

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN  
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET  
ENVIRONNEMENT



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

CENTRE FOR RESEARCH AND  
TRAINING IN GRADUATE  
STUDIES IN LIFE, HEALTH AND  
ENVIRONMENTAL SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

*DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY*

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE

*LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY*

**Effets protecteurs des graines de *Cucurbita maxima* Duchesne  
(Cucurbitaceae) sur un modèle d'hyperplasie bénigne de la  
prostate chez le rat Wistar**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes

Animaux

Option : **Physiologie Animale**

Par

**FOSSO Urich Roméo**

*Matricule : 14T2250*

*Licencié ès-sciences*

Sous la codirection de :



**ZINGUE Stéphane**

*Maître de Conférences*

*ENSET, UYI*

et

**NJAMEN Dieudonné**

*Professeur*

*FS, UYI*

*Année 2021*

## **DEDICACE**

Je dédie ce travail :

- A mon regretté papa **KENGNE André** ;
- A ma maman **MESSA Marie** ;
- A ma tutrice **NJIKE Magloire**.

## REMERCIEMENTS

A Dieu tout puissant qui a ouvert toutes les portes qui ont conduit à la réalisation de ce travail. Le présent travail ne saurait être l'œuvre d'une seule personne, mais le fruit de la contribution de plusieurs à qui il convient d'exprimer notre gratitude. Mes sincères remerciements vont au :

- **Professeur NJAMEN Dieudonné** qui a accepté de superviser ce travail, pour sa rigueur scientifique et ses conseils avisés ;
- **Professeur ZINGUÉ Stéphane (maître de conférences)** qui a accepté de diriger ce travail. Je lui suis reconnaissant de m'avoir initié dans la recherche, pour son soutien incommensurable ainsi que ses encouragements et ses critiques ;
- **Professeur DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré et Professeur NGUEGUIM TSOFAK Florence (maître de conférences)** pour avoir accepté respectivement de présider et d'examiner ce travail, pour leurs critiques ainsi que leur encouragement ;
- A tous mes enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales et plus précisément ceux du Laboratoire de Physiologie Animale pour leur encadrement et les connaissances transmises ;
- **Mme BAKAM Berlise, Epouse FOTSO** qui a suivi de près ce travail. Je lui suis gré de m'avoir tenu la main, et d'avoir toujours trouvé du temps à me consacrer durant toute la période de manipulation au laboratoire malgré ses multiples occupations ;
- **M. TAKALA Jean Pierre**, Technicien au Laboratoire d'Histologie et d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, pour l'aide apportée dans la réalisation de la partie histologique de ce travail.
- Mes aînés de laboratoire : **Dr. AWOUNFACK Charline Florence, Dr. ZEMO GAMO Franklin, Dr. SILIHE KAMGA Kévine, Dr. MAPTOUM Laure, M. RIEPOUO MOUCHILI Oumarou, M. NANBO GUEYO Télésphore, M. SIPPING KEMEGNE Marius, M. DJIKEM TADAH Rudig Nikanor, Mlle MOTOUM TEDJO Florette, Mlle ADJOFFOIN Chiara Nange, Mlle ATSAMA Perpétue, Mlle MASSOP WAMBA Christelle, Mlle YOUMBI Yvana, M. BASSONG Thierry Renaud, M. EBANGA EBANGA Benoît, M. SANGOU MOUSSA**, pour leur assistance lors des manipulations ainsi que leurs critiques et encouragements ;
- A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail et dont les noms ne figurent pas sur cette page. Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon estime et de ma profonde gratitude.

# SOMMAIRE

<b>DEDICACE.....</b>	<b>I</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>ii</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>Vi</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>Vii</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>Vii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1- Généralités sur l'appareil génital masculin.....</b>	<b>3</b>
I.1.1- Les organes génitaux externes .....	3
I.1.2- Les organes génitaux internes .....	3
<b>I.2- La prostate.....</b>	<b>4</b>
I.2.1- Définition et description structurale de la prostate.....	4
I.2.2- Anatomie zonale de la glande prostatique.....	4
I.2.3- Histologie de la prostate.....	5
I.2.4- Physiologie de la glande prostatique.....	6
<b>I.3- Hyperplasie bénigne de la prostate.....</b>	<b>8</b>
I.3.1- Définition et épidémiologie.....	8
I.3.2- Facteurs de risque.....	8
I.3.3- Etiologie de l'HBP.....	9
I.3.4- Stress oxydatif et l'HBP.....	10
I.3.5- Symptomatologie de l'HBP.....	11
I.3.6- Diagnostic de l'HBP.....	11
I.3.7- Traitements de l'HBP.....	12
<b>I.4- Plante : <i>Cucurbita maxima</i>.....</b>	<b>14</b>
I.4.1- Systématique.....	14
I.4.2- Origine et répartition géographique.....	14
I.4.3- Utilisation traditionnelle.....	14
I.4.4- Travaux antérieurs.....	15
<b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>16</b>

<b>II.1- Matériel.....</b>	<b>16</b>
II.1.1- Matériel végétal.....	16
II.1.2- Matériel animal.....	16
<b>II.2- Méthodes.....</b>	<b>16</b>
II.2.1- Obtention de la poudre des graines <i>C. maxima</i> crues.....	16
II.2.2- Extraction à froid de l'huile de <i>C. maxima</i> .....	16
II.2.3- Préparation des solutions de <i>Cucurbita maxima</i> à administrer.....	16
II.2.4- Préparation des tampons et des solutions.....	17
II.2.5- Détermination de la teneur en minéraux : calcium, Magnésium, potassium, sodium, et le phosphore.....	19
II.2.6- Induction de l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	19
II.2.7- Evaluation des effets protecteurs des graines de <i>C. maxima</i> contre l'HBP.....	19
II.2.8- Evaluation des effets protecteurs d'une prise intermittente des graines de <i>C. maxima</i> .....	20
II.2.9- Evaluation des effets protecteurs de l'huile et du tourteau des graines de <i>C. maxima</i> sur l'HBP.....	20
II.2.10- Sacrifice et collecte des organes.....	20
II.2.11- Réalisation de l'homogénat de la prostate.....	21
<b>II.3- Analyses biochimiques.....</b>	<b>21</b>
II.3.1- Mesure de l'activité de la catalase dans la prostate.....	21
II.3.2- Dosage des protéines totales.....	22
II.3.3- Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans la prostate.....	22
II.3.4- Mesure de l'activité du Glutathion réduit (GSH) dans la prostate.....	23
II.3.5- Mesure du taux de Malondialdéhyde (MDA) dans la prostate.....	23
II.3.6- Mesure de la concentration sérique de la PSA.....	24
II.3.7- Mesure de la concentration sérique de testostérone.....	25
II.3.8- Analyse histologique.....	25
<b>II.4.- Analyse statistique.....</b>	<b>27</b>
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>28</b>
<b>III.1- Résultats.....</b>	<b>28</b>
III.1.1- Analyse minérale des graines de <i>Cucurbita maxima</i> .....	28
III.1.2- Effet des graines de <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur l'HBP.....	28
III.1.3- Effets de la fréquence de la prise des graines de <i>C. maxima</i> crues sur l'HBP.....	34

III.1.4- Effets comparatifs de l'huile et des tourteaux issus des graines de <i>C. maxima</i> .....	37
<b>III.2- Discussion</b> .....	<b>39</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	<b>44</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>45</b>
<b>ANNEXE</b> .....	<b>51</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Appareil reproducteur masculin .....	3
<b>Figure 2:</b> Glandes prostatiques et conduit déférent .....	5
<b>Figure 3:</b> Histologie générale d'une glande prostatique .....	6
<b>Figure 4:</b> Mécanisme génotropique de la stimulation androgénique .....	7
<b>Figure 5:</b> Photographies de <i>Cucurbita maxima</i> .....	14
<b>Figure 6:</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur la morphologie de la prostate après 28 jours de traitement.....	28
<b>Figure 7:</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.....	29
<b>Figure 8:</b> Microphotographies H&E200 de la prostate de rats.....	30
<b>Figure 9:</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur le taux de protéines totales (A) et la taille de l'épithélium (B) de la prostate après 28 jours de traitement.....	31
<b>Figure 10 :</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur quelques paramètres du stress oxydatif après 28 jours de traitement.....	32
<b>Figure 11:</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur la peroxydation lipidique (MDA) dans la prostate après 28 jours de traitement.....	33
<b>Figure 12:</b> Effets des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues et cuites sur les taux de testostérone et du PSA sérique après 28 jours de traitement.....	34
<b>Figure 13:</b> Effets de la fréquence de prise des graines du <i>Cucurbita maxima</i> crues sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.....	35
<b>Figure 14:</b> Microphotographies H&E200 de la prostate de rats.....	35
<b>Figure 15:</b> Effets de la fréquence de prise des graines de <i>Cucurbita maxima</i> crues sur la taille de l'épithélium de la prostate fraîche après 28 jours de traitement.....	36
<b>Figure 16:</b> Effets comparatifs de l'huile et des tourteaux des graines de <i>Cucurbita maxima</i> sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.....	37
<b>Figure 17:</b> Microphotographies H&E200 de la prostate du rat.....	38

## LISTE DES FIGURES

<b>Tableau I:</b> Protocole d'obtention de la courbe d'étalonnage pour la détermination de l'activité de la catalase.....	21
<b>Tableau I:</b> Protocole de dosage des protéines totales prostatiques par la méthode de Bradford...	22
<b>Tableau I:</b> Composition minéralogique des graines de <i>Cucurbita maxima</i> .....	28

## LISTE DES ABREVIATIONS

- APG:** “*Angiosperm Phylogeny Group*”
- BSA:** “*Bovine Serum Albumin*”
- DHT:** Dihydrotestostérone
- DTNB:** Acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque
- EGF:** “*Epidermal Growth Factor*”
- ELISA:** “*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*”
- ERO :** Espèces Réactives d'Oxygènes
- ER $\alpha$ :** “*Estrogen Receptor alpha*”
- ER $\beta$ :** “*Estrogen Receptor beta*”
- FGF-2:** “*Fibroblast Growth Factor-2*”
- GMPC:** Guanosine Monophosphate cyclique
- GSH:** Glutathion réduit
- HBP :** Hyperplasie Bénigne de la Prostate
- HNC :** Herbier National du Cameroun
- IGF-1:** “*Insulin Like Growth Factor-1*”
- IL :** Interleukine
- Kd :** Kilo Dalton
- KGF :** Facteur de croissance des kératinocytes
- MDA:** Malondialdehyde
- PC:** Poids Corporel
- PSA:** “*Prostatic Specific Antigen*”
- RA :** Récepteur Androgénique
- SOD :** Superoxyde dismutase
- TBA:** Thiobarbiturique
- TGF-1:** “*Transforming Growth Factor-1*”
- TMB-HRP:** 3,3',5, 5'- tétraméthylbenzidine-Horseradish peroxidase
- TNB:** Acide 5-thiol-2-nitrobenzoïque

## ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is the most common benign pathology of the male urogenital tract. *Cucurbita maxima* Duchesne is an edible Cucurbitaceae, used in many countries to treat various diseases. Its seeds are popular in the West Region of Cameroon for their possible beneficial effects on the prostate. The objective of the present work was to evaluate its protective effects on a model of induced BPH in male rats. To do this, raw and cooked *C. maxima* seeds were administered by gavage at the doses of 125, 250, 500 and of 1000 mg/kg PC concomitantly with testosterone (3 mg/kg) sc to induce HBP. Subsequently, raw seeds at the optimal dose of 500 mg/kg were administered daily (7D/7) and intermittently (3D/ 7) following the same protocol. To determine which of the *C. maxima* seed oil or cake was responsible for its effects, a cold oil extraction was conducted. The doses of 85, 170 and 340 mg/kg for the oil and 160, 320 and of 640 mg/kg for the oil cake were deduced in proportion to the effective dose (500 mg/kg) and tested on HBP. In these different experiments, distilled water and finasteride (5 mg/kg) BW were administered to the normal and positive control groups respectively. The parameters evaluated were: the relative mass, volume and size of the prostatic epithelium, the level of total proteins and markers of oxidative stress in the prostate, the levels of prostate specific antigen (PSA) and serum testosterone. The result obtained showed that the administration of testosterone induced BPH, materialized by a significant increase in the relative mass, volume, total protein level and size of the prostate epithelium. Raw *C. maxima* seeds better counteracted the effect of testosterone by significantly decreasing these parameters with an optimal effect at the dose of 500 mg/kg BW. *C. maxima* seeds significantly inhibited the decrease in superoxide dismutase activity and reduced glutathione levels and decreased malondialdehyde levels. Similarly, they prevented the increase in PSA and decrease serum testosterone levels compared to animals receiving testosterone alone. Daily intake of these seeds were more effective by intermittent intake, and the oil at 85 mg/kg was more protective against HBP than the oil cakes. These results suggest protective properties of *C. maxima* seeds on the occurrence of HBP and would therefore justify its use by the populations of the West Cameroon Region for the prevention of BPH.

**Key word:** Benign prostatic hyperplasia, *Cucurbita maxima*, Testosterone, PSA, Antioxidant.

## RESUME

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est la pathologie bénigne la plus fréquente de l'appareil urogénital mâle. *Cucurbita maxima* Duchesne est une Cucurbitacée, comestible utilisée dans de nombreux pays pour traiter diverses maladies. Ses graines sont plébiscitées dans la Région de l'Ouest-Cameroun pour leurs possibles effets bénéfiques sur la prostate. L'objectif du présent travail était donc d'évaluer ses effets protecteurs sur un modèle d'HBP induite chez le rat mâle. Pour ce faire, les graines de *C. maxima* crues et cuites ont été administrées par gavage aux doses de 125, 250, 500 et de 1000 mg/kg PC concomitamment avec la testostérone (3 mg/kg) *sc* pour induire l'HBP. Par la suite, les graines crues à la dose optimale de 500 mg/kg ont été administrées quotidiennement (7J/7) et de manière intermittente (3J/7) suivant le même protocole. Pour savoir lequel de l'huile ou du tourteau des graines de *C. maxima* est responsable de ses effets, une extraction d'huile à froid a été menée. Des doses de 85, 170 et de 340 mg/kg pour l'huile et de 160, 320 et de 640 mg/kg pour les tourteaux ont été déduites au prorata de la dose efficace (500 mg/kg) et testées sur l'HBP. Dans ces différentes expérimentations, l'eau distillée et le finastéride (5 mg/kg) PC ont été administrés respectivement aux groupes témoins normal et positif. Les paramètres évalués étaient: la masse relative, le volume et la taille de l'épithélium prostatique, le taux de protéines totales et les marqueurs du stress oxydatif dans la prostate, les taux d'antigène spécifique de la prostate (PSA) et la testostérone sérique. Les résultats obtenus montrent que l'administration de la testostérone a induit une HBP, matérialisée par une augmentation significative de la masse relative, du volume, du taux de protéines totales et la taille de l'épithélium prostatique. Les graines de *C. maxima* crues ont mieux contrecarré l'effet de la testostérone par une diminution significative de ces paramètres avec un effet optimal à la dose de 500 mg/kg PC. Les graines de *C. maxima* ont significativement inhibé la baisse de l'activité de la superoxyde dismutase et le taux de glutathion réduit et diminué le taux de malondialdéhyde. De même, elles ont empêché l'augmentation du taux de PSA et diminué le taux de testostérone sérique comparé aux animaux recevant la testostérone seule. La prise quotidienne de ces graines s'est avérée plus efficace qu'une prise intermittente ; de même l'huile à la dose de 85 mg/kg a mieux protégé contre l'HBP que les tourteaux. Ces résultats suggèrent des propriétés protectrices des graines de *C. maxima* sur la survenue de l'HBP et justifieraient de ce fait son utilisation par les populations de la Région de l'Ouest-Cameroun pour la prévention de l'HBP.

**Mots clés : Hyperplasie bénigne de la prostate, *Cucurbita maxima*, Testostérone, PSA, Antioxydant.**

## INTRODUCTION

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est caractérisée par l'augmentation de la taille de la prostate en raison d'une augmentation du nombre de cellules stromales et épithéliales. Elle peut causer de nombreux problèmes de santé tels que la rétention urinaire, les infections récurrentes des voies urinaires pouvant conduire à des calculs vésicaux (Iscaife *et al.*, 2018). Elle s'accompagne de l'augmentation du volume de la prostate, d'une obstruction sous-vésicale et des symptômes du bas de l'appareil urinaire tels que : la pollakiurie diurne et nocturne, retard au démarrage de la miction et sensation de vidange incomplète (Descazeaud *et al.*, 2015). C'est la pathologie bénigne la plus fréquente de l'appareil urogénital masculin, affectant approximativement 8% des hommes âgés de 40 ans pour atteindre 90% des hommes de 90 ans (Langan, 2019). En Afrique, on estime que 40% des hommes âgés de 50 ans et plus présentent des troubles urinaires liés à une HBP. Au Cameroun, elle représente la tumeur bénigne la plus fréquente de l'appareil urogénital masculin (Sow *et al.*, 2006).

L'étiologie et la pathogenèse de l'HBP ne sont pas bien comprises. Plusieurs paramètres incluant les hormones sexuelles stéroïdiennes, le syndrome métabolique, l'obésité, l'activité physique, l'alimentation (notamment les aliments riches en lipides) et l'inflammation sont considérés comme jouant un rôle dans la pathogenèse de l'HBP (Minciullo *et al.*, 2015). En effet, la croissance de la prostate est sous l'influence directe de la dihydrotestostérone, elle-même issue de la conversion de la testostérone par la 5 $\alpha$ -réductase. Cette pathologie s'accompagne des signes obstructifs tels que la faiblesse et le retard à l'initiation du jet urinaire, l'augmentation de la fréquence des mictions, la sensation de mauvaise vidange vésicale et des signes irritatifs tels que la pollakiurie diurne et nocturne (Speakman *et al.*, 2014) qui, cumulés avec son incidence croissante font d'elle un véritable problème de santé publique qui affecte l'humanité entière.

Face à cette menace grandissante, la médecine moderne a développé plusieurs stratégies thérapeutiques parmi lesquelles l'hormonothérapie qui détient une place de choix. C'est l'exemple des inhibiteurs de la 5 $\alpha$ -réductase (finastéride et dutastéride), des antagonistes alpha-1-adrénergiques (oxybutynine, la toltérodine), des  $\alpha$ -bloquants (alfuzosine, dexazosine) et des inhibiteurs de la phosphodiesterase (sildenafil, tadalafil) (Silva *et al.*, 2014) qui sont les plus présents sur le marché avec des mécanismes d'action remarquables leur permettant de traiter et de prévenir une récurrence d'HBP. Ces traitements sont malheureusement associés à des effets secondaires dont les plus communs sont : les étourdissements, la baisse de la libido, la dysfonction érectile, l'hypotension, la tachycardie et l'éjaculation rétrograde (Yan *et al.*, 2021). Ces effets indésirables et invalidants ont amené plusieurs patients à se tourner vers des alternatives naturelles à base des plantes médicinales. C'est ainsi que les extraits de *Pygeum africanum* et *Serenoa repens* ont démontré des effets intéressants et sont commercialisés comme phytomédicaments pour traiter cette pathologie (Sharma *et al.*, 2017). Ces derniers sont eux aussi associés aux effets secondaires tels que les nausées, douleurs abdominales,

œdèmes et éruptions cutanées. De plus, l'intérêt pour la prise en charge médicamenteuse de l'HBP a considérablement baissé ces dernières décennies à causes des nombreuses limites mais aussi de la durée du traitement (Cicero *et al.*, 2019). C'est pour cette raison que de nombreux chercheurs s'intéressent aux moyens d'améliorer l'hygiène de vie et l'alimentation pour prévenir l'HBP car dit-on : « prévenir vaut mieux que guérir ». Dans le même ordre d'idées, *Allium sativum* et l'huile *Cucurbita pepo* ont montré des effets protecteurs sur l'HBP chez le rat (Chung *et al.*, 2016 ; Ramak *et Mahboubi*, 2019).

Pour apporter notre pierre à cet édifice, nous nous sommes intéressés aux graines de *Cucurbita maxima* qui sont consommées par la population Camerounaise pour prévenir des pathologies de la prostate parmi lesquelles l'HBP. Les travaux antérieurs réalisés sur cette plante montrent qu'elle possède des propriétés antidiabétiques (Mahmoodpoor *et al.*, 2018), améliore la dysfonction urinaire dans le syndrome de la vessie hyperactive et protège les organes de la toxicité induite par le stress oxydatif et la peroxydation lipidique (Mollika *et al.*, 2020). Les feuilles ont montré des propriétés antioxydantes et inhibent l'activité de l' $\alpha$ -amylase (Al-Shaheen *et al.*, 2013). Une étude phytochimique du jus des fruits a révélé la présence de flavonoïdes, des tanins, des phénols, des saponines et des terpénoïdes (Ozioko *et al.*, 2020). Du meilleur de nos connaissances, aucune étude scientifique n'a été réalisée sur les possibles effets de *C. maxima* sur la prostate. C'est pourquoi le présent travail avait pour objectif d'évaluer les effets protecteurs des graines de *C. maxima* sur un modèle d'HBP chez le rat Wistar.

## **Objectif :**

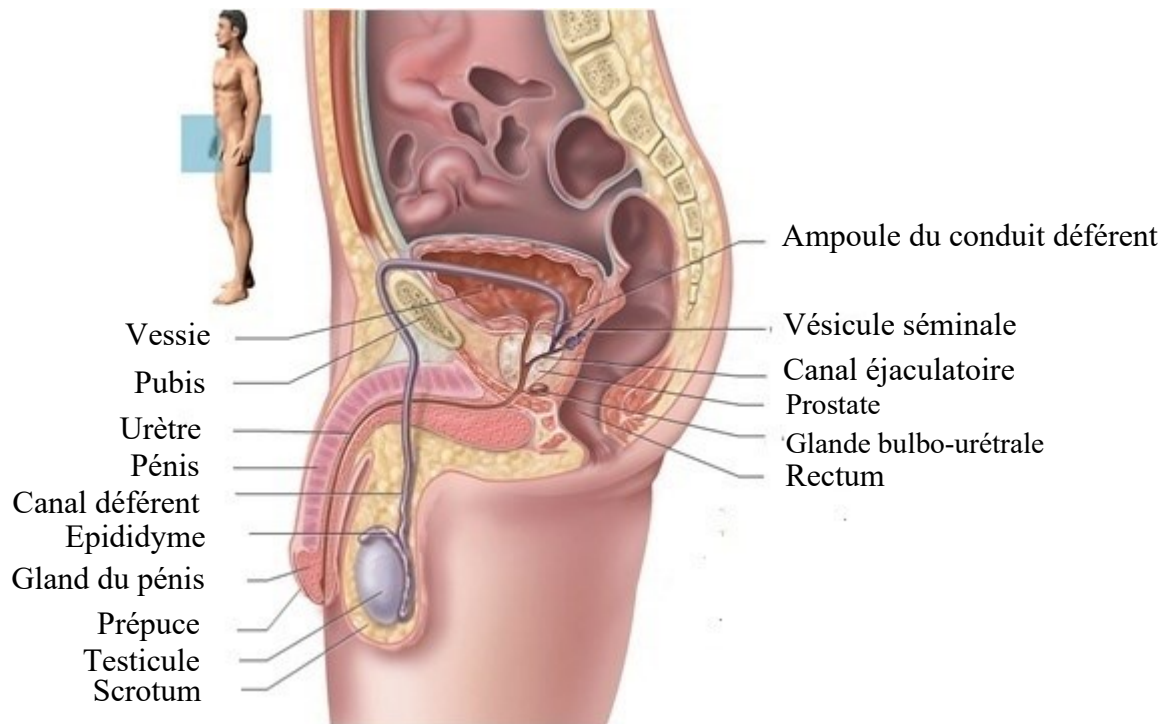
### **Objectifs spécifiques :**

Il s'agissait spécifiquement de :

- ❖ évaluer les effets protecteurs des graines de *C. maxima* Duchesne, crues et cuites contre les effets prolifératifs de la testostérone sur la prostate (masse, le volume et la taille de l'épithélium prostatique) ;
- ❖ évaluer et comparer les effets d'une prise quotidienne et intermittente des graines de *C. maxima* sur les paramètres clés de l'hyperplasie bénigne de la prostate ;
- ❖ évaluer et comparer les effets de l'huile et du tourteau des graines de *C. maxima* sur les paramètres clés de l'hyperplasie bénigne de la prostate ;
- ❖ déterminer le mode d'action de graines de *C. maxima* par évaluation des taux sériques de la testostérone et du PSA et quelques paramètres du stress oxydatif (MDA, SOD, catalase et GSH) dans la prostate.

## I.1- Généralités sur l'appareil génital masculin

L'appareil génital masculin est constitué des organes génitaux internes et externes (Figure 1)



**Figure 1 :** Appareil reproducteur masculin (Saladin, 2003).

### I.1.1- Les organes génitaux externes

Les organes génitaux externes sont constitués par le pénis, la bourse et le scrotum. Le pénis est l'organe de copulation, c'est-à-dire de l'acte sexuel au cours duquel les spermatozoïdes sont déposés dans les voies génitales de la femme. Le scrotum est un sac de peau et de fascia superficiel suspendu à l'extérieur des cavités abdominale et pelvienne dans lequel logent les testicules (Marieb, 2010).

### I.1.2- Les organes génitaux internes

Ils sont formés par des gonades, les voies génitales et les glandes annexes. Les gonades sont représentées par les testicules, qui sont les glandes mixtes car assurent simultanément la fonction exocrine par la production des spermatozoïdes dans les tubes séminifères, et une fonction endocrine par la production de la testostérone par l'intermédiaire des cellules interstitielles (Marieb, 2010). Les voies génitales sont entre autres l'épididyme qui est le lieu de maturation des spermatozoïdes, le canal déférent qui sert au transport des spermatozoïdes jusqu'au carrefour urogénital et l'urètre qui est un canal d'insémination traversant toute la longueur du pénis et s'ouvrant à l'extérieur par le méat urétral. Les glandes annexes sont constituées par les deux vésicules séminales, les deux glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper et la prostate. Ces glandes produisent la majeure partie du sperme (qui se compose des spermatozoïdes et des sécrétions des glandes annexes) (Marieb, 2010).

## **I.2- La prostate**

### **I.2.1- Description structurale et rôle de la prostate**

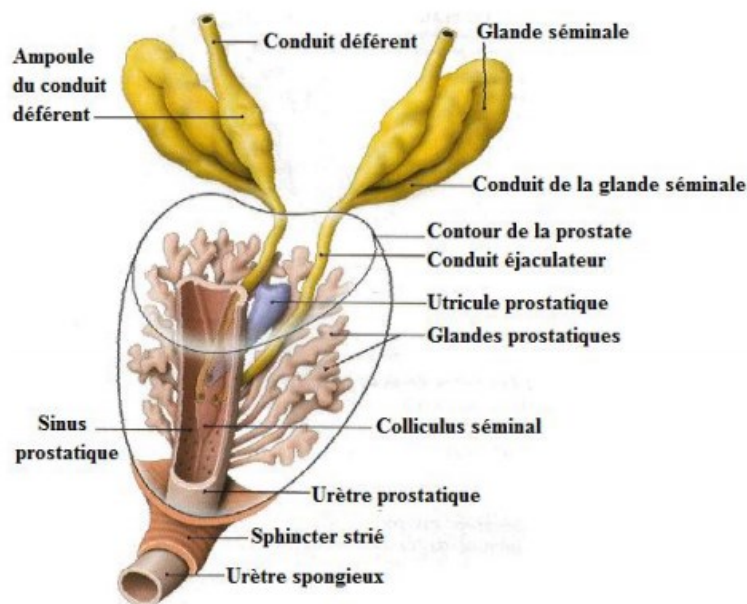
La prostate est une glande exocrine de l'appareil génital masculin qui a la forme et la taille d'une châtaigne, contenue dans une loge fibreuse ou loge prostatique. Elle mesure environ 3 cm de hauteur et 4 cm de large, pour un poids de 15 à 20 g chez l'homme jeune (Bourguet *et al.*, 2005 ; Seisen *et al.*, 2012). Elle est située dans l'espace sous péritonéal, en dessous de la vessie, au-dessus du plancher périnéal, en avant du rectum entre les muscles élévateurs de l'anus de chaque côté et en arrière de la symphyse pubienne. La prostate a la forme d'une châtaigne ou d'un cône aplati d'avant en arrière, à sommet inférieur, son axe est oblique en bas et en avant. Sa couleur varie en fonction de son activité du gris blanchâtre au rose pâle voir, rouge. On lui décrit 4 faces, une base et un sommet. Les faces se distinguent en face antérieure (aplatie et verticale), face postérieure (plus oblique et plus convexe) et deux faces latérales (larges et arrondies). La prostate est entièrement enveloppée d'une capsule conjonctive, mince et adhérente qui envoie en profondeur de nombreuses cloisons entre les lobules qui se rassemblent en un certain nombre de masses glandulaires formant « les lobes prostatiques ». Plusieurs canaux la traversent tels que l'urètre et les canaux éjaculateurs (Seisen *et al.*, 2012). La prostate est l'élément central du bas de l'appareil urinaire. Elle entoure l'urètre dans son trajet depuis le col vésical jusqu'au sphincter strié de l'urètre, qui assure en grande partie la continence urinaire. Elle contribue ainsi indirectement au cycle miction-contenance par sa composante musculaire lisse (Seisen *et al.*, 2012). Avec les vésicules séminales, glandes accessoires situées à proximité d'elle, elles jouent un rôle essentiel dans la synthèse et l'émission du liquide spermatique. Lors de l'éjaculation, c'est au niveau de l'urètre prostatique que se mélangent le liquide séminal produit par les vésicules séminales et les spermatozoïdes provenant des testicules via les canaux déférents (Seisen *et al.*, 2012 ; Association Française d'Urologie, 2009). La prostate est entourée par des pédicules vasculo-nerveux (nerfs caverneux et spongieux, artères pudendales accessoires et plexus veineux de Santorini) et dotée de cellules musculaires lisses participant en association avec les fibres musculaires des canaux déférents, des vésicules séminales, du canal de l'urètre et du périnée, au mécanisme d'éjaculation.

### **I.2.2- Anatomie zonale de la glande prostatique**

La glande prostatique est constituée de plusieurs parties (Figure 2). Selon le modèle anatomique de Mc Neal (1968), la prostate est répartie en quatre zones :

- ❖ La zone de transition, entourant l'urètre prostatique proximal. Elle est constituée de deux lobes regroupant 5% de la masse glandulaire prostatique dont les canaux s'abouchent à la partie terminale

de l'urètre prostatique proximal en amont de l'angle urétral. Elle est le siège de l'HBP chez l'homme ;



**Figure 2 :** Glandes prostatiques et conduit déférent (Kamina, 2005).

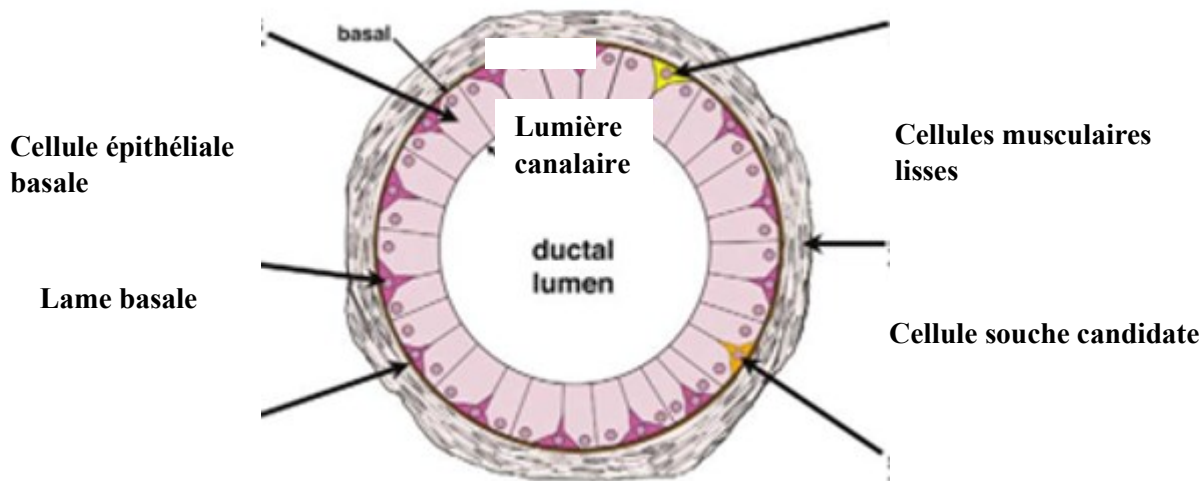
- ❖ La zone centrale, située en arrière de la zone de transition. Elle entoure les canaux éjaculateurs et forme la majeure partie de la base prostatique. Elle constitue 25% de la masse glandulaire totale dont les canaux s'abouchent dans l'urètre prostatique distal à proximité du *Veru montanum* ;
- ❖ La zone périphérique, entoure la zone centrale et l'urètre prostatique distal. Elle constitue par conséquent une petite partie seulement de la base prostatique mais essentiellement l'intégralité de l'apex prostatique. Elle forme 70% de la masse glandulaire prostatique dont les canaux s'abouchent également dans l'urètre prostatique distal à proximité du *Veru montanum* ;
- ❖ Le stroma fibro-musculaire antérieur développé à partir du col vésical en proximal et du sphincter strié en distal. Située en avant de l'urètre prostatique, cette zone constituée de fibres musculaires lisses et striées est complètement dépourvue de tissu glandulaire.

### I.2.3- Histologie de la prostate

Sur le plan histologique, la prostate est un organe musculo-glandulaire, comportant une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires logées dans un stroma conjonctif riche en fibres musculaires lisses, en fibres élastiques, en vaisseaux sanguins et en nerfs. L'épithélium glandulaire est constitué de deux couches de cellules, épithéliales et basales (Figure 3). Les premières sont des cellules sécrétrices bien différenciées et constituent des glandes sous forme d'acini, groupées en lobules (Boyle *et al.*, 1996).

On retrouve des cellules neuroendocrines disséminées au sein de cet épithélium tandis que le stroma est constitué de cellules musculaires lisses. La capsule est constituée d'une bande de collagène

nettement individualisable sur le plan histologique, notamment au niveau des faces latérales et postérieure. Les cellules glandulaires ont des récepteurs aux androgènes et sont donc hormono-dépendantes (Boyle *et al.*, 1996). Dans la lumière des tubulo-acini, on observe la présence relativement fréquente de cellules neuroendocrines. Ces cellules sont organisées en lamelles concentriques de glycocalyx. À partir de la quarantaine, ces symplexions ont tendance à se calcifier.



**Figure 3 : Histologie générale d'une glande prostatique** (D'après Marker *et al.*, 2003).

Les deux populations cellulaires prédominantes dans le stroma sont les fibroblastes et les cellules musculaires lisses (Kassen *et al.*, 1996). Les fibroblastes produisent, non seulement la matrice extracellulaire essentiellement composée de collagène et d'élastine, mais aussi de nombreux facteurs de croissance et cytokines, agissant indirectement sur la croissance et la différenciation du tissu épithélial prostatique. Les cellules musculaires lisses facilitent l'expulsion de sécrétions des cellules épithéliales prostatiques vers la lumière glandulaire en se contractant durant le phénomène d'éjaculation. L'important réseau de vascularisation et d'innervation de la prostate implique la présence de cellules endothéliales et nerveuses imbriquées dans le stroma et ce, dans des proportions moindres comparées aux fibroblastes et aux cellules musculaires lisses. Enfin, le stroma prostatique contient des cellules immunitaires telles que les macrophages, les polynucléaires et les lymphocytes dont la quantité varie selon le contexte pathologique (Bianchi-Frias *et al.*, 2010).

#### **I.2.4- Physiologie de la glande prostatique**

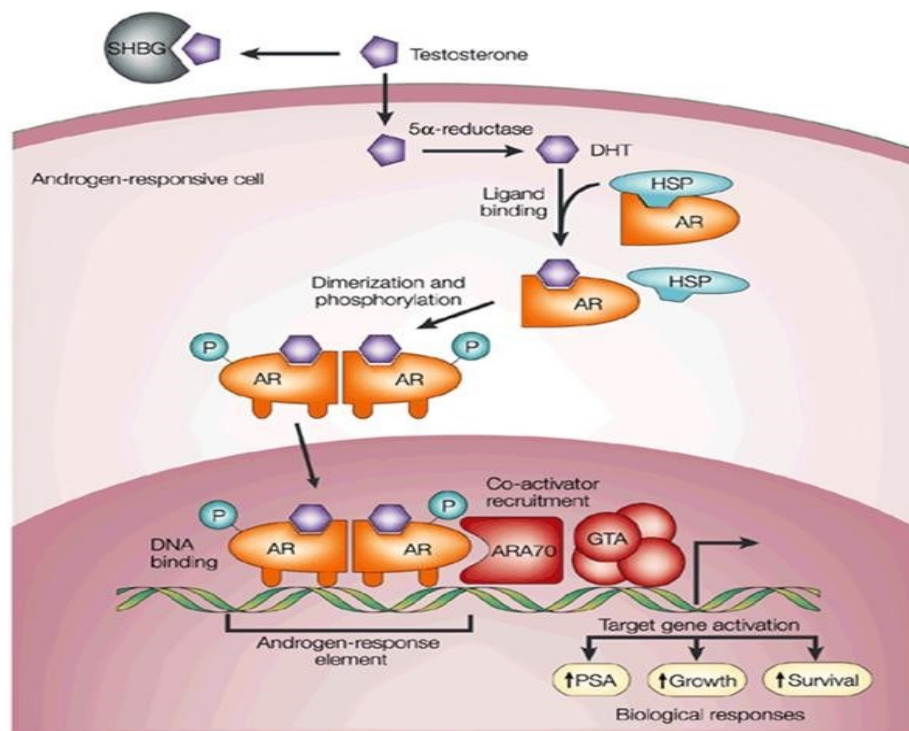
La prostate est au carrefour des voies urinaires et spermatiques. Très petite à la naissance, elle augmente de volume au moment de la puberté, puis après 50 ans. En raison de la localisation au carrefour des voies spermatiques et urinaires, la prostate est impliquée dans la miction, la fertilité et l'éjaculation (Verze *et al.*, 2016). Les sécrétions prostatiques participent à la formation du sperme et constituent 30% du volume du plasma séminal, soit 0,5 à 1 mL. Ce dernier est essentiellement composé des liquides sécrétés par les vésicules séminales, les glandes bulbo-urétrales (glandes de Cowper) et la prostate.

Les sécrétions prostatiques se présentent sous la forme d'un liquide blanchâtre, trouble, avec un pH acide (6,4). Elles contiennent des protéines, des électrolytes (Mg, Zn), du cholestérol, contenus dans des vésicules membranaires de phospholipides et de l'acide citrique. Les principales protéines sont le "Prostatic Specific Antigen" (PSA), la phosphatase acide prostatique, la protéine de sécrétion prostatique (spermine, qui donne son odeur au sperme) et l'albumine.

Le "PSA" est une glycoprotéine, dont le poids moléculaire est de 34 kD. Sa fonction est de liquéfier le sperme en hydrolysant les protéines sécrétées par les vésicules séminales ; elle libère donc les spermatozoïdes du coagulum du sperme. Parmi les électrolytes sécrétés, le zinc joue un rôle important, antibactérien et dans la liquéfaction du sperme. Le pH acide du liquide prostatique est une condition sine qua none de vitalité et de mobilité des spermatozoïdes (Carpenter *et al.*, 1990). Sa concentration est proportionnelle au volume de la prostate, lui-même corrélé à l'âge (Coulange, 2006).

### ➤ Contrôle hormonal de la prostate

La croissance de la prostate commence lorsque l'homme atteint la puberté et se poursuit sous l'influence des androgènes (et dans une moindre mesure des œstrogènes) qui guident la différenciation, l'activité cellulaire et l'apoptose, ainsi que l'action des facteurs de croissance et des vitamines (Martin *et al.*, 2008). Ils agissent sur les cellules par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique, le récepteur aux androgènes (RA). Le RA est intracellulaire plus précisément intracytosolique (Figure 4). Le mode d'action principal des androgènes est celui d'un facteur de transcription (action génotropique) bien qu'ils agissent également par l'intermédiaire de cascades de phosphorylations intra-cytosoliques (action non génotropique) (Réveiller, 2008).



**Figure 9 – Voie d'activation du récepteur aux androgènes par la voie classique, dite génomique** (d'après Feldman & Feldman 2001).

**Figure 4** : Mécanisme génotropique de la stimulation androgénique (Feldman et Feldman, 2001).

Une fois libérée de sa protéine porteuse plasmatique, la testostérone pénètre dans la cellule prostatique par diffusion simple et est métabolisée en majorité en dihydrotestostérone (DHT) par la 5 $\alpha$ -réductase. La fixation de la DHT au récepteur des androgènes libère la protéine de choc thermique ce qui permet la dimérisation et la fixation du RA. Ainsi dimérisé et phosphorylé, le couple RA+DHT pénètre dans le noyau de la cellule pour se fixer sur l'ADN. Là, il recrute les co-activateurs et déclenche la machinerie transcriptionnelle aboutissant à l'expression des gènes induisant la prolifération, la survie, la différenciation et la sécrétion de "PSA" par la cellule prostatique (Feldman et Feldman, 2001).

Une autre hormone impliquée dans le développement de la prostate est le 17 $\beta$ -œstradiol, qui provient de la conversion des androgènes par le cytochrome p450 au niveau du tissu adipeux, du cerveau et des surrénales. Les œstrogènes, en particulier le 17 $\beta$ -œstradiol, agissent de la même manière que les androgènes, mais via leurs propres récepteurs hormonaux nucléaires, à savoir les récepteurs des œstrogènes  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) et  $\beta$  (ER $\beta$ ). Il a été démontré que les récepteurs  $\alpha$  sont principalement situés dans le stroma prostatique tandis que les récepteurs  $\beta$  sont prédominants dans les cellules épithéliales basales (Ylikomi *et al.*, 2002). Ainsi, l'activation des ER $\alpha$  peut non seulement provoquer une prolifération des cellules stromales, mais peut également avoir une influence paracrine sur les cellules épithéliales adjacentes (Shao, 2014). Des études plus récentes montrent que le 17 $\beta$ -œstradiol augmente l'expression des récepteurs nucléaires de la DHT, accroissant ainsi la sensibilité de la prostate aux androgènes (Cunto *et al.*, 2019). Tous ces différents facteurs sus-cités favorisent l'installation d'une hyperplasie bénigne de la prostate.

### **I.3- Hyperplasie bénigne de la prostate**

#### **I.3.1- Définition et épidémiologie**

L'hyperplasie bénigne de la prostate est une maladie caractérisée par une prolifération non régulée du tissu conjonctif, du muscle lisse et de l'épithélium glandulaire au niveau de la zone de transition de la prostate. Son incidence augmente d'environ 20% chez les hommes ayant la quarantaine à environ 65% chez les hommes ayant la soixantaine d'années pour atteindre environ 90% chez les hommes de 80 ans (McCormick et Raynor 2020). En Afrique, on estime que plus de 40% des hommes âgés de 50 ans et plus présentent des troubles urinaires liés à une HBP. Au Cameroun, elle représente la tumeur bénigne la plus fréquente de l'appareil urogénital masculin (Sow *et al.*, 2006).

#### **I.3.2- Facteurs de risque**

Alors que l'âge reste le facteur de risque le plus important pour développer une HBP, le diabète, les maladies cardiaques, le syndrome métabolique et l'obésité semblent également être des facteurs de risque couramment rencontrés (McCormick et Raynor, 2020). Une influence héréditaire sur le

développement de l'HBP a été mise en évidence dans l'augmentation du risque d'incidence chez les frères et sœurs avec une apparition précoce de l'HBP (Sanda *et al.*, 1994).

### **I.3.3- Etiologie de l'HBP**

L'hyperplasie bénigne de la prostate est un processus pathologique lié à l'action de la DHT sur les récepteurs des androgènes. A ce sujet, plusieurs hypothèses ont été émises :

#### **❖ Hypothèse des androgènes**

La DHT se lie aux RA avec une affinité 10 fois plus élevée que la testostérone et stimule la transcription des facteurs de croissance qui stimulent à leur tour la prolifération cellulaire (Carson et Rittmaster, 2003).

#### **❖ Hypothèse des œstrogènes**

Avec l'âge, les hommes présentent un volume de tissu adipeux plus important. Ce dernier est riche en aromatasase qui transforme les androgènes en œstrogènes ; ceci combiné à une diminution de la sécrétion de testostérone (Muraleedharan *et al.*, 2010) modifiant l'équilibre entre les deux hormones sexuelles. Il pourrait donc s'agir de la combinaison de niveaux plus élevés d'œstrogènes et d'androgènes qui agissent ensemble dans la pathogenèse de l'HBP (Roberts *et al.*, 2004).

#### **❖ Hypothèse des facteurs de croissance et apoptose**

Dans la prostate, les facteurs de croissance sont normalement libérés par les cellules stromales et maintiennent l'homéostasie cellulaire de la prostate par les voies autocrines et paracrines (LaVignera *et al.*, 2016). Ils comprennent le facteur de croissance des kératinocytes (KGF), le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) et le facteur de croissance de l'insuline (IGF) qui favorisent tous la prolifération, tandis que le traitement par le Transforming Growth Factor-1 (TGF-1) entraîne l'apoptose (Ficarra *et al.*, 2014). L'activation des RA conduit à l'augmentation des facteurs de croissance à l'instar du TGF-1 qui induit la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes dans le stroma et régule la réponse des cellules épithéliales à l'IGF-1 entraînant l'hyperplasie liée à l'HBP.

#### **❖ Hypothèse des facteurs pro-inflammatoires**

L'inflammation joue un rôle clé, d'autant plus qu'une étude a montré que les macrophages pro-inflammatoires induisaient une augmentation de la prolifération stromale dans le tissu prostatique des patients souffrants de l'HBP via les voies de signalisation RA (Xu *et al.*, 2017).

La prostate normale contient plusieurs cellules importantes pour maintenir l'immunité, car la prostate peut être exposée à de nombreux agents pathogènes des voies urinaires. Dans les tissus

prostatiques sains, les lymphocytes T représentent la majorité de ces cellules (> 90%), avec principalement des cellules T de différenciation (CD 8 majoritairement) situées dans la région périglandulaire, tandis que les cellules T CD4 sont présentes dans le stroma (DeNunzio *et al.*, 2011). Dans les échantillons de tissu prostatique des patients souffrant de l'HBP, une inversion de ce rapport est observée, avec une plus grande proportion de cellules CD4, trahissant une inflammation chronique (Steiner *et al.*, 2003). La liaison de la DHT sur son récepteur stimule les lymphocytes T qui, une fois activés, libèrent des cytokines et les interleukines (IL) responsables de dommages cellulaires, comme une augmentation de l'expression de l'IL-8 dans les cellules épithéliales. Les chercheurs pensent que l'IL-8 jouerait un rôle principal dans la physiopathologie de l'HBP, car elle induit l'expression du Fibroblast Growth Factor-2, qui est un puissant facteur de croissance pour les cellules stromales et épithéliales (Giri *et al.*, 2000). Ce processus d'activation lymphocytaire, de libération de cytokines et d'hyperplasie induite par le facteur de croissance agit comme un cycle auto-entretenu, conduisant à une inflammation chronique et à une augmentation progressive du volume de la prostate (Ficarra *et al.*, 2014).

#### ❖ **Hypothèse de l'alimentation (Bravi *et al.*, 2006 ; Patel et Parsons 2014)**

L'alimentation faisant partie des facteurs modifiables pouvant être ciblés dans la prévention de l'HBP, joue un rôle prépondérant dans la survenue et la progression de l'HBP. En effet, des apports excessifs de calories génèrent le surpoids et l'obésité, qui sont des facteurs de risque d'HBP. De plus, un régime riche en graisses notamment d'origine animale, en viande rouge, en volaille, en produits laitiers, en céréales, en féculents et en pains augmenterait le risque d'HBP.

Par contre les fruits, les légumes, les graisses polyinsaturées et la vitamine D réduiraient ce risque. Les oligoéléments tels que la vitamine E, le sélénium, le lycopène et le carotène réduiraient également le risque d'HBP, tandis que le zinc influencerait positivement et négativement le risque d'HBP.

#### **I.3.4- Stress oxydatif et l'HBP**

Le stress oxydatif est aussi l'un des mécanismes suggérés comme étant l'une des causes du développement de l'HBP (Udensi et Tchounwou, 2016). Les dommages oxydatifs peuvent être exacerbés par une diminution de l'efficacité des mécanismes de défense antioxydants (Minciullo *et al.*, 2015). L'HBP étant une maladie associée à l'âge, il a été rapporté que l'âge augmente l'équilibre pro-oxydant/antioxydant vers un état plus oxydatif dans de nombreux tissus (Udensi et Tchounwou 2016). La prostate est un organe vulnérable aux dommages oxydatifs de l'ADN en raison du renouvellement cellulaire plus rapide et la présence de moins d'enzymes de réparation de l'ADN (Hamid *et al.*, 2011). Le stress oxydatif active le facteur de transcription NF- $\kappa$ B à travers la voie de transduction TNF- $\alpha$ /AP-1 et la voie NIK (NF- $\kappa$ B Inducing kinase). NF- $\kappa$ B est le régulateur principal de la transcription inflammatoire et ses gènes cibles sont les gènes de régulation de la réponse immunitaire, de

l'inflammation, de la prolifération cellulaire, de la migration cellulaire et de l'apoptose (Hamid *et al.*, 2011). L'exposition des cellules prostatiques aux médiateurs comme les EOR, active le NF- $\kappa$ B et induit une production locale de cytokines proinflammatoires (Wong *et al.*, 2009). Au cours de l'HBP, la voie TNF- $\alpha$ /AP-1 est fortement activée (Hamid *et al.*, 2011).

### **I.3.5- Symptomatologie de l'HBP**

Les symptômes du bas de l'appareil urinaire rencontrés dans l'HBP ont un retentissement sur la qualité de vie des patients et peuvent être observés au cours des trois phases de la miction, à savoir :

- ❖ Phase de remplissage : la pollakiurie diurne et nocturne, l'urgenterie, et la nycturie.
- ❖ Phase mictionnelle : retard au démarrage de la miction, difficulté à évacuer l'urine, associée ou non à une douleur (dysurie), un jet faible et une miction par poussée.
- ❖ Phase post-mictionnelle : sensation de vidange incomplète (Bonnaure-Sorbier, 2020).

### **I.3.6- Diagnostic de l'HBP**

#### **❖ L'interrogatoire clinique**

L'évaluation clinique de l'HBP débute par l'anamnèse du malade de façon à préciser l'importance de la gêne fonctionnelle. Certains résultats des enquêtes réalisées par différents organismes, quantifient le score des symptômes prostatiques ainsi que le score de l'impact des symptômes sur la qualité de vie. Elles permettent d'évaluer l'importance des signes fonctionnels urinaires.

#### **❖ Le toucher rectal**

Le toucher rectal est l'examen fondamental, car il apprécie le volume de la prostate, son indolence à la pression, sa consistance ferme ou élastique, son homogénéité et la recherche d'une éventuelle lésion suspecte. En cas d'HBP, cette dernière augmente de volume, perd son sillon médian mais conserve un aspect régulier et homogène et une consistance élastique ainsi que des bords bien délimités (Descazeaud, 2012).

#### **❖ Le dosage de l'Antigène Spécifique Prostatique**

Le "PSA" est un marqueur tissulaire prostatique produit chez l'homme par l'épithélium prostatique. Son rôle est celui d'une enzyme participant directement à la liquéfaction du sperme après l'éjaculation. La concentration du "PSA" est proportionnelle au volume de l'HBP, lui-même corrélé à l'âge (Coulange, 2006).

D'autres examens complémentaires tels que la créatinémie, la débitmétrie et l'analyse bactériologique des urines permettent de contribuer au diagnostic de l'HBP.

### **I.3.7- Traitements de l'HBP**

Le choix de la stratégie thérapeutique à utiliser pour traiter l'HBP dépend d'un certain nombre de facteurs tels que l'âge, la taille de la prostate, le poids corporel, le taux de "PSA" ainsi que la gravité des symptômes. Pour des symptômes légers n'affectant pas les activités quotidiennes du patient, il est conseillé des mesures hygiéno-diététiques et une surveillance. Lorsque les symptômes sont graves (rétention urinaire sévère), les interventions chirurgicales deviennent indispensables (Kapoor, 2012). Cinq grands groupes de médicaments sont couramment prescrits pour faire face à l'HBP seuls ou en association. Il s'agit des  $\alpha$ -bloquants, inhibiteurs de la 5- $\alpha$ -réductase, les anticholinergiques, les agonistes des récepteurs  $\beta$  et la phytothérapie.

#### **I.3.6.1- Traitements médicamenteux**

##### **❖ Les $\alpha$ -bloquants**

Les  $\alpha$ 1-bloquants aussi appelés  $\alpha$ -1 adrénergiques constituent le traitement médical de première intention des symptômes du bas de l'appareil urinaire en rapport avec l'HBP. Cinq molécules sont disponibles : tamsulosine, terazosine, alfuzosine, doxazosine, silodosine. Ces molécules agissent en se fixant sur les récepteurs  $\alpha$ -1 adrénergiques bloquant la contraction des cellules musculaires lisses qui entourent l'urètre prostatique ; ils réduisent ainsi le tonus musculaire et diminuent l'obstruction prostatique (Roehrborn *et al.*, 2013).

##### **❖ Les inhibiteurs de la 5- $\alpha$ réductase**

Les inhibiteurs spécifiques de la 5 $\alpha$ -réductase diminuent la concentration de la DHT prostatique et circulante et peuvent par ce biais, entraîner une involution du tissu hyperplasique et une réduction de la symptomatologie clinique. Deux principaux produits ayant une action inhibitrice remarquable sur la 5- $\alpha$ -réductase couramment recherchés sur le marché : un inhibiteur sélectif de la 5- $\alpha$ -réductase de type II, le Finastéride (Proscar®), et un inhibiteur des 2 iso-enzymes de types I et II : le Dutasteride (Avodart®) (Evans *et al.*, 2005).

##### **❖ Les inhibiteurs de la phosphodiesterase**

Les mécanismes d'action des inhibiteurs de la phosphodiesterase dans le traitement de l'HBP et l'amélioration des symptômes du bas de l'appareil urinaire ne sont pas clairs. Cependant ils sont connus pour inhiber la phosphodiesterase entraînant une augmentation du taux de guanylate cyclase (GMPc) qui est le second messager dans les voies de dilatation des cellules musculaires lisses prostatique (Matsumoto *et al.*, 2010).

### ❖ Les anticholinergiques et les antimuscariniques

Ce sont des médicaments qui interviennent dans le soulagement des symptômes liés à l'HBP spécialement lors de la phase de stockage et de miction. Ils diminuent l'hyperactivité du muscle détrusor ; ce qui diminue la contraction vésicale. Les médicaments approuvés sont entre autres le darifenacin, le solifenacin et le tropsium (Yamada *et al.*, 2018).

### ❖ Les agonistes des récepteurs beta-3

Ce sont les agonistes des récepteurs bêta comme le mirabegron qui induisent la relaxation du muscle détrusor et donc la vidange vésicale (Isaacson *et al.*, 2020).

Selon les experts, la bithérapie permettrait une évolution plus lente des symptômes avec une diminution significative du risque de rétention aiguë et d'intervention chirurgicale comparativement à une monothérapie. Cette différence a surtout été constatée pour les prostatites volumineuses de plus de 40 mg (Montorsi *et al.*, 2011).

### I.3.6.2- Traitement chirurgical

La chirurgie est recommandée d'emblée en cas d'HBP responsable d'une insuffisance rénale obstructive, récidivante malgré un traitement par des alpha-bloquants, d'une hématurie macroscopique récidivante, d'infections urinaires récidivantes, d'une lithiase vésicale, ou d'une incontinence urinaire par regorgement (Djavan *et al.*, 2013).

### I.3.6.3- La phytothérapie et les limites

Seuls deux médicaments traditionnels améliorés sont commercialisés dans la plupart des pays y compris le Cameroun : l'extrait d'écorce de prunier africain (*Pygeum africanum*, TADENAN®) et l'extrait du fruit de palmier nain de Floride (*Serenoa repens*, PERMIXON®).

Des essais sur les animaux indiquent que ces plantes exerceraient une action anti-inflammatoire et inhiberaient le développement des tissus responsables de l'hyperplasie prostatique (Szolnoki *et al.*, 2001). Bien qu'on ne connaisse pas précisément le mécanisme d'action du palmier nain, on pense que, tout comme les médicaments classiques, la plante inhiberait la conversion de la testostérone en dihydrotestostérone, substance qui interviendrait dans le développement de l'HBP (Marks *et al.*, 2001).

Outre leurs effets bénéfiques, *Serenoa repens* n'a pas d'effet significatif sur l'amélioration du résidu post-mictionnel, la puissance du jet urinaire ou encore du débit maximal. *Pygeum africanum* quant à lui est associé au risque d'hypersensibilité et aux troubles digestifs (Poirier, 2009). Notons également que la présence d'huile d'arachide dans le *Pygeum africanum*, est associée à un risque de survenue de réaction d'hypersensibilité chez le patient (choc anaphylactique, urticaires). La prise du *Serenoa repens* à jeun peut parfois occasionner des troubles gastro-intestinaux tels que nausées, brûlures d'estomac, douleurs épigastriques ainsi que rarement des réactions allergiques et un prurit.

Exceptionnellement, des gynécomasties (gonflement des tissus mammaires masculins) ont pu être observées, réversibles à l'arrêt du traitement chez des patients. (Dictionnaire Vidal, 2008). Ces traitements naturels sont réputés utiles mais n'ont pas fait l'objet d'essais cliniques contrôlés. De ce fait, ces traitements phyto-thérapeutiques ne peuvent pas être proposés comme standards dans la prise en charge des troubles mictionnels dus à l'HBP.

#### I.4- Plante : *Cucurbita maxima*

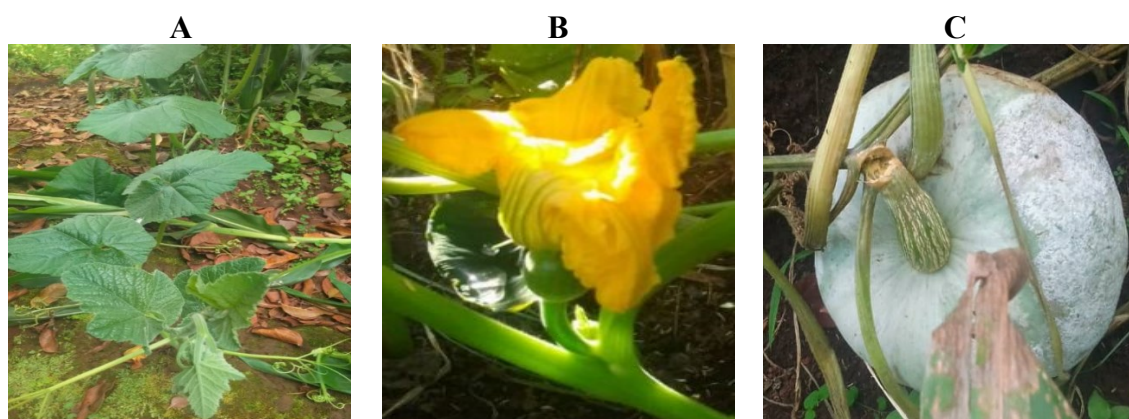
##### I.4.1- Systématique

Selon APG III, *C. maxima* obéit à la classification suivante (Maadsi et Khaled, 2012) :

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre :</b>	Cucurbitales
<b>Famille :</b>	Cucurbitaceae
<b>Genre :</b>	<i>Cucurbita</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne

##### I.4.2- Origine et répartition géographique

Le genre *Cucurbita* est indigène des Amériques (Whitaker, 1947). Les restes archéologiques indiquent que l'origine de ces plantes cultivées est allopatrique et que leur domestication par les Amérindiens s'est faite à des époques et dans des lieux différents (Whitaker et Cutler, 1965).



**Figure 5 :** Photographies de *Cucurbita maxima*.

A (feuilles), B (fleur), C (fruit) ; Photos prises le 07 Juin 2020 à BALENG-LAFE (Région de l'Ouest Cameroun) par Mr. FOSSO Urich.

##### I.4.3- Utilisation traditionnelle

*Cucurbita maxima* Duchesne appartient à la famille des Cucurbitacées communément appelées « Pitakusmandah » en sanskrit ; « Kaddu » ou « Sitaphal » en hindi, « Squash » ou « Red guard pumpkin » en anglais et « Ndjih » en quelques langues Bamilékés ». C'est une plante herbacée annuelle rampante à tige et vrilles axillaires un peu épineuses ou velues avec des feuilles simples, alternes et de grandes fleurs jaunes, unisexuées, solitaires. Ses fruits sont charnus, ronds ou ovales, bruns, et ses graines sont ovoïdes ou oblongues, et comprimées (Prajapati *et al.*, 2006). Il est largement cultivé dans

toute l'Inde et dans la plupart des régions chaudes du monde, pour son goût agréable et ses vertus thérapeutiques. Ses fruits et ses parties aériennes sont couramment consommés comme légumes (Ambasta, 1992). Au Cameroun il est retrouvé majoritairement dans la région de l'Ouest et est appelé « *Njih* » en langue Baleng.

Ses fruits sont sucrés, réfrigérants, émoullients, diurétiques, sédatifs et toniques et sont utiles contre les brûlures, échaudures, inflammations, abcès, furoncles, migraines et névralgies (Prajapati *et al.*, 2006). La pulpe de ses fruits est utilisée comme cataplasme sur les brûlures, les furoncles et les inflammations (Ambasta, 1992). Les graines utilisées comme anthelminthique, diurétique et tonique nerveuse sont utiles dans la téniaose, et la débilité nerveuse. Cette plante est empiriquement utilisée dans de nombreux pays comme agent antidiabétique, antihyperlipidémique, antihypertenseur, anti-inflammatoire, immunomodulateur, antibactérien et antitumoral (Sharma *et al.*, 2013). La sollicitation de *Cucurbita maxima* (citrouille) dans divers systèmes de médecine traditionnelle pour plusieurs affections a attiré l'attention des chercheurs sur cette plante.

#### **I.4.4- Travaux antérieurs**

Les travaux antérieurs réalisés sur cette plante montrent qu'elle possède des propriétés antidiabétiques par diminution du taux de glucose dans le sang (Mahmoodpoor *et al.*, 2018). La dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) de l'extrait des graines s'est avérée supérieure à 5000 mg/kg (Cruz *et al.*, 2007). De même l'huile extraite de *C. maxima* améliore la dysfonction urinaire dans le syndrome de la vessie hyperactive et protège les organes de la toxicité induite par le stress oxydatif et la peroxydation lipidique (Mollika *et al.*, 2020). Al-Shaheen et Collaborateurs ont montré que les feuilles de cette plante possèdent des propriétés antioxydantes et inhibent l' $\alpha$ -amylase (Al-Shaheen *et al.*, 2013).

Une étude phytochimique du jus des fruits a révélé la présence de flavonoïdes et tanins à des concentrations élevées, des phénols et des saponines en concentration modérée et des terpénoïdes en faible concentration. Les alcaloïdes et les stéroïdes n'ont pas été détectés (Ozioko *et al.*, 2020). Il a été rapporté qu'ils possèdent plusieurs activités biologiques telles que des activités antimicrobiennes, cytotoxiques et antitumorales (Teiten *et al.*, 2013). Les données de cette analyse ont suggéré que l'utilisation de *Cucurbita maxima* en médecine traditionnelle pourrait être attribuée à son réservoir de divers composés bioactifs.

## **II.1- Matériel**

### **II.1.1- Matériel végétal**

Les graines de *Cucurbita maxima* non décortiquées ont été récoltées en Juillet 2019 à Baleng-Lafé dans le Département de la Mifi, région de l'Ouest Cameroun. Elles ont été identifiées par comparaison à la collection botanique de Westphal N°10016 enregistrée à l'Herbier National sous le N° 42526/HNC. Après la récolte, elles ont été séchées à l'ombre puis décortiquées.

### **II.1.2- Matériel animal**

Les rats mâles albinos de souche Wistar âgés de 2,5 à 3 mois et pesant environ 200 g ont été obtenus du Laboratoire de Physiologie Animale, de l'Université de Yaoundé I. Ces animaux ont été élevés à l'animalerie dudit Laboratoire. Les rats ont été logés dans des cages collectives tapissées de copeaux de bois, et élevés dans les conditions de température ambiante, aération suffisante, sous un cycle nyctéméral naturel (environ 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité). Ils recevaient pendant l'expérimentation, de l'eau et une alimentation composée d'un mélange de farine de maïs (50 %), de farine de blé (22 %), de farine de poisson (15 %), de tourteaux de palmiste (4 %), de poudre d'os (3 %), de poudre d'arachide (5 %), de sel de cuisine (0,75 %) et la vitamine de marque prémix® (0,25%).

## **II.2- Méthodes**

### **II.2.1- Obtention de la poudre des graines de *C. maxima* crues**

Les graines séchées ont été écrasées à l'aide d'une machine électronique (robot mixeur). La poudre obtenue a été conservée au réfrigérateur pour une durée de trois jours et renouvelée.

### **II.2.2- Extraction à froid de l'huile de *C. maxima***

Les graines de *C. maxima* ont été fractionnées à froid à l'aide d'une machine à huile (YD-ZY-OIC) afin de préserver toutes ses propriétés nutritionnelles. L'huile a été recueillie dans le compartiment A tandis que les tourteaux ont été recueillis dans le compartiment B.

### **II.2.3- Préparation des solutions de *Cucurbita maxima* à administrer**

La poudre des graines crues obtenue ainsi que le tourteau étaient administrés aux animaux après mélange avec de l'eau distillée, tandis que l'huile était administrée directement sans être diluée. Une autre partie de la poudre écrasée était diluée à de l'eau courante puis mise dans des feuilles de bananier et cuite dans une marmite en acier inoxydable pendant 1 heure 30 minutes à 2 heures sans additif de manière à reproduire les conditions de cuisson des graines de *C. maxima*. Le « met de pistache » ainsi obtenu était dissout dans le solvant approprié.

## II.2.4- Préparation des tampons et des solutions

Les solutions et tampons utilisés ont été préparés dans de l'eau distillée. Il s'agit de :

### ❖ **Formol à 10%**

Le formol 10% servait à fixer les différents organes. Sa préparation s'est faite à partir du formol commercial (solution concentrée à 40%). Pour un volume final (Vf) de 1000 mL, un volume initial (Vi) de 250 mL de formol a été introduit dans une éprouvette graduée et le Vf a été complété par ajout d'eau distillée.

### ❖ **Solution tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5**

Pour préparer le tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5, 4,08 g de phosphate monosodique hydraté ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) et 11,75 g de phosphate disodique hydraté ( $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) ont été successivement pesés et dissouts dans de l'eau distillée de manière à obtenir 1 L. Ce tampon a pour rôle le maintien des tissus dans les conditions proches du pH in vivo.

### ❖ **Tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2)**

Le tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) a été préparé en faisant dissoudre 4,5 g de carbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ ) et 4,2 g de carbonate monosodique ( $\text{NaCO}_3$ ) dans 500 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ajusté à 10,2 avec de la soude 1 M et le volume complété à 1000 mL avec de l'eau distillée. Cette solution tampon permet de rendre le milieu basique.

### ❖ **Solution d'adrénaline 0,06 mg/mL**

La solution d'adrénaline 0,06 mg/mL a été préparée à l'abri de la lumière, en dissolvant 6 mg d'adrénaline dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 mL.

### ❖ **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM a été obtenue en diluant 243  $\mu\text{L}$  de peroxyde d'hydrogène 35 % dans de l'eau distillée pour un volume final de 50 mL.

### ❖ **Solution de dichromate de potassium 5 %/acide acétique glacial**

La solution de dichromate de potassium 5 % a été préparée en faisant dissoudre 2,5 g de dichromate de potassium dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL. Ensuite, 150 mL d'acide acétique glacial y ont été ajoutés.

### ❖ **Préparation de la solution de BSA ("Bovine Serum Albumin")**

La solution de BSA a été préparée par dissolution de 2 mg de poudre de BSA dans de l'eau distillée dans une fiole jaugée de 2 mL et le volume a été complété au trait de jauge. La solution ainsi obtenue était titrée à 1 mg/mL.

#### ❖ Préparation du réactif de Bradford

Le réactif de Bradford a été préparé par dissolution de 50 mg de Bleu de Coomassie G 250 dans 25 mL d'éthanol 95%. Après 30 min d'agitation, 50 mL d'acide orthophosphorique 85% ont été ajoutés au mélange, suivi d'une agitation supplémentaire de 10 min. Le volume de la solution a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée, puis filtré et conservé à 4°C.

#### ❖ Préparation de la solution de travail (100 mL) pour dosage de MDA

Dans 50 mL d'eau distillée, l'acide thiobarbiturique (TBA) 0,375 % (p/v), l'acide trichloroacétique (TCA) 20% (p/v), le butylhydroxytoluène (BHT) 0,02 % et 25 mL d'acide chlorhydrique (HCL) 1 N ont été ajoutés. La solution obtenue a été chauffée à 40 °C dans un bain marie jusqu'à solubilisation complète du TBA, puis transférée dans une fiole jaugée de 100 mL. Le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

#### ❖ Préparation du réactif d'Ellman

Une dissolution de 5 mg d'acide 2,2 dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) dans 250 mL de tampon phosphate. (0,1 M) a été effectuée.

#### ❖ Solution d'énanthate de testostérone

L'énanthate de testostérone a été administrée aux rats à la dose de 3 mg/kg pour induire l'HBP selon la méthode de Nahata et Dixit (2012). Pour ce faire, une ampoule d'Androtardyl® de 1 mL contenant 250 mg d'énanthate de testostérone a été dissout dans 81,37 mL d'huile de maïs ; le mélange a été agité puis conservé à 4°C pour des traitements ultérieurs. Le volume de testostérone à administrer à chaque rat a été obtenu en utilisant la formule suivante :

$$\text{Volume (mL)} = \frac{\text{Dose (mg/kg)} \times \text{Masse (kg)}}{\text{Concentration (mg/mL)}}$$

#### ❖ Solution de finastéride

Le finastéride, médicament de référence utilisé pour le traitement de l'HBP, était administré aux rats à la dose de 5 mg/kg. Pour ce faire, un comprimé de 5 mg a été dissout dans 86,95 mL d'eau distillée ; le mélange était par la suite agité à l'aide d'un ultrason de marque Elmasonic® puis conservé à 4 °C pour les traitements ultérieurs. Le volume de finastéride à administrer à chaque rat était déterminé suivant la formule susmentionnée.

## **II.2.5- Détermination de la teneur en calcium, magnésium, potassium, sodium et phosphore dans les graines de *C. maxima* crues**

Le sperme est très riche en minéraux, car ils sont très utiles dans la fertilité masculine. Ils ont les rôles ci-après dans la fertilité : le développement des testicules et du sperme, réaction acrosomale, la qualité du sperme, la capacitation, la stériodogénèse, le chimiotactisme, l'hyperaction des spermatozoïdes (Mirnamniha *et al.*, 2019).

Cette expérimentation s'est déroulée au Laboratoire de Chimie du sol de l'IITA à Nkolbisson (Yaoundé) et chaque analyse a été répétée trois fois. Ces cinq minéraux ont été déterminés par la méthode décrite par Benton et Vernon (1990).

### **❖ Principe**

La méthode consiste à vaporiser l'échantillon liquide en le chauffant à l'aide d'une flamme. La flamme est dirigée vers une lumière émise par une lampe appropriée émettant les longueurs d'onde caractéristiques de l'élément recherché. En traversant la flamme, les ondes lumineuses, dont les longueurs d'onde correspondent à l'élément dosé, sont absorbées par les ions excités présents dans la flamme. L'absorption mesurée, est directement proportionnelle à la concentration de l'élément.

### **❖ Mode opératoire**

Une masse de 0,5 g environ d'échantillon sec délipidé a été pesée et introduite dans une capsule en porcelaine préalablement lavée et rincée à l'acide nitrique 10% puis, séchée à l'étuve pendant 30 mn et au four pendant 3 h. Une capsule vide a servi de blanc. Les capsules ont été placées dans le four à 500°C pendant 24 h puis refroidies au sortir du four dans un environnement exempt de toute brise, une cendre blanchâtre a été obtenue. Les capsules ont ensuite été rincées avec 15 mL de solution d'aqua régia dans des tubes en propylène de 50 mL. A l'aide de l'agitateur mécanique, le mélange a été agité pendant 10 mn puis centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 mn et le surnageant qui représente la solution échantillon a été récupérée pour les dosages.

## **II.2.6- Induction de l'hyperplasie bénigne de la prostate**

Les animaux âgés de 2,5 à 3 mois ont été traités avec de l'énanthate de testostérone (Androtardyl®) à la dose de 3 mg/kg/jour par voie sous cutanée pendant 28 jours tel que décrit par Zingué *et al.*, (2020). A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés et le volume de la prostate a été déterminé et comparé à celui des animaux normaux.

## **II.2.7- Evaluation des effets protecteurs des graines de *C. maxima* contre l'HBP**

L'énanthate de testostérone a été administré à la dose de 3 mg/kg par voie sous cutanée ; dose rapportée comme étant la dose minimale qui produit l'hyperplasie de la prostate chez les rats normaux (Zingué *et al.*, 2020). Le finastéride a été administré à la dose de 5 mg/kg se référant aux travaux de

Njamen *et al.*, (2020) et Zingué *et al.*, (2020). Les graines de *C. maxima* crues et cuites ont été administrées aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC par voie orale. Ces doses ont été extrapolées des travaux antérieurs faisant état de la quantité journalière recommandée par Blumenthal *et al.*, (1998) qui est de 10 g/jour chez un homme adulte ; Ce qui nous a permis d'obtenir la dose d'environ 1000 mg/kg chez le rat. La dose du rat a été encadrée de manière décroissante de façon à avoir trois doses en dessous (125, 250 et 500 mg/kg). L'huile a été administrée par voie orale aux doses de 85, 170 et 340 mg/kg PC et le tourteau aux doses de 160, 320, 640 mg/kg PC. Ces doses ont été extrapolées de la dose pharmacologique efficace en respectant les proportions de l'huile ( $33,73\% \times 500 \text{ mg} = 170 \text{ mg}$ ) et du tourteau ( $63,42\% \times 500 \text{ mg} = 340 \text{ mg}$ ). Le rendement d'extraction totale était de 97,15%.

Cette expérimentation avait pour but d'évaluer les effets comparés des graines de *C. maxima* crues et cuites contre les effets prolifératifs de la testostérone sur la prostate. Pour ce faire, 66 rats mâles âgés de 2,5 à 3 mois ont été acclimatés durant 2 semaines, et répartis en onze groupes de 6 rats chacun : un groupe témoin normal (NOR) qui a reçu la substance de dilution des substances de traitement (eau distillée) par voie orale, un groupe témoin négatif (HBP) qui a reçu l'énanthate de testostérone à la dose de 3 mg/kg par voie sous cutanée et de l'eau distillée par voie orale, un groupe témoin positif (FINAS) qui a reçu l'énanthate de testostérone à la dose de 3 mg/kg par voie sous cutanée et le finastéride à la dose de 5 mg/kg par voie orale. Les huit autres groupe tests ont reçu de l'énanthate de testostérone à la dose de 3 mg/kg par voie sous cutanée ainsi que les solutions des graines de *C. maxima* crues et cuites selon les cas aux doses respectives de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC par voie orale. Toutes ces substances ont été administrées pendant 28 jours.

## **II.2.8- Evaluation des effets protecteurs d'une prise intermittente des graines de *C. maxima***

L'objectif de cette expérimentation était d'évaluer si la fréquence de consommation des graines de *C. maxima* impacte sur son efficacité. L'étude a été menée sur 25 rats mâles suivant le protocole décrit précédemment, à la différence qu'on avait deux groupes tests qui étaient traités avec les graines à la dose de 500 mg/kg PC 3 jours sur 7 (chaque Dimanche, Mardi et Jeudi) contre 7 jours sur 7.

## **II.2.9- Evaluation des effets protecteurs de l'huile et du tourteau des graines de *C. maxima* sur l'HBP**

L'objectif de cette expérimentation était d'évaluer comparativement les effets de l'huile et du tourteau de *C. maxima*, pour déterminer laquelle des deux fractions est à l'origine des effets de *C. maxima*. Elle s'est déroulée avec 45 rats mâles âgés de 2,5 à 3 mois suivant le protocole déjà décrit. Les groupes témoins étaient traités comme susmentionné. Les animaux des groupes tests étaient traités avec l'huile aux doses de 85, 170 et 340 mg/kg PC et le tourteau aux doses de 160, 320, 640 mg/kg PC par voie orale pendant 28 jours concomitamment avec la testostérone.

## II.2.10- Sacrifice et collecte des organes

A l'issu du traitement, les rats des différents groupes ont été sacrifiés par décapitation, après anesthésie à l'aide du Diazépam (10 mg/kg) et de la kétamine (50 mg/kg). Le sang artéro-veineux a été immédiatement recueilli dans des tubes secs et centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes. Le surnageant recueilli a été reparti dans des micros tubes Eppendorf et conservé à -20°C pour les dosages biochimiques.

Une laparotomie permettait de mettre en évidence l'ensemble de l'appareil uro-génital. Les organes tels que : les testicules, les vésicules séminales, l'épididymes, le foie, la vessie, les reins, les glandes surrénales et la prostate ventrale ont été prélevés, pesés et aussitôt fixés dans le formol 10% pour les analyses histologiques.

Les dimensions (longueur et largeur) de la prostate de chaque animal ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse électronique (Igaging®). Le volume apparent de la prostate a été déterminé par la formule de Rahul *et al.*, (2014) :

$$\text{Volume de la prostate} = [\text{Longueur} + (\text{largeur})^2] / 2$$

Le poids relatif encore appelé index prostatique (IP) de la prostate est le rapport de la masse de la prostate sur la masse corporelle. Il a été calculé avec la formule développée par Vyas *et al.*, (2013), pour chaque organe.  $IP = [\text{Masse de la prostate}(MP)/\text{Masse corporelle} (MC)] \times 100$

## II.2.11- Réalisation de l'homogénat de la prostate

Une partie de la prostate a été coupée, pesée et broyée à l'aide du potter teflon-verre sur un bac de glace dans du tampon phosphate sodium (0,1 M ; pH 7,5) de manière à obtenir un homogénat final de 20%. Après centrifugation à 3000 trs/min pendant 15 min à 4°C, le surnageant recueilli a été conservé à -20°C pour le dosage des protéines totales dans la prostate.

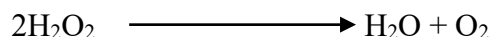
## II.3- Analyses biochimiques

### II.3.1- Mesure de l'activité de la catalase dans la prostate

L'évaluation de l'activité de la catalase a été déterminée selon le protocole décrit par Sinha en 1972.

#### ❖ Principe

Cette méthode est basée sur l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène à partir de l'action de la catalase présente dans l'échantillon (homogénat). L'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) resté après action de la catalase, réduit à chaud le dichromate de potassium en présence de l'acide acétique en acétate de chrome de coloration verte ; avec pour intermédiaire réactionnel l'acide perchromique qui est un composé instable de coloration bleu vert. L'acétate de chrome produit est mesuré à 620 nm.



### ❖ Réalisation de la courbe d'étalonnage

Le protocole utilisé pour la réalisation de la courbe d'étalonnage est décrit dans le tableau de l'Annexe II b.

### II.3.2- Dosage des protéines totales

Le taux de protéines totales contenu dans les homogénats de prostates des rats a été évalué suivant la méthode décrite par Bradford, en 1976 en utilisant le bleu de Coomassie G250.

### ❖ Principe

La détermination de la concentration en protéines est basée sur la réaction colorimétrique entre les protéines et le réactif de Bradford (bleu de Coomassie G250). En milieu acide, les résidus hydrophobes d'acides aminés des protéines réagissent avec le bleu de Coomassie G250. Cette réaction conduit à un changement de coloration du milieu réactionnel qui vire au bleu et absorbe à 595 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des résidus protéiques contenus dans le milieu. **Protéines + Coomassie G250 = Protéines-Complexe de couleur bleue** (absorbance = 595 nm).

### ❖ Mode opératoire

Dans chaque tube à essais, 50 µL d'homogénats, 500 µL du réactif de Bradford et 450 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH : 7,5) ont été introduits. Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante et la densité optique a été lue à 595 nm contre le blanc.

Le blanc a été préparé en parallèle avec 500 µL du réactif de Bradford et 500 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH : 7,5).

Le "Sérum Albumine Bovin" (BSA) aux concentrations 0, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/mL a été utilisé comme étalon (Annexe II c). La courbe d'étalonnage a été réalisée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons avec la concentration en SAB.

La concentration des protéines dans le tube test est déterminée en se servant de la courbe d'étalonnage (Annexe I b).

### II.3.3- Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans la prostate

L'évaluation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) a été effectuée selon le protocole décrit par Misra et Fridovich (1972).

### ❖ Principe

La méthode est basée sur l'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome par la SOD présente dans l'échantillon. La variation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité de la SOD, est notée toutes les 30 secondes pendant 150 secondes à une absorbance de 480 nm.



### ❖ Mode opératoire

Un volume de 50  $\mu\text{L}$  d'homogénat a été ajouté dans le mélange réactionnel contenant 550  $\mu\text{L}$  de tampon carbonate (pH= 10,2, 0,05 M) et 100  $\mu\text{L}$  d'adrénaline (0,3 mM) fraîchement préparés dans le tampon carbonate. L'absorbance de ce mélange a été rapidement lue à 480 nm toutes les 30 s pendant 150 s contre le blanc.

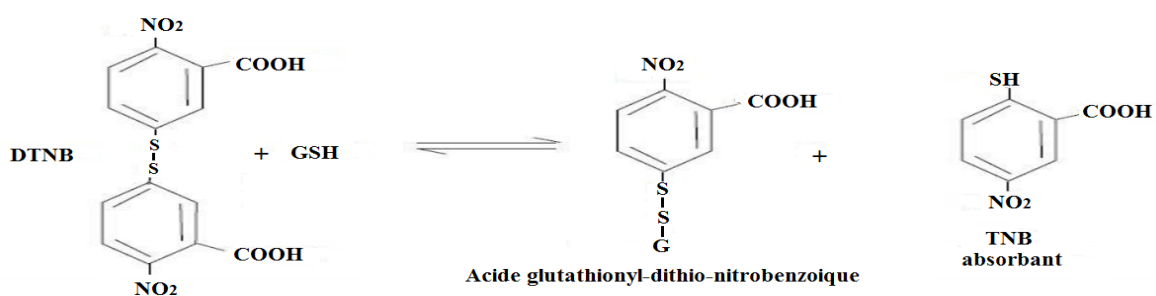
Le blanc quant à lui a été préparé en parallèle suivant le même protocole et avec 50  $\mu\text{L}$  d'eau distillée comme substitut de l'homogénat.

### II.3.4- Mesure de l'activité du Glutathion réduit (GSH) dans la prostate

Le taux de GSH contenu dans l'homogénat de la prostate a été déterminé selon le protocole décrit par Ellman en 1959.

#### ❖ Principe

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé par la méthode colorimétrique qui repose sur les propriétés réductrices du groupement thiol (SH). En effet, en présence du groupement thiol de l'échantillon, le pont disulfure contenu dans le réactif d'Ellman ou DTNB (acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) va être réduit et donner des dérivés thiols aromatiques colorés (couleur jaune) de TNB (acide 5-thiol-2-nitrobenzoïque). Le produit obtenu est réduit par le glutathion réductase pour recycler le GSH et produire d'avantage le TNB. Le taux de production du TNB est proportionnel à la concentration de GSH présente dans l'échantillon. La mesure de l'absorbance du TNB est effectuée à 412 nm.



### ❖ Mode opératoire

Un volume de 50  $\mu\text{L}$  d'homogénat a été mélangé avec 750  $\mu\text{L}$  du réactif d'Ellman. Le mélange a été incubé pendant 60 min à température ambiante. L'absorbance a été lue à 412 nm contre le blanc à l'aide du spectrophotomètre SPEK OL 1300 (Frankfurt, Allemagne). Le blanc a été préparé en

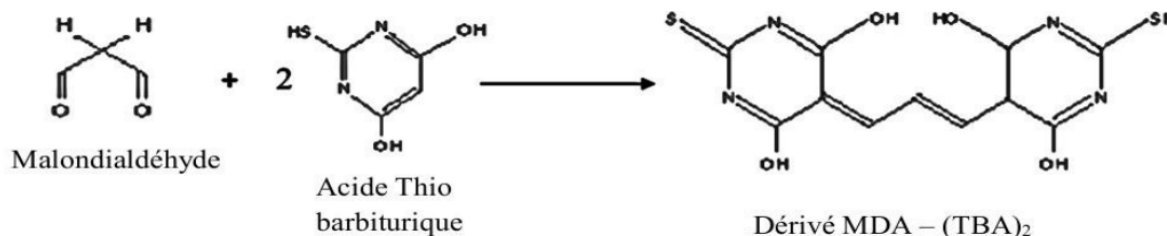
parallèle en suivant le même protocole avec 50 µL de tampon phosphate comme substitut de l'homogénat.

### II.3.5- Mesure du taux de Malondialdéhyde (MDA) dans la prostate

La mesure quantitative de la peroxydation lipidique des cellules de la prostate a été effectuée selon le protocole décrit par Yagi en 1976.

#### ❖ Principe

Le MDA est un céto-aldéhyde physiologique produit lors de la décomposition peroxydative des lipides insaturés et qui est utilisé comme indicateur de dommage tissulaire par les radicaux libres. En effet, les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde issus de la décomposition des hydroperoxydes d'acide gras réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et chaud, pour donner des chromophores de couleur rose qui présentent un maximum d'absorption à 532 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de MDA présente dans le milieu.



#### ❖ Mode opératoire

Un volume de 100 µL d'homogénat a été mélangé avec 400 µL du mélange réactionnel (TBA 0,375 %, TCA 20 %, et HCL 1 N). Le mélange a été chauffé au bain marie à 100 °C pendant 15 min et a été refroidi puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant obtenu a été lue à 532 nm contre le blanc à l'aide d'un Spectrophotomètre SPEK OL 1300.

Le blanc a été préparé en parallèle suivant le même protocole en utilisant l'eau distillée à la place de l'homogénat.

### II.3.6- Mesure de la concentration sérique de la PSA

Les taux de "Prostatic Specific Antigen" (PSA), le principal biomarqueur d'une affection prostatique ont été mesurés dans ce travail par la méthode ELISA. Le kit PSA ELISA, destiné à la détermination quantitative du PSA total a été obtenu auprès de Cusabio Biotech Co. Ltd, Newark, Delaware, USA. Le "PSA" a été quantifié par la méthode de Nilsson *et al.*, (1997).

#### ❖ Principe

Le PSA ELISA est un test immunologique en phase solide non compétitif basé sur la technique sandwich directe. Les calibrateurs, les contrôles et les échantillons ont été incubés ensemble avec un anticorps monoclonal biotinylé anti-PSA et un anticorps monoclonal anti-PSA marqué à la peroxydase de raifort (HRP) dans la streptavidine- bandes de microtitration enduites.

### ❖ **Mode opératoire**

Après lavage, un substrat tamponné (substrat TMB-HRP) qui contient du peroxyde d'hydrogène et un réactif chromogène (3,3', 5,5' méthylbenzidine) ont été ajoutés à chaque puits et la réaction enzymatique a pu se dérouler. L'intensité de la couleur a été déterminée dans le spectrophotomètre à plaque de microtitrage à 620 nm. Des courbes d'étalonnage ont été construites pour chaque essai en traçant l'absorbance en fonction de la concentration de chaque étalon. La concentration de PSA des échantillons a ensuite été lue à partir de la courbe d'étalonnage.

### **II.3.7- Mesure de la concentration sérique de testostérone**

Les niveaux de testostérone de chaque animal ont été mesurés en utilisant un kit ELISA de testostérone. Le sérum a été testé pour sa teneur en testostérone suivant les instructions du kit UBI MAGIWEL Total Testostérone.

### ❖ **Principe**

Le test quantitatif de testostérone UBI MAGIWEL est basé sur le principe de l'immunodosage compétitif enzymatique en phase solide. L'échantillon de test compétit avec un test marqué par une enzyme. L'échantillon de test entre en compétition avec la testostérone marquée par enzyme pour un nombre fixe et limité de sites d'anticorps sur les puits de microtitration.

### ❖ **Mode opératoire**

L'étalon de testostérone ou les échantillons ont été incubés avec l'anticorps de testostérone et le conjugué testostérone-peroxydase de raifort dans le puits enduit d'IgG anti-lapin. Dans ce système en phase solide la testostérone liée à l'anticorps restera sur le puits tandis que la testostérone non liée sera éliminée par lavage. Une couleur est développée lorsque le substrat TMB est mélangé avec le conjugué d'enzyme testostérone-peroxydase de raifort lié à l'anticorps. Après une courte incubation, la réaction enzymatique a été arrêtée et l'intensité de la couleur a été mesurée avec un microreader à 450 nm.

### **II.3.8- Analyse histologique**

Les techniques d'études histologiques utilisées dans ce travail sont les techniques fondamentales décrites par Cannet (2006). Brièvement, elles consistent en : la fixation, ("trimming"), la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration et le montage.

### ❖ **Fixation**

Les organes, une fois prélevés, ont été fixés dans le formol 10%. Le but de la fixation est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du

vivant et de permettre au tissu de passer par les étapes de la technique histologique sans changement ni déformation.

#### ❖ "Trimming"

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

#### ❖ Déshydratation et imprégnation

La déshydratation, parfois aussi appelée circulation, comporte trois étapes : la déshydratation elle-même, l'éclaircissement et l'imprégnation.

##### ▪ La déshydratation

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, 8 bacs d'alcool ont été utilisés successivement à raison de deux heures dans chaque bac dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 80% (1 × 2 h), 4 bacs d'éthanol à 95% (4 × 2 h), et 3 bacs d'alcool absolu (3 × 2 h).

##### ▪ L'éclaircissement

Elle consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. C'est une étape de transition réalisée par des hydrocarbures benzéniques, à l'instar du xylène. Ainsi, après déshydratation, deux bains dans du xylène (2 × 2 heures) ont suffi pour réaliser cette opération.

##### ▪ L'imprégnation

Pour obtenir des coupes fines, il est nécessaire d'incorporer dans les tissus une substance neutre (la paraffine) qui durcit les fragments. L'imprégnation consiste 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 × 2 bains) dans de la paraffine chaude et liquide.

#### ❖ Inclusion

L'inclusion fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation de coupes au microtome. Les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion (60°C) qui est mise à solidifier sur une surface froide (4°C) après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

#### ❖ Coupes

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque Leitz wetzlar. 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-objet 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 les colorants de façon plus ou moins sélective. La technique de coloration utilisée est la technique classique de coloration des préparations histologiques, la coloration à l'hématoxyline-éosine, dans laquelle l'hématoxyline colore les constituants acides en bleu-violacé et l'éosine les constituants basiques 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.

### ▪ Coloration proprement dite

Après déparaffinage, les lames contenant les coupes d'organes, sont passées successivement dans les bains d'Hematoxiline de Harris, d'eau de robinet, d'alcools à 70 et 95%, et d'éosine alcoolique. Ceci se faisait à raison de 5 minutes par bain.

## ❖ Montage

Il permet de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver. Le milieu de montage étant de la résine synthétique (baume de Canada) non miscible à l'eau, les coupes doivent être déshydratées avant d'être montées. Cette opération s'est faite en deux étapes : la première consistant en la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu ( $3 \times 5$  minutes) et la seconde en l'éclaircissement dans trois bains de xylène ( $3 \times 5$  minutes).

L'histomorphométrie a permis d'observer la microarchitecture de la prostate et de déterminer la taille de l'épithélium prostatique. Ceci s'est fait à l'aide d'un équipement complet consistant en un microscope AxiosKop 40 relié à un ordinateur où les images sont transférées, éditées et analysées avec les logiciels MRGrab 1.0 et Axio Vision 3.1, tous fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne).

## II.4.- Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard sur la moyenne. Les moyennes ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA) suivi du post-test de Dunnet en utilisant le logiciel Graphpad Prism version 5.03. La différence était considérée comme significative à  $p < 0,05$ .

### III.1- Résultats

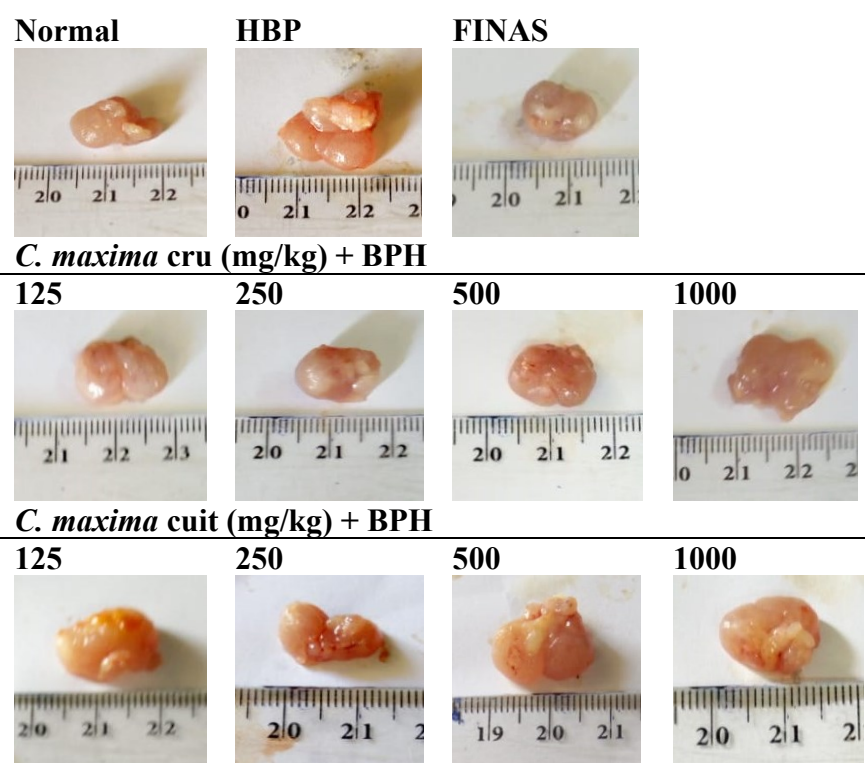
#### III.1.1- Analyse minérale des graines de *Cucurbita maxima*

Il ressort de l'analyse des minéraux de base contenus dans les graines de *C. maxima* qu'elles sont plus riches en phosphore ( $10843,5 \pm 57,5 \mu\text{g/g}$ ) et en potassium ( $6682,1 \pm 27,4 \mu\text{g/g}$ ) qu'en calcium ( $588,1 \pm 10,3 \mu\text{g/g}$ ) et en sodium ( $91,20 \pm 5,4 \mu\text{g/g}$ ) (Annexe II a).

#### III.1.2- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

##### III.1.2.1- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la masse et le volume de la prostate

Les effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la morphologie de la prostate fraîche après 28 jours consécutifs de traitement sont représentés sur la figure 6. Il ressort de cette figure que la prostate des rats HBP est plus volumineuse que celle des animaux normaux.

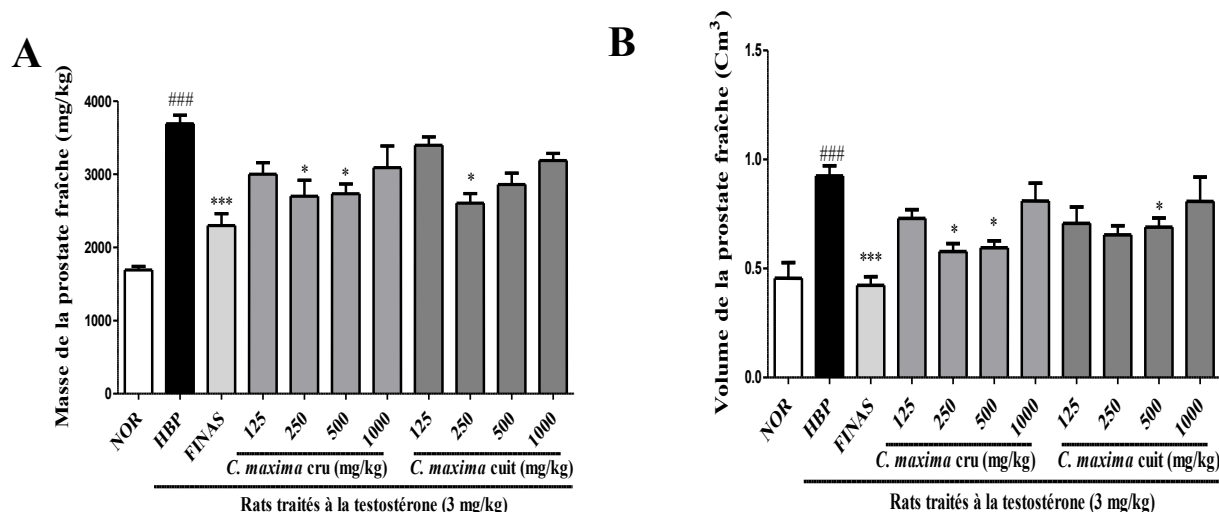


**Figure 6 :** Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la morphologie de la prostate après 28 jours de traitement.

NOR = Rats normaux recevant l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines du *Cucurbita maxima* crues aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg respectivement; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines du *Cucurbita maxima* cuites aux doses respectivement de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg.

La figure 7 montre que l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la masse relative (Fig. 7A) et du volume (Fig. 7B) de la prostate fraîche

comparé au groupe témoin normal. Les graines du *C. maxima* crues ont entraîné une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la masse relative (Fig. 7A) aux doses de 250 et 500 mg/kg et du volume ( $p < 0,05$ ) (Fig. 7B) de la prostate fraîche aux doses respectives de 250 et 500 mg/kg ( $p < 0,05$ ) comparativement au témoin négatif. Quant aux graines de *C. maxima* cuites, elles ont induit une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la masse relative à la dose 250 mg/kg ; et du volume ( $p < 0,05$ ) de la prostate fraîche à la dose de 500 mg/kg, comparé au groupe témoin négatif. Le finastéride a induit une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de la masse relative (Fig. 7A) et du volume (Fig. 7B) de la prostate fraîche comparé au groupe témoin négatif.

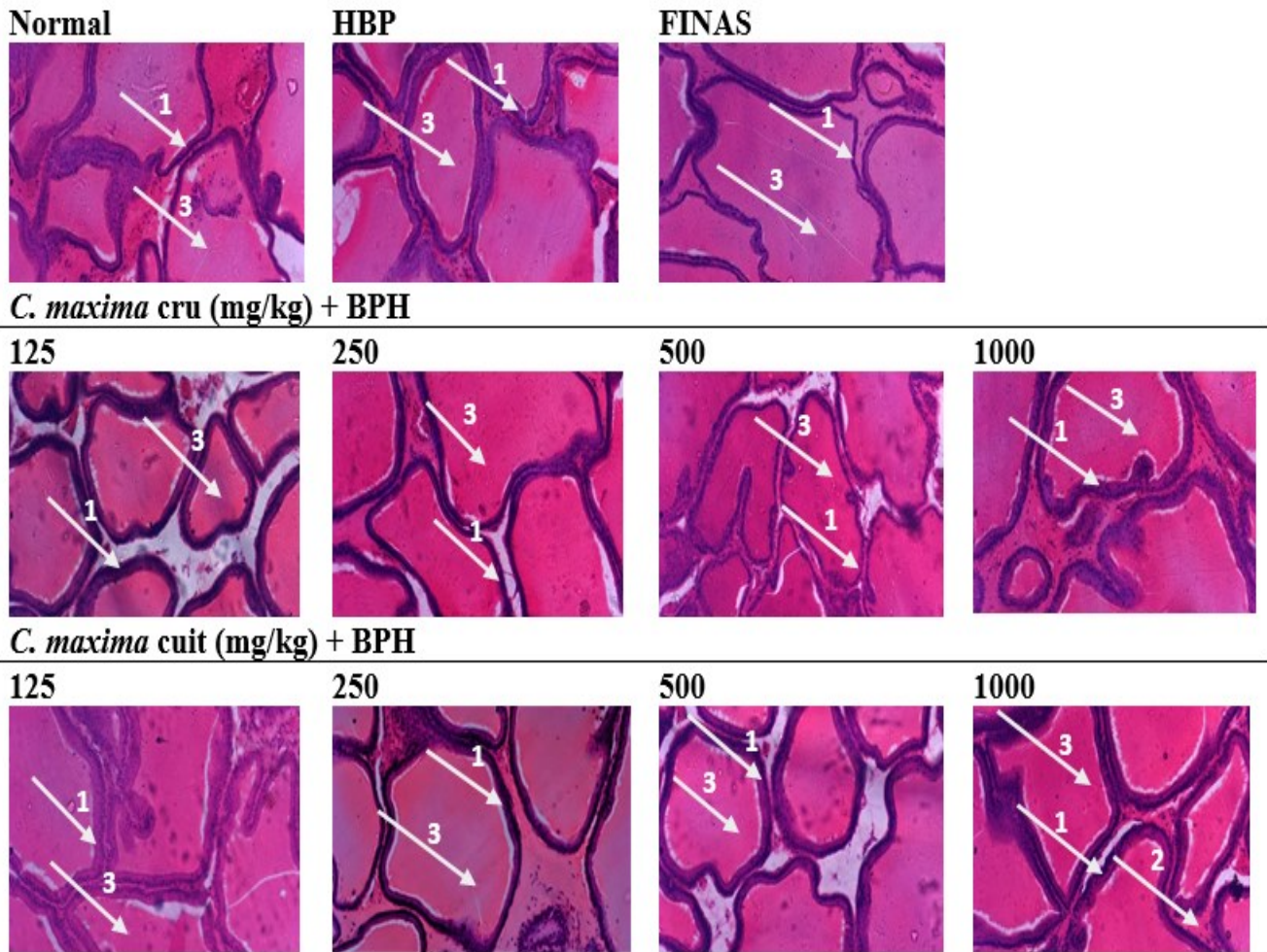


**Figure 7** : Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 5$ . ### $p < 0,001$ : différence significative par rapport aux normaux. \* $p < 0,05$  ; \*\*\* $p < 0,001$ : différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS= Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines du *Cucurbita maxima* crues aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg respectivement; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines du *Cucurbita maxima* cuites aux doses respectivement de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg.

### III.1.2.1- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la prolifération de l'épithélium prostatique

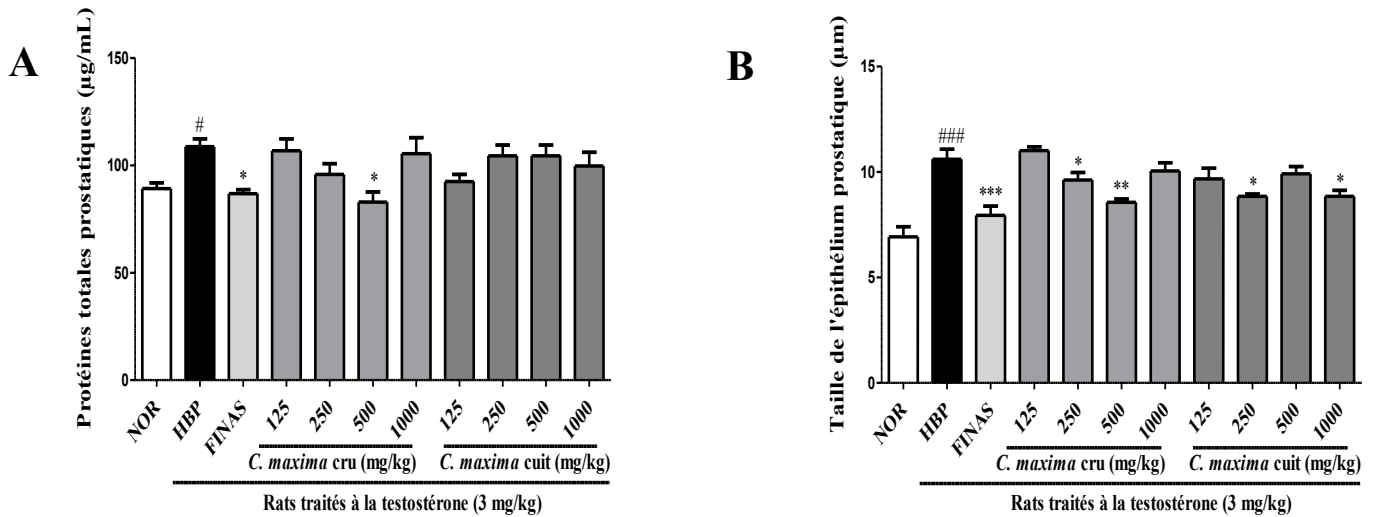
Les coupes transversales des prostates (Figure 8) montrent que, 28 jours d'administration consécutive de testostérone chez les rats entraînent l'apparition d'un épithélium épais et bien développé projetant vers la lumière glandulaire comparativement aux animaux du groupe normal. Les graines de *C. maxima* crues et cuites ont prévenu l'installation de l'HBP par une réduction considérable du diamètre glandulaire et une augmentation de la taille de l'épithélium.



**Figure 8 :** Microphotographies H&E200 de la prostate de rats.

NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *C. maxima* crues aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *C. maxima* cuites aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC. 1 = Epithélium ; 2 = Tissus connecteurs ; 3 = Lumière glandulaire ; 4 = Vaisseaux sanguins.

Les effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur les protéines totales et la taille de l'épithélium prostatique sont consignés dans la Figure 9. L'administration de la testostérone a induit une augmentation significative du taux de protéines totales ( $p < 0,05$ ) (Fig. 9A) et de la taille de l'épithélium ( $p < 0,001$ ) (Fig. 9B) de la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal. Tout comme le finastéride, les graines de *C. maxima* crues ont entraîné une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du taux de protéines à la dose de 500 mg/kg et une diminution significative de la taille de l'épithélium prostatique aux doses respectives de 250 ( $p < 0,05$ ) et 500 mg/kg ( $p < 0,01$ ) comparativement au témoin négatif. Bien que les graines de *C. maxima* cuites aient entraîné une réduction du taux de protéines totales dans la prostate, aucune significativité n'a été observé (Fig. 9A). Cependant il a noté une réduction significative ( $p < 0,05$ ) de la taille de l'épithélium prostatique aux doses de 250 et 1000 mg/kg comparé au groupe témoin négatif, avec les graines de *C. maxima* cuites.

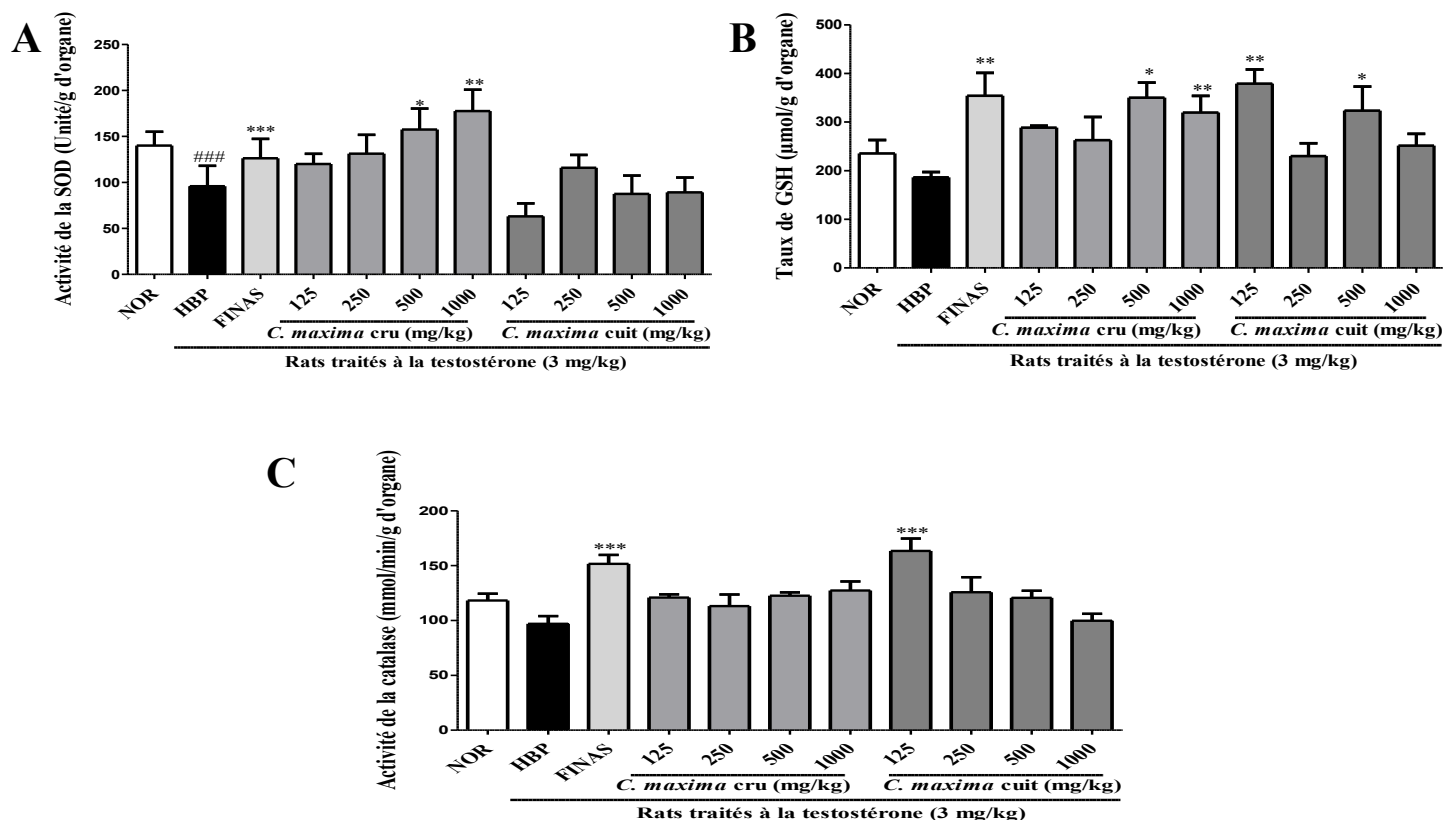


**Figure 9 :** Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur le taux de protéines totales (A) et la taille de l'épithélium (B) de la prostate après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. #p <0,05 ; ###p <0,001: différence significative par rapport aux normaux. \*p<0,05 ; \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *Cucurbita maxima* crues aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités au *Cucurbita maxima* cuit aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC.

### III.1.2.3- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur le stress oxydatif dans la prostate

Les effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur quelques paramètres du stress oxydatif dans la prostate sont consignés dans la Figure 10. Cette figure montre que l'administration de la testostérone a induit une diminution significative (p<0,001) de l'activité de la SOD (Fig. 10A) et une diminution non significative du taux de glutathion réduit (Fig. 10B) et de l'activité de la catalase (Fig. 10C) dans la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal. Les graines du *C. maxima* crues ont empêché l'installation du stress oxydatif en augmentant significativement l'activité de la SOD (Fig. 10A) et le taux de glutathion réduit, aux doses de 500 (p<0,05) et 1000 mg/kg (p<0,01). Aucune différence significative n'a été observée suite au traitement avec les graines de *C. maxima* crues sur l'activité de la catalase et de la SOD prostatiques à toutes les doses (Fig. 10C) comparativement au témoin négatif. On note toutefois une augmentation significative du taux de glutathion réduit (Fig. 12B) aux doses de 125 (p<0,01) et 500 mg/kg (p<0,05) et une augmentation significative (p<0,001) de l'activité de la catalase (Fig. 10C) dans la prostate uniquement à la dose de 125 mg/kg, comparé au groupe HBP.



**Figure 10** : Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur quelques paramètres du stress oxydatif après 28 jours de traitement.

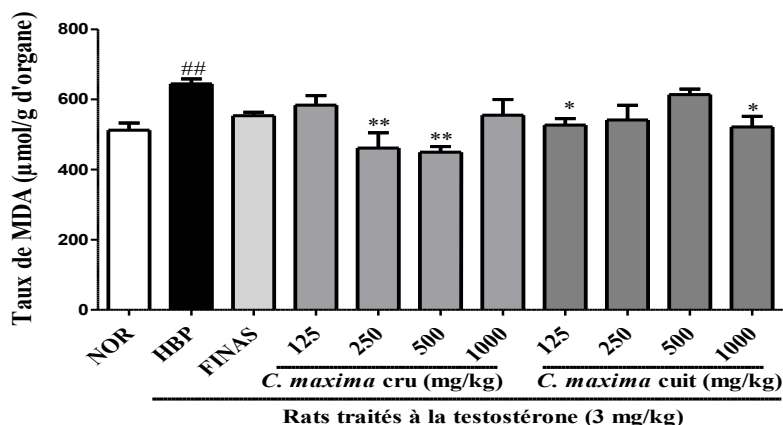
Chaque bar représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 5$ . ### $p < 0,001$ : différence significative par rapport au normaux. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ : différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *Cucurbita maxima* crues aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *Cucurbita maxima* cuites aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg.

Le finastéride a induit une augmentation significative de l'activité de la SOD et de la catalase (Fig. 10A et C) et du taux de glutathion réduit ( $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ ) (Fig. 10B) comparé aux rats du groupe HBP.

### III.1.2.4- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la peroxydation lipidique dans la prostate

La figure 11 présente les effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la peroxydation lipidique dans la prostate. Comme attendu, l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du taux de MDA dans la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal. Les graines du *C. maxima* crues ont entraîné une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du taux de MDA aux doses de 250 et 500 mg/kg dans la prostate comparativement au témoin négatif. Quant aux graines de *C. maxima* cuites, il a été noté une réduction significative ( $p < 0,05$ ) du taux de

MDA uniquement aux doses de 125 et 1000 mg/kg dans la prostate, comparé au groupe témoin négatif. Le finastéride a induit une réduction non significative du taux de MDA dans la prostate, comparé au HBP.

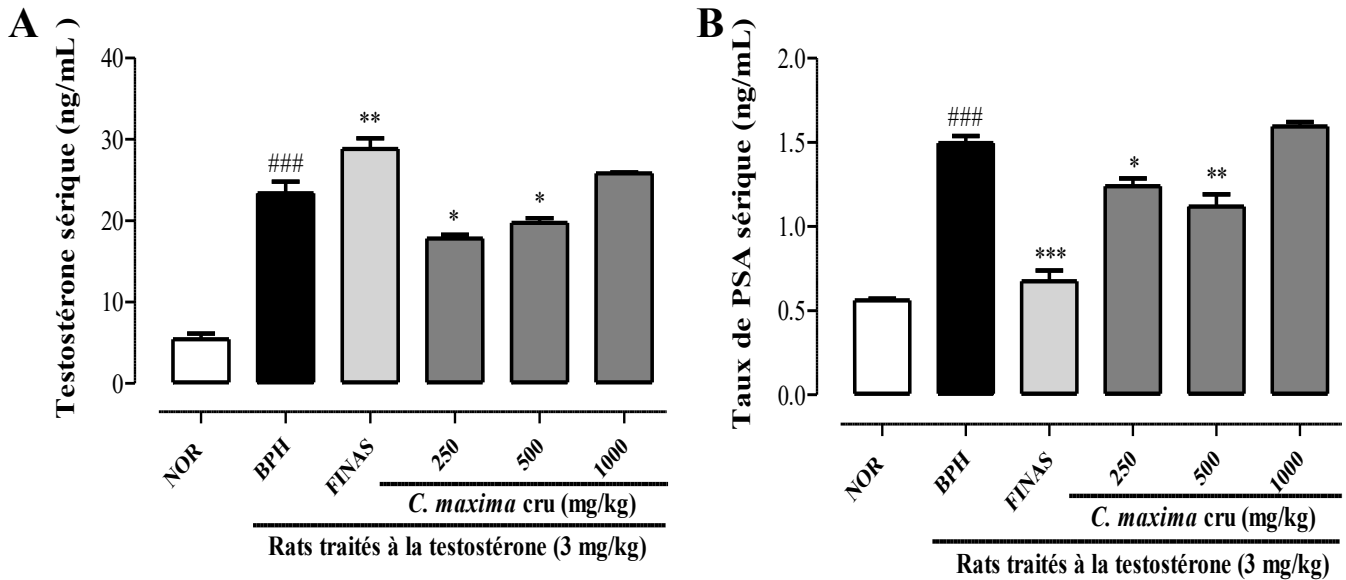


**Figure 11 :** Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues et cuites sur la peroxydation lipidique (MDA) dans la prostate après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. ####p <0,001: différence significative par rapport au normaux. \*p <0,05 ; \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux recevant l'eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités au *Cucurbita maxima* cru aux doses respectivement de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg; *C. maxima* cuit = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités au *Cucurbita maxima* cuit aux doses respectivement de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg.

### III.1.2.5- Effets des graines de *Cucurbita maxima* crues sur les taux de "PSA" et de testostérone sériques

Les effets des graines du *Cucurbita maxima* crues sur les taux sériques de testostérone et de "PSA" sont représentés dans la Figure 12. L'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) des taux de testostérone (Fig. 12A) et "PSA" (Fig. 12B) sérique comparé au groupe témoin normal. Les graines du *C. maxima* crues ont entraîné une baisse significative des taux de testostérone et "PSA" sérique aux doses de 250 ( $p < 0,05$ ) et 500 mg/kg ( $p < 0,01$ ) (Fig. 12A et 12B) comparativement au témoin négatif. Le finastéride a induit une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du taux de testostérone sérique (Fig. 12A) et une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du taux de "PSA" sérique (Fig. 14B) comparé au groupe témoin négatif.



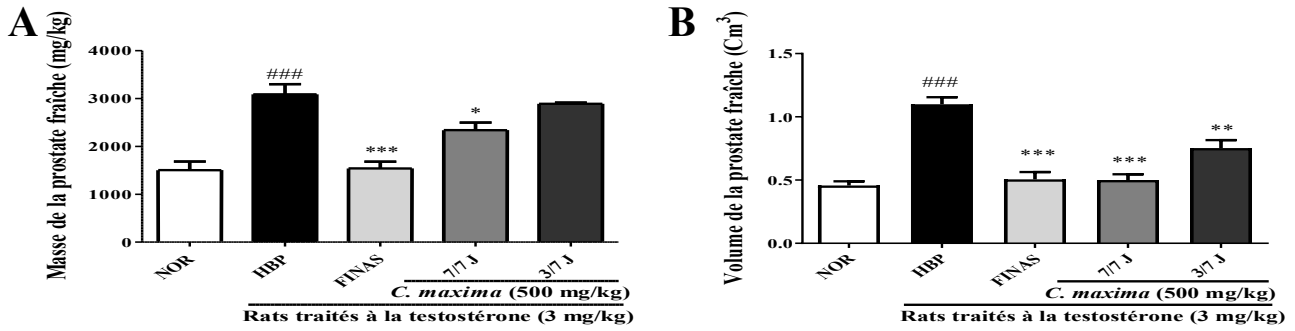
**Figure 12** : Effets des graines du *Cucurbita maxima* crues sur les taux de testostérone (A) et du "PSA"(B) sérique après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. ###p <0,001: différence significative par rapport aux normaux. \*p <0,05 ; \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée ; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg) ; *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *Cucurbita maxima* crues aux doses de 250, 500 et 1000 mg/kg respectivement.

### III.1.3- Effets de la fréquence de la prise des graines de *C. maxima* crues

#### III.1.3.1- Effets sur la masse et le volume de la prostate fraîche

Les effets de la fréquence de la prise des graines de *Cucurbita maxima* crues sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate fraîche sont consignés sur la Figure 13. Il a été observé que l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la masse relative (Fig. 13A) et du volume (Fig. 13B) de la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal. Les graines du *C. maxima* crues (500 mg/kg) prises tous les jours ont entraîné une réduction significative ( $p < 0,05$ ) de la masse relative et du volume (Fig. 13A) prostatique tandis que les rats qui recevaient les graines de *C. maxima* crues trois fois par jour n'ont présenté aucune variation significative de la masse de la prostate mais plutôt une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du volume. Le finastéride tout comme l'extrait a induit une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de la masse relative (Fig. 13A) et du volume (Fig. 13B) de la prostate fraîche, comparé au témoin négatif.



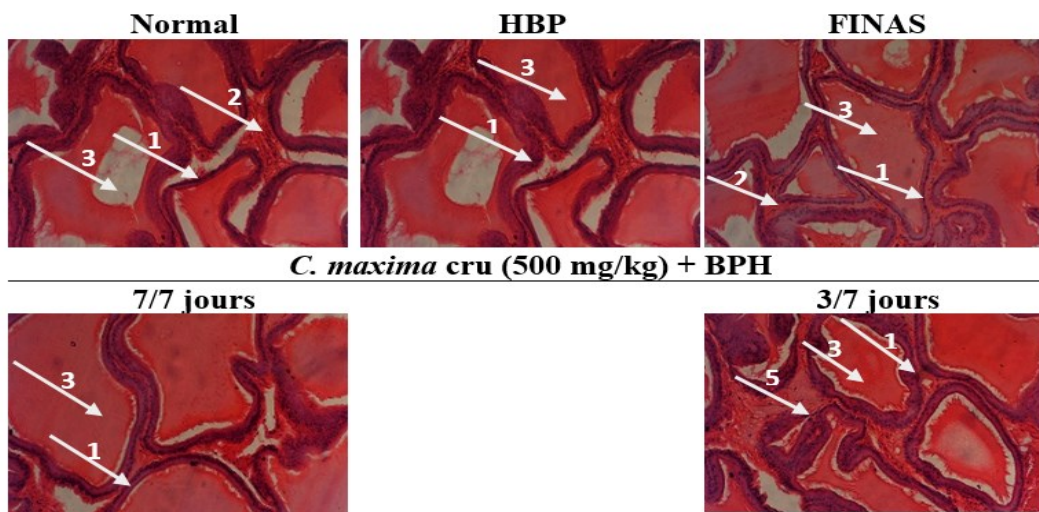
**Figure 13** : Effets de la fréquence de prise des graines du *Cucurbita maxima* crues sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. ###p <0,001: différence significative par rapport aux normaux. \*p <0,05 ; \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée ; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS= Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg) ; *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités tous les jours (7/7J) pour un groupe et trois fois par semaine (3/7J) pour un autre groupe aux graines de *Cucurbita maxima* crues à la dose de 500 mg/kg.

### III.1.3.2- Effets des graines de *C. maxima* crues prises 7/7J et 3/7J sur l'épithélium prostatique

#### ❖ Effets sur la microarchitecture de la prostate

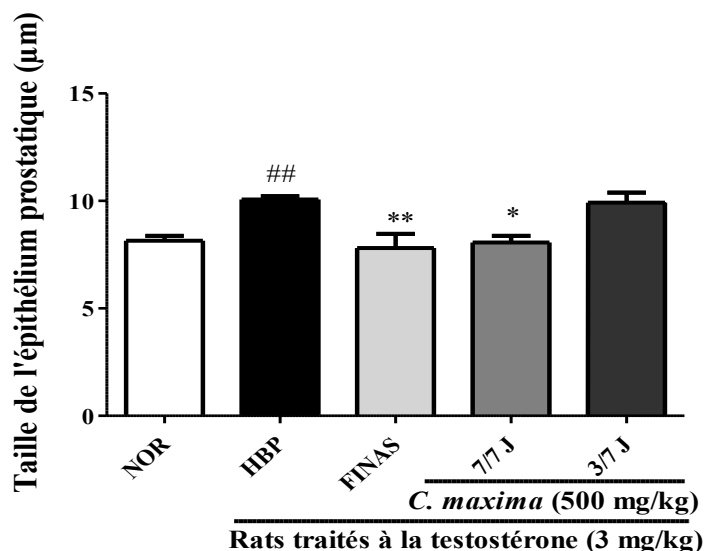
Vingt-huit (28) jours d'administration consécutive de la testostérone chez les rats entraînent l'apparition d'un épithélium épais et bien développé projetant vers la lumière glandulaire comparativement aux animaux du groupe normal. Les graines de *C. maxima* crues prises tous les jours ont réduit significativement l'épaisseur de l'épithélium prostatique tout comme le finastéride comparativement au témoin négatif (Figure 14).



**Figure 14** : Microphotographies H&E200 de la prostate de rats. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée ; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg) ; *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités aux graines de *C. maxima* crues 7/7J et 3/7J, à la dose de 500 mg/kg PC. 1 = Epithélium ; 2 = Tissus connecteurs ; 3 = Lumière glandulaire ; 4 = Vaisseaux sanguin.

### ❖ Effets sur la taille de l'épithélium prostatique

Les effets de la fréquence de la prise des graines de *Cucurbita maxima* crues sur la taille de l'épithélium de la prostate fraîche sont répertoriés dans la Figure 15. L'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) de la taille de l'épithélium de la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal tandis que, administrée de façon intermittente (7/7J), il n'y a pas de variation significative.



**Figure 15 :** Effets de la fréquence de prise des graines de *Cucurbita maxima* crues sur la taille de l'épithélium de la prostate fraîche après 28 jours de traitement.

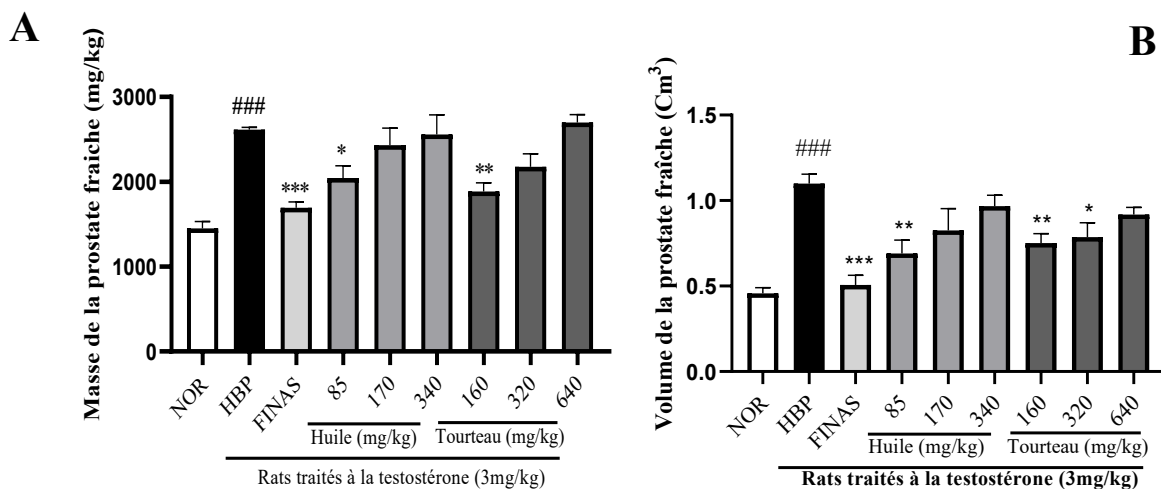
Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 5$ . ## $p < 0,01$  : différence significative par rapport aux normaux. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ : différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l'eau distillée ; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg) ; *C. maxima* cru = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités 7/7 J pour un groupe et 3/7 J pour un autre groupe aux graines de *Cucurbita maxima* crues à la dose de 500 mg/kg.

Les graines du *C. maxima* crues prises 7/7J (500 mg/kg) ont entraîné une réduction significative ( $p < 0,05$ ) de ce paramètre comparativement au témoin négatif. Le finastéride a réduit significativement ( $p < 0,01$ ) la taille de l'épithélium de la prostate fraîche, comparé au témoin négatif.

### III.1.4- Effets comparatifs de l'huile et des tourteaux issus des graines de *C. maxima*

#### III.1.4.1- Effets sur la masse et le volume de la prostate

La figure 16 présente les effets des graines de *Cucurbita maxima* (huile et tourteau) sur la masse relative et le volume prostatique.



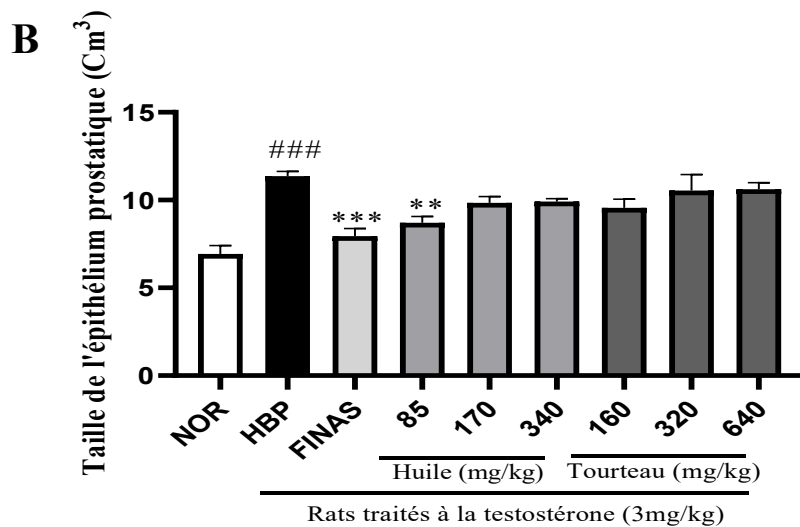
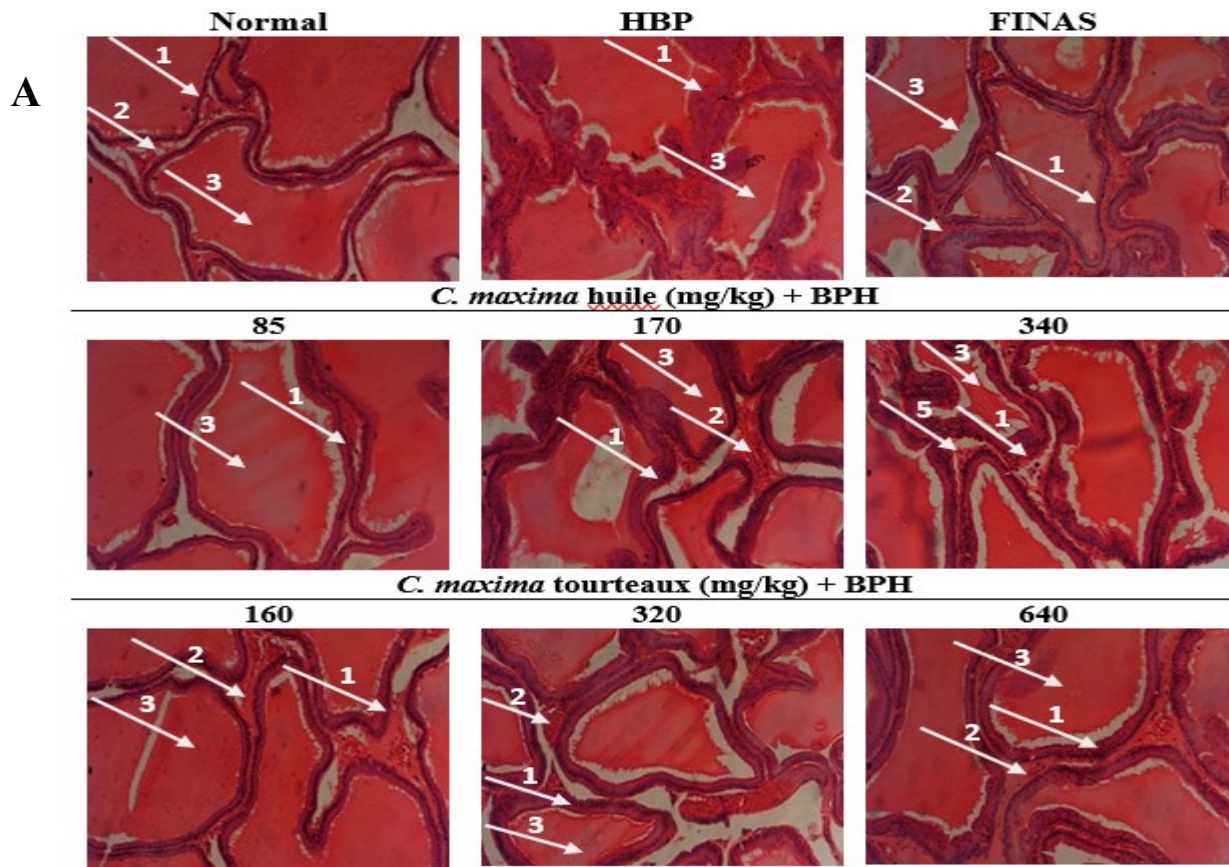
**Figure 16 :** Effets comparatifs de l’huile et des tourteaux des graines de *Cucurbita maxima* sur la masse relative (A) et le volume (B) de la prostate après 28 jours de traitement.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. ###p <0,001: différence significative par rapport aux normaux. \*p <0,05 ; \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux ayant reçu l’eau distillée; HBP = Rats ayant reçu de l’énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l’eau distillée pendant 28 jours; FINAS = Rats ayant reçu de l’énanthate de testostérone et traités à la finastéride (5 mg/kg); Huile = Rats ayant reçu de l’énanthate de testostérone et traités à l’huile des graines du *C. maxima* aux doses de 85, 170 et 340 mg/kg respectivement; Tourteau = Rats ayant reçu de l’énanthate de testostérone et traités aux tourteaux des graines du *C. maxima* aux doses respectivement de 160, 320 et 640 mg/kg.

L’administration de la testostérone a induit une augmentation significative (p<0,001) de la masse relative (Fig. 16A) et du volume (Fig. 16B) de la prostate fraîche comparé au groupe témoin normal. L’huile des graines de *C. maxima* a induit une diminution significative (p<0,05 ; p<0,01) de la masse relative et du volume à la dose de 85 mg/kg. Le même effet a été observé avec les tourteaux issus du fractionnement aux doses de 160 mg/kg pour la masse relative ; 160 et 320 mg/kg pour le volume de la prostate.

### III.1.4.2- Effets sur l’épithélium de la prostate

Les coupes transversales des prostates (Fig. 19A) montrent que l’huile et les tourteaux des graines de *C. maxima* tout comme le finastéride ont réduit l’épaisseur de l’épithélium prostatique. Ces résultats se sont confirmés sur les tailles des épithélia prostatiques (Fig. 19B) par une diminution significative de ces dernières (p<0,001 ; p<0,01) par l’huile à la dose de 85 mg/kg PC.



**Figure 17 :** Microphotographies H&E200 de la prostate de rats après traitement à l'huile et aux tourteaux de *C. maxima*.

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 5. ###p <0,001: différence significative par rapport au normaux. \*\*p <0,01 ; \*\*\*p <0,001: différence significative par rapport au contrôle négatif. NOR = Rats normaux recevant l'eau distillée ; HBP = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités au finastéride (5 mg/kg) ; huile = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traités avec l'huile des graines de *C. maxima* aux doses de 85, 170 et 340 mg/kg, Tourteau = Rats ayant reçu de l'énanthate de testostérone et traité avec le tourteau des graines de *C. maxima* aux doses de 160, 320 et 640 mg/kg PC. 1 = Epithélium ; 2 = Tissus connecteurs ; 3 = Lumière glandulaire ; 4 = vaisseaux sanguins.

### III.2- Discussion

La présente étude portait sur l'évaluation des effets protecteurs des graines de *C. maxima* sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induite chez le rat mâle de souche Wistar par une administration de l'énanthate de testostérone. Le modèle d'induction de l'HBP par la testostérone a déjà fait ses preuves et il est le plus utilisé par la communauté scientifique de nos jours (Nahata et Dixit, 2013 ; Njamen *et al.*, 2020 ; Zingué *et al.*, 2020). Dans ce travail il a été observé une augmentation significative de la masse relative et du volume de la prostate chez les animaux du groupe témoin négatif comparé aux animaux normaux. Tout comme le finastéride qui est un inhibiteur sélectif de la 5- $\alpha$  réductase de type II (Evans *et al.*, 2005), les graines de *C. maxima* crues et cuites ont réduit considérablement la masse relative et le volume prostatique aux doses de 250 et 500 mg/kg. Ceci suggère un effet antihyperplasique de ces graines. Les mêmes résultats ont été obtenus par Ogbu et collaborateurs en 2020 qui, en évaluant les effets de la fraction acétogénique des feuilles de *Anona muricata* sur l'HBP ont obtenu une diminution significative de ces paramètres. En effet, l'élargissement de la prostate chez le rat est un marqueur important de l'HBP (Shin *et al.*, 2012 ; Njamen *et al.*, 2020). Il est dû à l'augmentation du nombre de cellules épithéliales et stromales (hyperplasie), entraînant une augmentation du poids de la prostate. Par contre, la réduction significative de la masse et du volume de la prostate des rats traités aux graines de *C. maxima* crues suggère un effet bénéfique.

Les travaux de Ogbu *et al.* (2020), montrent que les rats traités à la testostérone uniquement présentent après 28 jours une augmentation significative du taux de protéines par rapport au groupe normal. Njamen *et al.*, 2020 lorsqu'ils évaluaient les effets de *Irvingia excelsa* contre l'HBP, ont fait le même constat. En effet, les protéines étant les constituants essentiels des cellules, toute prolifération cellulaire due à l'effet mitogène et anabolisant des androgènes entrainerait également une augmentation du taux des protéines (Kouakou et Benie, 2003). Dans notre travail l'administration de la testostérone aux rats HBP a induit une teneur élevée en protéines prostatiques par rapport aux rats normaux. Les graines de *C. maxima* crues à la seule dose de 500 mg/kg, ainsi que le finastéride ont diminué de manière significative la teneur en protéines chez les animaux, traduisant une atténuation de l'hyperplasie induite par la testostérone. Par contre, les graines cuites n'ont induit aucune variation significative. En effet, Maadsi et Khaled, en 2012 en évaluant l'effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante de deux espèces de courge (*Cucurbita pepo* et *Cucurbita moschata*) ont montré que la cuisson diminue les taux de polyphénols et de caroténoïdes. Les polyphénols sont connus pour leur activité antiproliférative sur l'HBP par inhibition des isoenzymes de la 5 $\alpha$ -réductase de type 1 et 2 (Hiipakka *et al.*, 2001).

L'administration de la testostérone a induit une augmentation significative du taux de protéines totales et de la taille de l'épithélium prostatique. Ces résultats sont en droite ligne avec ceux obtenus sur le poids de la prostate et suggèrent que l'HBP a été induite chez les rats traités à la testostérone dans ce travail. En effet, l'HBP se caractérise sur le plan histologique par une prolifération des cellules épithéliales. Cet épaissement de l'épithélium traduit une activation de la prolifération cellulaire (Njamen *et al.*, 2020). Dans la présente étude, l'administration de la testostérone a induit une augmentation considérable du nombre de cellules épithéliales prostatiques des rats HBP comparés à ceux du groupe normal. Ces résultats sont similaires à ceux d'Agrawal *et al.*, (2012) qui ont montré que l'administration de testostérone pendant 28 jours aux rats entrainerait une prolifération accrue des cellules épithéliales.

Comme attendu, l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative de la masse relative, du volume et de la taille de l'épithélium de la prostate en comparaison au groupe témoin normal. Les graines de *C. maxima* crues administrées à la dose de 500 mg/kg trois fois par semaine n'ont induit aucune variation significative de la masse relative et de la taille de l'épithélium prostatique. Par contre, nous avons noté une diminution significative du volume de la prostate en comparaison au témoin négatif. L'administration quotidienne de ces graines a induit une diminution significative de tous ces paramètres. Ces résultats montrent que la prise quotidienne semble plus efficace que la prise intermittente de ces graines. Ces graines agiraient donc par un effet cumulatif. En effet, l'intensité ou la probabilité de survenue des effets est le plus souvent proportionnelle à la quantité de médicament présente au niveau du site d'action. Pour engendrer un effet détectable, le médicament doit pouvoir atteindre le site d'action et se trouver en quantité suffisante pour interagir avec le récepteur ou l'enzyme cible (Brunel *et al.*, 2021). L'huile et le tourteau issus du fractionnement des graines crues ont induit tous les deux une diminution significative de la masse et du volume chez les animaux traités en comparaison aux animaux non traités. Seule l'huile à la plus petite dose a diminué significativement cette taille en comparaison au témoin normal. Le tourteau quant à lui n'a présenté aucune variation significative. Ces résultats sont similaires à ceux de Gossel-William et collaborateurs en 2006 lorsqu'il évaluait l'effet de l'huile des graines de *Cucurbita pepo* sur l'HBP induite chez le rat. En effet, l'huile extraite de *C. maxima* cru tout comme celle *C. pepo* exercerait ses effets par une inhibition de la 5 $\alpha$ -réductase, enzyme responsable de la transformation de la testostérone en son métabolite actif (Ramak et Mahboubi, 2019). Des études ont suggéré que les actions de l'huile de pépins de courge peuvent être attribuées à la teneur en phytostérols, qui sont connus pour interférer avec les actions de la dihydrotestostérone (Carbin *et al.*, 1990). L'effet amoindri du tourteau pourrait s'expliquer par une variation de la composition relative en composés bioactifs présents dans l'huile et dans le tourteau.

Les travaux menés par Choi *et al.*, (2016), ont montré que l'induction de l'HBP par administration sous-cutanée de la testostérone (3 mg/kg) aux rats pendant 28 jours, se caractérise par l'augmentation du taux sérique de "PSA" chez les rats ayant reçu l'hormone seule. Dans cette étude, les rats HBP ont présenté une élévation significative du taux de "PSA" sérique comparé au témoin normal. Tout comme le finastéride, les graines de *C. maxima* crues ont induit une diminution significative du taux de "PSA" sérique aux doses de 250 et 500 mg/kg comparé au témoin négatif. Ces résultats suggèrent un effet amélioratif des graines de *C. maxima* sur l'HBP induite. En effet, la diminution du taux de "PSA" est associée à une réduction de l'hyperplasie prostatique (Sing *et al.*, 1991) qui peut être due à une inhibition de la 5  $\alpha$ -réductase, enzyme responsable de la transformation de la testostérone en dihydrotestostérone. Cette dernière est un produit métabolique actif qui joue un rôle essentiel dans la croissance de la prostate en se liant aux récepteurs nucléaires des androgènes, induisant ainsi la synthèse de facteurs de croissance qui agissent sur les épithélia prostatiques et le stroma, entraînant une hypertrophie de la prostate (Nahata *et al.*, 2011). Tous ces résultats suggèrent que les graines de *C. maxima* contiendraient des métabolites secondaires qui seraient capables de contrecarrer les effets prolifératifs de la testostérone sur la prostate.

Dans ce travail nous n'avons pas pu doser la DHT prostatique, mais nous avons pu évaluer le taux de testostérone sérique restant après 28 jours consécutifs de traitement. Il ressort de ce dosage que la testostérone a significativement augmenté chez les rats HBP comparés aux normaux. En effet, la testostérone et son métabolite actif la dihydrotestostérone sont des hormones stéroïdes associées à l'HBP. Elles jouent un rôle important dans le développement des organes reproducteurs masculins. Ces hormones régulent les processus cellulaires pouvant conduire à la croissance, à la prolifération et à

la différenciation des cellules (Jeon *et al.*, 2017). Les graines de *C. maxima* crues ont significativement diminué ce taux de testostérone sérique. Ces résultats vont en droite ligne avec ceux de Jeon et collaborateurs en 2017 qui, en évaluant les effets de *Ponciri fructus* sur l'HBP induite par la testostérone chez le rat ont trouvé une diminution significative du taux de testostérone sérique avec les animaux testés. Ces résultats suggèrent une augmentation de l'activité inhibitrice de la 5 $\alpha$ -reductase. Il pourrait également agir en interférant dans la biosynthèse des androgènes ou en inhibant l'augmentation de la testostérone libre sérique, en augmentant la concentration des "Sex Hormon Binding Globulin" (SHBG). Dans ce cas la diminution de la fraction libre de la testostérone entraînerait par ricochet la diminution de la DHT prostatique, et donc inhiberait son action proliférative ; ce qui serait à l'origine de la baisse de la masse et du volume prostatique dans ce travail.

Le stress oxydatif est considéré comme l'un des mécanismes qui déclenche une série de réactions impliquées dans le développement et la progression de l'HBP (Udensi *et al.*, 2016). Il a été rapporté que les niveaux d'antioxydants sont considérablement réduits dans le tissu prostatique pendant l'HBP (Udensi *et al.*, 2016 ; Minciullo *et al.*, 2015). Outre les dommages possibles au tissu prostatique par les espèces réactives de l'oxygène, une prolifération cellulaire compensatrice peut également s'installer, aggravant ainsi l'élargissement de la prostate (Minciullo *et al.*, 2015). Les travaux menés sur un modèle de rat HBP non traités ont montré que les activités antioxydantes du glutathion (GSH), de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase étaient toutes significativement réduites dans la prostate de ces rats (Mbaka *et al.*, 2019). Dans la présente étude, l'administration de la testostérone seule aux animaux du groupe témoin négatif (HBP) a induit une réduction de ces paramètres antioxydants excepté le glutathion réduit et la catalase par rapport au groupe normal. Les graines de *C. maxima* (crues et cuites), tout comme le finastéride, ont induit une augmentation significative des taux de la SOD et du glutathion réduit mais pas de la catalase aux doses de 500 et 1000 mg/kg PC, alors qu'une augmentation significative du glutathion réduit et de la catalase (mais pas de la SOD) a été observée après le traitement aux graines de *C. maxima* cuites uniquement à la dose de 125 mg/kg PC. L'augmentation du taux de ces enzymes serait la réponse au stress oxydant induit par l'HBP. En effet, la SOD et la catalase sont d'importantes enzymes antioxydantes : la SOD catalyse la dismutation du radical superoxyde pour former le peroxyde d'hydrogène, qui sera transformé en eau par la catalase. Le GSH réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par le glutathion peroxydase (Valko *et al.*, 2007). Les graines de *C. maxima* crues et cuites auraient une activité antioxydante qui protégerait l'intégrité des tissus des effets délétères des radicaux libres et de la peroxydation lipidique associés à l'HBP. Ces effets seraient dus à la présence dans les graines de *C. maxima* des composés antioxydants tels que la vitamine E et l' $\alpha$ -tocophérols qui protégeraient les cellules des effets délétères des radicaux libres et de la peroxydation lipidique associés à l'HBP (Valko *et al.*, 2007). Néanmoins, les graines de *C. maxima* crues ont montré des effets plus efficaces sur les paramètres antioxydants par rapport aux graines de *C. maxima* cuites. Nous pouvons justifier ces résultats par le fait que la cuisson peut dégrader certaines molécules fonctionnelles utiles pour notre organisme, notamment les antioxydants contenus dans notre alimentation. Au cours de la cuisson (élévation de la température) et sous l'effet d'agitation, les molécules subissent un choc, elles se brisent et se recombinaient au hasard à d'autres molécules pour former de nouvelles structures très complexes, dont certaines n'existent pas dans la nature et leurs propriétés sont inconnues comme la polymérisation des sucres, oxydation, polymérisation et cyclisation des huiles. En effet Maadsi et Khaled (2012) en évaluant l'effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante de deux espèces de courge (*Cucurbita pepo* et *Cucurbita moschata*) ont montré que la

cuisson diminue les taux de polyphénols et de caroténoïdes. Ceci pourrait expliquer la baisse de l'activité des graines de *C. maxima* cuites.

L'HBP a une corrélation avec le taux de malondialdéhyde, suggérant l'effet oxydant (Mercedino *et al.*, 2003). En effet, le MDA est utilisé comme indice de la peroxydation lipidique qui est l'une des manifestations principales des dommages oxydants initiés par les espèces réactives d'oxygène (ERO). L'augmentation des espèces réactives d'oxygène (ERO) peut stimuler la progression du cycle cellulaire et favoriser la prolifération cellulaire jouant de ce fait un rôle important dans la progression de l'HBP (Hu *et al.*, 2005). Dans ce travail, il a été observé une augmentation significative du taux de MDA chez les rats ayant reçu la testostérone seule par rapport au témoin normal. Ces résultats sont similaires à ceux de Guzman *et al.*, (2013) qui ont observé une augmentation du taux de MDA dans les tissus prostatiques hyperplasiés. Par contre, une baisse significative de ce paramètre a été observée d'une part avec les graines de *C. maxima* crues aux doses de 250 et 500 mg/kg, et d'autre part avec les graines de *C. maxima* cuites aux doses de 125 et 1000 mg/kg par rapport au témoin négatif. Ceci suggère que le renforcement de l'action antioxydant pourrait être l'un des mécanismes possibles grâce auxquels les graines de *C. maxima* ont pu atténuer l'HBP induite.

## Conclusion et perspectives

La présente étude avait pour objectif d'évaluer les effets protecteurs des graines de *Cucurbita maxima* sur un modèle d'hyperplasie de la prostate induite chez le rat Wistar. Il ressort du travail que les graines de *C. maxima* crues ont prévenu l'installation et le développement de l'HBP induite par la testostérone :

✓ les graines de *C. maxima* crues ont réduit significativement la masse relative, le volume, la taille de l'épithélium et le taux de protéines prostatiques surtout à la dose de 500 mg/kg PC ; et la cuisson a diminué l'efficacité de ces graines ;

✓ la prise quotidienne des graines semble plus efficace que la prise de manière intermittente ;

✓ l'huile des graines de *C. maxima* semble rassembler la quasi-totalité des composés bioactifs de *C. maxima*.

✓ ces résultats pris dans l'ensemble, suggèrent que les graines de *C. maxima* sont douées des propriétés antihyperplasiques et antioxydantes pouvant protéger contre l'HBP induite par la testostérone chez le rat Wistar.

Pour compléter ce travail, nous nous proposons :

- d'étudier la toxicité des graines de *C. maxima* ;
- d'évaluer les effets curatifs de l'huile des graines de *C. maxima* Duchesne sur l'HBP ;
- d'élucider les mécanismes d'action par les tests anti-androgénique, anti-oestrogénique, anti-inflammatoire et cytotoxique de l'huile des graines du *C. maxima*.

## REFERENCES

- Agrawal M, Nahata A and Dixit V.** (2012). Protective effects of *Echinops echinatus* on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. *European Journal of Integrative Medicine*; 4: 177-185.
- Al-Shaheen S, Kaskoos A, Hamad K and Ahamad J.** (2013). In-vitro antioxidant and  $\alpha$ -amylase inhibition activity of *Cucurbita maxima*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 2: 121-124.
- Ambasta S.** (1992). The Useful Plants of India. Publications and Informations Directorate, C.S.I.R, Dr K.S. Kr-ishnamarg, *New Delhi India*; 149.
- Association Française d'Urologie.** (2009). Dossier de presse Journée de la prostate 15 Septembre – 2009, 1-18.
- Benton J and Case V.** (1990). Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. In R. L. Westerman (ED) 3<sup>rd</sup> ed. SSSA Book Series N°3, *soil testing and plant analysis*; 3: 389-427.
- Bianchi-Frias D, Vakar-Lopez F, Coleman I, Plymate S, Reed M and Nelson P.** (2010). The effects of aging on the molecular and cellular composition of the prostate microenvironment. *PLoS One*; 5: e12501.
- Blumenthal M, Busse W, Goldberg A, Gruenwald J, Hall T, Riggins C and Rister R.** (1998). The Complete German Commission E. Monographs American Botanical Council. *Integrative Medicine Communications, Austin, Tx*; 395-398. [DOI: 10.7326/0003-4819-130-5-199903020-00024](https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-5-199903020-00024)
- Bombardelli E, Morazzoni P and Small J.** (1997). *Serenoa repens* (13artram). *Fitoterapia (Milano)*; 68: 99-113.
- Bonnaure-Sorbier D.** (2020). L'hyperplasie bénigne de la prostate, un vieillissement cellulaire naturel. *Actualités pharmaceutiques*; 592 : 1-24.
- Bourguet P, Brusco S, Corone C, Devillers A, Foehrenbach H, Lumbroso J-D, Maszelin P, Montravers F, Moretti J-L, Rain J-D, Talbot J-N, Carretier J, Leichtnam-Dugarin L, Delavigne V, Philip T and Fervers B.** (2005). Comprendre la tomographie par émission de positions au (<sup>18</sup>F)-FDG en cancérologie. Information à l'usage des personnes malades et de leurs proches. *Bulletin du Cancer*; 92: 723-732.
- Boyle P, Gould L and Roehrborn C.** (1996). Prostate volume predicts outcome of treatment of benign prostatic hyperplasia with finasteride: meta-analysis of randomized clinical trials. *Urology*; 48: 398-405.
- Bradford M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* ; 72: 248-254.
- Bravi F, Bosetti C, Maso L, Talamini R, Montella M, Negri E, Ramazzotti V, Franceschi S and Vecchia C.** (2006). Macronutrients, fatty acids, cholesterol, and risk of benign prostatic hyperplasia. *Urology*; 67: 1205-1211.
- Bravi F, Bosetti C, Maso L, Talamini R, Montella M, Negri E, Ramazzotti V, Franceschi S and Vecchia C.** (2006). Food groups and risk of benign prostatic hyperplasia. *Urology*; 67: 73-79.
- Brunel P, Flesch G and Meno-Tetang G.** (2021). Voyage au cœur de la relation dose réponse d'un médicament. *Les Ulis : EDP Sciences* ; 263-270. [Doi.org/10.1051/978-2-7598-1999-7.co21](https://doi.org/10.1051/978-2-7598-1999-7.co21)
- Cannet C.** (2006). Artéfacts – les difficultés de la technique histologique, de la circulation à la coupe. *Revue Française d'Histotechnologie (Amboise)* ; 19: 71-83.

- Carbin B-E, Larsson B and Lindahl O.** (1990). Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols. *British Journal of Urology*; 66: 639-641.
- Carpenter G and Wahl M.** (1990). The epidermal growth factor family. In: Sporn M.B., Roberts A.B. (eds.), Peptide growth factors and their receptors I. *Handbook of Experimental Pharmacology*; 95: 69-171.
- Carson III C and Rittmaster R.** (2003). The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology*; 61: 2-7.
- Choi H-M, Jung Y, Park J, Kim H-L, Youn D-H, Kang J, Jeong M-Y, Lee J-H, Yang W, Lee S-G, Ahn K and Um J-Y.** (2016). *Cinnamomi cortex* (*Cinnamomum verum*) suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 $\alpha$ -reductase. *Scientific Reports*; 6: 1-12.
- Chung K-S, Shin S-J, Lee N, Cheon S-Y, Park W, Sun S-H and An H-J.** (2016). Antiproliferation effect of (*Allium sativum* L.) on the progression of benign prostatic hyperplasia. *Phytotherapy research*; 30: 1197-1203.
- Cicero A, Allkanjari O, Busetto G, Cai T, Largana G, Magri V, Perletti G, Cuna F, Russo G, Stamatiou K, Trinchieri A and Vitalone A.** (2019). Neutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia* ; 91: 139-152.
- Coulange C.** (2006). Du bon usage du PSA (Antigène Prostatique Spécifique) : Recommandations de l'Association Française d'Urologie. *E-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie*; 5: 19-21.
- Cruz N, Capellas M, Hernandez M, Trujillo A, Guamis B and Ferragut V.** (2007). Ultra high pressure homogenization of soymilk: microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Research International*; 40: 725-732.
- Cunto M, Mariani E, Guido E, Ballotta G and Zambelli D.** (2019). Clinical approach to prostatic diseases in the dog. *Reproduction in Domestic Animals*; 54: 815-822.
- DeNunzio C, Kramer G, Marberger M, Montoroni R, Nelson W, Schroder F, Sciarra A and Tubaro A.** (2011). The controversial relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: the role of inflammation. *European Urology*; 60: 106-117.
- Descazeaud A, Barry N, Cornu N, Azzouzi R, Buchon D, Benchikh A, Coloby P, Dumonceau O, Fourmarier M, Haillet O, Lebdai S, Mathieu R, Misrai V, Saussine C, de La Taille A and Robert G.** (2015). Comité des troubles mictionnels de l'homme de l'Association française d'urologie (CTMH-AFU). [Guide dedicated to general practitioner for the management of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia]. *Progrès en Urologie* ; 25 : 404-412.
- Descazeaud A, Robert G, Delongchamps N, Cornu J-N, Saussine C, Haillet O, Devonec M, Fourmarier M, Ballereau C, Lukacs B, Dumonceau O, Azzouzi A and Taille A.** (2012). Bilan initial et suivi de l'hyperplasie bénigne de prostate : revue de littérature du CTMH de l'AFU. *Progrès en Urologie* ; 22: 1-6.
- Dictionnaire Vidal.** (2008). 84e éd. Paris: Ed. du Vidal, 2632 et 325 p.
- Ejike C and Ezeanyika L.** (2011). Inhibition of the experimental induction of benign prostatic hyperplasia: a possible role for fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis* Hook f.) seeds. *Urologia International*; 87: 218-224.
- Ellman G.** (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 82: 70-77.

- Evans C, Fleshner N, Fitzpatrick J and Zlotta A.** (2005). An evidence-based approach to understanding the pharmacological class effect in the management of prostatic diseases. *BJU International*; 95: 743-749.
- Feldman B and Feldman D.** (2001). The development of androgen-independent prostate cancer. *Nature Reviews Cancer*; 1: 34-45.
- Ficarra V, Rossanese M, Zazzara M, Giannarini G, Abbinante M, Bartoletti R, Mirone V and Scaglione F.** (2014). The role of inflammation in lower urinary tract symptoms (LUTS) due to benign prostatic hyperplasia and its potential impact on medical therapy. *Current Urology Reports*; 15: 463.
- Giri D and Ittmann M.** (2000). Interleukin-1 $\alpha$  is a paracrine inducer of FGF7, a key epithelial growth factor in benign prostatic hyperplasia. *The American Journal of Pathology*; 157: 249-255.
- Gossell-Williams M, Davis A and O'Connor N.** (2006). Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of Sprague-Dawley rats by pumpkin seed oil. *Journal Medicinal Food*; 9: 284-286.
- Guzmán R, Illnait J, Mas R, Yohani P, Fernández L, Mendoza S, Oyarzábal A, Fernández J, Meilis M, Borrero L and Reyes P.** (2013). Comparative Effects of *Roystonea regia* and *Saw palmetto* Lipid Extracts On Blood Oxidative Variables in Men with Benign Prostate Hyperplasia (BPH). *Journal of Pharmacy*; 3: 01-08.
- Hamid A, Umbas R and Mochtar C.** (2011). Recent role of inflammation in prostate diseases: chemoprevention development opportunity. *Acta Medica Indonesiana*; 43: 59-65.
- Hiipakka R, Zhang H-Z, Dai W, Dai Q and Liao S.** (2002). Structure-activity relationships for inhibition of 5 $\alpha$ -reductase by polyphenols. *Biochemical Pharmacology*; 63: 1165-1176.
- Hu Y, Rosen D, Zhou Y, Feng L, Yang G, Liu J and Huang P.** (2005). Mitochondrial manganese-superoxide dismutase expression in ovarian cancer: role in cell proliferation and response to oxidative stress. *Journal of Biology Chemistry*; 280: 39485-39492.
- Isaacson A, Bagla S, Raynor M and Yu H.** (2020). Prostatic Artery Embolization. *Springer Nature Switzerland AG*; pp156. Doi.org/10.1007/978-3-030-23471-3.
- Iscaife A, Anjos G, Neto C, Nahas W, Srougi M and Antunes A.** (2018). The role of bladder diverticula in the prevalence of acute urinary retention in patients with BPH who are candidates to surgery. *International Brazil Journal Urology*; 44: 765-770.
- Jeon Y-W, Kim O, Seo C-S, Jin S, Kim J-A, Shin H-K, Kim Y-U and Lee M-Y.** (2017). Inhibitory effects of Fructus on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats. *BMC complementary and alternative Medicine*; 17: 1-10.
- Kamina P.** (2005). Précis d'anatomie clinique. Tome IV. Editions Maloine, 197-205
- Kapoor A.** (2012). Benign prostatic hyperplasia management in the primary care setting. *The Canadian Journal of Urology*; 19: 10-17.
- Kassen A, Sutkowski M, Ahn H, Sensibar A, Kozlowski M and Lee C.** (1996). Stromal cells of the human prostate: initial isolation and characterization. *The Prostate*; 28: 89- 97.
- Kouakou K and Benie T.** (2003). Effet antifertilisant de *Dal-dinia concentrica* et *Psathyrella efflorescens*. Recherche des effets œstrogéniques. *Ethnopharmacologia*; 31: 45-57.
- Kumar P, Kumar N, Thakur D and Patidar A.** (2010). Male hypogonadism: symptoms and treatment. *Journal Advanced Pharmaceutical Technology and Research*; 1: 297-301.
- Langan R.** (2019). Benign Prostatic Hyperplasia. *Primary Care: Clinics in Office Practice*; 46: 223-232.

- LaVignera S, Condorelli R, Russo G, Morgia G and Calogero A.** (2016). Endocrine control of benign prostatic hyperplasia. *Andrology*; 4: 404-411.
- Maadsi L and Khaled H.** (2011-2012). Effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante de deux espèces de courge (*Cucurbita pepo* et *Cucurbita moschata*) récoltées à Bejaia. Mémoire de Fin de Cycle d'étude en Sciences Alimentaires. Université A-Mira de Bejaia, Algérie.
- Mahmoodpoor A, Medghalchi M, Nazemiyeh H, Asgharian P, Shadvar K, and Hamishehkar.** (2018). Effect of *Cucurbita maxima* on control of blood glucose in Diabetic Critically III Patients. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* ; 8: 347-351.
- Marieb E.** (2010). Anatomie et physiologie Humaines. De Boeck Université, Paris, Bruxelles (8ème Ed) : 1190-1196.
- Marker P, Donjacour A, Dahiya R and Cunha G.** (2003). Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental biology*; 253: 165-174.
- Marks L, Hess D, Dorey F, Macairan M, Santos P and Tyler V.** (2001). Tissue effects of *Saw palmetto* and finasteride: use of biopsy cores for in situ quantification of prostatic androgens. *Urology*; 57: 999-1005.
- Martin P-M, Muracciole X, Berenguer C, Boudouresque F and L'H O.** (2008). Evolution de la cellule normale à la cellule cancéreuse prostatique hormonodépendante-hormono-indépendante. *Médecine Nucléaire*; 32: 5-23
- Matsumoto S, Hanai T and Uemura H.** (2010). Chronic treatment with a PDE5 inhibition increases contractile force of normal bladder in rats. *International Urology and Nephrology*; 42: 53-56.
- Mbaka G, Ogonnia S, Sulaiman A and Osiagwu D.** (2019). Histomorphological effects of the oil extract of *Sphenocentrum jollyanum* seed on benign prostatic hyperplasia induced by exogenous testosterone and estradiol in adult Wistar rats. *Avicenna J Phytomed*; 9: 21-33
- McCormick B and Raynor M.** (2020). The Prostate and Benign Prostatic Hyperplasia. *Prostatic Artery Embolization*; 00: 1-9.
- Mc Neal J.** (1968). Regional morphology and pathology of the prostate. *American Journal of Clinical Pathology*; 49: 347-357.
- Merendino R, Salvo F, Saija A, Pasquale G, Tomaino A, Minciullon P and Fraccica G.** (2003). Malondialdehyde in Benign Prostate Hypertrophy: a useful marker. *Mediators of Inflammation*; 12: 127-128.
- Minciullo P, Inferrera A, Navarra M, Calapai G, Magno C and Gangemi S.** (2015). Oxidative stress in benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *Urologia Internationalis*; 94: 249-254.
- Mirnamniha M, Faroughi F, Tahmasbpour E, Ebrahimi P and Beigi A.** (2019) An overview on role of some trace elements in human reproductive health, sperm function and fertilization proces. *Rev Environ Health*; 34: 339-348.
- Misra H and Fridovich L.** (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*; 247: 3170-3175.
- Mollika P, Shihab S, Alam K, Ranjan B, Mir W and Rafiqui K.** (2020). Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seeds protect against formaldehyde-induced major organ damages. *Heliyon* ; 6: 1-9.
- Montorsi F, Roehrborn C, Garcia-Penit J, Borre M, Roeleveld T, Alimi J-C, Ganier P and Wilson T.** (2011). The effects of dutasteride or tamsulosin alone and in combination on storage and voiding symptoms in men with lower urinary tract symptoms (LUTS) and benign

- prostatic hyperplasia (BPH): 4-year data from the combination of avodart and tamsulosin (CombAT) study. *BJU International*; 107: 1426-1431.
- Muraleedharan V and Jones T.** (2010). Testosterone and the metabolic syndrome. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*; 1: 207-223.
- Nahata A and Dixit K.** (2011). *Sphaeranthus indicus* attenuates testosterone induced prostatic hypertrophy in albino rats. *Phytotherapy Research*; 25: 1839-1848.
- Nahata A and Dixit V.** (2012). Ameliorative effects of Stinging Nettle (*Urtica dioica*) on testosterone induced prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia* 44: 396-409.
- Nahata A, Saxena A, Suri N and Dixit V.** (2013). *Sphaeranthus indicus* induces apoptosis through mitochondrial-dependent pathway in HL-60 cells and exerts cytotoxic potential on several human cancer cell lines. *Integrative Cancer Therapies*; 12: 236-47.
- Nilsson O, Peter A, Andersson I, Nilsson K, Grundstrom B and Karlsson B.** (1997). Antigenic determinants of prostate-specific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *British Journal of Cancer*; 75: 789-797.
- Njamen D, Bakam Y, Rutz J, Maxeiner S, Awounfack F, Ndinteh D, Jüngel E, Zingue S and Blaheta A.** (2020). *Irvingia excelsa* Mildbr. ethanolic extract displays in vitro cytotoxic effects on prostate cancer cells and prevents benign prostatic hyperplasia in Wistar rats. *Biologia*; 75: 2053-2062.
- Ozioko S, Madueke A and Anosike C.** (2020). Phytochemical composition and free radical scavenging activity of *Cucurbita maxima* fruit juice. *Research Journal in Advanced Sciences*; 1: 26.
- Ogbu P, Ugota E, Onwuka R, Ogbu I and Alope C.** (2020). Effect of acetogenin fraction of *Annona muricata* leaves on antioxidant status and some indices of benign prostatic hyperplasia in rats. *Redox Report*; 25: 80-86.
- Patel N and Parsons J.** (2014). Epidemiology and etiology of benign prostatic hyperplasia and bladder outlet obstruction. *Indian journal of urology*; 30: 170-176.
- Paubert-Braquet M, Richardson F, Servent-Saez N, Monge M-R and Brazan N.** (1996). Effect of *Serenoa repens* extract (Permixon) on estradiol/ testosterone-induced experimental prostate enlargement in the rat. *Pharmacological Research*; 34: 171-179.
- Poirier J.** (2009). L'hypertrophie bénigne de la prostate et son traitement médicamenteux. Sciences pharmaceutiques Thèse de Doctorat d'Etat. Université Henri Poincaré- Nancy I. Faculté de Pharmacie. hal-01734343. 101P.
- Prajapati N, Purohit S, Sharma A and Kumar T.** (2006). Un manuel des plantes médicinales *Agrobios, Jodhpur, Inde* ; 51 : 177.
- Rahul K, Manisha B and Vijay R.** (2014). Inhibitory effects by ayurvedic plants on prostate enlargement induced in rats. *Pharmacognosy Research*; 6: 127-132.
- Ramak P and Mahboubi M.** (2019). The beneficial effect of Pumpking (*Cucurbita pepo* L.) Seed oil for health conditional of men. *Food Reviews International* 35: 166-176.
- Ravier E and Robine E.** (2013). *De Boeck-Estem*.
- Réveiller M.** (2008). Etude du ligand TRAIL et ses récepteurs dans la prostate normale et pathologique reliée au statut hormonal. Biologie cellulaire. Université Claude Bernard - Lyon I. *Français* ; 273.
- Roberts R, Jacobson D, Rhodes T, Klee G, Leiber M and Jacobsen S.** (2004). Serum sex hormones and measures of benign prostatic hyperplasia. *The Prostate*; 61: 124-131.

- Roehrborn C, Gange S, Shore N, Giddens J, Bolton D, Cowan B, Brown B, McVary K and Te A.** (2013). The prostatic urethral life for treatment of urinary tract symptoms associated with prostate enlargement due to BPH. *the LIFT Study. Journal of Urology*; 190: 2161-2167.
- Saladin K.** (2003). Anatomy and physiology-The unity of form and function. *3rd Edition McGraw-Hill*. 1025: 1031-1041.
- Sanda M, Beaty T, Stutzman R, Childs B and Walsh P.** (1994). Genetic susceptibility of benign prostatic hyperplasia. *The Journal of Urology*; 152: 115-119.
- Seisen T, Roupret M, Falx A and Droupy S.** (2012). La prostate : une glande au carrefour urogénital. *Progrès en urologie*; 22: 2-6.
- Shao R.** (2014). Epithelial-to-mesenchymal transition and estrogen receptor alpha mediated epithelial dedifferentiation mark the development of benign prostatic hyperplasia. *Prostate*; 74: 970-982.
- Sharma A, Chand T, Khardiya M and Yadav K.** (2013). Activité antidiabétique et antihyperlipidémique des graines de *Cucurbita maxima* Duchesne (citrouille) sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1: 59-71.
- Sharma M, Chadha R and Dhingra N.** (2017). Phytotherapeutic agents for benign prostatic hyperplasia: an overview. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*; 17: 1346–1363.
- Shin I-S, Lee M-Y, Jung D-Y, Seo C-S, Ha H-H and Shin H-K.** (2012). Ursolic acid reduces prostate size and dihydrotestosterone level in a rat model of benign prostatic hyperplasia. *Food and Chemical Toxicology*; 50: 884-888.
- Silva J, Silva C and Cruz F.** (2014). Current medical treatment of lower urinary tract symptoms/BPH: do we have a standard? *Current Opinion Urology*; 24: 21-28.
- Sing B, Ram S, Pandey V, Joshi V and Gambhir S.** (1991). Studies on antiinflammatory activity of taraxasterol acetate from *Echinops echinatus* in rats and mice. *Phytotherapy Research*; 5: 103-106.
- Sinha A.** (1972). Calorimetric Assay of catalase. *analytical biochemistry*; 47: 389-394.
- Sow M, Nkégom B, Essame J-L and Nzokou A.** (2006). Aspects épidémiologiques et histopathologiques des tumeurs urogénitales au Cameroun. *Progrès en Urologie*; 16: 36-39.
- Speakman M, Kirby R, Doyle S and Ioannou C.** (2014). Burden of male lower urinary symptoms (LUTS) suggestive of benign prostatic hyperplasia (BPH). *BJU international*; 115: 508-519.
- Steiner G, Newman M, Paikl D, Stix U, Memaran-Dagda N, Lee C and Marberger M.** (2003). Expression and function of proinflammatory interleukin IL-17 and IL-17 receptor in normal, benign hyperplastic and malignant prostate. *The Prostate*; 56: 171-82.
- Szolnoki E, Reichart E, Marchal S and Szegedi G.** (2001). The effect of *Pygeum africanum* on fibroblast growth factor (FGF) and transforming growth factor beta (TGF beta 1/LAP) expression in animal model. *Acta Microbiologica and Immunologica Hungarica*; 48: 1-9.
- Teiten H, Gaascht F, Dicato M and Diederich M.** (2013). Anticancer bioactivity of compounds from medicinal plants used in European Medieval traditions. *Biochemical Pharmacology*; 86: 1239-1247.
- Udensi K and Tchounwou B.** (2016). Oxidative stress in prostate hyperplasia and Carcinogenesis. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*; 35: 1-19.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M and Telser J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Internationnal Journal Biochemistry Cell and Biology*; 39: 44-84.

- Verze P, Cai T and Lorenzetti S.** (2016). The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology*; 13: 379-386.
- Vyas B, Desai N, Patel P, Joshi S and Shah D.** (2013). Effect of *Boerhaavia diffusa* in experimental prostatic hyperplasia in rats. *Indian Journal of Pharmacology*; 45: 264-269.
- Whitaker T.** (1947). American origin of the cultivated cucurbits. *Annals Missouri Botanical Garden*; 34: 101-111.
- Whitaker T and Cutler H.** (1965). Cucurbits and Culture in the Americas. *Springer*; 19: 344-349.
- Wong C, Bray T and Ho E.** (2009). Induction of proinflammatory response in prostate cancer epithelial cells by activated macrophages. *Cancer Letters*; 276: 38-46.
- Xu D, Wang X, Jiang C, Ruan Y, Xia S and Wang X.** (2017). The androgen receptor plays different roles in the macrophage-induced proliferation in prostate stromal cells between transitional and peripheral zones of benign prostatic hypertrophy. *EXCLI Journal*; 16: 939-948.
- Yagi K.** (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*; 15: 212-216.
- Yamada S, Ito Y, Nishijima S, Kadekawa K and Sugaya K.** (2018). Basic and clinical aspects of antimuscarinic agents used to treat overactive bladder. *Pharmacology and Therapeutics*; 189: 130-148.
- Yan J, Li X and Li Y.** (2021). The treatment of benign prostatic hyperplasia. *Prostatic Arterial Embolization*; 7-11. Doi.org/10.1007/978-981-15-6836-7\_2.
- Ylikomi T, Laaksi I, Lou Y-R, Martikainen P, Miettinen S, Pennanen P, Purmonen S, Syvala H, Vienonen A and Tuohimaa P.** (2002). Antiproliferative action of vitamin D. *Vitamins and Hormones*; 64: 357- 406.
- Zingue S, Maxeiner S, Rutz J, Ndinteh D, Chun F, Fohouo F-N, Njamen D and Blaheta R.** (2020). Ethanol-extracted Cameroonian propolis: Antiproliferative effects and potential mechanism of action in prostate cancer. *Andrologia*; 52: e13698.