'immobilisation.....	66
III.3.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires	66
III.3.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels.....	69
III.3.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques.....	69
III.3.4. Effets sur l'histoarchitecture testiculaire.....	70
III.4. Effets protecteurs de l'extrait contre une dysfonction reproductive chez des rats soumis à une consommation prolongée (42 jours) d'alcool ethylique	71
III.4.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires	71
III.4.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels.....	73
III.4.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques.....	73
III.4.4. Effets sur quelques paramètres biochimiques androgénodépendants	74
III.4.5. Effets sur l'activité antioxydante testiculaire	75
III.4.6. Effets sur l'histoarchitecture testiculaire.....	76
III.5. Effets protecteurs de l'extrait contre une altération de la fonction reproductive engendrée par une exposition prolongée au manèbe chez le rat.	77

III.5.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires	77
III.5.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels.....	80
III.5.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques.....	80
III.5.4. Effets sur l'histomorphométrie des tubes séminifères	81
III.6. Evaluation des effets curatifs de l'extrait chez des rats rendus hypofertiles par le manèbe.	82
III.6.1. Effet du manèbe sur quelques paramètres de reproduction.....	82
III.6.2. Effets du traitement à l'extrait de <i>B. toxisperma</i> chez des rats rendus hypofertiles par le manèbe.....	84
III.7. Profil toxicologique de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	88
III.7.1. Etude de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	88
III.7.2. Etude de la toxicité de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> en administration répétée à la dose thérapeutique de 150 mg/kg pendant 60 jours	90
CHAPITRE IV:DISCUSSION	93
CONCLUSION, RECOMMANDATIONSET PERSPECTIVES.....	93
REFERENCES.....	93
ANNEXES	xciii
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	xciii

LISTE DES FIGURES

Figure 1: L'appareil reproducteur mâle.....	5
Figure 2: Section sagittale du testicule, de l'épididyme et du canal défèrent	6
Figure 3: Biosynthèse des hormones stéroïdiennes.....	7
Figure 4: Déroulement de la spermatogenèse	9
Figure 5: Mécanismes impliqués dans l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique.....	11
Figure 6: Illustration de l'anatomie du pénis chez l'homme.....	13
Figure 7: <i>Baillonella toxisperma</i> : A = Tronc ; B = Branches	31
Figure 8: Séquence épisodique de la copulation chez les rats albinos Wistar.....	36
Figure 9: Protocole d'évaluation des effets aphrodisiaques de l'extrait de <i>B. toxisperma</i>	38
Figure 10: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> chez des rats soumis au stress d'immobilisation.....	40
Figure 11: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la fonction reproductive des rats soumis à une consommation excessive d'alcool.....	42
Figure 12: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la fonction reproductive des rats soumis à une exposition prolongée à un pesticide agricole (manèbe).....	44
Figure 13: Protocole d'évaluation de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de <i>Baillonella toxisperma</i>	46
Figure 14: Protocole d'évaluation des effets curatifs de l'extrait chez des rats rendus hypofertiles par un pesticide agricole (manèbe). BT: <i>Baillonella toxisperma</i>	47
Figure 15: Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux.....	49
Figure 16: Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes totaux.....	50
Figure 17: Courbe d'étalonnage de détermination du potentiel antioxydant in vitro.	51
Figure 18: Courbe d'étalonnage du dosage des protéines totales.	52
Figure 19: Batterie de déparaffinage et réhydratation.....	61
Figure 20: Effets de l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires des animaux stressés.....	70
Figure 21: Effets de l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules des animaux stressés.....	70

Figure 22: Effets de l'extrait de <i>B. toxisperma</i> sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires des animaux soumis à la consommation chronique d'éthanol 25%	74
Figure 23: Effets de l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules des animaux soumis à une consommation excessive d'alcool.	77
Figure 24: Effets de l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires	81
Figure 25: Effets du manèbe sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires	82
Figure 26: Effets du manèbe sur le taux de testostérone totale sérique	83
Figure 27: Effets du manèbe sur l'histologie des testicules	83
Figure 28: Effets du traitement à l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires	85
Figure 29: Effets du traitement à l'extrait sur le taux de testostérone totale sérique	86
Figure 30: Effets du traitement à l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules	87
Figure 31: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la masse corporelle en essai de toxicité orale aiguë.	89
Figure 32: Microphotographies (HE×400) de la coupe transversale du foie, du poumon et du rein obtenu après 60 jours de traitement des animaux avec l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	92

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Limites inférieures de référence des paramètres du sperme humain.....	17
Tableau II: Procédure d'évaluation de la courbe d'étalonnage et de la teneur en polyphénols totaux.....	48
Tableau III: Protocole d'obtention de la courbe d'étalonnage et de la teneur en flavonoïdes totaux.....	50
Tableau IV: Protocole d'obtention de la courbe d'étalonnage et du potentiel antioxydant <i>in vitro</i>	51
Tableau V: Protocole de détermination de la courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des protéines totales.....	52
Tableau VI: Protocole de dosage du malondialdéhyde.....	53
Tableau VII: Dosage du fructose par la méthode colorimétrique à l'indol.....	55
Tableau VIII: Protocole de dosage du cholestérol total sérique et testiculaire.....	56
Tableau IX : Mode opératoire du dosage des triglycérides.....	56
Tableau X: Etapes de coloration à l'hématoxyline et l'éosine.....	61
Tableau XI: Taux de composés phénoliques et capacité antioxydante <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	64
Tableau XII: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres copulatoires des animaux normaux.....	65
Tableau XIII: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la masse relative de quelques organes sexuels après 8 jours de traitement.....	66
Tableau XIV: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres copulatoires des animaux soumis au stress d'immobilisation.....	68
Tableau XV: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels des animaux soumis au stress d'immobilisation.....	69
Tableau XVI: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres copulatoires chez des animaux soumis à une consommation prolongée (42 jours) d'éthanol 25%.....	72

Tableau XVII: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur le poids corporel et le poids relatif de quelques organes sexuels des animaux soumis à la consommation d'alcool éthylique	71
Tableau XVIII: Effets de l'extrait de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres biochimiques androgénodépendants	75
Tableau XIX: Effets de l'extrait sur quelques paramètres du stress oxydant au niveau testiculaire	76
Tableau XX: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres copulatoires des animaux exposés au manèbe durant 60 jours	79
Tableau XXI: Effets de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels des animaux exposés au manèbe durant 60 jours	80
Tableau XXII: Effets de l'extrait sur quelques paramètres histomorphométriques des tubes séminifères des animaux exposés au manèbe	81
Tableau XXIII: Effets du manèbe sur la masse relative de quelques organes sexuels	82
Tableau XXIV: Effets du traitement à l'extrait de <i>B. toxisperma</i> sur la masse relative de quelques organes sexuels	84
Tableau XXV: Effets du traitement à l'extrait de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres du spermogramme	85
Tableau XXVI: Effets du traitement à l'extrait sur quelques paramètres de fertilité	88
Tableau XXVII: Observations en essai de toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i>	88
Tableau XXVIII: Effet de l'extrait aqueux de <i>B. toxisperma</i> sur la masse relative de quelques organes au cours de l'étude de toxicité orale aiguë	87
Tableau XXIX: Effets de l'extrait sur la masse relative de quelques organes de toxicité	90
Tableau XXX: Effets de l'extrait sur quelques paramètres hématologiques	90
Tableau XXXI: Effets de l'extrait de <i>B. toxisperma</i> sur quelques paramètres biochimiques	91

LISTE DES ABREVIATIONS

- AMP:** Assistance Médicale à la Procréation ;
- BT:** *Baillonella toxisperma* ;
- CFTR:** "Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator" ;
- DE:** Dysfonction érectile ;
- DHT:** Dihydrotestostérone ;
- DJA:** Dose journalière admissible ;
- ER α :** Récepteurs d'œstrogènes de type α ;
- ER β :** Récepteurs d'œstrogènes de type β ;
- FIV:** Fécondation *In Vitro* ;
- FRAP:** "Ferric reducing antioxydant power" ;
- FSH:** "Follicule Stimulating Hormone";
- FSHR:** Récepteurs de la FSH ;
- GnRH:** "Gonadotrophin Releasing Hormone";
- GSH:** Glutathion réduit ;
- HDL:** "High density lipoprotein" ;
- HED:** "Human Equivalent Dose" ;
- HTA:** Hypertension artérielle ;
- ICSI:** " Intra Cytoplasmic Spermatozoid Injection" ;
- IMC:** Indice de masse corporelle ;
- LDL:** "Low Density Lipoprotein" ;
- LH:** "Luteinizing Hormone" ;
- MDA:** Malondialdéhyde ;
- NFS:** Numération formule sanguine ;
- nNOS:** Monoxyde nitrique synthase neuronale ;

RÉSUMÉ

L'infertilité du couple est très souvent la cause des frustrations conjugales, de violences et de divorce ou de polygamie. Cette incapacité de procréer peut être imputée à l'homme dans 50% des cas. L'exposition chronique aux facteurs stressants, la consommation excessive des substances psychoactives et l'exposition à de nombreux xénobiotiques (perturbateurs endocriniens) figurent parmi les causes majeures de l'infertilité masculine. Le traitement par des androgènes synthétiques bien qu'améliorant la fertilité masculine présente très souvent des inconvénients tels que les risques d'atteintes cardiovasculaires, hépatiques et prostatiques. Face à cette situation, en raison leurs effets indésirables minimes, les plantes médicinales constituent une source de traitement alternatif pour beaucoup de couples infertiles. L'objectif de ce travail était d'évaluer les effets de l'extrait aqueux de l'écorce du tronc de *Baillonella toxisperma* sur quelques modèles de dysfonctions du système reproducteur chez le rat Wistar. Dans la première expérimentation, l'efficacité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à stimuler l'activité copulatoire a été évaluée chez des rats normaux sexuellement inexpérimentés. Pour ce faire l'extrait aux doses de 75, 150 et 300 mg/kg a été administré aux animaux pendant 8 jours et les tests de copulation ont été réalisés aux jours 1 et 8. Par la suite, trois modèles d'infertilité ont été utilisés pour évaluer l'efficacité de l'extrait (aux doses de 75, 150 et 300 mg/kg) à protéger/restaurer les fonctions reproductives des animaux soumis au stress d'immobilisation (6 h/jr pendant 35 jrs) ; de ceux soumis à la consommation excessive d'alcool éthylique (42 jrs) et de ceux soumis au manèbe (60 jrs). Un intérêt particulier a été porté sur le comportement sexuel, la fertilité, les niveaux d'androgènes, les paramètres du stress oxydatif au niveau testiculaire, l'histologie des testicules et le profil toxicologique de l'extrait. A l'issue de la première expérimentation, l'extrait (150 et 300 mg/kg) a montré des propriétés aphrodisiaques en réduisant de manière significative ($p < 0,05$) les temps de latence de monte et d'intromission et en augmentant de manière significative ($p < 0,05$) les fréquences de monte, d'intromission et d'éjaculation. Dans le modèle de dysfonction reproductive induite par le stress, les résultats montrent que les animaux stressés présentaient une diminution significative des performances ($p < 0,05$) et motivation ($p < 0,01$) sexuelles ainsi qu'une altération des paramètres spermatiques par rapport au témoin normal, le traitement à l'extrait a contrecarré les troubles de la spermatogénèse et a boosté l'activité copulatoire des animaux stressés. Dans le modèle de dysfonction reproductive induite par la consommation excessive d'alcool éthylique, une inhibition de l'activité copulatoire, une baisse significative ($p < 0,05$) des paramètres

spermatiques et androgéniques ont été observées chez des animaux recevant uniquement de l'éthanol comparé au témoin normal. Le cotraitement des animaux avec l'extrait a significativement ($p < 0,05$) contrecarré cette altération de la fonction reproductive induite par l'éthanol. Dans le modèle d'infertilité induite par le manèbe, les animaux recevant uniquement le manèbe (4 mg/kg) ont présenté une réduction significative ($p < 0,01$) du taux de testostérone totale sérique, avec une altération de l'activité copulatoire et une baisse des paramètres de fertilité. Le traitement à l'extrait a restauré la fertilité chez les animaux soumis au manèbe. Les animaux normaux traités à l'extrait ont présenté une baisse des paramètres de reproduction avec une diminution du taux de testostérone totale sérique. La DL_{50} orale de *B. toxisperma* a été estimée supérieure à 5000 mg/kg PC ce qui permet de classer cet extrait dans la catégorie 5 du système de classification globalement harmonisé de substances faiblement toxiques. L'extrait administré à la dose thérapeutique de 150 mg/kg n'a présenté aucun signe majeur de toxicité sur certains paramètres biochimiques et hématologiques évalués. En somme, les résultats obtenus justifieraient l'utilisation de *B. toxisperma* dans le traitement de l'infertilité masculine dans plusieurs régions de l'Afrique Centrale.

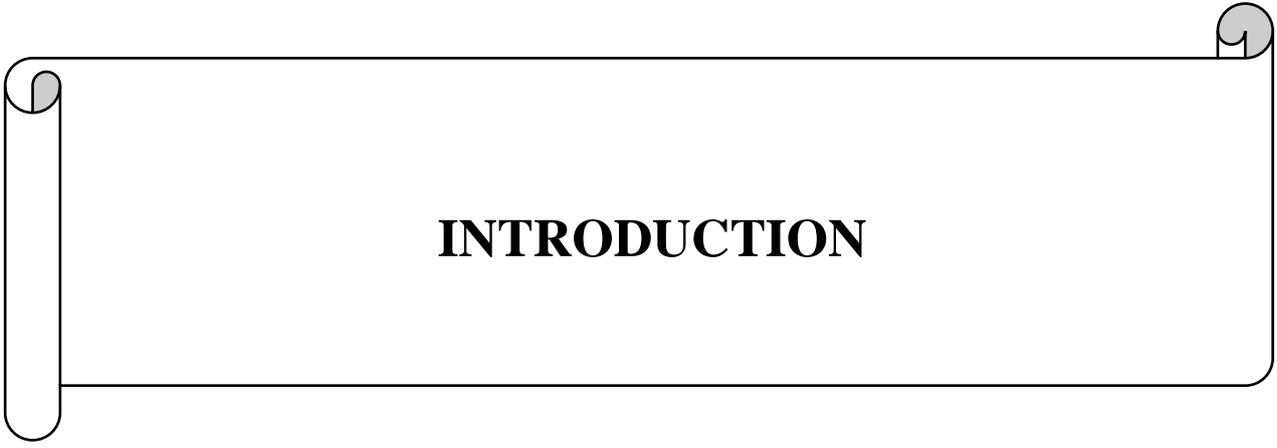
Mots clés: *Baillonella toxisperma*, infertilité masculine, activité copulatoire, stress, manèbe

ABSTRACT

Infertility in couples is often the cause of marital frustration, violence and divorce or polygamy. This inability to procreate can be attributed to men in 50% of cases. In addition, chronic exposure to stressors, excessive consumption of psychoactive substances and exposure to many xenobiotics (endocrine disruptors) are among the major causes of male infertility. Treatment with synthetic androgens, although they improve male fertility, in some cases have drawbacks such as the risk of cardiovascular or hepatic damage. Faced with this situation, due to their availability and minimal side effects, herbal remedies provide an alternative treatment source for many infertile couples. The objective of this work was to evaluate the effects of the aqueous extract of *Baillonella toxisperma* stem barks on some models of reproductive system dysfunction in Wistar rats. In the first experiment, the effectiveness of the aqueous extract of *B. toxisperma* in stimulating copulatory activity was evaluated in normal, sexually inexperienced rats. To do this, the extract at doses of 75, 150 and 300 mg/kg was administered to the animals for 8 days and copulation tests were performed on days 1 and 8 of the experiment. Subsequently, three infertility models were used to assess the efficacy of the extract at the same doses in protecting/restoring the reproductive functions of animals subjected to the stress of immobilization (6 hrs/day for 35 days); or subjected to excessive consumption of ethanol (42 days) or subjected to maneb (60 days). The endpoints were sexual behavior, fertility parameters, androgen levels, oxidative stress parameters, testicular histology and the toxicological profile of the extract. At the end of the first experiment, the extract (150 and 300 mg/kg) showed aphrodisiac properties by significantly reducing ($p < 0.05$) latencies of mount and intromission and by increasing significantly ($p < 0.05$) frequencies of mount, intromission and ejaculation. In the stress-induced infertility model, the results show that stressed animals exhibited a significant decrease in sexual performance ($p < 0.05$) and motivation ($p < 0.01$) as well as an alteration in sperm parameters compared to the normal control, the extract restored spermatogenesis and boosted copulatory activity in stressed animals. In the model of infertility induced by excessive ethanol consumption, inhibition of copulatory activity, a significant decrease ($p < 0.05$) in sperm and androgenic parameters were observed in animals receiving only ethanol compared to the normal control. Co-treatment of animals with the extract significantly ($p < 0.05$) counteracted this alteration in reproductive function induced by ethanol. In the maneb-induced infertility model, animals receiving only maneb (4 mg/kg) showed a significant reduction ($p < 0.01$) in serum total testosterone level, with impaired copulatory activity and a

decrease in the assessed fertility parameters. Treatment with the extract restored fertility in animals subjected to maneb. Normal animals treated with the extract showed decreased reproductive parameters with a decrease in serum total testosterone. The oral LD₅₀ of *B. toxisperma* is estimated to be greater than 5000 mg/kg b.w, which makes it possible to classify the toxicity of this extract in category 5 of the globally harmonized classification system: low toxicity. The extract administered at a therapeutic dose of 150 mg/kg showed no major signs of toxicity on certain biochemical and hematological parameters evaluated. In summary, the results obtained could justify the use of *B. toxisperma* in the treatment of male infertility in several regions of Central Africa.

Key words: *Baillonella toxisperma*, male infertility, copulatory activity, stress, maneb



INTRODUCTION

L'infertilité est une affection du système reproducteur masculin ou féminin définie par l'impossibilité d'aboutir à une grossesse après 12 mois de rapports sexuels réguliers et non protégés (OMS, 2018). Ce problème d'infertilité est souvent la cause des frustrations conjugales, de violences et de divorce ou de polygamie (Nana *et al.*, 2011). Dans le monde, le nombre de personnes infertiles a été estimé de 80 à 168 millions (Boivin *et al.*, 2007). Ce qui constitue un problème important de santé publique (Bushnik *et al.*, 2012). En Afrique et au Cameroun en particulier, 20 à 30% de couples souffrent d'infertilité (De Mouzon, 2011). Cette incapacité de procréer peut être imputée à l'homme dans 50% des cas (Yu-An Chen *et al.*, 2013), ceci montre la part de responsabilité de l'homme qui pendant longtemps, dans le contexte africain, a indexé la femme comme l'unique responsable. Chez l'homme, différentes pathologies peuvent être à l'origine de l'infertilité à l'instar: d'une altération de la formation et de la production des spermatozoïdes par le testicule ou ; d'un déficit post-testiculaire qui peut se manifester par des lésions des voies génitales ou une absence de maturation des spermatozoïdes (Gore *et al.*, 2015). Par ailleurs, une perturbation de la fonction sexuelle (dysfonctionnement érectile et/ou ejaculatoire) peut empêcher au sperme d'accéder naturellement aux voies génitales féminines. Des facteurs environnementaux et liés au mode de vie comme le tabagisme, la consommation excessive d'alcool, le stress et l'obésité peuvent avoir une incidence sur la fécondité. En outre, l'exposition aux polluants et aux toxines présents dans l'environnement peut avoir un effet toxique direct sur les gamètes en provoquant une diminution de leur nombre et de leur qualité, ce qui entraîne l'infertilité (Gore *et al.*, 2015; Segal et Giudice, 2019).

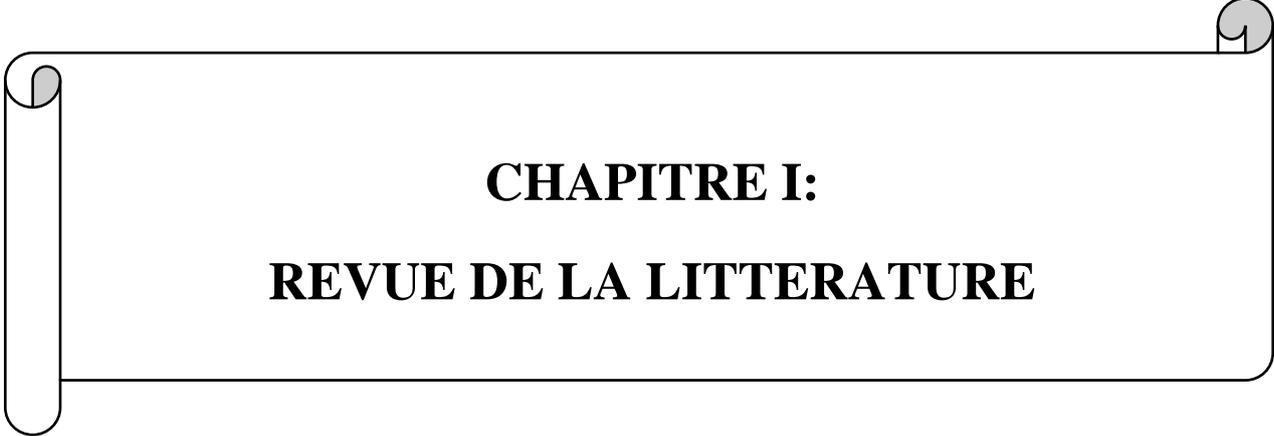
Des solutions au problème de procréation se développent au quotidien, c'est ainsi qu'on assiste à une exploration des techniques d'intervention chirurgicales, d'inséminations artificielles et de stimulations hormonales. Pour les infertilités masculines, les essais thérapeutiques préconisent surtout l'administration de la testostérone ou de ses analogues, des inhibiteurs de la biosynthèse des œstrogènes ou des antioestrogènes et les inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 (WHO, 2010). Toutefois, le traitement par des androgènes synthétiques bien qu'améliorant la fertilité présente très souvent des inconvénients tels que les risques d'atteintes cardiovasculaires, hépatiques ou prostatiques (Tostain et Rossi, 2004). Par ailleurs, dans les pays en voie de développement, en raison du faible revenu des populations, de l'insuffisance des infrastructures modernes de santé et du coût très élevé des techniques modernes de traitement, environ 80% des populations ont recours aux plantes médicinales pour leurs besoins de santé primaire (OMS, 2002). Dans ces pays, les structures hospitalières capables d'offrir des traitements modernes sont généralement très éloignées des zones rurales,

où se trouve une proportion non négligeable de personnes infertiles. Celles-ci recourent alors à l'utilisation des plantes médicinales comme ultime voie pour résoudre ce problème. Les plantes fournissent ainsi une source de traitements accessibles pour beaucoup de couples infertiles. Pourtant, cet usage traditionnel n'est généralement pas précédé des évidences scientifiques (pharmacologiques et toxicologiques) qui sont nécessaires pour la valorisation d'une plante médicinale. Sur cette base, les propriétés pharmacologiques et toxicologiques des différentes plantes utilisées en médecine traditionnelle, loin d'être de simples suppositions ou spéculations de la part des tradithérapeutes, doivent faire l'objet d'investigations scientifiques rigoureuses.

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle pour traiter l'infertilité masculine ont été recensées par Noumi et collaborateurs en 2011 dans la localité de "Bansoa" (Région de l'Ouest Cameroun). Parmi ces plantes, *Baillonella toxisperma* (Sapotaceae) a retenu notre attention. La décoction de l'écorce du tronc de cette plante est utilisée en administration répétée par voie orale par les hommes "Bansoa" pour soigner l'oligospermie (Noumi *et al.*, 2011). Par ailleurs Jiofack et collaborateurs dans une étude menée en 2009, ont relevé que l'écorce du tronc de *Baillonella toxisperma* est utilisée par les hommes de la Région de l'Est Cameroun pour traiter l'impuissance sexuelle. Toutes ces indications suggèrent que *Baillonella toxisperma* posséderait des propriétés androgénomimétiques capables de protéger les sujets mâles contre certains facteurs impliqués dans les troubles de la fonction de reproduction. Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes proposés d'évaluer les effets de l'extrait aqueux de l'écorce du tronc de *Baillonella toxisperma* sur quelques modèles de dysfonctions du système reproducteur mâle chez le rat Wistar.

Il s'agissait plus précisément de:

- évaluer les effets de *B. toxisperma* sur l'activité copulatoire des rats normaux ;
- évaluer les effets protecteurs de *B. toxisperma* contre une dysfonction reproductive chez des sujets soumis au stress d'immobilisation ;
- déterminer les effets protecteurs de *B. toxisperma* contre une dysfonction reproductive induite par une consommation excessive d'alcool (éthanol) ;
- évaluer les effets protecteurs et curatifs de *B. toxisperma* contre une altération de la fonction reproductive induite par une exposition prolongée à un pesticide agricole (manèbe);
- établir le profil toxicologique, la concentration en polyphénols et flavonoïdes et la capacité antioxydante de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*.



CHAPITRE I:
REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Appareil génital masculin

L'appareil génital mâle est constitué des gonades, des voies spermatiques, des glandes annexes et du pénis (Figure 1). Les gonades sont constituées de deux testicules (gauche et droit) qui sont intra-abdominaux pendant la gestation, puis subissent une descente inguinale dans les bourses ou scrotum à la naissance. Les voies spermatiques qui constituent le tractus génital sont constituées par deux spermiductes qui débutent par une partie pelotonnée coiffant le testicule appelée épидидyme, puis convergent en arrière de la vessie et fusionne avec l'uretère (provenant de la vessie) pour former l'urètre ou canal urogénital. Les glandes annexes sont constituées de deux vésicules séminales, une prostate et une glande bulbo-urétrale ou glande de Cowper, qui produisent l'essentiel du plasma séminal. L'organe copulateur est appelé pénis ou verge, et est constitué de trois corps érectiles (le corps spongieux et les deux corps caverneux) et d'un prépuce dont l'extrémité est rétractive (Marieb, 1999).

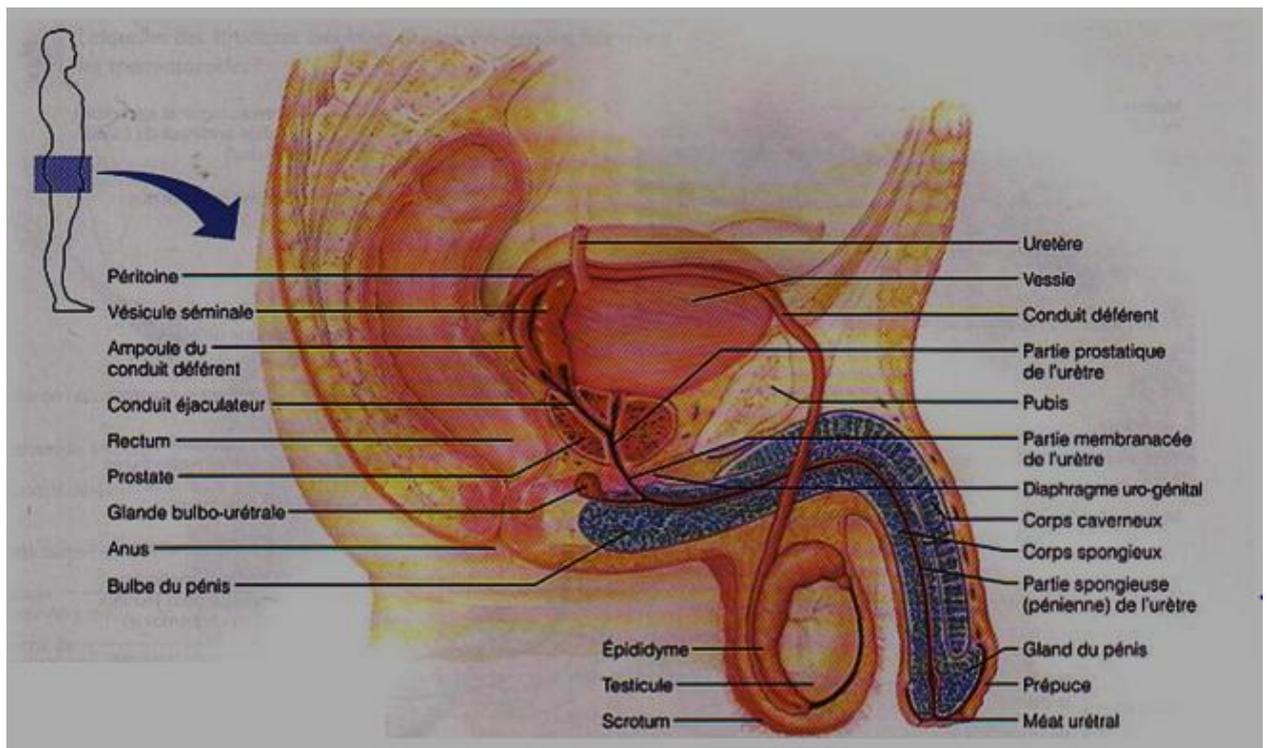


Figure 1: Appareil reproducteur de l'homme (Saladin, 2003).

I.1.1. Testicule

I.1.1.1. Description du testicule

Le testicule dont la longueur varie de 4 à 5 cm chez l'adulte, est coiffé par l'épididyme d'où part le spermiducte. Un testicule est formé de nombreux lobules coniques (200 à 300 en

moyenne), séparés par de fines cloisons conjonctives. Chaque lobule renferme 3 ou 4 tubes séminifères longs de 1 m (Figure 2). Les tubes séminifères sont séparés par de petits îlots de cellules interstitielles où sont élaborées les hormones mâles telles que la testostérone.

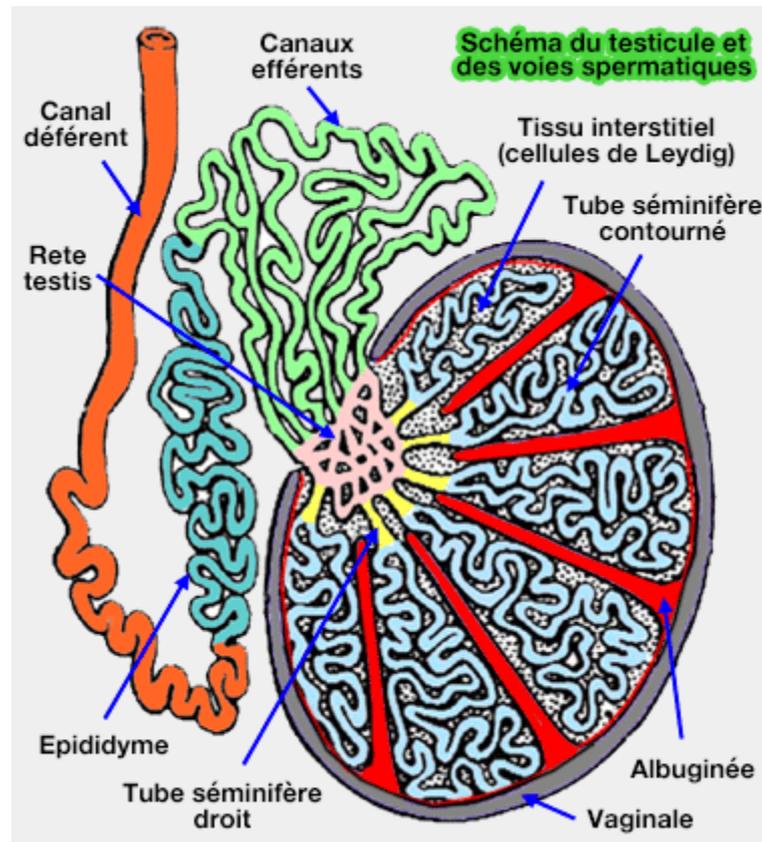


Figure 2: Section sagittale du testicule, de l'épididyme et du canal déférent (Terranova, 2004).

I.1.1.2. Biosynthèse des androgènes

La fonction endocrine du testicule est assurée principalement par les cellules de Leydig qui produisent des hormones stéroïdiennes. Cette production d'hormones stéroïdiennes (majoritairement la testostérone) est encore appelée stéroïdogénèse. La testostérone est convertie en dihydrotestostérone (DHT) et en œstradiol, respectivement l'androgène et l'estrogène les plus actifs (Figure 3). Le cholestérol est puisé dans la circulation sanguine où il est lié aux LDL ("Low Density Lipoprotein"). Les LDL sont captés par les cellules de Leydig et internalisés. Ce cholestérol peut être immédiatement utilisé par les mitochondries, c'est le rôle des protéines de transport dites protéines activatrices de la stéroïdogénèse (Stocco, 2002) ou être stocké dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques. Dans la mitochondrie, le cholestérol est transformé en prégnénolone. A partir de la prégnénolone, il y a 2 voies possibles, la voie delta 4 et la voie delta 5 qui se déroule en

dehors de la mitochondrie. Dans les deux cas, on obtient de l'androstènedione qui est en équilibre avec la testostérone. La sécrétion des stéroïdes (les principaux étant les androgènes) par les testicules est donc essentiellement leydigienne et est sous le contrôle de l'hormone lutéinisante (LH) d'origine hypophysaire (Labrie *et al.*, 2003).

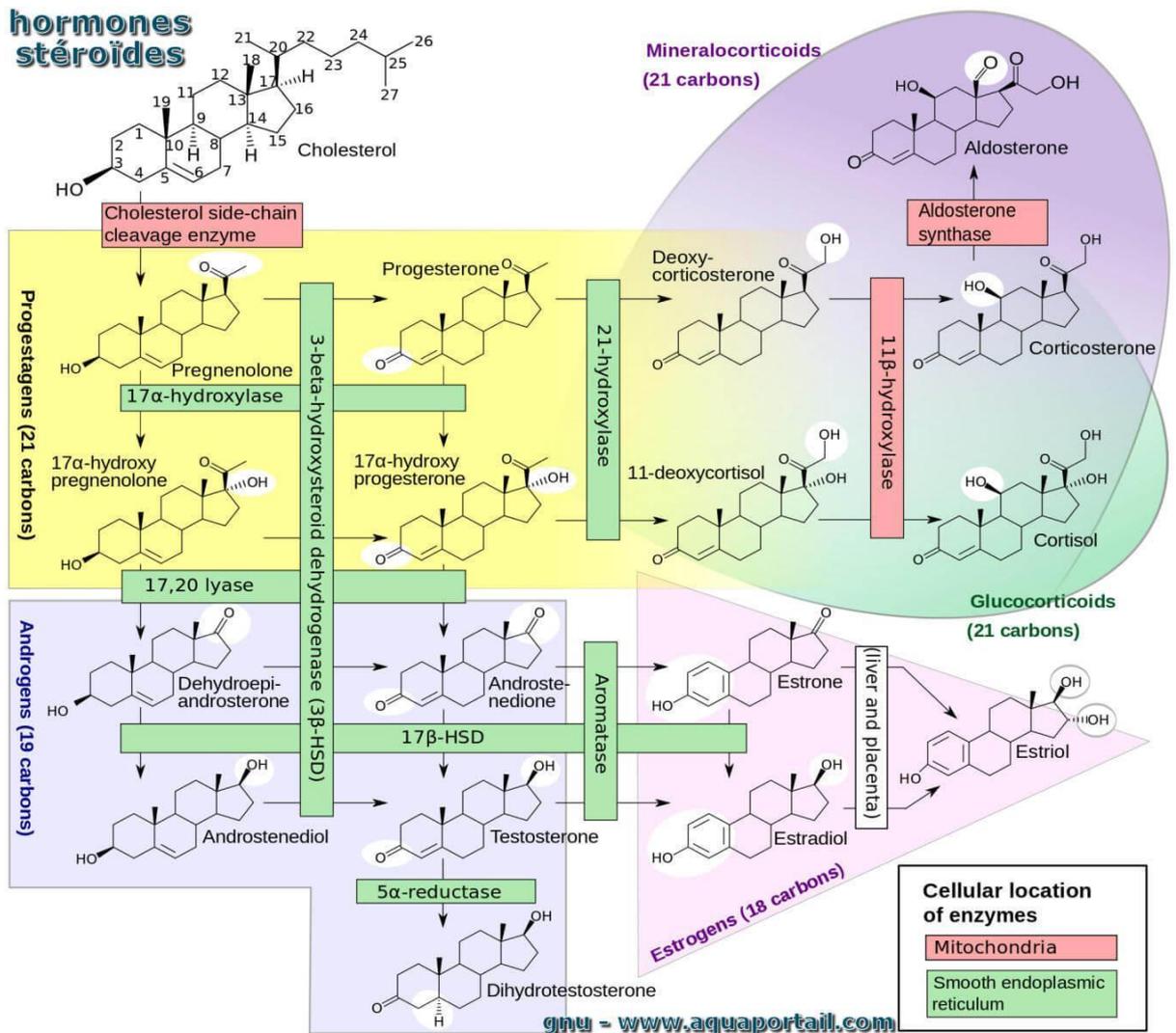


Figure 3: Biosynthèse des hormones stéroïdiennes (Terranova, 2004).

I.1.1.3. La spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus par lequel les spermatogonies, qui sont les cellules germinales primaires relativement peu différenciées et diploïdes (contenant l'assortiment complet de quarante-six chromosomes), prolifèrent et sont transformées en spermatozoïdes mobiles extrêmement différenciés et spécialisés contenant chacun un contingent haploïde de vingt-trois chromosomes. La transformation d'une spermatogonie en spermatozoïdes matures prend entre 64 et 72 jours chez l'homme (Sherwood, 2006), 35 jours chez la souris (Clermont,

1972) et 53 jours chez le rat (Hilscher, 1964). D'après Sherwood (2006), la spermatogenèse passe par trois grandes étapes: prolifération mitotique, méiose et spermiogénèse (Figure 4).

➤ **Formation des spermatogonies**

Les spermatogonies constituent les cellules germinales souches qui se différencient dès les premières semaines de la vie embryonnaire à partir des cellules germinales primordiales ; ces dernières prolifèrent à l'intérieur des cordons sexuels pour donner des M-prospermatogonies présents à 63 jours de vie. Elles sont remplacées par des spermatogonies transitoires primaires puis secondaires ; ces derniers éléments donnent naissance par division mitotique à des spermatogonies adultes dès la fin du troisième mois de la vie intra-utérine. Les spermatogonies sont des cellules de taille moyenne ayant un noyau arrondi qui est placé à la base de la paroi du tube séminifère ; elles se multiplient par mitose, l'une des cellules résultant de cette multiplication entre dans la phase d'accroissement, l'autre se divise à nouveau (Bernard et Daien, 1977).

➤ **Formation des spermatozoïdes (Bujan *et al.*, 1988)**

La formation des spermatozoïdes s'effectue sans interruption à partir de la puberté dans les tubes séminifères des testicules. Les spermatogonies quiescentes depuis la sixième semaine de la vie intra-utérine commencent à se multiplier et à se différencier. Les étapes qui conduisent une spermatogonie souche à plusieurs spermatozoïdes sont les suivantes:

- Naissance de deux spermatocytes de premier ordre par mitose d'une spermatogonie.
- Puis méiose comportant une première division ou méiose réductionnelle donnant à partir d'un spermatocyte de premier ordre (à 46 chromosomes et à 2 ADN) à deux spermatocytes de deuxième ordre (à 23 chromosomes mais à 2 ADN) suivie d'une deuxième division ou méiose équationnelle donnant deux spermatides (à 23 chromosomes et 1 ADN) à partir d'un spermatocyte de deuxième ordre.
- Enfin, transformation sans mitose d'une spermatide en spermatozoïde. Cette dernière étape s'appelle la spermiogénèse.

Au terme de cette évolution, le gamète mâle est morphologiquement achevé. En résumé nous pouvons conclure que le cycle spermatique dure généralement 74 jours:

- Formation de spermatogonies poussièreuses ou spermatogonies A (spermatogonies souches): 18 jours.
- Formation de spermatogonies croutelleuses ou spermatogonies B (spermatogonies différenciées): 09 jours.

Ces deux formations se réalisent dans la phase de multiplication.

- Transformation de spermatocytes I en spermatocytes II: 23 jours.

-Transformation de spermatocytes II en spermatides: 1 jour.

Ces deux transformations se réalisent dans la phase de méiose, la phase diploïde domine avec des chromosomes en double exemplaire

- Transformation de la spermatide en spermatozoïdes: 23 jours. Cette phase constitue la spermiogénèse.

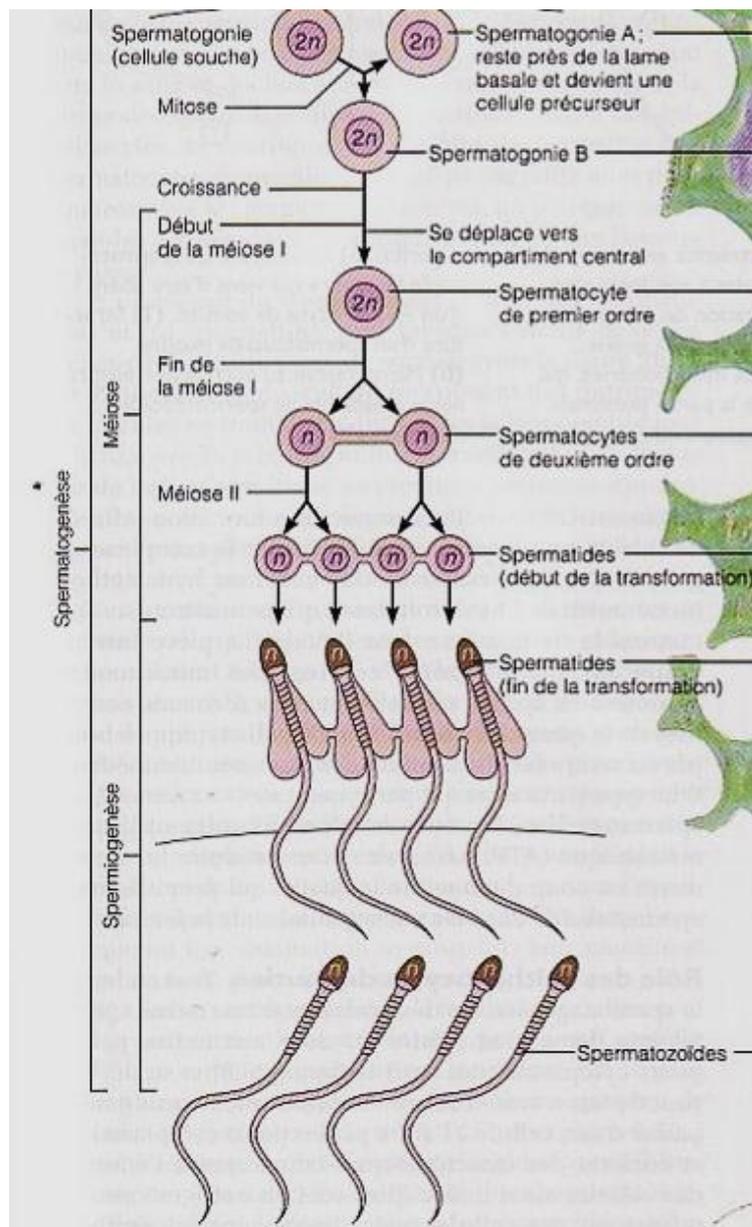


Figure 4: Déroulement de la spermatogénèse (Terranova, 2004).

I.1.2. Régulation des fonctions testiculaires

L'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire joue un rôle fondamental dans le processus de la reproduction notamment en assurant la maturation sexuelle lors de la puberté et le contrôle des fonctions endocrine et exocrine des testicules. L'hypothalamus secrète de façon pulsatile la GnRH ("Gonadotrophin Releasing Hormone") qui rejoint l'hypophyse antérieure par le système porte. Elle y déclenche la libération de deux gonadotrophines: la FSH ("Follicule Stimulating Hormone") et la LH ("Luteinizing Hormone"). La LH stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig testiculaires et régule ainsi la fonction endocrine du testicule. La FSH est responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogenèse en agissant sur les cellules de Sertoli testiculaires. En effet, dans la cellule de Sertoli, la FSH stimule la synthèse de son propre récepteur (FSHR) et active la sécrétion d'une protéine liant les androgènes (ABP: "Androgen Binding Protein"). La cellule de Sertoli secrète également l'hormone peptidique inhibine, qui inhibe la sécrétion de FSH. Dans la cellule de Leydig, la LH stimule la sécrétion de testostérone qui va agir dans la cellule de Sertoli en se liant à la protéine ABP. La testostérone circulant dans le sang inhibe en retour la sécrétion de LH par un rétrocontrôle négatif (Figure 5). Des systèmes de rétrocontrôle négatif agissent sur le système hypothalamo-hypophysaire par le biais de la production de testostérone et d'inhibine par les testicules.

Principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope mâle

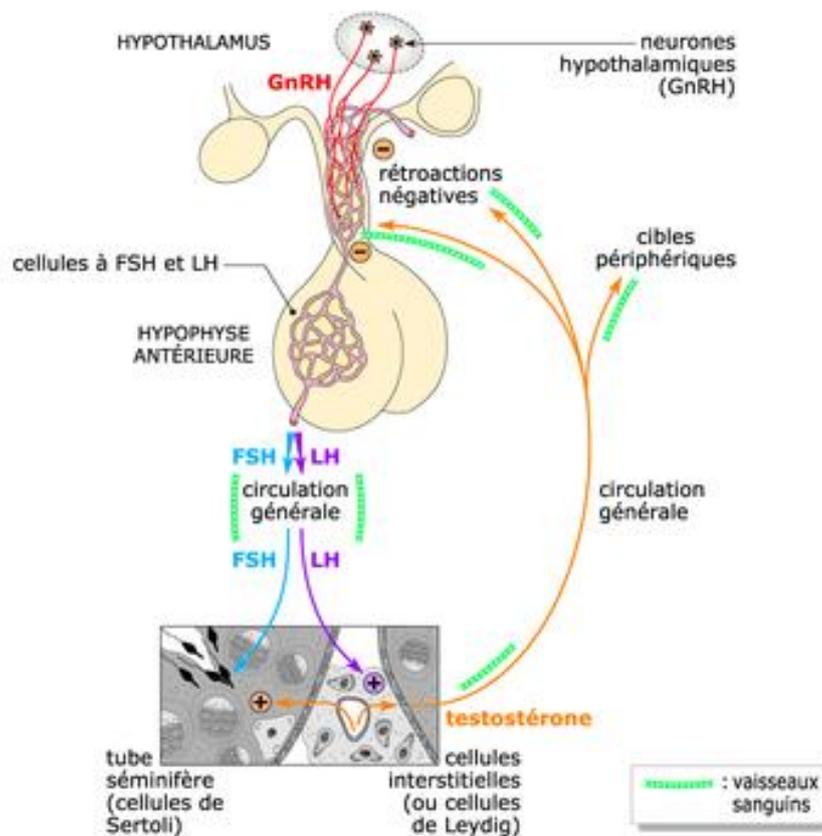


Figure 5: Mécanismes de régulation du taux sérique de testostérone par l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique (Terranova, 2004)..

Dans le système nerveux central, la testostérone peut agir directement ou via ses métabolites tels que la 5α -dihydrotestostérone et l'œstradiol. La testostérone et la 5α -dihydrotestostérone activent les récepteurs aux androgènes (AR), alors que l'œstradiol agit via les récepteurs aux estrogènes (ER α et ER β). Ces récepteurs sont des facteurs de transcription appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires.

I.1.3. Epididyme

L'épididyme est un tube plaqué contre le testicule. Il est formé de trois régions: la tête, le corps qui est une partie allongée aboutissant à la queue dans laquelle existe souvent une réserve importante de spermatozoïdes (Fournier-Delpech et Thibaut, 1991). L'épididyme assure le transport, la survie et la maturation fonctionnelle des spermatozoïdes. L'épididyme synthétise des substances favorables au métabolisme des spermatozoïdes. C'est le cas de l'acétyl-carnitine et de l'inositol qui interviennent dans la survie, la différenciation et la

maturation des spermatozoïdes. C'est également le cas de l' α -glucosidase qui catalyse l'hydrolyse des polysaccharides directement en glucose (Tremblay *et al.*, 1982 ; Besançon et Dacheux, 1985).

I.1.4. Glandes annexes

Les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales constituent les glandes génitales masculines annexées au tractus génital.

Les vésicules séminales sont constituées de deux poches plurilobées s'ouvrant soit dans la partie terminale des canaux déférents, soit dans l'urètre. La sécrétion des vésicules séminales est composée principalement de fructose, mais également de prostaglandines, d'acide ascorbique et d'insuline (Stahler *et al.*, 1987). Le fructose est indispensable pour la survie et la mobilité des spermatozoïdes (Prendergast et Veneziale, 1975).

La prostate a la taille et la forme d'une châtaigne. Elle est située en dessous de la vessie, en avant du rectum. Elle est traversée par l'urètre et par les deux canaux éjaculateurs. La prostate produit constamment des sécrétions, dont une partie est évacuée par l'urine. L'autre partie forme un liquide représentant la plus grande quantité du sperme (Fournier-Delpech et Thibaut, 1991).

I.1.5. Structure et fonction du pénis

Le pénis de l'homme est formé de trois corps cylindriques en tissu érectile: les deux corps caverneux parallèles et le corps spongieux situé au-dessus qui renferme l'urètre. Il est aussi formé de tissu érectile et se termine par un segment dilaté appelé le gland (Figure 6). L'irrigation des corps caverneux et du corps spongieux s'effectue par les branches terminales des artères honteuses internes. Le retour veineux se fait par deux voies à savoir: la veine dorsale superficielle qui draine le corps spongieux et la veine dorsale profonde tributaire des corps caverneux. Au niveau des veines, il existe des espèces de sphincters qui, lors des stimuli, empêcheront la circulation de retour, entraînant l'engorgement (Coulonval, 2010).

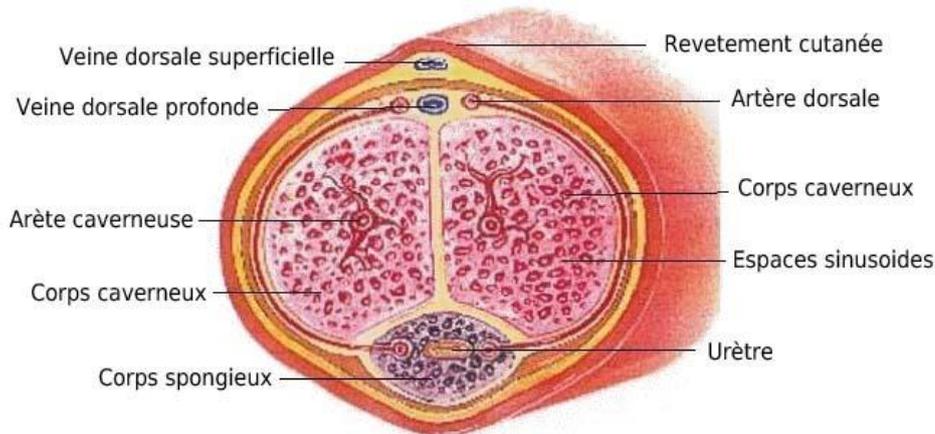


Figure 6: Illustration de l'anatomie du pénis chez l'homme (Saladin, 2003).

Le pénis reçoit l'innervation motrice des systèmes sympathique et parasympathique, qui constituent le système nerveux végétatif ou autonome. L'innervation sympathique provient de la moelle épinière dorsolombaire (thoracolombaire chez le rat) (Giuliano et Rampin, 2004). L'excitation sexuelle déclenche un réflexe parasympathique qui provoque la libération locale de monoxyde d'azote (NO). Le monoxyde d'azote augmente la production de la GMP cyclique, qui cause le relâchement des muscles lisses des vaisseaux et entraîne leur dilatation. L'érection du pénis constitue l'un des rares exemples de régulation parasympathique des artères. Le système parasympathique stimule également les glandes bulbo-urétrales, dont les sécrétions lubrifient le gland du pénis (Marieb., 1999). Le pouvoir d'atteindre et de maintenir une érection aboutissant à un orgasme normal requiert un réseau vasculaire et neurologique du système génito-urinaire.

L'érection ou tumescence du pénis repose sur la relaxation des fibres musculaires lisses de la paroi des artères à destinée pénienne et la relaxation des fibres musculaires lisses circonscrivant les espaces sinusoides composant le tissu érectile des deux corps caverneux et du corps spongieux. L'augmentation du débit sanguin local permet aux espaces sinusoides de se remplir de sang et ainsi d'augmenter en volume. Il en résulte une compression mécanique des veines émissaires assurant le drainage du tissu érectile contre l'albuginée ("*tunica albuginea*"), une enveloppe élasto-conjonctive épaisse entourant les corps caverneux. Le sang apporté par les artères se trouve ainsi « piégé » dans les espaces sinusoides et ceci entraîne une augmentation importante du volume puis de la rigidité du pénis (Clément et Giuliano, 2008).

I.2. Comportement Sexuel

I.2.1. Rôle des Androgènes

Pendant la puberté, la production d'androgènes (dont le chef de file est la testostérone), de LH et de FSH augmente, et les cordons sexuels se creusent, formant les tubules séminifères ; les cellules germinales commencent à se différencier en spermatozoïdes. Pendant toute la vie adulte, les androgènes et la FSH coopèrent et agissent sur les cellules de Sertoli dans les testicules, pour soutenir la production de spermatozoïdes. L'activité relative des androgènes dépend non seulement de leur nature mais de celle du récepteur. D'une manière générale, chez l'homme, les androgènes assurent le développement des organes génitaux et des caractères sexuels secondaires (Hazard *et al.*, 1989).

Les androgènes provoquent l'accroissement de la taille de la verge, le développement et la pigmentation du scrotum. Ils contribuent à l'augmentation du volume du testicule et de l'épididyme. Enfin, ils agissent de façon majeure au niveau de la prostate. Ils permettent le maintien de la spermatogénèse à condition que celle-ci ait été initiée par l'action de la FSH (Hazard *et al.*, 1989). De plus, les androgènes conditionnent le comportement du mâle dans le sens de l'agressivité.

Les androgènes sont de très puissants anabolisants protéiques comme en témoignent la diminution de l'excrétion azotée urinaire et l'augmentation du taux d'incorporation des acides aminés dans les protéines tissulaires surtout squelettiques, musculaires, rénales. Les androgènes stimulent la croissance mais provoquent une accélération de la soudure des cartilages de conjugaison. Les androgènes augmentent l'utilisation des graisses et favorisent leur stockage au niveau des muscles de la partie supérieure du corps. De plus, les androgènes favorisent le stockage du glycogène musculaire, la rétention sodée et calcique. Ils stimulent à forte dose l'érythropoïèse (Hazard *et al.*, 1989).

I.2.2. Acte sexuel masculin

L'acte sexuel masculin comporte deux composantes : 1) l'érection ou durcissement du pénis normalement flasque ce qui permet sa pénétration dans le vagin et 2) l'éjaculation ou émission du sperme par le pénis en érection. De plus, la réponse sexuelle de l'homme répond à un cycle qui peut être divisé en quatre phases (Sherwood, 2006):

- la phase d'excitation qui comporte l'érection et l'exaltation du désir sexuel ;
- la phase de plateau durant laquelle les réponses précédentes deviennent plus intenses ;
- la phase d'orgasme qui comporte l'éjaculation et un plaisir physique intense ;
- la phase de résolution durant laquelle tout rentre à la normale.

I.2.3. Cas particulier du rat

Chez les rats, le comportement sexuel mâle comprend une phase pré-copulatoire (motivationnelle ou appétitive) et une phase copulatoire (ou consommatoire) menant *in fine* à l'éjaculation. Au cours de la phase pré-copulatoire, les rongeurs mâles reniflent les parties génitales des femelles, émettent des vocalisations ultrasonores, marquent à l'urine leur territoire et montrent une nette préférence pour les femelles en œstrus (ou réceptives). Au cours de la phase consommatoire, le mâle réalise des montes suivies d'intromissions pendant lesquelles il effectue des mouvements de va-et-vient correspondant aux poussées pelviennes rythmiques (Raskin *et al.*, 2011), culminant avec l'éjaculation. Ainsi chez un rat normal, les paramètres copulatoires se déroulent selon la chronologie suivante (Bekker, 1996):

- **la monte:** le rat mâle grimpe sur la femelle réceptive en chaleur à partir du flan arrière, et effectue des mouvements de poussée avec son bassin. La latence est généralement de 3 à 6 secondes.

- **l'intromission:** elle se déroule de manière similaire à la monte, mais immédiatement suivi d'une poussée pelvienne profonde lorsque le pénis pénètre dans le vagin. Cette phase de pénétration dure environ 200 à 400 ms chez le rat bien entraîné.

- **l'éjaculation:** c'est le point culminant de la pénétration vigoureuse vaginale, accompagné d'un agrippement du mâle sur la femelle, et le plus souvent par un soulèvement des pattes antérieures, signe préalable du retrait du mâle. Le temps de latence entre l'éjaculation et la prochaine monte dure entre 3 et 5 minutes.

Pour marquer la fin de l'accouplement, le mâle produit des émissions ultrasonores pendant la période de retrait qui dure environ 5 secondes pour un rat normal sexuellement expérimenté.

I.3. Facteurs et causes d'infertilité masculine

Longtemps ignorée lors de la prise en charge des couples infertiles, l'évaluation de la santé reproductive de l'homme est encore trop souvent négligée aujourd'hui. Une des raisons est due aux remarquables succès de la fécondation *in vitro* par injection intra-cytoplasmique d'un spermatozoïde dans l'ovocyte "Intra Cytoplasmic Spermatozoid Injection" (ICSI) qui permet d'obtenir des embryons lorsque les spermatozoïdes du conjoint sont très peu nombreux, immatures ou anormaux. Paradoxalement il en résulte quelquefois un désintérêt pour un diagnostic précis de l'infertilité masculine et de ses causes dans la pratique médicale quotidienne. Néanmoins, les connaissances sur les facteurs d'infertilité de l'homme ont notablement progressé au cours des années récentes, que ce soit d'un point de vue

épidémiologique, clinique ou fondamental. Par ailleurs, l'OMS a régulièrement agi pour améliorer la qualité de l'analyse du sperme qui reste l'examen de base pour apprécier la fertilité masculine et ses anomalies.

La fertilité naturelle de l'homme implique une différenciation de la gonade en testicule lors de la vie fœtale et une puberté avec une production hormonale de testostérone. Cette fertilité implique également la production de spermatozoïdes par les testicules, la perméabilité des voies génitales post-testiculaires, la formation du sperme et son dépôt dans les voies génitales féminines. Aussi, un nombre suffisant de spermatozoïdes fonctionnels dans l'éjaculat, une maturation des spermatozoïdes dans les voies génitales masculines et féminines et une interaction efficace avec l'ovocyte déterminent efficacement la fertilité masculine. Des perturbations peuvent se manifester à chacune de ces étapes et être responsables d'infertilité ou de stérilité. Dans certains cas des traitements sont possibles, permettant de restaurer ou d'améliorer la fertilité naturelle mais le plus souvent, il est proposé de favoriser la fécondation par des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Enfin quand aucune procréation intra-conjugale n'est possible ou quand elle échoue, les couples peuvent encore solliciter l'aide médicale pour procréer avec les spermatozoïdes d'un donneur.

Le diagnostic d'infertilité de l'homme repose avant tout sur l'analyse du sperme. Le spermogramme est un examen apparemment très simple à réaliser mais qui nécessite une méthodologie d'autant plus standardisée, précise et rigoureuse que l'analyse est souvent subjective comme pour l'évaluation de la mobilité et de la morphologie spermatique. En outre son interprétation doit être prudente car les résultats peuvent beaucoup varier d'un éjaculat à l'autre chez un même homme et peuvent être influencés par des facteurs de confusion comme l'âge et la durée d'abstinence sexuelle ayant précédé le recueil de sperme (Tableau I). L'OMS a publié en 2010 la 5^{ème} édition de son manuel d'examen du sperme (WHO, 2010).

L'infertilité masculine peut être schématiquement caractérisée par trois types de situations : soit il y a une altération de la formation et de la production des spermatozoïdes par le testicule, soit il y a un déficit post testiculaire qui peut se manifester par des lésions des voies génitales ou une absence de maturation des spermatozoïdes. Enfin une perturbation de la fonction sexuelle peut empêcher au sperme d'accéder naturellement aux voies génitales féminines.

Tableau I: Limites inférieures de référence des paramètres du sperme humain (WHO, 2010 1a)

Paramètre	Limite basse de référence
Volume du sperme (ml)	1,5 (1,4-1,7)*
Nombre total de spermatozoïdes (10^6 par éjaculat)	39 (33-46)*
Concentration de spermatozoïdes (10^6 /ml)	15 (12-16)*
Mobilité totale (Pr + NP, %)	40 (38-42)*
Mobilité progressive (Pr, %)	32 (31-34)*
Vitalité (spermatozoïdes vivants, %)	58 (55-63)*
Morphologie (formes normales, %)	4 (3,0-4,0)*

5e percentile (et intervalle de confiance à 95 %). Pr = Spermatozoïdes progressifs, NP = Spermatozoïdes non progressifs.

I.3.1. Insuffisance testiculaire

Les perturbations de la spermatogénèse sont de loin les causes les plus fréquentes d'infertilité masculine. Il peut s'agir d'une absence de production des spermatozoïdes conduisant à une azoospermie ou des perturbations quantitatives ou qualitatives de la spermatogénèse se manifestant par des perturbations du nombre, de la mobilité, de la morphologie, des aptitudes fonctionnelles des spermatozoïdes présents dans l'éjaculat. Les lésions peuvent être constitutionnelles ou acquises. Dans ce dernier cas, elles peuvent être la conséquence d'une orchite, d'un traumatisme, d'une torsion testiculaire mais les altérations de la spermatogénèse qui en découlent n'handicapent la fertilité que si les deux testicules sont atteints. Le déficit de production des spermatozoïdes peut être aussi secondaire à un traitement qu'il s'agisse d'une chimiothérapie ou d'une radiothérapie dont les effets peuvent être irréversibles (Jeruss et Woodruff, 2009) ou de drogues d'usage plus courant dont les effets sont plus légers et généralement réversibles (Amory, 2007).

Les insuffisances primitives de la spermatogénèse peuvent avoir une origine cytogénétique. Des anomalies chromosomiques sont trouvées chez 5% des hommes infertiles et leur incidence atteint 15% en cas d'azoospermie (O'Flynn *et al.*, 2010). Le plus souvent il s'agit d'anomalies des chromosomes sexuels, parmi lesquelles le syndrome de Klinefelter est le plus fréquent (Lanfranco *et al.*, 2004). Dans la mesure où les spermatogonies souches

disparaissent au moment de la puberté, la cryo-conservation de tissu testiculaire prélevé au début de la puberté a été proposée pour tenter de restaurer ultérieurement la fertilité des hommes atteints de ce syndrome (Van Saen *et al.*, 2012).

La cryptorchidie, qu'elle soit uni- ou bilatérale, opérée ou non, est fréquemment associée à des altérations de la spermatogénèse chez l'adulte et responsable d'infertilité (Mieusset, 2010). La dilatation anormale des veines spermatiques, ou varicocèle, s'observe chez environ 15% de la population des hommes adultes et chez 30 à 35% de ceux qui consultent pour infertilité. Depuis très longtemps le traitement chirurgical a été proposé pour améliorer la fertilité des hommes concernés. L'interprétation des résultats obtenus a suscité des controverses sans fin et aujourd'hui il n'y a aucun argument décisif montrant que le traitement de la varicocèle améliore la fertilité même si on observe une diminution de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes et des indicateurs séminaux de stress oxydatif après l'opération (Baazem *et al.*, 2011).

Dans certains cas, des altérations de la structure architecturale ou moléculaire des spermatozoïdes et de leurs fonctions peuvent être observées sans que la cause de l'anomalie soit clairement identifiée. Des tests sont régulièrement proposés mais leur utilité pour le diagnostic et leur signification pour établir un pronostic de succès en fertilité naturelle ou en AMP (Assistance Médicale à la Procréation) ne sont pas toujours clairement démontrées. Parmi les biomarqueurs potentiellement intéressants, on peut citer la fragmentation de l'ADN qui semble être plus fréquente dans les spermatozoïdes des hommes infertiles. En effet, il y a des arguments assez convaincants indiquant que l'altération de l'intégrité de l'ADN peut influencer les chances de grossesses après insémination artificielle ou le développement embryonnaire après FIV (Fécondation *In vitro*) ou ICSI ("Intra Cytoplasmic Spermatozoid Injection"). Mais la faible fiabilité des tests employés pour mesurer l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes et le manque d'évaluation des conséquences de ces altérations sur la santé des enfants nés après AMP conduisent à penser que ce type de test doit faire l'objet de recherches poussées afin de mieux en définir l'intérêt clinique (Barratt *et al.*, 2010). Le même type de commentaire peut être fait pour d'autres facteurs nucléaires comme l'état des protamines (Oliva, 2006) et la méthylation de gènes soumis à empreinte (Chalas Boissonas *et al.*, 2010) qui peuvent être altérés chez les hommes infertiles.

Au total, la caractérisation des lésions spermatiques dues à des altérations de la spermatogénèse ainsi que leurs causes sont de mieux en mieux identifiées mais leur responsabilité dans l'infertilité n'est pas toujours bien établie. Par ailleurs, on estime que dans près de 50% des cas aucune cause n'est trouvée pour expliquer les altérations observées.

Enfin les conséquences, pour la santé des enfants, de l'utilisation de spermatozoïdes pathologiques pour procréer par ICSI, ainsi que les conséquences de la transmission aux générations futures de modifications géniques non présentes auparavant du fait de la stérilité naturelle montrent l'importance de développer des recherches sur la stérilité testiculaire, ses causes et ses conséquences.

I.3.2. Pathologies post-testiculaires

L'infertilité masculine peut être due à un obstacle au niveau des voies génitales empêchant les spermatozoïdes de venir se mélanger au liquide séminal au moment de l'éjaculation. On parle d'azoospermie obstructive. La cause la plus fréquente est l'agénésie unilatérale ou bilatérale des canaux déférents qui est en général liée à des mutations du gène CFTR ("Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator") ou à une malformation rénale. L'obstruction peut être consécutive à une infection, un traumatisme ou une intervention chirurgicale comme la vasectomie. Le pronostic est relativement bon puisqu'en principe la spermatogénèse est normale et le prélèvement de spermatozoïdes en amont de l'obstacle permet de réaliser une ICSI avec de bonnes chances de succès.

Indépendamment des lésions obstructives dont elles peuvent être responsables, les infections des voies génitales peuvent aussi altérer les fonctions de l'épididyme et du spermatozoïde. Cependant la responsabilité d'infections comme celles à chlamydia n'a pas été clairement démontrée contrairement à ce qui est observé chez la femme (Cunningham et Beagley, 2008).

Pendant le transit épидидymaire, le spermatozoïde subit une maturation marquée par des modifications enzymatiques et membranaires qui lui permettent d'acquérir ses capacités de mouvement et fécondantes (Arnoult *et al.*, 2012). L'épididyme participe aussi à la protection des spermatozoïdes contre le stress oxydant (Noblanc *et al.*, 2012). Ces événements moléculaires sont de mieux en mieux décrits mais leur responsabilité dans l'infertilité n'a pas été bien caractérisée jusqu'à présent.

I.3.3. Dysfonctions sexuelles

Elles sont une cause d'infertilité masculine quand elles perturbent l'éjaculation et ne permettent pas au sperme d'accéder aux voies génitales féminines. Indépendamment des troubles de l'érection et de l'éjaculation d'origine psychogène, les pathologies les plus fréquentes sont neurologiques et principalement les lésions médullaires qui sont responsables d'anéjaculation ou d'éjaculation rétrograde (Fode *et al.*, 2012). L'infertilité peut être traitée

assez facilement quand il est possible de récupérer les spermatozoïdes dans les urines ou de stimuler l'éjaculation de manière appropriée pour réaliser une AMP (Jefferys *et al.*, 2012).

I.3.4. Impact de l'obésité et de l'alcool sur la fonction de reproduction masculine

L'obésité s'est accrue en France de 10,7% au cours des dernières années (Charles *et al.*, 2009). Alors que plus d'un homme sur deux en âge de procréer apparaît en surpoids (38,5%) ou obèse (13,9%) (Castetbon *et al.*, 2009). La relation entre poids (et/ou IMC, défini comme le rapport masse corporelle/taille) et reproduction masculine fait l'objet d'un intérêt récent et croissant. Une étude épidémiologique a démontré une relation dose-effet entre l'IMC de l'homme et l'hypofertilité du couple, ainsi qu'un effet plateau au-delà d'un IMC de 35 kg/m² (Sallmen *et al.*, 2006)

➤ Impact sur les paramètres spermatiques

La plupart des études notent une altération des paramètres spermatiques associée à l'IMC (Jensen *et al.*, 2004): diminution de la concentration ou de la numération totale en spermatozoïdes, diminution du nombre de spermatozoïdes mobiles, augmentation des formes atypiques de spermatozoïdes. Une méta-analyse récente colligeant 14 études met en évidence une augmentation du risque de présenter une oligozoospermie ou une azoospermie en cas d'IMC élevé (Sermondade *et al.*, 2012). Il semble également exister une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique en cas d'obésité (Rybar *et al.*, 2011), voire même de surpoids (Kort *et al.*, 2006), suggérant une altération de la qualité des spermatozoïdes.

Des modèles animaux indiquent que l'IMC du mâle aurait un effet sur le pouvoir fécondant du sperme (Bakos *et al.*, 2011). Des auteurs ont démontré un lien entre IMC élevé et diminution des index de fixation à l'acide hyaluronique chez l'homme (Wegner *et al.*, 2010), suggérant une capacité réduite de fixation à la zone pellucide des spermatozoïdes des hommes en surpoids ou obèses.

Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été émises afin d'expliquer le lien entre obésité et paramètres spermatiques parmi lesquelles les altérations hormonales (hypogonadisme hypogonadotrope hyperœstrogénique par aromatisation des stéroïdes en œstrogènes dans les tissus périphériques et atteinte directe de l'axe hypothalamo-hypophysaire liée à l'augmentation des endorphines); un impact direct de l'obésité sur la fonction sertolienne et la spermatogenèse (notamment par augmentation de la température scrotale, liée à l'accumulation de graisse au niveau des hanches et de l'abdomen) et l'accumulation dans le tissu adipeux de substances toxiques et perturbateurs endocriniens liposolubles (Magnusdottir *et al.*, 2005).

Le stress oxydatif constitue un élément central dans les mécanismes impliqués dans l'impact de la nutrition sur la fertilité de l'homme. L'obésité est en effet responsable d'un stress oxydatif systémique (Furukawa *et al.*, 2004), mais aussi génital (Tunc *et al.*, 2011), qui est responsable de multiples altérations spermatiques (pouvoir fécondant, intégrité nucléaire) (Aitken *et al.*, 2012).

Certains auteurs ont rapporté qu'un amaigrissement obtenu après un régime permettrait d'améliorer la quantité et la qualité des spermatozoïdes. Cependant, un impact négatif de la chirurgie bariatrique sur les paramètres spermatiques a récemment été observé (Sermondade *et al.*, 2012).

➤ **Effets de l'alcool sur la fertilité masculine**

La plupart des études actuelles suggèrent que l'intoxication alcoolique chronique affecterait la fertilité masculine, avec une altération des paramètres spermatiques tels que la diminution du volume de sperme, la diminution de la concentration spermatique et la diminution de la mobilité et/ou altération de la morphologie spermatique (Muthsami et Chinnaswamy, 2005). Quelques cas d'azoospermies réversibles après sevrage alcoolique ont également été rapportés (Sermondade *et al.*, 2010). Histologiquement, l'arrêt de maturation est l'aspect le plus fréquemment observé chez les consommateurs d'alcool. Les facteurs impliqués dans la détérioration des paramètres spermatiques au cours de l'intoxication alcoolique chronique massive sont mal connus. L'alcool interférerait avec la fonction des trois niveaux de l'axe hypothalamo-hypophyséogonadique. La majorité des auteurs insistent surtout sur l'hypogonadisme hypergonadotrope lié à une atteinte toxique directe des cellules de Leydig et de Sertoli, par l'éthanol lui-même ou par ses produits de dégradation. Des facteurs de prédisposition génétique pourraient expliquer les grandes variations interindividuelles observées et l'hétérogénéité des conséquences de l'intoxication sur les paramètres spermatiques. Enfin, certains effets de l'alcool, tels que baisse de la libido, gynécomastie, atrophie testiculaire, baisse de la testostérone ou augmentation des œstrogènes participeraient à la diminution de la fertilité masculine en cas d'intoxication alcoolique chronique massive.

I.3.5. Infections sexuellement transmissibles et fertilité masculine

Parmi les causes majeures des altérations de la fertilité se trouvent les pathologies infectieuses, essentiellement les infections sexuellement transmissibles (IST).

Chez l'homme, les infections urogénitales et l'inflammation demeurent un facteur étiologique important de l'infertilité masculine (Rusz *et al.*, 2012). Les infections du tractus génito-urinaire masculin sont responsables d'environ 15% des infertilités (Pellati *et al.*, 2008).

Les infections peuvent toucher différents sites comme les testicules, l'épididyme et les glandes annexes. Les spermatozoïdes eux-mêmes peuvent être affectés (développement, maturation et transport). Les infections des glandes annexes ("Male accessory gland infections– MAGI") peuvent avoir pour conséquences une altération de la qualité du sperme, notamment en cas de prostatite chronique (Vicari *et al.*, 2012).

I.3.6. Expositions aux facteurs environnementaux et infertilité

Il apparaît important d'interroger le patient d'une manière précise sur les diverses expositions possibles de son corps que ce soit dans son quotidien ou dans sa vie professionnelle. Lorsque l'analyse porte sur les expositions professionnelles, un résultat significatif est rapporté pour la chaleur, les solvants, les métaux lourds, les pesticides, les rayonnements non ionisants et les vibrations.

➤ La chaleur

L'hyperthermie scrotale et testiculaire peut être secondaire à de nombreux facteurs extérieurs environnementaux: forte exposition au soleil, lieu de vie sous un climat très chaud voire tropical, professions exposant à la chaleur et les deux situations cliniques particulières que sont la cryptorchidie et la varicocèle. Cette hyperthermie scrotale et testiculaire entraîne une altération de la spermatogénèse objectivée par une modification des paramètres spermatiques: oligospermie, asthénospermie, tératospermie. Dans la plupart des cas, ces trois anomalies sont associées sous la forme d'une oligo-asthéo-tératospermie. L'intensité et la gravité de ces anomalies est en fonction du degré d'élévation et de la durée de l'hyperthermie. Après le retour à une eutherme locale, la spermatogénèse reprend avec un rendement normal et de qualité au plus en 8 à 10 mois (norme évaluée pour des expositions journalières régulières pendant deux ans) (Mieusset *et al.*, 1992).

➤ Toxiques professionnels

Il existe une association significative entre exposition aux solvants et altération des paramètres spermatiques. On pourra citer les éthers de glycols, les solvants pétroliers, le diméthylformamide ou encore le disulfure de carbone. Pour les métaux lourds, un lien significatif a été retrouvé, notamment une oligospermie et une asthénospermie en cas d'exposition au plomb et une augmentation des anomalies morphologiques des gamètes en cas d'exposition au cadmium (Helaly *et al.*, 2010). Les pesticides dans leur ensemble entraînent les mêmes types d'anomalies. L'étude de Sallemen *et al.* (2003) souligne la responsabilité sur les pyrèthrinoïdes, les carbamates et les organophosphorés (Sallmén *et al.*,

2003). Une association significative a été mise en évidence entre vibrations et altération des paramètres spermatiques de type d'oligospermie et tératospermie (De Fleurian *et al.*, 2009).

➤ **Tabac**

Les effets délétères du tabac sur la santé sont maintenant bien connus dans la population générale, notamment en ce qui concerne les conséquences cardiovasculaires, oncologiques ou pulmonaires chroniques. Cependant, les répercussions du tabagisme actif et passif sur la fertilité sont, quant à elles, moins connues du grand public. La fumée de cigarette comprend plus de 40 composants qui sont reconnus comme étant mutagènes et carcinogènes et sont ainsi susceptibles d'interférer avec la qualité des gamètes. Certaines de ces substances comme la cotinine (métabolite de la nicotine) ou le cadmium franchissent la barrière hémato-testiculaire depuis les artères testiculaires vers les tubes séminifères et sont retrouvées dans le plasma séminal des fumeurs. Ceci explique les anomalies présentes sur les spermogrammes des patients fumeurs. On note une tendance à une diminution de la numération des spermatozoïdes, une diminution relative de la vitalité des spermatozoïdes et une augmentation de la tératospermie avec une prédominance de spermatozoïdes microcéphales (Sepaniak *et al.*, 2004).

➤ **Stress chronique**

Le stress est une problématique actuelle très importante dans la vie d'un individu (humain ou animal). En effet, chaque individu est confronté dans sa vie personnelle et professionnelle à des situations stressantes. Diverses conditions du stress altéreraient la fonction reproductive (Keichrio and Hiroko, 2006). Un stress chronique va donc diminuer la fréquence de pulsation de LH et entraîner ainsi une diminution de la sécrétion de testostérone, cette baisse de testostérone pourrait induire une dysfonction érectile et/ou l'infertilité masculine. Le stress chronique altère ou diminue la motivation et les performances sexuelles (Hou *et al.*, 2014; Retana-Márquez *et al.*, 2014). Le stress d'immobilisation aigu (pendant 6h) et chronique (5-6h / jour pendant 60 jours) diminue le nombre, la viabilité et la motilité des spermatozoïdes (Hari et Reddy, 2012; Potemina, 2008; Herman *et al.*, 1995). Il a été établi que le stress lié à l'immobilisation réduit la spermatogenèse caractérisée par le nombre réduit de spermatogonies, de spermatocytes primaires et secondaires ainsi que le nombre despermatides (Rai *et al.*, 2008).

➤ **Pesticides**

L'agriculture est un formidable enjeu économique pour tous. Les pays en développement sont caractérisés par une croissance démographique élevée. Le souci majeur

reste l'autosuffisance alimentaire pour rompre avec des dépendances de plus en plus pesantes. En conséquence, l'agriculteur doit intensifier sa production et cela passe par l'utilisation accrue de fongicides et autres substances chimiques. L'usage des pesticides s'accompagne toutefois d'une contamination des écosystèmes terrestres et aquatiques. Leurs effets sont néfastes puisque, au moment des traitements, il se produit souvent des brouillards qui transportent les substances loin des zones de culture, contaminant ainsi les champs et l'eau bien au-delà de la zone traitée. Après traitement, les pesticides sont incorporés aux sols (infiltration et contamination des eaux souterraines), soit directement soit par ruissellement. Dans un cas comme dans l'autre, ils peuvent être ensuite intégrés aux réseaux trophiques et subissent éventuellement une bioamplification dans les chaînes alimentaires.

Cas du manèbe

Le Manebe (Plantineb 80), est un fongicide de la famille des dithiocarbamates importé et distribué au Cameroun par la Société JACO. Sa matière active, éthylène bis (dithiocarbamate) de manganèse a pour formule brute $C_4H_6N_2S_4Mn$. Sa solubilité dans l'eau est estimée à 6 mg/l et son point de fusion est approximativement 192°C (Kidd et James, 1991). Il est utilisé pour combattre la rouille précoce et tardive sur la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersium*) et beaucoup d'autres fruits et légumes. La dose d'emploi varie de 2 à 2,5 kg/hectare. Chez certains animaux et l'Homme, le Maneb est généralement absorbé par voies buccale et cutanée. Il s'accumule principalement dans la thyroïde, les reins et le cœur où il perturbe non seulement leurs diverses fonctions, mais cause aussi des paralysies respiratoires pouvant conduire à la mort (Edouards *et al.*, 1991). De nombreux travaux ont montré que le manèbe comme la plupart des dithiocarbamates altère la fonction de reproduction chez le sujet mâle (Kojima *et al.*, 1992 ; Nakai *et al.*, 2002 ; Manfo *et al.*, 2011).

I.4. Traitements de l'infertilité masculine

La démarche thérapeutique doit s'inscrire dans celle du couple et prendre en compte la fertilité féminine. Quelques infertilités masculines ont un traitement spécifique. Dans les autres cas, notamment les plus sévères, les progrès récents de l'assistance médicale à la procréation ont modifié le pronostic des infertilités masculines voire mixtes.

I.4.1. Traitements des étiologies curables

L'objectif du traitement est de restaurer une fertilité spontanée en corrigeant les facteurs étiologiques curables avant de passer aux techniques de procréation médicalement assistée.

➤ Traitement médicamenteux

Une fois le diagnostic posé, le traitement médicamenteux est justifié dans le cas d'une étiologie potentiellement curable notamment un hypogonadisme hypogonadotrope, une hyperprolactinémie, un diabète, ou des infections spermatiques. Dans la majorité des cas, l'infertilité masculine reste idiopathique. Une multitude de traitements empiriques a été tentée sans qu'aucun n'ait réellement montré d'effet satisfaisant.

Les antioxydants (folates, zinc, sélénium, glutathion, vitamines C et E) sont censés lutter contre les radicaux libres potentiellement délétères présents physiologiquement dans le liquide séminal. La carnitine, présente dans les conditions physiologiques à fortes concentrations dans l'épididyme, améliorerait la mobilité des spermatozoïdes, mais les études sur le sujet sont peu nombreuses (Lenzi *et al.*, 2004).

➤ Traitement chirurgical

La chirurgie permet de rétablir une continuité lors d'une obstruction acquise des voies excrétrices. Il s'agit le plus souvent de séquelles infectieuses ou inflammatoires.

La vasectomie permet de rétablir la perméabilité des déférents après vasectomie à visée contraceptive ou après lésion iatrogène en général en région inguinale (cure de hernie lorsqu'elle n'a pas été réalisée dans l'enfance). Si les résultats sont souvent satisfaisants sur la perméabilité, ils sont plus aléatoires sur la fertilité et cela, d'autant que le délai entre la vasectomie et l'intervention de reperméabilisation est long.

Cette opération permet l'anastomose entre déférent et épидидyme en amont d'un obstacle. Celui-ci est le plus souvent situé au niveau de la partie terminale de l'épididyme. L'indication est l'azoospermie par obstacle post-infectieux.

I.4.2. Aide médicale à la procréation

Les Procréations Médicalement Assistées ou techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) sont l'ensemble des techniques médicales et biologiques qui comportent la manipulation des gamètes, avec ou sans Fécondation *In Vitro* (FIV), dans le but d'obtenir une grossesse chez un couple qui sans cela risquerait de demeurer infécond. Ces techniques peuvent aussi s'appliquer dans le cas de risques importants de transmission à l'enfant de

maladies graves et incurables de façon à ne transférer que les embryons qui en seraient indemnes. Malgré leur succès, les techniques d'AMP restent un traitement symptomatique de l'infertilité lorsque la cause n'a pas été identifiée et/ou corrigée. Le choix de la technique d'AMP se fait en concertation avec le couple, le clinicien et le biologiste. Il dépend bien sûr du bilan d'infertilité des deux membres du couple, de l'âge de la partenaire, du délai d'infertilité. Les techniques d'AMP incluent en théorie:

- Les inséminations artificielles :
 - Insémination artificielle avec sperme du conjoint ;
 - Insémination artificielle avec sperme du donneur (interdite par l'Islam).
- La Fécondation *In Vitro* et transfert d'embryon (FIV).
- L'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes ou ICSI ("Intra Cytoplasmic Spermatozoid Injection").

I.5. Dysfonctionnement érectile (DE)

I.5.1. Facteurs étiologiques

❖ Diabète

L'étiologie de la DE induite par le diabète est multifactorielle. C'est à la fois une atteinte nerveuse et une atteinte vasculaire. Certaines études montrent que la neuropathie, plutôt que la vasculopathie, contribuerait de façon significative au développement de la DE par la dégénération nitrique sélective qui aboutit à la baisse de l'activité de la monoxyde nitrique synthase neuronale (nNOS) et par conséquent du NO (Hecht *et al.*, 2001). En effet, le diabète entraîne une altération des cellules endothéliales augmentant alors la prévalence des pathologies vasculaires. Cependant, au niveau des corps caverneux, la relaxation des fibres musculaires lisses et le remplissage des espaces sinusoides (indispensables pour arriver à une érection et/ou la maintenir) nécessitent un apport artériel suffisant et un fonctionnement satisfaisant de l'endothélium qui recouvre ces espaces (libération de NO).

❖ Hypertension

L'association hypertension artérielle (HTA) et dysfonction érectile est connue. La dysfonction érectile traduit dans ce cas l'état vasculaire et représente la forme clinique de la dysfonction endothéliale avec diminution de l'activité NO endothéliale responsable de la vasorelaxation artérielle. L'HTA représente un facteur de risque indépendant de dysfonction érectile. A l'inverse, les traitements antihypertenseurs peuvent favoriser la survenue d'une dysfonction érectile (Neel, 2008).

❖ **Vieillessement physiologique**

Le vieillissement physiologique est un processus très complexe faisant appel à une batterie de mécanismes. De nos jours, les mécanismes moléculaires par lesquels le vieillissement conduit à la DE sont plus ou moins bien documentés. Chez les hommes âgés, on note une nette augmentation des troubles sexuels, en grande partie liés aux dysfonctions érectiles, cette DE serait liée à la baisse de l'activité sécrétoire (baisse de la sécrétion de testostérone) des cellules de Leydig au cours du vieillissement (Gonzalez-Cadavid et Rajfer, 2000).

❖ **Tabagisme et alcoolisme**

Le tabac et l'alcool altèreraient la relaxation des fibres musculaires lisses des corps érectiles.

Le tabac est reconnu comme étant un facteur de risque de maladies cardiovasculaires, du diabète ainsi que des accidents vasculaires cérébraux. La cigarette est également connue pour son effet délétère sur l'endothélium vasculaire et la microcirculation. Il serait de ce fait logique d'affirmer que la cigarette rend impuissant. La relation entre le tabac et la dysfonction érectile a été faite il y a plusieurs années déjà et les ligues antitabac ont utilisé cet argument: dans certains pays il est en effet mentionné sur l'emballage des paquets de cigarette que fumer rend impuissant. Plusieurs études épidémiologiques récentes ont démontré une association entre tabac et dysfonction érectile. Dans une métaanalyse parue en 2001, au travers de plus de 1000 articles publiés en vingt ans, les auteurs concluent que 40% des hommes souffrant de troubles érectiles fument, comparé au 28% de la population générale. Ils affirment alors que le tabac est un facteur de risque de la dysfonction érectile (Tengs et Osgood, 2001).

L'alcool n'est pas à proprement parler un facteur de risque cardiovasculaire. Il a cependant également un effet délétère sur la sexualité. Si à faible dose l'alcool lève les inhibitions, exacerbe le désir et permet parfois au timide de passer à l'acte, à plus forte dose chroniquement, outre le fait de déclencher l'agressivité, c'est finalement un puissant inhibiteur de la sexualité au même titre qu'un destructeur des relations sociales. De plus, en levant certaines inhibitions, il facilite parfois certaines transgressions comme le viol et l'inceste. L'effet néfaste de l'alcool sur la sexualité est connu depuis longtemps, plusieurs études faites dans les années quatre-vingt le soulignaient déjà: par rapport à un groupe témoin où l'incidence des dysfonctions sexuelles est de l'ordre de 10% (absence de désir et troubles de l'érection) elle est de 63% chez les patients alcooliques. 71% des alcooliques chroniques ont des troubles sexuels (absence de désir 56%, dysfonction érectile 16%, anéjaculation 22%

et éjaculation précoce 4%) (Vijayasenan, 1981). La consommation de plus de 600 ml d'alcool pur par semaine (soit 480 g d'éthanol) augmente l'incidence de la dysfonction érectile de 17 à 29% (Feldman *et al.*, 1994). La consommation chronique de boissons alcoolisées entraîne également une dégradation de l'ambiance du couple avec augmentation des conflits. De plus, les femmes vivant avec des hommes alcooliques ont une libido plus basse et souffrent plus fréquemment de troubles de l'orgasme. La consommation excessive et répétée d'alcool entraîne une neuropathie centrale et périphérique et une atteinte multi-organes avec notamment une atrophie testiculaire. Le cirhotique développe en plus, assez souvent, une gynécomastie. Du point de vue hormonal, la testostérone diminue, les œstrogènes augmentent (Jensen, 1984).

❖ **Dyslipidémies**

L'hypercholestérolémie totale, la baisse du cholestérol HDL et l'hypertriglycéridémie augmenteraient le risque de dysfonction érectile, mais il n'est pas prouvé que corriger la dyslipidémie réduise le risque de développer une dysfonction érectile, d'autant que les statines et surtout les fibrates sont soupçonnées d'être délétères pour l'érection.

❖ **Maladies cardio-vasculaires**

La fréquence de la dysfonction érectile est plus élevée lors de cardiopathie ischémique et de pathologie vasculaire périphérique. La dysfonction érectile est un signe périphérique de pathologie vasculaire et notamment coronarienne. Il faut toujours demander une consultation cardiologique avec test à l'effort.

❖ **Troubles psychologiques**

De nombreuses situations psychopathologiques favorisent la survenue d'une dysfonction érectile: anxiété, angoisse de performance, dépression (la fréquence de la dysfonction érectile est de 90% en cas de dépression sévère, de 60% en cas de dépression modérée et de 25% en cas de dépression mineure).

❖ **Médicaments**

La responsabilité des médicaments dans la survenue d'une dysfonction érectile est souvent difficile à affirmer d'autant que certains d'entre eux traitent des pathologies favorisant la dysfonction érectile. Les médicaments impliqués dans la survenue de troubles de l'érection sont les vasodilatateurs, les antihypertenseurs, les psychotropes, les antiulcéreux, les hypolipémiants et certains cytotoxiques.

I.5.2. Thérapeutiques

En clinique, plusieurs thérapies ont été proposées et sont utilisées dans le traitement de la DE. Même si elles peuvent présenter des variations selon que l'origine de la DE diffère, on considère aujourd'hui que les inhibiteurs de la PDE5 (Phosphodiesterase de type 5) constituent le traitement de première ligne, les pompes péniennes et les injections intracaverneuses comme le traitement de la deuxième ligne, et les prothèses péniennes comme le traitement de troisième ligne (Burnett, 2008).

❖ Les inhibiteurs de phosphodiesterase

Cette catégorie de médicaments inclut le sildénafil, le tadalafil et le vardénafil. Ils agissent en bloquant une enzyme appelée PDE5. Cette enzyme dégrade la GMPc (Guanosine Monophosphate cyclique). Le blocage de l'enzyme libère davantage de GMPc, ce qui favorise la relaxation des muscles lisses involontaires du pénis ; ceci permet un plus grand apport de sang et facilite l'érection. Ces médicaments doivent être pris avant une relation sexuelle.

❖ Les pompes péniennes et les injections intracaverneuses

L'appareil sous vide comporte un tube qui est placé sur le pénis et assure un contact étanche avec sa base. En pompant l'air du tube, le sang est attiré dans le pénis. Un anneau installé à la base du pénis permet de maintenir l'érection. Les prostaglandines tel que l'alprostadil est soit injecté dans le pénis, soit inséré dans l'urètre sous forme de pellet (pastille). Il provoque une érection qui persiste généralement environ 60 minutes. Le danger de cette méthode est qu'une dose trop forte risque de provoquer un priapisme, c'est-à-dire une érection persistante. Il peut en résulter une meurtrissure grave, une hémorragie et des douleurs importantes. Lorsque le médecin a déterminé la dose appropriée, le patient peut s'administrer lui-même son injection à domicile.

❖ Les prothèses péniennes

Ce traitement nécessite l'implantation permanente de tiges flexibles ou de dispositifs analogues dans le pénis. Les versions simples ont l'inconvénient de provoquer une érection permanente. Les dispositifs les plus récents (et les plus chers) comportent des tiges gonflables activées par une petite pompe et commandées par un interrupteur placé dans le scrotum. Une compression du scrotum entraîne l'érection du pénis, sans qu'il y ait nécessairement une stimulation sexuelle.

❖ Approche pharmacologique

Les stratégies thérapeutiques pharmacologiques, au niveau local (système neurologique), visent pour la plupart, à supprimer des mécanismes anti-érectiles incluant des

antagonistes des récepteurs α -adrénergiques, de l'endothéline ou de l'angiotensine. D'autres, quant à elles, sont centrées sur la promotion des mécanismes pro-érectiles incluant des effecteurs de la voie de signalisation du NO, des inhibiteurs de la PDE, des prostanoïdes, des agonistes des récepteurs cholinergiques, des peptides vasoactifs, des molécules induisant l'ouverture des canaux potassiques (Andersson, 2001).

Quant à l'approche phytopharmacologique, l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de l'impuissance sexuelle mâle date de nombreux siècles. On estime aujourd'hui que seulement 10% de la flore terrestre a fait l'objet de recherches chimiques et pharmacologiques (Carpentier *et al.*, 2004). Les espèces végétales comme *Mondia whitei*, *Bridellia ferruginea*, *Paullinia pinnata*, *Kola accuminata* (Noumi *et al.*, 1998), *Piper Guineense* (Kamthouing *et al.*, 2002), *Eurycoma longifolia* (Ang *et al.*, 2000), *Tribulus terrestris* (Gauthaman *et al.*, 2003), *Dracaena arborea* (Watcho *et al.*, 2007) et bien d'autres sont pleines de promesses en raison de leur réputation dans la création et la stimulation du désir sexuel et de leurs effets bénéfiques sur la fertilité des sujets mâles.

I.6. Généralités sur *Baillonella toxisperma*

I.6.1. Dénomination vernaculaire

Communément appelé moabi, l'appellation de *Baillonella toxisperma* varie suivant les langues et les tribus: *adjap* en Boulou ; *aya* en Bakoko ; *njabi* en Douala et *adza* en Fang

I.6.2. Position systématique

Classification systématique selon le système APG III (2009)

Règne	Plantea
Classe	Angiospermes
Ordre	Ericales
Famille	Sapotaceae
Genre	Baillonella
Espèce	<i>Baillonella toxisperma</i> Pierre

I.6.3. Description morphologique

Baillonella toxisperma est une espèce d'Afrique tropicale humide. Elle est distribuée dans la forêt dense humide sempervirente du Nigeria au Cabinda mais surtout dans la forêt camerouno-gabonaise. Poussant jusqu'à 70 m de hauteur, pour un diamètre de 5 m voire plus, il présente un fût droit et cylindrique, s'évasant légèrement à la base, c'est l'un des plus grands

arbres africains. On estime qu'il met environ 600 ans pour atteindre une hauteur de 60 m et qu'il lui faut environ 260 ans pour atteindre un diamètre de 1 m. À maturité, sa large cime en parasol surplombe la canopée (Figure 7).



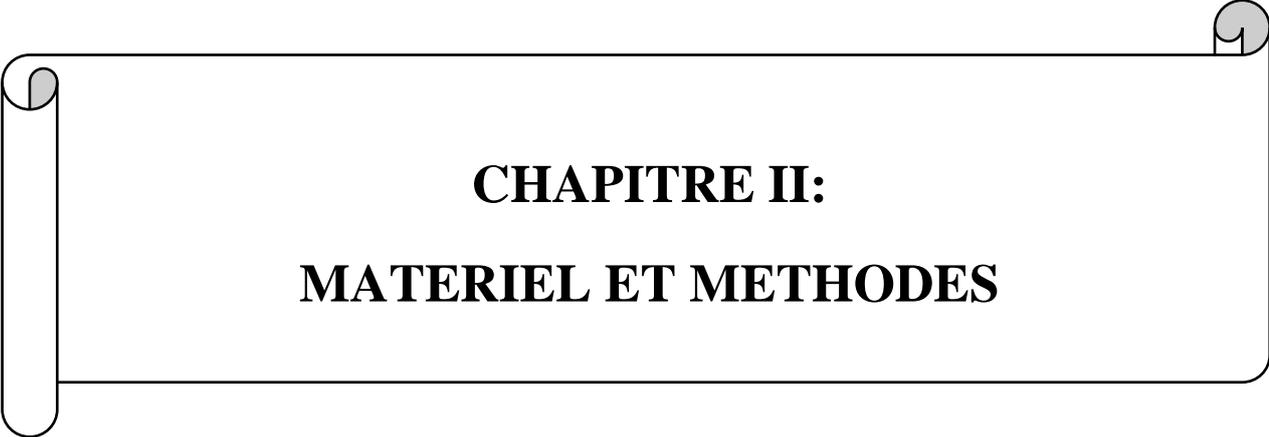
Figure 7: *Baillonella toxisperma*: A = Tronc ; B = Branches (photo prise par M. SIMO Rudy Valdès, le 21 Septembre 2014).

I.6.4. Utilisations phytothérapeutiques

Dans la sous-région d'Afrique Centrale et en particulier dans la pharmacopée camerounaise, *Baillonella toxisperma* est utilisée dans le traitement de plus de 50 maladies parmi lesquelles: le mal de dents, les hémorroïdes, les infections sexuellement transmissibles, la diarrhée, le paludisme, les mycoses vaginales et buccales, le rhumatisme, l'anémie, l'infertilité et les problèmes gynécologiques, le diabète, les douleurs rénales, le mal de dos et les démangeaisons (Ndah *et al.*, 2013; Betti *et al.*, 2013; Dibong *et al.*, 2011; Ndenecho, 2009; Laird, 2000; Adjanohoun *et al.*, 1996). L'extrait aqueux d'écorce de tronc de cet arbre est utilisé contre l'infertilité et l'impuissance masculines (Noumi *et al.*, 2011 ; Jiofack *et al.*, 2009).

I.6.5. Travaux pharmacologiques antérieurs

Les activités antibactériennes (Fodouop *et al.*, 2015; Njimoh *et al.*, 2015; Riwom *et al.*, 2015a), antifongiques (Riwom *et al.*, 2015b; Riwom *et al.*, 2015c) et anti-protozoaires (Lagnika *et al.*, 2013) de *Baillonella toxisperma* ont été rapportées.



CHAPITRE II:
MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

L'écorce du tronc de *Baillonella toxisperma* Pierre a été récoltée dans la matinée du 21 Septembre 2014 dans l'Arrondissement de Mfou, Région du Centre (village Ekok). L'authentification botanique de la plante a été effectuée par M. NANA Victor à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé par comparaison à l'échantillon déposé sous le N° 14592/SRFCam.

II.1.2. Matériel animal

Les rats albinos de souche Wistar, âgés entre 2,5 et 3 mois et pesant entre 160 et 210 g ont été utilisés. De même, des rattes femelles adultes pesant entre 140 et 170 g ont été utilisés pour les tests de copulation et de fertilité. Ces animaux ont été élevés dans l'Animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I. Ces rats ont été logés par groupe de 6 dans des cages tapissées de copeaux de bois. Ils ont été élevés dans les conditions de température ambiante et d'aération suffisante et ont reçu de l'eau à volonté et une alimentation composée d'un mélange de farine de maïs (60%), de farine de petit blé (10%), de farine de poisson (25%), de tourteaux de palmiste (3%), de poudre d'os (1%) et de vitamines (1%). Les expérimentations ont été conduites en respectant les recommandations n°FWIRB 00001954 du Comité d'Ethique National Camerounais sur l'usage des animaux de laboratoire.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation et détermination des doses de l'extrait

L'écorce du tronc de *Baillonella toxispermaa* été découpée, séchée à l'ombre et puis pulvérisée à l'aide d'un moulin électrique. Deux cent cinquante (250) grammes de poudre obtenue ont été mélangés à 5 litres d'eau du robinet suivant la prescription du tradithérapeute. Ce mélange a été porté à ébullition pendant 20 minutes et après refroidissement, la solution a été filtrée à l'aide d'un papier Wattman n°4 avant d'être lyophilisée à l'aide d'un lyophilisateur Christ Beta 1-8 K (Bioblock scientific, Germany).

Pour déterminer les doses à tester dans cette étude, la posologie du tradithérapeute a été considérée comme la "Human Equivalent Dose" (HED). L'extrait a été préparé selon la posologie recommandée et un verre standard du décocté a été lyophilisé. La dose obtenue était de 1610 mg (pour un homme de 70 kg de poids corporel en moyenne), soit environ 23 mg/kg. Pour obtenir la "No Observable Adverse Effect Dose" chez le rat, c'est-à-dire la dose à administrer au rat et qui n'induit pas d'effets secondaires notoires, la HED a été divisé par un

coefficient de 0,16 (CDER, 1995). Ainsi, la dose pour le rat a été arrondie à 150 mg/kg. Elle a ensuite été encadrée par les doses 75 et 300 mg/kg.

II.2.2. Détermination de la dose d'alcool utilisée pour induire l'infertilité

Selon les résultats des études rapporté par l'OMS en 2010, il est établi qu'au Cameroun, un sujet de sexe masculin, âgé de plus de 15 ans consomme en moyenne 25 L d'alcool pur par an (WHO, 2010 1b) soit 69 mL d'alcool pur par jour. Pour un adulte de 70 kg, cela équivaut à 0,97 mL/kg (sensiblement à 1 mL/kg) d'alcool pur par jour. Soit environ 2,5 mL/kg d'alcool 25% (50 mg/kg) chez le rat.

II.2.3. Choix des doses du manèbe

Dans l'étude préventive, le manèbe a été utilisé à la dose de 0,5 mg/kg. Cette dose a été calculée à partir de la dose journalière admissible (DJA) du manèbe chez l'homme qui est de 0,05 mg/kg. La DJA a donc été multipliée par 10 pour obtenir la dose chez le rat.

Dans l'étude curative par contre, la dose de 4 mg/kg du manèbe a été utilisée en s'appuyant sur les travaux de Manfo *et al.* (2011) qui ont montré que le manèbe administré à la dose de 4 mg/kg chez le rat pendant 18 jours entraîne une diminution de la sécrétion de testostérone conduisant à l'hypofertilité chez ces animaux.

II.2.4. Procédures pour les évaluations pharmacologiques

II.2.4.1. Evaluation des paramètres aphrodisiaques

Cette expérience consistait à mettre en présence dans un espace large et propre, un rat adulte et une femelle en chaleur réceptive. Leur degré d'expérimentation sexuelle a été vérifié en notant la promptitude de l'assaut sur la femelle (10-30 secondes) et l'absence de tâtonnement dans l'exécution de l'éthogramme copulatoire.

II.2.4.2. Ovariectomie des rattes

L'ovariectomie a été menée en suivant la méthode de Cariton (1986). Les animaux maintenus à jeun pendant 12 heures ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale de 10 mg/kg de diazépam suivi d'une injection de 50 mg/kg de kétamine. Dès l'effectivité des effets de l'anesthésie, la zone lombaire dorsale a été bilatéralement épilée et la peau nettoyée à l'alcool éthylique à 95°. Une incision dorsale d'environ 3 à 4 cm pénétrant la cavité abdominale a été faite. Le tissu adipeux péri-ovarien a été identifié et isolé. L'ovaire extériorisé a été sectionné à l'intersection avec les cornes utérines, dont l'extrémité a été cautérisée à l'aide d'un fer à souder. Le péritoine et la peau ont été ensuite suturés, après que

les organes aient été remis à leur place. Une pommade de pénicilline et de la Bétadine liquide ont été utilisés jusqu'à cicatrisation complète, pour désinfecter les plaies et prévenir toutes infections. Les femelles ainsi ovariectomisées étaient utilisées 14 jours après l'intervention chirurgicale pour les tests de copulation.

II.2.4.3. Induction de l'œstrus chez les femelles ovariectomisées

Afin de disposer de femelles réceptives aux heures de copulation, la chaleur a été induite chimiquement. Cette procédure nécessitait d'ovariectomiser au préalable les femelles, puis d'administrer une combinaison hormonale capable d'induire la chaleur en temps nommé.

Les femelles ont été chimiquement conduites en œstrus par injection d'une dose unique sous-cutanée de 15 µg/kg de Benzoate d'œstradiol 48 heures avant l'expérience, suivie de l'injection d'une dose de 60 µg/kg de progestérone 6 heures avant l'expérience.

Les femelles qui ont présenté une bonne réceptivité, c'est-à-dire une lordose lors de la monte (courbure du dos grâce à la contraction réflexe des muscles permettant de faciliter l'accès du mâle aux voies génitales) et pas de signe de réjection du mâle (tels que coups de pattes arrières) ont été choisies pour les tests copulatoires.

II.2.4.4. Evaluation de quelques paramètres standard de copulation chez le rat

Pour ce test, chaque rat mâle, était placé en acclimatation dans une grande cage (50 × 30 × 20 cm) propre pendant 5 minutes. Une femelle en chaleur a ensuite été introduite dans la cage et laissée en présence du rat mâle pendant 30 minutes. Durant ce temps, les paramètres de copulation suivants ont été enregistrés:

- le temps de latence de la monte qui est le temps qui sépare l'introduction d'une femelle dans la cage et la première monte ;
- le temps de latence de l'intromission qui est le temps qui sépare l'introduction de la femelle et la première intromission ;
- le temps de latence de l'éjaculation qui est le temps qui sépare la première intromission de la première éjaculation ;
- la fréquence des montes qui correspond au nombre de montes, avec ou sans intromissions précédant une éjaculation ;
- la fréquence des intromissions qui correspondait au nombre d'intromissions précédant une éjaculation ;
- la fréquence des éjaculations qui est le nombre d'éjaculations enregistrées au cours du temps d'observation (Figure 8).

Le test a été stoppé lorsqu'aucune intromission n'était observée au cours des 15 premières minutes d'observations (Waldinger *et al.*, 2002).

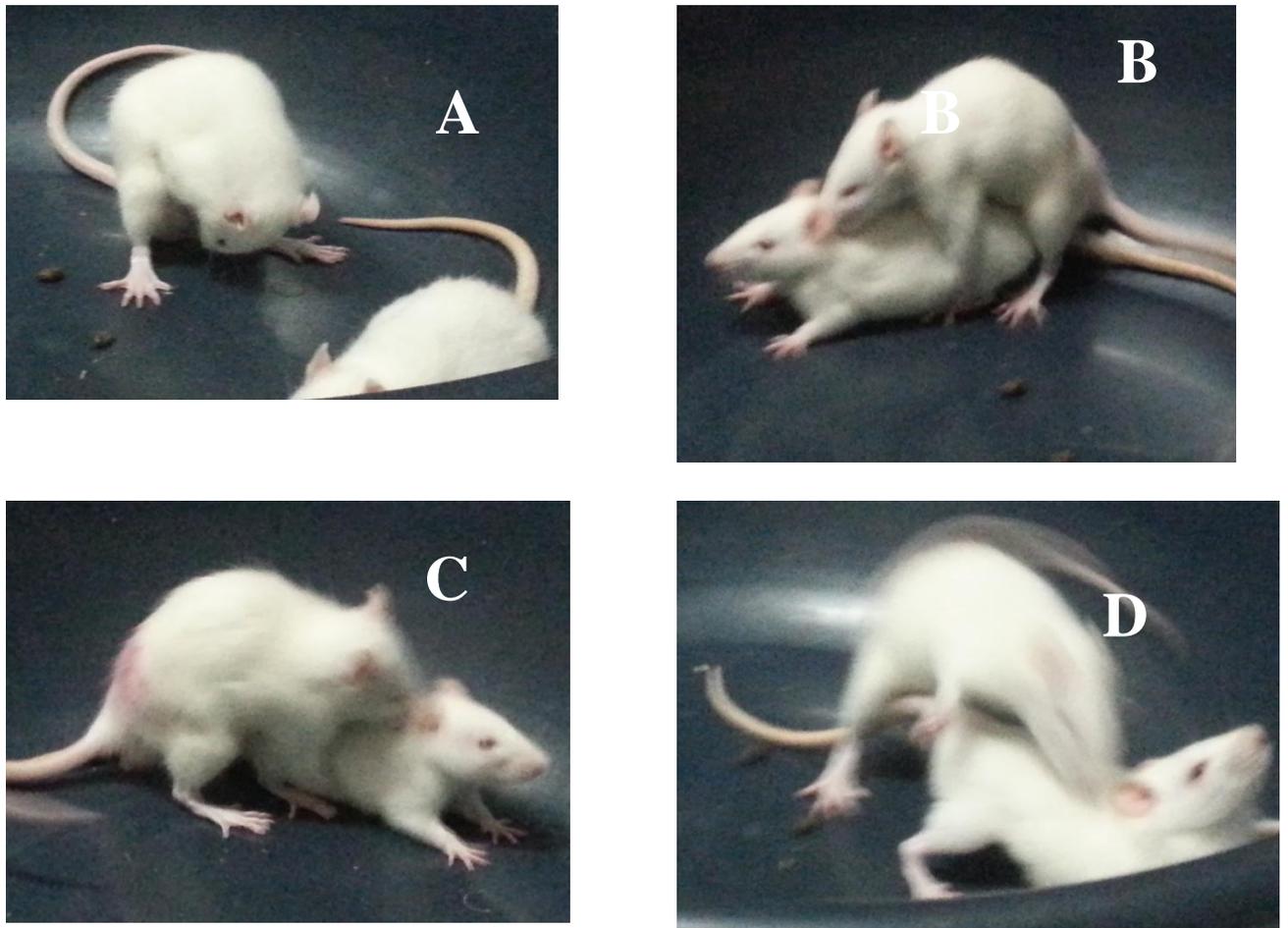


Figure 8: Séquence épisodique de la copulation chez les rats albinos Wistar. A = *Penile licking* ou érection, B = monte, C = intromission, D = éjaculation

Photo prise par SIMO (2018).

II.2.4.5. Evaluation des paramètres spermatiques

La méthode utilisée est celle décrite par Ngoula et collaborateurs (2007). Immédiatement après le sacrifice, la queue de l'épididyme droit de chaque rat a été prélevée, puis dilacérée dans 10 mL de NaCl 0,9% préalablement incubé dans un bain marie à 36 °C. La motilité des spermatozoïdes a été appréciée par examen microscopique direct de la solution précédente. Ainsi, 20 μ L de cette solution a été placée entre lame et lamelle au grossissement 400x. Les spermatozoïdes mobiles et immobiles ont été rapidement comptés sur 5 champs au hasard et le pourcentage des formes mobiles a été déterminé à partir de la formule :

$$\% \text{ de spermatozoïdes mobiles} = \frac{\text{nombre de spermatozoïdes mobiles}}{\text{nombre total de spermatozoïdes}} \times 100$$

La densité des spermatozoïdes a été déterminée en utilisant la cellule de MALASSEZ. Ainsi, 20 µL de macérât de l'épididyme ont été prélevés à l'aide d'une micropipette et déposés sur la cellule de MALASSEZ puis recouverte d'une lamelle. Le dénombrement des spermatozoïdes a été effectué au microscope photonique de marque Olympus (JAPAN). Le nombre de spermatozoïdes par mL a été estimé par la formule de Sultan *et al.* (1982) :

$$N = \frac{X \times fd}{4} 10^6$$

$\left\{ \begin{array}{l} X = \text{nombre de spermatozoïdes dénombré dans 5} \\ \text{quadrillés de 20 petits carrés de la cellule de} \\ \text{MALASSEZ ;} \\ fd = \text{facteur de dilution (20)} \\ N = \text{nombre de spermatozoïdes} \end{array} \right.$

II.2.4.6. Sacrifice et collecte de sang

Vingt-quatre heures après le dernier gavage, les rats des différents groupes ont été sacrifiés par décapitation sous anesthésie (diazépam 10 mg/kg *i.p* et kétamine 50 mg/kg *i.p*). Le sang artéro-veineux a été immédiatement recueilli, une partie dans des tubes à EDTA, et l'autre partie dans des tubes secs de 5 mL. Le sang recueilli dans les tubes à EDTA a servi pour les analyses hématologiques de Numération Formule Sanguine (NFS) tandis que le sang recueilli dans les tubes secs a été centrifugé pendant 15 minutes, le sérum recueilli a été reparti dans les microtubes conservé à -20°C pour les analyses biochimiques ultérieures.

II.2.5. Protocoles expérimentaux des études pharmacologiques

II.2.5.1. Effets de l'extrait sur l'activité copulatoire des rats normaux sexuellement inexpérimentés

Dans cette expérience, l'efficacité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à stimuler l'activité copulatoire a été évaluée chez des rats normaux. Pour ce faire, 30 rats normaux âgés de 10-12 semaines et pesant entre 190 et 220 g ont été répartis en 5 lots de 6 animaux chacun. Le premier lot servait de témoin normal et a reçu de l'eau distillée (solvant de dilution de l'extrait), le second lot (témoin positif) a reçu le citrate de sildénafil (Viagra®) à la dose de 5 mg/kg. Les 3 derniers lots ont reçude l'extrait aux doses respectives de 75, 150 et 300 mg/kg. Les animaux ont été traités pendant 8 jours par gavage et les tests de copulation ont été effectués auxjours 1 et 8 de l'expérience. Vingt-quatre heures après le dernier gavage (jour 9),

les animaux ont été sacrifiés et certains organes androgénodépendants (testicules, épидидymes, prostate, vésicules séminales, pénis) ont été prélevés et pesés immédiatement

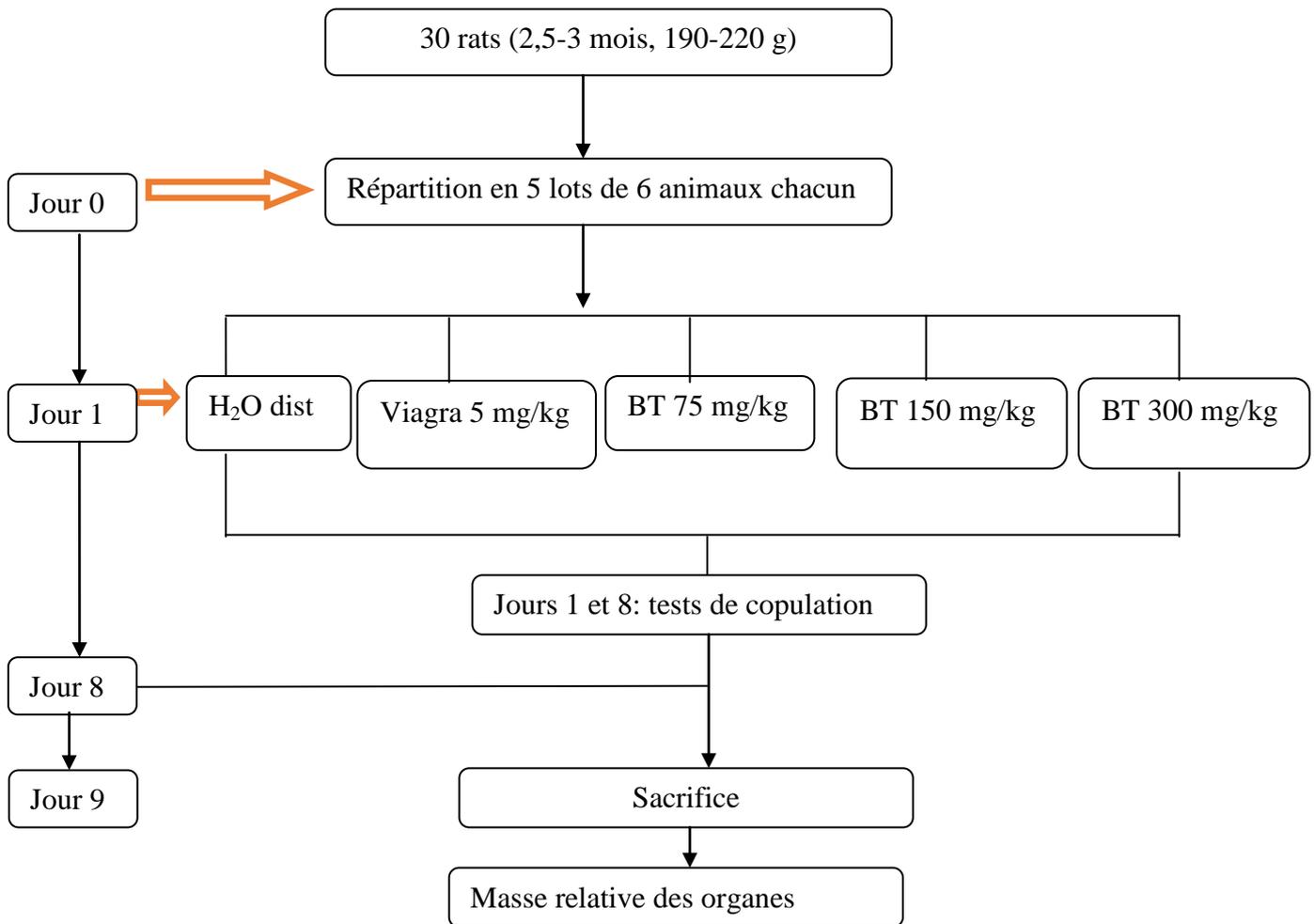


Figure 9: Protocole d'évaluation des effets aphrodisiaques de l'extrait de *B. toxisperma*. BT: *Baillonella toxisperma* ; H₂O dist: Eau distillée

II.2.5.2. Effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* contre une dysfonction reproductive chez des rats soumis au stress d'immobilisation

L'objectif dans cette expérimentation, était d'évaluer la capacité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à contrecarrer les effets du stress sur la fonction de reproduction des rats avec un intérêt particulier pour le comportement sexuel et certains paramètres spermatiques. Trente (30) rats normaux âgés de 10-12 semaines et pesant entre 190 et 220 g ont été répartis en 5 lots de 6 animaux chacun. Le premier lot servait de témoin normal et a reçu de l'eau distillée. Une heure après avoir été soumis au stress d'immobilisation de 6 heures, les animaux des 4 derniers lots ont reçu respectivement de l'eau distillée (témoin négatif) et l'extrait aqueux de *B. toxisperma* aux doses de 75 , 150 et 300 mg/kg PC. Le stress d'immobilisation a consisté à

maintenir quotidiennement (6 h/jr pendant 35 jrs) les animaux dans les bouteilles en plastiques. Le diamètre de la bouteille était ajusté à la taille de l'animal empêchant ainsi tout mouvement à l'intérieur de la bouteille (Chidrawar *et al.*, 2011). Tous les animaux ont été assignés à un traitement de 35 jours par gavage. Les tests de copulation ont été effectués aux jours 1 ; 18 et 35 de l'expérience. A la fin des traitements (jour 36), les animaux ont été sacrifiés, les organes androgéno-dépendants tels que les testicules, l'épididyme, les vésicules séminales, la prostate ventrale et le pénis ont été prélevés et pesés immédiatement. Le contenu de la queue de l'épididyme droit a été mélangé à une solution de NaCl dans les proportions 1/1 puis déposé sur une cellule de MALASEZ pour observation au microscope, de la densité et la motilité des spermatozoïdes. L'analyse histologique a été faite sur le testicule.

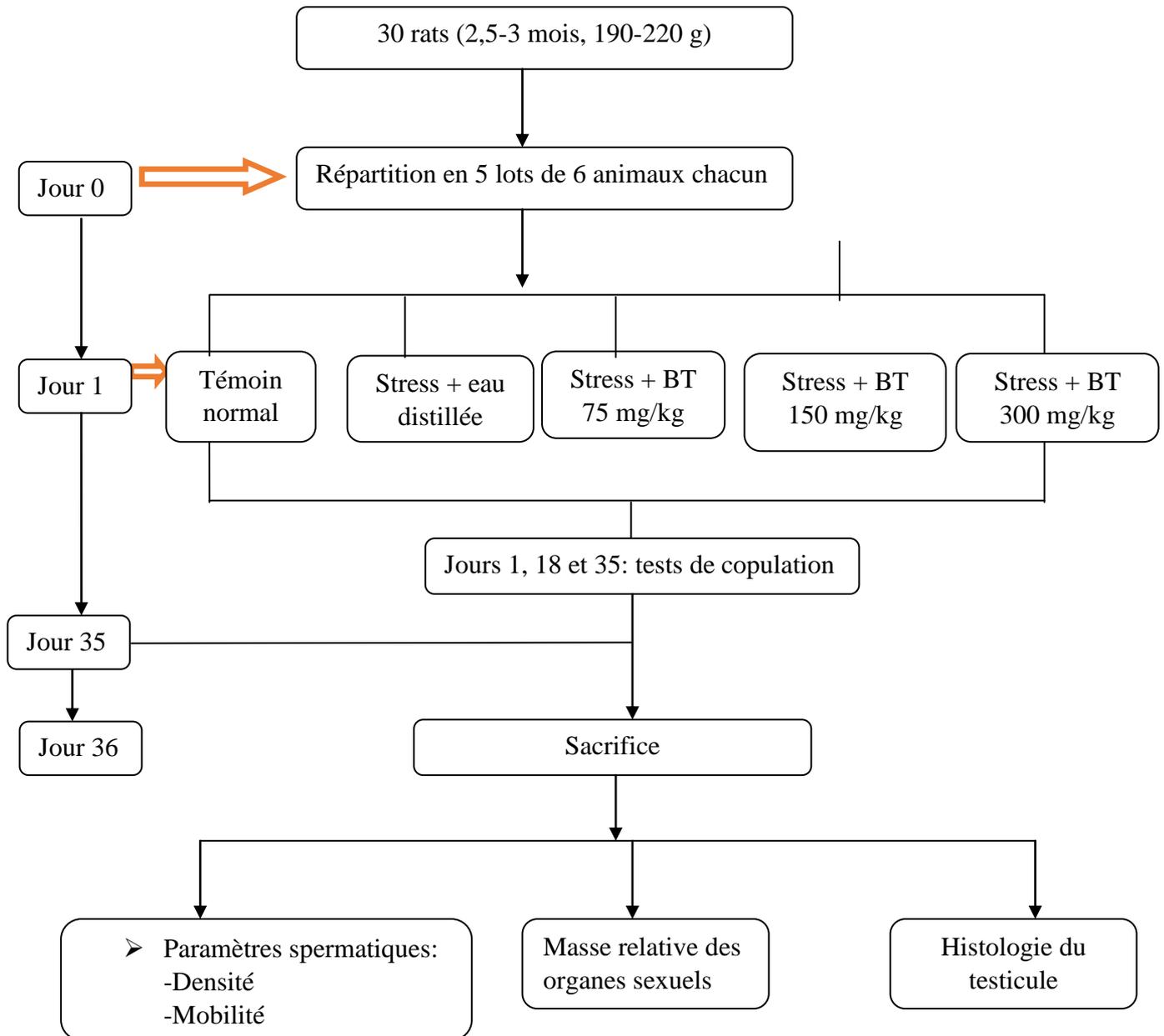


Figure 10: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* chez des rats soumis au stress d'immobilisation. BT: *Baillonella toxisperma*

II.2.5.3. Effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* contre une dysfonction reproductive engendrée par une consommation excessive d'alcool éthylique chez les rats

Dans cette expérimentation, la capacité de l'extrait de *B. toxisperma* à protéger la fonction reproductive des animaux soumis à la consommation d'alcool éthylique a été évaluée. Un intérêt particulier a été porté sur le comportement sexuel, certains paramètres spermatisques et androgéniques. Pour ce faire, 30 rats normaux âgés de 10-12 semaines et pesant entre 190 et 220 g ont été répartis en 5 lots de 6 animaux chacun. Le premier lot servait de témoin normal et a reçu de l'eau distillée, le second lot (témoin négatif) a reçu l'éthanol

25° à la dose de 1 mL/kg et les 3 derniers lots ont reçu concomitamment de l'éthanol 25° à la dose de 1 mL/kg et l'extrait aux doses respectives de 75, 150 et 300 mg/kg. Les animaux ont été assignés à un traitement de 42 jours par gavage et le test de copulation a été effectué au jour 42 de l'expérience. Vingt-quatre heures après le dernier gavage (jour 43), les organes androgéno-dépendants tels que les testicules, l'épididyme, les vésicules séminales, la prostate ventrale et le pénis ont été prélevés et pesés immédiatement. La capacité antioxydante de l'extrait *in vivo*, à travers le dosage du taux de malondialdéhyde (MDA), de la catalase et du glutathion réduit (GHS), a été déterminée dans l'homogénat du testicule. Les taux du cholestérol total et protéines totales ont été également déterminés dans l'homogénat du testicule tandis que le taux de fructose vésiculaire a été déterminé dans l'homogénat d'une portion de la vésicule séminale. Le contenu de la queue de l'épididyme droit a été mélangé à une solution de NaCl 0,9% dans les proportions 1/1 puis déposé sur une cellule de MALASEZ et observé au microscope afin de déterminer la densité et la motilité des spermatozoïdes. L'analyse histologique a été effectuée sur le testicule.

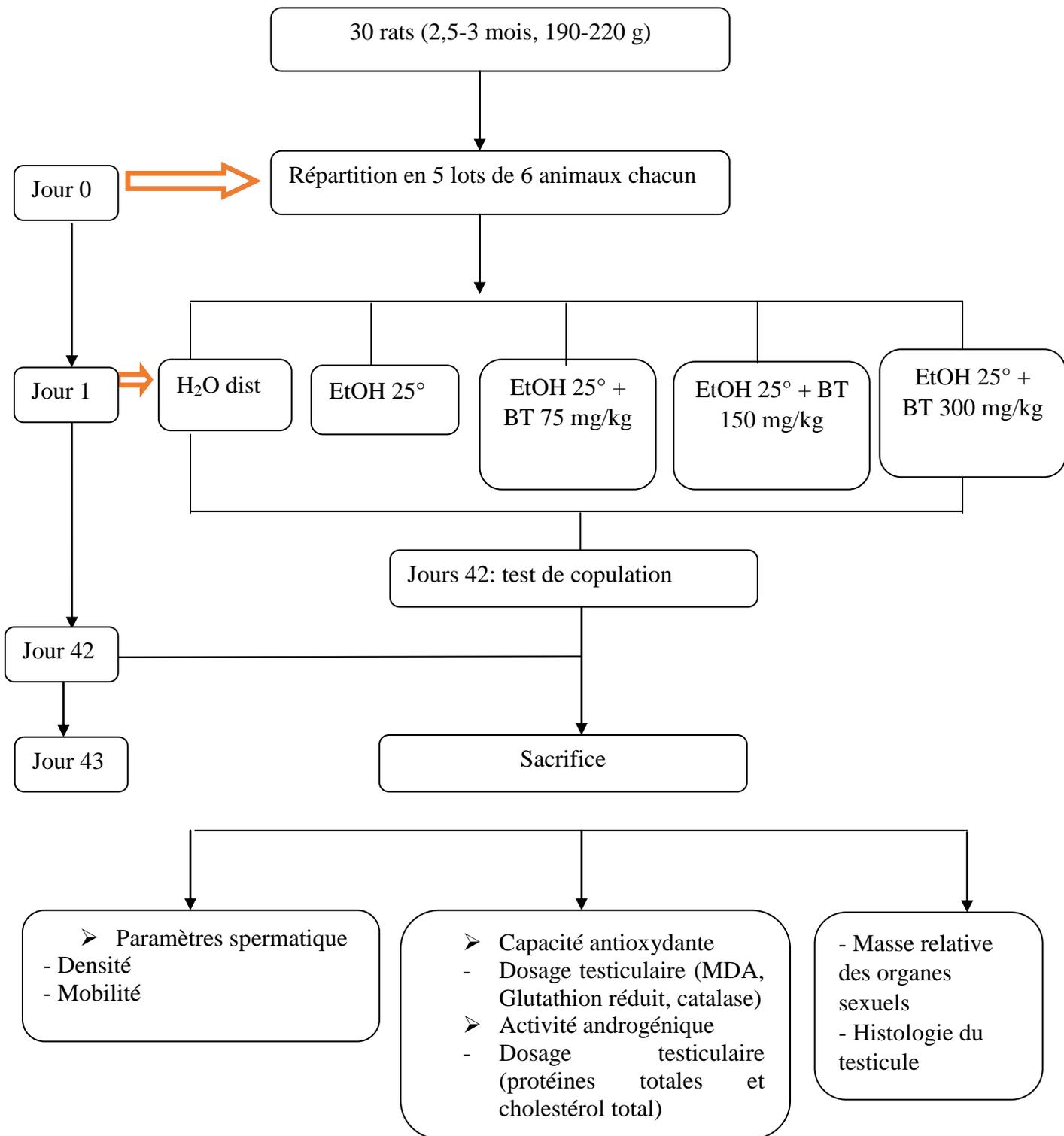


Figure 11: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la fonction reproductive des rats soumis à une consommation excessive d'alcool. BT: *Baillonella toxisperma* ; EtOH: ethanol ; H₂O dist: eau distillée ; MDA: malondialdéhyde.

II.2.5.4. Effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* contre une altération de la fonction reproductive engendrée par une exposition prolongée à un pesticide agricole (manèbe) chez les rats

Dans cette expérimentation, l'objectif était d'évaluer si une exposition prolongée (60 jours: durée d'un cycle de la spermatogénèse chez le rat) au manèbe à la dose journalière admissible pourrait affecter le comportement sexuel et la spermatogénèse des rats. Par ailleurs, il s'agissait aussi d'évaluer la capacité de l'extrait de *B. toxisperma* à contrecarrer les effets de ce dernier. Trente (30) rats normaux sexuellement inexpérimentés âgés de 10-12 semaines et pesant entre 190 et 220 g ont été répartis en 5 lots de 6 animaux chacun. Le premier lot servait de témoin normal et a reçu de l'eau distillée alors que le second lot (témoin négatif) a reçu le manèbe à la dose de 0,5 mg/kg (dose journalière admissible) et les 3 derniers lots ont reçu concomitamment le manèbe (0,5 mg/kg) et l'extrait aux doses respectives de 75, 150 et 300 mg/kg. Les animaux ont été traités 60 jours par gavage et le test de copulation a été réalisé au jour 60 de l'expérience. A la fin des traitements (jour 61), les animaux ont été sacrifiés et certains organes androgénodépendants ont été prélevés et pesés immédiatement. Le contenu de la queue de l'épididyme droit a été mélangé à une solution de NaCl 0,9% dans les proportions 1/1 puis déposé sur une cellule de MALASEZ pour observation au microscope afin de déterminer la densité et la motilité des spermatozoïdes. L'analyse histologique a été faite sur le testicule (Figure 12).

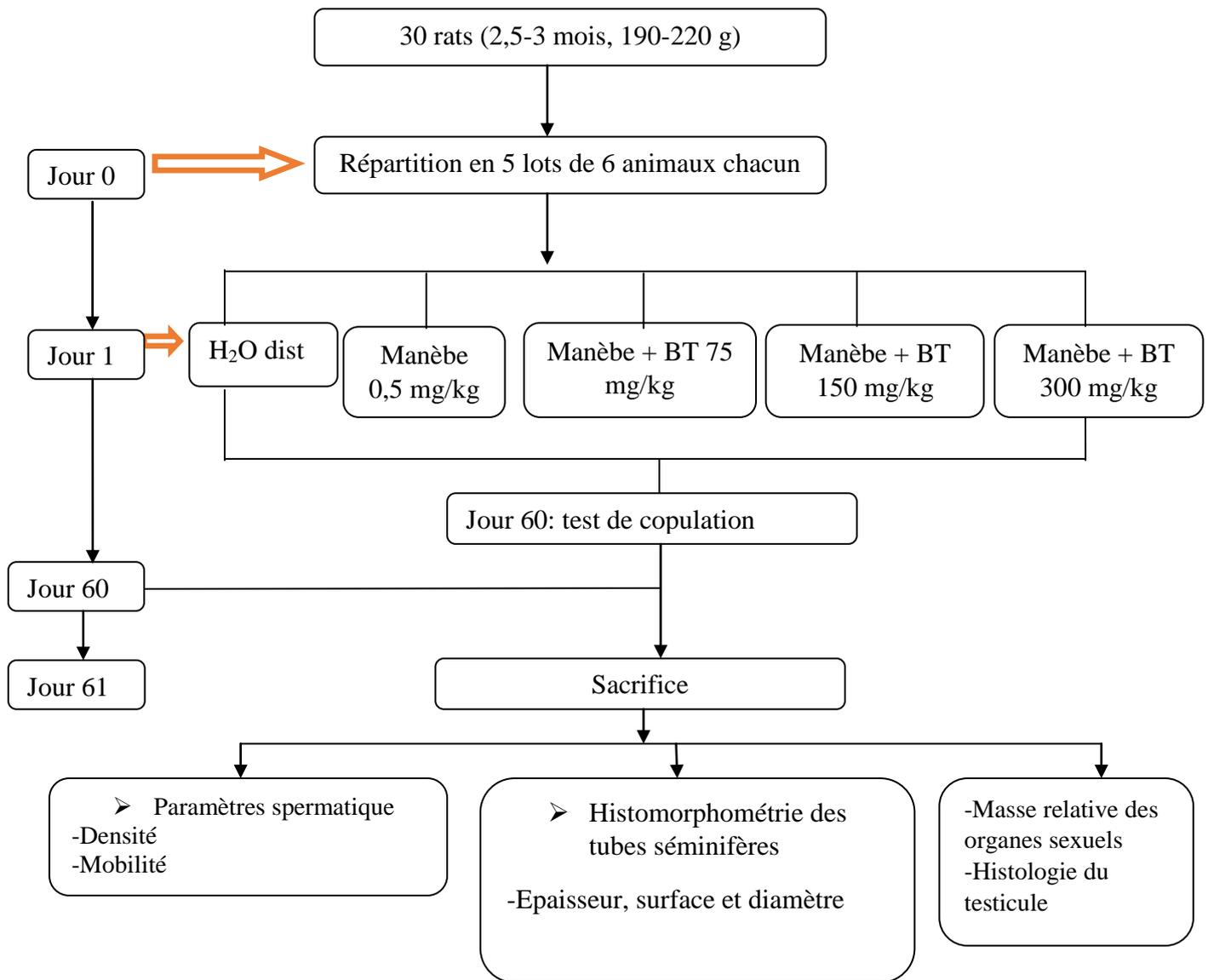


Figure 12: Protocole d'évaluation des effets protecteurs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la fonction reproductive des rats soumis à une exposition prolongée au manèbe. BT: *Baillonella toxisperma* ; H₂O dist: eau distillée.

II.2.5.5. Evaluation des effets curatifs de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* chez des rats rendus hypofertiles par le manèbe

L'objectif dans cette expérience était d'évaluer l'efficacité de l'extrait de *B. toxisperma* à restaurer la fertilité des rats préalablement rendus hypofertiles par le manèbe. Cinquante (50) rats normaux âgés de 10-12 semaines et pesant entre 190 et 220 g ont été répartis en 2 groupes de 25 animaux chacun. L'induction de l'hypofertilité a été faite par administration du manèbe à la dose de 4 mg/kg chez des rats du second groupe pendant 18 jours (Manfo *et al.*, 2011) alors que ceux du premier groupe ont reçu de l'eau distillée. Au jour 19, cinq (5) animaux de chaque groupe ont été sacrifiés et certains paramètres de fertilité

ont été évalués chez ces animaux afin de confirmer que l'hypofertilité s'est installée chez le groupe exposé au manèbe. Au jour 20 (premier jour de traitement à l'extrait), les animaux restants du groupe contrôle ont été répartis en 2 lots de 10 animaux chacun, le premier lot servait de témoin normal et a reçu de l'eau distillée tandis que le second lot (témoin pharmacologique) a reçu l'extrait à la dose de 150 mg/kg (dose ayant montré les meilleurs effets pharmacologiques dans les expériences précédentes). Les animaux restant du groupe exposé au manèbe pendant 18 jours ont également été répartis en 2 lots de 10 animaux chacun: le premier lot servait de témoin négatif et a reçu de l'eau distillée et le second l'extrait à la dose de 150 mg/kg. Les animaux ont été assignés à un traitement de 60 jours par gavage et au 56^{ème} jour du traitement, 5 animaux de chaque lot ont été mis avec des femelles adultes de fertilité prouvée suivant le ratio 1 mâle pour 2 femelles 8 jours durant (ce qui correspond à 2 cycles œstraux chez la rate). Le frottis vaginal de ces femelles a été réalisé chaque matin durant ces 8 jours. La présence des spermatozoïdes dans le frottis vaginal était la preuve d'une copulation et considéré comme le premier jour de gestation. Certains paramètres de reproduction ont été évalués selon les méthodes décrites par Ratnasooriya et Dhamairi (2000). Vingt-quatre heures après le dernier gavage, les animaux ont été sacrifiés et certains organes androgénodépendants ont été prélevés et pesés immédiatement. Le contenu de la queue de l'épididyme droit a été mélangé à une solution de NaCl 0,9% dans les proportions 1/1 puis déposé sur une cellule de MALASEZ pour observation au microscope optique afin de déterminer la densité et la motilité des spermatozoïdes. Le taux de testostérone total sérique a été déterminé par la méthode ELISA. Quelques paramètres de toxicité de l'extrait ont été également évalués. L'analyse histologique a concerné le testicule et certains organes d'intérêt en toxicologie tels que le foie, les poumons et les reins (Figure 14).

➤ **Prélèvement épидидymaire**

Le fluide épидидymaire a été recueilli à l'aide d'une seringue de 1 mL contenant un peu du NaCl 0,9% (liquide de conservation) et connecté à un fin cathéter. Un massage doux de l'épididyme a facilité l'aspiration.

II.2.5.6. Evaluation de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de *Baillonella toxisperma*

La toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a été évaluée chez la rate suivant le protocole de l'OECD, ligne directrice n°423 pour les essais des substances chimiques (méthode par classe de toxicité aiguë) adoptée le 17 décembre 2001 (OECD, 2001a). Les animaux âgés de 8 à 10 semaines et d'un poids moyen de 130 ± 10 g ont été

répartis en deux lots de 3 rates chacun. Ils ont été soumis à un jeûne non hydrique pendant la nuit précédant l'administration des substances. Après la période de jeûne, les animaux ont été pesés et le lot témoin a reçu de l'eau distillée tandis qu'au lot test, l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a été administré à la dose unique de 2000 mg/kg PC (Figure 13). Les substances ont été administrées oralement (2 mL/100 g PC). Une fois les substances administrées, les animaux ont été de nouveau privés de nourriture, pendant 3 à 4 heures et ont été observés régulièrement pendant les premières 24 heures, avec une attention particulière pendant les 4 premières heures. Ils ont été ensuite observés quotidiennement pendant 14 jours après l'administration des substances. La prise de la masse corporelle s'est faite tous les 3 jours. Les signes cliniques de toxicité portaient sur la respiration, les observations des modifications au niveau du comportement, de la peau, des yeux, des poils et de l'activité somato-motrice. L'attention a été aussi faite sur l'observation des diverses manifestations de convulsion, salivation, diarrhée et la mortalité. Au 15^{ème} jour, les animaux ont été sacrifiés par décapitation et soumis à une autopsie. Les organes (foie, reins, poumons, rate, estomac, glandes surrénales, cœur) ont été prélevés, pesés immédiatement et leurs masses relatives calculées.

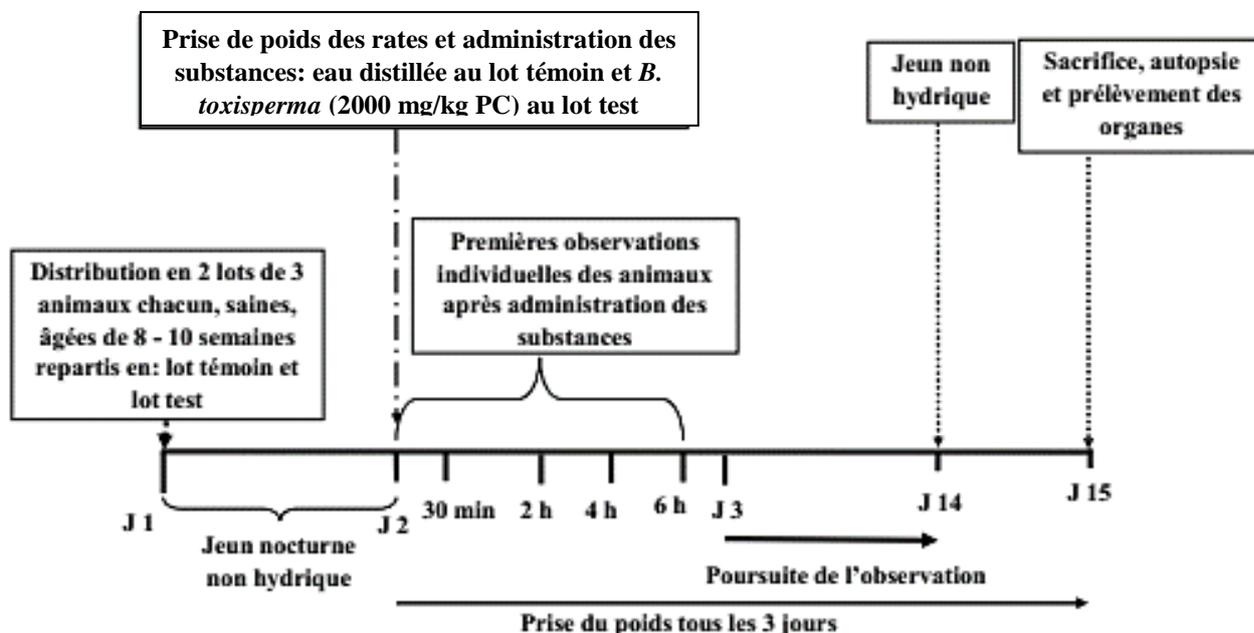


Figure 13: Protocole d'évaluation de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de *Baillonella toxisperma*.

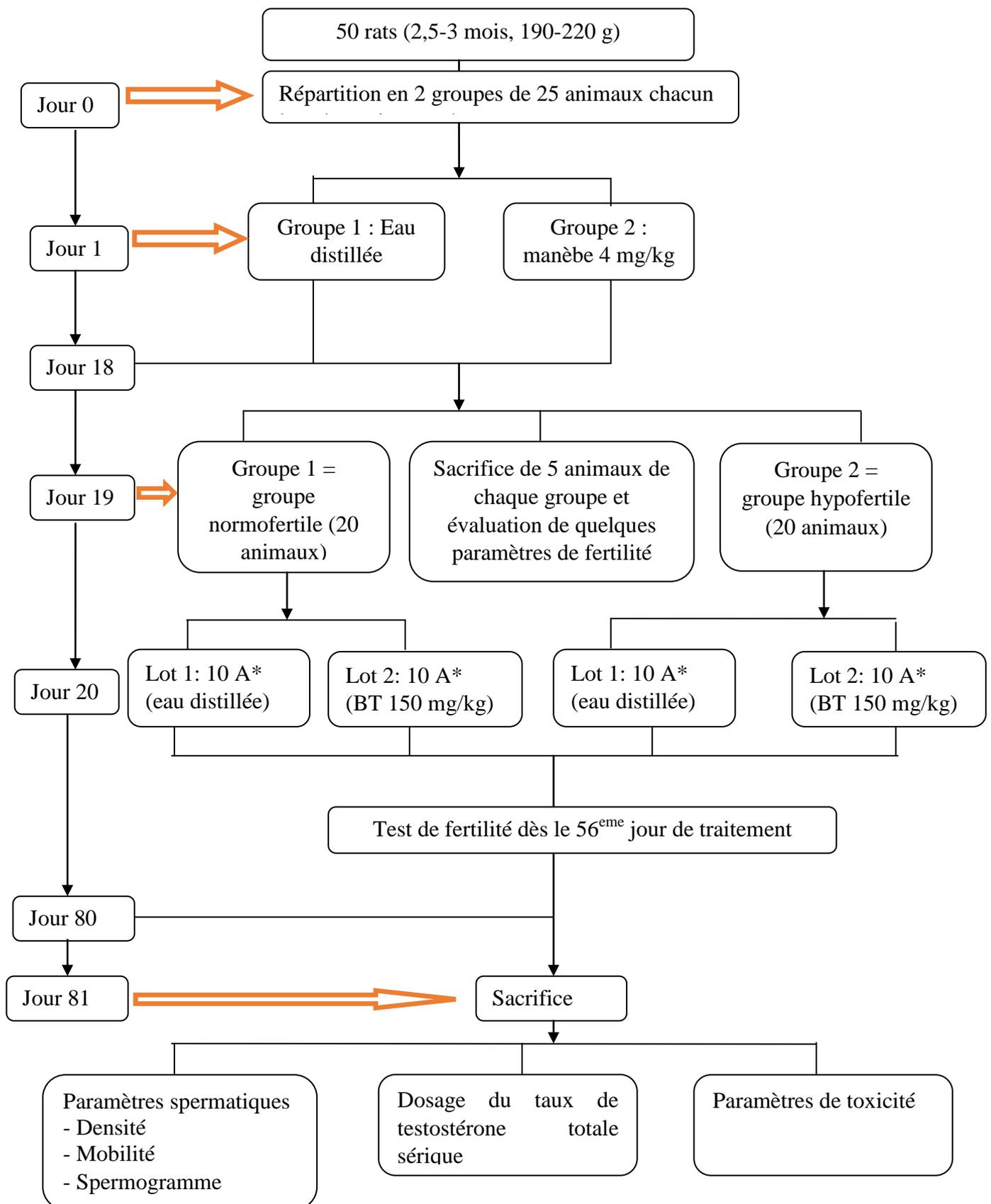


Figure 14: Protocole d'évaluation des effets curatifs de l'extrait chez des rats rendus hypofertiles par un pesticide agricole (manèbe). BT: *Baillonella toxisperma*.

II.2.6. Protocoles de dosages

II.2.6.1. Dosage des polyphénols totaux

La concentration en polyphénols totaux dans l'extrait de *Baillonella toxisperma* a été déterminée suivant la méthode de Singelton *et al.* (1999). En milieu alcalin, les polyphénols réduisent les acides phosphotungstiques et phosphomolybdique en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui absorbent la lumière à 765 nm. Le tableau II présente la procédure d'obtention de la courbe d'étalonnage et de la teneur en polyphénols de l'extrait.

Tableau II: Procédure d'évaluation de la courbe d'étalonnage et de la teneur en polyphénols totaux

Réactifs (mL)	Étalons						Blanc	Essais
	1	2	3	4	5	6		
Extrait 1 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	0,1
Quercétine 1 mg/mL	-	0,024	0,075	0,105	0,21	0,3	-	-
Eau distillée	0,3	0,276	0,225	0,195	0,09	-	0,1	-
Réactif de Folin-Ciocalteu 1/10^e	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Na₂CO₃ à 7,5 %	1	1	1	1	1	1	1	1

- Homogénéisation.
- Incubation à l'abri de la lumière (2 h).
- Lecture de l'absorbance à 765 nm contre le blanc.

Ces dosages ont été faits en triplicats et la concentration en polyphénols totaux dans l'extrait de *Baillonella toxisperma* a été déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage (Figure 15).

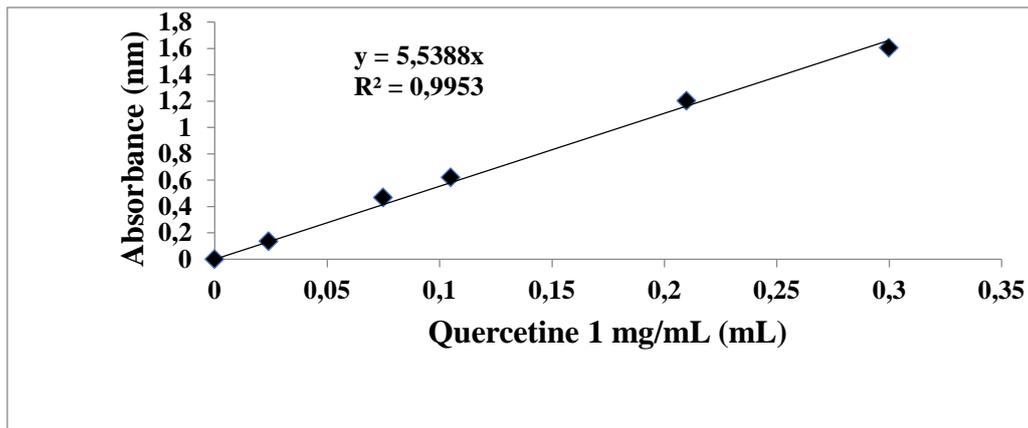


Figure 15: Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux.

La teneur en polyphénols a été exprimée en mg équivalent quercétine/g d'extrait sec en utilisant la formule suivante:

$$T = C \times V/M \text{ avec:}$$

T = teneur en composés polyphénoliques (mg eq quercétin/g d'extrait sec) ;

C = concentration d'extrait polyphénolique équivalent à la quercétine, obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (mg/mL) ;

V = volume d'extrait polyphénolique (mL) ;

M = masse sèche d'extrait polyphénolique (g).

II.2.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la concentration en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux de *Baillonella toxisperma* a été effectuée suivant la méthode adaptée de Zhishen *et al.* (1999). Le chlorure d'aluminium forme avec les groupements C-4 et C-3 ou C-5 hydroxy des flavones et flavonols (flavonoïdes), des complexes acides stables. Il forme également des complexes acides labiles, avec les groupes ortho-dihydroxy dans l'anneau A- ou B- des flavonoïdes. L'absorbance a été mesurée à 510 nm contre le blanc. Le tableau III présente la procédure d'obtention de la courbe d'étalonnage et de la teneur en flavonoïdes de l'extrait.

Tableau III: Protocole d'obtention de la courbe d'étalonnage et de la teneur en flavonoïdes totaux

Réactifs (mL)	Etalons					Blanc	Essais
	1	2	3	4	5		
Extrait 100 µg/mL	-	-	-	-	-	-	0,1
Quercétine µg/mL	-	0,075	0,105	0,21	0,3	-	-
Eau distillée	0,3	0,225	0,195	0,09	-	0,4	0,3
NaNO ₂ à 5%	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Incubation à température ambiante (5 min)							
AlCl ₃ à 10%	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Incubation à température ambiante (1 min).							
NaOH 1 mM	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Eau distillée	1	1	1	1	1	1	1
Homogénéisation et lecture de l'absorbance à 510 nm contre le blanc.							

Ces dosages ont été faits en triplicats et la concentration en flavonoïdes a été déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage (Figure 16).

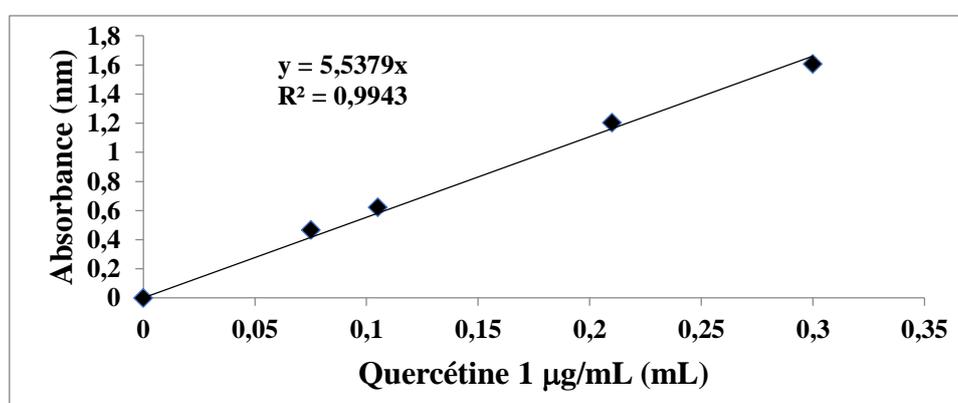


Figure 16: Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes totaux.

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalent quercétine/g d'extrait sec en utilisant la même formule que celle utilisée pour les polyphénols.

II.2.6.3. Détermination du potentiel antioxydant *in vitro* de *Baillonella toxisperma*

La détermination du potentiel antioxydant de *B. toxisperma* (*in vitro*) a été effectuée suivant la méthode FRAP ("Ferric Reducing Antioxydant Power") de Benzie et Strain (1996) avec quelques modifications. Cette méthode mesure la capacité des échantillons à réduire le

fer à un pH acide (3,6). Une intense coloration bleue est formée lorsque le complexe 2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ) ferrique est réduit en tripyridyltriazine ferreux. L'absorbance a été mesurée à 539 nm contre le blanc. Le tableau IV présente la procédure d'obtention de la courbe d'étalonnage et du potentiel antioxydant de l'extrait.

Tableau IV: Protocole d'obtention de la courbe d'étalonnage et du potentiel antioxydant *in vitro*

Réactifs (µL)	Etalons						Blanc	Essais
	1	2	3	4	5	6		
Extrait 1 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	75
Quercétine µg/mL	-	12,5	25	50	75	100	-	-
Eau distillée	100	87,5	75	50	25	-	75	-
Réactif de FRAP	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Incubation (12 min).
Lecture de l'absorbance à 539 nm contre le blanc.

Ces dosages ont été faits en triplicats et le potentiel antioxydant a été déterminé en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage (Figure 17).

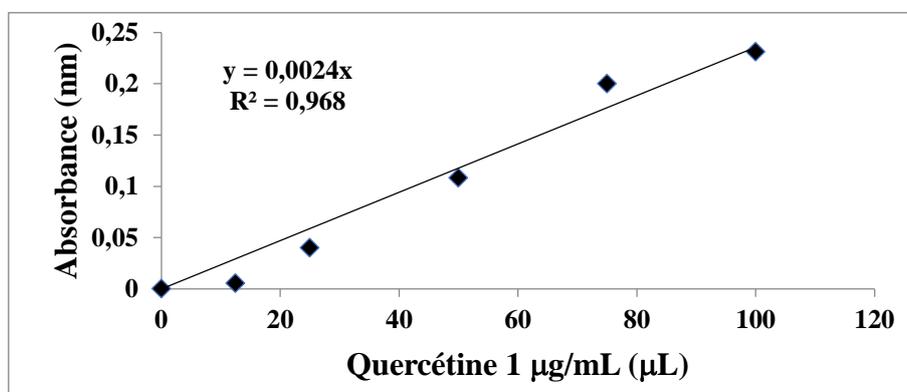


Figure 17: Courbe d'étalonnage de détermination du potentiel antioxydant *in vitro*.

Le potentiel antioxydant a été exprimé en mg équivalent quercétine/g d'extrait sec en utilisant la même formule que celle utilisée pour les polyphénols.

II.2.6.4. Dosage des protéines totales sériques et testiculaires

Les protéines totales sériques et testiculaires ont été dosées suivant la méthode de Biuret (Gornall *et al.*, 1949). En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forme avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre

complexé avec le tartrate pour former un complexe cuivro-protéique violet qui est absorbant à 540 nm ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans le milieu. Dans les tubes essais, 10 µL d'échantillon ont été introduits tandis que dans le tube blanc, l'échantillon était remplacé par l'eau distillée. Après ajout des différents réactifs dans les tubes (590 µL d'eau distillée et 400 µL de la solution de Biuret), l'ensemble a été incubé pendant 5 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 540 nm contre le blanc. Le tableau V ci-dessous présente la procédure de détermination de la courbe d'étalonnage.

Tableau V: Protocole de détermination de la courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des protéines totales.

Réactifs	Étalons						
	1	2	3	4	5	6	7
BSA (mg/mL)	-	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
Biuret (mL)	2	2	2	2	2	2	2
Quantité de protéines (mg)	0	1,25	2,5	3,75	5	6,25	7,5

Incubation à température ambiante (5 min).
Lecture de l'absorbance à 540 nm contre le blanc (étalon 1).

La concentration des protéines dans les tubes tests a été déterminée en se servant de la courbe d'étalonnage (Figure 18).

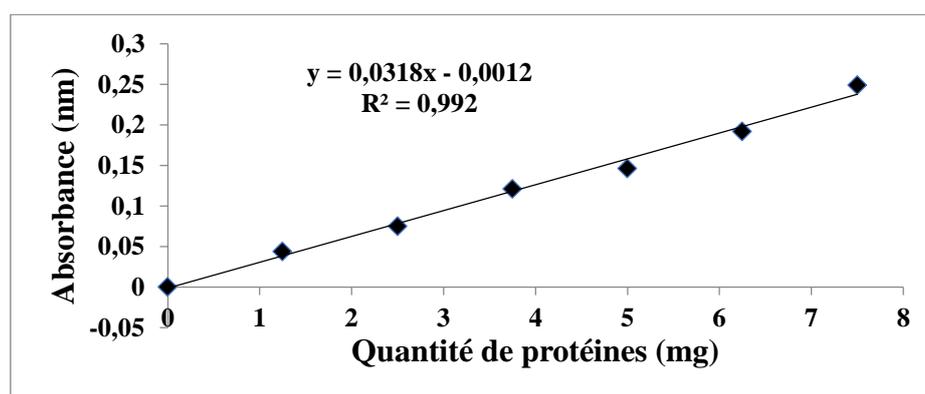


Figure 18: Courbe d'étalonnage du dosage des protéines totales.

II.2.6.5. Dosage du malondialdéhyde

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) dans le testicule a été effectué suivant la méthode adaptée de Wilbur *et al.* (1949). Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde issue de la décomposition des hydroperoxydes d'acides gras réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores dont la concentration est déterminée par la lecture de l'absorbance à 532nm. Le tableau VI présente la procédure suivie.

Tableau VI: Protocole de dosage du malondialdéhyde

Réactifs(µL)	Blanc	Essais
Homogénat	-	100
Eau distillée	100	-
Solution TCA-TBA-HCL	2000	2000

- Homogénéisation et chauffage à 100 °C (15 min).
- Refroidissement et centrifugation à 3000 trs/min (5 min).
- Lecture de l'absorbance à 532 nm contre le blanc.

La concentration en MDA a été exprimée en µmol. Le calcul a été effectué en utilisant la loi de Beer-Lambert : $DO = \epsilon \cdot C \cdot L$.

$$\text{Soit}[\text{MDA}](\mu\text{mol}) = \frac{DO \times 10^6}{\epsilon \times L} \text{ avec:}$$

DO = densité optique mesurée à 532 nm ;

ϵ = coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) ;

C = [MDA] : concentration du malondialdéhyde dans l'organe (µmol) ;

L = longueur de la cuve (1 cm).

II.2.6.6. Dosage du glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit (GSH) dans le testicule a été effectué suivant la méthode adaptée d'Ellman (1959). L'acide 2,2-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements SH du glutathion pour former un complexe coloré jaune qui absorbe à 412 nm. Dans un tube à essai ont été introduit 10 µL d'homogénat et 1500 µL de réactif d'Ellman. Après agitation au vortex, les tubes ont été laissés au repos pendant 60 min à température ambiante pour le développement de la coloration. Dans le tube blanc, les échantillons ont été remplacés par du tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 (10 µL).

La concentration en GSH a été exprimée en μmol . Le calcul a été effectué en utilisant la loi de Beer-Lambert : $DO = \varepsilon \cdot C \cdot L$.

$$\text{Soit}[\text{GSH}](\mu\text{mol}) = \frac{DO \times 10^6}{\varepsilon \times L} \text{ avec:}$$

DO = densité optique mesurée à 412 nm ;

ε = coefficient d'extinction molaire ($1,36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) ;

C = [GSH] : concentration du glutathion dans l'organe (μmol) ;

L = longueur de la cuve (1 cm).

II.2.6.7. Mesure de l'activité de la catalase

▪ Principe

Elle s'est faite suivant la méthode de Sinha (1972). Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Ce peroxyde détruit se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être ensuite décomposé par la chaleur et former un complexe vert qui absorbe à 570 nm. L'activité de la catalase, qui est proportionnelle à la densité optique, sera déterminée grâce à une courbe d'étalonnage.

▪ Mode opératoire

Cinquante millilitres (50 mL) d'une solution aqueuse de dichromate de potassium à 5% ont été initialement préparés. A cette solution ont été ajoutés lentement 150 mL d'acide acétique glacial. Une solution de peroxyde d'hydrogène à 50 mM et le tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5 ont été ensuite préparés. Lorsque le précipité bleu s'est formé après introduction de la solution de dichromate de potassium/acide acétique glacial, les tubes ont été chauffés jusqu'à ébullition pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte de l'acétate chromique), puis refroidis à température ambiante. Après introduction d'eau distillée, l'absorbance des différents tubes a été lue à 570 nm. Dans les tubes tests ont été introduits dans l'ordre 50 μL de l'homogénat et 750 μL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,5). Le chronomètre a été ensuite déclenché après ajout de 200 μL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 2 mL de solution de dichromate/acide acétique. Dans le tube témoin a été introduit 50 μL d'homogénat et 800 μL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,5). Chaque tube a été chauffé à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, la densité optique a été lue à 570 nm. Pour chaque tube, la quantité de peroxyde d'hydrogène restant dans la solution après ajout de l'acide perchromique a été évaluée en utilisant la courbe d'étalonnage. L'activité spécifique de la catalase a été exprimée en mM de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine.

II.2.6.8. Dosage du fructose vésiculaire (OMS, 1993)

▪ Principe :

En milieu acide, l'indol réagit avec le fructose en solution pour donner une coloration marronne. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de fructose dans le milieu.

▪ Mode opératoire

Chaque échantillon (40µL) a été dilué avec 1,96 mL d'eau distillée et la solution obtenue a été agitée pour homogénéisation. A 1mL de l'échantillon dilué, ont successivement été ajoutés 0,3 mL de sulfate de Zinc (1,8%) et 0,2 mL de NaOH (0,1 M). Après agitation, les tubes ont été laissés au repos, puis centrifugés pendant 20 minutes à 2000 g et le surnageant utilisé pour le dosage comme indiqué dans le tableau VII.

Tableau VII: Dosage du fructose par la méthode colorimétrique à l'indol

	Blanc	Standard		Echantillons
N° du tube	0	1	2	X ₃X _n
Fructose 0,14 mM (mL)	-	0,1	-	-
Fructose 0,28 mM (mL)	-	- 0,1	-	-
Echantillons dilués et déprotéinisés [surnageant] (mL)	-	-	-	0,1
Eau distillée (mL)	0,1	-	-	-
Indol (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1
HCl concentré (mL)	1	1	1	1

Après le traitement, tous les tubes ont été bouchés et incubés au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement rapide dans la glace fondante jusqu'à température ambiante, la densitéoptique a été lue au spectrophotomètre (GENESYS 20) à 470 nm contre le blanc.

La concentration de fructose dans les échantillons a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration de fructose} = A_s \times F \times f$$

$$\text{Avec } F = \frac{1}{2} \left(\frac{0,14}{S_1} + \frac{0,28}{S_2} \right)$$

A_s : densité optique de l'échantillon

f : facteur de dilution (50)

F : valeur moyenne du fructose standard

S₁ : densité optique moyenne lue pour le fructose 0,14mM

S₂ : densité optique moyenne lue pour le fructose 0,28 mM

II.2.6.9. Dosage du cholestérol total sérique et intratesticulaire

Un kit de dosage *Inmesco* a été utilisé pour réaliser ce dosage. Dans chaque tube à essai, ont été introduit 10µL d'échantillons (sérum ou homogénat testiculaires), puis 1 mL de réactif y a été ajouté (Schettler et Nussél, 1975). L'ensemble a été agité et incubé à 25°C pendant 10 minutes. L'absorbance a été lue au spectrophotomètre (GENESYS 20) à 500 nm contre le blanc (Tableau VIII). La concentration du cholestérol dans les différents tubes était proportionnelle à la densité optique et a été déterminée par la formule suivante :

Tableau VIII: Protocole de dosage du cholestérol total sérique et testiculaire

Contenu des tubes à essai	Essai	Etalon	Blanc
Echantillon (µL)	10	-	-
Etalon (µL)	-	10	-
Réactif (mL)	1	1	1

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon} \times \text{concentration de l'étalon}}{\text{Absorbance de l'étalon}}$$

II.2.6.10. Dosage des triglycérides

L'estimation du taux de triglycérides s'est faite suivant la méthode de Fossati et Prencipe (1982), l'absorbance du complexe coloré (quinonéimine), proportionnelle à la concentration en triglycérides dans le spécimen a été mesurée à 500 nm.

Tableau IX: Mode opératoire du dosage des triglycérides

Mesure dans des tubes à essais	Blanc	Etalon	Essai
Réactif du dosage des triglycérides	1 mL	1 mL	1 ml
Eau déminéralisée	10 µL	/	/
Etalon (triglycérides 2g/L)	/	10µL	/
Spécimen (Sérum)	/	/	10µL

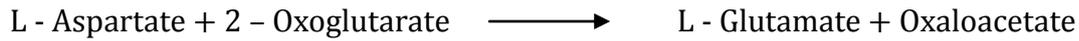
Après avoir mélangé, nous avons laissé reposer 10 minutes à température ambiante. Par la suite les absorbances contre le blanc ont été lu à 500 nm et ceci avant 1 heure. La concentration des triglycérides dans les différents tubes était proportionnelle à la densité optique et a été déterminée par la formule suivante:

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon} \times \text{concentration de l'étalon}}{\text{Asorbance de l'étalon}}$$

II.2.6.11. Mesure de l'activité de l'aspartate amino-transaminase

- Principe du test

C'est une méthode cinétique de détermination de l'activité d'aspartate amino-transférase selon les réactions:



Le pipetage s'est fait comme suit :

R1	50 MI
R2	50 MI
Echantillon	100 µL

Après incubation du mélange pendant 1 minute à 37°C, les absorbances ont été lues contrecelle de l'eau distillée, d'abord après 60 secondes et exactement après 180 secondes

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{(\Delta\text{abs})}{3} \times 1746$$

II.2.6.12. Mesure de l'activité de l'Alanine amino-transaminase

C'est une méthode cinétique de détermination de l'activité d'alanineamino-transférase selon les réactions :



Le pipetage s'est fait comme suit :

R1	50 ml
R2	50 ml
Echantillon	100 µl

Après incubation du mélange pendant 1 minute à 37°C, les absorbances ont été lues contre celle de l'eau distillée, d'abord après 60 secondes et exactement après 180 secondes

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{(\Delta\text{abs})}{3} \times 1746$$

II.2.6.13. Dosage de la créatinine

- Principe

La créatinine réagit avec l'acide picrique en milieu alcalin pour former un complexe jaune intense. La quantité de complexe formé est directement proportionnelle au taux de créatinine dans l'échantillon.

- Mode opératoire

Le pipetage s'est fait comme suit :

Standard/échantillon	100 µl
Réactif de travail	1 ml

Les préparations ont été homogénéisées. Puis les absorbances des standards et échantillons ont été lues à 30 secondes puis à 120 secondes.

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{(\Delta\text{abs})_{\text{échantillon}}}{(\Delta\text{abs})_{\text{Standard}}} \times 2$$

II.2.6.14. Dosage de testostérone totale sérique

➤ Principe du test

Le test Cypress Diagnostics testostérone est une phase solide sandwich ELISA qui utilise deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques: un anticorps anti-testostérone immobilisé sur la surface des micropuits et un second anticorps spécifique à une autre région de la testostérone et conjuguée à la peroxydase de raifort. La testostérone de l'échantillon et les standards doivent se lier sur les anticorps recouvrant la plaque, préalablement lavés et incubés avec le conjugué. Après une deuxième étape de lavage, une réaction enzymatique avec le conjugué enzymatique est initiée par addition du substrat TMB et terminée par addition de solution d'arrêt. L'absorbance est mesurée à 450 nm. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de testostérone dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

-Première incubation: 25 µL des contrôles de la testostérone et des échantillons ont été pipetés puis ajoutés à 100 µL de tampon de test dans chaque puits. L'incubation a duré 30 minutes à température ambiante (22 ± 4 ° C) sur un agitateur de plaques (± 200 tr/min)

-Lavage: tous les micro-puits ont été vidés dans un récipient à déchets. Ensuite chaque puits a été lavé 3 fois avec 300 µL de tampon de lavage et la plaque a été essorée fermement à l'aide du papier absorbant.

-Seconde incubation: 150 μL de substrat ont été ajoutés à chaque puits, ensuite la plaque à incuber a été mise sur un agitateur de plaque pendant 15 min à température ambiante.

-Lecture: 50 μL de solution d'arrêt ont été ajoutés à chaque puits dans le même ordre et au même rythme que celui auquel le substrat a été distribué. Par la suite la plaque a été doucement secouée pour mélanger la solution et arrêter effectivement la réaction. L'absorbance a été mesurée grâce à un lecteur de plaques de microtitration à 450 nm dans les 20 minutes après l'addition de la solution d'arrêt.

➤ **Expression des résultats**

-La densité optique moyenne de chaque étalon a été calculée ;

-Une courbe d'étalonnage sur du papier graphique semi-logarithmique avec les densités optiques moyennes (axe des Y) et les concentrations d'étalon (axe des X) a été tracée ;

-La densité moyenne optique de chaque témoin et de chaque échantillon a été calculée ;

-Les valeurs des standards et des échantillons ont été directement lues sur la courbe d'étalonnage (sur l'axe des X).

II.2.7. Techniques histologiques

La technique histologique utilisée dans ce travail est celle décrite par Cannet (2006) ; elle consiste en:

➤ **Fixation**

L'objectif de la fixation est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Elle permet aussi au tissu de passer par les autres étapes de la technique histologique sans changements, ni déformations en insolubilisant les composants cellulaires et en augmentant le potentiel tinctorial des différents constituants cellulaires. Dans cette étude le formol 10% a été utilisé pour fixer les organes prélevés parce que ce dernier pénètre très rapidement les tissus (Cannet, 2004).

➤ **Macroscopie**

Les différents organes fixés ont été sectionnés suivant un plan transversal et disposés dans des cassettes en matière plastique et étiquetées.

➤ **Déshydratation**

Une fois fixé, les échantillons d'organes ont été inclus dans un milieu suffisamment rigide pour être coupé en tranches fines de l'ordre de quelques micromètres. La paraffine n'étant pas miscible avec l'eau, les tissus fixés ont été débarrassés de toute trace d'eau avant de pouvoir être inclus dans ce milieu. Pour ce procédé, 6 bacs d'alcool, à raison de deux

heures dans chaque bac, ont été utilisés successivement dans l'ordre ci-après: 1 bac d'éthanol à 70%, 1 bac d'éthanol à 80%, 2 bacs d'éthanol à 95% et 2 bacs d'alcool absolu (éthanol à 100%).

➤ **Eclaircissement**

L'éclaircissement consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible avec le milieu d'inclusion. C'est une étape de transition réalisée par des hydrocarbures benzéniques tels que le xylène ou le toluène. Après déshydratation, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène (2 x 2 heures).

➤ **Imprégnation**

Pour obtenir des coupes fines, il est nécessaire d'incorporer dans les tissus une substance neutre qui durcit les fragments. La substance utilisée était la paraffine. L'imprégnation a consisté au remplacement de l'eau des cellules et des tissus par la substance neutre qui durcit les prélèvements. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4 heures (2 heures x 2 bains) dans de la paraffine chaude (60°C) et liquide.

➤ **Inclusion**

L'inclusion fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation de coupes au microtome. Les tissus ont été placés dans des moules remplis de paraffine en fusion qui sera mise à solidifier sur une surface froide (4°C) après orientation approprié du tissu dans le bloc.

➤ **Coupe**

Les blocs obtenus ont été coupés à l'aide d'un microtome à volant de marque LEICA RM 2125 RT. Des rubans de coupes de 5 µm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée. Au moyen de lames porte-objets propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve à 45°C pendant 24 heures.

➤ **Coloration**

Les colorations permettent de visualiser les constituants cellulaires et tissulaires, en leur faisant capter et fixer des colorants de façon plus ou moins sélective. La technique de coloration utilisée était la coloration à l'hématoxyline-éosine, dans laquelle l'hématoxyline colore les constituants acides du noyau en bleu-violacé et l'éosine les constituants basiques du cytoplasme en rose-rouge. La procédure de coloration s'est déroulée en deux étapes:

- 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 des concentrations décroissantes jusqu'à l'eau distillée. Chaque bain ayant une durée de 5 minutes (Figure 19).

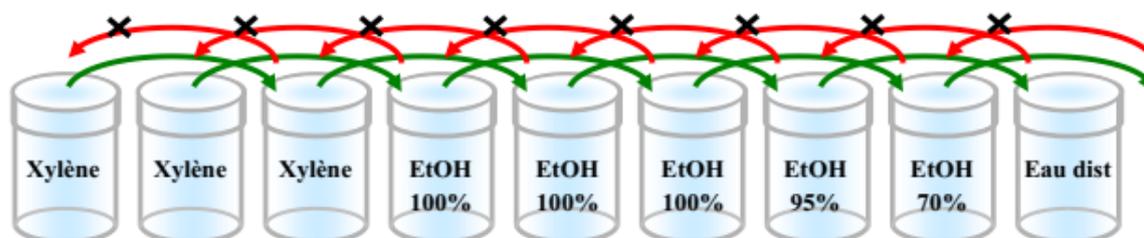


Figure 19: Batterie de déparaffinage et réhydratation.

- Coloration proprement dite

Après déparaffinage, les lames contenant les coupes d'organes, étaient passées successivement dans les bains d'hématoxyline de Harris, d'eau de robinet, d'eau distillée, d'eaulithinée et d'eau acidifiée, d'alcools à 80% et 95%, d'éosine alcoolique et enfin dans l'éthanol 95%. Ceci se faisait à des périodes variées comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau X: Etapes de coloration à l'hématoxyline et l'éosine.

N° de bain	solutions	Temps
1	Hématoxyline de Harris	10 min
2	Eau de robinet courante	10 min
3	Eau lithinée après passage dans l'eau distillée pendant 1 min	2-3 min
4	Eau acidifiée après passage dans l'eau distillée pendant 1 min	2-3 min
5	Ethanol à 80%	5 min
6	Ethanol à 95%	5 min
7	Eosine alcoolique à 0,5%	5 min
8	Ethanol à 95%	5 min

➤ Montage

Il permet de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver. Le milieu de montage était une résine synthétique (baume de Canada) non miscible à l'eau. Les coupes étaient déshydratées avant d'être montées. Cette opération s'est faite en deux

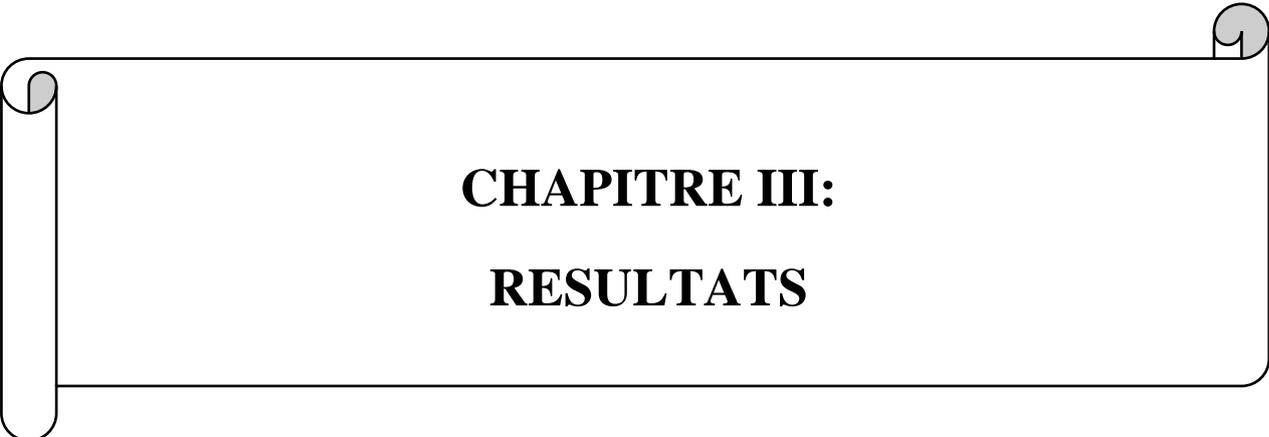
étapes : la première consiste en la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu (3x5 minutes) et en l'éclaircissement dans trois bains de xylène (3x5 minutes).

II.2.8. Analyse morphométrique

L'étude morphométrique a consisté à faire des mesures géométriques (aire, diamètre) et densimétriques (épaisseur) sur les coupes histologiques des testicules. Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un microscope de marque OLYMPUS relié à un ordinateur Compaq nx9010 connecté à une caméra digitale pour microscope (DCM35 350K pixels). La surface moyenne des sections orthogonales des tubes séminifères a été déterminée sur 10 sections par testicules à l'aide d'un programme de capture intégré (*Minisee*) et de mesure de surface (*Image J Version 1.32j*) sous un grossissement 100X. Le diamètre considéré était la distance de Feret ("Feret's diameter") qui mesure les deux points situés les plus loin l'un de l'autre sur le pourtour de la cellule.

II.2.9. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard sur la moyenne (ESM). L'analyse de ces résultats a été effectuée à l'aide du test d'ANOVA (test d'analyse des variances) suivi du post test de Dunnett et du test non paramétrique U de Mann-Whitney, ceci à l'aide du logiciel Graphpad Prism (version 5.03). Les valeurs de probabilité $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.



**CHAPITRE III:
RESULTATS**

III.1. Extraction et composition phytochimique de la plante

III.1.1. Rendement de l'extraction

Après extraction et lyophilisation, un extrait de couleur marron foncée a été obtenu avec un rendement d'extraction de 9% (22,5 g pour 250 g de départ).

III.1.2. Quantification de quelques classes de composés dans l'extrait aqueux de *B. toxisperma*

Les résultats présentés dans le tableau XI montrent que l'extrait aqueux de *B. toxisperma* est concentré en polyphénols totaux de $290,54 \pm 2,09$ mg eq quercétine/g d'extrait sec incluant les flavonoïdes totaux. Cet extrait a montré une capacité antioxydante *in vitro* de l'ordre de $635,43 \pm 0,97$ mg eq quercétine/g d'extrait sec.

Tableau XI: Taux de composés phénoliques et capacité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*

Classes de composés	Concentration (mg eq quercétine/g d'extrait sec)
Polyphénols totaux	$290,54 \pm 2,09$
Flavonoïdes totaux	$0,03 \pm 0,00$
Potentiel antioxydant total	$635,67 \pm 0,60$

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm SEM de trois tests indépendants. eq = équivalent.

III.2. Effets de l'extrait sur l'activité copulatoire des rats normaux

III.2.1. Effets sur l'activité copulatoire

Le tableau XII montre les effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques paramètres copulatoires chez des rats normaux. Il a été observé, aux jours 1 et 8 de l'expérience, une baisse significative ($p < 0,05$) du temps de latence de monte, d'intromission et d'éjaculation chez les animaux normaux traités à l'extrait aux doses de 150 mg/kg et de 300 mg/kg, comparés à ceux du groupe contrôle. Des résultats similaires ont été obtenus chez le groupe traité au citrate de sildénafil. Concernant les performances copulatoires, l'extrait aux doses de 150 et 300 mg/kg a significativement ($p < 0,05$) augmenté les fréquences d'érection, de monte, d'intromission et d'éjaculation comparés à ceux du groupe contrôle.

Tableau XII: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques paramètres copulatoires des animaux normaux

		Latence 1ere monte (sec)	Nombre de monte	de	Latence 1ere intromission (sec)	Nombre d'intromission	Latence 1ere éjaculation (sec)	Nombre d'éjaculation	Nombre de penile-licking
Eau distillée	Jour 1	68,31 ± 4,32	21,44 ± 3,10		107,21 ± 8,30	18,83 ± 2,32	401,49 ± 31,31	1,42 ± 0,42	20,45 ± 1,90
	Jour 8	89,60 ± 7,03	25,89 ± 1,00		119,43 ± 4,11	29,01 ± 1,38	411,82 ± 13,95	1,82 ± 0,56	23,25 ± 1,77
Sildénafil (5mg/kg)	Jour 1	30,33 ± 3,24**	40,31 ± 2,70**		50,65 ± 6,13**	27,41 ± 1,74*	326,41 ± 40,76*	2,67 ± 0,20*	27,34 ± 3,12
	Jour 8	25,71 ± 6,34***	45,73 ± 3,41**		62,97 ± 10,35**	38,64 ± 1,72*	335,26 ± 10,60*	2,20 ± 0,44	32,66 ± 2,43*
BT 75 mg/kg	Jour 1	70,41 ± 7,81	19,23 ± 1,61		113,63 ± 12,64	17,64 ± 1,43	397,77 ± 27,96	1,24 ± 0,26	23,43 ± 2,17
	Jour 8	67,35 ± 6,46	38,27 ± 4,53 ^{&}		108,47 ± 12,45	30,69 ± 2,10 ^{&}	399,93 ± 12,31	1,20 ± 0,24	25,42 ± 1,94
BT 150 mg/kg	Jour 1	39,52 ± 6,23**	33,88 ± 1,98*		56,67 ± 8,03**	28,34 ± 2,85*	281,20 ± 69,45*	1,83 ± 0,42	32,45 ± 3,90*
	Jour 8	30,23 ± 3,81**	49,09 ± 5,57**		41,62 ± 13,05**	48,92 ± 4,85* ^{&}	297,96 ± 27,36*	2,62 ± 0,50	34,42 ± 2,55*
BT 300 mg/kg	Jour 1	32,62 ± 2,50**	33,89 ± 1,62*		43,42 ± 13,52**	31,45 ± 1,56*	256,52 ± 34,37*	1,86 ± 0,42	31,85 ± 1,90*
	Jour 8	25,44 ± 7,75***	50,27 ± 6,64*** ^{&}		50,28 ± 9,85**	49,21 ± 6,14*	265,68 ± 9,40*	2,84 ± 0,41	34,65 ± 1,86*

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 ; **p < 0,01 et ***p < 0,001 par rapport au témoin normal (eau distillée). [&]p < 0,05 par rapport au jour 1 de l'expérience.

III.2.2. Effets sur la masse relative de quelques organes sexuels

L'extrait aux doses de 150 et 300 mg/kg a induit une augmentation significative ($p < 0,01$) de la masse relative des testicules par rapport au témoin normal (Tableau XIII).

Tableau XIII: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse relative de quelques organes sexuels (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) après 8 jours de traitement

Groupes	Testicules	Epididymes	Prostate	Vésicules séminales	Pénis
Eau distillée	1,33 ± 0,03	0,40 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,45 ± 0,04	0,12 ± 0,01
Viagra (5 mg/kg)	1,32 ± 0,01	0,40 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,11 ± 0,01
BT 75 mg/kg	1,33 ± 0,03	0,38 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,36 ± 0,03	0,10 ± 0,01
BT 150 mg/kg	1,51 ± 0,03**	0,40 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,33 ± 0,07	0,13 ± 0,01
BT 300 mg/kg	1,44 ± 0,03**	0,38 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,40 ± 0,03	0,11 ± 0,01

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (eau distillée).

III.3. Effets protecteurs de l'extrait contre une dysfonction reproductive chez des rats soumis au stress d'immobilisation

III.3.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires

Comparés aux rats normaux, les animaux soumis au stress d'immobilisation 6 h/jour durant 35 jours ont présenté une augmentation significative ($p < 0,01$) du temps de latence de monte, d'intromission et d'éjaculation. Ces animaux ont également présenté une réduction significative ($p < 0,01$) des fréquences de léchage du pénis, de monte, d'intromission et d'éjaculation comparé aux témoins normaux (Tableau XIV). Les effets du stress sur le comportement sexuel ont été contrecarrés grâce à l'administration de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*. En effet, les animaux stressés et traités à l'extrait ont présenté une réduction significative du temps de latence de la première monte (le jour 18 aux doses de 75 et 150 mg/kg et tout au long de l'expérience avec la dose de 300 mg/kg) et du temps de latence de la première intromission (aux jours 18 et 35 avec les doses 75 et 150 mg/kg et tout au long de l'expérience avec la dose de 300 mg/kg) comparés aux animaux témoin négatif. L'extrait a augmenté de façon significative les fréquences de monte (tout au long de l'expérience avec toutes les doses testées) et d'intromission (jours 1 et 35 avec les doses de 75 et 150 mg/kg et tout au long de l'expérience avec la dose de 300 mg/kg) comparé au témoin négatif. Ces paramètres étaient plus proches ou plus élevés que ceux des animaux normaux à la dose de 300 mg/kg.

L'extrait n'a pas corrigé l'augmentation du temps de latence d'éjaculation induite par le stress, bien qu'avec la dose de 300 mg/kg, il a été observé une augmentation de la fréquence d'éjaculation comparés aux témoins stressés. Les valeurs obtenues à cette dose étaient inférieures à celles des animaux normaux sauf au jour 1.

En ce qui concerne la fréquence de léchage du pénis, une augmentation significative ($p < 0,05$) a été observée tout au long de l'étude à toutes les doses testées par rapport aux témoins stressés. À la dose de 300 mg/kg, les valeurs de ce paramètre étaient supérieures à celles des animaux normaux aux jours 1 et 35.

Tableau XIV: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques paramètres copulateurs des animaux soumis au stress d'immobilisation

Groupes		Latence 1 ^{ère} monte (Sec)	Nombre de monte	Latence 1 ^{ère} intromission	Nombre d'intromission	Latence 1 ^{ère} ejaculation	Nombre d'éjaculation	Nombre de léchage du pénis
Normal (Eau distillée)	Jour 1	209,23 ± 3,22	37,02 ± 5,50	270,42 ± 22,09	25,02 ± 2,86	209,23 ± 3,29	0,25 ± 0,19	21,44 ± 2,86
	Jour 18	15,26 ± 2,70 ^{&}	60,64 ± 2,37 ^{&}	16,04 ± 2,92 ^{&&}	55,31 ± 1,15 ^{&}	290,25 ± 32,54	2,43 ± 0,65 ^{&}	54,81 ± 4,36 ^{&}
	Jour 35	5,34 ± 1,05 ^{&&}	42,82 ± 3,76	7,04 ± 1,16 ^{&&}	42,86 ± 3,73	286,22 ± 35,66	3,06 ± 0,32 ^{&}	35,03 ± 1,45
Stress	Jour 1	207,11 ± 6,14	13,21 ± 1,95 ^{***}	276,84 ± 24,36	11,82 ± 1,94 [*]	707,87 ± 89,39 ^{***}	0,22 ± 0,15	13,87 ± 2,98
	Jour 18	24,65 ± 3,20 ^{*&}	33,04 ± 4,38 ^{**}	22,43 ± 3,98 ^{&}	31,24 ± 3,58 ^{**&}	1420,43 ± 70,76 ^{***}	0,82 ± 0,23 [*]	28,27 ± 4,84 ^{***&}
	Jour 35	12,13 ± 1,05 ^{**&&}	23,23 ± 2,87 ^{**}	16,05 ± 4,27 ^{*&}	22,81 ± 4,90 ^{**}	479,59 ± 28,42 ^{*&}	1,26 ± 0,44 ^{**}	30,04 ± 5,16 ^{&}
Stress+BT 75 mg/kg	Jour 1	176,09 ± 29,45	29,63 ± 3,71 ^{##}	178,25 ± 29,08	28,82 ± 3,68 [#]	1124,14 ± 98,08 ^{###}	0,40 ± 0,22	29,55 ± 3,13 [#]
	Jour 18	14,26 ± 2,76 ^{#&}	45,44 ± 4,27	14,23 ± 2,78 ^{&}	36,73 ± 5,41 [*]	969,04 ± 59,57 ^{***###}	0,41 ± 0,24 [*]	36,75 ± 5,46 ^{***}
	Jour 35	9,10 ± 2,37 ^{&&}	49,80 ± 4,14 ^{###}	10,01 ± 1,13 ^{&}	41,48 ± 3,94 [#]	897,20 ± 29,58 ^{***###}	0,66 ± 0,27 ^{**}	42,04 ± 1,93
Stress + BT 150 mg/kg	Jour 1	206,05 ± 36,89	28,29 ± 1,54 [#]	256,88 ± 32,29	19,42 ± 2,74	560,84 ± 60,82 ^{**#}	0,86 ± 0,40	26,15 ± 3,49
	Jour 18	13,23 ± 1,15 ^{#&&}	42,08 ± 4,94 ^{*&}	13,24 ± 1,15 ^{&&}	36,23 ± 5,11 [*]	351,05 ± 32,67 ^{###&}	1,01 ± 0,44	35,24 ± 4,86 ^{***}
	Jour 35	11,02 ± 2,38 ^{*&&}	43,09 ± 3,24 ^{&}	11,01 ± 2,33 ^{&&}	31,63 ± 2,10	615,62 ± 73,98 ^{###}	1,06 ± 0,48 ^{**}	37,04 ± 1,86
Stress + BT 300 mg/kg	Jour 1	58,81 ± 15,80 ^{***###}	31,88 ± 2,12 ^{##}	147,23 ± 32,50 ^{*#}	29,69 ± 6,15 [#]	787,54 ± 89,75 ^{**}	1,65 ± 0,53 ^{*#}	42,26 ± 6,57 ^{###}
	Jour 18	7,62 ± 1,71 ^{###&}	54,80 ± 6,91 [#]	7,61 ± 1,76 ^{**#&&}	53,60 ± 6,22 ^{##}	333,05 ± 52,27 ^{###&}	1,46 ± 0,40	42,64 ± 6,43 ^{*#}
	Jour 35	3,67 ± 0,40 ^{***###&}	65,04 ± 4,25 ^{*###&}	4,84 ± 1,47 ^{*#&&}	60,89 ± 4,94 ^{###&}	400,83 ± 57,10 ^{&}	2,23 ± 0,27 ^{*#}	60,02 ± 6,16 ^{***###}

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 ; **p < 0,01 et ***p < 0,001 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et

###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (stress). &p < 0,05 et &&p < 0,01 par rapport au jour 1 de l'expérience.

III.3.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels

Après 35 jours de traitement, une diminution significative ($p < 0,01$) du pourcentage de l'évolution pondérale, de la masse relative des testicules, de l'épididyme et des vésicules séminales a été observée chez les rats stressés par rapport aux rats normaux (Tableau XV). À la dose de 300 mg/kg, l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a contrecarré de manière non significative la perte de la masse corporelle induite par le stress. Une augmentation significative ($p < 0,01$) a été observée à toutes les doses testées sur la masse relative du testicule, des vésicules séminales, de l'épididyme et du pénis. Les valeurs de ces paramètres étaient plus élevées que celles observées chez des animaux normaux. Le stress n'a pas modifié la masse relative du pénis mais l'extrait (aux doses de 150 et 300 mg/kg) l'a augmenté de manière significative ($p < 0,01$) par rapport aux animaux normaux.

Tableau XV: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse corporelle et la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes sexuels des animaux soumis au stress d'immobilisation

Groupes	% Evolution pondérale	Testicules	Epididymes	Prostate	Vésicules séminales	Pénis
Eau distillée	37,40 ± 5,52	1,25 ± 0,03	0,36 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,11 ± 0,01
Stress + Eau distillée	18,00 ± 5,87**	1,10 ± 0,02**	0,32 ± 0,01**	0,09 ± 0,01	0,28 ± 0,02**	0,10 ± 0,01
Stress + BT 75 mg/kg	20,72 ± 3,17*	1,53 ± 0,02***###	0,42 ± 0,03***###	0,10 ± 0,03	0,36 ± 0,01 [#]	0,12 ± 0,02
Stress + BT 150 mg/kg	14,66 ± 1,44**	1,46 ± 0,03***###	0,41 ± 0,01***###	0,11 ± 0,02	0,40 ± 0,04###	0,13 ± 0,01 [#]
Stress + BT 300 mg/kg	22,34 ± 2,62	1,41 ± 0,03***###	0,40 ± 0,01***###	0,10 ± 0,01	0,39 ± 0,02 [#]	0,14 ± 0,02***###

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ par rapport au témoin normal (eau distillée) ; ### $p < 0,01$ et #### $p < 0,001$ par rapport au témoin négatif (stress).

III.3.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques

Après un stress d'immobilisation de 6 heures par jour pendant 35 jours consécutifs, une réduction significative ($p < 0,05$) du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes a été observée comparés aux animaux normaux (Figure 20). Le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a protégé les animaux contre la diminution du nombre et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaire induite par le stress.

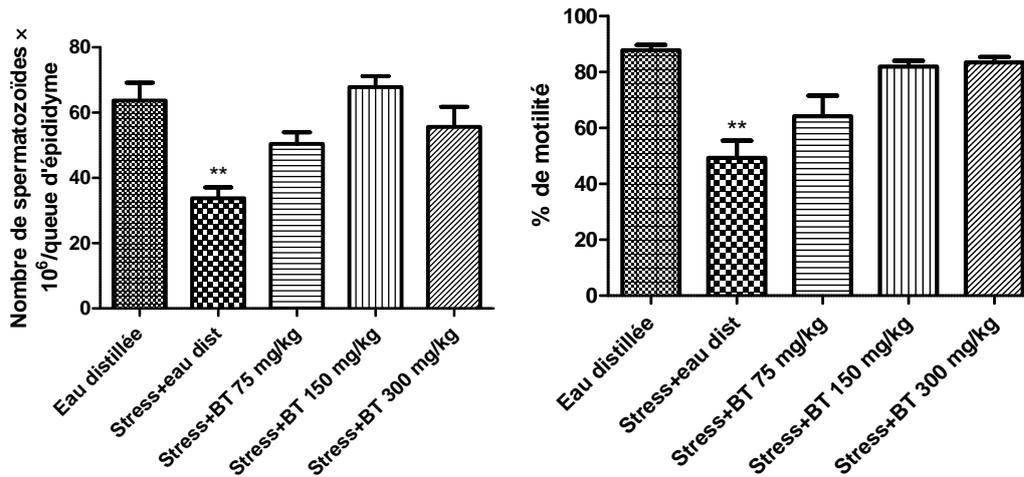


Figure 20: Effets de l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires des animaux stressés. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée)

III.3.4. Effets sur l'histoarchitecture testiculaire

Comme le montre la figure 21, le stress d'immobilisation de 6 h/jour pendant 35 jours consécutifs a réduit la quantité de cellules germinales et de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères par rapport aux rats normaux. Les groupes stressés et traités à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à toutes les doses testées ont présenté des tubules séminifères remplis de spermatozoïdes et la présence de spermatocytes et de spermatogonies par rapport au témoin négatif

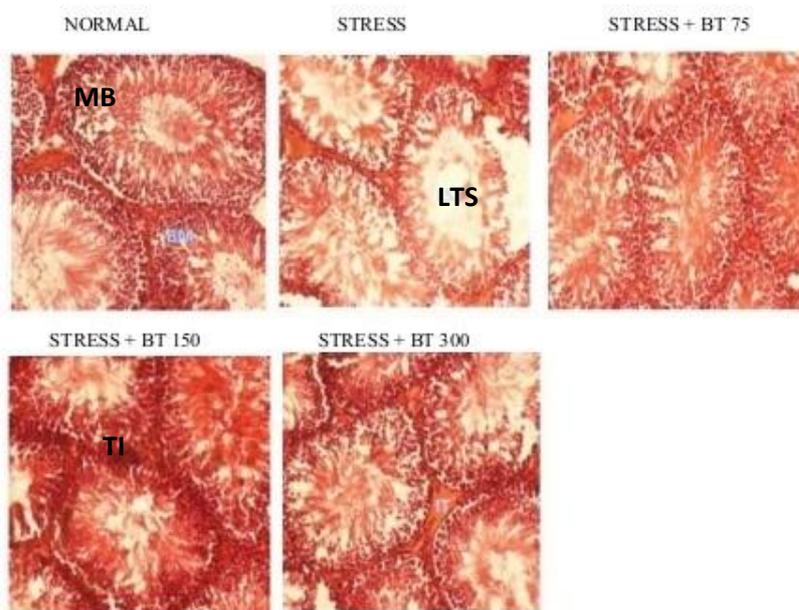


Figure 21: Effets de l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules des animaux stressés. Grossissement X200; coloration Hématoxyline/Eosine. (MB) membrane basale. (LTS) Lumière du tube séminifère, (TI) tissu interstitiel.

III.4. Effets protecteurs de l'extrait contre une dysfonction reproductive chez des rats soumis à une consommation prolongée (42 jours) de l'éthanol 25°

III.4.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires

Comparés aux rats normaux, les animaux ayant reçu uniquement l'éthanol 25° pendant 42 jours ont présenté une augmentation significative ($p < 0,01$) des temps de latence de première monte, d'intromission et d'éjaculation. Ce groupe d'animaux a présenté une diminution significative ($p < 0,01$) des fréquences de léchage de pénis, de monte, d'intromission et d'éjaculations comparées aux animaux normaux (Tableau XVI). Les effets de l'éthanol sur le comportement sexuel ont été prévenus par l'administration de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*. L'administration concomitante de l'éthanol et de l'extrait a significativement ($p < 0,01$) réduit les temps de latence de monte, d'intromission (avec toutes les doses testées) et d'éjaculation aux doses de 150 et 300 mg/kg, et a augmenté les fréquences de monte (à toutes les doses testées), d'intromission (à la dose de 300 mg/kg) et d'éjaculation (aux doses de 150 et 300 mg/kg). Les valeurs de ces paramètres obtenues avec la dose de 300 mg/kg étaient plus proches ou plus élevées que ceux observés chez les animaux normaux.

En ce qui concerne le léchage du pénis, des nombres significativement ($p < 0,05$) élevés ont été observés à toutes les doses testées chez les animaux traités à l'extrait par rapport aux animaux du contrôle négatif. À la dose de 300 mg/kg, les valeurs de ce paramètre étaient supérieures à celles des animaux normaux.

Tableau XVI: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques paramètres copulatoires chez les animaux soumis à une consommation prolongée (42 jours) d'éthanol 25°

Groupes	Latence de monte (sec)	Nombre de monte	Latence d'intromission (sec)	Nombre d'intromission	Latence d'éjaculation (sec)	Nombre d'éjaculation	Nombre de léchage du pénis
Eau distillée	14,84 ± 2,23	61,64 ± 2,25	15,46 ± 1,78	48,853 ± 2,5	292,44 ± 68,90	2,62 ± 0,51	54,84 ± 1,92
Ethanol 25°	25,85 ± 2,31**	30,22 ± 3,11***	26,24 ± 3,72**	29,65 ± 2,66**	1016,43 ± 72,91***	0,64 ± 0,14**	28,24 ± 2,21***
EtOH + BT 75 mg/kg	14,27 ± 2,95##	44,42 ± 3,43*#	15,65 ± 2,26#	35,61 ± 3,45*	947,41 ± 87,15***	0,85 ± 0,23**	37,65 ± 2,46*##
EtOH + BT 150 mg/kg	13,44 ± 0,71###	48,65 ± 3,77#	14,05 ± 0,90#	40,65 ± 2,79	319,85 ± 67,55###	2,03 ± 0,30##	45,83 ± 3,40##
EtOH + 300 mg/kg	7,42 ± 1,54###	54,82 ± 6,95##	8,64 ± 1,11##	50,04 ± 3,80*###	331,24 ± 38,11###	3,24 ± 0,31*###	61,64 ± 3,76*###

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 ; **p < 0,01 et ***p < 0,001 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et ###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (Ethanol).

III.4.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels

Après 42 jours de traitement, une réduction significative ($p < 0,01$) du pourcentage de l'évolution pondérale et de la masse relative des testicules, des vésicules séminales et du pénis a été observée chez les rats traités uniquement avec de l'éthanol comparés aux animaux du groupe normal (Tableau XVII). Le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à toutes les doses testées a contrecarré la perte de la masse corporelle induite par l'éthanol. Un effet similaire a été observé à toutes les doses testées sur la masse relative des testicules, des vésicules séminales et du pénis.

Tableau XVII: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse corporelle et la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes sexuels des animaux soumis à la consommation d'alcool éthylique

Groupes	% Evolution pondérale	Testicules	Epididymes	Prostate	Vésicules séminales	Pénis
Eau distillée	42,60±2,47	1,25 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,10 ± 0,01
EtOH 25°	23,42 ± 1,13**	1,14 ± 0,01**	0,35 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,13 ± 0,01**	0,06 ± 0,01**
EtOH+BT75	39,44±3,47	1,38 ± 0,02**###	0,35 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,39 ± 0,02***###	0,10 ± 0,02 [#]
EtOH+BT150	37,10±2,28	1,42 ± 0,03***###	0,40 ± 0,01* [#]	0,12 ± 0,04	0,56 ± 0,02***###	0,12 ± 0,01* ^{##}
EtOH+BT300	35,91±2,73	1,20 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,37 ± 0,02***###	0,10 ± 0,02 [#]

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ par rapport au témoin normal (eau distillée) ; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ et ### $p < 0,001$ par rapport au témoin négatif (Ethanol).

III.4.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques

Après 42 jours de consommation, l'éthanol a induit une réduction significative ($p < 0,05$) du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes par rapport aux animaux normaux (Figure 22). L'administration concomitante de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* et de l'éthanol a protégé les animaux contre la diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes épидидymaire induite par la consommation chronique d'alcool. Les doses de 150 et 300 mg/kg de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* ont induit un nombre de spermatozoïdes élevé à celui des animaux normaux.

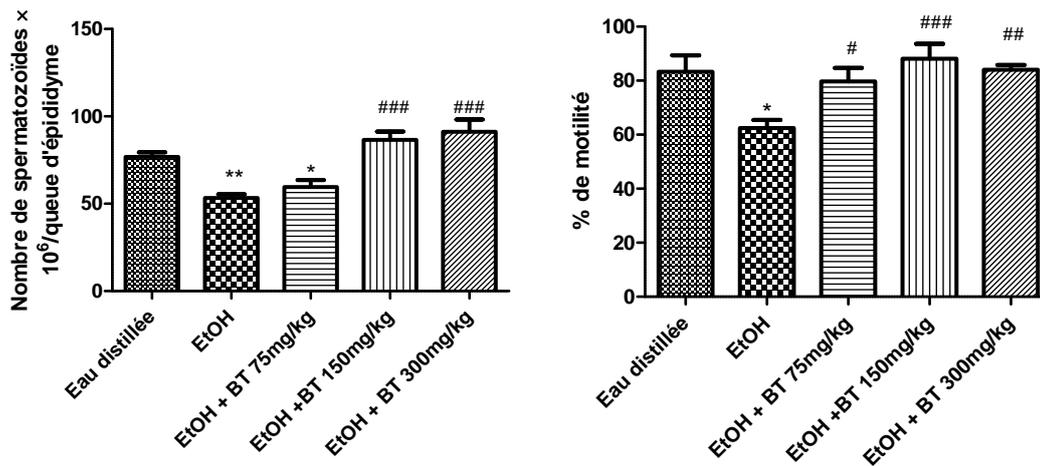


Figure 22: Effets de l'extrait de *B. toxisperma* sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires des animaux soumis à la consommation chronique d'éthanol 25°. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*, EtOH = Ethanol. *p < 0,05 et **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et ###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (Ethanol)

III.4.4. Effets sur quelques paramètres biochimiques androgénodépendants

Le tableau XVIII montre qu'après 42 jours de traitement, les animaux ayant reçu uniquement de l'éthanol ont présenté une diminution significative ($p < 0,05$) du taux de fructose vésiculaire, des taux de protéines totales et de cholestérol dans les testicules. L'administration concomitante de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* et de l'éthanol a protégé les animaux contre la diminution des taux de fructose vésiculaire, de protéines totales et de cholestérol testiculaires induite par la consommation chronique d'alcool éthylique 25°.

Tableau XVIII: Effets de l'extrait de *B. toxisperma* sur quelques paramètres biochimiques androgénodépendants

Groupes	Taux de cholestérol total testiculaire (mg/dL)	Taux de protéine totale testiculaire (mg/dL)	Taux de fructose vésiculaire (mMol/L)
Eau distillée	19,11 ± 1,23	0,13 ± 0,01	0,22 ± 0,02
Ethanol 25°	12,54 ± 0,68*	0,1 ± 0,01*	0,11 ± 0,01*
EtOH +BT 75 mg/kg	18,21 ± 1,59 [#]	0,11 ± 0,01	0,23 ± 0,01 ^{##}
EtOH + BT 150 mg/kg	19,48 ± 1,24 [#]	0,13 ± 0,01 ^{##}	0,33 ± 0,03* ^{###}
EtOH + BT 300 mg/kg	20,95 ± 1,17 ^{##}	0,14 ± 0,01 ^{##}	0,31 ± 0,02* ^{###}

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et ###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (Ethanol).

III.4.5. Effets sur le statut oxydant testiculaire

Les effets de *B. toxisperma* après le traitement de 42 jours sur quelques marqueurs testiculaires du stress oxydatif sont présentés dans le tableau XIX. Comparé au témoin normal (eau distillée), le malondialdéhyde testiculaire (MDA) a augmenté de manière significative (p < 0,01) de l'ordre de 66,94% chez les animaux ayant uniquement reçu l'éthanol 25° pendant 42 jours. Le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* (150 et 300 mg/kg) a contrecarré cette augmentation de MDA. L'administration chronique de l'éthanol seul a entraîné une diminution de l'activité de la catalase et une augmentation de 33,91% du taux de GSH par rapport au témoin normal. Le traitement à l'extrait à toutes les doses a protégé de la diminution du taux de catalase testiculaire et de GSH.

Tableau XIX: Effets de l'extrait sur quelques paramètres du stress oxydatif au niveau testiculaire

Groupes	Taux de MDA testiculaire (mM/L)	Taux de GSH testiculaire (mM/L)	Activité de la catalase testiculaire (mM)
Eau distillée	3,60 ± 0,20	62,36 ± 3,31	5,66 ± 0,04
Ethanol 25°	6,01 ± 0,03**	41,21 ± 5,31**	3,12 ± 0,02*
EtOH + BT 75 mg/kg	6,02 ± 0,04**	57,10 ± 2,64 [#]	4,87 ± 0,03 [#]
EtOH + 150 mg/kg	3,52 ± 0,30 [#]	63,65 ± 4,12 ^{##}	5,87 ± 0,23 [#]
EtOH + 300 mg/kg	3,71 ± 0,26 [#]	62,45 ± 2,23 ^{##}	5,34 ± 0,16 [#]

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 et **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 et ##p < 0,01 par rapport au témoin négatif (Ethanol).

III.4.6. Effets sur l'histoarchitecture testiculaire

Comme le montre la figure 23, la consommation d'éthanol 25° pendant 42 jours consécutifs a réduit la quantité de cellules germinales et de spermatozoïdes dans la lumière des tubules séminifères par rapport aux rats normaux. Les groupes recevant concomitamment l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à toutes les doses d'extrait testées et de l'éthanol ont présenté des tubules séminifères remplis de spermatozoïdes ; spermatogonies et la présence de comparés aux animaux du groupe témoin négatif.

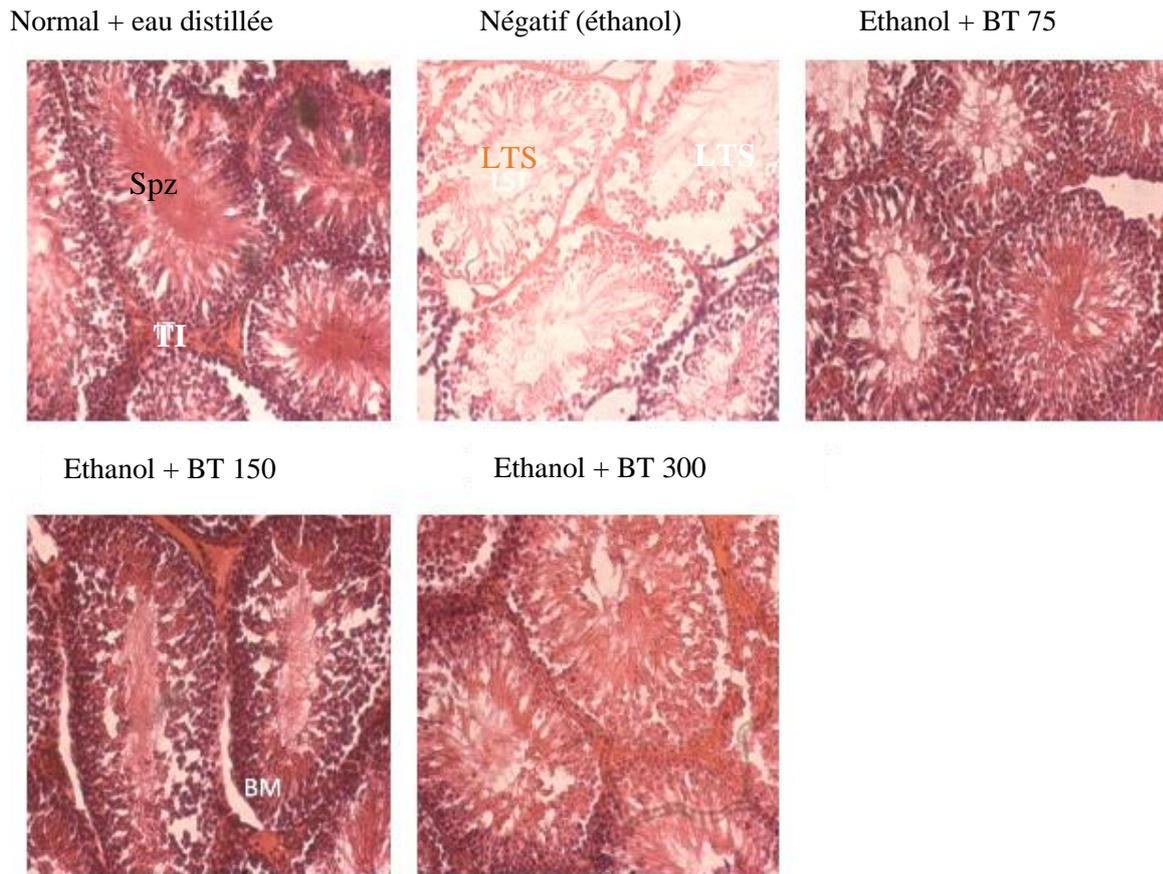


Figure 23: Effets de l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules des animaux soumis à une consommation excessive d'alcool. Grossissement X200; coloration Hématoxyline/Eosine. (MB) membrane basale (LTS) Lumière du tube séminifère, (TI) tissu interstitiel, (Spz) Spermatozoïdes.

III.5. Effets protecteurs de l'extrait contre une altération de la fonction reproductive engendrée par une exposition au manèbe chez les rats

III.5.1. Effets sur quelques paramètres copulatoires

Lorsque comparé aux rats normaux, les animaux traités uniquement au manèbe ont présenté une augmentation significative ($p < 0,01$) des temps de latence de premières monte, d'intromission et d'éjaculation. Ces animaux ont présenté une diminution significative ($p < 0,01$) des fréquences de monte, d'intromission, d'éjaculation et de léchage de pénis par rapport témoin normal (Tableau XX). Les effets néfastes sur le comportement sexuel induits par le manèbe à la dose de 0,5 mg/kg ont dans l'ensemble été prévenus par l'administration concomitante de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*. En effet, l'administration de l'extrait a significativement ($p < 0,5$) réduit le temps de latence de monte, d'intromission (à toutes les doses testées) et du temps de latence de l'éjaculation (150 et 300 mg/kg) comparés aux animaux normaux. Une augmentation des fréquences de monte (à toutes les doses testées),

d'intromission (300 mg/kg) et de la fréquence d'éjaculation (150 et 300 mg/kg) a également été observée. Les valeurs de ces derniers paramètres étaient plus proches de ceux des animaux normaux aux doses de 150 et 300 mg/kg. Une augmentation significative de léchage de pénis a été observée à toutes les doses par rapport aux contrôles négatifs. À la dose de 300 mg/kg, les valeurs de ce paramètre étaient supérieures à celles des animaux normaux.

Tableau XX: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques paramètres copulatoires des animaux exposés au manèbe durant 60 jours

Groupes	Latence de monte (Sec)	Nombre de monte	Latence d'intromission (Sec)	Nombre d'intromission	Latence d'éjaculation (Sec)	Nombre d'éjaculation	Nombre de penilelicking
Eau distillée	20,88 ± 2,24	58,68 ± 1,25	22,47 ± 2,74	46,79 ± 2,65	382,44 ± 67,90	2,02 ± 0,31	55,77 ± 1,79
Manèbe	32,82 ± 2,75**	29,23 ± 1,12**	38,22 ± 3,40**	27,64 ± 3,26**	987,65 ± 67,86**	0,62 ± 0,22**	26,33 ± 3,21**
Manèbe + BT 75 mg/kg	22,24 ± 3,66##	44,45 ± 3,49*#	26,63 ± 2,26#	35,23 ± 3,35*	959,41 ± 83,13**	1,25 ± 0,26	39,63 ± 1,68**#
Manèbe + BT 150 mg/kg	16,41 ± 0,67###	49,60 ± 4,81#	20,04 ± 1,96#	41,62 ± 2,57	306,83 ± 77,56###	2,04 ± 0,31##	44,85 ± 2,48##
Manèbe + 300 mg/kg	17,43 ± 1,55###	55,84 ± 3,55##	21,45 ± 1,26##	51,05 ± 3,84*###	362,65 ± 33,33###	3,24 ± 0,33*###	60,43 ± 1,79*###

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 et **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et ###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (Manèbe).

III.5.2. Effets sur la masse corporelle et la masse relative de quelques organes sexuels

Le tableau XXI montre une réduction significative ($p < 0,01$) de la masse relative des testicules chez les rats exposés uniquement au manèbe comparé aux animaux normaux. Le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à toutes les doses testées a contrecarré cette diminution de la masse relative des testicules induite par le manèbe. Par ailleurs, aux doses de 150 et de 300 mg/kg l'extrait a induit une augmentation significative de la masse relative de la prostate, des vésicules séminales et du pénis comparé aux témoins négatifs et animaux normaux.

Tableau XXI: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse corporelle et la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes sexuels des animaux exposés au manèbe durant 60 jours

Groupes	% Evolution pondérale	Testicules	Epididymes	Prostate	Vésicules séminales	Pénis
Eau distillée	37,40 ± 5,52	1,17 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,38 ± 0,04	0,11 ± 0,01
Manèbe	36,00 ± 5,87	1,03 ± 0,04**	0,17 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Manèbe + BT 75 mg/kg	38,72 ± 3,17	1,20 ± 0,01###	0,18 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,31 ± 0,02	0,12 ± 0,02
Manèbe + BT150mg/kg	39,66 ± 1,44	1,32 ± 0,02***###	0,19 ± 0,01	0,14 ± 0,02*#	0,51 ± 0,03***###	0,13 ± 0,01#
Manèbe + BT300mg/kg	37,34 ± 2,62	1,28, ± 0,03***###	0,19 ± 0,01	0,13 ± 0,02*#	0,55 ± 0,02***###	0,14 ± 0,02***###

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 et **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ###p < 0,01 et ####p < 0,001 par rapport au témoin négatif (manèbe).

III.5.3. Effets sur quelques paramètres spermatiques

Après 60 jours d'exposition, le manèbe a induit une réduction significative ($p < 0,01$) du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes par rapport aux animaux normaux (Figure 24). L'administration de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à toutes les doses testées a protégé les animaux contre la diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes épидидymaire induite par le manèbe.

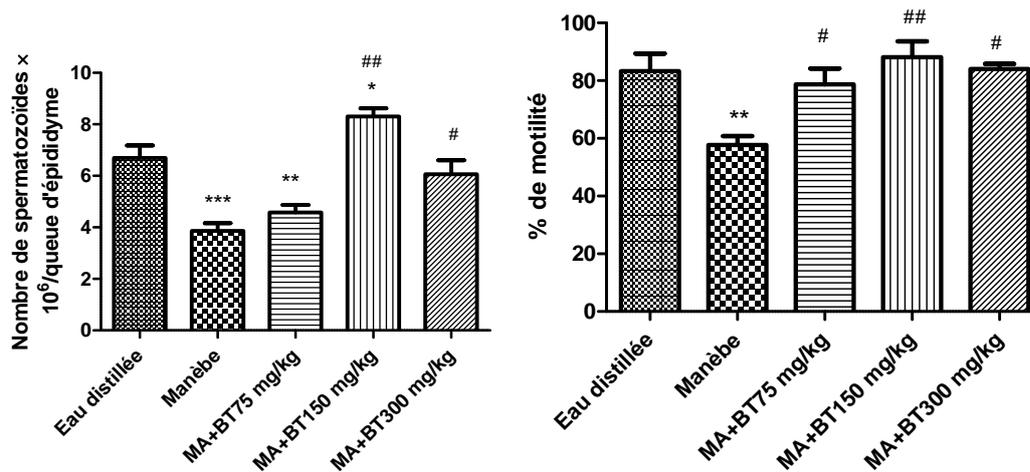


Figure 24: Effets de l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*, MA = Manèbe. **p < 0,01 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 et ##p < 0,01 par rapport au témoin négatif (manèbe).

III.5.4. Effets sur l'histomorphométrie des tubes séminifères

Les résultats contenus dans le tableau XXII montrent une diminution significative de la taille de l'épithélium séminifère de l'ordre de 27,45% chez les animaux traités uniquement au manèbe par rapport à ceux recevant de l'eau distillée. On observe également une diminution significative de la surface et du diamètre de l'épithélium séminifères de l'ordre de 38,69% et de 34,63% respectivement chez les animaux traités uniquement au manèbe par rapport à ceux recevant de l'eau distillée. Le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* aux doses de 150 et 300 mg/kg a protégé contre cette hypotrophie des tubes séminifères induite par le manèbe.

Tableau XXII: Effets de l'extrait sur quelques paramètres histomorphométriques des tubes séminifères des animaux exposés au manèbe

Groupes	Epaisseur (μm)	Surface (μm^2)	Diamètre (μm)
Eau distillée	0,51 \pm 0,04	190,17 \pm 13,87	1,79 \pm 0,20
Manèbe	0,37 \pm 0,02**	116,58 \pm 6,04**	1,17 \pm 0,11***
Manèbe + BT 75 mg/kg	0,42 \pm 0,03*	132,20 \pm 9,31*	1,30 \pm 0,30**
Manèbe + BT150mg/kg	0,66 \pm 0,03*##	195,32 \pm 8,72##	1,85 \pm 0,12###
Manèbe + BT300mg/kg	0,54 \pm 0,02##	187,28 \pm 10,43##	1,75 \pm 0,19###

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM, n = 6. BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 ; **p < 0,01 et ***p < 0,001 par rapport au témoin normal (eau distillée) ; #p < 0,05 ; ##p < 0,01 et ###p < 0,001 par rapport au témoin négatif (manèbe).

III.6. Effets curatifs de l'extrait chez des rats rendus hypofertiles par le manèbe

III.6.1. Effet du manèbe sur quelques paramètres de reproduction

III.6.1.1. Effets sur la masse relative de quelques organes sexuels

Le manèbe à la dose de 4 mg/kg administré pendant 18 jours consécutifs a induit une diminution significative de la masse relative des testicules ($p < 0,01$) et des épидидymes ($p < 0,05$) par rapport au témoin normal.

Tableau XXIII: Effets du manèbe sur la masse relative de quelques organes sexuels

Groupes	Testicules	Epидидymes	Prostate	Vésicules séminales
Eau distillée	$1,32 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,00$	$0,23 \pm 0,02$
Manèbe	$1,14 \pm 0,03^{**}$	$0,32 \pm 0,02^*$	$0,12 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,02$

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (eau distillée)

III.6.1.2. Effets du manèbe sur quelques paramètres spermatiques

Le manèbe a induit une diminution significative ($p < 0,05$) de la densité et de la mobilité des spermatozoïdes dans l'épididyme comparé aux animaux du groupe témoin normal.

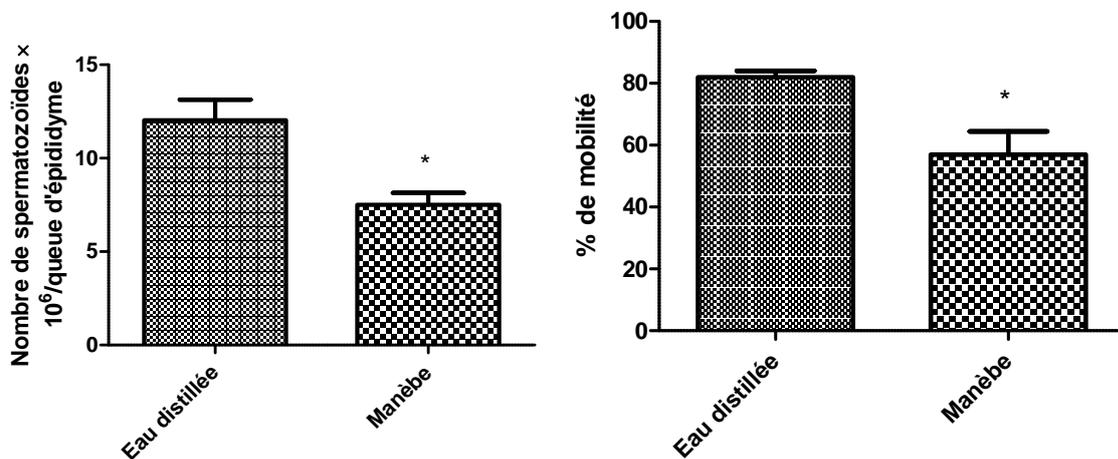


Figure 25: Effets du manèbe sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires.

Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. * $p < 0,05$ par rapport au témoin normal (eau distillée).

III.6.1.3. Effets du manèbe sur le taux de testostérone totale sérique

Une diminution significative ($p < 0,05$) du taux de testostérone totale sérique a été observée chez les animaux ayant reçu le manèbe pendant 18 jours à la dose quotidienne de 4 mg/kg par rapport au témoin normal.

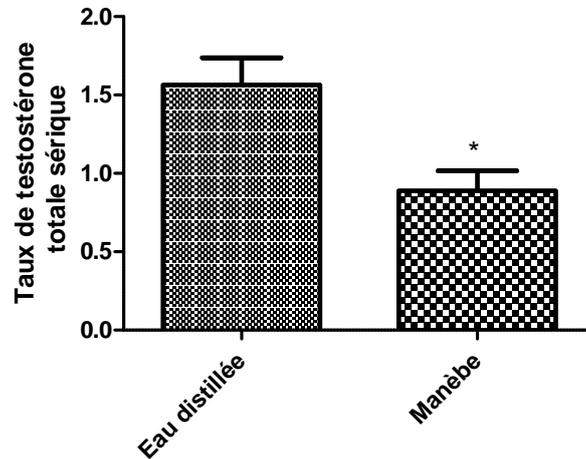


Figure 26: Effets du manèbe sur le taux de testostérone totale sérique. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. * $p < 0,05$ par rapport au témoin normal (eau distillée).

III.6.1.4. Effets du manèbe sur l'histoarchitecture testiculaire

Les observations des coupes histologiques des testicules des rats ayant reçu le manèbe pendant 18 jours montrent que les tubes séminifères ont une diminution des cellules spermatiques, et les lumières de ces tubules sont relativement vides (Figure 27).

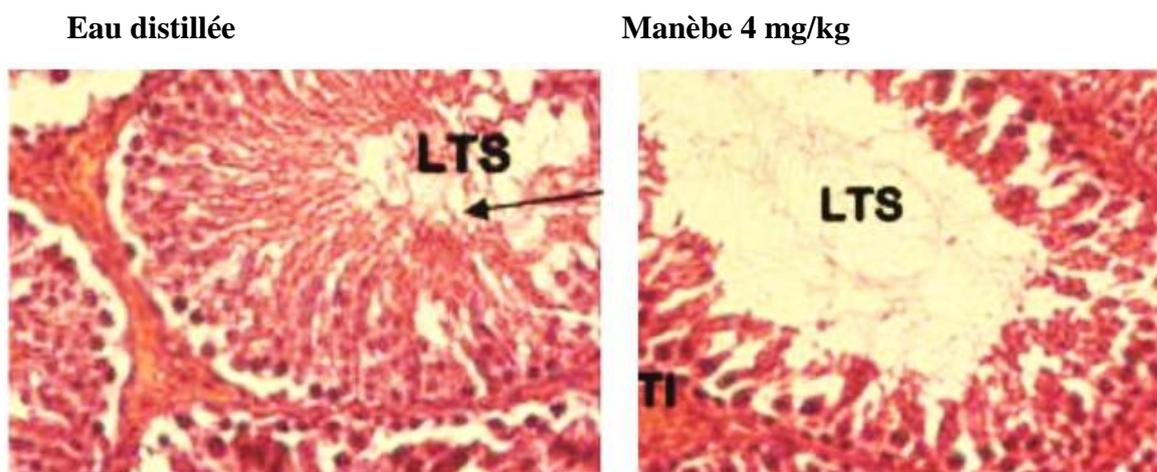


Figure 27: Effets du manèbe sur l'histologie des testicules. Grossissement X400; coloration Hématoxyline/Eosine. (LTS) Lumière du tube séminifère, (TI) tissu interstitiel (Spz).

III.6.2. Effets du traitement à l'extrait aqueux de *B.toxisperma* chez des rats rendus hypofertiles par le manèbe

III.6.2.1. Effets sur la masse relative de quelques organes sexuels

Après 60 jours de traitement, les animaux exposés au manèbe et ayant reçu l'extrait de *B. toxisperma* pendant le traitement ont présenté une augmentation significative ($p < 0,01$) de la masse relative des testicules par rapport au témoin négatif. Les animaux normaux et traités à l'extrait (témoin pharmacologique) ont présenté une diminution significative de la masse relative des testicules, des vésicules séminales, des épидидymes et de la prostate par rapport au témoin normal.

Tableau XXIV: Effets du traitement à l'extrait de *B. toxisperma* sur la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes sexuels

Groupes	Testicules	Epididymes	Prostate	Vésicules séminales
N + eau distillée (témoin normal)	1,25 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,11 ± 0,00	0,23 ± 0,02
H + eau distillée (témoin négatif)	1,13 ± 0,01*	0,39 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,26 ± 0,02
H + BT 150 mg/kg	1,33 ± 0,03 ^{##}	0,41 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,28 ± 0,02
N + BT 150 mg/kg	1,07 ± 0,03***	0,31 ± 0,01**	0,08 ± 0,00 [#]	0,23 ± 0,02*** ^{##}

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. N = normofertiles ; H = hypofertiles ; BT = *Baillonella toxisperma*. *p < 0,05 ; **p < 0,01 et ***p < 0,001 par rapport au témoin normal (N + eau distillée) ; #p < 0,05 et ##p < 0,01 par rapport au témoin négatif.

III.6.2.2. Effets du traitement à l'extrait sur quelques paramètres du spermogramme

La figure 28 représente les effets du traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes dans l'épididyme. Une diminution significative ($p < 0,05$) du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes a été observée chez les animaux préalablement soumis au manèbe et ayant reçu de l'eau distillée pendant le traitement comparé aux animaux du groupe témoin normal. Ceux soumis au manèbe et ayant reçu de l'extrait pendant le traitement ont présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes épидидymaire par rapport au témoin négatif. Les animaux normaux et traités à l'extrait ont présenté une diminution significative ($p < 0,01$) des paramètres suscités par rapport au témoin normal.

Les animaux exposés au manèbe et ayant reçu l'extrait de *B. toxisperma* pendant le traitement ont présenté une augmentation significative ($p < 0,05$) du pourcentage des spermatozoïdes mobiles ainsi que les pourcentages des spermatozoïdes vivants et des formes

normales par rapport au témoin négatif. Les animaux normaux et traités à l'extrait (témoin pharmacologique) ont présenté une diminution significative ($p < 0,05$) des paramètres suscités par rapport au témoin normal (Tableau XXV).

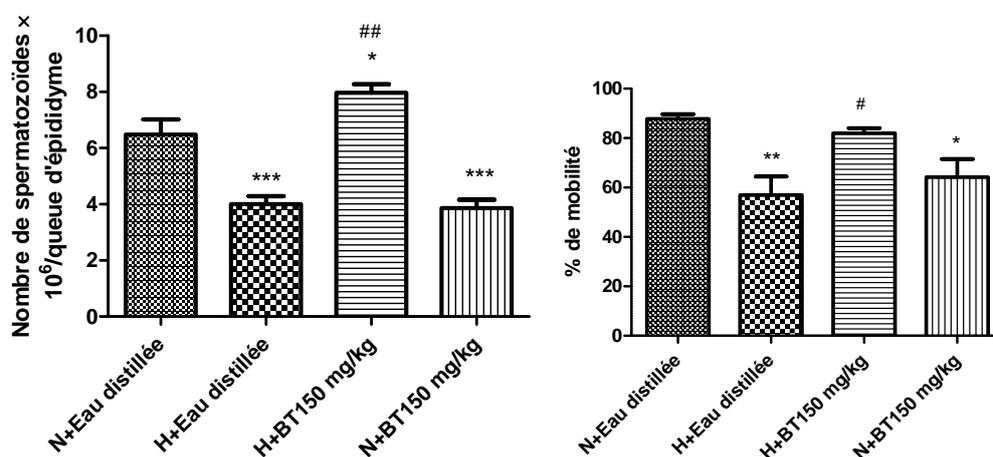


Figure 28: Effets du traitement à l'extrait sur la densité et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. N = normofertiles ; H = hypofertiles ; BT = *Baillonella toxisperma*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ par rapport au témoin normal (N + eau distillée) ; # $p < 0,05$ et ## $p < 0,01$ par rapport au témoin négatif (H + eau distillée).

Tableau XXV: Effets du traitement à l'extrait de *B. toxisperma* sur quelques paramètres du spermogramme

Groupes	Concentration des spz (10 ⁶ /ml)	Mobilité totale (Pr+NPr, %)	Vitalité (spz vivants, %)	Morphologie (formes normales, %)
N + eau distillée (témoin normal)	15,25 \pm 1,8	87,50 \pm 0,00	56,11 \pm 5,12	89,23 \pm 5,62
H + eau distillée (témoin négatif)	7,32 \pm 2,9*	42,12 \pm 5,01*	24 \pm 3,61*	72,67 \pm 2,42
H + BT 150 mg/kg	14,56 \pm 2,03 [#]	75,34 \pm 3,32 [#]	48,87 \pm 1,02 [#]	92,28 \pm 3,22 [#]
N + BT 150 mg/kg	5,23 \pm 1,13**	35,41 \pm 3,71**	29,32 \pm 4,45*	45,12 \pm 5,92*

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. N = normofertiles ; H = hypofertiles ; BT = *Baillonella toxisperma*. Pr = progressive ; NPr = Non progressive ; spz = Spermatozoïde * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (N + eau distillée) ; # $p < 0,05$ par rapport au témoin négatif.

III.6.2.3. Effets du traitement à l'extrait sur le taux de testostérone totale sérique

Tout comme chez les animaux soumis au manèbe et ayant reçu de l'eau distillée pendant le traitement (témoin négatif), une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de testostérone totale sérique a été observée chez les animaux normaux traités à l'extrait de *B. toxisperma* (témoin pharmacologique) par rapport au témoin normal. Chez les animaux exposés au manèbe et traités à l'extrait, une augmentation significative ($p < 0,05$) de ce paramètre a été notée par rapport au témoin négatif (Figure 29).

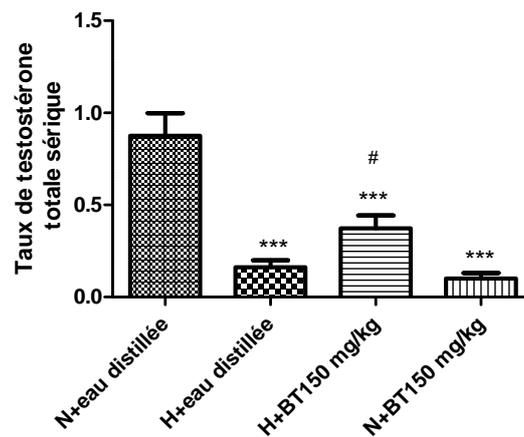


Figure 29: Effets du traitement à l'extrait sur le taux de testostérone totale sérique. Les colonnes représentent les moyennes \pm ESM, $n = 6$. N = normofertiles; H = hypofertiles; BT = *Baillonella toxisperma*. *** $p < 0,001$ par rapport au témoin normal (N + eau distillée) ; # $p < 0,05$ par rapport au témoin négatif (H + eau distillée).

III.6.2.4. Effets du traitement à l'extrait de *B. toxisperma* sur l'histoarchitecture testiculaire

La figure 30 présente les microphotographies des coupes histologiques des tubules séminifères des rats traités pendant 2 mois à l'extrait aqueux de *B. toxisperma*. Les animaux exposés au manèbe et traités à l'extrait présentent des tubules avec la présence des cellules spermatiques. La lumière des tubes séminifères est remplie des spermatozoïdes. Les spermatogonies sont présentes le long des membranes basales, et leurs noyaux sont ronds. Les spermatocytes primaires, les spermatogonies ainsi que les tissus interstitiels semblent également normaux. Cependant les tubes séminifères du groupe soumis au manèbe et n'ayant reçu aucun traitement tout comme celles des animaux normaux et traité à l'extrait de *B. toxisperma* ont montré une diminution marquée des cellules spermatiques, et les lumières des tubules étaient vides.

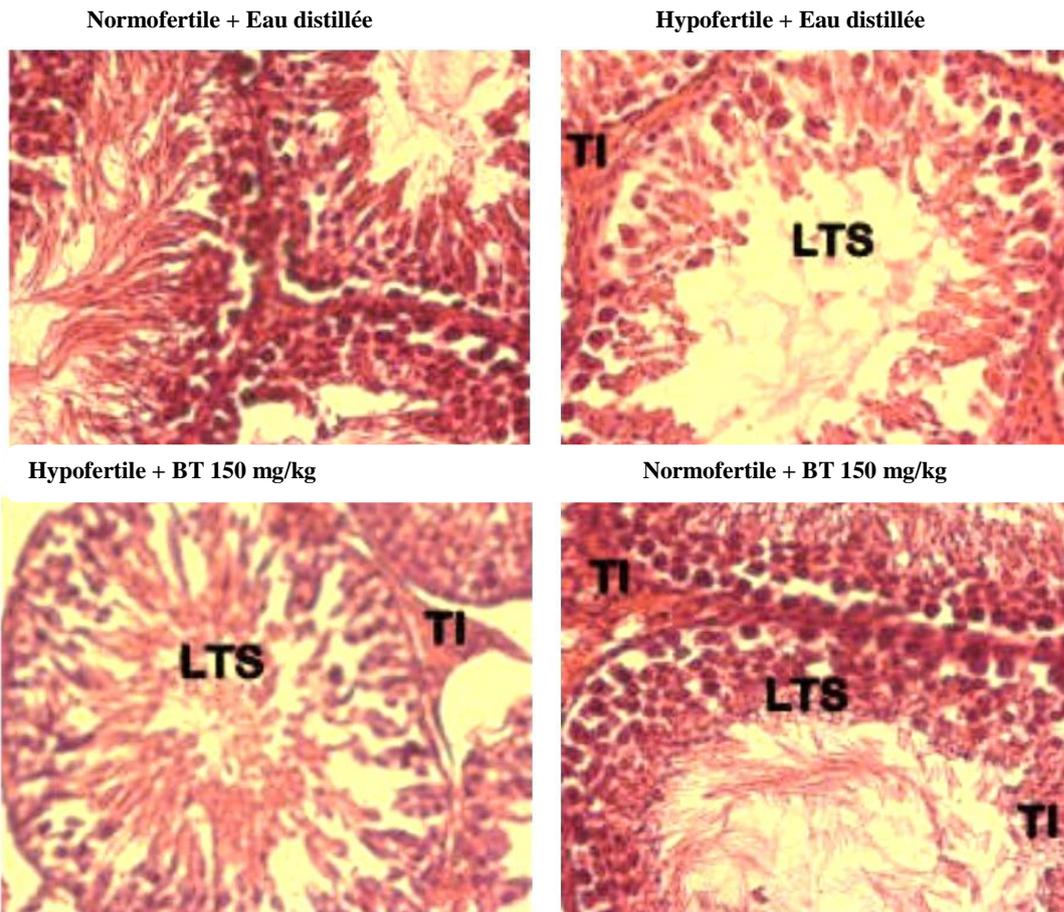


Figure 30: Effets du traitement à l'extrait sur l'histoarchitecture des testicules. Grossissement X400; coloration Hématoxyline/Eosine. (LTS) Lumière du tube séminifère, (TI) tissu interstitiel.

III.6.2.5. Effets du traitement à l'extrait de *B. toxisperma* sur quelques paramètres de fertilité

Le tableau XXVI représente les effets du traitement à l'extrait de *B. toxisperma* sur quelques paramètres de fertilité. Chez les femelles croisées avec les mâles préalablement soumis au manèbe et n'ayant reçu aucun traitement, une diminution du pourcentage de gestation 52,22%, de l'indice de libido 78,05%, du pourcentage de fertilité 56,25% et du nombre de petits 68,75% a été observée par rapport aux animaux normaux. Chez les femelles croisées avec les animaux normaux et traités à l'extrait, des baisses ont été observées respectivement sur le taux de gestation 55,55%, l'indice de libido 50,00%, le pourcentage de fertilité 68,75% et le nombre de petits 71,87% comparé au témoin normal. Par contre, chez les femelles croisées avec des mâles soumis au manèbe et traités à l'extrait, des augmentations de l'ordre de 49,41% ; 76,40% ; 55,12% et 64,28% ont été notée respectivement sur le

pourcentage de gestation, l'indice de libido, pourcentage de fertilité et le nombre de petits par rapport au témoin négatif.

Tableau XXVI: Effets du traitement à l'extrait sur quelques paramètres de fertilité

Groupes	% de gestation	Indice de libido	% de fertilité	Nombre de petits/groupe
N + eau distillée	90	70	80	32
H + eau distillée	43	15,34	35	10
H + BT 150 mg/kg	85	65	78	28
N + BT 150 mg/kg	40	35	25	9

N = normofertiles; H = hypofertiles; BT = *Baillonella toxisperma*

III.7. Profil toxicologique de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*

III.7.1. Etude de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*

III.7.1.1. Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur l'aspect général, le comportement et la mortalité des animaux

D'une manière générale, les animaux n'ont montré aucun changement dans leur apparence physique et dans leur locomotion durant la période d'observation. Aucune manifestation de convulsions, salivation et diarrhée liée au traitement n'a été observée. Aucune autre modification liée au traitement, ni aucune morbidité et/ou mortalité, n'a été observée chez les animaux pendant les 14 jours post-administration de l'extrait de *B. toxisperma* à la dose 2000 mg/kg PC. La DL₅₀ a été estimée supérieure à 2000 mg/kg selon les recommandations de l'OCDE.

Tableau XXVII: Observations en essai aiguë de toxicité orale de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*

Groupes	0 min - 30 min	30 min – 2 h	2 h – 24 h	24 h – 14j
Témoins (eau distillée)	Toilettage puis regroupement des animaux	Animaux moins actifs	Accentuation de l'activité	Rythme de vie normale
BT 2000 mg/kg	Toilettage puis regroupement des animaux	Toilettage des animaux puis regroupement (moins actifs)	Accentuation de l'activité	Rythme de vie normale

III.7.1.2. Effet de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse corporelle

La figure 31 présente l'évolution pondérale des animaux d'essai pendant la période de 14 jours d'observation. L'analyse de ce graphe ne montre aucune différence significative de la masse corporelle chez les animaux traités comparés aux témoins.

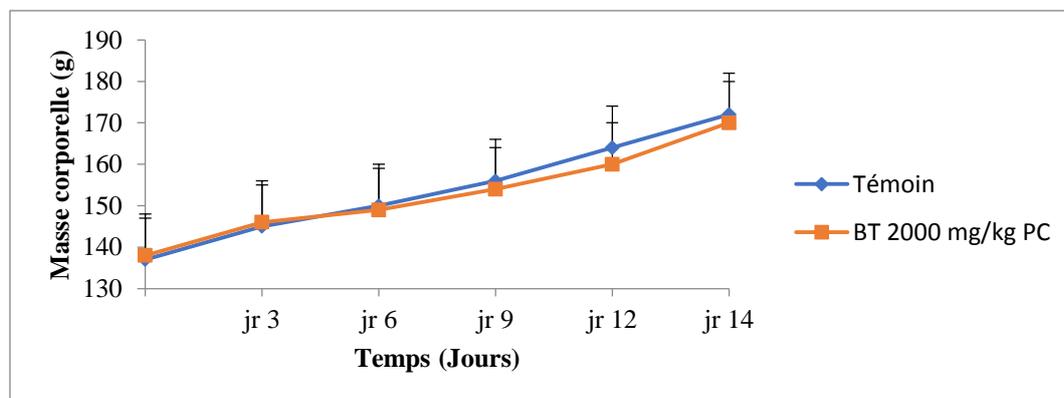


Figure 31: Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse corporelle en essai de toxicité orale aiguë. Les points représentent les poids moyens \pm ESM (n = 3). Témoin = animaux recevant de l'eau distillée BT = animaux traités à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 2000 mg/kg PC. Aucune de différences significatives.

III.7.1.3. Effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur quelques organes d'intérêt en toxicologie

L'autopsie des animaux traités à l'extrait n'a révélé aucune anomalie liée au traitement sur la macroarchitecture des organes. Les résultats présentés dans le tableau XXVIII montrent que comparée aux animaux témoins, l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 2000 mg/kg PC n'a induit aucune différence significative sur le poids relatif des organes.

Tableau XXVIII: Effet de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes au cours de l'étude de toxicité orale aiguë.

Organes	Témoin	BT 2000
Foie	3,07 \pm 0,44	3,12 \pm 0,42
Reins	0,68 \pm 0,00	0,68 \pm 0,04
Poumons	0,98 \pm 0,03	0,99 \pm 0,02
Rate	0,44 \pm 0,09	0,45 \pm 0,06
Glandes surrénales	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00
Estomac	0,98 \pm 0,05	0,97 \pm 0,03

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM (n = 3); Témoin = animaux recevant de l'eau distillée BT = animaux traités à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 2000 mg/kg PC. Aucune de différences significatives.

III.7.2. Toxicité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* en administration répétée à la dose thérapeutique de 150 mg/kg pendant 60 jours

III.7.2.1. Effets de l'extrait sur la masse relative de quelques organes d'intérêt en toxicologie

L'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 150 mg/kg n'a induit aucune variation significative sur la masse relative du foie, des poumons, des reins et des surrénales comparés aux animaux normaux.

Tableau XXIX: Effets de l'extrait sur la masse relative (exprimée en pourcentage de la masse corporelle) de quelques organes de toxicité

Groupes	Foie	Poumons	Reins	Surrénales
Eau distillée	3,44 ± 0,01	0,69 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,02 ± 0,0
BT 150 mg/kg	3,33 ± 0,01	0,70 ± 0,05	0,7 ± 0,01	0,02 ± 0,0

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6.

III.7.2.2. Effets de l'extrait sur quelques paramètres hématologiques

Le tableau XXX représente les effets de l'extrait sur les paramètres hématologiques évalués. L'extrait a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de globules blancs et du pourcentage des lymphocytes comparé au témoin normal.

Tableau XXX: Effets de l'extrait sur quelques paramètres hématologiques

Paramètres	Eau distillée	BT 150 mg/kg
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)	7,53 ± 0,94	9,30 ± 0,65*
Lymphocytes (%)	53,52 ± 2,38	67,04 ± 3,14*
Monocytes (%)	15,91 ± 1,43	13,81 ± 0,43
Granulocytes (%)	30,56 ± 7,58	19,22 ± 3,45
Globules rouges ($10^6/\mu\text{L}$)	9,13 ± 0,47	8,55 ± 0,78
Hématocrite (%)	47,20 ± 2,57	42,56 ± 3,05
Volume corpusculaire moyen (fL)	52,09 ± 1,33	50,61 ± 1,73
Plaquettes sanguines ($10^3/\mu\text{L}$)	677,00 ± 14,00	674,00 ± 19,00
Hémoglobine corpusculaire moyen (pg)	15,72 ± 0,63	16,14 ± 0,56
Concentration d'hémoglobine (g/dL)	14,15 ± 0,35	13,53 ± 0,92
CCMH (g/dL)	30,30 ± 1,46	31,83 ± 0,95

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6. * $p < 0,05$ par rapport au témoin normal (eau distillée)

III.7.2.3. Effets de l'extrait sur quelques paramètres biochimiques

L'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 150 mg/kg n'a induit aucune variation significative des taux sériques de triglycérides, cholestérol total, créatinine, ALAT, ASAT et protéines totales par rapport au témoin normal.

Tableau XXXI: Effets de l'extrait de *B. toxisperma* sur quelques paramètres biochimiques

Paramètres	Eau distillée	BT 150 mg/kg
Triglycéride (mg/dL)	132,02 ±4,60	133,83 ±7,01
Cholestérol total (mg/dL)	199,46 ±3,76	202,04 ±8,56
Créatinine (mg/dL)	1,43 ±0,13	1,25 ±0,18
ALAT (U/L)	3,43 ±0,46	4,24 ±0,76
ASAT (U/L)	2,94 ±0,30	3,45 ±0,44
Protéine totale (mg/dL)	47,72 ±4,91	42,44 ±5,22

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM, n = 6.

III.7.2.4. Effets de l'extrait sur l'histoarchitecture de quelques organes d'intérêt en toxicologie

La figure 32 présente les microphotographies des coupes du foie, des poumons et des reins des animaux normaux ayant reçu de l'eau distillée (A) et celles des animaux qui recevaient de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 150 mg/kg pendant 60 jours (B). Lorsque comparé au témoin normal (A), l'extrait n'a induit aucune altération sur l'histoarchitecture de ces différents organes.

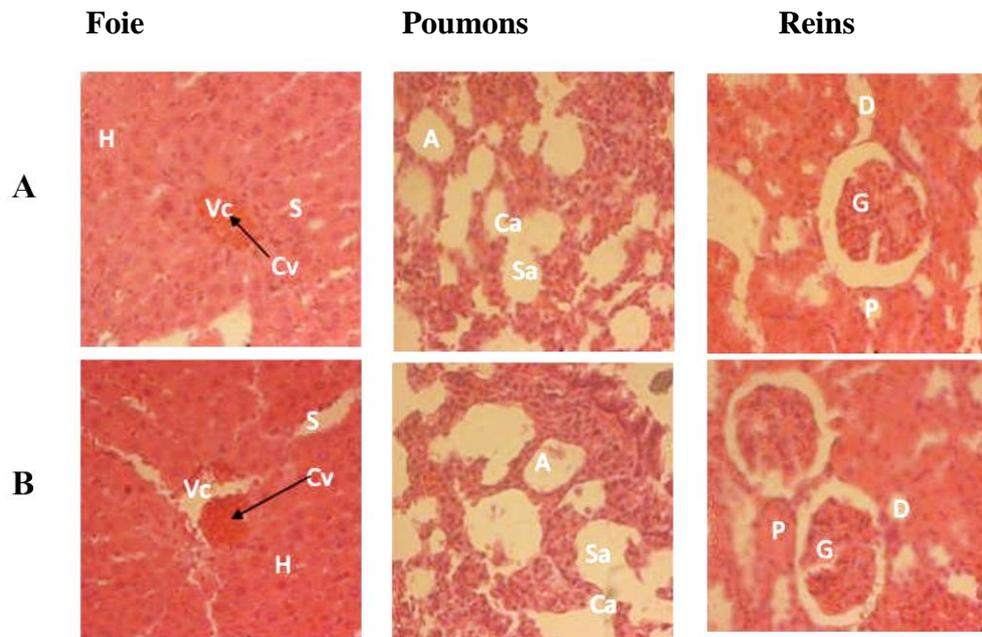
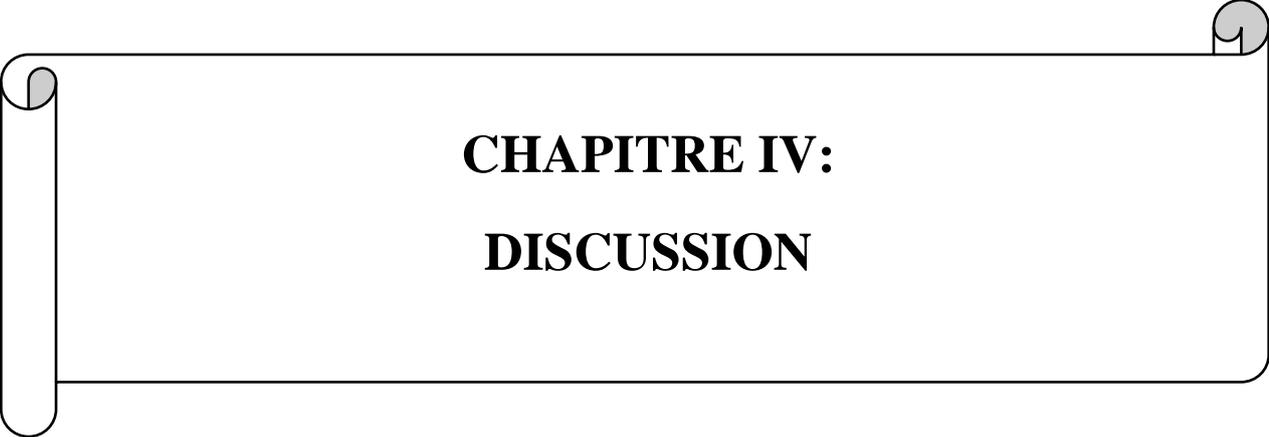


Figure 32: Microphotographies (HE×400) de la coupe transversale du foie, du poumon et du rein obtenu après 60 jours de traitement des animaux avec l'extrait aqueux de *B. toxisperma*.

H : Hépatocyte ; **S** : Sinusoïdes ; **Vc** : Veine centrolobulaire ; **Cv** : Congestion vasculaire **A** : Alvéole ; **Sa** : Sac alvéolaire ; **Ca** : Canal alvéolaire ; **G** : Glomérule ; **P** : Tube contourné proximal ; **D** : Tube contourné distal



CHAPITRE IV:
DISCUSSION

Différents facteurs (style de vie, perturbateurs endocrinien, stress etc...) sont impliqués dans la détérioration de la fertilité masculine. Ces facteurs affectent plusieurs aspects de la fertilité et conduisent très souvent à une infertilité. Les résultats de la présente étude démontrent la capacité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma*, une plante médicinale camerounaise, à booster la fertilité des sujets normaux et à corriger les dysfonctions reproductives chez des animaux exposés au stress, à l'alcool éthylique et à un pesticide agricole (manèbe).

L'activité copulatoire du rat normal testé avec une femelle en œstrus (femelle réceptive) consiste en des séries répétées de montes et d'intromissions culminant avec l'éjaculation (Slob *et al.*, 1997). Les fréquences de monte et d'intromission sont des indices de la vigueur sexuelle, de la libido et de la puissance (Tajuddin *et al.*, 2004; Mbongue *et al.*, 2003). L'administration orale de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* chez les rats a augmenté significativement la fréquence de montes, d'intromissions et l'index d'érection, aussi bien chez les rats normaux que chez ceux soumis au stress, à l'alcool et au manèbe comparés aux témoins normaux et négatifs. Ces résultats suggèrent un effet stimulant sexuel de *B. toxisperma* aussi bien chez le rat normal que chez les animaux présentant une dysfonction sexuelle. La baisse du temps de latence de monte et d'intromission sont des indicateurs d'une action aphrodisiaque (Yakubu *et al.*, 2007). La diminution significative de ces paramètres observée chez les rats traités à l'extrait de *B. toxisperma* dans tous les modèles utilisés aux doses de 150 et 300 mg/kg suggère une stimulation de la motivation et de l'excitation sexuelle. Les temps de latences de monte et d'intromission réduits, indiquent une réduction du temps d'hésitation des rats mâles vis-à-vis des femelles réceptives. Cet effet pro-sexuel de *B. toxisperma* pourrait être attribué à l'existence des composés phénoliques révélés par des tests de criblages phytochimiques réalisés dans ce travail. En effet, les flavonoïdes doués de propriétés antioxydantes et rapportés comme élévateur du taux d'androgènes chez les animaux (Esimone *et al.*, 2006), peuvent aussi contribuer à l'effet aphrodisiaque observé. L'extrait de *B. toxisperma* agirait favorablement sur un afflux sanguin vers les structures érectiles et éjaculatoires péniennes. De cette manière, les effets de cet extrait s'assimileraient à ceux du citrate de sildénafil. En effet, le citrate de sildénafil communément appelé Viagra, utilisée comme standard dans cette étude, est un aphrodisiaque non androgénique qui agit directement au niveau des tissus caverneux péniens. Il agit en inhibant l'activité des phosphodiesterase-5, ce qui va prolonger l'action du GMPc, second messenger impliqué dans le mécanisme de l'érection, et entrainer la relaxation du muscle pénien (Haroldo *et al.*, 2009).

Ce mécanisme a aussi été décrit par Gayatri *et al.* (2010) lors des études sur l'extrait de *Abutilon indicum* et de *Withania somnifera* reconnus pour leur propriété aphrodisiaque.

Les modifications de la masse corporelle et de la masse relative des organes sont bien connues comme des indicateurs de l'état de santé des animaux tout au long d'une expérience. Dans notre étude, le stress d'immobilisation répété, la consommation excessive d'alcool, et l'administration du manèbe ont entraîné de manière générale une diminution significative de la masse corporelle et de la masse relative des organes reproducteurs, comme indiqué dans la littérature (Retana-Márquez *et al.*, 2014; Bitgul *et al.*, 2013 ; Kojima *et al.*, 1992). Il est intéressant de noter que dans tous ces modèles utilisés, le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* (à toutes les doses testées) a protégé les animaux contre la perte de la masse relative des testicules, des vésicules séminales, de l'épididyme et du pénis. Il est bien établi que le développement et la croissance de l'appareil reproducteur masculin (pénis, testicule et organes sexuels accessoires) dépendent des androgènes et que la testostérone est nécessaire pour maintenir leur fonctionnalité. Par conséquent, l'augmentation de la masse relative de ces organes observés chez les animaux traités à l'extrait indique les propriétés androgéniques de *B. toxisperma*.

Au-delà du comportement sexuel et de la masse relative des organes sexuels, l'évaluation de la fertilité/infertilité masculine met l'accent sur la qualité du sperme (nombre, défauts de motilité et morphologiques) et l'examen histopathologique des testicules (zone de l'épithélium séminifère, aspects des cellules germinales et ampleur de spermatogenèse). La numération des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme est positivement liée au degré de spermatogenèse. Nos résultats ont montré que le traitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a contrecarré les diminutions induites par le stress d'immobilisation, la consommation excessive d'alcool et la consommation chronique du manèbe sur le nombre et la mobilité des spermatozoïdes épидидymaire. L'examen histopathologique des testicules des rats traités avec l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a révélé une augmentation de la spermatogenèse, mise en évidence par une augmentation du nombre de spermatogonies, de spermatocytes. En d'autres termes, l'abondance des spermatozoïdes dans les tubes séminifères des animaux traités avec l'extrait aqueux de *B. toxisperma* par rapport aux témoins non traités indique clairement une spermatogenèse accrue.

L'éthanol a induit une réduction significative de la teneur en fructose des vésicules séminales. Ce déclin pourrait être dû à une diminution de l'activité sécrétoire des vésicules séminales. L'éthanol peut antagoniser les androgènes dans les vésicules séminales et réduire

ainsi la production de fructose. Le cotraitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a neutralisé ces effets néfastes. En effet, il a été démontré que les substances à activité androgéniques augmentent le taux de fructose vésiculaire (Kamtchouing *et al.*, 2000). Ce résultat confirme en outre notre hypothèse selon laquelle les constituants présents dans l'extrait aqueux de *B. toxisperma* augmenteraient les niveaux d'androgènes chez les rats mâles. Chez les animaux traités uniquement à l'éthanol, une diminution du taux de cholestérol testiculaire essentiel à la spermatogenèse a été observée. Cela concorde avec les études de Muthusami et Chinnaswamy (2005) selon lesquelles l'alcool a un effet toxique direct sur les testicules, ce qui entraîne une diminution de l'activité des cellules de Leydig et une diminution de la fonction des tubes séminifères. Le cotraitement à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a protégé contre cette diminution du taux de cholestérol testiculaire. Cet effet suggère que l'extrait de plante peut également stimuler la fonction stéroïdienne testiculaire, étant donné que le cholestérol est le précurseur de la synthèse des hormones stéroïdiennes (Watcho *et al.*, 2004).

L'étude menée par Saleh et Agarwal (2002) suggère une augmentation des radicaux libres ou des espèces réactives de l'oxygène et de la peroxydation des lipides pour expliquer le mécanisme par lequel l'alcool provoque une toxicité testiculaire. L'augmentation significative du taux de MDA dans le groupe traité uniquement à l'éthanol dans cette étude corrobore ces résultats. Le cotraitement avec l'extrait a protégé les animaux contre l'augmentation des espèces réactives d'oxygène, car les groupes d'animaux traités avec l'extrait présentent une diminution significative du taux de MDA et une augmentation significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase. L'extrait aqueux de *B. toxisperma* serait donc doté des propriétés antioxydantes au niveau des testicules, cette activité antioxydante serait l'un des mécanismes permettant de protéger les cellules testiculaires contre les dommages et la mort cellulaire (Mi *et al.*, 2007).

La dose du manèbe supposée être journalièrement tolérable (0,5 mg/kg chez le rat) a induit des effets néfastes sur la fonction de reproduction chez le rat au bout de 60 jours d'administration, notamment une baisse des performances et motivation sexuelles, une baisse des paramètres spermatiques évalués et une diminution de l'activité testiculaire. En essai curatif, tel que mentionné dans la littérature (Manfo *et al.*, 2011), l'administration du manèbe à la dose de 4 mg/kg pendant 18 jours a induit une diminution significative de la sécrétion de testostérone totale sérique. La diminution du poids testiculaire chez les animaux traités au manèbe pourrait s'expliquer par l'effet sur les tissus provoquant des lésions cellulaires, car les testicules sont des organes cibles aux pesticides (Kojima *et al.*, 1992). Egalement, la

diminution de la sécrétion de testostérone et du nombre de spermatozoïdes au niveau des tubes séminifères est due à l'effet perturbateur du fongicide, car ses métabolites sont capables de se fixer au niveau des récepteurs à LH qui se situent au niveau de la membrane des cellules de Leydig. Ce qui entraîne un déséquilibre dans la production de l'hormone sexuelle (testostérone) qui exerce son action sur les cellules germinales (début de la division cellulaire et la spermatogenèse) (Imperato-McGinley *et al.*, 1992 ; Gray *et al.*, 1989). On peut aussi expliquer ces résultats par l'effet du manèbe sur les fonctions de la cellule de Sertoli qui joue un rôle fondamental dans la nutrition des spermatozoïdes et la transformation des spermatides en spermatozoïdes. Le manèbe provoque ainsi une altération de la structure du tubulin, et pour cela, la spermatogenèse s'arrête au stade des spermatides (Nakai *et al.*, 2002 ; Nakai et Hess, 1997). La diminution de la mobilité des spermatozoïdes peut être due à l'augmentation des malformations morphologiques au niveau de la pièce intermédiaire (type B) et le flagelle (Type C), ces deux dernières zones sont les parties qui assurent le mouvement et la vitesse du spermatozoïde (indicateurs de fertilité). La testostérone étant l'hormone du désir sexuel, la diminution de sa sécrétion explique également la baisse des performances et motivation sexuelle observée chez les animaux traités au manèbe. Le cotraitement de l'extrait avec le manèbe a contrecarré ces effets néfastes sur le comportement sexuel des rats, ce résultat renforce l'hypothèse selon laquelle l'extrait aqueux de *B. toxisperma* serait doué de propriétés aphrodisiaque tel que décrit dans les modèles de stress et d'alcool. Dans l'étude curative, les animaux rendus hypofertiles par le manèbe et laissés sans traitement pendant 60 jours sont restés hypofertiles. Ceci suggère une irréversibilité des effets toxiques du manèbe sur la fonction de reproduction chez le sujet mâle. Toutefois, une amélioration des paramètres de fertilité (nombre et mobilité des spermatozoïdes, index de fertilité, pourcentage de gestation, indice de libido...) a été observée chez les animaux rendus hypofertiles mais traités à l'extrait pendant 60 jours avec rétablissement des taux sériques de testostérone. L'amélioration de la fertilité par l'extrait aqueux de *B. toxisperma* peut aussi être liée à sa capacité à stimuler la production d'œstradiol (Nantia *et al.*, 2011), qui protège les cellules testiculaires contre les espèces réactives d'oxygène (ROS) et améliore la motilité des spermatozoïdes (Carreau et Hess, 2010 ; Hamden *et al.*, 2008). Au vue des résultats obtenus sur la composition phytochimique de l'extrait, cet effet protecteur/curatif contre la toxicité induite par le manèbe peut être aussi due à la présence des composés à activité antioxydante. Un exemple de produits naturels ayant un effet protecteur sur la toxicité testiculaire d'origine chimique inclut les isoflavones de soja, l'ester phénythylique de l'acide caféique et le Panax ginseng (Abdallah *et al.*, 2012; Jang *et al.*, 2011; Yousef *et al.*, 2003). Une diminution de la sécrétion de

testostérone avec baisse des paramètres de fertilité évalués a été observée chez les rats normaux traités à l'extrait aqueux de *B. toxisperma* à la dose de 150 mg/kg pendant 60 jours, ce résultat laisse penser que l'extrait aurait perturbé l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire chez les rats normaux. Dans ce cas, les mécanismes d'action restent encore à élucider.

L'objectif primaire de ce travail de recherche était d'apporter des bases scientifiques à l'utilisation empirique de *B. toxisperma*. Cependant ayant obtenu des résultats qui justifient son utilisation traditionnelle, nous avons poussé notre contribution en établissant un profil toxicologique. Les données obtenues après un essai de toxicité orale aiguë chez l'animal peuvent être utilisées pour satisfaire à des besoins de classification du danger par le biais de la DL₅₀, et pour l'évaluation des risques pour la santé humaine et/ou pour l'environnement (OECD, 2001a). C'est sur cette base qu'une évaluation de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* a été réalisée chez le rat Wistar. Il en ressort de cette étude que les 2 premières heures suivant administration de l'extrait à la dose unique de 2000 mg/kg PC, les animaux ont présenté une baisse de l'activité locomotrice qui pourrait s'expliquer par un effet sédatif de cet extrait. Cette activité locomotrice a été retrouvée durant les heures suivantes. D'une manière générale, les animaux n'ont montré aucun changement dans l'apparence physique et dans la somatomotricité durant la période d'observation. Aucune manifestation de convulsions, salivation et diarrhée liée au traitement n'a été observée. Cet extrait n'a induit aucune morbidité et/ou mortalité chez les animaux sur la période de 14 jours suivant l'administration orale d'une dose unique à la dose 2000 mg/kg PC. Comparé au témoin recevant de l'eau distillée, l'évolution de la masse corporelle et de la masse relative des organes étudiés n'ont présenté aucune différence significative. L'autopsie des animaux d'essai n'a révélé aucune anomalie liée au traitement. Ainsi, la DL₅₀ orale a été estimée supérieure à 5000 mg/kg PC comme suggéré par l'OCDE (2001a), ce qui permet de classer cet extrait dans la catégorie 5 du système de classification globalement harmonisé (SGH) des substances chimiques, catégorie caractérisant les substances faiblement toxiques (OCDE, 2001b). Ces résultats suggèrent donc que l'extrait aqueux de *B. toxisperma* présente de très faibles risques pour la santé en administration orale unique. Lors de l'administration orale répétée de l'extrait à la dose thérapeutique de 150 mg/kg pendant 60 jours, il a été observé une augmentation du taux de globules blancs couplé à une hausse du pourcentage de lymphocytes, ce résultat pourrait s'expliquer par la présence dans *B. toxisperma* des substances immunostimulantes capables d'induire une augmentation de lymphocytes. En effet, d'après Aboughe (2010), les polysaccharides sont les constituants immunostimulants les plus efficaces. Ceux isolés de

Laportea aestuans possèdent une activité immunostimulante sur les lymphocytes B (Aboughe, 2010). L'analyse phytochimique de *B. toxisperma* pour sa part a montré la présence de nombreux polysaccharides qui pourrait ainsi justifier l'augmentation du taux de lymphocytes observé chez les animaux. Le poids relatif des organes est souvent utilisé pour l'évaluation toxicologique (Michael *et al.*, 2007). L'absence de différence significative dans la masse relative des organes étudiés, suggère une innocuité de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* car il n'a entraîné ni hypertrophie, ni hypotrophie des organes internes au terme de 60 jours d'expérimentation. De multiples tests de toxicité à l'instar de ceux de Tan *et al.* (2008) sur l'extrait aqueux de *Ocimum suave*; Towatana *et al.* (2010) sur l'extrait hydroéthanolique de péricarpes de fruits de manguier, suggèrent également une faible toxicité de la plante testée en cas de différence non significative de la masse relative des organes par rapport aux groupes témoins. Le système hématopoïétique est parmi les cibles les plus sensibles des composés toxiques et un important index du statut physiologique et pathologique chez l'Homme et chez l'animal (Mukinda et Syce, 2007). Les transaminases (ALAT, ASAT) sont des enzymes bien connues comme de bons indicateurs de la fonction hépatique et comme des marqueurs d'une éventuelle toxicité (Hilaly *et al.*, 2004). Dans cette étude, les taux de ces transaminases chez les animaux traités sont comparables à ceux des témoins ; et au regard des microphotographies du foie chez tous ces animaux, on peut conclure à une absence, ou une très faible hépatotoxicité due à l'extrait. La variation non significative du taux de créatinine laisse penser que les fonctions rénales n'ont pas été altérées durant le traitement. Les taux de triglycérides et de cholestérol total n'ont pas varié par rapport au témoin, ce qui suggère une faible altération du profil lipidique. Les examens histopathologiques ont été effectués afin de rechercher les lésions tissulaires. Aucune modification n'a été détectée dans les organes internes, ni au niveau macroscopique ni au niveau microscopique chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *B. toxisperma*. Ces résultats indiquent que les organes examinés, notamment le foie, les reins et les poumons ont préservé leur intégrité durant tout le traitement ce qui suggère une absence de toxicité de l'extrait à la dose testée (Seewaboon *et al.*, 2010).



**CONCLUSION, RECOMMANDATIONS
ET PERSPECTIVES**

Conclusion

Au terme de cette étude, dont l'objectif était d'évaluer les effets de la décoction de l'écorce du tronc de *B. toxisperma* sur quelques modèles de dysfonction du système reproducteur mâle, il ressort que:

- l'extrait aqueux de *B. toxisperma* présente des propriétés aphrodisiaques et androgéniques aux doses de 150 et 300 mg/kg chez le rat normal.
- l'extrait aqueux de *B. toxisperma* aux doses de 150 et 300 mg/kg contrecarre les altérations du comportement sexuel masculin et les troubles de la spermatogénèse induits par le stress ;
- l'extrait de *B. toxisperma* prévient de manière significative les effets délétères de l'alcool éthylique sur la sexualité et la spermatogénèse ;
- la dose du manèbe supposée être journalièrement tolérable (0,5 mg/kg chez le rat) a affecté le comportement sexuel et la spermatogénèse des rats. En relevant le taux de testostérone totale sérique, l'extrait a ainsi restauré la fertilité des animaux exposés au manèbe ;
- la DL₅₀ orale de *B. toxisperma* est estimée supérieure à 2000 mg/kg PC ce qui permet de classer cet extrait dans la catégorie 5 du système de classification globalement harmonisé, catégorie caractérisant les substances faiblement toxiques. Cet extrait, administré à la dose thérapeutique de 150 mg/kg pendant 60 jours chez les rats normaux n'a présenté aucun signe majeur de toxicité.

L'ensemble des résultats obtenus justifieraient l'utilisation de *B. toxisperma* en médecine traditionnelle pour traiter l'impuissance sexuelle et l'infertilité masculine.

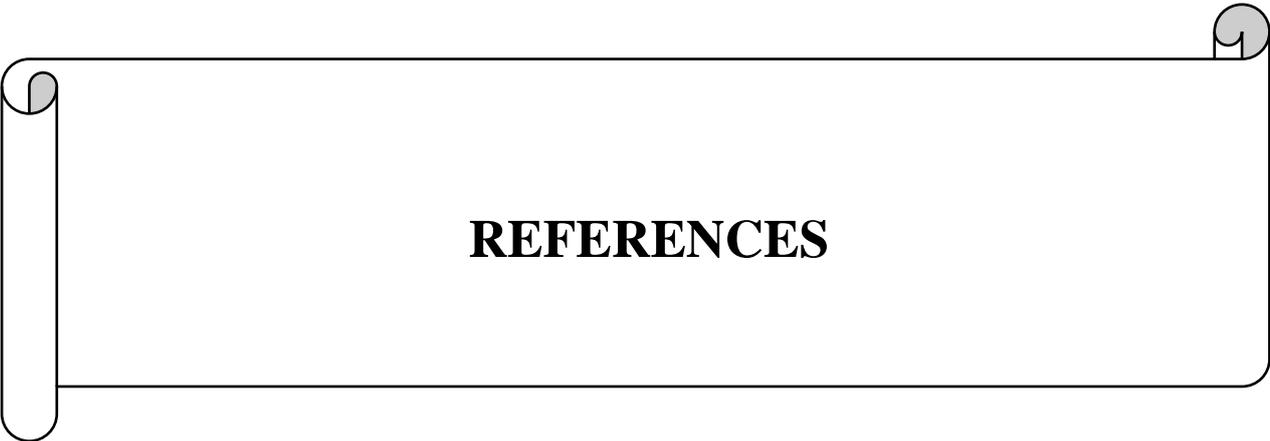
Recommandations

A l'issue de cette étude, il ressort que la dose thérapeutique de 150 mg/kg PC extrapolée de l'utilisation empirique induit au bout de 60 jours d'administration une diminution du taux de testostérone totale avec une baisse des paramètres de fertilité chez les animaux normaux. Ceci permet de recommander au tradithérapeute de ne jamais prescrire *B. toxisperma* aux sujets normofertiles dans le but de booster leur fertilité à long terme.

Perspectives

Cette étude n'étant pas exhaustive, d'autres investigations seraient nécessaires. Ainsi, dans des travaux futurs, il serait judicieux de:

- Evaluer les effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* dans d'autres modèles d'infertilité tel que le diabète, l'obésité, hyperthermie scrotale ;
- Evaluer dans une étude *in vitro* les effets de l'extrait aqueux de *B. toxisperma* sur les cellules de Leydig.



REFERENCES

- Abdallah FB, Fetoui H, Zribi N.** (2012). Protective role of caffeic acid on lambda cyhalothrin-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats. *Toxicol Ind Health*, 28: 639-647.
- Aboughe AS.** (2010). Extraction des polysaccharides hémicellulosiques de la paroi des feuilles de *Laportea aestuans* et activité immunostimulante. *Sci Sud*, 3: 1-5.
- Adjanooun EN, Aboubakar K, Dramane ME, Ebot JA, Ekpere EG, Enow-Orock, Focho ZO, Gbilé A, Kamanyi KJ, Kamsu A, Keita T, Mbenkum CN, Mbi AL, Mbiele IL, Mbome NK, Mubiru WL, Nancy B, Nkongmeneck B, Satabié A, Sofowora V, Tamze CK, Wirmum.** (1996). Contribution to ethnobotanical and foristic studies in Cameroon. CSTR/OUA, Cameroon.
- Aitken RJ, Jones KT, Robertson SA.** (2012). Reactive oxygen species and sperm function in sickness and in health. *J Androl*, 10: 12-19
- Amory JK.** (2007). Drug effects on spermatogenesis. *Drugs of Today*, 43: 717-724.
- Andersson KE.** (2001). Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev*, 53: 417-450.
- Ang HH, Cheang HS, Yusof AP.** (2000). Effects of *Eurycoma longifolia* Jack (Tonkat Ali) on the initiation of sexual performance of inexperienced castrated male rats. *Exp Animal*, 49: 35-38.
- Arnoult C, Escoffier J, Musch L, Pierre V.** (2012). Les phospholipases enzymes clés de la physiologie spermatique : Quels enjeux thérapeutiques? *Med Sci*, 28: 512-518.
- Baazem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G.** (2010). Varicocele and male factor infertility treatment: A new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. *European Urol*, 60: 796-808.
- Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M.** (2011). The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Int J Androl*, 34: 402-410.
- Barratt CL, Aitken RJ, Björndahl L, Carrell DT.** (2010). Sperm DNA: organization, protection and vulnerability: from basic science to clinical applications, a position report. *Hum Reprod*, 25: 824-838.
- Bekker J.** (1996). Sexual dimorphisms in sexual and non sexual behaviors: sexual differentiation of the brain and partner preference in the male rat. *PhD thesis*, Erasmus University, Rotterdam, 12: 13-36.
- Benzie IFF, Strain JJ.** (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239: 70-76.
- Bernard P, Daïen G.** (1977). Fécondité et anomalie du caryotype. *Ouest médicale*, 12: 23-31

- Besançon J, Dacheux JL.** (1985). Major contribution of epididymis to α -glucosidase content of ram seminal plasma. *Biol Repro*, 33: 296-301.
- Betti JL, Yongo OD, Obiang, Mbomio D, Midoko, Iponga D, Ngoye A.** (2013). An Ethnobotanical and Floristical Study of Medicinal Plants Among the Baka Pygmies in the Periphery of the Ipassa- Biosphere Reserve, Gabon. *Eur J Med Plants*, 3(2): 174-205.
- Bitgul G, Tekmen I, Keles D, Oktay G.** (2013). Protective effects of resveratrol against chronic immobilization stress on testis. *ISRN Urology*, 20: 214-221.
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG.** (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: Potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*, 22: 1506-1512.
- Bujan L, Mieusset R, Mansat A, Pontonnier F.** (1988). Conditions de travail : spermatogenèse et fertilité masculine. *Arch. Mal Profès*, 14: 49-96.
- Burnett AL.** (2008). Erectile dysfunction management for the future. *J Androl*, 14: 232-243
- Bushnik T, Jocelynn L, Cook A, Albert Yuzpe, Tough S, Collins J.** (2012). Estimating the prevalence of infertility in Canada. *Hum Reprod*, 27: 738–746,
- Cannet C.** (2006). Artéfacts: Les difficultés de la technique histologique de la circulation à la coupe. *Rev Fran Histotech*, 19(1): 71-84.
- Cariton AE.** (1986). Experimental surgery of the genital system. Methods of animal experimentation: research surgery and care of the research animal; part B surgical approaches to organ systems. *Academic Press*, 7: 191-193.
- Carpentier M, Sahpaz S, Bailleul F.** (2004). Plantes et dysfonctions érectiles. *Phytothérapie*, 3: 67-72.
- Carreau S, Hess RA.** (2010). Oestrogens and spermatogenesis. *Phil Trans R Soc*, 365:1517-1535.
- Castetbon K, Vernay M, Malon A, Salanave B, Deschamps V, Roudier C, Oleko A, Szego E, Hercberg S.** (2009). Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006-2007). *Br J Nutr*, 102: 733-743.
- Centre for Drug Evaluation and Research (CDER).** (1995). Validation of chromatographic methods. Reviewer guidance.
- Chalas Boissonas C, El Abdalaoui H, Haelewyn V, Fauque P.** (2010). Specific epigenetic alterations of IGF2-H19 locus in spermatozoa from infertile men. *Eur J Hum Genet*, 18: 73-80.

- Charles MA, Basdevant A, Eschwège E.** (2009). Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité. *Ob Épi – Roche*.
- Chidrawar VR, Chitme HR, Patel KN, Patel NJ, Racharla VR, Dhoraji NC, Vadalia KR.** (2011). Effects of *Cynodon dactylon* on Stress-Induced Infertility in Male Rats. *J Young Pharm*, 3(1): 26-35.
- Clément P, Giuliano F.** (2008). Neurophysiologie et neuropharmacologie de l'érection et de l'éjaculation, 80.
- Clermont Y.** (1972). The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Amer J Anat*, 112: 35-43.
- Coulonval L.** (2010). Physiologie de l'acte sexuel masculine. *Sant ment Québec*, 5(2): 128-136
- Cunningham KA, Beagley KW.** (2008). Male genital tract chlamydial infection: Implication for pathologies and infertility. *Biol Reprod*, 79: 180-189.
- De Fleurian G, Perrin J, Ecochard R, Dantony E, Lanteaume A, Achard V.** (2009). Occupational exposures obtained by questionnaire in clinical practice and their association with semen quality. *J Androl*, 30: 566-579.
- De Mouzon J.** (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain Ed. Springer, Paris: 123-129
- Dibong SD, Mpondo E, Ngoye A, Kwin MF, Betti JL.** (2011). Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets. *J Appli Biosci*, 37: 2496-2507
- Edouards IR, Bac DG, Temple WA, Hayes WJ, Lois E.** (1991). Fongicides et Composés Reliés, Manuel de la Toxicologie de Pesticide. Ed Académique: New York; 2-4.
- Ellman GL.** (1959). Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys*, 82: 70-77.
- Esimone CK, Omobuwajo R, Sowemimo A, Proksch P.** (2006). Single-cycle vector based antiviral screening assays for high throughput evaluation of potential anti-HIV medicinal plants: A pilot study on some Nigerian Herbs. Recent Progress in Medicinal Plant Research. *Phytopharmacol Ther*, 19: 50-60.

- Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG.** (1994). Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the massachusetts male aging study. *J Urol*, 151: 54-61.
- Fode M, Krogh-Jespersen S, Brackett NL, Ohl DA, Lynne CM, Sonksen J.** (2012). Male sexual dysfunction and infertility associated with neurological disorders. *Asian J Androl*, 14: 61-68.
- Fodouop M, Bouopda TSP, Pegnyemb DE, Etoa FX, de Paula RA, Teixeira, Barbosa AA, Sartori, Machado SR, Fontes SMA, de Moraes CA, Mantovani HC.** (2015). *In vitro* antibacterial activity of *Baillonella toxisperma* (Pierre) extracts against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* and *Bacillus cereus*. *Afr J Microbiol Res*, 9: 2088-2094.
- Fossati P, Prencipe L.** (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 28: 2077-2080.
- Fournier-Delpech S, Thibaut C.** (1991). Acquisition de la fécondance du spermatozoïde : Maturation épидидymaire, glandes annexes et capacitation. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ed. Marketing, Paris: 251-271.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M and Shimomura I.** (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*, 114: 1752-1761.
- Gauthaman K, Adaikan P, Prasad RN.** (2003). Sexual effects of puncturevine (*Tribulus terrestris*) extract (protodioscin): an evaluation using a rat model. *J Alt Comp Med*, 9: 257-265.
- Gayatri G, Nagore, Dheeraj H, Rangari M, Gupta, Harsh.** (2010). Pharmacological evaluation of ayurvedic plants for aphrodisiac activity in experimental animals. *J Comp Integr Med*, 7: 1-12.
- Giuliano F, Rampin O.** (2004). Central neural regulation of penile erection. *Neuro Biobehav Rev*, 24: 517-533.
- Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J.** (2004). Molecular pathophysiology and gene therapy of aging-related erectile dysfunction. *Exp Gerontol*, 39: 1705-1712.

- Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws GA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT.** (2015). The Endocrine society's second scientific statement on endocrine disrupting chemicals. *Endo Rev*, 36: 1-150
- Gornall AG, Bardwil GS, David MM.** (1949). Determination of serum protein by the means of the Biuret reactions. *J Biol Chem*, 177: 751-766.
- Gray LE, Osetby J, Ferrel J, Rehnberg G, Linder R, Cooper R, Golduan J, Slott V, Laskey J.** (1989). A dose response analysis of methoxychlor induced alteration of reproductive development and functions in the rat. *Fundam Appl Toxicol*, 12: 92-108.
- Hamden K, Silandre D, Delalande C.** (2008). Protective effects of estrogens and caloric restriction during aging on various rat testis parameters. *Asian J Androl*, 10: 837-845.
- Hari PP, Reddy PS.** (2012). Effect of restraint stress on lead-induced male reproductive toxicity in rats. *J Exp Zool*, 317: 455-465.
- Haroldo AT, Fernanda BMP, Saiprasad MZ, Edson A, Cleber T, Clinton W.** (2009). Effect of the phosphodiesterase 5 inhibitors: sildenafil, tadalafil and vardenafil on rat anococcygeus muscle: functional and biochemical. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 36(4): 358-366.
- Hazard J.** (1989). *Endocrinologie*. 3^{ème} Ed: 254-268.
- Hecht MJ, Neundorfer B, Kiesewetter F, Hilz M.** (2001). Neuropathy is a major contributing factor to diabetic erectile dysfunction. *Neur Res*, 23: 651-654.
- Helaly M, Awadalla N, Mansour M, El-Biomy Y.** (2010). Work place exposures and male infertility- a case-control study. *Int Joc-cup Med Environ Health*, 23: 331-338.
- Herman JP, Adams D, Prewitt C.** (1995). Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology*, 61(2): 180-190.
- Hilaly J, El Israili ZH, Lyoussi B.** (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga ivain* experimental animals. *J Ethnopharmacol*, 91: 43-50.
- Hilscher W.** (1964). Beitrage zur orthologie une pathologie des "spermatogoniogenes" der ratte. *Beitz Path Anat*, 130: 69-132.

- Hou G, Xiong W, Wang M, Chen X, Yuan TF.** (2014). Chronic stress influences sexual motivation and causes damage to testicular cells in male rats. *J Sex Med*, 11: 653-663.
- Imperato-McGinley J, Sanchez RS, Spencer JR, Yee B, Vaughan ED.** (1992). Comparison of the effects of the 5 α - reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation: Dose-response studies. *Endocrinology*, 131: 1149-1156.
- Jang M, Min JW, In JG, Yang DC.** (2011). Effects of red ginseng extract on the epididymal sperm motility of mice exposed to ethanol. *Int J Toxicol*, 30: 435-442.
- Jefferys A, Siassakos D, Wardle P.** (2012). The management of retrograde ejaculation: a systematic review and update. *Fertil Steril*, 97: 306-312.
- Jensen SB.** (1984). Sexual function and dysfunction in younger married alcoholics. A comparative study. *Acta Psychiatr Scand*, 69: 543-549.
- Jensen TK, Andersson AM, Jorgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE.** (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*, 82: 863-870.
- Jeruss JF, Woodruff TK.** (2009). Preservation of fertility in patients with cancer. *N Engl J Med*, 360: 902-911.
- 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(4): 144-150.
- Kamtchouing P, Mbongue FGY, Dimo T, Jatsa BH.** (2000). Mise en évidence des propriétés virilisantes de *Piper guineense* (Pg) et *Aframomum melegueta* (Am), deux plantes médicinales, chez le rat adulte. XVIIème congrès de la société d'andrologie de la langue française. *Bordeaux 7-9 décembre. Communications.*
- Kamtchouing P, Mbongue GYF, Dimo T, Watcho P, Jatsa HB, Sokeng SD.** (2002). Effects of *Aframomum melegueta* and *piper guineense* on sexual behaviour of male rat. *Behav Pharmacol*, 12: 243-247.
- Keichrio M, Hiroko T.** (2006). The impact of stress on reproduction: are glucocorticoids inhibitory or protective to gonadotropin secretion. *Endocrinology*, 147(3): 1085-1090.

- Kidd H, James DR.** (1991). Le Manuel d'Agrochimie Société Royale des Services d'Information de Chimie. 3ème Ed: Cambrige; 3-4.
- Kojima S, Sugimura Y, Hirukawa H, Kiyozumi M, Shimada H, Funakoshi T.** (1992). Effect of dithiocarbamates on testicular toxicity in rats caused by acute exposure to Cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol*, 116: 24-29.
- Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE.** (2006). Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*, 27: 450-452.
- Labrie F, Belanger A, Pelletier G.** (2003). Inactivation of androgens by UDP-glucuronosyl transferase enzymes in humans. *Trends Endo Met*, 14: 473-479.
- Lagnika L, Attioua B, Vonthron-Senecheau C, Kaise M, Lobstei A, Sanni A, Weniger B.** (2013). *In vitro* preliminary study of antiprotozoal effect of four medicinal plants from Benin. *J Med Plants Res*, 7(10):556-560.
- Laird S.** (2000). L'exploitation du bois d'œuvre et des produits forestiers non ligneux (PFNL) dans les forêts d'Afrique centrale. Recherches Actuelles et perspectives pour la conservation et le développement, FAO, Rome, 4: 53-63.
- Lanfranco F, Kamischke A, Zitsmann M, Nieschlag E.** (2004). Klinefelter's syndrome. *Lancet*, 364: 273-283.
- Lenzi A, Sgrò P, Salacone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F.** (2004). A placebo controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril*, 81: 1578-1584.
- Magnusdottir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, Heimisdottir M, Olafsdottir K.** (2005). Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod*, 20: 208-215.
- Manfo FPT, Chao W-F, Moundipa PF.** (2011). Effects of maneb on testosterone release in male rats. *Drug Chem Toxicol*, 34: 120-128.
- Marieb EN.** (1999). Anatomie et physiologie Humaines. *De Boeck* Université, Paris, Bruxelles. 4^{ème}Ed: 1042-1052.

- Mbongue FGY.** (2003). Etude des propriétés et des effets de certaines plantes de la flore camerounaise sur le comportement sexuel des rats adultes. *Thèse de Doctorat/PhD*. Université de Yaoundé I, Cameroun. 222 p.
- Mi Y, Zhang C, Taya K.** (2007). Quercetin protects spermatogonial cells from 2, 4-D-induced oxidative damage in embryonic chickens. *J Reprod*, 53: 749-54.
- Michael B, Yano B, Sellers RS, Perry R, Morton D.** (2007). Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: A review of regulatory guidelines and a survey of current practices. *Toxicol Pathol*, 35: 742-750.
- Mieusset R, Bujan L, Mansat A, Pontonnier F.** (1992). Hyperthermie scrotale et infécondité masculine. *Prog Urologie*, 2: 31-36.
- Mieusset R.** (2010). Anomalies postnatales du développement de la spermatogénèse associée aux troubles de la migration testiculaire. *Andrologie*, 20: 179-189.
- Mukinda JT, Syce JA.** (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *J Ethnopharmacol*, 112: 138-144.
- Muthusami KR, Chinnaswamy P.** (2005). Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril*, 84: 919-924.
- Nakai M, Hess RA.** (1997). Effects of carbendazim (Methyl 2-benzimidazole carbamate: MBC) on meiotic spermatocytes and subsequent spermiogenesis in the rat testis. *Anat Record*, 247: 379-387.
- Nakai M, Miller MG, Carnes K, Hess RA.** (2002). Stage-specific effects of the fungicide carbendazim on sertoli cell microtubules in rat testis. *Tissue and cell*, 34(2): 73-80.
- Nana PN, Wandji JC, Fomulu JN, Mbu RE, Leke RJI, Woubinwou MJ.** (2011). Aspects Psycho-Sociaux chez les Patients Infertiles à la Maternité Principale de l'Hôpital Central de Yaoundé, Cameroun. *Clin Moth Child Health*, 8: 12-17.
- Nantia EA, Travert C, Manfo FPT, Edjenguel NS, Moundipa P, Monsees T, Carreau S.** (2011). Effects of the methanol extract of *Basella alba* L (Basellaceae) on steroid production in Leydig cells. *Int J Mol Sci*, 12: 376-384.

- Ndah NR, Egbe AE, Bechem E, Asaha S, Yengo T, Chia EL, Eyenieh NM.** (2013). Ethnobotanical study of commonly used medicinal plants of the Takamanda Rain forest South West, Cameroon. *Afr J Plant Sci*, 7(1): 21-34.
- Ndenecho EN.** (2009). Herbalism and resources for the development of ethnopharmacology in Mount Cameroon region. *Afr J Pharm Pharmacol*, 3(3): 78-86.
- Neel D.** (2008). Hypertension et dysfonction érectile. *Arch mal cœur vais Pratique*, 14: 165-168.
- Ngoula F, Watcho P, Dongmo MC, Kenfack A, Kamtchouing P, Tchamboué J.** (2007). Effects of Pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats. *Afr Health Sci*, 12: 1680-6905.
- Njimoh DL, Assob JCN, Mokake SE, Nyhalah DJ, Yinda CK, Sandjon B.** (2015). Antimicrobial activities of a plethora of medicinal plant extracts and hydrolates against human pathogens and their potential to reverse antibiotic resistance. *Int J Microbiol*, 12: 45-52.
- Noblanc A, Kocer A, Drevet JR.** (2012). Protection post-testiculaire des gamètes mâles contre les dommages radicalaires : le rôle de l'épididyme. *Med Sci*, 28: 519-525.
- Noumi E, Amvam Z, Lontsi D.** (1998). Aphrodisiac plants used in Cameroun. *Fitoterapia*, 2: 125-134.
- Noumi E, Eboule AF, Nanfa R.** (2011). Traditional health care of male infertility in Bansoa, west Cameroon. *Int J Pharm Biomed Sci*, 2(2): 42-50.
- O'Flynn, O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A.** (2010). The genetic cause of male factor infertility: A review. *Fertil Steril*, 93: 1-12.
- OECD, Organization of Economic Cooperation and Development.** (2001a). OECD Guidelines for testing of chemicals: Acute oral toxicity-Acute toxic class method. Test No. 423, adopted 22nd March 1996, and revised method adopted 17th December 2001. OECD, Paris.
- OECD, Organization of Economic Cooperation and Development.** (2001b). Harmonised integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures. Chapter 2.1, adopted 14th August 2001. OECD, Paris.

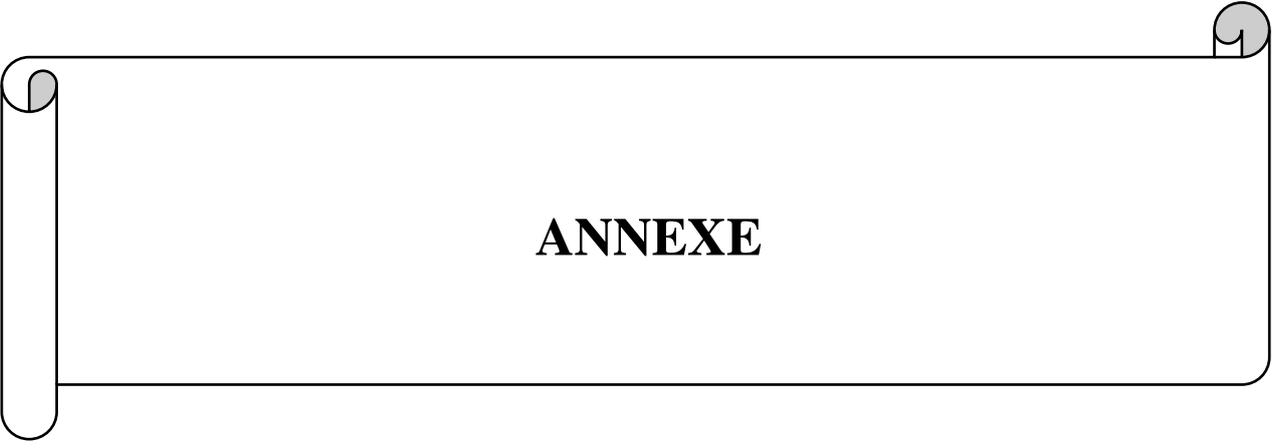
- Oliva R.** (2006). Protamines and male infertility. *Hum Reprod*, 12: 417-435.
- OMS.** (1993). Manuel de l'OMS. Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. *Ed Inserm, Paris*, 125.
- OMS.** (2002). Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005. *Appia* 20, 1211 Genève 27, Suisse
- OMS.** (2018). International classification of diseases, 11th revision (ICD-11), Geneva.
- Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G, Fiore C, Andrisani A, Ambrosini G, Armanini D.** (2008). Genital tract infections and infertility. *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol*, 140: 3-11.
- Potemina TE.** (2008). Impairment of spermatogenesis in male rats during stress. *Bull Exp Biol Med*, 145(6):700-703.
- Prendergast FG, Veneziale CM.** (1975). Control of fructose and citrate synthesis in guinea pig seminal vesicle epithelium. *J Biol Chem*, 25: 1282-1289.
- Rai J, Pandey SN, Srivastava RK.** (2008). Testosterone hormone level in albino rats following restraint stress of long duration. *J Anat Soc*, 53: 17-19.
- Raskin L, Ribnicky D, Komarnytsky S, Llin N, Poulev A, Borisjuk N, Brinker A, Moreno D, Ripoll C, Yakoby N, Oneal J, Cornwell T, Pastor I, Fridlender B.** (2011). Plants and human health in the twenty first century. *Trends Biotechnol*, 20(12): 522-531.
- Ratnasooriya WD and Dharmasiri MG.** (2000). Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *A J Androl*, 2: 213–219.
- Retana-Márquez S, Viguera-Villaseñor RM, Juárez-Rojas L, Aragón-Martínez A, Reyes TG.** (2014). Sexual behavior attenuates the effects of chronic stress in body weight, testes, sexual accessory glands, and plasma testosterone in male rats. *Horm Behav*, 66: 766-778.
- Riwom ESH, Ndoye FC, Nyegue MA, Bouopda TSP, Etoa FX.** (2015,1b). *In-vitro* effects of almond oil, barks and leaves extracts of *Baillonella toxisperma* (Pierre) against *Trichophyton soudanense* and *Trichophyton rubrum*. *J Med Plants Res*, 9(33): 892-899.

- Riwom ESH, Ngo MJ, Nyegue MA, Ndoye FC, Fodouop M, Bouopda TSP, Pegnyemb DE, Etoa FX.** (2015, 1a). *In vitro* antibacterial activity of *Baillonella toxisperma* (Pierre) extracts against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* and *Bacillus cereus* F3748. *Afr J Microbiol Res*, 9(39): 2088-2094.
- Riwom ESH, Nyegue MA, Ndoye FC, Bouopda TSP, Etoa FX.** (2015, 1c). *In vitro* evaluation of the antifungal activity of extracts of *Baillonella toxisperma* (Pierre), a Sapotaceae, on the growth of some human pathogenic yeasts. *Afr J Pharm Pharmacol*, 9(9): 299-306.
- Rusz A, Pilatz A, Wagenlehner F, Linn T, Diemer T, Schuppe HC, Lohmeyer J, Hossain H, Weidner W.** (2012). Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World J Urol*, 30: 23-30.
- Rybar R, Kopecka V, Prinosilova P, Markova P, Rubes J.** (2011). Male obesity and age in relationship to semen parameters and sperm chromatin integrity. *Andrologia*, 43: 286-291.
- Saladin K.** (2003). *Anatomy and physiology- The unity of form and function*. 3rd Ed McGrawHill: 1031-1041.
- Saleh RA, Agarwal A.** (2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl*, 23: 737-752.
- Sallmén M, Liesivuori J, Taskinen H, Lindbohm ML.** (2003). Time to pregnancy among the wives of finish greenhouse workers. *Scand J Environ Health*, 29: 85-93.
- Sallmen M, Sandler DP, Hoppin JA, Blair A, Baird DD.** (2006). Reduced fertility among overweight and obese men. *Epidemiology*, 17: 520-523.
- Schettler, Nüssel E.** (1975). Cholesterol liquidor, *Chod-Pap, Medecine*. 10-25.
- Seewaboon S, Pritsana P, Tippaya S, Yuvadee W, Rungravi T, Jakkapun P, Nongluck R, Sumarn S, Nusiri L, Kanjana J.** (2010). Toxicity Evaluation of Sappan Wood Extract in Rats. *J Med Assoc Tha*, 93(7): 50-57.
- Segal TR, Giudice LC.** (2019). Before the beginning: environmental exposures and reproductive and obstetrical outcomes. *Fertil. Steril*, 112: 613-621

- Sepaniak S, Forge T, Fontaine B, et al.** (2004). Impact négatif du tabac sur la fertilité masculine: des spermatozoïdes à la descendance. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 33: 384-390.
- Sermondade N, Elloumi H, Berthaut I, Mathieu E, Delarouzière V, Ravel C, Mandelbaum J.** (2010). Progressive alcohol-induced sperm alterations leading to spermatogenic arrest, which was reversed after alcohol withdrawal. *Reprod Biomed*, 20: 324-327.
- Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Lévy R, Czernichow S.** (2012). Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Arch Int Med*, 172: 440-442.
- Sherwood.** (2006). Physiologie humaine. Ed Hartier: 389-402.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-raventos RM.** (1999). Analysis of total phenol and other oxydation substrate and antioxydants by means of Folin-ciocalteu reagent. Academic press, 299: 6879-6899.
- Sinha AK.** (1972). Colorimetric assay of catalase. *Anal Biochem*, 47: 389-394.
- Slob AK, Van der Werff ten Bosch JJ.** (1997). The fundamental role of gonadal steroids in sexual behavior. *Bailliere's Clin Psych*, 3: 1-24.
- Stahler MS, Colin B, Pansky B.** (1987). Evidence for insulin synthesis in normal mouse seminal vesicle based on the *in situ* RNA-DNA hybridization. *Biol Repro*, 36: 999-1006.
- Stocco DM.** (2002). Clinical disorders associated with abnormal cholesterol transport: mutations in the steroidogenic acute regulatory protein. *Mol Cells Endocrinol*, 191: 19-25.
- Sultan C, Priolet G, Benzard Y, Rosa R, Josso F.** (1982). Technique en hématologie 2^{ème} Ed. Flammarion Médecine-sciences, 15-32.
- Tajuddin A, Ahmad S, Latif A, Qasmi IA.** (2004). Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) on sexual behaviour of normal male rats. *Comp Alter Med*, 4: 17-24.

- Tan PV, Mezui C, Enow OG, Njifutie N, Dimo T, Bitolog P.** (2008). Teratogenic effects, acute and subchronic toxicity of the leaf aqueous extract of *Ocimum suave* Wild (*Lamiaceae*) in rats. *J Ethnopharmacol*, 115: 232-237.
- Tengs TO, Osgood ND.** (2001). The link between smoking and impotence: Two decades of evidence. *Prev Med*, 32: 447-452.
- Terranova PF.** (2004). Medical physiology. Part X: Reproductive Physiology. Pp 659-660.
- Tostain J, Rossi R.** (2004). Les traitements androgènes dans le déficit androgénique lié à l'âge. *ProgUrol*, 14: 831-850
- Towatana NH, Reanmongkol W, Wattanapiromsakui C, Ruthaiwan B.** (2010). Acute and subchronic toxicity evaluation of the hydroethanolic extract of mangos teen pericarp. *J Med Plants Res*, 4(10): 969-974.
- Tremblay RR, Chepdelaine P, Roy R, Thabet M.** (1982). Correlation between 1-carnitine and 1,4-glucosidase activity in semen of normal infertile and vasectomized men. *Infertility*, 1(5): 61-70.
- Tunc O, Bakos HW, Tremellen K.** (2011). Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*, 43: 121-128.
- Van Saen D, Gies I, De Schepper J, Tournaye H, Goossens E.** (2012). Can pubertal boys with Klinefelter syndrome benefit from spermatogonial stem cell banking. *Hum Reprod*, 27: 323-330.
- Vicari E, Calogero AE, Condorelli RA, Vicari LO, La Vignera S.** (2012). Male accessory gland infection frequency in infertile patients with chronic microbial prostatitis and irritable bowel syndrome. *Int J Androl*, 35: 183-189.
- Vijayasanen ME.** (1981). Alcohol and sex. *N Z Med J*, 93: 18-20.
- Waldinger MD, De Plas AV, Pattij T, Oorrschht RV, Coolen LM, Veening JG, Olivier B.** (2002). The selective serotonin re-uptake inhibitors fluvoxamine and paroxetine differ in sexual inhibitory effects after chronic treatment. *Psychopharmacology*, 160: 283-289.
- Watcho P, Kamtchouing P, Sonkeng S, Moundipa FP, Tantchou J, Essame JL, et al.** (2004). Androgenic effects of the aqueous extract of the root of *Mondia whitei* in rats. *Asian J Androl*, 6: 269-272.

- Watcho P, Wankeu-Nya M, Nguelefack TB, Tapondjou L, Teponno R, Kamanyi A.** (2007). Pro-sexual effects of *Dracaena arborea* (Wild) Link (Dracaenaceae) in sexually experienced male rats. *Pharmacology online*, 1: 400 - 407.
- Wegner CC, Clifford AL, Jilbert PM, Henry MA, Gentry WL.** (2010). Abnormally high body mass index and tobacco use are associated with poor sperm quality as revealed by reduced sperm binding to hyaluronan-coated slides. *Fertil Steril*, 93: 332-334.
- WHO.** (2010 1a). Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th Ed: Geneva: *World Health Organization*.
- WHO.** (2010 1b). The global status report on alcohol and health. Geneva (http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/, accessed 14 April 2014).
- Wilbur KM, Bernhein F, Schapiro OW.** (1949). Determination of lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 24: 305-310.
- Yakubu MT, Akanji MA, Oladiji AT.** (2007). Male sexual dysfunction and methods used in assessing medicinal plants with aphrodisiac potentials. *Pharmacognosy Rev.* 1: 49-56.
- Yousef MI, El-Demerdash FM, Al-Salhen KS.** (2003). Protective role of isoflavones against the toxic effect of cypermethrin on semen quality and testosterone levels of rabbits. *J Environ Sci Health*, 38: 463-478.
- Yu-An Chen, Ken-Chao Chen, Vincent F S, Tsai, Zi-Wei Huang, Ju-Ton Hsieh, Andrew MW.** (2013). Direct characterization of motion-dependent parameters of sperm in a microfluidic device: proof of principle. *Clin.Chem*, 59(3): 493-501.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food. Chem*, 64: 555-559.



ANNEXE

1. Préparation des solutions, tampons et colorants

1.1. Tampon utilisé pour la préparation des homogénats

Le tampon utilisé pour la préparation des homogénats des testicules et des vésicules séminales était le tampon phosphate sodium 0,1 M, pH 7,5. Pour sa préparation, 1,74g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et 1,57 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 200 mL d'eau distillée. Le pH du tampon a été réajusté en utilisant soit quelques gouttes d'un acide fort (acide chlorhydrique) ou d'une base forte (soude). Un pH-mètre a permis de vérifier son obtention.

1.2. Solutions pour le dosage des protéines

Les solutions utilisées ont été: la solution de Biuret et la solution d'albumine sérique bovine.

- **La solution de Biuret** résulte du mélange de deux solutions. **Solution A:** 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée. **Solution B:** 15 g de soude ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée. Les deux solutions ont été mélangées dans une fiole jaugée (500 mL) et le volume final ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée.

- **La solution d'albumine sérique bovine** 10 mg/mL a été préparée à partir de 100 mg de solution d'albumine sérique bovine (BSA) dissous dans une fiole jaugée (10 mL) avec 8 mL d'eau distillée et le volume final complété à 10 mL avec de l'eau distillée. Cette solution mère a été diluée en série pour avoir des solutions de BSA de concentration décroissante. Ces différentes solutions ont permis d'établir la courbe d'étalonnage des protéines totales par la méthode de Biuret.

1.3. Solutions, réactifs et tampons utilisés pour le dosage des composés polyphénoliques et la détermination du pouvoir antioxydant *in vitro* et *in vivo*

Le dosage des composés polyphénoliques et la détermination du pouvoir antioxydant *in vitro* et *in vivo* ont été réalisés à l'aide de plusieurs solutions, réactifs et tampons. Ce sont: la solution standard, le réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e, la solution de carbonate de sodium 7,5%, la solution de nitrite de sodium 5%, la solution de chlorure d'aluminium 10%, la solution hydroxyde de sodium 1mM, le tampon acétate 300 mM, pH 3,6, le HCl 40 mM, la solution de 2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ) 10 mM, la solution FeCl_3 10 mM et le réactif de FRAP.

- **La solution standard** utilisée était de la quercétine aux concentrations de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 1 mg/mL . Ces concentrations ont été obtenues en dissolvant respectivement 5 μg et 5 mg de quercétine dans des fioles jaugées (5 mL) avec 3 mL d'eau distillée et le volume final

complété à 5 mL avec de l'eau distillée. Ces solutions ont été utilisées lors de la détermination des concentrations des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et potentiel antioxydant *in vitro*.

- **Le reactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e** a été obtenu par le mélange de 2 mL de Folin-Ciocalteu dans une fiole jaugée (20 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 20 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée lors de la détermination de la concentration des polyphénols totaux.

- **La solution de carbonate de sodium 7,5%** a été obtenue par dissolution de 3,75 g de Na₂CO₃ dans une fiole jaugée (50 mL) avec 10 mL d'eau distillée et le volume final complété à 50 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée lors de la détermination de la concentration des polyphénols totaux.

- **La solution de nitrite de sodium 5 %** a été obtenue de la dissolution de 1 g de NaNO₂ dans une fiole jaugée (20 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 20 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée lors de la détermination de la concentration des flavonoïdes totaux.

- **La solution de chlorure d'aluminium 10 %** a été obtenue par dissolution de 2 g de AlCl₃ dans une fiole jaugée (20 mL) avec 10 mL d'eau distillée et le volume final complété à 20 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée lors de la détermination de la concentration des flavonoïdes totaux.

- **La solution hydroxyde de sodium 1mM** a été préparé en dissolvant de 2 g de NaOH dans une fiole jaugée (50 mL) avec 10 mL d'eau distillée et le volume final complété à 50 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée lors de la détermination de la concentration des flavonoïdes totaux.

- **Le tampon acétate 300 mM, pH 3,6** a été obtenu par dissolution de 0,66g d'acétate de sodium dans une fiole jaugée (250 mL) avec 200 mL d'eau distillée, puis le pH a été ajusté à 3,6 par titration avec 4,13 mL d'acide acétique. Le volume obtenu était complété à 250 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour la préparation du réactif de "FRAP" lors de la détermination du potentiel antioxydant *in vitro*.

- **Le HCl 40 mM** a été obtenu par le mélange de 0,86 mL de HCl 12 M dans une fiole jaugée (25 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 25 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour la préparation du "TPTZ" lors de la détermination du potentiel antioxydant *in vitro*.

- **La solution de 2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ) 10 mM** a été préparé par dissolution de 0,078 g de TPTZ dans une fiole jaugée (25 mL) avec 5 mL de HCl 40 mM et le

volume final complété à 25 mL avec du HCl 40 mM. Cette solution a été utilisée pour la préparation du réactif de FRAP lors de la détermination du potentiel antioxydant *in vitro*.

- **La solution FeCl₃ 10 mM** a été obtenue par la dissolution de 0,34 g de FeCl₃ dans une fiole jaugée (25 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 25 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour la préparation du réactif de FRAP lors de la détermination du potentiel antioxydant *in vitro*.

- **Le réactif de FRAP** a été obtenu par le mélange des solutions de tampon acétate (300 mM, pH 3,6), de TPTZ (10 mM) et de FeCl₃ (10 mM) dans les proportions 10:1:1. Ce réactif a été utilisé lors de la détermination du potentiel antioxydant *in vitro* et *in vivo*.

1.4. Solutions et tampons utilisés pour le dosage de quelques paramètres du stress oxydant

Les solutions et tampons utilisés pour le dosage de quelques paramètres du stress oxydant ont été: le tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 ; la solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,37%, la solution d'acide trichloracétique (TCA) 15%, le HCl 0,25N, la solution TCA-TBA-HCL, le tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5 et le réactif d'Ellman.

- **Le tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4** est obtenu par dissolution de 1,21g de tris base et 2,79g de KCl dans une fiole jaugée (500 mL) avec 250 mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 7,4 par ajout de HCl 11,8 N et un pH-mètre a permis de vérifier son obtention. Le volume final (500 mL) est obtenu par ajout d'eau distillée. Cette solution a été conservée à 4°C et a été utilisée lors du dosage du glutathion réduit (GSH).

- **La solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,37%**. Pour préparer cette solution, 0,37 g de TBA a été dissous dans une fiole jaugée (100 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 100 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour préparer la Solution TCA-TBA-HCL.

- **La solution d'acide trichloracétique (TCA) 15%** a été préparée en dissolvant 7,5 g de TCA dans une fiole jaugée (50 mL) avec 20 mL d'eau distillée et le volume final complété à 50 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour préparer la Solution TCA-TBA-HCl.

- **Le HCl 0,25N** a été obtenu par un mélange de 1,04 mL de HCl 0,25N dans une fiole jaugée (50 mL) avec 5 mL d'eau distillée et le volume final complété à 50 mL avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour préparer la solution TCA-TBA-HCl.

- **La solution TCA-TBA-HCL** a été obtenue par le mélange des solutions de TBA, TCA et HCl dans les proportions 1:1:1.

- **Le tampon phosphate 0,1M, pH 6,5** a été obtenu à partir du mélange de deux solutions. **Solution A:** 6,5 g de phosphate monosodique hydraté (NaH_2PO_4 , H_2O) dissous dans 500 mL d'eau distillée. **Solution B:** 8,9 g de phosphate disodique hydraté (Na_2HPO_4 , H_2O) dans 500 mL d'eau distillée. Un mélange de 500 mL de la solution A obtenue et de 200 mL de la solution B a été réalisé puis 80 mL de la même solution A a été ajouté goutte à goutte pour un volume final de 780 mL. Cette solution a été utilisée pour la préparation du Réactif d'Ellman lors du dosage du glutathion réduit (GSH).
- **Le réactif d'Ellman** a été obtenu en dissolvant 4,96 mg de DTNB dans une fiole jaugée (250 mL) avec 100 mL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5) et le volume final complété à 250 avec du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5). Ce réactif a été utilisé lors du dosage du glutathion réduit (GSH).

1.5. Solutions et colorants utilisés pour les coupes histologiques

Les solutions et colorants ci-après ont été préparés avec de l'eau distillée et/ou avec de l'alcool absolu ou de l'éthanol concentré à 95%.

- **Le formol à 10%** a été préparé à partir du formol commercial (37%). Pour un volume final de 1000 mL, un volume initial de 270,27 mL de formol commercial a été introduit dans une éprouvette graduée et le volume final a été atteint par ajout d'eau distillée.
- **L'alcool à 50, 70 et 80%** ont été obtenus par dissolution de l'éthanol à 95% ou de l'alcool absolu d'après la table de Gay-Lussac (voir annexe). C'est une opération qui consiste à amener un alcool à un degré plus faible en lui ajoutant de l'eau distillée.
- **L'hématoxyline de Harris** est un colorant nucléaire. Pour une préparation de 200 mL, le mélange suivant a été réalisé dans une fiole jaugée (200 mL): 1 mg d'hématoxyline, 10 mL d'alcool absolu, 20 g d'alun potassique dissous à chaud et 0,5 g d'oxyde de mercure rouge, puis le volume final complété à 200 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est porté à ébullition puis refroidi et filtré. La solution recueillie est la solution d'hématoxyline de Harris.
- **L'éosine alcoolique à 0,5%** est un colorant cytoplasmique. Pour obtenir un volume de 1000 mL, le mélange suivant a été réalisé: 5 g d'éosine, 950 mL d'éthanol absolu mesurée dans une éprouvette graduée de 1000 mL. Le volume final a été atteint par ajout d'eau distillée.
- **La solution d'eau gélatinée** qui permet l'étalement des coupes histologiques et une bonne adhésion de celles-ci sur les lames. Cinq grammes de poudre de gélatine ont été dissous dans 1000 mL d'eau distillée chauffée (45°C).
- **La solution saturée d'eau lithinée** a été utilisée pour renforcer la coloration nucléaire. Pour un volume final de 300 mL, 10 mg de carbonate de lithium ont été introduits dans un

bécher et le volume final a été atteint après ajout d'eau distillée. La solution obtenue a été filtrée avant d'être utilisée.

- **La solution aqueuse de vert lumière à 2%** a été obtenue par le mélange de 25 mL de solution aqueuse de vert lumière dans une fiole jaugée avec (1000 mL) avec 50 mL d'éthanol à 95% et le volume final complété à 1000 mL avec de l'éthanol à 95%.
- **La solution de brun Bismarck à 0,5%** a été obtenue par dissolution de 0,5 g de brun Bismarck dans une fiole jaugée avec (100 mL) avec 5 mL d'éthanol à 95% et le volume final complété à 100 mL avec de l'éthanol à 95%.
- **La solution d'EA-65** a été obtenue par le mélange, dans une éprouvette, de 450 mL de vert lumière à 0,02%, 100 mL de brun Bismarck à 0,5 % et 450 mL de solution d'éosine à 0,5 %. Six grammes d'acide phosphotungstique ont ensuite été dissous dans le mélange.
- **La solution d'éthanol/xylène** résulte du mélange de l'éthanol absolu avec du xylène (1:1).

2. Table de Gay-Lussac

La table de Gay-Lussac, encore appelé table de mouillage de l'alcool, est utilisée pour la dilution 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.



PUBLICATION ISSUE DE LA THESE

The Journal of Phytopharmacology

(Pharmacognosy and phytomedicine Research)

Research Article

ISSN 2320-480X

JPHYTO 2019; 8(3): 117-123

May- June

Received: 14-05-2019

Accepted: 03-06-2019

© 2019, All rights reserved

Rudy Valdès Simo

Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé1, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon

Sylvin Benjamin Ateba

Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé1, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon

Stéphane Zingué

i) Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé1, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon

ii) Department of Life and Earth Sciences, Higher Teachers' Training College, University of Maroua, P.O. Box 55 Maroua, Cameroon

Constant Anatole Pieme

Department of Biochemistry and Physiological Sciences, Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Yaoundé 1, P.O. Box 1364 Yaoundé, Cameroon

Dieudonné Njamen

Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé1, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon

Correspondence:

Dieudonné Njamen

Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé1, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon

Email: [dnjamen\[at\]gmail.com](mailto:djnjamen[at]gmail.com)

Baillonella toxisperma improves sexual performance and protects against stress-induced reproductive dysfunction in male Wistar rats

Rudy Valdès Simo, Sylvin Benjamin Ateba, Stéphane Zingué, Constant Anatole Pieme, Dieudonné Njamen

ABSTRACT

Baillonella toxisperma Pierre (Sapotaceae) is a medicinal plant widely used in Central Africa against several diseases including erectile dysfunction and male infertility. However, no study dealing with these male reproductive dysfunctions has been published until now. Accordingly, the present study was undertaken. It evaluated the capacity of an aqueous extract of stem bark of *B. toxisperma* (BT) at 75, 150 and 300 mg/kg/d to induce aphrodisiac effects and prevent the stress-induced reproductive dysfunction in males using normal non-experienced (an 8-day oral treatment) and stressed (a 6-h/day immobilization stress for 35 consecutive days) male Wistar rats. Both in normal and stressed animals, BT at the doses of 150 and 300 mg/kg decreased ($p < 0.05$) the mount and intromission latencies, and increased ($p < 0.05$) the number of total penile licking, mount and intromission as well as ejaculation frequencies. In stressed animals, a significant ($p < 0.05$) increase in sperm levels, sperm mobility as well as in the relative weight of androgen-dependent organs (testis, epididymis and seminal vesicles) was observed at the same doses compared with the stressed control. These results suggest that this aqueous extract of *B. toxisperma* might endow with aphrodisiac and androgenic properties in normal and stressed male Wistar rats.

Keywords: Stress-induced sexual dysfunction, *Baillonella toxisperma*, Aphrodisiac, sexual behaviour, male Wistar rats.

INTRODUCTION

Infertility is an inability for a couple to achieve pregnancy after a 1-year period of regular unprotected sex [1]. In several African countries like Cameroon, 20-30 % of couples suffer from infertility [2]. Around 50 % of infertility is attributable to a male factor alone [3]. Male sexual dysfunction (MSD) including reduced libido, erectile dysfunction, and orgasmic and ejaculation disorders are important causes of male infertility [4-6]. MSD has vascular, neurologic, psychological, and hormonal causes as well as concomitant morbidities and risk factors including chronic alcohol abuse, cigarette smoking, androgen deficiency, aging, psychological disorders, diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia, prostatic diseases, obesity and metabolic syndrome, side effects of some drugs and stress [5-7].

Stress is an unavoidable phenomenon and thus, every person faces stressful situations in day-to-day life [8]. In men, adverse effects of stress on reproductive system have been described and related to MSD and infertility depending on the type and duration of the stressor. Globally acute and chronic stress decrease sexual motivation [9], cause low plasma testosterone [10], germ cell loss and apoptosis [9, 11-13], alter spermatogenesis [14] and reduce sperm count and motility [15-16]. Immobilization stress model is an easy and convenient method [17] to evaluate the effects of stress on male reproductive function as it causes both psychological and physiological stress by the restriction of movement, aggression, feeling of distress and burn out [18]. This model has been associated with testicular tissue injury, decrease in testosterone secretion, reducing number of spermatogonia, primary and secondary spermatocytes and spermatids, alteration of sexual behavior and delay of testicular maturation, decreased weights of testis and male accessory sexual organs [19-21].

Since decades, oral phosphodiesterase 5 inhibitors (PDE5Is) such as sildenafil are treatments of choice against erectile dysfunction (ED). However, they are expensive for several populations including Sub-Saharan Africa [22, 23], effective only in 60-70% of men [24] and associated with side effects such as headache, flushing, hypertension, dyspepsia and nasal congestion [25, 26]. Usually, immediate stronger efficacy is obtained at the cost of a higher risk of side effects, and tolerability of the drug at the cost of lower efficacy [27]. In this condition, various alternatives are being investigated and there is a growing

interest in plants/herbs with a long-standing traditional use and advocated for improving or curing MSD with varying degrees of success.

Baillonella toxisperma Pierre (Sapotaceae) is a plant distributed in primary tropical rain forests in hot and humid/wet climates of West and Central Africa [28-30]. Throughout this region the entire tree is used in traditional medicine, especially in the Cameroonian pharmacopeia to treat more than 50 diseases including toothache, hemorrhoids, sexually transmitted infections, diarrhea, malaria, vaginal and oral mycoses, rheumatism, anemia, female infertility and gynecological problems, intestinal worms, diabetes, kidney pain, back aches and itches [31-35]. Aqueous extracts of stem bark are used against male infertility and impotence [36, 37]. Antibacterial [38-40], antifungal [41, 42] and anti-protozoa [43] activities have been reported. Bark and seed oil are widely sold in local markets [44-46]. However, despite a long standing traditionally and widely use of this medicinal plant there is no scientific report dealing with the male physiological-related reproductive dysfunction. Accordingly, the present work was carried out to evaluate the potential of the aqueous extract of stem bark of *B. toxisperma* on male sexual behavior (aphrodisiac action) and reproductive system dysfunction using normal and immobilization-related stress Wistar rats and therefore, validate its traditional use.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

The 17 β -estradiol benzoate was obtained from Sigma-Aldrich (Hambourg, Germany). Progesterone was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Sildenafil citrate (Viagra) was obtained from Micron® (Bangalore, India).

Animals

Healthy male (12 weeks old; 200-220 g) and female (10-12 weeks old; 160-180 g) Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were obtained from the breeding facility of the Laboratory of Animal Physiology, University of Yaoundé I (Cameroon). Animals were housed in clean plastic cages placed in well-ventilated house conditions. They had free access to rat diet and tap water *ad libitum*. The experiments were conducted according to the guidelines of the Institutional Ethics Committee of the Cameroon Ministry of Scientific Research and Innovation (Reg. no. FWA-IRD 0001954), which has adopted the guidelines established by the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609).

Plant material, extraction and estimation of the doses

The stem barks of *Baillonella toxisperma* were harvested in September 2014 in Ekok (Department of Mefou Afamba, Central Region of Cameroon). The sample was identified and authenticated by Mr. Victor NANA, Botanist at the National Herbarium of Cameroon (HNC) in Yaoundé (Voucher specimen 14592SRF Cam).

The extraction was performed based on the traditional recipe used in Bansa (West Region of Cameroon) to treat male infertility and reported by Noumi *et al.* (2011) [37]. Air-dried powder (250 g) of stem bark of *B. toxisperma* was boiled in 2.5 L of water for 15 minutes. Cooled decoction was filtered using Wattman filter paper n°4 and lyophilized (Christ Beta 1-8 K, Bioblock scientific, Germany) to yield 20.22 g (8%) of extract.

Knowing the volume of decoction daily used to treat male infertility (250 mL, 2 times) [37] and after its lyophilization, the pharmacological dose in human was estimated to 24 mg/kg/day. Allometric calculations according to the U.S. Department of Health & Human Services [47] allowed the estimation of the equivalent dose in rat of 150 mg/kg. This dose was framed by the doses of 75 and 300 mg/kg.

Phytochemical screening

The concentrations of phytochemicals such as total phenols, flavonoids, as well as the antioxidant power were measured in the aqueous extract of *Baillonella toxisperma* as described previously [48-50].

Study design

Estrus induction

Sixty female Wistar rats were ovariectomized under ketamin and valium anesthesia (10 and 50 mg/kg BW, *i.p.*, respectively). Fourteen days after the bilateral ovariectomy, estrus was induced by subcutaneous injections of 17 β -estradiol benzoate (0.1 mg/100 g BW) and benzoate progesterone (0.5 mg/100 g BW) 48 h and 4 h, respectively, before introducing them to the male [51].

Aphrodisiac activity in normal rats

In this experiment 30 rats were randomly assigned into five groups of six animals each. Group I served as control and received distilled water; Group II received sildenafil citrate (reference) at the dose of 5 mg/kg BW. Group III to V received the aqueous extract of stem bark of *B. toxisperma* at doses of 75, 150 and 300 mg/kg BW, respectively. Treatments were given by gavage for 8 consecutive days. Male sexual behavior parameters such as copulation and male-oriented activity (latencies of first mount, intromission and ejaculation, numbers of mount, intromission, ejaculation and penile licking) towards an estrus female were recorded for 30 min by blinded observers on days 1 and 8 in a quiet room under dim light [52]. Animals were sacrificed by decapitation on day 9 and organs including right testis, epididymis, seminal vesicles, ventral prostate and penis were collected and weighed.

Effects of *B. toxisperma* on stress-induced male reproductive dysfunction

Thirty non-experimented Wistar rats were divided in 5 groups of 6 animals each and submitted to a 35-day oral treatment starting from the first day of stress induction. The first group serving as normal control was not exposed to stress and received distilled water. In the four other groups animals were individually submitted to the immobilization stress (6 hours/day from 8 to 14 a.m in Plexiglas cylinder (5 cm I.D x 16 cm) with holes for breathing) and put back in their home cages for treatment as follow: one group received distilled water and served as negative control; the remaining three groups received the aqueous extract of *B. toxisperma* at the doses of 75, 150 and 300 mg/kg/day, respectively. The process was repeated for 35 consecutive days. Water and food were withdrawn during the daily 6-h period of stress [53]. Animals were weighed once weekly and the above mentioned male sexual behavior parameters recorded for 30 min by blinded observers on days 1, 18 and 35 in a quiet room under dim light. Twenty four hours after the last administration, animals were sacrificed by decapitation and organs (testis, epididymis, seminal vesicles, ventral prostate and

penis) collected and weighed. These organ weights are reported as relative weights (g/100 g BW). The sperm count was determined as earlier described [54]. Regarding the sperm motility, it was assessed as described previously [55].

Histological analysis

Paraffin-embedded testis were cut to 5 µm sections and stained with hematoxylin and eosin. Following hematoxylin-eosin staining, sections were visualized (magnification: 200X) using a Zeiss Axioskop 40 microscope connected to a computer where the image was transferred and analyzed with the MRGrab1.0 and Axio Vision 3.1 softwares, all provided by Zeiss (Hall-bermoos, Germany).

Statistical analysis

Data from each experimental group were expressed as mean ± SEM. Two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnet’s post hoc test for multiple comparisons were performed using GraphPad Prism software version 3.10. Treated groups were compared to the normal and negative controls. The significance of the difference was fixed at p<0.05.

RESULTS

Phytochemical analysis

The concentration of total phenols and flavonoids in the aqueous extract of *B. toxisperma* as well as its antioxidant power are depicted in Table 1. Total phenols were the most abundant secondary metabolites in the dried extract with an amount of 290.54 ± 2.09 mg eququercetin/g. The antioxidant power was estimated to be 635.67 ± 0.60mg eququercetin/g of dried extract.

Table 1: Quantitative analysis of selected phytochemicals present in *B. toxisperma* aqueous extract

Phytochemical class	Concentration in <i>B. toxisperma</i> extract
Total phenols	290.54 ± 2.09
Flavonoids	0.03 ± 0.00
Antioxidant power	635.67 ± 0.60

Flavonoids and antioxidant power are expressed in mg eququercetin/g of dried extract. Total phenols are expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE)/g of dry weight. Data are represented as mean ± SEM of triplicate from at least three independent experiments.

Effects of the aqueous extract of *B. toxisperma* on normal rats

Effects on male sexual behavior

Like sildenafil citrate (5 mg/kg), the aqueous extract of *B. toxisperma* at the doses of 150 and 300 mg/kg induced a significant (p <0.05) decrease of first mount, intromission and ejaculation latencies, while significantly increased the number of mount, intromission and penile licking on days 1 and 8 as compared to the control group (Table 2).

Effects of the extract on the relative weight of organs

While Viagra® (Sildenafil citrate) did not affect the relative wet weights of sex organs, the aqueous extract of *B. toxisperma* showed a significant increase (p < 0.01) of the relative weight of the testis at doses of 150 and 300 mg/kg as compared with the control group, while no change was found in other organs (Table 3).

Table 2. Effects of an 8-day treatment with the aqueous extract of *B. toxisperma* on male sexual behavior

		Latency for first mount (sec)	Number of mount	Latency for first intromission (sec)	Number of intromission	Latency for first ejaculation (sec)	Number of ejaculation	Number of penilelicking
Control	Day 1	68.3 ± 4.3	21.4 ± 3.1	107.2 ± 8.3	18.8 ± 2.3	401.4 ± 31.3	1.4 ± 0.4	20.4 ± 1.9
	Day 8	89.6 ± 7.0	25.8 ± 1.0	119.4 ± 4.1	29.0 ± 1.3	411.8 ± 13.9	1.8 ± 0.5	23.2 ± 1.7
Sildenafil citrate (5 mg/kg)	Day 1	30.3 ± 3.2**	40.3 ± 2.7**	50.6 ± 6.1**	27.4 ± 1.7*	326.4 ± 40.7*	2.6 ± 0.2*	27.3 ± 3.1
	Day 8	25.7 ± 6.3***	45.7 ± 3.4**	62.9 ± 10.3**	38.6 ± 1.7*	335.2 ± 10.6*	2.2 ± 0.4	32.6 ± 2.4*
BT 75 mg/kg	Day 1	70.4 ± 7.8	19.2 ± 1.6	113.6 ± 12.6	17.6 ± 1.4	397.7 ± 27.9	1.2 ± 0.2	23.4 ± 2.1
	Day 8	67.3 ± 6.4	38.2 ± 4.5	108.4 ± 12.4	30.6 ± 2.1	399.9 ± 12.3	1.2 ± 0.2	25.4 ± 1.9
BT 150 mg/kg	Day 1	39.5 ± 6.2**	33.8 ± 1.9*	56.6 ± 8.0**	28.3 ± 2.8*	281.2 ± 69.4*	1.8 ± 0.4	32.4 ± 3.9*
	Day 8	30.2 ± 3.8**	49.0 ± 5.5**	41.6 ± 13.0**	48.9 ± 4.8*	297.9 ± 27.3*	2.6 ± 0.5	34.4 ± 2.5*
BT 300 mg/kg	Day 1	32.6 ± 2.5**	33.8 ± 1.6*	43.4 ± 13.5**	31.4 ± 1.5*	256.5 ± 34.3*	1.8 ± 0.4	31.8 ± 1.9*
	Day 8	25.4 ± 7.7***	50.2 ± 6.6***	50.2 ± 9.8**	49.2 ± 6.1*	265.6 ± 9.4*	2.8 ± 0.4	34.6 ± 1.8*

Control = normal rats receiving distilled water; BT = normal rats receiving *B. toxisperma* aqueous extract at doses of 75, 150 and 300 mg/kg. * p< 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 versus Control.

Table 3: Effects of an 8-day treatment with an aqueous extract of *B. toxisperma* on the wet relative weights of androgenic-dependent organs

	Testis	Epididymis	Prostate	Seminal vesicles	Penis
Control	1.33 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.45 ± 0.04	0.12 ± 0.01
Sildenafil citrate (5 mg/kg)	1.32 ± 0.01	0.40 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.11 ± 0.01
BT 75 mg/kg	1.33 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.36 ± 0.03	0.10 ± 0.01
BT 150 mg/kg	1.51 ± 0.03**	0.40 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.33 ± 0.07	0.13 ± 0.01
BT 300 mg/kg	1.44 ± 0.03**	0.38 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.40 ± 0.03	0.11 ± 0.01

Control = normal rats treated with vehicle (distilled water); BT = normal rats receiving the aqueous extract of *B. toxisperma* at doses of 75, 150 and 300 mg/kg. **p < 0.01 versus Control

Effects of the aqueous extract *B. toxisperma* on stress-induced male reproductive dysfunction

Effects on sexual behavior

Compared to normal rats, animals exposed to the 6-h/day immobilization stress showed a significant ($p < 0.01$) increase in the first mount, intromission and ejaculation latencies, while reducing ($p < 0.01$) mount, intromission and ejaculatory frequencies, and total penile licking (Table 4). Globally, these stress-induced unwanted effects on sexual behavior were prevented by aqueous extract of *B. toxisperma*. Compared to the stressed animals, extract significantly reduced mount latency (day 18 with 75 and 150 mg/kg, and throughout experiment

with 300 mg/kg) and intromission latency (days 18 and 35 with 75 and 150 mg/kg, and throughout experiment with 300 mg/kg), and increased the number of mount (throughout experiment with all tested doses) and intromission (days 1 and 35 with 75 and 150 mg/kg, and throughout experiment with 300 mg/kg). These parameters were closer or higher than those of the normal animals at the dose of 300 mg/kg. Extract exhibited difficulties to counteract the stress-induced increase ejaculation latency, while it increased ejaculation frequency at the dose of 300 mg/kg as compared to stressed controls. The values obtained at this dose were lower than those of normal animals except on day 1. Regarding the penile licking, increased numbers were noted throughout the study at all tested doses as compared with stressed controls. At the dose of 300 mg/kg, the values of this parameter were higher than those of normal animals on days 1 and 35.

Table 4: Effects of a 35-day immobilization stress (6-h/day) and treatment with the aqueous extract of *B. toxisperma* on the male sexual behavior

Treatment		Latency for first mount (Sec)	Number of mount	Latency for first intromission (Sec)	Number of intromission	Latency for first ejaculation (Sec)	Number of ejaculation	Number of penilelicking
Normal+ distilled water	Day 1	209.2 ± 3.2	37.0 ± 5.5	270.4 ± 22.0	25.0 ± 2.8	209.2 ± 3.2	0.2 ± 0.1	21.4 ± 2.8
	Day 18	15.2 ± 2.7	60.6 ± 2.3	16.0 ± 2.9	55.3 ± 1.1	290.2 ± 32.5	2.4 ± 0.6	54.8 ± 4.3
	Day 35	5.3 ± 1.0	42.8 ± 3.7	7.0 ± 1.1	42.8 ± 3.7	286.2 ± 35.6	3.0 ± 0.3	35.0 ± 1.4
Stress + distilled water	Day 1	207.1 ± 6.1	13.2 ± 1.9***	276.8 ± 24.3	11.8 ± 1.9*	707.8 ± 89.3***	0.2 ± 0.1	13.8 ± 2.9
	Day 18	24.6 ± 3.2*	33.0 ± 4.3**	22.4 ± 3.9	31.2 ± 3.5**	1420.4 ± 70.7***	0.8 ± 0.2*	28.2 ± 4.8***
	Day 35	12.1 ± 1.0**	23.2 ± 2.8**	16.0 ± 4.2*	22.8 ± 4.9**	479.5 ± 28.4*	1.2 ± 0.4**	30.0 ± 5.1
Stress + BT 75 mg/kg	Day 1	176.0 ± 29.4	29.6 ± 3.7###	178.2 ± 29.0	28.8 ± 3.6#	1124.1 ± 98###	0.4 ± 0.2	29.5 ± 3.1#
	Day 18	14.2 ± 2.7#	45.4 ± 4.2	14.2 ± 2.7	36.7 ± 5.4*	969.0 ± 59.5***###	0.4 ± 0.2*	36.7 ± 5.4***
	Day 35	9.1 ± 2.3	49.8 ± 4.1###	10.0 ± 1.1	41.4 ± 3.9#	897.2 ± 29.5***###	0.6 ± 0.2**	42.0 ± 1.9
Stress + BT 150 mg/kg	Day 1	206.0 ± 36.8	28.2 ± 1.5#	256.8 ± 32.2	19.4 ± 2.7	560.8 ± 60.8***#	0.8 ± 0.4	26.1 ± 3.4
	Day 18	13.2 ± 1.1#	42.0 ± 4.9*	13.2 ± 1.1	36.2 ± 5.1*	351.0 ± 32.6###	1.0 ± 0.4	35.2 ± 4.8***
	Day 35	11.0 ± 2.3*	43.0 ± 3.2	11.0 ± 2.3	31.6 ± 2.1	615.6 ± 73.9###	1.0 ± 0.4**	37.0 ± 1.8
Stress + BT 300 mg/kg	Day 1	58.8 ± 15.8***###	31.8 ± 2.1####	147.2 ± 32.5*#	29.6 ± 6.1#	787.5 ± 89.7**	1.6 ± 0.5*#	42.2 ± 6.5***#
	Day 18	7.6 ± 1.7###	54.8 ± 6.9#	7.6 ± 1.7***#	53.6 ± 6.2###	333.0 ± 52.2###	1.4 ± 0.4	42.6 ± 6.4***#
	Day 35	3.6 ± 0.4***###	65.0 ± 4.2***###	4.8 ± 1.4*#	60.8 ± 4.9***###	400.8 ± 57.1	2.2 ± 0.2*#	60.0 ± 6.1***###

BT = aqueous extract of *B. toxisperma* at doses of 75, 150 and 300 mg/kg. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus normal control. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus stressed control.

Effects of the extract on body and organ weights

After 35 days of treatment, a significant ($p < 0.01$) loss of body weight as well as weight of testis, epididymis and seminal vesicles was observed in stressed rats as compared to normal group (Table 5). At the dose of 300 mg/kg the aqueous extract of *B. toxisperma* prevented the stress-induced body weight loss. A similar effect was observed at the

all tested doses on relative wet weights of testis, seminal vesicles, epididymis and penis. The relative weights of testis and epididymis were higher than those observed in normal animals. Stress did not alter the relative wet weight of the penis but the extract (at the doses of 150 and 300 mg/kg) increased it to higher values than those noted in normal animals.

Table 5: Effects of the 6-h/day immobilization stress and aqueous extract of *B. toxisperma* on body and organ relative wet weights in male stressed rats

Treatment	% increase in body weight	Testis	Epididymis	Prostate	Seminal vesicles	Penis
Normal + distilled water	37.40±5.52	1.25 ± 0.03	0.36 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.11 ± 0.01
Stress + distilled water	18.00±5.87**	1.10 ± 0.02**	0.32 ± 0.01**	0.09 ± 0.01	0.28 ± 0.02**	0.10 ± 0.01
Stress + BT 75 mg/kg	20.72±3.17*	1.53 ± 0.02***###	0.42 ± 0.03***###	0.10 ± 0.03	0.36 ± 0.01#	0.12 ± 0.02
Stress + BT 150 mg/kg	14.66±1.44**	1.46 ± 0.03***###	0.41 ± 0.01***###	0.11 ± 0.02	0.40 ± 0.04###	0.13 ± 0.01#
Stress + BT 300 mg/kg	22.34±2.62	1.41 ± 0.03***###	0.40 ± 0.01***###	0.10 ± 0.01	0.39 ± 0.02##	0.14 ± 0.02***###

BT = aqueous extract of *B. toxisperma* at the doses of 75, 150 and 300 mg/kg. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus normal control. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus stressed control

Effects of the extract on sperm concentration and motility

After the 6-h/day immobilization stress for 35 consecutive days, a significant ($p < 0.05$) reduction in sperm count and sperm motility was

noted as compared to normal animals (Figure 1). The aqueous extract of *B. Toxisperma* protected animals against the decrease in sperm count and sperm motility induced by the stress.

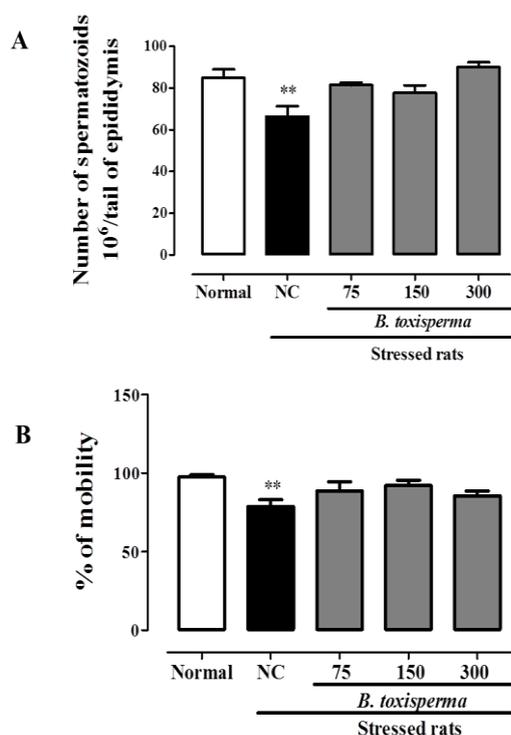


Figure 1: Effects of a 6-h/day immobilization stress and aqueous extract of *B. toxisperma* on sperm count and motility in adult male rats. Normal = normal rats receiving distilled water; NC = stressed rats receiving distilled water; BT = stressed rats receiving the aqueous extract of *B. toxisperma* at doses of 75, 150 and 300 mg/kg. * p<0.05 as compared with normal animals.

Effects of the extract on testicular histology

As depicted in figure 2 the 6-h/day immobilization stress for 35 consecutive days significantly reduced the amount of germ cells and spermatozoa in the lumen of seminiferous tubules as compared to normal rats. However, the stressed groups receiving the aqueous extract of *B. toxisperma* at all doses tested showed condensed seminiferous tubules filled with sperm cells; spermatogonia along the basal membrane with round and compact nuclei; and the presence of primary spermatocytes and spermatogonia compared to stress group receiving distilled water.

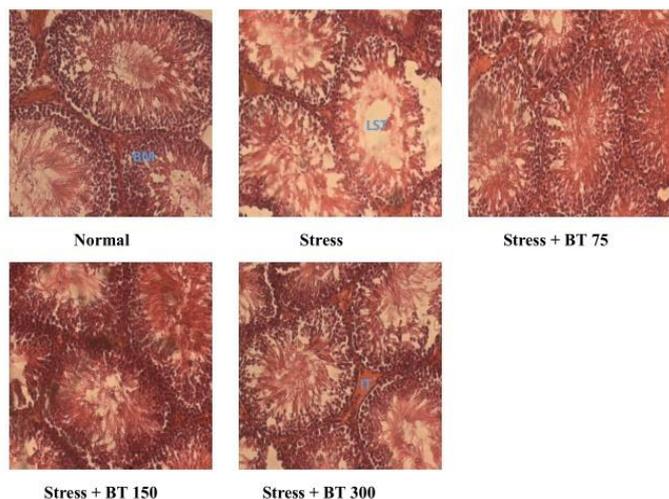


Figure 2: Effects of a 35-day treatment with *B. toxisperma* aqueous extract on testicular histological features in stressed rats (magnification: 200X). Normal = normal rats receiving distilled water; Stress = stressed rats receiving distilled water; BT = stressed rats receiving aqueous extract of *B. toxisperma*. LST: Lumen of seminiferous tubule; IT: Interstitial Tissue; BM: basal membrane

DISCUSSION

The present work aimed at evaluating the aphrodisiac potential of the aqueous extract of stem bark of *Baillonella toxisperma* and its capacity to prevent the stress-induced reproductive dysfunction in males.

First mount and intromission latencies are inversely related to sexual motivation [56] and then, well known indicators of sexual desire/motivation and potency [57, 58]. In our study, normal rats treated with the aqueous extract of *B. toxisperma* exhibited a significant reduction in mount and intromission latencies at the doses of 150 and 300 mg/kg indicating an aphrodisiac action of the extract. Chronic stress is widely recognized to impair/decrease sexual motivation [9, 13]. The 6-h/day repeated immobilization stress for 35 consecutive days increased the first mount, intromission and ejaculation latencies, while reducing mount, intromission and ejaculatory frequencies, and total penile licking. Treatment with 75 and 150 mg/kg *B. toxisperma* extract (during the period of stress) reduced the mount and intromission latencies on days 18 and 35, while increased the number of intromission on days 1 and 35. The dose of 300 mg/kg displayed rapid (from day 1) and sustained (throughout the study) effects. In other words no tachyphylaxis or decreased activity (a significant contributor to PDE5Is treatment failure) was noted with this dose during the 35-day treatment period; it markedly increased the mount and intromission latencies, mount, intromission and ejaculation frequencies and the number of penile licking compared to stressed controls throughout the study with values of parameters closer or higher than those observed in normal animals. This dose was also the only that prevented the decrease of ejaculatory frequency (on days 1 and 35) with a value higher (8-fold) than that of normal rats on day 1. Reduction of the first mount and intromission latencies are positive markers of sexual desire and motivation, while increased number of mount and intromission is associated with the improvement of penile erection process or enhancement of penile erection [59]. Through the reduction of the time of hesitation (mount and intromission latencies) and the increment of the erection process both in normal and stressful conditions, the aqueous extract of *B. toxisperma* exhibited aphrodisiac activities in both conditions. Testosterone is known to stimulate the brain and awaken the libido or sex drive [60, 61]. However, the adrenal production of glucocorticoids such as cortisol/corticosterone following a stress suppresses the secretion of testosterone (through the apoptosis of Leydig cells), libido and spermatogenesis [62-64]. Moreover, after examining many different animal models of stress, Andersen *et al.* [65] reported that immobilization stress model increases cortisol levels and decreases testosterone levels as the other models. In line with the major limit of this study is the lack of testosterone and cortisol levels. However, the improvement of sexual motivation and the enhancement of penile erection observed both in normal and stressful conditions suggest that the aqueous extract of *B. toxisperma* increased the levels of testosterone while decreasing that of cortisol/corticosterone.

Changes in body and organs' relative weights are well known as indicators of the health status of animals throughout the experiment. In our study, the aqueous extract of *B. toxisperma* exhibited an anabolic effect by increasing the relative wet weight of testes (gonadosomatic index) in normal rats. On the other hand, repeated immobilization stress resulted in significant decrease in both body and reproductive organs weight as reported in the literature [13, 18]. Interestingly, treatment with the extract of *B. toxisperma* (at the all tested doses) protected animals against stress-induced loss of relative weights of testis, seminal vesicles, epididymis and penis. The relative weight of testis, epididymis and penis were even higher than those of normal rats following treatment. It is well established that the development and growth of male reproductive tract (penis, testis and accessory sexual organs) is androgen-dependent, and testosterone is required to sustain their functionality. Therefore, the increase of the relative weight of these organs observed both in normal and stressed animals indicates the androgenic properties of *B. toxisperma*.

Beyond the sexual behavior and sex organs' weights, the evaluation of the male fertility/infertility emphases on sperm quality (count, motility

and morphological defects) and the histopathologic examination of testis (area of the seminiferous epithelial, aspects of germ cells and magnitude of spermatogenesis). In the literature, acute (for 6h) and chronic (5-6h/day for 60 days) immobilization stress decreased sperm count, viability and motility [66-68]. Similarly in this study, the 6-h/day immobilization stress for 35 consecutive days reduced sperm motility and concentration in the tail of epididymis. Our results showed that the aqueous extract of *B. toxisperma* at all tested doses prevented these immobilization stress-induced adverse effects. Sperm count in the tail of epididymis is positively related to the degree of spermatogenesis. As reported early, immobilization stress reduced spermatogenesis characterized by the reduced number of spermatogonia, primary and secondary spermatocytes, as well as spermatids [69]. Histopathological examination of the testis of rats treated with the aqueous extract of *B. toxisperma* showed an increased spermatogenesis as evidenced by increase in number of spermatogonia, primary and secondary spermatocytes and spermatids. In other words abundance of spermatozoa in seminiferous tubules of animals treated with the aqueous extract of *B. toxisperma* compared to the untreated controls clearly indicates spermatogenesis. According to Nirupama *et al.* [70], most of the stress-induced alterations in the spermatogenesis and antioxidant status of the testis are irreversible indicating the importance of the prevention. However, stress is an unavoidable phenomenon and people have to face it day-to-day life. Therefore, the aqueous extract of stem bark of *B. toxisperma*, that prevented all these alterations, appears to be quite interesting and promising to overcome/prevent stress-induced alterations of male sexual behavior and reproductive dysfunction.

Phytochemical screening showed that the aqueous extract of *B. toxisperma* contains flavonoids that are probably responsible for the androgenic properties and the high antioxidant power observed *in vivo* and *in vitro*, respectively. Indeed, flavonoids are well-known as antioxidant compounds. Stressful conditions are responsible for the imbalance in the oxidant/antioxidant system by increasing reactive oxygen species (ROS) production and lipid peroxidation, and decreasing antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities, especially in organs like testis rich in polyunsaturated fatty acid and poor in antioxidant defense [71-73]. Accordingly, our study suggests that the aqueous extract of *B. toxisperma* probably improved oxidative status in the testis and therefore, prevented the reduced mobility and concentration of sperm in the tail of epididymis as well as testicular alterations induced by the stress.

CONCLUSION

The data suggest that the aqueous extract of *B. toxisperma* has aphrodisiac properties both in normal and stressed rats. It can also prevent the stress-decreased spermatozoa count and motility, and germinal cells in the tubule lumen. To the best of our knowledge this study provides the first substantial scientific background for the traditional use of this plant against various physiological-related reproductive dysfunctions and would justify the use of *B. toxisperma* as aphrodisiac and against infertility in males.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank M. Chegang Benjamin and all members of the research unit of Pr. Njamen Dieudonné for their help during the experiments.

REFERENCES

- Cooper TG, Noonan E, Eckardstein S. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum. Reprod.* 2010; 16(3):231-245.
- Yuan J, Zhang R, Yang Z, Lee J, Liu Y, Tian J, *et al.* Comparative effectiveness and safety of oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for

- erectile dysfunction: a systematic review and network meta-analysis. *Eur. Urol.* 2013; 63:902-912.
- Yuan J, Zhang R, Yang Z, Lee J, Liu Y, Tian J, *et al.* Comparative effectiveness and safety of oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction: a systematic review and network meta-analysis. *Eur. Urol.* 2013; 63:902-912.
- Colpia G, Weidnerb W, Jungwirthe A, Pomerold J, Pappé G, Hargreavef T, *et al.* EAU guidelines on ejaculatory dysfunction. *Eur. Urol.* 2004; 46:555-558.
- Simons JS, Carey MP. Prevalence of sexual dysfunctions: Results from a decade of research. *Arch. Sex. Behav.* 2000; 30(2):177-219.
- Yakubu MT, Akani MA, Oladiji AT. Male sexual dysfunction and methods used in assessing medicinal plants with aphrodisiac potentials. *Pharmacognosy Rev.* 2007; 1:49-56.
- Corona G, Monami M, Rastrelli G, Aversa A, Tishova Y, Saad F, *et al.* Testosterone and metabolic syndrome: a meta-analysis study. *J. Sex. Med.* 2011; 11(8):272-283.
- Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 1992; 267(9):1244-1252.
- Hou G, Xiong W, Wang M, Chen X, Yuan TF. Chronic stress influences sexual motivation and causes damage to testicular cells in male rats. *J. Sex. Med.* 2014; 11:653-663.
- Malan NT, Stalder T, Schlaich MP, Lambert GW, Hamer M, Schutte AE *et al.* Chronic distress and acute vascular stress responses associated with ambulatory blood pressure in low testosterone African men: the SABPA Study. *J. Hum. Hypertens.* 2014; 28(6):393-398.
- Kanter M, Aktas C, Erboga M. Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Toxicol. Ind. Health.* 2013; 29(2):99-113.
- Kheirabad MK, Khodabandeh Z, Rahmanifar F, Tamadon A, Jahromi BN, Owjifard M, *et al.* Testicular germ cells apoptosis following exposure to chronic stress in rats. *Asian Pacific J. Reprod.* 2016; 5(5):371-375.
- Retana-Márquez S, Viguera-Villaseñor RM, Juárez-Rojas L, Aragón-Martínez A, Reyes TG. Sexual behavior attenuates the effects of chronic stress in body weight, testes, sexual accessory glands, and plasma testosterone in male rats. *Horm. Behav.* 2014; 66:766-778.
- Juárez-Rojas L, Viguera-Villaseñor RM, Fahiel C, Retana-Márquez S. Gradual decrease in spermatogenesis caused by chronic stress. *Acta. Histochem.* 2017; 119(3):284-291.
- Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjøllund NH, Kolstad H, Henriksen TB, *et al.* Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *Lancet.* 1998; 352:1172-1177.
- Collodel G, Moretti E, Fontani V, Rinaldi S, Aravagli L, Saragò G, *et al.* Effect of emotional stress on sperm quality. *Ind. J. Med. Res.* 2008; 128:254-261.
- Yazawa H, Sasagawa I, Ishigooka M, Nakada T. Effect of immobilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats. *Hum. Reprod.* 1999; 14(7):1806-1810.
- Bitgul G, Tekmen I, Keles D, Oktay G. Protective effects of resveratrol against chronic immobilization stress on testis. *ISRN Urol.* 2013; 20:214-221. 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/278720>
- Aziz NM, Ragy MM, Gayyed MF. Effect of acute immobilization stress with or without a hemoxygenase inducer on testicular structure and function in male albino rats. *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* 2013; 24(4):255-262.
- Chidrawar VR, Chitme HR, Patel KN, Patel NJ, Racharla VR, Dhoraji NC, *et al.* Effects of *Cynodon dactylon* on stress-induced infertility in male rats. *J. Young Pharm.* 2011; 3(1):26-35.
- Lin H, Yuan K, Zhou H, Bu T, Su H, Liu S, *et al.* Time-course changes of steroidogenic gene expression and steroidogenesis of rat Leydig cells after acute immobilization stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15:21028-21044.
- Gianni B, Yu C, Su C, Tsai J. Compliance of sildenafil treatment for erectile dysfunction and factors affecting it. *Int. J. Impot. Res.* 2006; 18:146-149.
- Lue TF. Erectile dysfunction. *New Eng. J. Med.* 2000; 342:1802-1813.
- Bechara RMD, Manabu OMD, Harulkeda MD, Haruhiro IMD. Per-oral endoscopic myotomy, 1000 cases later: pearls, pitfalls, and practical considerations. *Gastro. Endo.* 2016; 84:330-338.
- Hatzimouratidis K, Eardley I, Giuliano F, Moncada I, Salonia A. European Association of Urology. Guidelines on male sexual dysfunction: Erectile dysfunction and premature ejaculation. *Eur. Urol.* 2010; 57(5):804-814.
- Yuan J, Zhang R, Yang Z, Lee J, Liu Y, Tian J, *et al.* Comparative effectiveness and safety of oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction: a systematic review and network meta-analysis. *Eur. Urol.* 2013; 63:902-912.
- Chen L, Staubli SEL, Schneider MP, Kessels AG, Ivic S, Bachmann LM, *et al.* Phosphodiesterase 5 inhibitors for the treatment of erectile dysfunction: Atrade-offnetworkmeta-analysis. *Eur. Urol.* 2015; 68(4):674-680.

28. Laird SA, Betafor M, Enanga M, Fominyam C, Itoe M, Litonga E, *et al.* Medicinal Plants of the Limbe Botanic Garden.(2nded.). Limbe Botanic Garden, Cameroon. 1997.
29. Louppe D. *Baillonella toxisperma* (Pierre). Plant resources of tropical Africa. [http:// www.prota4u.org/search.asp](http://www.prota4u.org/search.asp). 2005. Accessed 10 November, 2012.
30. Plenderleith K, Brown N. *Baillonella toxisperma*: a state of knowledge undertaken for the central African Regional program for the Environment, Oxford Forestry Institute. 2000.
31. Adjanooun EN, Aboubakar K, Dramane ME, Ebot JA, Ekper EG, Enow-Orock, *et al.* Contribution to ethnobotanical and foristic studies in Cameroon. CSTR/OUA, Cameroon. 1996.
32. Betti JL, Yongo OD, Obiang, Mbomio D, Midoko, Iponga D, *et al.* An Ethnobotanical and floristical study of medicinal plants among the Baka Pygmies in the periphery of the Ipassa- Biosphere Reserve, Gabon. European J. Med. Plants. 2013; 3(2):174-205.
33. Dibong SD, Mpondo E, Ngoye A, Kwin MF, Betti JL. Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets. J. Appli. Biosci. 2011; 37:2496-2507.
34. Ndah NR, Egbe AE, Bechem E, Asaha S, Yengo T, Chia EL, *et al.* Ethnobotanical study of commonly used medicinal plants of the Takamanda Rainforest South West, Cameroon. Afr. J. Plant Sci. 2013; 7(1):21-34.
35. Ndenecho EN. Herbalism and resources for the development of ethnopharmacology in Mount Cameroon region. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2009; 3(3):078-086.
36. Jiofack T, Ayissi I, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V. Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon, Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2009; 3(4):144-150.
37. Noumi E, Eboule AF, Nanfa R. Traditional health care of male infertility in Bansa, west Cameroon. Int. J. Pharm. Biomed Sci. 2011; 2(2):42-50.
38. Fodouop M, Bouopda TSP, Pegnyemb DE, Etoa FX, de Paula RA, Teixeira, Barbosa AA, Sartori, Machado SR, Fontes SMA, de Moraes CA, Mantovani HC. *In vitro* antibacterial activity of *Baillonella toxisperma* (Pierre) extracts against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* and *Bacillus cereus*. Afr. J. Microbiol. Res. 2015; 9:2088-2094.
39. Njimoh DL, Assob JCN, Mokake SE, Nyhalah DJ, Yinda CK, Sandjon B. Antimicrobial activities of a plethora of medicinal plant extracts and hydrolates against human pathogens and their potential to reverse antibiotic resistance. Int. J. Microbiol. 2015; 12:45-52.
40. Riwom ESH, Ngo MJ, Nyegue MA, Ndoye FC, Fodouop M, Bouopda TSP, *et al.* *In vitro* antibacterial activity of *Baillonella toxisperma* (Pierre) extracts against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* and *Bacillus cereus* F3748. Afr. J. Microbiol. Res. 2015; 9(39):2088-2094.
41. Riwom ESH, Ndoye FC, Nyegue MA, Bouopda TSP, Etoa FX. *In-vitro* effects of almond oil, barks and leaves extracts of *Baillonella toxisperma* (Pierre) against *Trichophyton soudanense* and *Trichophyton rubrum*. J. Med. Plants Res. 2015; 9(33):892-899.
42. Riwom ESH, Nyegue MA, Ndoye FC, Bouopda TSP, Etoa FX. *In vitro* evaluation of the antifungal activity of extracts of *Baillonella toxisperma* (Pierre), a Sapotaceae, on the growth of some human pathogenic yeasts. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2015; 9(9):299-306.
43. Lagnika L, Attioua B, Vonthron-Senecheau C, Kaise M, Lobstei A, Sanni A, *et al.* *In vitro* preliminary study of antiprotozoal effect of four medicinal plants from Benin. J. Med. Plants Res. 2013; 7(10):556-560.
44. Betti JL. Medicinal plants sold in Yaoundé markets, Cameroon. Afr. study monographs. 2002; 23(2):47-64.
45. Jiofack T, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, Fongnzossie E, Nkongmeneck BA, *et al.* Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. Int. J. Med. Medical Sci. 2010; 2(3):60-79.
46. Osemeobo GJ. Can the rain forests of Nigeria sustain trade in medicinal plants? Int. J. Social Forestry. 2010; 3(1):66-80.
47. U.S. Department of Health & Human Services. Guidance for industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Rockville, USA: Office of New Drugs in the Center for Drug Evaluation and Research (CDER) at the FDA. July 2005. From: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Accessed March 5, 2015.
48. Basma AA, Zakaria Z, Latha LY, *et al.* Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. Asian Pac. J. Trop. Med. 2011; 4(5):86-390.
49. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. J. Food Chem. 1999; 64:555-559.
50. Benzie IFF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology. 1999; 299:15-27.
51. Amin KM, Khan MN, Rahman SZ, Khan NA. Sexual function improving effect *Mucuna pruriens* in sexually normal male rats. Fitoterapia. 1996; 67:53-8.
52. Zingue S, Magne NCB, Njamen D. The methanol-soluble fraction of *Millettia macrophylla* (Fabaceae) stem bark endowed with estrogenic properties has adverse effects on the male reproductive system of Wistar rats. J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. 2015; 26:53-64.
53. Inoko M, Kiharay Y, Morii I, Fujiwara H, Dasayana S. Transition from compensatory hypertrophy to dilated failing heart ventricles in Dahi-salt sensitive rats. Am. J. Physiol. 1994; 267:2471-82.
54. Monica C. District laboratory practice in tropical countries, Cambridge Low-Price Edition (2nd ed.). Cambridge University Press. UK. 2000; p.403.
55. Srikanth V, Malini T, Arunakaran J, Govindarajulu P, Balasubramanian K. Effects of ethanol treatment on epididymal secretory products and sperm maturation in albino rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999; 288:509-515.
56. Mbongue FG, Kamtchoung P, Essame OJ, Yewah PM, Dimo T, Lontsi D. Effect of the aqueous extract of dry fruits of *Piper guineense* on the reproductive function of adult male rats. Ind. J. Pharmacol. 2005; 37:30-32.
57. Kada SA, Miegueu P, Bilanda DC, Ngassam MF, Watcho P, Dzeufiet PD, *et al.* Ejaculatory activities of *Allanblackia floribunda* stem bark in spinal male Rats. Pharm. Biol. 2013; 51:10-14.
58. Yakubu MT, Afolayan AJ. Effect of aqueous extract of *Bulbine natalensis* (Baker) stem on the sexual behaviour of male rats. Int. J. Androl. 2005; 21:6255-6263.
59. Yakubu MT, Akanji MA, Oladiji AT, Adesokan AA. Androgenic potentials of aqueous extract of *Massularia acuminata* (G. Don) Bullock ex Hoyl. stem in male Wistar rats. J. Ethnopharmacol. 2008; 118(3):508-513.
60. McGinnis M, Dreifuss RM. Evidence for a role of testosterone-androgen receptor interactions in mediating masculine sexual behavior in male rats. Endocrinology. 1989; 124:618-626.
61. Saladin KS. Anatomy & physiology: The unity of form and function. SBN. 2003; 0073378259.
62. Chen Y, Wang Q, Wang FF, Gao HB, Zhang P. Stress induces glucocorticoid-mediated apoptosis of rat Leydig cells *in vivo*. Stress. 2012; 15:74-84.
63. Gray GD, Smith ER, Damassa DA, Ehrenkranz JR, Davidson JM. Neuroendocrine mechanisms mediating the suppression of circulating testosterone levels associated with chronic stress in male rats. Neuroendocrinology. 1978; 25:247-256.
64. Nicolaides NC, Kyrtzi E, Lamprokostopoulou A, Chrousos GP. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. Neuroimmunomodulation. 2015; 22:6-19.
65. Andersen ML, Bignotto M, Machado RB, Tufik S. Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. Braz. J. Med. Biol. Res. 2004; 37(6):791-797.
66. Hari PP, Reddy PS. Effect of restraint stress on lead-induced male reproductive toxicity in rats. J. Exp. Zool. 2012; 317:455-465.
67. Potemina TE. Impairment of spermatogenesis in male rats during stress. Bull. Exp. Biol. Med. 2008; 145(6):700-703.
68. Herman JP, Adams D, Prewitt C. Regulatory changes inneuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. Neuroendocrinology. 1995; 61(2):180-190.
69. Rai J, Pandey SN, Srivastava RK. Testosterone hormone level in albino rats following restraint stress of long duration. J. Anat. Soc. 2008; 53:17-19.
70. Nirupama M, Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi HN. Chronic intermittent stress-induced alterations in the spermatogenesis and antioxidant status of the testis are irreversible in albino rat. J. Physiol. Biochem. 2013; 69:59-68.
71. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant system and oxidative stress in the testes. Oxid. Med. Cell. Longev. 2008; 1(1):15-24.
72. García-Díaz EC, Gómez-Quiroz LE, Arenas-Ríos E, Aragón-Martínez A, Ibarra-Arias JA, Retana-Márquez MS. Oxidative status in testis and epididymal sperm parameters after acute and chronic stress by cold-water immersion in the adult rat. Syst. Biol. Reprod. Med. 2015; 61:150-160.
73. Turner TT, Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. J. Androl. 2008; 29(5):488-498.

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Simo RV, Ateba SB, Zingué S, Pieme CA, Njamen D. *Baillonella toxisperma* improves sexual performance and protects against stress-induced reproductive dysfunction in male Wistar rats. J Phytopharmacol 2019; 8(3):117-123.