

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix - Travail - Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

\*\*\*\*\*

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE

ANIMALE



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace - Work - Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

\*\*\*\*\*

ANIMAL PHYSIOLOGY

LABORATORY

**Activités de l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera*  
(Moringaceae) sur les performances physiques et profil de  
toxicité chez les rats**

Thèse présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du  
Doctorat / Ph.D. en Biologie des Organismes Animaux.

Par : **BONNOY LAMOU**  
Master en Physiologie Animale

Sous la direction de  
**TAN Paul VERNYUY,**  
rofesseur (Université de Yaoundé 1)

Année Académique : 2019



UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I  
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTÉ DES SCIENCES  
FACULTY OF SCIENCE

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

## ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE DOCTORAT/Ph.D

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/ Ph.D de Monsieur **BONNOY LAMOU** (Matricule: 12Q1322), soutenance autorisée par la correspondance N° 190254/UY1/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/CB-ebo de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 06 Février 2019, attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation faite le 29 Mars 2019 ont été réellement effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

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

Yaoundé le ..... 06 FEB 2020

Président du Jury

ETOUNDI NGOA Serge Laurent

Examineur

MEGNEKOU Rosette

Chef de Département



*Charles Felix Bilong Bilong*  
Professeur

BILONG BILONG Charles Felix

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b>  <b>FACULTÉ DES SCIENCES</b>  Division de la Programmation et du suivi des Activités Académiques		<b>The University of Yaoundé I</b>  <b>Faculty of Science</b>  Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>	<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>	

**ANNEE ACADEMIQUE 2018/2019**  
(Par Département et par Grade)

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean Claude, Maître de Conférences  
**VICE-DOYEN / DPSAA** : DONGO Etienne, Professeur  
**VICE-DOYEN / DSSE** : OBEN Julius ENYONG, Professeur  
**VICE-DOYEN / DRC** : MBAZE MEVA' A Luc Léonard, Maître de Conférences  
**Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche** : ABESSOLO Monique, Chargée de Cours  
**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de Conférences

<b>1-DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)</b>			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	Chef Dpt/FMSB
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	Coord. CRFD-STG
6	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
7	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
8	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
9	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
10	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
11	MINKA Samuel	Maître de Conférences	En poste
12	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
13	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
14	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
15	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
16	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF/ FS
17	ATOUGHO Barbara Mma	Chargé de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
22	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
23	EVEHE BEBANDOUÉ Marie -Solange	Chargé de Cours	En disponibilité
24	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
25	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clautilde	Chargé de Cours	<b>IA4/MINESUP</b>
28	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste

29	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
30	AKINDEH MBUH NJI	Assistant	En poste
31	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
32	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Assistant	En poste
33	DAKOLE DABOY Charles	Assistant	En poste
34	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Assistant	En poste
35	FONKOUA Martin	Assistant	En poste
36	LUNGA Paul KAILAH	Assistant	En poste
37	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
38	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
39	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Assistant	En poste
40	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

## 2-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMGANG René	Professeur	<b>C.E. MINRESI</b>
5	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	en poste
6	MIMPFONDI REMY	Professeur	En poste
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<b>Coord. Progr. MINSANTE</b>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	En poste
13	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
14	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
15	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<b>VDRC/Chef dépt FMSB</b>
16	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	<b>CT2 MIN. ENERGIE</b>
17	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Maître de Conférences	En poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	En poste
24	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
25	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
26	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
27	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
28	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
29	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
30	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
32	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
33	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
34	NGOUATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
35	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
36	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
37	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
38	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
39	YEDE	Chargé de Cours	En poste
40	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
41	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
42	METCHI DONFACK Mireille Flaure	Assistant	En poste
43	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste

**3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)**

1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	AMBANG Zachée	Professeur	<b>Vice-Doyen/FSE</b>
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
5	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
6	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
7	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
8	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
9	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
10	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
11	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<b>CE / MINRESI</b>
12	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
13	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
14	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
15	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
16	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<b>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</b>
17	NGALLE HERMINE BILLE	Chargé de cours	<b>Coord. Programme MINFOF</b>
18	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
19	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
20	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<b>Expert national. /UNESCO</b>
21	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
22	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
23	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
25	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
26	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
27	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste

**4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)**

1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<b>CT MINRESI</b>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	Doyen/ UDS
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	Directeur Cabinet PM
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	Directeur Mipromalo
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	Insp Génér.MINPMEA
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	Vice-Doyen/Ubda
15	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
16	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	S.G. MINESUP
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
20	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
21	GWET Simon-Pierre	Chargé de Cours	En poste
22	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
23	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste

25	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
26	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
27	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
28	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KOUOTOU DAOUDA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

#### 5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)

1	DONGO Etienne	Professeur	En poste
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	Directeur I.B.A. Fouban
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	Chef de dépt FMBS
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de dépt UDs
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	Vice-Recteur UBda
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur au MINESUP
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	CS Rectorat/ UYI
11	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
12	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	C.T. UYII
18	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
19	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
20	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
21	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	En poste
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

#### 6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (28)

1	TCHUENTE Maurice	Professeur	PCA UB
2	FOTSO Pauline Laure	Professeur	Député à l'Assemblée Nationale
3	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	IGA MINESUP/Chef Dpt ENS
4	ATSA ETOUNDI Roger	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b> Chef Division MINFOPRA
5	NDOUNAM René	Maître de Conférences	En poste
6	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
7	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste

8	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
9	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
10	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
11	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
12	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
13	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
14	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
15	AMINOOU Halilou	Assistant	En poste
16	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
17	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
18	EBELE Serge	Assistant	En poste
19	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
20	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
21	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
25	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
26	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
27	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
28	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

#### 7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (33)

1	BEKOLLE David	Professeur	Vice-Recteur UN
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	DAAC UYI
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	En poste
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	Chef Division MINESUP
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	En poste
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
12	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste
13	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
14	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
15	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
17	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
18	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
19	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
20	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargé de Cours	En poste
22	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
23	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
25	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
26	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
27	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
28	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
29	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
30	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Chef Serv. MINPLAMAT
31	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

**8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)**

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

**9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)**

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	<b>Vice-Doyen/DRC</b>
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	<b>Chef de Département</b>
3	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen/Ubda
6	WOAFO Paul	Professeur	En poste
7	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	En poste
8	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	Chef Serv. MINRESI
9	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
10	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	Dir.Gén. B. MEKIM
12	BODO Bernard	Maître de Conférences	En poste
13	DJUIDJE KENMOE Gemaine épouse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
14	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	Chef Dépt UN
15	EYEBE FOU DA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
16	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
17	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	En poste
18	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
19	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
20	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	En poste
21	SAIDOU	Maître de Conférences	En poste
22	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
23	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
24	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Maître de Conférences	En Poste
25	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
26	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
27	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En Poste
28	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
29	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
30	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
31	MELI'I Jorelle Larissa	Chargé de Cours	En Poste
32	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	Cad/Univ.Int.Etat Cam-congo
34	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
35	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste

36	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
37	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	Chef Serv. MINESUP
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
39	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
41	MVOGO Alain	Assistant	En poste
<b>10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)</b>			
1	BILONG PAUL	Professeur	<b>Doyen /Chef de Département</b>
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen / UN
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
5	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	CSMM
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	Directeur Projet Barage Memve'ele
8	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	Délégué Régional/MINMIDT
9	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
10	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Dir./IUT Bois Mbalmayo
12	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/MININMIDT
13	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
14	NGOS III Simon	Maître de Conférences	D.A.A.C./UM
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
18	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	Chef cellule MINTP
19	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR
20	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
21	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	Barrage Memve'ele
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
23	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
24	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	En poste
25	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	Chef de Dépt IMIP/ Maroua
26	LAMILÉN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	CS/LABOGENIE
28	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	Chef de Dépt IMIP/ Maroua
29	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
30	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI
33	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
34	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de Cours	CEA MINRESI
36	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de cours	En poste
37	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	S.G. MINTP
38	TEMGGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
39	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	En Poste
40	METANG Victor	Assistant	En Poste
41	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
42	SABABA Elisé	Assistant	En poste
43	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
44	TEHNA Nathanaël	Assistant	CS/ MINMIDT

**Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département  
(13 Septembre 2018)**

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
<b>BC</b>	5 (1)	11 (4)	13 (9)	11 (4)	40 (19)
<b>BPA</b>	11 (0)	8 (5)	17 (6)	4 (0)	44 (11)
<b>BPV</b>	4 (0)	8 (1)	11 (4)	4 (4)	27 (9)
<b>C.I.</b>	9 (1)	8 (1)	14 (3)	4 (1)	35 (6)
<b>C.O.</b>	9 (0)	11 (3)	11 (3)	2 (0)	33 (6)
<b>IN</b>	3 (1)	2 (0)	8 (0)	15 (2)	30 (5)
<b>MA</b>	3 (0)	4 (0)	21 (1)	3 (0)	33 (1)
<b>MB</b>	1 (0)	6 (1)	5 (1)	1 (0)	13 (3)
<b>PH</b>	10 (0)	14 (1)	14 (3)	3 (1)	41 (4)
<b>ST</b>	6 (1)	12 (0)	20 (4)	6 (0)	44 (5)
<b>Total</b>	56 (4)	73 (16)	136 (34)	83 (12)	340 (70)

Soit un total de : 340 (70) dont

- Professeurs 56 (4)
- Maîtres de Conférences 73 (16)
- Chargés de Cours 136 (34)
- Assistants 83 (12)

- ( ) = Nombre de femmes

Le Doyen de la Faculté des Sciences

## **DEDICACE**

*A mes parents SAIDI NGUIDAM et DJOUBOUD.*

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein de l'Unité de Recherche en Gastro-entérologie du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé 1, sous la Direction de M. Paul Vernyuy TAN (Professeur). Nous avons également bénéficié de l'assistance du Laboratoire de Biologie de l'Activité Physique et de l'Education Sportive de l'Institut National de la Jeunesse et des Sport (INJS) de Yaoundé. Nos remerciements vont :

-au Professeur Paul Vernyuy TAN, pour nous avoir accueilli au sein du Laboratoire, initié dans la démarche scientifique et prodigué des conseils scientifiques et personnels durant toute la période d'encadrement. Soyez rassuré Professeur, de ma profonde gratitude ;

-au Directeur de l'INJS de Yaoundé, le Docteur Edmond MENYE EBAL, pour le soutien matériel et financier dans la réalisation de ce travail ;

-au Professeur Germain SOTOING TAIWE, pour nous avoir ouvert les portes du Laboratoire de Zoologie de l'Université de Buea, ainsi que pour son apport technique et matériel ;

-au Professeur Julius OBEN du Laboratoire de Biochimie Alimentaire, qui a mis à notre disposition le spectrophotomètre pour les dosages ;

-au Professeur Christophe MEZUI pour ses conseils et son appui technique au cours des travaux de laboratoire ;

-au Docteur André HAMADOU, qui nous a permis d'utiliser gracieusement son matériel de laboratoire ;

-au Docteur Ernestine ZONDEGOUMBA du Laboratoire de Chimie Médicinale, pour son assistance lors de l'étude phytochimique de la plante ;

-à Monsieur Gaël SIWE TCHOKOMENI, pour son assistance pendant la réalisation des microphotographies des coupes histologiques ;

-à tout le personnel du Laboratoire d'Analyse des Sols, Plantes, Engrais et Eaux de l'IRAD, pour l'assistance lors de l'analyse nutritionnelle de l'extrait ;

-au corps enseignant du Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé 1, pour leur encadrement et pour la qualité des enseignements dispensés ;

-à mon épouse Esther MAIGA, pour son soutien sans faille lors de la réalisation de ce travail ;

-à ma fille Audrey Pamela LAMOU NAMA, pour avoir illuminé ma vie ;

-à mes frères et sœurs TCHOLE ADJI, Mathieu TCHAMBOA, PLAMVOU BIYA SAIDI, Jacqueline ASTA, François ADAMA, Odette WOULKAM, AMINATOU SAIDI, WAKABI SAIDI, pour leurs encouragements et affections ;

-à mes aînés de laboratoire Docteur Perfusion AMANG, Docteur Mesmine KUISSU, Docteur Désiré ESSAMA, Docteur Benjamin NCHEGANG, Docteur Gustave OTTO, Monsieur MOUBEKE A NGON, pour leurs conseils et encouragements apportés lors de la réalisation ce travail ;

-à mes camarades de thèse Edith TCHOUPOU, Carol DONGMIN et Franklin ZEUMO, pour leur assistance tout au long de ce travail ;

-à mes cadets de laboratoire Guy Roland MBAH et Joseph Fleurie EMAKOUA, pour leur assistance et disponibilité tout au long de ce travail ;

-à mes étudiants de l'INJS : ABENE, Thiery TCHOYA BANG, Christian KALVOKSOU, Yvana MONABANG, Joseph LAMO KENDA et Joséphine DOUKOYA, pour leurs contributions dans la réalisation de ce travail ;

-à mes collègues de Bureau Hugues DJOFANG et Jean-Pierre MBAME, pour leur soutien psychologique indéniable dans la réalisation de ce travail ;

-à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail et dont les noms ne figurent malheureusement pas sur cette page; qu'ils trouvent ici le témoignage de mon estime et ma profonde gratitude.

## SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES.....	i
DEDICACE.....	ix
REMERCIEMENTS.....	x
SOMMAIRE.....	xii
LISTE DES TABLEAUX.....	xiv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES.....	xviii
RESUME.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE.....	5
I.1-Regulations métaboliques à l'effort.....	6
I.1.1-Généralités sur les voies métaboliques à l'effort.....	6
I.1.2-Régulations du métabolisme énergétique à l'effort.....	8
I.2-Mécanismes biochimiques et physiologiques de la fatigue.....	14
I.2.1-Définition de la fatigue.....	14
I.2.2-Composantes de la fatigue.....	15
I.2.3-Fatigue et modifications des cellules immunitaires.....	25
I.2.4-Fatigue et plantes ergogéniques.....	28
I.3-Généralités sur le stress.....	31
I.3.1-Définition du stress.....	31
I.3.2-Stress et activités physiques et sportives.....	32
I.3.3-Mécanismes du stress.....	33
I.3.4-Conséquences du stress.....	35
I.4-Généralités sur le <i>Moringa oleifera</i> .....	43
I.4.1-Caractéristiques botaniques.....	43
I.4.2-Valeur nutritionnelle des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	45
I.4.3-Composition phytochimique des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	46
I.4.4-Vertus ethno-pharmacologiques de <i>M. oleifera</i> .....	47
I.5-Synthèse des travaux consultés.....	52
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	53
II.1-Matériel.....	54

II.1.1-Matériel végétal.....	54
II.1.2-Matériel animal.....	54
II.2-Méthodes.....	54
II.2.1-Préparation de l'extrait et des différentes solutions de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	54
II.2.2-Formulation des rations expérimentales des rats.....	55
II.2.3-Phytochimie qualitative et valeur nutritionnelle de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	56
II.2.4-Effet antifatique de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	62
II.2.5-Effet antistress de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	71
II.2.6-Etude de la toxicité de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	76
II.2.7-Traitement statistique des résultats.....	86
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION .....	87
III.1-Résultats.....	88
III.1.1-Phytochimie qualitative et valeur nutritionnelle de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	88
III.1.2-Effets antifatique de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	89
III.1.3-Effets antistress de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	100
III.1.4-Profil toxicologique de l'extrait de <i>M. oleifera</i> .....	110
III.2-Discussion.....	126
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	143
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	146
ANNEXE.....	A
ARTICLES ISSUS DE LA THESE.....	E

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Les noms vernaculaires de <i>M. oleifera</i> .....	45
Tableau II: Dosage des triglycérides.....	66
Tableau III: Protocole de dosage de l'urée sérique.....	67
Tableau IV: Protocole de dosage de la catalase.....	71
Tableau V: Attribution des scores en fonction de la surface ulcérée.....	74
Tableau VI: Protocole de dosage de la créatinine sérique.....	79
Tableau VII: Protocole de dosage du cholestérol total.....	80
Tableau VIII: Protocole de dosage du HDL cholestérol.....	80
Tableau IX: Préparation de la courbe d'étalonnage du dosage de l'ASAT.....	82
Tableau X: Préparation de la courbe d'étalonnage du dosage de l'ALAT.....	83
Tableau XI: Protocole de dosage de la bilirubine totale.....	84
Tableau XII: Classes de composés phytochimiques présentes dans l'extrait des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	88
Tableau XIII: Valeur nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	89
Tableau XIV: Prise alimentaire et hydrique des rats soumis à l'activité physique aigue.....	90
Tableau XV: Poids relative des organes des rats soumis au test de la nage de 90 minutes.....	92
Tableau XVI: Variation des paramètres biochimiques sériques des rats soumis au test de nage de 90 minutes.....	92
Tableau XVII: Variation des quantités de glycogènes hépatique et musculaire chez les rats soumis au test de la nage de 90 minutes.....	93
Tableau XVIII: Variation des paramètres du stress oxydant des rats soumis au test de la nage de 90 minutes.....	94
Tableau XIX: Variation des paramètres hématologiques des rats soumis au test de la nage de 90 minutes.....	94
Tableau XX: Quantité d'aliments et d'eau consommés par les rats soumis à la fatigue chronique.....	96
Tableau XXI: Poids relatif des organes des rats soumis à une activité physique chronique.....	97
Tableau XXII: Paramètres biochimiques sériques des rats soumis à une activité physique chronique.....	98
Tableau XXIII : Quantités de glycogène hépatique et musculaire des rats soumis à une activité physique chronique.....	98
Tableau XXIV : Paramètres du stress oxydant au niveau hépatique et musculaire chez les rats.....	99
Tableau XXV: Paramètres hématologiques des rats soumis à l'activité physique chronique.....	100
Tableau XXVI: Prise alimentaire et hydrique des rats soumis au stress aigu.....	100
Tableau XXVII: Paramètres comportementaux des rats soumis au stress aigu.....	102
Tableau XXVIII: Poids relatifs des organes des rats soumis au stress aigu.....	102
Tableau XXIX: Score des ulcères des rats de différents lots soumis au stress aigu.....	103

Tableau XXX: Paramètres du stress oxydant des rats soumis au stress aigu.....	104
Tableau XXXI: Paramètres biochimiques sériques des rats soumis au stress aigu.....	105
Tableau XXXII: Prise alimentaire et hydrique des rats soumis au stress chronique.....	105
Tableau XXXIII: Paramètres comportementaux des rats soumis au stress chronique.....	107
Tableau XXXIV: Poids relatifs des organes des rats soumis au stress chronique.....	107
Tableau XXXV : Score des ulcères des rats soumis au stress chronique.....	108
Tableau XXXVI: Paramètres du stress oxydant des rats soumis au stress chronique.....	109
Tableau XXXVII: Paramètres biochimiques sériques des rats soumis au stress chronique.	110
Tableau XXXVIII: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur l'aspect et le comportement des animaux.....	110
Tableau XXXIX: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur le poids relatif des quelques organes en essai aigu.....	112
Tableau XXXX: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la prise hydrique des rats.....	113
Tableau XXXXI: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la prise alimentaire.....	114
Tableau XXXXII: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur le poids relatif de quelques organes chez les mâles et femelles en essai chronique.....	116
Tableau XXXXIII : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur quelques paramètres hématologiques.....	118
Tableau XXXXIV: Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur quelques paramètres biochimiques.....	120

## LISTE DE FIGURE

Figure 1 : Rendement énergétique de la glycolyse anaérobie.....	7
Figure 2 : Synthèse du métabolisme des différents substrats énergétiques pendant l'effort.....	8
Figure 3 : Synthèse du mécanisme antifatique impliquant les régulateurs métabolique et les transporteurs musculaires.....	31
Figure 4 : Photo des feuilles (a), fleurs (b), fruits (c) et graines (d) de <i>M. oleifera</i> .....	44
Figure 5 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. oleifera</i> .....	55
Figure 6 : Photo du rat effectuant le Test de la Nage Forcée.....	63
Figure 7 : Photo du rat effectuant le test de la nage de 90 minutes.....	63
Figure 8 : Courbe d'étalonnage pour le dosage du glycogène.....	68
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catalase.....	71
Figure 10 : Photo montrant un rat entrain d'exécuter l' « Open Field Test ».....	73
Figure 11 : Courbe d'étalonnage du dosage de l'ASAT.....	82
Figure 12 : Courbe d'étalonnage du dosage de l'ALAT.....	83
Figure 13: Evolution de la masse pondérale des rats soumis à l'activité physique aigue...	90
Figure 14 : Performance des rats soumis au test de la nage forcée.....	91
Figure 15 : Evolution de la masse pondérale des rats soumis à la fatigue chronique.....	95
Figure 16 : Temps de nage des rats soumis à une activité physique chronique.....	96
Figure 17 : Evolution de la masse pondérale des rats soumis au stress aigu.....	101
Figure 18 : Photos des estomacs des différents lots après induction du stress aigu.....	104
Figure 19 : Evolution de la masse pondérale des rats soumis au stress chronique.....	106
Figure 20: Photos des estomacs des différents lots après induction du stress chronique.....	109
Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur l'évolution de la prise alimentaire en essai aigu.....	111
Figure 22 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la prise hydrique en essai aigu...	111
Figure 23 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur l'évolution de la masse corporelle en essai aigu.....	112
Figure 24 : Effet de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. oleifera</i> sur l'évolution de la masse corporelle des rats femelles en essai chronique.....	115
Figure 25 : Effet de l'extrait aqueux des feuilles de <i>M. oleifera</i> sur l'évolution de la masse corporelle des rats males en essai chronique.....	115
Figure 26 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique du foie des femelles (H&E×400).....	121
Figure 27 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique du foie des males (H&E×400).....	122
Figure 28 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique des reins des femelles (H&E×400).....	123
Figure 29 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique des reins des males (H&E×400).....	123

Figure 30 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique des poumons des males (H&E×400).....	124
Figure 31 : Effets de l'extrait aqueux de <i>M. oleifera</i> sur la structure histologique des poumons des males (H&E×400).....	125

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AcCoA: Acétylcoenzyme A	INJS: Institut National de la Jeunesse et des Sports
ADN: Acide Désoxyribonucléique	IU: Indice d'Ulcère
AGL: Acides Gras Libres	LAK: "Lymphokine-Activated Killer"
AGNE: Acides Gras Non Estérifiés	LANAVET: Laboratoire National Vétérinaire
AGPI: Acides Gras Polyinsaturés	LC: Locus Coeruleus
ALAT: Alanine Aminotransférase	LDH: Lactate Déshydrogénase
AMA: Agence Mondiale Antidopage	LDL: "Low Density Lipoprotein"
AMP: Adénosine Monophosphate	<i>M. oleifera: Moringa oleifera</i>
AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique	MAPK: "Mitogen-Activated Protein Kinases"
AMPK: Adénosine Monophosphate Kinase	MDA: Malondialdéhyde
ANC: Apport Nutritionnel Conseillé	NAD : Nicotinamide Adénine Di-nucléotide
ARN: Acide Ribonucléique	NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
ASAT: Aspartate Aminotransférase	NFS: Numération Formule Sanguine
ATP: Adénosine Triphosphate	NOS: Oxyde Nitrique Synthase
AVP: Arginine Vasopressine	OCDE: Organisation de Coopération et de Développement Economique
CAT: Catalase	PA: Potentiels d'Actions
CEC: Couplage Excitation/Contraction	PC: Protéines Carbonylées
CP: Créatine kinase	PFK: Phosphofructokinase
CPT1: Carnitine-Palmitoyl-Transférase 1	PG: Prostaglandine
CRF: "Corticotrophine Releasing Factor"	Pi: Phosphate Inorganique
CrP: Créatine Phosphate	PK: Pyruvate Kinase
DC: Diènes Conjuguées	PVN : "Paraventricular Nucleus"
DL50: Dose Létale 50	RL: Radicaux Libres
DTNB: Acide 2,2-Dithio-5,5'-Dinitrobenzoïque	SA: Système Aérobie
EDTA: Éthylène Diamine Tétra-Acétique Acide	SGA: Syndrome d'Adaptation Généralisée
ERO: Espèce Réactive Oxygénée	SOD: Super Oxyde Dismutase
F-1, 6-BP: Fructose-1, 6-Biphosphate	SNC: Système Nerveux Central
FAD: Flavine Adénine Di-nucléotide	TNF- $\alpha$ : "Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ "
GABA: Acide Gamma Amino Butyrique	VIH: Immunodéficiency Humaine
GP: Glycogène Phosphorylase	VO <sub>2</sub> max: Consommation Maximale d'Oxygène
GPx : Glutathions Peroxydases	XDH: Xanthine Déshydrogénase
GR: Glutathions Réductases	XO: Xanthine Oxydase
GSH: Glutathion	
HK: Hexokinase	
HPLC: "High Performance Liquid Chromatography"	
IFN: Institut Française de Nutrition	

## RESUME

Pour optimiser leurs performances, les athlètes sont souvent obligés de répéter des séances d'entraînement à haute intensité de travail avec peu de récupération, ce qui génère une fatigue neuromusculaire et un état de surentrainement qui peuvent leur être préjudiciables. De plus, une carence alimentaire pourrait avoir des conséquences majeures dans l'accomplissement de leur entraînement, dans l'obtention de la performance et sur leur santé. Face à cette situation, le recours aux substances dopantes et aux médicaments fortifiants semble être une alternative pour de nombreux athlètes. Toutefois, la consommation de ces substances présenterait des risques pour la santé du sportif. L'objectif du présent travail est d'étudier les activités de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur les performances physiques et d'évaluer la toxicité liée à l'administration par voie orale de cet extrait chez les rats albinos de souche Wistar (*Rattus norvegicus*). Cette étude a été repartie en quatre grandes parties comprenant l'étude phytochimique et l'évaluation de la valeur nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera*, l'étude antifatigue et antioxydant de cet extrait, l'étude antistress, et en fin, l'évaluation du profil toxicologique de cet extrait. Le screening phytochimique et l'évaluation de la valeur nutritionnelle de cet extrait ont été réalisés à partir de la méthode colorimétrique. L'activité antifatigue a été évaluée à partir de deux modèles d'activité physique (aiguë et chronique) chez les rats. Dans le but de déterminer le mécanisme par lequel cet extrait pourrait augmenter l'endurance physique et favoriser des adaptations physiques et physiologiques des rats soumis à une activité physique aiguë/chronique, plusieurs paramètres biochimiques sériques (glucose, lactate, triglycérides et urée), tissulaires (glycogène hépatique et musculaire, paramètres du stress oxydant) et hématologiques (NFS) ont été évalués à partir de la méthode colorimétrique. L'activité antistress a également été évaluée à partir de deux modèles d'induction du stress (nage forcée et immersion et immobilisation) chez les rats. Pour y parvenir, plusieurs paramètres ont été évalués: le comportement des rats (Temps Passé au Centre du dispositif, Crossing, Grooming, et Rearing), le score des ulcères, le poids des organes, les paramètres du stress oxydant (SOD, CAT, GPx et MDA) et les paramètres biochimiques sériques (glucose, urée et triglycérides). Dans la dernière partie, il a été question de faire une évaluation du profil toxicologique de cet extrait. L'étude de la toxicité aiguë a consisté à l'administration orale d'une dose unique de 2000 mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante. L'étude de la toxicité sub-chronique a consisté en administration orale répétée pendant 42 jours et à trois niveaux de doses (400, 800 et 1600 mg/kg) de cet extrait. Les paramètres comportementaux, hématologiques et biochimiques sériques ont été mesurés. Les coupes histologiques du foie, des reins et des poumons ont été réalisées. Le résultat du screening phytochimique de l'extrait a révélé la présence de nombreux composés bioactifs, majoritairement les tannins, les phénols, les flavonoïdes et les glycosides. L'analyse nutritionnelle a montré que cet extrait est très riche en énergie métabolisable (2810,98 kcal/kg d'extrait) et en sels minéraux (sodium (272,70±28,04 g/kg de MS), potassium (120,70±14,18 g/kg de MS), calcium (28,368±0,94 g/kg de MS), fer (26,44±3,51 g/kg de MS), zinc (21,06±0,29 g/kg de MS), magnésium (11,57±0,59 g/kg de MS) et cuivre (3,52±0,17 g/kg de MS)). Les minéraux représentent 1,05% de matière sèche de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. L'administration de cet extrait a augmenté significativement l'endurance physique (exprimée en temps de nage) des rats ( $p < 0,05$ ), aussi bien lors d'une activité physique aiguë (56,55%) que chronique (67,71%). Les temps de nage les plus élevés ont

été enregistrés dans les lots ayant consommé l'extrait à la dose de 200mg/kg ( $140,50 \pm 32,17$  secondes lors de l'activité physique aiguë et  $587,50 \pm 51,64$  secondes lors de l'activité physique chronique). L'extrait a également entraîné une augmentation significative ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) du taux d'hémoglobine (12,46%), du taux de globules rouges (25,09%) et blancs (41,19%), du taux de glucose sérique (36,70%), du pourcentage de lymphocytes (77,70%), de la quantité de glycogène hépatique (76,18%) et musculaire (145,15%) et de l'activité des enzymes antioxydants (SOD, CAT et GPx) chez les rats soumis aussi bien à une activité physique aiguë que chronique par rapport au groupe témoin. Par contre, des baisses significative ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) du taux de lactate sérique (53,83%), de l'urée sériques (62,08%), des triglycérides sériques (66,95%), du taux de MDA, de l'hématocrite (7,31%), du pourcentage de granulocyte (37,90%), du taux de lymphocytes (25,31%) et granulocytes (48,33%) ont été observées dans les mêmes lots en comparaison au témoin. Les résultats de l'activité antistress de cet extrait ont montré une modification dose-dépendante ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) des paramètres comportementaux (Temps Passé au Centre du Dispositif, nombre de crossing, grooming et rearing), une réduction des paramètres biochimiques sériques (glucose sérique (39,86%), urée sérique (56,37%) et triglycérides sériques (59,56%)), une réduction dose dépendante de l'indice d'ulcère (53,06%) et une augmentation dose-dépendante du poids du mucus (10,43%) chez les rats ayant consommé l'extrait en comparaisons au témoin stressé. L'administration aiguë de cet extrait a montré qu'il serait faiblement toxique, avec une DL50 supérieure à 2000 mg/kg. L'étude de la toxicité sub-chronique aux doses de 800 et 1600 mg/kg a révélée des foyers inflammatoires et des congestions vasculaires hépatiques, pulmonaires et rénales réversibles après arrêt du traitement. L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* possède à la fois des propriétés antifatigues et antistress. Ces effets seraient liées à la présence dans les feuilles de cette plante, des composés phytochimiques et nutritionnels qui pourraient réduire les effets délétères du stress et de la fatigue et provoquer des adaptations physiologiques chez les rats. Les études toxicologiques ont montré également que cet extrait serait sans risque pour l'organisme à des faibles doses ( $> 400$  mg/kg).

**Mots clés:** *Moringa oleifera*, antifatigue, antistress, toxicité, endurance physique, phytochimie, valeur nutritionnelle.

## ABSTRACT

In order to optimize their performance, athletes are often obliged to repeat high intensity training sessions with little recovery. This situation leads to neuromuscular tiredness and overtraining which can be prejudicial for them. Moreover, food deficiency could have major effects on their health, drive and performance. To solve this problem, many athletes consume banned doping substances. However, the consumption of these substances presents many health risks. The objective of this work was to study the activities of the aqueous extract of the leaves of *M. oleifera* on physical performance and to evaluate the toxicity profile related to oral administration of this extract in Wistar albino rats (*Rattus norvegicus*). The work was divided into four major parts comprising phytochemical and nutritional studies, anti-fatigue, anti-oxidant and anti-stress effects and the evaluation of the toxicological profile of the extract. The phytochemical screening and nutritional value evaluation of the aqueous extracts of *Moringa oleifera* was carried out by colorimetric method. The anti-fatigue effects were evaluated from two models of physical activity in rats (acute and chronic). In order to elucidate the mechanism responsible for those effects, glycemia, lactamia, uremia, triglyceridemia, hepatic and muscle glycogen, oxidative stress parameters (SOD, CAT, GPx and MDA) and hematological parameters were measured by colorimetric method. The anti-stress activity was also evaluated using two models of induction of stress in the rats (force swimming test and immersion and immobilization). For that purpose, the behavior scored (latency, crossing, grooming and rearing), the ulceration and gastric mucosa, oxidative stress parameters (SOD, CAT, GPx and MDA) and serum biochemical parameters (glycemia, uremia and triglyceridemia) were measured. Finally, we evaluated the toxicity profile of the leaf aqueous extract of *M. oleifera*. Acute administration consisted on oral administration of a single dose of extract (2000 mg/kg). Sub-chronic study consisted of oral repeated administration during 42 consecutive days of three dose levels (400, 800 and 1600 mg/kg). The behavioral, hematological and serum biochemical parameters were measured. Histological sections of liver, kidneys and lungs were realized. Phytochemical analysis of the aqueous extracts of *M. oleifera* revealed the presence of numerous classes of major compounds (tannins, phenols, flavonoids and glycosides). Nutritional analysis showed that the extract is rich in metabolisable energy (2810.98 kcal/kg of extract) and minerals (sodium (272.70±28.04 g/kg of DM), potassium (120.70±14.18 g/kg of DM), calcium (28.368±0.94 g/kg of DM), iron (26.44±3.51 g/kg of DM), zinc (21.06±0.29 g/kg of DM), magnesium (11.57±0.59 g/kg of DM) and copper (3.52±0.17 g/kg of DM)). *M. oleifera* extract increased ( $p<0.05$ ) maximum swimming time (56.55% to 67.71%), blood hemoglobin (12.46%), red blood (25.09%) and white (41.19%) cells, blood glucose (36.70%), hepatic (76.18%) and muscle (145.15%) glycogen reserves of rats subjected to acute or chronic physical activities ( $p<0.05$ - $p<0.001$ ). The extract also increased significantly ( $p<0.05$ - $p<0.001$ ) the activity of antioxidant enzymes and decreased the blood concentrations of MDA. Furthermore, it decreased significantly ( $p<0.05$ - $p<0.001$ ) blood concentrations of lactate (53.83%), triglycerides (66.95%), urea (62.08%), hematocrit (7.31%), percentage of granulocyte (37.90%), rate of lymphocytes (25.31%) and granulocytes (48.33%) as compared to control group. The 200 mg/kg dose was most effective. The results of the anti-stress activity of this extract showed a modification ( $p<0.05$ - $p<0.001$ ) of the behavior scored (latency, crossing, grooming, and rearing), ulceration (53.06%) and gastric mucosa (10.43%), oxidative stress parameters (SOD, CAT, GPx and MDA) and serum biochemical parameters (glycemia (39.86%), uremia (56.37%) and triglyceridemia (59.56%). After acute administration, *M. oleifera* extract appeared slightly toxic, with LD50 greater than 2000 mg/kg. Sub-chronic study of the extract at doses of 800 and 1600mg/kg showed areas of vascular congestion and inflammation foci effects which were reversible after discontinuation of extract administration. The leaves aqueous extract of *M. oleifera* possesses simultaneously, anti-fatigue and anti-stress effects. These effects could be due to the presence in

the plant of secondary metabolites which may neutralize or delay toxins related to fatigue and stress, to promote adaptations and to increase fat utilization and skeletal muscle metabolic regulators. Toxicological studies also showed that the administration of the aqueous extract of *M. oleifera* could be without risk to the organism at the therapeutic doses (100, 200 and 400mg/kg).

**Key words:** *Moringa oleifera*, antifatigue, anti-stress, toxicity, physical endurance, phytochemistry, nutritional value.



# **INTRODUCTION**

Le recours au dopage dans la pratique du sport de haut niveau représente de plus en plus un problème majeur qui non seulement déteint l'image des sportifs, des organisations sportives et des pays, mais également représente un problème grave pour la santé de ces sportifs (troubles cardiaques, mort subite, dépendance, hémorragie cérébrale, etc.) (Zlott et Byrne, 2010). Le dopage est défini comme l'utilisation des substances ou des méthodes interdites, inscrites sur une liste établie chaque année par l'Agence Mondiale Antidopage (AMA) et de nature à modifier artificiellement les capacités d'un sportif (Breton, 2004). La prévalence du dopage varie entre 5 et 15% chez les sportifs amateurs (Borloz et Gremion, 2013), et entre 14 et 39% chez les sportifs d'élite (De Hon *et al.*, 2015).

La pratique du dopage est due au fait que le sport de haut niveau nécessite non seulement des qualités physiques et physiologiques, mais également des aptitudes psychologiques permettant aux athlètes de faire face à des enjeux d'ordre professionnels et financiers (Cuaz, 2016). Ils doivent optimiser et maintenir leur performance afin de bénéficier des gains et investissements des sponsors et de la reconnaissance du public. Pour y parvenir, des charges d'entraînement de plus en plus intenses leur sont imposées, ce qui aurait pour finalité de provoquer des mécanismes d'adaptation responsables de l'augmentation de la capacité aérobie du muscle et de sa résistance à la fatigue (Steinbacher et Eckl, 2015). Cette situation présenterait cependant des risques non seulement pour la santé du sportif mais, pourrait conduire au phénomène de surentraînement et de fatigue chronique. En effet, l'entraînement sportif intense peut affaiblir le système immunitaire, et entraîner un taux élevé d'hormones du stress dans le sang, ce qui réduirait la capacité de résistance de l'organisme à certaines infections (Romeo *et al.*, 2010). De plus, la production et l'accumulation des déchets métaboliques tels que l'acide lactique et l'urée dans l'organisme provoquent une acidose aiguë/chronique à l'origine des crampes, des courbatures et des blessures musculaires, de la détresse ventilatoire, de l'entrave à la contraction musculaire, de l'inhibition du système enzymatique et de l'installation de la fatigue et du stress (Blain *et al.*, 2000). L'exercice physique intense perturbe également l'équilibre du système antioxydant et peut s'apparenter à un véritable stress oxydant pouvant conduire à une asthénie (diminution de la force et dépression) et ayant des conséquences métaboliques importantes (Mastaloudis *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2009).

Face à ce problème, nutritionnistes et physiologistes de l'effort se sont consacrés à la recherche des substances à base de plantes capables de neutraliser, de diminuer et de réguler les toxines et la fatigue, de réparer les dommages causés à l'organisme, de restaurer les réserves glycogéniques et de maintenir une bonne réhydratation (Ikeuchi *et al.*, 2006). Selon Institut Française de Nutrition (2010), les apports alimentaires contribuent à l'expression des capacités physiques du sportif, et ce à différents niveaux. Ils assurent la disponibilité en substrats énergétiques

et le maintien de l'homéostasie de l'organisme par le biais de certains macro ou micronutriments aux effets potentiellement ergogéniques. Le mode nutritionnel est en effet important à tous les temps de la préparation physique. Equilibrer les dépenses énergétiques, et plus précisément, les nutriments dégradés pendant l'exercice pour resynthétiser l'Adénosine Triphosphate (ATP) est l'un des objectifs de l'alimentation du sportif (IFN, 2010). Une étude réalisée auprès d'une dizaine de pays africains a montré le nombre élevé de plantes utilisés à des fins d'amélioration des performances physiques (Tallec, 2008). De plus, 58,8% des sportifs de haut niveau consomment des compléments alimentaires autorisés à base de vitamines, d'antioxydant, de créatine, des minéraux et d'extraits de plantes pour soutenir l'effort de l'organisme, aider à la récupération et prévenir les blessures (Petroczi et Naughton, 2008). Toutefois, 15% des compléments alimentaires disponibles sur les marchés contiennent des substances dopantes (Geyer *et al.*, 2004). Par ailleurs, une consommation excessive de ces compléments alimentaires au-delà de l'Apport Nutritionnel Conseillé (ANC) peut entraîner des risques de toxicité et des effets délétères sur la santé et la performance physique du sportif (Haller et Benowitz, 2000). Il semble donc important de développer des substances non dopantes à base de plantes ayant des effets bénéfiques pour la santé et la performance physique du sportif et une sécurité avérée.

*Moringa oleifera* est une plante originaire des indes. Ses feuilles sont largement utilisées comme légume et dans la médecine traditionnelle en Afrique en général et au Cameroun en particulier. Elles sont une excellente source de protéines dont les teneurs moyennes varient entre 19-35 % MS (Olugbemi *et al.*, 2010 ; Abou-Elezz *et al.*, 2012). Ayant une teneur relativement élevée en énergie métabolisable, 2273 et 2978 kcal/kg MS (Makkar et Becker, 1996 ; Olugbemi *et al.*, 2010), les feuilles de *M. oleifera* contiennent une très grande concentration en vitamines (A, B, C, E, etc.), en minéraux (fer, calcium, zinc, sélénium, etc.) et sont riches en  $\beta$ -carotène (Fuglie, 2002). Les minéraux occupent une part modeste de la matière sèche de feuilles de cette plante, avec des teneurs de 0,6 à 11,42% MS. Quant à la matière grasse contenue dans les feuilles de *M. oleifera*, elle varie de 2,3 à 10% MS (Fuglie, 2002 ; Richter *et al.*, 2003 ; Ndong *et al.*, 2007 ; Olugbemi *et al.*, 2010). Les feuilles de *M. oleifera* ont un bon profil en acides aminés, elles possèdent les 10 acides aminés essentiels à l'humain (Fuglie, 2002). En somme, *M. oleifera* se caractérise par une forte teneur en nutriments, en antioxydants, en glucosinolates, en composés phytochimiques et par ses qualités organoleptiques.

Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies. Les feuilles de *M. oleifera* sont utilisées chez les enfants pour lutter contre la malnutrition, pour traiter le rachitisme, la fièvre, les céphalées, les névralgies et servent à stabiliser le taux de sucre dans les cas de diabète chez les adultes (Ndong *et al.*, 2007). Elles sont utilisées au Bénin comme

complément alimentaire chez les personnes vivantes avec le Virus d'Immunodéficience Humaine (VIH) (Aissi *et al.*, 2013). Elles sont aussi utilisées comme antibiotiques et antipyrétiques (Yang *et al.*, 2006). Cependant, les données relatives à l'utilisation des feuilles de *M. oleifera* dans l'amélioration de la performance physique et la santé des sportifs sont inexistantes. Quels pourraient être les effets de leur consommation sur les performances physiques chez les rats ? Au regard de la qualité nutritionnelle exceptionnelle des feuilles de cette plante et de ses nombreuses propriétés pharmacologiques, nous avons postulé que la consommation de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* améliorerait les performances physiques chez les rats.

## **OBJECTIFS DE LA RECHERCHE**

### **Objectif général :**

L'objectif général de ce travail était d'étudier les activités de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur les performances physiques et d'évaluer la toxicité liée à l'administration de cet extrait chez les rats.

### **Objectifs spécifiques :**

Afin d'atteindre l'objectif général, les objectifs spécifiques suivants ont été fixés :

- déterminer les constituants phytochimiques et la valeur nutritionnelle de l'extrait de *M. oleifera* ;
- évaluer l'effet antifatigue de l'extrait de *M. oleifera* chez les rats soumis à une activité physique aigüe et chronique ;
- déterminer l'effet antistress (aigüe et chronique) de cet extrait chez les rats ;
- étudier la toxicité aigüe et sub-chronique de l'extrait chez les rats.



**CHAPITRE I :  
REVUE DE LITTÉRATURE**

## **I.1-Regulations métaboliques à l'effort**

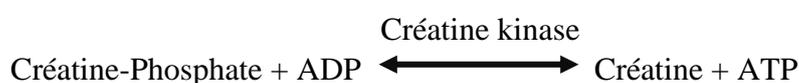
### **I.1.1-Généralités sur les voies métaboliques à l'effort**

Le muscle peut être considéré à la fois comme un convertisseur et un générateur de force. Cette conversion de l'énergie chimique en énergie mécanique réalisée au niveau des protéines contractiles rend la contraction musculaire dépendante des différentes voies métaboliques. Ces voies se succèdent dans le temps en fonction de la durée de l'effort. L'ATP présent dans les cellules musculaires n'est source d'énergie que pendant 1 à 2 secondes. La créatine-phosphate n'est active que pendant 5 à 15 secondes puis le glucose est une source d'ATP pendant les deux premières minutes de l'effort physique (Miller, 1994). Ensuite, l'oxydation des glucides via le cycle de Krebs permet à son tour l'apport d'ATP nécessaire à la contraction musculaire. Enfin, l'oxydation des acides gras permet d'apporter beaucoup d'ATP. Les voies métaboliques lors de l'effort physique sont au nombre de trois :

- la voie ou filière anaérobie alactique ;
- la voie ou filière anaérobie lactique ;
- la voie ou filière aérobie.

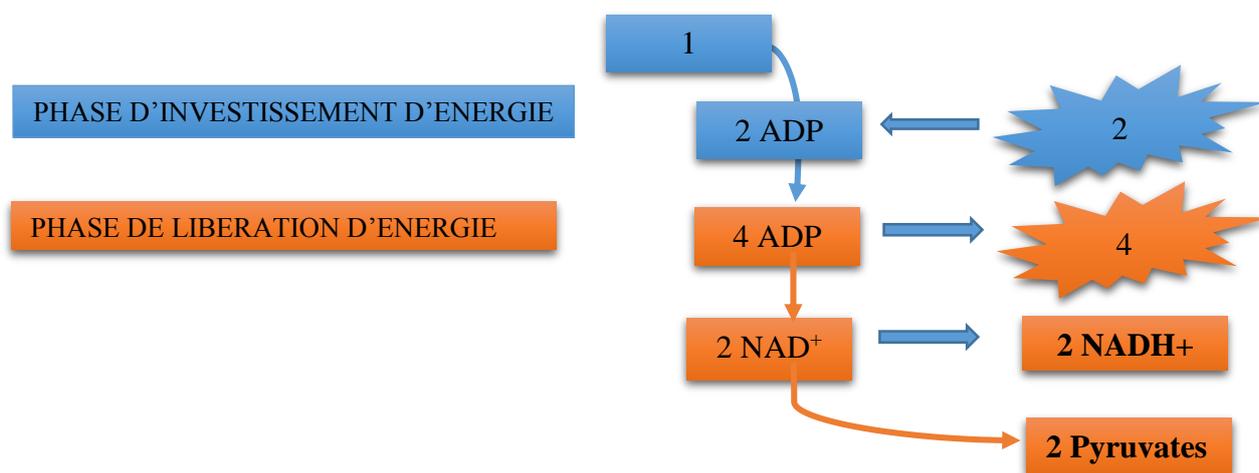
#### **I.1.1.1- Filière anaérobie alactique**

Dans cette voie métabolique, l'énergie fournie pour la contraction musculaire est disponible directement dans la cellule musculaire sous forme d'ATP ou de Créatine Phosphate (CrP) (Wilmore et Costill, 2006). C'est la voie la plus rapide et la présence de l'oxygène n'est pas obligatoire. Il n'y a pas de production d'acide lactique, toutefois, la quantité d'énergie est limitée jusqu'à 7 à 10 secondes si la charge est maximale (100% de la  $VO_2$ max) et jusqu'à 20 à 30 secondes si l'intensité est moyenne (70 % de la  $VO_2$  max). Cette filière est aussi appelé système des phosphagènes. Il est le plus simple, car la resynthèse de l'ATP est assurée par la créatine phosphate selon l'équation suivante :



#### **I.1.1.2. Filière anaérobie lactique**

Dans cette filière, l'apport d'oxygène aux muscles est insuffisant, la combustion oxydative des substrats énergétiques (glucose et glycogène) étant insuffisante devant l'effort, l'énergie doit donc être mobilisée par voie anoxydative (Rilke, 2004). Cette combustion a lieu dans le cytoplasme cellulaire et hors de la mitochondrie. La figure 1 présente le bilan de cette réaction à partir d'une molécule de glucose.

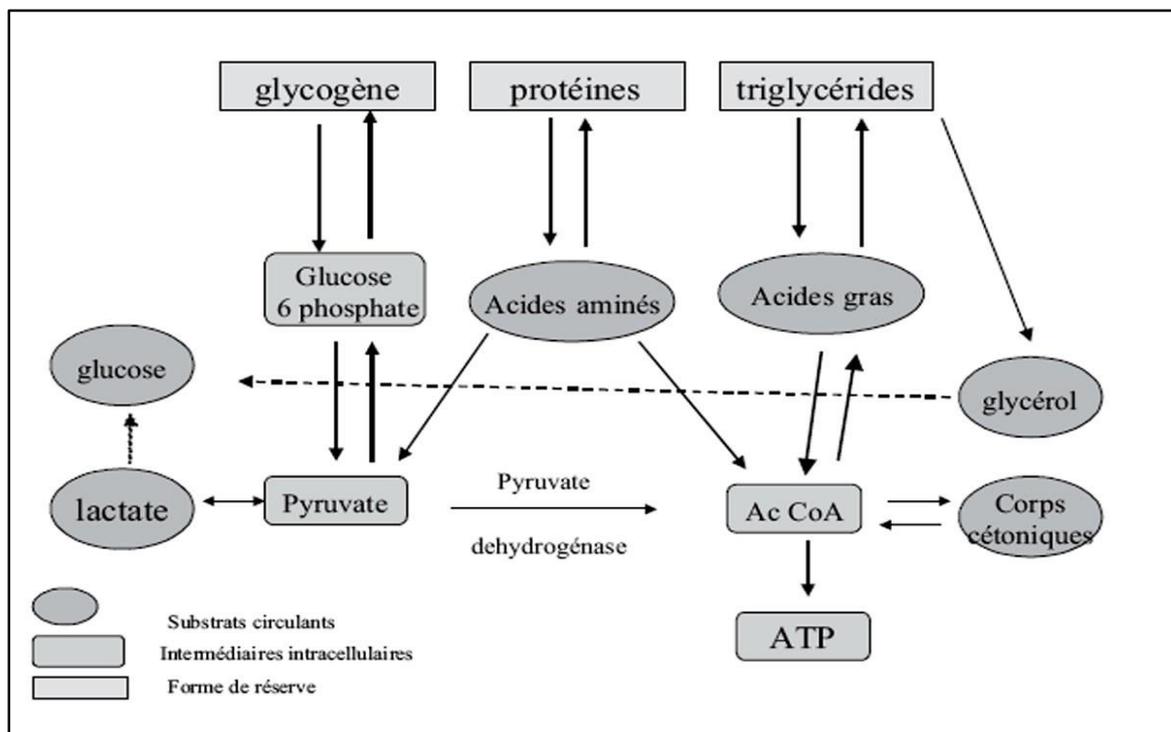


**Figure 1 :** Rendement énergétique de la glycolyse anaérobie (Rilke, 2004)

La capacité de resynthèse de cette filière est plus importante que celui du processus anaérobie alactique. Il y a production d'acide lactique qui est à l'origine de la fatigue musculaire et limite la production d'énergie, ceci pour des efforts maximaux de 40 à 50 secondes. Cette filière est aussi appelée glycolyse anaérobie et assure la poursuite de l'exercice pendant environ deux minutes. Il est limité essentiellement par l'accumulation du lactate au niveau du muscle. Ce lactate est créé par la dégradation incomplète des substrats, ce qui agit en réduisant l'efficacité de la contraction musculaire. Une importante élévation de la lactatémie (taux de lactate) pourrait même déterminer un arrêt de l'exercice. Il faut souligner que la glycolyse anaérobie est essentiellement développée dans les fibres musculaires à fort potentiel glycolytique (type IIB), où elle fonctionne même quand l'apport en oxygène est satisfaisant.

### **I.1.1.3. Filière aérobie**

En parfaite aisance respiratoire, l'organisme utilise de l'oxygène pour satisfaire les besoins en énergie durant l'effort physique. Divers substrats glucidique, lipidique et protéique sont oxydés dans les mitochondries (Figure 2) (Poortmans et Boisseau, 2012). La voie aérobie est sollicitée tout particulièrement dans les fibres musculaires à fort potentiel oxydatif (type I). La mitochondrie possède une double membrane qui forme une série de replis internes appelés crêtes. Ces crêtes portent les enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie. Il s'agit du nicotinamide adénine di-nucléotide (NAD) et de flavine adénine di-nucléotide (FAD). Les produits de réaction sont le gaz carbonique, l'eau, la chaleur et une grande quantité d'énergie. La particularité de ce système aérobie est l'abondance d'énergie fournie (une molécule de glucose donne 36 à 38 molécules d'ATP) et une moindre puissance en comparaison aux voies anaérobies. En effet, le système aérobie (SA) permet la production et le recyclage de l'acide pyruvique.



**Figure 2 :** Synthèse du métabolisme des différents substrats énergétiques pendant l'effort (Poortmans et Boisseau, 2012).

## I.1.2-Régulation du métabolisme énergétique à l'effort

### I.1.2.1-Régulation du métabolisme des glucides

La glycolyse est définie comme la voie de transformation du glucose en pyruvate. La glycolyse aérobie a lieu dans la mitochondrie. Le pyruvate formé lors de la glycolyse anaérobie va pénétrer dans la mitochondrie grâce à un co-transport avec un proton. Il va être transformé dans la matrice mitochondriale en acétylcoenzyme A (Acétyl-CoA). Le catabolisme du glycogène en pyruvate est dénommé glycogénolyse. Elle se déclenche après l'activation de la glycogène phosphorylase disposée sur les grains de glycogène. Dans le but de maintenir la glycémie, plusieurs systèmes de signalisation induisant une activation des enzymes spécifiques de la glycolyse et de la glycogénolyse à l'effort vont être activés. Parmi ceux-ci, en dehors des récepteurs hormonaux disposés sur le sarcolemme, on peut citer des protéines kinases qui vont stimuler ou inhiber, selon les cas, certaines enzymes clés des cycles métaboliques. Ainsi, la production d'ATP par le muscle dépend de l'induction de ces kinases.

#### I.1.2.1.1-Régulation de la glycolyse à l'effort

##### ❖ Effet des enzymes clés de la glycolyse

La glycolyse intervient au sein de toutes les cellules mais plus particulièrement dans le cerveau, le cœur, les muscles striés squelettiques et les globules rouges. La transformation de

glucose en pyruvate se réalise entièrement dans le cytosol et fait appel à 10 réactions enzymatiques. La régulation du catabolisme du glucose dépend de la présence de trois enzymes clés qui peuvent être activées ou inhibées (protéine allostériques). L'activité de ces enzymes permet d'adapter la vitesse de la glycolyse aux besoins réels de la cellule. L'analyse de l'activité de ces trois enzymes clés montre que la régulation de la glycolyse dépend en partie du rapport ATP/ADP. Si ce rapport est élevé (comme au repos), la glycolyse est ralentie afin de freiner la synthèse de molécules d'ATP. Inversement, une diminution de ce rapport (exercice physique) induit une stimulation de la glycolyse qui engendre directement un nouvel apport de molécules d'ATP.

La première étape limitante fait intervenir l'hexokinase (HK). Chez l'homme, deux isoformes de l'HK sont présentes dans le muscle squelettique : l'HK-I (75% de l'activité totale) et l'HK-II (25% de l'activité totale) (Ritov et Kelley, 2001). Ces enzymes sont essentiellement incorporées dans des structures stables et une faible partie d'entre elles ( $\pm 20\%$ ) est soluble dans le sarcoplasme. L'HK-II serait la forme privilégiée activée à l'exercice. Cette HK possède une forte affinité pour le glucose. Ainsi, la transformation de glucose en glucose-6-phosphate (G6P) reste limitée et est de plus inhibée par son propre produit. Dans le foie et le rein, une enzyme spécifique au glucose, la glucokinase, supplée l'HK et opère avec un rendement largement supérieur.

La deuxième étape limitante de la glycolyse correspond à la transformation du fructose-6-phosphate (F6P) en fructose-1,6-biphosphate (F-1,6-BP). Au repos, lorsque la charge énergétique des nucléotides adényliques de la cellule est élevée, la glycolyse est freinée par la concentration intracellulaire d'ATP, inhibiteur allostérique de la PFK1. Un excès de citrate, issu du cycle des acides tricarboxylique, engendre la même inhibition. Au contraire, le F-1,6-BP synthétisé par la phosphofruktokinase-2 à partir du F6P, a un effet activateur sur la PFK1. Cette conversion par la PFK2 est activée par la protéine kinase, elle-même activée par l'adrénaline (via l'AMPc). La reconversion du F-1,6-BP en F6P s'effectue par une autre enzyme, la fructose-2,6-biphosphatase (F-1,6-BPase). L'activité de la PFK et de la F-1,6-BPase dépend de leur forme phosphorylée ou non phosphorylée. Dans le muscle la F-1,6-BPase non phosphorylée est active alors que la PFK2, phosphorylée, est inactive.

La troisième étape limitante de la glycolyse correspond à un contrôle allostérique de la pyruvate kinase (PK). Comme pour la PFK1, la PK est inhibée par des concentrations élevées en ATP et PC. Cette enzyme est activée par le F-1,6-BP qui s'accumule lorsque la glycolyse est enclenchée en amont. Le flux métabolique est alors orienté vers une transformation en pyruvate. La PK peut aussi être phosphorylée par une protéine kinase dépendante de l'AMPc. Dans ce cas, elle est inactivée et la glycolyse est ralentie.

### ❖ Effet de l'intensité de l'exercice

Le glucose est insoluble au niveau des constituants lipidiques des membranes plasmiques. Aussi, chez les mammifères, son transport membranaire est sous la dépendance de deux grandes familles distinctes de transporteurs protéiques (Scheepers *et al.*, 2004). La captation du glucose par la fibre musculaire est facilitée à l'exercice par l'élévation du flux sanguin. Chez l'homme lors de l'exercice dynamique, le flux sanguin augmente linéairement avec l'élévation de la puissance imposée. Comparé au repos, le flux sanguin peut être multiplié par 20 lors de l'exercice d'intensité supérieure à 80% du VO<sub>2</sub>max (Richter *et al.*, 1998). Cet accroissement du flux sanguin durant l'exercice s'accompagne d'une augmentation de la densité des capillaires fonctionnels au sein de chaque fibre. L'utilisation à l'exercice de capillaires non fonctionnels au repos va contribuer à augmenter la captation de glucose au niveau des muscles. En effet, plus l'intensité de l'exercice est élevée, plus la captation en glucose au sein de chaque fibre augmente, plus le nombre de fibre actives s'accroît (Gollnick *et al.*, 1974).

L'augmentation de l'intensité de l'exercice entraîne une augmentation de l'utilisation du G6P présent au sein de la fibre musculaire. En réduisant le taux de G6P intramusculaire, la consommation de glucose est donc naturellement accentuée. Toutefois, quand un exercice d'intensité élevée se prolonge, le glucose sanguin transformé en G6P s'accumule dans le muscle squelettique et inhibe alors en partie l'hexokinase II (HKII), enzyme responsable de la phosphorylation du glucose au niveau musculaire (Katz *et al.*, 1986).

### ❖ Effet de la durée de l'exercice

Pendant les premières dizaines de secondes d'un exercice, la glycémie reste relativement stable. Au-delà de ce délai, la différence artério-veineuse devient positive et elle signale ainsi la captation musculaire en glucose. Cela a pu être démontré chez l'homme par Sanders *et al.* (1964).

La consommation de glucose augmente également avec la durée de l'exercice. Hoelzer *et al.* (1986) ont montré que la captation musculaire de glucose est multipliée par deux entre la 10<sup>e</sup> et la 40<sup>e</sup> minute de l'exercice. Pour des exercices de très longue durée, l'oxydation du glucose plasmatique peut toutefois diminuer en raison d'une moindre concentration artérielle en glucose. Lors d'un exercice prolongé dont l'intensité ne dépasse pas 70 à 80 % de la VO<sub>2</sub>max, la glycémie se maintient à un niveau basal, au moins pendant la première heure. Au-delà de ce délai, sans apports glucidique, la glycémie diminue pour atteindre des niveaux hypoglycémiques.

#### **I.1.2.1.2-Régulation de la Glycogénolyse à l'effort**

Lorsque l'intensité de l'exercice est faible ou moyenne (inférieur à 50% du VO<sub>2</sub> max), la déplétion glycogénique est fortement limitée de sorte que les réserves en glycogène sont peu

amoindries (Saltin et Karlsson, 1971). Ces résultats ont été confirmés par la technique de résonance magnétique nucléaire au niveau du soléaire lors d'un exercice réalisé entre 15 et 25% de la puissance maximale aérobie (Price *et al.*, 1991). Par contre, lorsque l'intensité dépasse les 75% du VO<sub>2</sub> max, l'utilisation du glycogène augmente de manière exponentielle.

La régulation de la glycogénolyse est régie par un système de « cascades enzymatiques » qui inhibent ou stimule l'activité de la glycogène phosphorylase (GP). Cette enzyme existe sous deux formes inter-convertibles : la GP<sub>a</sub>, active et phosphorylée, et la GP<sub>b</sub>, inactive et déphosphorylée. La phosphorylation de la GP est catalysée par une GP kinase présente également sous deux formes inter-convertibles : GP kinase a, active et phosphorylée, et la GP kinase b, inactive et déphosphorylée. En fin, la phosphorylation de la GP kinase est catalysée par une protéine kinase dépendante de l'AMPc (AMP cyclique). Cet AMPc provient de l'hydrolyse de l'ATP, grâce à l'adényl-cyclase incorporée dans la membrane plasmique et stimulée principalement par l'adrénaline dans le muscle et par le glucagon dans le foie (Figure 2), le calcium intramusculaire libérée par la contraction active également la GP kinase a.

Le contrôle allostérique agit sur la GP. L'AMPc se lie à la forme b pour la rendre active, tandis que l'ATP et le glucose-6-phosphate maintiennent la GP<sub>b</sub> sous sa forme inactive. Ainsi la glycogénolyse dépend du rapport AMP/ATP qui est modifié par la contraction musculaire. Le G6P formé est alors utilisé au sein de la glycolyse décrite précédemment.

Chez l'homme dans les conditions physiologiques, nous pouvons affirmer que les principaux ligands activateurs de la GP<sub>a</sub> sont le Pi, l'AMP et l'ADP libre, et l'IMP (Chesley *et al.*, 1995). On voit ainsi que la glycolyse est activée par l'accumulation rapide des ions Pi issus de l'hydrolyse de l'ATP, de la déplétion de la phosphocréatine et de l'Activation des cycles de purines nucléotides. Signalons aussi que l'activation maximale de la GP est doublée dans les fibres II comparées aux fibres I (Harris *et al.*, 1976). Ceci favorise donc l'activité de la glycogénolyse dans la fibre « rapide » lors d'un exercice d'intensité élevée. Lors de l'exercice exhaustif chez l'homme, la réduction de l'activité glycolytique est sous-tendue par une moindre activité de la GP<sub>a</sub> (comme lors d'une acidose métabolique intramusculaire), il en est de même en hypoxie (Parolin *et al.*, 2000). Ce phénomène s'explique par l'accumulation de protons qui inhibent la conversion de GP<sub>b</sub> en GP<sub>a</sub>.

### **I.1.2.1.3-Autres facteurs régulant le métabolisme glucidique à l'effort**

#### **❖ Effet de l'entraînement**

L'entraînement de la force ou de la vitesse n'ont pas d'effet spécifique sur la distribution des réserves glucidiques chez l'homme. Les données de la littérature ne stipulent pas de modifications notables de la glycolyse, de la glycogénolyse ou du pouvoir oxydatif des fibres musculaires après

entraînement de type anaérobie (Saltin et Gollnick, 1983). Certains auteurs ont observés une augmentation de l'activité de certaines enzymes de la glycolyse (GP, PFK1, LDH5) (Costill *et al.*, 1976) lors d'entraînement en sprint de 400-800m. Ces adaptations peuvent être témoin d'un flux glycolytique plus important, ce qui expliquerait la capacité accrue du potentiel énergétique chez les sujets entraînés. Toutefois, si ces changements existent, ils restent modérés et ne constituent pas une adaptation manifeste des voies métaboliques après entraînement de type anaérobie.

Les premiers travaux relatifs à l'adaptation du métabolisme aérobie au niveau musculaire sont issus de l'équipe de Holloszy (1967). Des travaux ultérieurs réalisés chez l'homme corroborent la plupart des résultats obtenus chez l'animal (Saltin et Gollnick, 1983). En effet, au repos et à jeun, la glycémie du sujet entraîné en endurance est identique à celle mesurée chez le sujet sédentaire. Par contre, les concentrations basales en glycogène musculaire sont généralement accrues chez le sujet actif. Les études de Greiwe *et al.* (1999) montrent que le sujet entraîné, comparé au sédentaire, augmente sa capacité musculaire à accumuler du glycogène après l'avoir déplété durant l'exercice.

L'entraînement en endurance engendre une diminution (-35%) de l'utilisation de glucose plasmatique durant l'exercice (Thomas *et al.*, 2012). Ce mécanisme permet sûrement d'expliquer l'épargne des réserves glucidiques durant l'exercice chez les sujets entraînés. Il augmente également la mobilisation des graisses à l'exercice, une élévation des protéines GLUT-4 au niveau du muscle entraîné. Cet accroissement du nombre de GLUT-4 est particulièrement favorable à la resynthèse du glycogène après exercice.

#### ❖ Régulation neurovégétative

A l'exercice, l'activité sympatho-adrénergique influe sur la sécrétion insulinaire du pancréas, sur la production du glucose hépatique, sur la stimulation de la glycolyse musculaire et sur la lipolyse du tissu adipeux. Ces réactions métaboliques sont réalisées par l'intermédiaire des récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  membranaires activés par la noradrénaline et l'adrénaline (Fisher *et al.*, 2000). La fixation de l'adrénaline sur les récepteurs  $\alpha$  des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans inhibe la libération de l'insuline (Galbo *et al.*, 1977). Cette diminution des concentrations plasmatiques d'insuline favorise la mobilisation des substrats énergétiques intra- et extra-musculaires. Par contre, il ne semble pas que la stimulation adrénergique soit responsable de l'augmentation de la sécrétion de glucagon, tout au moins chez l'homme (Galbo *et al.*, 1977).

La noradrénaline n'agit pas sur la glycolyse musculaire à l'exercice. Par contre, à l'exercice, l'adrénaline active la glycogène phosphorylase via l'AMPc. La cascade de réactions aboutit à l'hydrolyse du glycogène musculaire (Chasiotis et Hultman, 1985). La lipolyse varie proportionnellement avec l'intensité de l'activité sympatho-adrénergique (Galbo *et al.*, 1977). A

l'opposé, les  $\beta$  bloquants diminuent la lipolyse du tissu adipeux, la concentration plasmatique des Acides Gras Non Estérifiés (AGNE) et la participation du métabolisme oxydatif lipidique.

L'entraînement aérobic diminue la réponse adrénargique chez le sujet entraîné comparé au sédentaire, pour une charge absolue de travail (Kjaer *et al.*, 1986). Cependant, Greiwe *et al.* (1999) signalent que l'entraînement en endurance ne modifie pas les concentrations plasmatiques d'adrénaline lors d'exercices réalisés entre 60 et 85 % du  $VO_2$ max. Par contre, les sujets entraînés ont une réponse supérieure en noradrénaline comparés aux sédentaires pour une même charge relative d'exercice. Il semble donc que la réponse du système nerveux central soit un élément important dans la gestion du stress à l'exercice. Divers stimuli (hypoxie, hypercapnie, caféine, exercice maximal) provoque une plus grande libération d'adrénaline chez le sportif (Kjaer, 1992). Il est possible, mais non prouvé, que la capacité de sécrétion plus importante de l'adrénaline puisse avoir des avantages pour le sportif (réaction plus élevée). Ces variations observées chez le sportif sont le fait de modifications de la sécrétion adrénargique et non de la clairance.

### **I.1.2.2-Régulation de la lipolyse à l'effort**

Le muscle utilise principalement les AGNE, provenant de la dégradation des triglycérides. Ces derniers se trouvent initialement dans le plasma, les tissus adipeux et dans les cellules musculaires. La dégradation des triglycérides donne trois Acides Gras Libres (AGL) et une molécule de glycérol. Le transfert des acides gras non estérifiés plasmatiques vers la cellule musculaire est régi par plusieurs transporteurs protéiques saturables (albumine, lipoprotéines) dont les interrelations et les régulations demeurent peu connues chez l'homme. Les AGNE sont transformés en glucose par la voie de la néoglucogenèse et empruntent la voie de la glycolyse (Figure 2). Les AGNE sont oxydés ( $\beta$ -oxydation) pour former l'Acétyl-CoA qui entre à son tour dans le cycle de Krebs. Toutefois, sachant que la captation des acides gras non estérifiés augmente rapidement dès le début de l'exercice, il y a lieu de penser que le transport ne constitue pas un facteur limitant leur oxydation ultérieure au niveau musculaire.

L'oxydation des acides gras non estérifiés dépend principalement de l'activité de l'acétyl-CoA carboxylase. Cette enzyme converti l'acétyl-CoA en malonyl-CoA. Au sein du muscle, l'activité de cette enzyme est faible et de ce fait, la concentration du malonyl-CoA régule directement l'oxydation des acides gras dans ce tissu (Bavenholm *et al.*, 2000). En effet, un excès de malonyl-CoA inhibe l'activité de la carnitine-palmitoyl-transférase 1 (CPT1) et donc le transfert de l'acide gras dans la mitochondrie. La production de malonyl-CoA est plus importante à l'exercice dans les fibres de type I et IIa. Chez le rat en activité, sa concentration musculaire diminue progressivement avec l'intensité de l'exercice. Cette relation n'a toutefois pas été vérifiée chez

l'homme. Ces résultats divergeant entre le rat et l'homme sont attribuables à des différences de protocoles expérimentaux.

L'entraînement provoque une augmentation du contenu mitochondrial, ce qui permet un apport en énergie plus élevé suite à l'oxydation des acides gras et des glucides. Cette adaptation physiologique est d'une importance cruciale pour les athlètes d'endurance, car une plus grande utilisation des graisses atténue l'épuisement des réserves endogènes de glucides. Ceci pourrait théoriquement prolonger la durée d'exercice.

### **I.1.2.3-Régulation de la protéolyse à l'effort**

Contrairement aux glucides et lipides, les protéines ne constituent pas un réservoir important aisément utilisable pour satisfaire les besoins énergétique de l'athlète. En effet, seul six acides aminés peuvent produire du pyruvate (la glycine, l'alanine, la cystéine, la sérine, la cystine et la thréonine) (Rodwell, 2002). Les acides aminés peuvent également subir une transamination et être transformés en Acétyl-CoA ou entrer directement dans le cycle de Krebs (Figure 2). Le catabolisme des protéines représente moins de 10% de l'apport énergétique nécessaire pour la contraction musculaire. Il n'apparaît qu'en cas d'exercice prolongé (Miller, 1994).

## **I.2-Mécanismes biochimiques et physiologiques de la fatigue**

### **I.2.1-Définition de la fatigue**

La fatigue est un état résultant des contraintes physiologique et psychologique, aboutissant à une diminution des performances physiques et mentales (Mounir *et al.*, 2010 ; You *et al.*, 2011). La fatigue est donc un phénomène psychophysiologique qui peut être aigu ou chronique. La fatigue aiguë est celle liée à une diminution de la force maximale avec incapacité de maintenir un effort sous-maximal due à une augmentation du coût neuromusculaire (Decorte, 2009). Elle apparaît rapidement et est de courte durée lorsque l'individu peut se reposer. La fatigue a ici un rôle protecteur puisqu'elle avertit l'individu de la nécessité de récupérer. La fatigue chronique est une sommation des charges de travail excessives (ponctuellement à l'origine de la fatigue aiguë) jour après jour avec une récupération insuffisante et pouvant entraîner chez le sujet une fatigue générale se prolongeant à plusieurs semaines voire des mois (Decorte, 2009). Dans ce cas, elle devient pathologique et entraîne ce qu'on appelle le syndrome de surentraînement. En théorie, deux types de fatigue interdépendante permettent d'expliquer l'inhérence des mécanismes situés à différents sites de l'axe sensitivomoteur. Il s'agit de la théorie de la fatigue centrale (localisée en amont de la synapse neuromusculaire) et la fatigue périphérique (au niveau du muscle).

## **I.2.2-Composantes de la fatigue**

### **I.2.2.1-Composante centrale de la fatigue**

La preuve de la fatigue nerveuse a été apportée par les travaux de Bigland-Ritchie *et al.* (1979) qui ont obtenu une restauration partielle de la force musculaire en stimulant un nerf fatigué. La fatigue nerveuse ou centrale regroupe les facteurs déterminant la diminution de la contractilité, localisée en amont de la jonction neuromusculaire et indépendamment des facteurs intramusculaire et/ou métabolique. Elle a pour conséquence une diminution de la commande nerveuse de la motricité (Decorte, 2009). La fatigue centrale est due à une diminution de l'activation nerveuse qui implique une activation sous-optimale du muscle, elle se caractérise par la baisse de conduction des influx nerveux produite au niveau du cortex moteur (composante supra-spinale), par l'incapacité à conduire un potentiel d'action de manière répétée à la partie pré-synaptique de la jonction neuromusculaire et par altération de l'excitabilité du motoneurone pour ainsi agir au niveau périphérique de la commande.

#### **I.2.2.1.1-Baisse de la conduction de l'influx nerveux**

La fatigue nerveuse peut avoir plusieurs origines. Tout d'abord, les afférences musculaires ont une grande influence sur la fatigue centrale, que ce soit au niveau spinal ou supraspinal. Plusieurs types d'afférences interviennent dans la régulation de la force. Les afférences des fuseaux musculaires ont une fréquence de décharge qui diminue avec la poursuite d'une contraction isométrique, ce qui entraîne une fatigue centrale au niveau spinal. En condition concentrique, le rôle des fuseaux neuromusculaires est différent car il existe, lors du raccourcissement, un silence de ces afférences musculaires. Cependant, leur influence est faible comparativement à celle des afférences de type III et IV (Hayward *et al.*, 1991). Lors d'un exercice, la fréquence de décharge des afférences de faible diamètre (type III et IV) peut augmenter selon la température, l'environnement chimique et mécanique (Hayward *et al.*, 1991). La fréquence de décharge de ces afférences est faible, mais en raison de leur nombre important, de petits changements peuvent produire des augmentations massives au niveau du système nerveux central. A la suite de contractions fatigantes, la plupart des afférences mécanosensitives du groupe III augmente leur taux de décharge (Hayward *et al.*, 1991). Les métabolites produits lors de contractions prolongées réduisent les seuils mécaniques d'activation des fibres afférentes des groupe III et IV, ce qui induit une augmentation de leur fréquence de décharge et entraîne une inhibition au niveau du pool de motoneurones. Ainsi, la fatigue centrale peut être la conséquence de modifications métaboliques et mécaniques intervenant au niveau musculaire.

### **I.2.2.1.2-Baisse de la commande nerveuse de la contraction**

La fatigue nerveuse comprend les facteurs qui vont déterminer la diminution de contractilité musculaire. La stimulation électrique d'un muscle fatigué permet de restaurer une partie du niveau de force initiale d'un sujet fatigué. En premier lieu cette fatigue résulte d'une diminution de la stimulation au niveau du motoneurone périphérique, mais aussi d'une diminution de la commande motrice à l'étage cortical. Ce rôle du cortex moteur primaire dans la causalité de la fatigue a été confirmé par des études menées chez l'homme à l'aide d'une stimulation de cette zone. Il est possible de stimuler directement le cortex par des champs magnétiques intenses, cette technique permet de diminuer une partie des effets négatifs de la fatigue sur la capacité à maintenir la force contractile (Gomez-Merino *et al.*, 2001).

### **I.2.2.1.3-Hypothèses neurochimiques de la fatigue centrale**

L'existence d'une fatigue centrale prouvée par les données d'électrophysiologie a conduit un certain nombre d'auteurs à postuler l'existence d'une responsabilité de mécanismes neurochimiques dans le déterminisme de la fatigue centrale. Selon Filaire (1999), toute contrainte physique ou psychologique intense induit une activation des systèmes noradrénergiques, dopaminergiques et sérotoninergiques, situés au niveau du tronc cérébral. Ces systèmes sont particulièrement importants pour la régulation comportementale globale et participent à l'élaboration d'une réponse adaptée du système nerveux central face à un stimulus externe. Par ailleurs, la constatation de modifications neurochimiques à l'effort sert de support à l'explication des conséquences comportementales de la fatigue. Il a été largement démontré que la fatigue résultant de l'exercice musculaire modifie certains comportements (Morgan *et al.*, 1988). Les effets sont plus complexes, et semblent dépendre du type d'effort qui est responsable de la fatigue. On peut cependant relever, à l'issue d'exercices intenses et prolongés, une diminution de la capacité de prise d'information et d'interprétation de signaux visuels, une diminution de la mémoire à court terme. La fatigue chronique résultant d'un entraînement intense peut être à l'origine d'un état anxieux ou dépressif. Au total la question se pose de relier l'influence de la fatigue sur un axe neurochimique précis et les différentes conséquences comportementales.

Les travaux de Meeusen et De Meirleir (1995) ont permis de mettre en évidence le rôle de la modification du métabolisme cérébral des catécholamines induite par l'exercice musculaire sur le déterminisme de la fatigue centrale. À l'arrêt d'un exercice épuisant, on observe une diminution de la concentration du tissu cérébral en noradrénaline, qui semble résulter d'une accélération de son turn-over, et d'une diminution de la disponibilité en tyrosine l'acide aminé précurseur de la synthèse des monoamines. Ce phénomène est analogue à ce qui est observé lors d'un stress psychologique aigu qui réalise une déplétion des réserves en catécholamines cérébrales ; dans ce cas les

conséquences se situent au niveau des comportements et seraient responsables d'équivalents mineurs des états dépressifs. Les voies dopaminergiques jouent un rôle déterminant dans la locomotion. L'augmentation des activités dopaminergiques dans le striatum induit une activation spontanée de la motricité ; l'évolution de la dopamine cérébrale sous l'effet de l'exercice est biphasique : on observe une légère augmentation au début du travail musculaire suivie d'une diminution lorsque l'effort est épuisant et qui s'accroît à l'arrêt. Concernant les modifications des catécholamines et de la dopamine, il est probable que ces neuromédiateurs soient soumis au même phénomène constitué par une accélération de leur libération pendant la phase de travail qui pourrait conduire à leur diminution par épuisement des réserves neuronales.

#### **I.2.2.1.4-Hypothèse sérotoninergique de la fatigue**

Le rôle de la sérotonine cérébrale sur la fatigue a été suspecté à partir de résultats qui ont mis en évidence une augmentation de la sérotonine cérébrale tissulaire sous l'effet d'un exercice prolongé ou d'un entraînement intense de plusieurs semaines (Chaouloff, 2000). Ces premiers travaux ont été confirmés et étendus par utilisation de la technique de microdialyse intracérébrale qui a permis de suivre l'évolution temporelle des taux extracellulaires de sérotonine dans deux zones cérébrales chez le rat (cortex frontal et hippocampe ventral) pendant un exercice prolongé (2 heures) suivi d'une récupération de 2 heures 30 minutes (Gomez-Merino *et al.*, 2001). Les taux extracellulaires de sérotonine augmentent significativement après 1 heure 30 d'exercice, sont maximaux à 30 minutes de récupération puis diminuent et sont même en dessous des taux basaux dès une heure de récupération dans le cortex frontal. Par ailleurs, il a également été montré que l'entraînement physique intense induit une désensibilisation des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>1B</sub> qui rétro-contrôlent négativement la libération synaptique de sérotonine (Chennaoui *et al.*, 2000). Il y aurait ainsi la possibilité d'une carence sérotoninergique dans la phase de récupération d'un exercice très intense.

Par ailleurs, de nombreux travaux dans le domaine des comportements avaient bien mis en évidence le rôle de la sérotonine sur le sommeil, la prise alimentaire, les états dépressifs ou anxieux, et la locomotion spontanée (Guézennec, 2000). À titre d'exemple, on peut détailler ce point en indiquant que la baisse de sérotonine cérébrale joue un rôle sur les mécanismes favorisant un état dépressif, alors que son augmentation serait génératrice d'anxiété. La coïncidence temporelle entre l'élévation de sérotonine cérébrale et la fatigue des exercices prolongés a conduit à formuler l'hypothèse que ce neuromédiateur était directement responsable de la fatigue. Des hypothèses biochimiques ont été aussi proposées telles que l'augmentation du tryptophane cérébral notamment durant des efforts prolongés, précurseur de la sérotonine qui serait suspectée d'induire une fatigue centrale en réduisant les impulsions cortico-spinales atteignant les motoneurons et donc le niveau

d'activation centrale (Davis et Bailey, 1997). Cependant, son action est indirecte et ce n'est pas le seul neuromédiateur cortical modifié par l'exercice. En somme, la neurochimie nous apprend que les comportements sont le plus souvent influencés par des balances entre les évolutions de différents neuromédiateurs, il est probable que la neurochimie de la fatigue est sous l'influence de plusieurs neuromédiateurs agissant au sein de différentes structures.

#### **I.2.2.1.5-Hypothèse de l'hyperammoniémie et du GABA cérébral**

Afin de relier les neuromédiateurs et la fatigue, une hypothèse a été développée sur le rôle possible de l'ammoniaque cérébral sur le métabolisme de plusieurs neuromédiateurs et plus particulièrement du GABA (Acide Gamma Amino Butyrique) (Guezennec *et al.*, 1998). Le GABA est un des neurotransmetteurs le plus représenté au sein du système nerveux central : il exerce un rôle inhibiteur puissant sur la libération des autres neuromédiateurs. Il agit sur la motricité en facilitant les fonctions des noyaux gris de la base sur la régulation de la motricité. La carence du système GABAergique joue un rôle sur la pathogénie d'affections de la motricité comme la maladie de Parkinson ou la Chorée de Huntington. Ceci prouve que ce neuromédiateur peut agir sur la régulation fine de la motricité observée sous l'effet de la fatigue.

#### **I.2.2.2-Composante périphérique de la fatigue**

La composante périphérique repose sur la description des phénomènes métaboliques et ioniques résultants du travail musculaire. Ces phénomènes se traduisent par une diminution de la capacité contractile des muscles squelettiques. Les mécanismes sont différents selon la durée et l'intensité de la contraction musculaire. Elle concerne le site situé en aval de la jonction neuromusculaire ou plaque motrice, celle-ci comprise (Decorte, 2009). Les manifestations les plus évidentes de la fatigue périphérique sont une baisse de la force maximale et un ralentissement de la réponse musculaire.

##### **I.2.2.2.1-Composantes métaboliques de la fatigue périphérique**

###### **❖ Exercices intenses et de courte durée**

Les facteurs métaboliques de la fatigue évoluent en fonction de la durée et de l'intensité de l'exercice musculaire. Pour des exercices courts et intenses, deux éléments concourent à la diminution des capacités contractiles du muscle squelettique qui sont la modulation des réserves en phosphagènes et les modifications des équilibres ioniques. Il s'agit essentiellement de l'accumulation intramusculaire du phosphore inorganique, de l'augmentation du potassium extracellulaire et de la diminution du recaptage du calcium. La déplétion des réserves en ATP semble représenter une source de fatigue potentielle. Néanmoins, Bogdanis *et al.* (1998) ont montré que la diminution de ces réserves restait faible pendant l'exercice, voire inexistante. Le maintien des

réserve est assuré dès le début de l'exercice par la phosphorylation de l'ADP en ATP à partir de la phosphocréatine (PCr). Les réserves de PCr peuvent ainsi être réduites de 61% en 30 secondes et de 92% en 90 secondes. La resynthèse de l'ATP nécessite ensuite l'intervention des filières anaérobie lactique et aérobie qui présentent un délai d'activation supérieur et une puissance inférieure.

#### ✓ **Accumulation intramusculaire du phosphate inorganique**

L'acidité, émanant de la dégradation de l'ATP, ainsi que l'ammonium produit par des réactions complémentaires réduisent l'excitabilité des fibres musculaires (Maclaren *et al.*, 1989). De plus, la concentration en phosphate inorganique (Pi) résultant de l'hydrolyse de l'ATP augmente souvent de façon importante au sein du muscle. Il a été montré que si la concentration de Pi dans le myoplasme augmente, il pénètre dans le réticulum sarcoplasmique (RS) et se lie au  $\text{Ca}^{2+}$  pour former du phosphate de calcium, réduisant ainsi la quantité de  $\text{Ca}^{2+}$  libre dans le RS. De plus, l'accumulation de Pi réduit la sensibilité des myofibrilles au  $\text{Ca}^{2+}$  induisant une diminution de la force produite par chaque pont d'actine-myosine. Cette accumulation de métabolites dont le Pi, mais aussi l'adénosine diphosphate (ADP), représente la principale cause de diminution de l'activité des ponts, soit dans leur formation, soit dans leur détachement. En conséquence, il se produit un ralentissement des propriétés de la secousse induite électriquement, ainsi qu'une diminution de son amplitude en raison de l'altération de la force des ponts.

#### ✓ **Augmentation du potassium extracellulaire**

L'étude de la réponse électro-physiologique à une stimulation unique, l'onde M, apporte des informations sur la propagation du potentiel d'action neuromusculaire, sur l'activité de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , ainsi que sur l'excitabilité musculaire. Une altération de l'un ou plusieurs de ces phénomènes peut contribuer à une diminution de la force produite entraînant une modification de cette onde M (Nordsborg *et al.*, 2003). Une diminution de son amplitude peut, par exemple, renseigner sur une altération de la propagation neuromusculaire. La fatigue musculaire intervient ainsi au niveau de la transmission neuromusculaire, de la propagation des potentiels d'actions mais également au niveau du couplage excitation/contraction (CEC). Les perturbations de l'équilibre électrolytique entre les milieux intra et extracellulaires entraînent une réduction de l'excitabilité sarcolemmale. En effet, les potentiels d'actions (PA) sont générés par un influx de  $\text{Na}^+$  dans la cellule suivi d'une sortie de  $\text{K}^+$ . La répétition de ces mouvements ioniques peut créer un gain de  $\text{Na}^+$  par le milieu intracellulaire et une fuite de  $\text{K}^+$  hors de la cellule. Ainsi, lors d'un exercice à intensité maximale ou jusqu'à l'épuisement, la concentration de  $\text{K}^+$  extracellulaire pourrait augmenter et celle intracellulaire diminuer. L'équilibre ionique, habituellement assuré par les pompes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , se trouve alors perturbé.

### ✓ Diminution du recaptage du calcium

L'excitabilité sarcolemmale se trouve principalement affectée par des contractions maximales ou sous-maximales isométriques (20 à 65 % de CMV) réalisées de manière volontaire en temps limités, ou induites par des stimulations électriques (Duchateau *et al.*, 2002). Les perturbations concernent de nombreux autres éléments : la propagation du potentiel d'action musculaire le long du sarcolemme et des tubules transverses, la perméabilité du RS aux ions  $\text{Ca}^{2+}$ , le mouvement des ions  $\text{Ca}^{2+}$  à l'intérieur du sarcoplasme, la recapture du  $\text{Ca}^{2+}$  par le RS, la liaison du  $\text{Ca}^{2+}$  à la troponine et l'interaction entre la myosine et l'actine associée au travail des ponts d'union. Ces processus se déroulent au niveau du CEC. Le CEC désigne le mécanisme contrôlant la cinétique, le nombre et la force des ponts actine-myosine, l'ensemble étant régulé par la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire. Ce mécanisme comporte différentes étapes, allant de la membrane musculaire de surface jusqu'à la formation des ponts d'actine-myosine. Chaque étape pouvant être sélectivement affectée par la fatigue lors d'un exercice musculaire.

### ❖ Exercices de moyenne et longue durée

Le muscle peut être considéré à la fois comme un convertisseur et un générateur de force. Cette conversion de l'énergie chimique en énergie mécanique réalisée au niveau des protéines contractiles (actine et myosine) rend la contraction musculaire dépendante des différentes voies métaboliques. Ces voies se succèdent dans le temps en fonction de la durée de l'effort. L'ATP présent dans les cellules musculaires n'est source d'énergie que pendant 1 à 2 secondes. La créatine-phosphate n'est active que pendant 5 à 15 secondes (Liebman et Wilkinson, 1994) puis le glucose est une source d'ATP pendant les deux premières minutes de l'effort physique (Miller, 1994). Ensuite, l'oxydation des glucides via le cycle de Krebs permet à son tour l'apport d'ATP nécessaire à la contraction musculaire (Miller, 1994). Enfin, l'oxydation des acides gras permet d'apporter beaucoup d'ATP. L'apparition de la fatigue lors des exercices de moyenne et longue durée est donc liée à la capacité du muscle à mobiliser les réserves énergétiques (glucose, glycogène, acides gras libres et acides aminés) contenus dans le muscle, le foie et les cellules adipeuses.

### ✓ Déplétion glycogénique

#### • Rôle du glycogène musculaire

Les facteurs limitant de la performance lors des efforts de longue durée sont l'épuisement des réserves glycogéniques qui survient entre 90 et 120 min à 75 % du  $\text{VO}_2\text{max}$ . Pour illustrer ce rôle nous pouvons citer les travaux de Costill *et al.* (1988) sur des nageurs qui ont montré que la répétition d'exercices physiques intenses plusieurs jours de suite, diminuait les concentrations en glycogène musculaire dans les muscles au repos d'une partie de la population étudiée. L'épuisement

du glycogène musculaire est responsable d'une fatigue locale musculaire. La consommation en glucose du muscle est respectivement 0,7, 1,4 et 3,4 mmol.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> à 50, 75 et 100% de la consommation maximale d'oxygène. Il existe une relation entre l'épuisement du glycogène et la diminution de la capacité à produire un exercice physique de niveau élevé. Cependant, il est possible de poursuivre un exercice alors que le glycogène musculaire est épuisé, les meilleurs coureurs de très longues distances (100 km) pouvant maintenir un niveau de travail se situant entre 50 et 55 % du VO<sub>2</sub>max pendant 7 à 8 heures (Guezennec et Pesquiès, 1985). Notons que ce niveau de travail correspond au débit maximal de la lipolyse. Dans cette situation, la disponibilité en glycogène musculaire n'est pas le facteur limitant la poursuite d'un effort de très longue durée. La mobilisation du glycogène musculaire pendant l'effort est sous la dépendance d'un facteur principal qui est l'augmentation du calcium intracellulaire ; cet ion stimule la phosphorylase qui est l'enzyme clé de la glycogénolyse.

- **Rôle du glycogène hépatique**

La libération de glucose hépatique augmente progressivement au cours de l'exercice musculaire et lors d'un exercice intense, le débit peut être de 4 à 5 fois supérieures au débit de repos. Deux voies métaboliques contribuent à la production de glucose hépatique : la glycogénolyse et la néoglucogenèse. Leur contribution relative dépend de l'intensité et de la durée de l'exercice (Guezennec et Pesquiès, 1985). En début d'exercice, la glycogénolyse est la voie prépondérante. La néoglucogenèse devient majeure lors d'un exercice prolongé. Cependant, ces deux voies métaboliques, contrairement à de nombreux autres mécanismes métaboliques, ne se succèdent pas selon une loi du tout ou rien. La néoglucogenèse est probablement stimulée bien avant l'épuisement du glycogène hépatique, elle remplace progressivement la glycogénolyse hépatique lors de l'exercice physique prolongé et assure la presque totalité de la production de glucose lorsque l'exercice physique dépasse 3 ou 4 heures ; 20 g de glycogène sont utilisés par kilogramme de foie lors d'un exercice à 70 % du VO<sub>2</sub>max. Dans la mesure où la concentration moyenne de glycogène hépatique se situe à 50 g.kg<sup>-1</sup> chez l'homme, ce type d'exercice conduit à l'épuisement du glycogène hépatique en deux heures. Lors de la diminution et de l'épuisement du glycogène hépatique, la stimulation progressive de la néoglucogenèse représente la seule possibilité de maintenir la production de glucose. La néoglucogenèse s'effectue à partir du lactate, de l'alanine et du glycérol. La Glycogénolyse hépatique et la néoglucogenèse sont régulées par les mêmes facteurs hormonaux lors de l'exercice musculaire (Guezennec et Pesquiès, 1985).

Lors de l'exercice prolongé, on constate un déséquilibre entre la capacité maximale de la néoglucogenèse et la consommation par les muscles entraînant une baisse modérée de la glycémie et, dans certains cas, une hypoglycémie nette. L'ensemble de ces données métaboliques tendrait à

indiquer que la diminution importante du glycogène hépatique, de par ses conséquences sur la glycémie, serait le principal facteur de l'épuisement (Dohm *et al.*, 1983). Ceci peut être modulé en fonction de l'intensité de l'exercice, l'épuisement du glycogène musculaire étant certainement un facteur limitant de la poursuite de l'exercice au-dessus de 70 % du VO<sub>2</sub>max. Pour des exercices de faible intensité et de très longue durée (course de 100 km, triathlon long, marche de fond...), il est possible que le débit de la néoglucogenèse compense la consommation musculaire de glucose. L'utilisation des lipides permet en partie de suppléer à la diminution des réserves en hydrates de carbone (Guezennec et Pesquiès, 1985).

### ✓ **Lipolyse induite par l'exercice musculaire**

La capacité de mobilisation et d'utilisation des AGL est essentielle lors de l'exercice physique de longue durée. L'augmentation de leur libération en début d'exercice permet une épargne des réserves de glucose et de glycogène musculaire et hépatique. Lorsque l'exercice se prolonge, ils remplacent les substrats glucidiques dans le métabolisme musculaire. Ainsi, le pourcentage de l'énergie fournie par l'oxydation des lipides augmente en fonction de la durée de l'effort. Pour une durée de course de 30 minutes, le pourcentage est de 10%, il passe à 30% pour 2 heures, et dépasse 60% au-delà de 3h 30. Il a été calculé que 30% des réserves lipidiques musculaires étaient épuisées après une course de 30 km et plus de 50% après une distance de 100 km une partie des lipides utilisés lors de l'exercice musculaire provient des triglycérides stockés dans le muscle, ils sont métabolisés en premier lieu, l'autre partie provient des AGL. Les sources de lipides permettant de fournir les AGL sont les triglycérides circulants et surtout les réserves adipocytaires (Guezennec et Pesquiès, 1985).

L'événement initial dans la mobilisation des acides gras du tissu adipeux est l'hydrolyse des triglycérides par les lipases. En plus des cellules musculaires, plusieurs organes sont consommateurs de lipides et de leurs dérivés pendant l'exercice de longue durée, les cellules hépatiques les utilisent pour fournir de l'énergie à la voie de la néoglucogenèse et pour la synthèse de corps cétoniques. Ces derniers servent de substrats énergétiques au système nerveux central et aux muscles lorsque s'ajoute une contrainte de dénutrition à l'effort de longue durée (Guezennec et Pesquiès, 1985).

### ✓ **Accumulation des déchets métaboliques**

#### • **Accumulation du lactate**

L'acide lactique est un métabolite issu de la dégradation anaérobie du glucose. Son accumulation dans le sang et les muscles est un bon indicateur du degré de fatigue lors d'un exercice d'intensité élevée et de courte durée (Yu *et al.*, 2008). En effet, la dégradation anaérobie du glucose entraîne une production de protons H<sup>+</sup> et d'anions lactate *in vivo*. L'acidose métabolique

qui en résulte est considérée par de nombreux auteurs comme le principal facteur de fatigue et d'arrêt de l'exercice intense et de courte durée : 30 secondes à 5 minutes. Deux explications plausibles sont retenues. D'une part, l'accumulation de protons  $H^+$  entraîne une baisse importante du pH cellulaire (7 à 6) qui inhibe l'activité de l'enzyme régulatrice de la glycolyse : la phosphofructokinase ou PFK. Cette inhibition entraînerait l'arrêt de la glycolyse et en conséquence l'arrêt de la synthèse de l'ATP, donc une baisse de la force contractile, synonyme d'incapacité fonctionnelle. D'autre part, les protons entreraient en compétition avec les ions calcium, les empêchant d'interagir avec les sites calciques de la troponine. Dans ces conditions, la levée de l'inhibition exercée au repos par le complexe troponine-tropomyosine sur la formation des ponts d'actomyosine ne pourrait être réalisée : la contraction musculaire ne pourrait donc avoir lieu.

Des travaux récents ont montré que les taux de lactate sérique n'augmentaient pas en fonction de l'âge et du genre, mais plutôt en fonction de l'intensité de l'exercice, de l'état de santé et du niveau d'entraînement de l'athlète (Siegel *et al.*, 1996). Cependant, une comparaison chez les hommes entre adolescents et adultes a montré une augmentation significative du taux de lactate sérique après exercice (Skurvydas *et al.*, 2006). Dans le même ordre d'idée, Schuback *et al.* (1999) ont également montré une augmentation du taux de lactate sérique au-delà de 5 mmol/l pendant et après une activité physique de type endurance chez les rats. D'autres travaux ont montré également que des niveaux élevés de lactate pourraient être à l'origine d'une baisse du taux de calcium et de magnésium dans le sang (Siegel *et al.*, 1996).

- **Accumulation de l'ammoniaque/Urée**

Pour des efforts très prolongés la baisse des réserves en glycogène stimule l'utilisation d'autres sources de substrats dont les AGL et les acides aminés. Sur le plan du mécanisme, il est probable que la diminution du flux énergétique des glucides pendant la contraction musculaire augmente la mobilisation de l'azote par la mise en jeu du cycle des purines nucléotides. L'augmentation de l'ammoniaque stimule l'uréogénèse hépatique et la production d'acide urique (Kirwan *et al.*, 1990). Il en résulte une augmentation de la production d'ammoniaque qui est un autre facteur de la fatigue musculaire. En effet, dans le but de maintenir le ratio ATP/ADP, l'adenylate-kinase transfère un groupement phosphate d'une molécule d'ADP à une autre, aboutissant à la formation d'une molécule d'ATP et d'une molécule d'AMP. L'AMP est ensuite dégradée en présence de l'AMP-désaminase en IMP et en ammoniaque. Des travaux récents ont montré que l'ammoniaque sérique ne varie pas avec l'âge, mais une augmentation du taux d'ammoniaque sérique post exercice a été observée chez les hommes en comparaison aux femmes (Esbjörnsson *et al.*, 2009). Chez les sujets entraînés, une augmentation de 32% du taux d'ammoniaque sérique a été

observée durant l'activité physique. Cette augmentation serait probablement due à une plus grande resynthèse d'ATP.

- **Production excessive des radicaux libres**

L'augmentation de l'utilisation de l'oxygène qui se produit pendant l'exercice, est associée à une accentuation de la production de radicaux libres (RL) (Lenn *et al.*, 2002). La présence répétée en faibles concentrations de ces RL pourrait jouer un rôle de messenger appelé signal redox, qui contribue à la signalisation moléculaire et serait capable de réguler l'expression génétique d'enzymes antioxydants comme la super oxyde dismutase (SOD), dans le sens d'une meilleure résistance à l'oxydation. Cependant, dans certaines conditions, les RL produits pendant l'effort pourraient dépasser la capacité antioxydante de l'organisme, et contribuer à la fatigue musculaire, à l'inflammation, ainsi qu'aux dommages tissulaires provoqués par l'oxydation des macromolécules (Ferreira *et al.*, 2008).

Les études sur les facteurs qui contribuent à l'augmentation de la production des radicaux libres lors de l'exercice physique par rapport à la condition de repos ont montré que trois sources majoritaires de formation des RL pouvaient être identifiées. La première source est l'augmentation de la consommation en O<sub>2</sub>. En effet, l'augmentation de la demande énergétique lors d'un exercice physique exige une augmentation de la consommation de l'O<sub>2</sub> afin de fournir les quantités nécessaires en ATP. Cette augmentation de la consommation de l'O<sub>2</sub> favorise la réduction mono-électronique de l'oxygène (addition d'un seul électron) conduisant à la formation du radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup>.

La deuxième source est l'augmentation de la circulation des catécholamines et des neutrophiles pendant l'exercice physique. Les catécholamines participent à la production des RL par leur auto-oxydation. Sous l'action des enzymes myéloperoxydases et NADPH oxydases, les neutrophiles peuvent produire aussi des RL (Koçer *et al.*, 2008).

Le mécanisme d'ischémie-reperfusion, que l'on trouve essentiellement au cours d'un exercice isométrique ou excentrique, contribue également à la production des RL (Gomes *et al.*, 2012). En effet, dans ces types d'exercice physique, le débit sanguin local des muscles actifs n'est pas suffisant ou bien les capillaires sanguins musculaires sont comprimés par la force musculaire développée ce qui entraîne une hypoxie locale transitoire. Dans les conditions normales, la xanthine déshydrogénase (XDH) transforme la xanthine en acide urique en donnant des électrons au NADP<sup>+</sup>. En cas d'hypoxie, la xanthine est alors formée par le métabolisme anaérobie et la XDH est convertie en xanthine oxydase (XO). Lors de la réoxygénation des muscles à l'arrêt de l'exercice ou lorsque l'intensité baisse, la XO transforme la xanthine en acide urique donnant des électrons à O<sub>2</sub>, ce qui conduit à la formation d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup>.

### **I.2.3-Fatigue et modification des cellules immunitaires**

Bien qu'étant généralement considérée comme bénéfique pour l'organisme, l'activité physique menée de manière intense pourrait être délétère pour le sportif. Les études menées chez les sportifs sains ont permis de fournir de nombreux arguments en faveur d'une influence de l'activité physique intense sur le système immunitaire (Suzuki *et al.*, 1999). Ces influences se traduisent par une diminution de l'activité cytotoxique des Natural Killers, de la prolifération lymphocytaire et du taux des IgA. Il a été également observée une augmentation de la phagocytose des polynucléaires et des monocytes et une polynucléose neutrophile et lymphopénie.

#### **I.2.3.1-Modification des cellules immunitaires au cours de l'activité physique intense**

Kramer *et al.* (1997) ont évalué certaines fonctions immunitaires au cours d'activités militaires de type raid commando. Ils ont montré que la réduction des apports énergétiques lors de telles activités est à l'origine d'une altération des fonctions immunitaires : diminution de la prolifération stimulée des lymphocytes T *in vitro* ; diminution de la libération, après stimulation, du récepteur soluble à IL-2 (interleukine-2). Cette modification immunitaire est accompagnée d'une perte de poids d'environ 14 %. En limitant de 15 % le déficit énergétique, les auteurs ont constaté une amélioration de la réponse de prolifération des lymphocytes. Brenner *et al.* (2000) n'ont pas constaté d'immunodépression ni d'augmentation des infections après 18 semaines d'entraînement normal chez des militaires, ceci confirme bien l'hypothèse de la relation entre intensité de l'entraînement et statut immunitaire.

Les travaux de Suzuki *et al.* (1999) ont montré que les variations lymphocytaires concernent l'ensemble des sous-populations lymphocytaires, plus particulièrement les lymphocytes CD16 (Fc $\gamma$ RIII), CD8, CD3 et CD4. En effet, ils ont obtenu des taux lymphocytaires élevés pendant et juste à la fin de l'exercice et une diminution une à trois heures après la fin de l'exercice. La durée de cette « immunosuppression » est fonction de l'intensité et la durée de l'exercice. Ces mêmes auteurs ont par ailleurs observé que l'activité Natural-Killer (NK) a augmenté également au cours de l'exercice, vraisemblablement suite à la redistribution des cellules NK vers le compartiment sanguin. Les cellules NK ont alors une capacité accrue à répondre à l'interleukine-2 (plus qu'à l'interferon  $\gamma$ ). L'activité des cellules LAK (Lymphokine-activated killer) stimulées par l'IL-2 est également augmentée. Ceci peut toutefois ne traduire que l'activation « non spécifique » des cellules lymphocytaires induite par l'exercice. Ils ont, en fin, observé une baisse progressive des taux d'IgG, IgA et IgM. Ceci a été également démontré au niveau des IgA salivaires. Il est possible que cet effet sur les immunoglobulines soit dû à l'effet inhibiteur des prostaglandines sécrétées par les monocytes circulants.

### **I.2.3.2-Mécanismes des modifications immunitaires à l'effort intense**

Trois hypothèses sont avancées pour expliquer les modifications immunitaires de l'entraînement intense. Elles se rattachent d'une part à la réponse neuroendocrinienne et d'autre part à la réponse inflammatoire et sérotoninergique.

#### **I.2.3.2.1-Réponse neuroendocrinienne**

L'exercice musculaire est associé à un certain nombre de modifications neuroendocriniennes qui peuvent agir sur les fonctions immunitaires. En premier lieu, il faut citer l'augmentation des taux circulants de corticostéroïdes, qui est pratiquement systématique. L'exposition à des taux élevés de glucocorticoïdes est proportionnelle à la durée et à l'intensité de l'exercice musculaire. Ce facteur est considéré comme un des principaux acteurs des modulations immunitaires de l'exercice musculaire. Il permet de faire le lien entre le stress psychologique et la composante physiologique de l'exercice musculaire. Ainsi, la plus grande fréquence d'infections respiratoires observées à l'issue des compétitions pourrait en partie être attribuée à la contrainte psychologique qui renforce l'élévation des glucocorticoïdes. Par ailleurs la stimulation de la libération des catécholamines, l'augmentation de la production d'interleukines et l'augmentation des opiacés endogènes ont aussi été impliquées dans la modulation de la réponse immunitaire à l'exercice musculaire (Maes *et al.*, 2002).

#### **I.2.3.2.2-Réponse inflammatoire**

Le rôle des différentes cytokines sur la modulation de la balance immunitaire est bien connu. L'exercice intense produit une réaction inflammatoire qui stimule la production de cytokines pro-inflammatoires. Pedersen et Hoffman-Goetz (2000) ont proposé un modèle de réponse cytokines à l'exercice. La cassure mécanique des myofibrilles initierait la production locale et systémique de cytokines. La libération de cytokines ressemblerait à celle observée après choc traumatique : des taux élevés de l'IL-6 et bas de TNF- $\alpha$  et de l'IL-1b. Cependant l'action exacte de cette réaction inflammatoire sur la réponse immunitaire de l'entraînement intense reste en grande partie à déterminer.

#### **I.2.3.2.3-Réponse sérotoninergique**

De nombreuses études ont largement démontré l'existence d'une augmentation de la synthèse de sérotonine au niveau du Système Nerveux Central (SNC), sous l'effet d'un exercice physique et plus particulièrement lors d'un exercice intensif. Certains mécanismes ont été largement explorés tels que la disponibilité en tryptophane, précurseur de la sérotonine. En effet, dans les années 1980, Chaouloff *et al.* (1986) ont parfaitement démontré que l'augmentation du tryptophane

plasmatique libre est à l'origine de l'augmentation des concentrations de sérotonine centrale chez des animaux soumis à un exercice physique aigu ou prolongé.

Par ailleurs, il est connu que la régulation de la transmission sérotoninergique met en jeu les autorécepteurs 5-HT<sub>1B</sub> localisés au niveau des terminaisons sérotoninergiques, contrôlant ainsi la libération de sérotonine, via un mécanisme de rétrocontrôle négatif. Une hypothèse a été ensuite envisagée mettant en œuvre la 5-HT-moduline. L'action de ce modulateur allostérique endogène nouvellement caractérisé (Rousselle *et al.*, 1996), agit spécifiquement sur les récepteurs 5-HT<sub>1B</sub>. Le fait qu'il soit bien démontré que la 5-HT-moduline désensibilise les récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> aussi bien *in vivo* que *in vitro* après une injection intraventriculaire, vérifie bien l'hypothèse que ce peptide est impliqué dans l'augmentation de la libération de sérotonine observée lors de différents stress aigu. L'augmentation de l'activité sérotoninergique observée après un exercice physique peut être ainsi mise en rapport avec un mécanisme impliquant lui aussi la 5-HT-moduline. En effet, des travaux montrent que la désensibilisation totale des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> observée après un exercice physique de type intensif et l'augmentation observée du contenu hippocampique en 5-HT-moduline favorisent l'implication d'une régulation par la 5-HT-moduline. Outre son action au niveau central, de nombreuses études ont montré le rôle immunomodulateur de la sérotonine. Ces études mettent en évidence l'implication du système sérotoninergique et de certains de ses récepteurs dans les interrelations entre le système nerveux central (SNC) et le système immunitaire (SI). L'existence d'une population de sites capables de reconnaître la [<sup>3</sup>H] 5-HT avec une haute affinité et ayant les caractéristiques pharmacologiques des sites 5-HT<sub>1</sub> a été mise en évidence à partir de préparations membranaires de lymphocytes de sang périphérique humain et de thymocytes murins. De plus, l'utilisation de la technique de RT-PCR a permis de déceler l'expression des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> et 5-HT<sub>2</sub> dans le thymus de souris, ainsi que les récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> dans les lymphocytes de sang périphérique humain et les cellules lymphoblastiques T humaines (cellules CCRF-CEM).

Plus récemment Grimaldi *et al.* (1999) ont mis en évidence la présence de récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> sur des cellules immunocompétentes. En effet, en utilisant des thymocytes et des splénocytes de souris ou des lymphocytes humains isolés ou en lignée en culture (CEM), les récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> ont été mis en évidence par un marquage immunochimique ou par un marquage des ARNm des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub>. Parallèlement, les travaux de Sibella-Argüelles (2001) montre que la 5-HT seule stimule la prolifération des cellules CCRF-CEM et que cet effet est mimé par deux agonistes des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> /<sub>1D</sub> (L-694,247 et GR 46611) et, est inhibée par un antagoniste sélectif des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> le SB-224289. La 5-HT moduline quant à elle, bloque l'action stimulatrice exercée par le L-694,247 sur la prolifération cellulaire. Enfin, des études récentes suggèrent que la

sérotonine et la 5-HT moduline semblent contrôler via les récepteurs 5-HT1B la libération de cytokines telles que TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  et IL-10.

Ces observations indiquent que le système 5-HT peut ainsi jouer un rôle modulateur périphérique vraisemblablement parallèle à celui qu'il exerce au niveau central mettant en œuvre les récepteurs 5-HT1B.

#### **I.2.4-Fatigues et plantes ergogéniques**

Les herbes médicinales sont des plantes, ou des parties de plantes, non ligneuses connues pour avoir des vertus médicinales et thérapeutiques. Les plantes ergogéniques sont des substances qui améliorent la quantité de travail, particulièrement lorsqu'elles sont associées à la performance sportive. Elles sont en vente sous forme de produits frais ou séchés, d'extraits liquides ou solides, de comprimés, de capsules, de poudres ou se présentent sous forme de boissons, de barres énergétiques, des sachets de thé ou simplement ajouté dans les compléments alimentaires pour sportifs (Kundrat, 2005). Un nombre croissant de sportifs a recours aux compléments alimentaires contenant des extraits de plante pour optimiser leurs performances et améliorer leurs conditions physiques (Cuaz, 2016). En effet, elles pourraient faciliter la récupération, renforcer les défenses immunitaires durant les séances d'entraînement et la compétition, augmenter la masse musculaire et les réserves glycogéniques hépatiques et musculaires et réduire la masse grasseuse.

Actuellement, aucune plante ou préparation à base de plantes ne figure sur la liste des substances interdites de l'AMA. Cependant, certaines molécules d'origine végétale, notamment l'éphédrine et la pseudo-éphédrine, apparaissent dans la liste des substances interdites stimulantes soumises à un niveau de seuil (fixation d'une concentration maximale dans les urines). Ces deux métabolites sont présents dans *Ephedra sinica*, aussi appelée « *ma huang* ».

##### **I.2.4.1-Mécanismes de l'activité antifatique des plantes**

La littérature fournit une très grande variété de plantes ou d'extraits de plante ayant des propriétés antifatiques (*Panax ginseng*, *Ginkgo biloba*, *Rhodiola rosea*, *Kola*, *Eleutherococcus senticosus*, *Ginkgo biloba*, *Ocimum sanctum* etc.). Il s'agit, pour l'essentiel des plantes riches en caféine, polysaccharides, flavonoïdes, phénols, saponines et en terpènes. Plusieurs travaux ont montré l'effet d'extraits de plantes tant sur la fatigue aiguë que sur la fatigue chronique, aussi bien chez les hommes que chez les animaux (Prasad et Khanum, 2012 ; Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014). L'effet antifatique des extraits de ces plantes pourrait être dû à plusieurs mécanismes. Il s'agit des effets sur :

-le métabolisme des glucides (glucose et glycogène), des lipides (acides gras libres et triglycérides), protides (acides aminées) et la réduction de la production des déchets métaboliques (lactate et acide urique) ;

-la réponse au stress (réparation des dommages (microlésions et blessures) causées par l'activité physique intense, stimulation du système immunitaire et effet sur le système nerveux).

#### **I.2.4.1.1-Effets sur le métabolisme des lipides**

Diverses études ont montré que les plantes auraient des effets favorables sur la resynthèse de glycogène au cours de la phase de récupération et sur l'utilisation préférentielle des lipides au cours des activités physiques aiguës ou chroniques de type endurance tant chez l'homme que chez les animaux (Prasad et Khanum, 2012 ; Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014). L'utilisation de ces extraits serait responsable selon certains auteurs, d'une augmentation de la  $\beta$ -oxydation musculaire et d'une baisse du contenu en malonyl-CoA. Ces auteurs suggèrent également qu'une diminution de la teneur en malonyl-CoA stimulerait l'oxydation des acides gras dans les muscles squelettiques (Bavenholm *et al.*, 2000). En effet, le malonyl-CoA inhibe les carnitine O-palmitoyltransférases I (CPT I) dont le rôle est de transporter les acides gras à longues chaînes au sein de la mitochondrie pour qu'ils subissent une  $\beta$ -oxydation. La diminution des concentrations de malonyl-CoA favorise donc l'oxydation des acides gras. L'utilisation préférentielle des acides gras durant l'effort serait responsable d'une baisse du catabolisme des glucides et des protides, ce qui pourrait avoir pour conséquence une réduction de la concentration en lactates et en urée sérique.

#### **I.2.4.1.2-Effets sur le taux d'acide lactique, d'urée et des réserves glycogéniques**

Plusieurs études ont montré l'effet de la consommation des extraits de plante sur le taux d'acide lactique, d'urée et les réserves glycogéniques. La baisse du taux d'acide lactique observée après consommation de ces extraits lors d'un effort physique pourrait être due à plusieurs mécanismes aboutissant à la baisse de sa production ou à l'accélération de sa clairance (Xu *et al.*, 2013). En effet, le lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme présente dans les cellules de l'organisme à l'instar des muscles striés squelettiques. Il intervient dans le cycle de Cori. L'activation de cet enzyme lors d'une activité physique aérobie entraîne une augmentation de la production d'ATP et une réduction de la production de l'acide lactique dans les muscles (Liang *et al.*, 2004). Plusieurs travaux ont montré que les extraits de plante pourraient entraîner une activation de cette enzyme durant l'effort et améliorer l'endurance physique (Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014).

La pratique de l'exercice physique entraîne une baisse des réserves énergétiques, qui pourrait conduire à une hypoglycémie néfaste au fonctionnement musculaire. L'urée est un bon indicateur

du niveau d'endurance physique des athlètes qui sont soumis à une charge d'entraînement (Huang *et al.*, 2011). Une élévation de l'urée sérique serait un indicateur de la dégradation des protéines, de la déshydratation, du stress et de la fatigue chez l'athlète. Diverses études ont montré que les plantes antifatigues auraient des effets favorables sur la resynthèse de glycogène et une réduction de la dégradation des protéines durant un effort physique (Prasad et Khanum, 2012 ; Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014). Ce qui aurait pour conséquence une augmentation des réserves énergétiques provenant des glucides et des lipides.

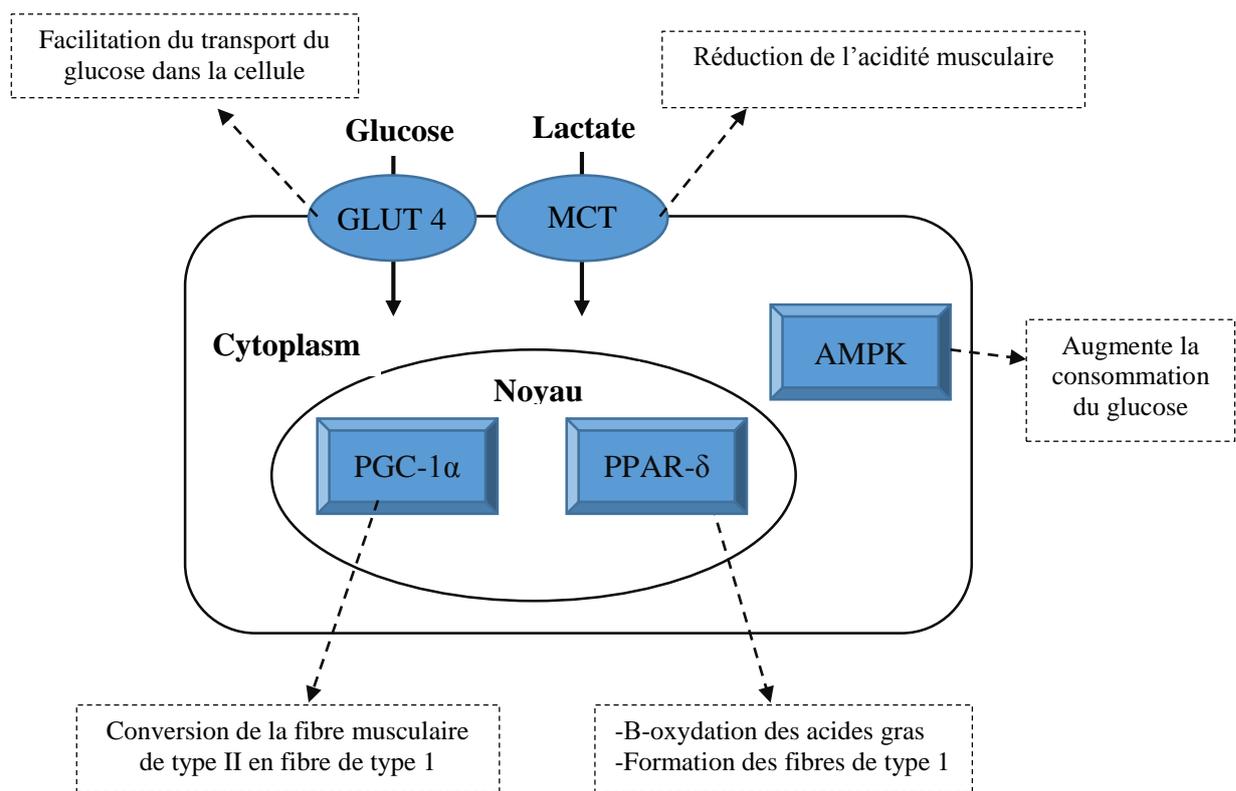
#### **I.2.4.1.3-Effets sur les transporteurs et les régulateurs métaboliques musculaires**

L'adénosine monophosphate kinase (AMPK), le proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 $\alpha$ ) et le proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\delta$ ) sont les principaux régulateurs métaboliques musculaires (Kumar *et al.*, 2011). Ils sont responsables de la glycolyse, de la glycolyse et de la  $\beta$ -oxydation des acides gras durant l'effort physique de type endurance (Geng *et al.*, 2017) (Figure 3). L'AMPK est une protéine kinase qui est présente au niveau du muscle et son activation entraîne une augmentation de la consommation du glucose (Hardie *et al.*, 2006). Le PGC-1 $\alpha$  est un co-activateur transcriptionnel qui accélère l'oxydation des substrats énergétiques dans la mitochondrie. Son activation entraîne également une conversion des fibres de type II en fibres de type I qui a une forte capacité oxydative. Le PPAR- $\delta$  est un régulateur transcriptionnel de l'oxydation des acides gras dans les cellules adipocytaires. Il serait également responsable de la formation des fibres de type I dans les muscles et de l'augmentation de la contraction cardiaque et de la performance. Les plantes antifatigues sont connues pour leurs effets activateurs des régulateurs métaboliques musculaires que sont l'AMPK, le PGC-1 $\alpha$  et le PPAR- $\delta$ . Les travaux de Kumar *et al.* (2011) portant sur l'activité antifatique de *Cordyceps sinensis* chez les souris soumises à une activité physique ont montré une augmentation significative de ces régulateurs chez les souris les plus endurantes ayant cet extrait à la dose de 200 mg/kg. D'autres travaux ont également montré que l'augmentation de la capacité musculaire serait due à une activation par les plantes et les extraits de plante, de l'expression des transporteurs musculaires du glucose (GLUT-4) et du lactate (MCT1). L'activation de ces transporteurs entraîne une réduction de l'acidité musculaire et une augmentation du transport du glucose dans les muscles en activité. Ce qui réduirait la survenue de la fatigue et augmenterait la performance (Figure 3).

#### **I.2.4.1.4-Effets sur la réponse au stress oxydant**

Les phyto-nutriments sont des composés en provenance des plantes, qui remplissent de nombreux rôles physiologiques. Des milliers d'entre eux ont déjà été identifiés dans les extraits de plante. Les classes les plus importantes sont les caroténoïdes, flavonoïdes, phénols, phytostérols et les glucosinolates. A côté des phyto-nutriments, l'on rencontre également dans ces extraits de plante,

des vitamines (A, E et C), et des oligoéléments (Cuivre, Zinc et Sélénium) qui ont des propriétés antioxydantes intéressantes. Leur rôle protecteur pour la santé du sportif leur a valu le nom de plante adaptogène (Molinos, 2013). En effet, les extraits de ces plantes agissent comme piègeurs/inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions super oxydes, du singulet d'oxygène, ou comme régulateurs du système antioxydant (De-Faria *et al.*, 2012). Ce qui pourrait entraîner une réduction significative de l'activité de la créatine kinase, de l'aspartate aminotransférase, de la xanthine oxydase au repos et pendant l'exercice et une augmentation du taux de polyphénol total au repos.



**Figure 3 :** Synthèse du mécanisme antifatique impliquant les régulateurs métabolique et les transporteurs musculaires (Geng *et al.*, 2017).

PGC-1α= « Proliferator-Activated Receptor-Gamma Coactivator 1 alpha », PPAR-δ= « Proliferator-Activated Receptor Gamma », AMPK= Adénosine Monophosphate Kinase, GLUT-4= Transporteur Musculaire du Glucose, MCT-1=Transporteur musculaire du lactate.

### I.3-Generalites sur le stress

#### I.3.1-Définition du stress

Selye (1976), défini le stress comme un ensemble de réponses physiologiques non spécifiques à des agents nocifs divers, destinées à mobiliser les défenses de l'organisme pour maintenir ou rétablir un équilibre menacé. Il décrit plus précisément cette réponse et la nomme «

syndrome d'adaptation généralisée» (SGA). Le SGA est une succession de 3 phases (la phase d'alarme, la phase de résistance et la phase d'épuisement) caractérisée par des changements mesurables au niveau de certains organes et par des manifestations physiologiques quantifiables. De nouvelles définitions du concept de stress ont été élaborées au fil des années et dans l'évolution de ce concept, l'aspect psychologique, les émotions mais également des facteurs environnementaux et génétiques ont été de plus en plus pris en compte. C'est ainsi que, Morgan et Tromborg (2007) définissent le stress comme une perturbation de l'homéostasie en réaction à différents types d'agressions (physique, psychique ou environnementale) qui surviennent sur un mode aigu ou chronique, et qui peuvent conduire à des adaptations physiologiques, biochimiques et comportementales. Lorsque ces perturbations ont lieu au niveau de la cellule, on parle de stress oxydant. Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des radicaux libres (RL) d'une part et ceux des défenses antioxydantes d'autre part (Powers et Jackson, 2010).

### **I.3.2-Stress et activités physiques et sportives**

La performance sportive dépend de plusieurs facteurs qui peuvent augmenter ou limiter divers habiletés indispensables à l'athlète. Parmi ces facteurs, le stress occupe une place de choix aussi bien lors des séances d'entraînement que lors de la compétition proprement dite. Pour les physiologistes de l'exercice, le terme stress implique des perturbations de l'homéostasie créées par l'activité physique. L'un des aspects primordiaux de la performance d'un athlète est donc sa capacité à s'accommoder au stress et de faciliter ainsi la récupération. Il est admis cependant qu'un certain niveau de stress est indispensable à la performance. Mais, du fait de la complexité et de la spécificité de certaines disciplines sportives, les athlètes réagissent différemment au stress. Certains athlètes utilisent leur stress pour générer l'énergie physique et mentale nécessaire à l'accomplissement de performances sportives optimales, d'autres en revanche, ressentent d'intenses malaises physiques ainsi que de grandes inquiétudes psychologiques qui les empêchent d'atteindre le niveau de performance désiré.

Les facteurs de stress sont nombreux dans le sport de compétition. Les principaux relèvent du domaine social, des facteurs environnementaux, des facteurs techniques et tactiques. La nouveauté, l'ambiguïté, la prédictibilité et la possibilité de contrôle de ceux-ci vont jouer un rôle dans la définition de l'aspect stressant de la situation pour le sujet (Lupien, 2008). Empêcher que le processus de stress ne nuise à la performance est une question qui suscite beaucoup d'intérêt dans le domaine du sport. Entraîneurs, athlètes et psychologues sportifs s'entendent pour dire que la capacité de gérer le stress avant, pendant et après les compétitions constitue un aspect déterminant d'une performance sportive de haut niveau.

### **I.3.3-Mécanismes du stress**

#### **I.3.3.1-Implication du système nerveux central**

L'axe corticotrope et le système nerveux sympathique sont des systèmes neuroendocriniens de régulation de l'homéostasie. Lors du stress, ces axes sont mobilisés pour permettre la réponse de stress. Le contrôle central du stress est situé dans l'hypothalamus et le tronc cérébral. Les principaux acteurs de ce contrôle central sont les neurones sécrétant du CRF (Corticotrophine Releasing Factor) et de la vasopressine (AVP) localisés dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) et le locus coeruleus (LC) associé à d'autres groupes de neurones à noradrénaline du tronc cérébral formant le système LC/NA du système nerveux sympathique. L'axe corticotrope et les efférents du système sympathique vers la médullosurrénale représentent les deux principales branches effectrices périphériques permettant le contrôle par le cerveau des différents organes durant l'exposition au stress (Tsigos et Chrousos, 2002). Le cerveau active également une partie des efférences vagales parasympathiques qui modulent les réponses au stress du tractus gastro-intestinal (Ulrich-Lai et Herman, 2009). Ainsi l'axe corticotrope et le système LC/NA associé aux efférences sympathiques du système nerveux autonome vers la médullosurrénale (que l'on appellera par la suite axe sympathique) constituent les deux principaux systèmes effecteurs de la réponse de stress, des sites d'interaction existent entre les différents composants de ces deux systèmes.

#### **I.3.3.2-Mécanisme au niveau de la cellule musculaire**

Les études aussi bien chez l'homme que chez l'animal laissent peu de doutes quant à la production d'espèce réactive oxygénée (ERO) pendant l'exercice tant aérobie qu'anaérobie, et de leur influence comme agent d'activation de différents facteurs de transcription dit redox régulés (Sahlin *et al.*, 2010).

##### **I.3.3.2.1-Augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub> à l'effort**

La production de radicaux libres augmente en relation avec l'élévation de la consommation d'oxygène, grâce à la captation d'oxygène par les muscles actifs qui peut augmenter 200 fois pendant l'exercice (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). Cette production est proportionnelle à l'intensité combinée à la durée de l'exercice, mais elle peut varier en fonction du type d'exercice et des conditions dans lesquelles il se produit (épreuve de compétition, test de laboratoire ou de terrain, course en montée ou en descente, aérobie ou anaérobie lactique, etc.). Le stress oxydant à l'effort peut aussi se produire chez des sujets entraînés, se prolonger pendant plusieurs heures et dans certaines conditions (triathlon, haltérophilie) aboutir à des situations de dépression des défenses antioxydantes (GPx, CAT, SOD) (Knez *et al.*, 2007).

### **I.3.3.2-Production des radicaux libres en fonction du type d'effort fourni**

Les exercices de haute intensité (statiques ou dynamiques) peuvent induire des hypoxies endothéliales localisées et conduire à un épuisement du pool cellulaire d'ATP. En conséquence, la fonction de la pompe à calcium qui dépend de l'ATP est diminuée et provoque l'augmentation des concentrations intracellulaires de calcium avec pour effet une activation de protéase calcium dépendante (calmodulin ou calpain). Ces derniers coupent un groupe peptide de la xanthine déshydrogénase, la convertissant dans sa forme oxydase. L'enzyme xanthine oxydase ainsi formée, une fois la réoxygénation initiée, utilise l'oxygène comme un accepteur d'électron et génère du radical super-oxyde et du peroxyde d'hydrogène, dont la contribution oxydative au niveau musculaire peut être significative (Gomes *et al.*, 2012).

La production de radicaux libres pendant l'exercice n'est pas limitée aux muscles. Pendant l'exercice, le flux sanguin dans les muscles utilisés peut augmenter de plus de 40 fois, alors qu'il peut diminuer de plus de 20% dans certains organes (Radak *et al.*, 2008). Après l'exercice, la réoxygénation de ces organes peut conduire à une accumulation d'ERO dans les tissus, mais également dans les érythrocytes, le sérum, l'urine (Radak *et al.*, 2008).

Une activité physique à une intensité supérieure à celle du seuil anaérobie provoque des élévations significatives des neutrophiles circulants (Wang *et al.*, 2009). Grâce à l'action des enzymes myéloperoxydases et NADPH oxydases, les neutrophiles sont capables de produire des ERO au travers de l'emballement oxydatif (oxidative burst) inflammatoire ; ceci pourrait amplifier les dommages oxydatifs causés par l'exercice. L'exercice, mais aussi l'excès de consommation de sel ou de médiateurs de l'inflammation peuvent provoquer des augmentations de l'activité des NADPH oxydases dans les tissus (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). Le métabolisme des prostanoides (prostaglandines) est également susceptible d'augmenter la production d'ERO pendant l'exercice.

### **I.3.3.3-Autres causes de formation des radicaux libres durant l'effort**

Il est possible que la production d'ERO ne soit pas exclusivement dépendante de l'augmentation du flux d'oxygène vers les mitochondries pendant l'exercice. L'augmentation de la circulation de catécholamines lors d'exercices d'endurance intense, augmente la production de radicaux oxygénés par l'auto oxydation des catécholamines, qui pourraient générer des radicaux super-oxydes (Ramel *et al.*, 2004). La production d'acide lactique qui peut convertir un radical libre faible comme le radical super-oxyde en un radical plus agressif comme l'hydroxyle, la température corporelle, les dommages tissulaires et l'inflammation locale notés après des exercices intenses, sont autant de raisons invocables pour justifier la production de radicaux libres lors de l'exercice physique. Pendant la phase de récupération des exercices, l'oxydation peut se prolonger, sous forme

d'inflammation, de perturbations du métabolisme du calcium, de libération de minéraux oxydants comme le fer, etc. (Fisher-Wellman *et al.*, 2009).

#### **I.3.3.4-Modulation des systèmes de stress en cas de stress chronique**

L'exposition à un stress chronique entraîne une altération des structures et des fonctions des régions du cerveau impliquées dans le contrôle de l'axe corticotrope et du système nerveux autonome. Le stress chronique induit des modifications structurelles au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Radley *et al.*, 2008). Au niveau du PVN, une augmentation de l'expression de CRF et d'AVP et une diminution de l'expression des GR sont mises en évidence, ainsi qu'une altération de nombreux autres récepteurs (Ziegler *et al.*, 2005). Des changements neurochimiques sont également démontrés dans de nombreuses voies de signalisation projetant vers le PVN, notamment une augmentation des niveaux de neurotransmetteurs GABA dans l'hypothalamus et le noyau du lit de la strie terminale. Ces changements sont à l'origine des effets délétères du stress chronique. Pour connaître les mécanismes impliqués dans la réponse adaptative du stress, de nombreux modèles de stress ont été étudiés. En effet, un des objectifs de l'étude du stress est de connaître les mécanismes sous-jacents à l'activation des différents systèmes impliqués et les effets du stress sur ces mécanismes dans différentes situations métaboliques ou conditions environnementales. Connaître précisément ces mécanismes et leur modulation permet de mettre en place des programmes de lutte contre l'impact négatif qu'a actuellement le stress sur notre société.

#### **I.3.4-Conséquences du stress**

Chez l'homme comme chez l'animal, si le stress a un rôle bénéfique à court terme, appliqué à long terme ses conséquences sont souvent néfastes.

##### **I.3.4.1-Effets bénéfiques du stress**

###### **I.3.4.1.1-Effets sur le fonctionnement cellulaire**

Les RL sont connus essentiellement pour leurs effets délétères, mais ils sont également indispensables au fonctionnement de notre organisme. Cependant les bienfaits des RL nécessitent de basses concentrations dans le milieu cellulaire. Ci-dessous sont présentés quelques exemples physiologiques impliquant la présence nécessaire des RL.

###### **❖ Rôle dans la contraction musculaire**

Les RL sont impliqués dans le mécanisme de la contraction musculaire. Certaines études scientifiques ont montré que les RL agissent sur le couplage excitation-contraction au niveau des fibres musculaires. Dans ce contexte, Favero *et al.* (1995) ont montré que les radicaux H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

favorisent la libération du  $\text{Ca}^{2+}$  au niveau du réticulum sarcoplasmique et stimulent l'ouverture des canaux calciques.

#### ❖ Rôle immunitaire

Les RL jouent un rôle dans le déroulement de la réaction immunitaire. Ils sont produits par les cellules phagocytaires pour être utilisés dans la lutte contre les bactéries. La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense qu'elle est connue sous le nom de « burst oxydatif », c'est-à-dire explosion oxydative. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des super-oxydes dismutases (SOD) et de l'oxyde nitrique synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{OH}^{\bullet}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{ONOOH}$ . Ce mélange réactionnel détruit par oxydation l'ensemble des composants bactériens (Favier, 2003).

#### ❖ Rôle dans l'expression des gènes

Les RL induisent l'expression de nombreux gènes par l'intermédiaire d'une part des voies de signalisation impliquant les MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) mais aussi en agissant plus directement sur les facteurs de transcription comme l'AP-1 (« Activatorprotein 1 ») et le NF- $\kappa$ B (« Nuclear Factor kappa B ») (Cyrne *et al.*, 2013) La NF- $\kappa$ B est un complexe protéique constitué de deux protéines p50 et p65. En condition normale, NF- $\kappa$ B est inhibé par la liaison avec I $\kappa$ B (Inhibitor kappa B). Suite à un stimulus, l'inhibiteur est phosphorylé et dégradé par le protéasome libérant ainsi NF- $\kappa$ B. Les RL sont des modulateurs de l'activité de NF- $\kappa$ B sous certaines conditions et dans certains types de cellules. Ils agissent en augmentant la dégradation de I $\kappa$ B.

AP-1 fonctionne sous forme de dimères constitués par les protéines d'oncogènes c-fos ou c-Jun. L'activation d'AP-1 se fait par l'intermédiaire des MAP kinases JNK (c-Jun-N-terminal kinase). Les RL augmentent l'activité de JNK qui phosphoryle les résidus sérines du domaine de trans-activation de c-Jun. L'activité d'AP-1 est également régulée par les RL au travers des résidus cystéines situés dans son domaine de fixation à l'ADN (Sen et Packer, 1996). La liaison d'AP-1 à sa séquence-cible d'ADN permet, lorsque la cystéine de la protéine Jun est réduite par les RL, la transcription de nombreux gènes stimulant l'expression de la plupart des antioxydants cellulaires.

#### I.3.4.1.2-Adaptations comportementales et physiques

L'activation aiguë des systèmes de stress mène à un ensemble de changements comportementaux et physiques défini comme le syndrome de stress. Ces changements sont adaptatifs et normalement limités dans le temps car ils ont pour but d'optimiser les chances de survie d'un individu en mobilisant ses forces physiques et mentales. Ils sont modulés par les médiateurs du stress que sont des neuropeptides et hormones régulateurs de l'homéostasie sécrétés par l'axe

hypothalamo-hypophyso-surrénalien (que l'on appellera axe corticotrope) et le système nerveux sympathique associé aux glandes médullosurrénales: la corticolibérine (CRF), l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), les glucocorticoïdes et les catécholamines.

Les principales adaptations comportementales incluent un état d'éveil, d'alerte, de vigilance et des capacités cognitives accrues combinés à une attention focalisée, une analgésie augmentée et une inhibition de comportements liés aux fonctions végétatives concurrentes comme l'alimentation et la reproduction. Ces adaptations sont permises par une facilitation ou une inhibition au niveau central de voies nerveuses modulant ces fonctions. En parallèle, des adaptations physiques permettent de promouvoir en périphérie une redirection adaptative de l'énergie. L'oxygène et les nutriments sont sélectivement dirigés vers le système nerveux central et les sites de l'organisme impliqués dans la réponse de stress comme le cœur ou les muscles, où le besoin est transitoirement augmenté. Cette redirection de l'énergie se fait grâce à la modification du tonus cardiovasculaire menant à l'augmentation du rythme cardiaque et de la pression artérielle, ainsi qu'à l'augmentation du rythme respiratoire.

L'augmentation du métabolisme intermédiaire (glycolyse, néoglucogenèse, lipolyse) permet de promouvoir la disponibilité des substrats vitaux. En corollaire, les fonctions consommant de l'énergie comme la digestion, la croissance, l'immunité sont temporairement supprimées permettant une utilisation optimale de l'énergie (Harris, 2015). Le succès de ces adaptations tient non seulement à la rapidité de mise en place de celles-ci mais également à la capacité de l'organisme à contenir la réponse de stress en quantité et dans le temps. Ainsi, tous les éléments de la réponse de stress sont contre-régulés et les fonctions de détoxification au niveau cellulaire sont activées pour éliminer de l'organisme les métabolites produits durant la réponse adaptative. Bien que les réponses adaptatives face aux agents stressants soient bénéfiques à court terme, elles peuvent engendrer des manifestations désagréables (Chrousos, 2009).

### **I.3.4.2-Effets délétères du stress**

#### **I.3.4.2.1-Conséquences sur le fonctionnement cellulaire**

Les radicaux libres peuvent diffuser dans le cytoplasme et à travers les membranes, pour aller altérer des composants cellulaires éloignés de leur site de production ou encore pour atteindre d'autres cellules (Neuzil *et al.*, 1993). De plus, l'attaque des composants organiques des cellules (lipides, protéines ou glucides) engendre la transmission d'une cascade radicalaire, soit à l'intérieur d'une même molécule, soit à l'intérieur d'un même tissu en agissant d'une molécule à une autre. En absence d'équipement antioxydant tissulaire efficace pour stopper cet enchaînement radicalaire, le phénomène de dégradation connaît une progression rapide, qui, après interaction avec les autres

systèmes tissulaires, devient très vite exponentielle. Cette transmission extrêmement rapide peut alors conduire au transfert de l'agression radicalaire sur plusieurs centimètres au sein d'un tissu en une fraction de seconde (Neuzil *et al.*, 1993).

### ❖ Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés que l'on trouve dans les acides gras polyinsaturés (AGPI). Ceux-ci pourraient subir des attaques radicalaires et génèrent des peroxydes lipidiques qui sont eux même très réactifs. On distingue deux formes d'oxydation des AGPI : la forme enzymatique et la forme non enzymatique. L'oxydation non enzymatique des AGPI se fait soit par auto-oxydation par l'oxygène triplet  $^3\text{O}_2$ , soit par photo-oxydation par l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$  (Porter *et al.*, 1995). L'oxydation enzymatique des AGPI est assurée par deux enzymes qui sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (Houten and Wanders, 2010). L'oxydation des lipides, en particulier des résidus d'acides gras polyinsaturés, conduit à la formation de produits primaires : peroxydes, radicaux libres, diènes conjugués très instables et rapidement décomposés en produits secondaires (aldéhydes, alcools, cétones). Au niveau cellulaire, tous les composants de la cellule sont touchés et tout particulièrement les membranes plasmique, mitochondriale et lysosomale. La peroxydation lipidique induit ainsi une perturbation dans la structure et la composition de la membrane cellulaire qui se manifeste le plus souvent par une augmentation de la perméabilité membranaire.

### ❖ Oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger la majorité des ERO générés (50-75%). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines carbonylées (PC) dont l'accumulation peut être dosée comme témoin de l'oxydation (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). Suivant leur nature les acides aminés subiront des attaques radicalaires présentant des successions de réactions différentes. Toutefois l'oxydation des acides aminés est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire ( $\text{LOO}\cdot \rightarrow \text{LOOH}$ , ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote. Le radical d'acide aminé obtenu réagira avec l'oxygène pour former un composé avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène, le composé obtenu étant ensuite transformé en un aldéhyde.

Les dommages oxydatifs des protéines peuvent provenir de divers ERO comme le radical hydroxyle, le peroxydinitrite, des radicaux d'acides aminés, d'AGI ou de sucres (Sayre *et al.*, 2008).

De plus, tous les acides aminés sont susceptibles à l'oxydation catalysée par les métaux (par réactions de Fenton). Ainsi des nitrations, glycations et des modifications des protéines par des 4-hydroxynonanal (HNE) et MDA ont été mises en évidence, et facilitées par la présence de métaux réduits et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'accumulation de protéines oxydées est souvent mesurée par leurs contenus en carbonyles ou en nitrotyrosines. La détermination des protéines carbonylées (PC) se fait par spectrophotométrie et la détermination des nitrotyrosines peut se faire par HPLC. Des interférences sont possibles et la détermination dans l'urine est difficile, la détermination par immuno-essais serait prometteuse.

#### ❖ Oxydation de l'ADN

Tant dans les mitochondries que dans le noyau des cellules, des dommages oxydatifs sur les bases de l'ARN, de l'ADN, et sur d'autres structures génomiques peuvent se produire par réactions de Fenton, sous l'effet d'aldéhydes de la peroxydation lipidique comme les HNE et les oxo-nonanal (ONE), par des peroxy-nitrites (Sayre *et al.*, 2008). Ces altérations peuvent conduire à des scissions d'ADN et avoir une action mutagène. La peroxydation lipidique est également capable d'affecter la prolifération des cellules en formant des liaisons intra et intermoléculaires entre les acides aminés sulfurés des ARN, ADN et des protéines (El-Mesery *et al.*, 2009). Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de leur dégradation peut être détecté par le dosage de la 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) dans le sang et dans l'urine, mesurée par différentes techniques de HPLC. Des 8-hydroxyguanosine (8OHG) ont également servi de marqueur de l'oxydation de l'ARN. Une autre technique d'électrophorèse (cometassay), consiste à mesurer la trainée provoquée par l'ADN cassé par l'oxydation. L'ADN intact ayant tendance à présenter une forme sphérique, alors que l'ADN brisé par l'oxydation présente une forme étalée en comète dont on mesure la queue pour évaluer l'ampleur de l'oxydation. L'activité nucléaire des enzymes OGG1 (oxoguanine DNA glycosylase) impliqués dans l'élimination des guanines oxydées de l'ADN a également été dosée.

#### **I.3.4.2.2-Conséquences psychique et comportementales**

L'anxiété est une étape plus avancée sur le continuum du stress. Elle serait définie comme un état émotionnel négatif qui s'accompagne de nervosité, d'inquiétude et d'appréhension, associées à une activation de l'organisme (Martens *et al.*, 1990). La mesure d'anxiété peut être prise grâce à des mesures physiologiques spécifiques, comme la variation de la fréquence cardiaque ou en répondant à un questionnaire multidimensionnel. On distingue l'anxiété cognitive et l'anxiété somatique. Selon Martens *et al.* (1990), l'anxiété cognitive se caractérise par la peur de l'échec, une évaluation négative de ses propres capacités et des appréhensions négatives sur la performance. Elle peut mener à des difficultés de concentration et perturber l'attention. L'anxiété somatique se relierait davantage à des perceptions de l'état physiologique. Elle serait aussi reliée à des symptômes

physiologiques : battements cardiaques rapides, souffle court, mains moites, nœuds dans l'estomac, muscles tendus, sueurs froides.

### ✓ **Anxiété compétitive**

En psychologie du sport, il est généralement admis que la compétition génère un état émotif particulier : l'anxiété compétitive. Même s'il est important de prendre en compte le trait d'anxiété dans la compétition, les émotions générées par la compétition sont plus souvent des états transitoires et variables selon les individus et les situations. On parlera alors d'état d'anxiété compétitive qui s'accompagne de réponses cognitives opérationnalisées par les pensées négatives, l'inquiétude, l'appréhension, les difficultés de concentration, une attention perturbée, et de réponses somatiques opérationnalisées par la nervosité du sujet, les modifications au niveau de l'activation et des paramètres physiologiques tels que l'augmentation de la fréquence cardiaque et de la fréquence respiratoire, des tensions au niveau musculaire, un nœud dans l'estomac. McGrath (1970) et par la suite Martens *et al.* (1990) ainsi que d'autres scientifiques ont orienté une partie de leurs travaux sur cet état d'anxiété compétitive. Ils ont cherché à comprendre le processus de l'anxiété et notamment de l'anxiété compétitive. Selon McGrath (1970), ce processus comprend 4 étapes :

- la situation dans laquelle se trouve l'athlète ;
- la perception individuelle de la demande environnementale ;
- la réponse physiologique et psychologique ;
- le comportement sous l'effet de l'anxiété.

### ✓ **Relation entre l'état d'anxiété compétitive et la performance**

L'anxiété est souvent vue comme un élément négatif pour la performance. Cette affirmation est parfois pondérée dans les récents articles scientifiques : l'anxiété pourrait être bénéfique à l'athlète jusqu'à un certain seuil au-delà duquel elle altérerait considérablement la performance. Le niveau d'anxiété peut avoir des conséquences sur le comportement (Oxendine, 1970). Beaucoup d'autres modèles et de théories sont venus agrémenter la discussion à propos de cette relation. Les modèles actuels de la gestion du stress, qui sont grandement étudiés et utilisés dans le domaine sportif, se basent sur la relation en U inversé entre la performance et l'activation physiologique (Arent et Landers, 2003). Selon cette théorie initiale du U inversé, il existerait un optimum d'activation pour lequel la performance est maximale. Si le sujet se situe en-dessous ou au-dessus de l'optimum sur le continuum de l'activation, la performance est moins bonne.

### **I.3.5-Stress oxydant et activités physiques**

#### **I.3.5.1-Efforts aérobies**

La plupart des études ont noté une diminution de la production des RL au niveau de la mitochondrie après un effort en endurance. Daussin *et al.* (2012) expliquent la diminution de la production des RL après une période d'entraînement par deux mécanismes :

-l'entraînement en endurance améliorerait la capacité antioxydante de la mitochondrie pour neutraliser les RL ;

-l'entraînement en endurance baisse le potentiel membranaire mitochondrial ce qui réduit la fuite des électrons au niveau de la mitochondrie et par la suite la production des RL. En effet, l'entraînement en endurance augmente le nombre des protéines découplantes (UCP) dont le rôle principal est de faciliter le retour des protons vers la matrice mitochondriale et ainsi faciliter le transport des électrons à travers les complexes de la chaîne du transport des électrons. Un tel effet pourrait réduire la production du radical  $O_2^{\bullet}$ .

##### **I.3.5.1.1-Effort aérobie et paramètres oxydants et antioxydants au repos**

Des sujets entraînés présentent par rapport à des sédentaires des niveaux sanguins en oxydants (MDA, DC, PC et 8-OHdG) significativement inférieurs et en antioxydants (vitamines C et E, acide urique, SOD, GPx, GR, CAT, lag phase des DC, GSH) significativement supérieurs (Azizbegi *et al.*, 2014). Ces résultats reflètent une activité antioxydante de repos, tant endogènes qu'exogènes, plus performante et une moindre oxydation chez les individus entraînés. Ceci se vérifie même chez des athlètes d'ultra endurance dont les volumes d'entraînements sont très élevés, ou après des périodes de compétitions de plusieurs mois (Knez *et al.*, 2007). Plus le degré d'entraînement ou de condition physique est élevé et meilleures pourraient être les protections. Toutefois à partir d'un certain niveau d'entraînement des effets supplémentaires pourraient être difficiles à obtenir. Le désentraînement pourrait annuler ces adaptations et le surentraînement pourrait déprimer les défenses antioxydantes (Radak *et al.*, 2008).

##### **I.3.5.1.2-Effort aérobie et paramètres oxydants et antioxydants à l'effort**

Des sujets entraînés comparés à des sujets non entraînés, présentent immédiatement et 15 minutes après des efforts aérobies, des niveaux sanguins de TBARS, MDA et DC significativement inférieurs et de GSH, SOD et GPx significativement supérieurs (Rahnama *et al.*, 2007). Néanmoins, toutes les études ne présentent pas des évolutions significatives. En cas de surentraînement, le système de défense antioxydant pourrait être dépassé dans sa capacité de faire face au stress oxydant dû à l'effort aérobie (Knez *et al.*, 2007).

### **I.3.5.2-Efforts anaérobies**

#### **I.3.5.2.1-Effort anaérobie et paramètres oxydants et antioxydants au repos**

L'entraînement en anaérobie à dominante lactique a été démontré capable d'augmenter les antioxydants musculaires (SOD, GPx, GR) et de diminuer les niveaux sanguins de DC et TBARS (Bloomer *et al.*, 2008). Les exercices anaérobies peuvent induire une activation redox sensible de facteurs de transcription comme les NFkB qui activent la production d'antioxydants endogènes (GPx, CAT, SOD, GSH), et renforcent l'organisme contre de nouvelles agressions oxydatives (Bloomer *et al.*, 2006). Cependant, toutes les études ne constatent pas d'influence sur les niveaux de repos en oxydants ou en antioxydants. Certaines publications font état d'une diminution des défenses antioxydantes de l'organisme, qui pourrait être due à un excès de production de RL par effet cumulatif des exercices anaérobies et de l'hypoxie qu'ils provoquent, entraînant une augmentation du flux d'oxygène vers les mitochondries lors de la réoxygénation (Pialoux *et al.*, 2006). Dans certaines limites, il paraît donc possible que l'entraînement en anaérobie puisse résulter en des atténuations du stress oxydant de repos, similaires à celles de l'entraînement aérobie.

#### **I.3.5.2.2-Effort anaérobie et paramètres oxydants et antioxydants à l'effort**

Des diminutions de production en oxydants (DC, TBARS, MDA, LOOH) à l'effort anaérobie à dominante lactique ont été constatées sous l'effet de l'entraînement (Bloomer *et al.*, 2009). Les exercices anaérobies pourraient contribuer à augmenter les défenses antioxydantes de repos et à réduire la génération des oxydants pendant et après l'exercice. Des athlètes bien entraînés démontrent une diminution des niveaux de DC et une augmentation des défenses antioxydantes (Finaud *et al.*, 2006). Le fait d'être entraîné en endurance (aérobie) ou en musculation (anaérobie lactique) ne paraît présenter aucun avantage, en termes de prévention du stress oxydant à l'effort anaérobie. Il existe aussi des études qui ne démontrent aucun effet de l'entraînement sur le comportement des oxydants (MDA, LOOH) ou des antioxydants (SOD, GPx, vitamines E et A) à l'effort anaérobie (Viitala and Newhouse, 2004).

#### **I.3.5.3-Mécanismes probables de la fluctuabilité des antioxydants à l'effort**

Entre les analyses immédiates et tardives (quelques minutes) après les efforts, des inversions du comportement des antioxydants ont été constatées (Michailidis *et al.*, 2007). Plusieurs explications ont été avancées pour justifier les fluctuations observées, dont l'utilisation des antioxydants dans la lutte contre les ERO, mais aussi par leurs interactions avec d'autres antioxydants, ou à cause de leur transport entre différents compartiments. Ainsi l'évolution post exercice des vitamines C, GSH et GPx est étroitement liée et a été corrélée aux indices de dommages musculaires (Margaritis *et al.*, 2003). Dès l'arrêt de l'effort, une augmentation de l'activité des GPx

pourrait contribuer à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique et à diminuer les GSH, la vitamine E serait également utilisée. La possible régénération de la vitamine E par la vitamine C elle-même régénérée par les GSH, donnerait sa contribution aux modifications observées. En plus des interactions possibles, l'exercice qui active la lipoprotéine lipase pourrait provoquer un transfert simultané de vitamine E et A de la circulation vers les tissus, alors que les tissus pourraient fournir la circulation en ces vitamines, pour aider à régénérer ou à économiser les autres composants du système de défense antioxydant (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). La diminution du volume plasmatique est également invoquée dans la littérature pour justifier les fluctuations observées à l'effort (Hellsten *et al.*, 2001).

#### **I.4-Généralités sur le *Moringa oleifera***

##### **I.4.1-Characteristiques botaniques**

###### **I.4.1.1-Position systématique**

La taxonomie de la plante selon Funk *et al.* (2007) est la suivante:

**Domaine:** Eucaryotes

**Règne:** Végétal

**Embranchement :** Phanérogames

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Magnoliopsida ou Dicotyléodones

**Sous classe :** Dilleniidé

**Ordre :** Brassicales

**Famille :** Moringaceae

**Genre :** *Moringa*

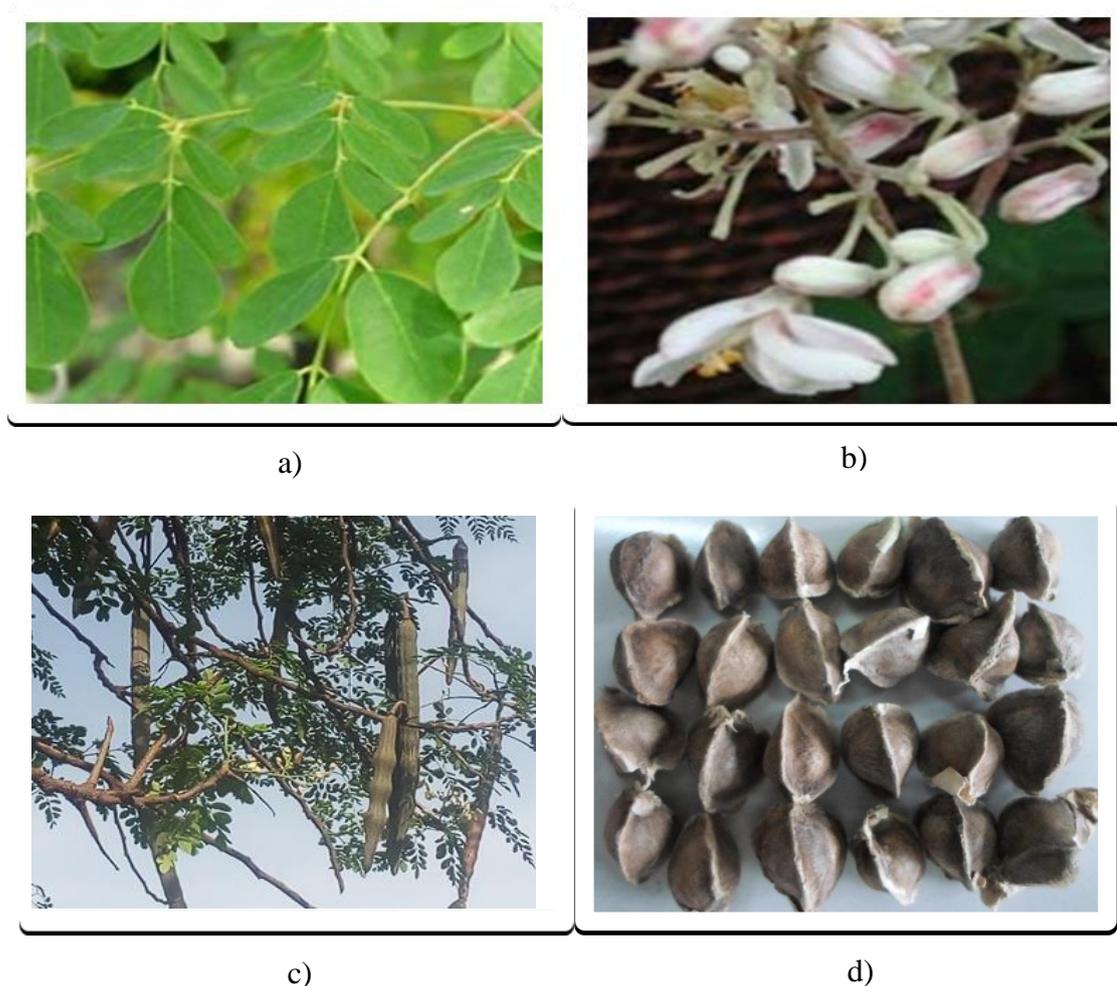
**Espèce :** *Moringa oleifera* Lamarck

###### **I.4.1.2-Répartition géographique et morphologie**

*M. oleifera* est une plante originaire de l'Inde qui est cultivé un peu partout dans le monde où il s'est naturalisé dans beaucoup de milieux (Price, 2007). C'est une plante largement disponible dans les pays tropicaux et subtropicaux avec une grande importance économique (Foidl *et al.*, 2001). Dans son aire d'origine, cette espèce ne dépasse guère l'altitude de 50 mètres. On la trouve le long des ruisseaux ou dans les zones dépressionnaires où règne une certaine humidité (Besse, 1996).

*M. oleifera* est une espèce qui se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un arbre pouvant mesurer jusqu'à 10 mètres de haut. La tige est en générale mal formée, souvent multiple dès la base. L'écorce est lisse de couleur gris foncé violacé. Les arbres se feuillissent en début de

saison sèche et la floraison à lieu peu avant la feuillaison ou en même temps. Les fruits mûrissent quatre à six mois plus tard. Les phases de croissance, ainsi que l'âge de la première floraison et de la première fructification sont mal connues. Ses feuilles sont duveteuses, alternes et bi ou tripennées (Figure 4 (a)) et se développent principalement dans la partie terminale des branches. Ses fleurs, mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont blanches ou couleur crème, avec des points jaunes à la base et dégagent une odeur agréable (Figure 5 (b)). Les fruits du *M. oleifera* pendent des branches et constituent des gousses à trois lobes mesurant 20 à 60 cm de long (Figure 5 (c)). Les gousses sèches s'ouvrent en trois parties en libérant 12 à 35 graines de forme ronde (Figure 5 (d)). Un arbre peut produire 15 000 à 25 000 graines par an (Makkar et Becker, 1997).



**Figure 4** : Photo des feuilles (a), fleurs (b), fruits (c) et graines (d) de *M. oleifera* (prises par Bonoy, 2015).

#### **I.4.1.3-Principaux noms vernaculaires**

*M. oleifera* est qualifié «d'arbre de vie», «d'arbre miracle» ou plante divine du fait de ses nombreuses potentialités nutritives, médicinales et industrielles. Il porte différents noms selon les

régions : mouroungue, moringa ailé, benzolive, pois quénique et néverdié (pays francophones) ; malunggay ou meilleure amie des mères (aux Philippines), Radish Tree, Never die tree, Drumstick tree, (pays anglophones), ben ailé, noix de behen, moringoa ou moringa, etc. (Price, 2007). Les noms vernaculaires de *M. oleifera* dans certains pays africains sont consignés dans le tableau I.

**Tableau I** : Les noms vernaculaires de *M. oleifera*

<b>Pays</b>	<b>Noms vernaculaires</b>
<b>Bénin</b>	(Fon): Yovokpatin, Kpatima (Yoruba) : Ewé ilé
<b>Burkina Faso</b>	(Joula): Arjanyiri. (Moré) : Arzam tigha (“ L’arbre du paradis ”)
<b>Cameroun</b>	(Foufouldé): Guiligandja (Mafa) : Gagawandalahai
<b>Côte d’ivoire</b>	(dioula): Arjanayiiri
<b>Niger</b>	(Hausa): Zogala gandji (Zarma) : Windi-bundu
<b>Sénégal</b>	(Wolof): Neverday, Nébédaj, sap-sap. (Sérère) : Nébédaj
<b>Tchad</b>	(Sara): Kag n’dongue
<b>Togo</b>	(Mina): Yovoviti
<b>Zimbabwe</b>	(Tonga): Mupulanga, Zakalanda

Source : Fuglie (2002)

#### **I.4.2-Valeur nutritionnelle des feuilles de *M. oleifera***

Les feuilles, les fleurs, les racines et les graines du *M. oleifera* sont comestibles. Elles entrent fréquemment dans des régimes alimentaires traditionnels dans plusieurs pays tropicaux et subtropicaux ; de ce fait, *M. oleifera* occupe une place de choix dans les pays tropicaux. Les feuilles de *M. oleifera* sont un légume de bonne qualité nutritionnelle et font partie d’un des meilleurs légumes tropicaux. Elles sont une excellente source de protéines dont les teneurs moyennes varient entre 19-35 % MS (Olugbemi *et al.*, 2010). Les feuilles matures contiennent moins de protéines que les jeunes feuilles du fait de leur teneur élevée en fibres, notamment en cellulose brute variant de 9,13-28,2% MS. Ayant une teneur relativement élevée en énergie métabolisable, 2273 et 2978 kcal/kg MS, les feuilles de *M. oleifera* contiennent une très grande concentration en vitamines (A, B, C, E), en minéraux (fer, calcium, zinc, sélénium, etc.) et sont riches en  $\beta$ -carotène (Fuglie, 2002) (Tableau II). Les minéraux occupent une part modeste de la matière sèche de feuilles de *M. oleifera* avec des teneurs de 0,6 à 11,42% MS. Quant à la matière grasse contenue dans les feuilles de *M. oleifera*, elle varie de 2,3 à 10% MS (Fuglie, 2002 ; Olugbemi *et al.*, 2010).

Les feuilles de *M. oleifera* ont un bon profil en acides aminés. Un phénomène plutôt rare pour une plante, elles possèdent les 10 acides aminés essentiels à l’humain. La teneur en acides aminés des feuilles fraîches est plus faible que celle des feuilles traitées à l’éthanol. Ceci est dû à une quantité plus importante d’azote non protéique dans les feuilles fraîches (4,7% contre 2,7%)

(Zarkadas *et al.*, 1995). Tous les acides aminés essentiels sont présents à une concentration supérieure par rapport à celle préconisée par la FAO, l’OMS et l’ONU pour les enfants de 2 à 5 ans. La teneur en acide aminés de la farine de feuilles de *M. oleifera* est comparable à celle du tourteau de soja, avec une digestibilité de 79,2 % (Ly *et al.*, 2001).

La valeur nutritionnelle de l’extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* a également fait l’objet d’étude. En effet, Madukwe *et al.* (2012) ont montré qu’en comparaison avec le thé (Lipton), la boisson obtenue par extraction aqueuse des feuilles de *M. oleifera* a présenté un bon profil sensoriel. De plus l’analyse nutritionnelle et phytochimique de cet extrait a montré que ce dernier contenait toujours des quantités élevées de micronutriments et de constituants phytochimiques.

### **I.4.3-Métabolites secondaires rencontrés dans les feuilles de *M. oleifera***

Au cours des dernières années, de nombreuses études ont été publiées dans les journaux scientifiques, identifiant diverses métabolites secondaires dans les feuilles de *M. oleifera* (Awodele *et al.*, 2012). Les propriétés médicinales de cette plante pourraient être dues à la présence de plusieurs composés phytochimiques contenus dans diverses parties de la plante. Il s’agit des composés phénoliques, des flavonoïdes et des glucosinolates.

#### **I.4.3.1-Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont particulièrement étudiés pour leurs propriétés antioxydants, antiinflammatoires, antimutagènes et anticancérigène (Verma *et al.*, 2013). Les acides phénoliques représentent un sous-groupe des composés phénoliques et sont retrouvés en quantité suffisante dans les feuilles de *M. oleifera* (Bennett *et al.*, 2010). On y retrouve l’acide caféique, l’acide  $\alpha$ -coumarique et l’acide ferulique. L’acide 5-caféoylquinique et l’acide 3-Caféoylquinique sont également présents dans les feuilles. Il en est de même de l’acide gallique et l’acide vanillique.

#### **I.4.3.2-Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont un sous-groupe des polyphénols contenus dans les plantes et les extraits de plante. Les études épidémiologiques ont montré que les flavonoïdes ont un effet protecteur contre plusieurs infections et maladies dégénératives comme les maladies cardiovasculaires et le cancer (Kumar et Pandey, 2013). Les feuilles de *M. oleifera* contiennent des quantités importantes de flavonoïdes (5,059-12,16 mg/g de MS) (Yang *et al.*, 2008). Le myricétine, la quercétine et le kaempférol sont les flavonoïdes les plus retrouvés dans les feuilles de *M. oleifera*. On retrouve également des composés flavonoïdes glycosidiques dérivés de la quercétine et du kaempférol.

#### **I.4.3.3-Glucosinolates**

Ce sont des métabolites secondaires rencontrés dans les plantes. Des quantités importantes de ces métabolites sont retrouvées dans les feuilles de *M. oleifera* (116-63 mg/g de MS) (Forster *et al.*, 2015). Le 4-O-( $\alpha$ -rhamnopyranosyloxy) bezyl-glucosinolate, également nommée glucomoringine, est prédominant dans tous les tissus de la plante à l'exception des racines. Quatre autres glucosinolates sont retrouvés dans les feuilles. Il s'agit du 4-hydroxybenzylglucosinolate et de 3 isomères du mono-acétyl-rhamnose. Les glucosinolates peuvent être hydrolysés en D-glucose et plusieurs autres métabolites à l'instar des isothiocyanates présent également dans les feuilles de cette plante (Waterman *et al.*, 2015).

#### **I.4.3.4-Tanins**

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et qui précipitent les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Ils ont plusieurs propriétés pharmacologiques : anti-cancer, anti-athérosclérotique, anti-inflammatoire, anti-hépatotoxique, antibactérien et anti-réplication HIV (Kancheva et Kasaikina, 2013). Les tanins sont retrouvés dans les feuilles de *M. oleifera* dans des proportions variables en fonction des extraits. Les quantités varient entre 13,2 et 20,6 g/kg de MS dans l'extrait des feuilles séchées, et entre 5 et 12 g/kg de MS dans l'extrait de feuilles lyophilisées (Teixeira *et al.*, 2014).

#### **I.4.3.5-Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés phytochimiques contenant dans leurs structures de base des atomes d'azote. Ils sont étudiés pour leurs propriétés pharmacologiques. A cet effet, plusieurs études ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes dans les feuilles de *M. oleifera* (Kasolo *et al.*, 2012). Toutefois, la quantité exacte des alcaloïdes dans ces feuilles demeure encore indéterminée.

#### **I.4.3.6-Saponines**

Les saponines sont des composés phytochimiques étudiés pour leurs propriétés anticancérigènes (Xu *et al.*, 2016). Ils sont retrouvés en grande quantité dans les feuilles de *M. oleifera*. La concentration en saponines dans l'extrait des feuilles séchées est approximativement de 50g/kg de MS, tandis qu'elle varie entre 64 et 81 g/kg de MS dans l'extrait lyophilisé (Man *et al.*, 2010).

#### **I.4.4.Vertus Ethno-pharmacologiques de *M. oleifera***

*M. oleifera* est une plante couramment utilisée en médecine traditionnelle dans divers pays en voie de développement et en médecine moderne. Les diverses parties du *M. oleifera* telles que les feuilles, les racines, la graine, l'écorce, le fruit, les fleurs et les gousses non mûres sont utilisées

par les tradithérapeutes dans le traitement de diverses maladies (infections de la peau, infections respiratoires, etc.). Au Sénégal et au Mali, les feuilles de *M. oleifera* sont utilisées pour traiter les enfants rachitiques, bronchitiques, fiévreux, souffrant de céphalées, névralgies et servent à stabiliser le taux de sucre dans les cas de diabète chez les adultes (Kerharo, 1994). Divers auteurs ont prouvé que la poudre de feuilles séchées possède un effet dépressif puissant sur le système nerveux, provoquant ainsi un relâchement des crampes musculaires, une baisse de la température du corps et une augmentation du sommeil chez les souris de laboratoire (Bakre *et al.*, 2013). Les feuilles de *M. oleifera*, ajoutées au fourrage pour l'alimentation animale, pourraient être utilisées comme agent bioceutique pour remplacer les antibiotiques (Yang *et al.*, 2006). Une activité anthelminthique a été découverte au niveau des fleurs et des feuilles de cette espèce (Bhattacharya *et al.*, 1982). Ses fleurs par contre sont utilisées comme stimulant, aphrodisiaque, abortif et cholagogue. Elles servent à traiter des inflammations, des maladies musculaires, de l'hystérie, des tumeurs, l'agrandissement de la rate et réduisent le taux de cholestérol dans le sérum (Mehta *et al.*, 2003). La gomme de *M. oleifera*, mélangée à l'huile de sésame permet de soulager les maux de tête et d'oreilles. Les graines sont utilisées contre la fièvre et les tumeurs de l'estomac. L'huile des graines agit comme fortifiant et purgatif et est appliquée pour soigner la prostate et les troubles de la vessie (Fuglie, 2002). Les feuilles de *M. oleifera* incorporées dans le sol avant de planter ou de semer peuvent prévenir certaines maladies des plantes. Ce potentiel pharmacologique remarquable suggère que l'effet bénéfique de la plante peut être associé à l'action individuelle ou combinée de ses constituants, tels que les phénols, les isothiocyanates aromatiques, les flavonoïdes et les stérols (Richter *et al.*, 2003).

#### **I.4.4.1-Effets antioxydant des feuilles de *M. oleifera***

*M. oleifera* est très riche en antioxydant (Chumark *et al.*, 2008). Les composés antioxydants de *M. oleifera* seraient responsables des propriétés anti-athérosclérotiques, antigénotoxiques, anti-ulcérogènes, hypocholestérolémiques et anti-inflammatoires de la plante. En effet, les feuilles, l'écorce de tige, les fleurs et/ou les graines ont des quantités significatives de molécules antioxydantes comme les  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -tocophérols, le stigmastérol, le campestérol, la quercétine, le kaempférol, la vitamine A et C et les polyphénols (Chumark *et al.*, 2008 ; Kumbhare *et al.*, 2012). En Inde et aux Philippines, les feuilles fraîches sont utilisées pour conserver les aliments, ce qui suggère qu'ils sont une source appropriée d'antioxydants.

#### **I.4.4.2-Effets antiulcérogénic des feuilles de *M. oleifera***

Les travaux de Pal et Sahib (1995) et Debnath *et al.* (2011) sur l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles de *M. oleifera* ont montré que ces derniers possédaient des propriétés antiulcérogéniques. Il a amélioré également le taux de cicatrisation des ulcères gastriques induits par l'acide acétique (Pal et Sahib, 1995). De manière similaire, l'extrait aqueux de feuilles de *M.*

*oleifera* a entraîné une augmentation de la densité des cellules entérochromaffines (CE) avec comme conséquence une élévation du taux de la 5-hydroxytryptamine (5-HT) et de l'épaisseur de la muqueuse stomacale (Debnath *et al.*, 2011). L'effet maximal a été observé à la dose de 300mg/kg sur des lésions induites par l'aspirine. L'effet préventif sur la formation des lésions ulcéreuses de cet extrait a également été démontré après 14 jours de traitement consécutif. En effet, la 5-HT est un neurotransmetteur régulateur clé des muscles lisses des voies cardiovasculaires et gastro-intestinales, se trouvant à une concentration élevée dans les cellules entérochromaffines (Kumar *et al.*, 2004). Ainsi, la cicatrisation des lésions gastriques est probablement due à la libération de la 5-HT à partir de cellules entérochromaffines, ce qui augmente la sécrétion de mucus via la voie cyclooxygénase, tout en induisant la synthèse de prostaglandine (PG), en particulier PGE2 et PGI2 et menant à la cytoprotection.

#### **I.4.4.3-Action sur la protection du foie et des reins**

Les études portant sur l'effet des feuilles de *M. oleifera* sur la protection du foie et des reins sont contradictoires. Oyagbemi *et al.* (2013) et Asiedu-Gyekye *et al.* (2014) ont observé une augmentation des taux sériques d'ALAT, ASAT, alcaline phosphatase, urée et créatinine après une administration de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* chez les souris. Ces auteurs ont conclu que cet extrait serait responsable des dommages au niveau hépatique et rénal. Toutefois, les coupes histologiques réalisées chez ces animaux n'ont pas montré de lésions graves au niveau des sinusoides et de la veine centro-lobulaire. D'autres études ont apporté la preuve d'une activité protectrice de cet extrait au niveau du foie et des reins (Adeyemi et Elebiyo, 2014). En effet, ces auteurs ont observé une réduction des taux sériques d'ALAT, ASAT, alcaline phosphatase, urée et créatinine après une administration de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Ces observations ont été confirmées par les coupes histologiques des animaux traités.

#### **I.4.4.4-Effet antidiabétique des feuilles de *M. oleifera***

Plusieurs plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés antidiabétiques. C'est également le cas de *M. oleifera*. En effet, Divi *et al.* (2012) et Eloga *et al.* (2013) ont montré que les extraits aqueux, éthanolique et hydro-alcoolique des feuilles de *M. oleifera* (100 à 300 mg/kg de PC) a entraîné une baisse significative de la glycémie chez rats souffrant du diabète. Cette baisse serait due, selon ces auteurs, à la présence des polyphénols dans les feuilles de cette plante (quercetin-3-glycoside, rutin et kaempférol glucosides).

#### **I.4.4.5-Effet anti-cholestérolémique des feuilles de *M. oleifera***

Les études Chumark *et al.* (2008) ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* a un effet préventif sur les maladies cardiovasculaires. Cette action s'est matérialisée par une

réduction significative du Cholestérol total et des triglycérides sériques, ainsi qu'une diminution de la formation de plaques d'athérome. En effet, Chumark *et al.* (2008) ont suggérés l'existence d'une relation directe entre les composés phénoliques présents dans les feuilles et l'action hypolipidémiant. Ce qui démontre que l'extrait aqueux inhiberait les modifications oxydatives de la LDL-C plasmatique et supprimerait la propagation de la peroxydation lipidique et les dommages cellulaires induits par les radicaux libres.

#### **I.4.4.6-Action sur la stimulation cardiaque et la circulation sanguine**

Toutes les parties de la plante présentent une activité stimulatrice sur le cœur et la circulation sanguine. Dans une étude portant sur la comparaison de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* avec Aténolol (antagoniste des récepteurs  $\beta_1$ ), les auteurs ont montré que cet extrait a entraîné des modifications significatives des paramètres cardiovasculaires chez les rats (Ara *et al.*, 2008 ; Chumark *et al.*, 2008 ; Nandave *et al.*, 2009). En effet, des baisses significative du cholestérol sérique, des triglycérides sériques, glycémie, du poids du cœur et du poids corporel ont été observées (Ara *et al.*, 2008). Par ailleurs, d'autres études ont confirmé l'effet anti-sclérotique (Chumark *et al.*, 2008) et cardio-protecteur (Nandave *et al.*, 2009) de l'extrait des feuilles de cette plante.

#### **I.4.4.7-Action sur le système nerveux central**

Des récentes découvertes ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *M. oleifera* (250-2000 mg/kg) a entraîné une modification des paramètres comportementaux (locomotion, mémoire, toiletteage et poids des selles) chez les rats soumis au test de l'arène ouverte. De plus, cet extrait a entraîné une réduction du niveau d'anxiété et des crises convulsives et induit par le pentylènetétrazole. Ce qui suggère que l'activité de cet extrait pourrait être due à une amélioration du mécanisme inhibiteur central impliquant la libération de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Bakre *et al.*, 2013). Ces résultats justifient partiellement l'utilisation traditionnelle des feuilles de *M. oleifera* dans le traitement de l'épilepsie.

#### **I.4.4.8-Effets anti-inflammatoire et immunomodulatrice**

Les effets anti-inflammatoires des graines de *M. oleifera* ont fait l'objet de plusieurs études. Cependant, les études anti-inflammatoires des feuilles de cette plante demeurent encore peu connues. Coppin *et al.* (2013) ont observé que les feuilles de cette plante pouvaient inhiber la production du monoxyde d'azote par les macrophages après un traitement aux bactéries lipopolysaccharides (LPS). Kooltheat *et al.* (2014) ont montré que l'extrait à l'éthylacétate des feuilles de *M. oleifera* inhibe la production des cytokines (TNF $\alpha$ , IL6 et IL8) par les macrophages chez des personnes exposées à la fumée de cigarette et au LPS. Chez l'homme, Waterman *et al.* (2015) ont observé une baisse significative de l'expression des gènes de la production des marqueurs

inflammatoires par les macrophages chez ceux ayant consommé cet extrait. Rajanandh *et al.* (2012) ont également évalué l'activité anti-inflammatoire des feuilles de cette plante. Dans cette étude, les rats ont consommé, en plus d'une alimentation hyperlipidique, 100 et 200 mg/kg d'extrait hydro-alcoolique des feuilles de cette plante pendant 28 jours. Les résultats de cette étude ont montré une baisse significative du TNF $\alpha$  et de l'IL1 sérique chez les rats ayant consommé l'extrait. A la suite de cette étude, Das *et al.* (2013) et Waterman *et al.* (2015) ont observé dans une étude similaire, une réduction de l'expression des gènes des marqueurs pro-inflammatoires, de l'expression du iNOS, de la protéine réactive C, du TNF $\alpha$ , de l'IL6 et de l'IL1 $\beta$  au niveau du foie, du sérum et de l'intestin des souris ayant reçu l'extrait.

#### **I.4.4.9-Effet anti-cancer**

Les effets des feuilles de *M. oleifera* sur le cancer ont fait l'objet de plusieurs études in vivo et in vitro. Il ressort de ces études que l'extrait (aqueux, hydro-alcoolique et alcoolique) de ces feuilles pourrait avoir des effets sur plusieurs formes de cancer (Tiloke *et al.*, 2013 ; Berkovich *et al.*, 2013 ; Charoensin, 2014). Les mécanismes d'action impliqués pourraient impliquer une augmentation de la cytotoxicité des cellules cancéreuses chez les rats ayant consommé l'extrait, en comparaison au témoin. De plus, les effets anticancéreux pourraient également être dus à une réduction de l'oxydation de l'ADN associé au cancer et aux maladies dégénératives, à une inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses et à une réduction de la production des radicaux libres chez les animaux ayant consommé l'extrait de cette plante.

#### **I.4.4.10-Etudes toxicologiques**

Les feuilles de *M. oleifera* possèdent de petites quantités de tanin (12 g/kg de matière sèche), d'acide phytique (21g/kg) et une absence de trypsine, d'inhibiteurs d'amylase, de leptines et de glucosinolates, ce qui favorise leur consommation (Makkar et Becker, 1997). Awodele *et al.* (2012) ont rapporté que l'exposition aiguë et sub-chronique à des doses plus élevées d'extraits aqueux de feuilles (400 à 6400 mg/kg) s'est révélée relativement sans effets toxiques chez l'homme et les rongeurs. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Adedapo *et al.* (2009) qui ont démontré que cet extrait était non létal à 2000 mg/kg. Bakre *et al.* (2013) ont obtenu une DL50 de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante égale à 6,4g/kg par voie orale. Toutefois, l'évaluation de la toxicité aiguë de cet extrait par voie intrapéritonéale a montré une DL50 de 1585 mg/kg (Awodele *et al.*, 2012). En effet, des modifications du taux d'urée et d'albumine, probablement due à la présence des substances toxiques comme les isothiocinates et les glycosides, ont été observées au cours de cette étude. Des récentes découvertes ont montré que l'extrait des feuilles de cette plante aurait des effets génotoxiques à des doses plus élevées (3000 mg/kg) (Asare *et al.*, 2012). Ce qui s'est manifesté par une augmentation significative du nombre d'érythrocytes polychromatiques

micronucléés issues de la moelle osseuse des rongeurs ( $20,2 \pm 4,0$  Cellules/1000 cellules) par rapport au témoin (saline à 0,9%).

### **I.5-Synthèse des travaux consultés**

Tout au long de ce chapitre, il a été question à travers une littérature présentant les effets des plantes médicinales sur la performance physique, de montrer la diversité des plantes utilisées dans le milieu du sport (*Panax ginseng*, *Ginkgo biloba*, *Rhodiola rosea*, *Kola*, *Ocimum santum*, *Cordyceps sinensis*, etc.). Ces différents travaux mettent en exergue des plantes ayant des effets antifatigue et antistress en modifiant le métabolisme énergétique de différents substrats énergétiques. Toutefois, ces études fournissent très peu d'informations sur la composition et la toxicité des différents extraits. Ce qui pourrait limiter leur utilisation dans le milieu du sport. De plus, il ressort qu'aucune étude à notre connaissance n'a intégré à la fois les effets de ces extraits sur la fatigue et le stress induits par l'activité physique chronique et aiguë. Les adaptations physiologiques à l'effort physique aigu et chronique étant différentes, les conclusions de ces études semblent partielles.

La littérature sur le *M. oleifera* a montré de nombreuses études scientifiques publiées, décrivant diverses propriétés de cette plante. Les études phytochimiques ont présenté une composition phytochimique et des valeurs nutritionnelles exceptionnelles de feuilles de cette plante, justifiant ainsi son utilisation dans le traitement de la malnutrition chez les enfants et dans le traitement des personnes vivant avec le VIH/SIDA. De plus, les multiples effets pharmacologiques de ces feuilles pourraient également être attribués à sa composition phytochimique. Les variations de la composition phytochimique observées dans ces travaux pourraient être attribuées à plusieurs facteurs dont le lieu et la période de récolte des feuilles, le type d'extrait utilisé (aqueux ou alcoolique) et les techniques de dosage phytochimiques utilisées. Toutefois, les données relatives à l'utilisation de cette plante dans l'amélioration de la performance physique et de la santé des sportifs sont inexistantes. Bien plus, les données relatives à la consommation de grandes quantités de ces feuilles sont insuffisantes. La présente étude intègre ces différents aspects et propose des méthodes actuelles et variées dans l'évaluation des effets antifatigues, antistress et toxicologiques de l'extrait des feuilles de *M. oleifera* chez les rats.



**CHAPITRE II:**  
**MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## **II.1-Matériel**

### **II.1.1-Matériel végétal**

Les feuilles fraîches de *M. oleifera* ont été cueillies au mois de décembre 2014, dans la Région du Nord Cameroun (Garoua). La plante a été identifiée à l'Herbier National du Cameroun par Monsieur Barthelemy DOTCHIENGUE, en comparaison du spécimen n° 49178/HNC conservé à l'Herbier. Les feuilles ont été lavées à l'eau de robinet et séchées à l'ombre pendant deux semaines. Elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un pulvérisateur de type Zaiba®. La poudre obtenue a été utilisée pour préparer l'extrait aqueux.

### **II.1.2-Matériel animal**

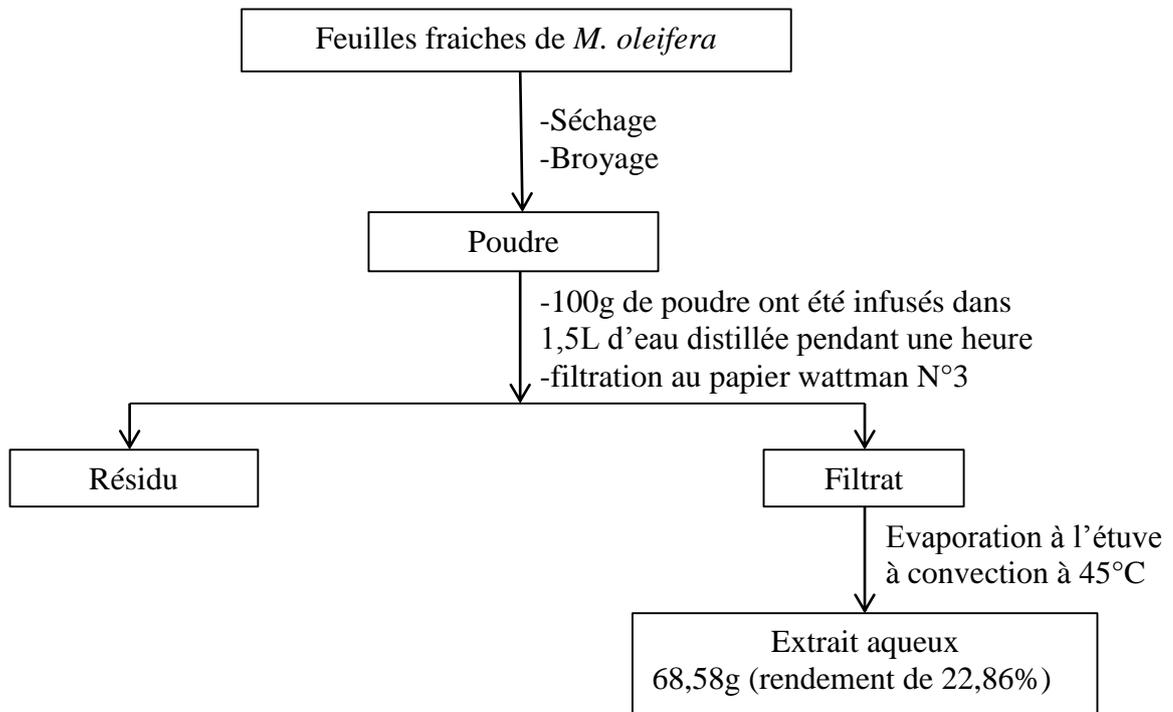
Les sujets d'expérimentation utilisés étaient des rats albinos de souche Wistar sains, mâles et femelles n'ayant fait l'objet d'aucune expérimentation antérieure. Le poids des rats était compris entre 80 et 150 g et ils étaient âgés de 30 à 60 jours. Les animaux (239 rats) provenaient de l'Animalerie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I et ont été acheminés à l'animalerie de l'Institut National de la Jeunesse et des Sports (INJS) pour des expériences où ils ont eu une période d'acclimatation d'une semaine. Ils y étaient logés dans des bassines collectives à raison de cinq rats par bassine au plus, dans les conditions de température ambiante. L'aération était suffisante avec un cycle lumineux naturel (12 h de lumière, 12 h d'obscurité). Les animaux avaient libre accès à l'eau du robinet et à l'aliment.

## **II.2-Méthodes**

### **II.2.1-Préparation de l'extrait et des différentes solutions de l'extrait de *M. oleifera***

L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* a été obtenu suivant la méthode décrite par Thilza *et al.* (2010). 100g de poudre de feuille ont été infusés dans 1,5 L d'eau distillée pendant une heure. Après filtration à l'aide du papier filtre Wattman n°3, le filtrat a été évaporé à 45° C dans un four à convection (Figure 5). Ce processus a été répété plusieurs fois. L'extrait aqueux obtenu a été utilisé pour les différents tests. Différentes solutions ont été préparées par dilution de l'extrait aqueux de *Moringa oleifera* dans de l'eau distillée. Le volume de la solution à administrer aux animaux a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{Volume} = \frac{\text{Dose} \times \text{Poids}}{\text{Concentration}} \quad \text{Avec} \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Volume (ml)} = \text{Volume de la solution à administrer} \\ \text{Poids (kg)} = \text{Poids de l'animal} \\ \text{Dose (mg/kg)} = \text{Dose de l'extrait} \\ \text{Concentration (mg/ml)} = \text{Concentration de la solution à administrer} \end{array} \right.$$



**Figure 5** : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*

### II.2.2-Formulation des rations expérimentales des rats

La formulation de l'aliment standard des rats a été basée sur les recommandations de l'American Institute of Nutrition (1977) avec quelques modifications où selon une adaptation locale du Laboratoire National Vétérinaire (LANAVET) du Cameroun le poisson séché a remplacé la caséine tandis que les tourteaux de coton ont remplacé la méthionine et la choline. Les granulés qui avaient servi d'aliment aux animaux avaient été fabriqués au Laboratoire de Biologie de l'Activité Physique et de l'Education Sportive de l'INJS, selon la composition standard suivante pour 50 kg de granulés :

- 35 kg de, mais ;
- 9,5 kg de tourteaux de coton ;
- 4,5 kg de poissons séchés ;
- 600 g de la poudre d'os ;
- 100 g de sel de cuisine (Na Cl) ;
- 0,33 l d'huile de coton et de 30 g d'olivitasol (complexe polyvitaminique).

Les différentes composantes de ces granulés ont été achetées dans une boutique à Yaoundé spécialisée dans la vente des produits d'élevage du petit et du gros bétail.

## **II.2.3-Phytochimie qualitative et valeur nutritionnelle de l'extrait de *M. oleifera***

### **II.2.3.1-Phytochimie qualitative de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera***

A l'aide des méthodes décrites par Bruneton (1993), les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera* afin de détecter la présence ou l'absence des classes de composés chimiques en leur sein. Basé sur l'intensité de la coloration ou du précipité formé pendant le test, la proportion des métabolites secondaires a été caractérisée par une forte présence (+++), une présence (++) , une faible présence (+), et une absence (-) lorsque le résultat du test était négatif.

#### **II.2.3.1.1-Test des phénols**

Deux (2) mg d'extrait ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillée et 3 gouttes de chlorure ferrique 5% ont été ajoutés. L'observation de la couleur bleue ou violette marquait la présence des phénols.

#### **II.2.3.1.2-Test des flavonoïdes**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'une solution de méthanol (50%), 5 gouttes d'acide chlorhydrique concentré et une petite quantité de copeau de magnésium a été ajoutée. La présence des flavonoïdes se signalait par une coloration rouge brique précédée d'une effervescence.

#### **II.2.3.1.3-Test des alcaloïdes (test de Dragendorff)**

✓ *Préparation du réactif de Dragendorff* : 0,85 g de nitrate de Bismuth ont été dissouts dans 40 ml d'acide acétique. La solution obtenue a été mélangée à une solution constituée de 8 g d'iodure de potassium dans 20 ml d'eau distillé.

✓ *Mode opératoire*: 2 mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillée. Une goutte de ce mélange a été déposée sur une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM). Elle a été pulvérisée avec le réactif de Dragendorff. La présence des alcaloïdes ou d'une cétone  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturée se manifestait par virage de la couleur du jaune à l'orange.

#### **II.2.3.1.4-Test des tanins**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillée et 2 ml de chlorure ferrique 5% a été ajouté. La formation de la couleur noire verdâtre marquerait la présence des tanins.

#### **II.2.3.1.5-Test des triterpènes et des stérols (test de Libermann-Burchard)**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillée, 2 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique (5 %) et 3 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés.

La coloration rouge violacée marquait la présence des triterpènes, tandis que la présence des stérols était signalée par une coloration bleue.

#### **II.2.3.1.6-Test des saponines**

Une quantité de 0,5 g d'extrait de *M. oleifera* a été mélangé à 5 ml d'eau distillée, le mélange a été ensuite chauffé dans un bain marie pendant 3 minutes et puis vigoureusement agité pendant 10 sec au vortex. La présence d'une mousse d'épaisseur 1 cm environ et qui persiste plus d'une minute après agitation matérialiserait la présence des saponines.

#### **II.2.3.1.7-Test des quinones (Test de Bornträger)**

Une quantité de 0,5 g d'extrait de *Moringa oleifera* a été dissout dans 10 ml de mélange éther-chloroforme, puis filtré. 1 ml de Na-OH à 10 % a ajouté à 1 ml de ce filtrat. Le mélange a été homogénéisé. La coloration rose, rouge ou violette indiquera la présence des quinones.

#### **II.2.3.1.8-Test des anthocyanines**

Une quantité de 0,5 g d'extrait de *M. oleifera* a été mélangé à 15 ml d'HCl à 1% et l'ensemble a été porté à ébullition. La variation de coloration du rouge orangé au bleu orangé a mis en exergue la présence des anthocyanines.

#### **II.2.3.1.9-Test de coumarines**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillée et 1 ml d'hydroxyde de sodium 10 % a été ajouté. La formation d'une couleur jaune indiquait la présence de coumarines.

#### **II.2.3.1.10-Test de glycoside**

Une quantité de 0,5 g d'extrait de *M. oleifera* a été dissout dans 5 ml de HCl, puis a été neutralisé par 5 ml d'une solution Na-OH à 5%; au mélange a été ajoutée goutte à goutte une solution de Fehling. La présence des glucosides se manifestait par l'apparition d'un précipité rouge brique.

#### **II.2.3.1.11-Test de la résine**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissouts dans 6 ml d'eau distillées, 6 ml de solution d'acétate cuivre a été ajouté, le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos pour séparation. L'observation d'une couleur verte matérialisait la présence de résine.

#### **II.2.3.1.12-Test des lipides**

Trois (3) gouttes d'extrait de *M. oleifera* solubilisé ont été déposées sur un papier filtre. Le papier est ensuite séché et la présence des tâches translucides sur le papier permettait de conclure la présence des lipides.

#### **II.2.3.1.13-Test des sucres (test de Molish)**

Un (1) mg d'extrait de *M. oleifera* a été dissout dans 1 ml de réactif de Molisch (mélange éthanol- $\alpha$  naphthol 1% (v/v)) et 5 gouttes d'acide sulfurique ont été ensuite ajoutées. La confirmation de la présence des sucres a été faite par l'observation de la couleur rouge violacée.

#### **II.2.3.1.14-Test des acides**

Une quantité de 0,5 g d'extrait de *M. oleifera* a été dissout avec 10 ml de solution de bicarbonate de sodium. La présence d'une effervescence indiquerait la présence des acides.

#### **II.2.3.1.15-Test des protéines (Test de Biuret)**

Deux (2) mg d'extrait de *M. oleifera* ont été dissout dans 6 ml d'eau distillée. 2 ml solution d'hydroxyde de sodium de 10% et deux gouttes de solution de sulfate de cuivre 0,1% ont été ajoutés. L'observation de la couleur violette/rose marquerait la présence des protéines.

### **II.2.3.2-Caractéristiques organoleptiques de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera***

#### **II.2.3.2.1-Détermination de la Matière sèche et de la teneur en eau**

La matière sèche ou résidu sec total est l'ensemble des substances qui ne se volatilisent pas dans les conditions de dessiccation. La détermination de la matière sèche a été effectuée par la méthode d'AFNOR (1982). Une masse  $M_0$  de l'extrait aqueux est séchée à 105 °C jusqu'à obtenir un poids constant dans une étuve pendant 24 heures.

Le résidu sec total ou matière sèche (MS) est exprimé en pourcentage de matière sèche selon la formule :

$$\%MS = [(M_2 - M_0) / (M_1 - M_0)] \times 100$$

Avec  $M_0$  = la masse en gramme de la capsule vide;  $M_1$  = masse en gramme de la capsule contenant la prise d'essai avant étuvage;  $M_2$  = masse en gramme de la capsule contenant la prise d'essai. La teneur en eau a été obtenue par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{(M_2 - M_0) - (M_1 - M_0)}{100}$$

### II.2.3.2.2-Détermination de la teneur en cendre (AOAC, 1990)

Le principe de la détermination de la teneur en cendres est que l'incinération complète de la matière organique d'un échantillon permet d'obtenir des cendres blanches ou exemptes de carbone, constituées essentiellement de minéraux. 0,5 g d'extrait aqueux (Me) a été introduit dans un creuset en porcelaine taré de masse  $M_0$  ; préalablement conditionné au four à 550°C pendant 2 heures, refroidi et pesé. L'ensemble a été placé dans le four à 550 °C pendant une nuit. L'on a retiré le creuset en porcelaine du four à l'aide d'une pince et laissé refroidir dans un dessiccateur, puis l'on a pesé par la suite. La masse (Mc) du creuset a été notée.

La teneur en cendres était donnée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = \frac{Mc - M_0}{Me \times TMS} \times 100$$

Avec TMS = teneur en matière sèche.

### II.2.3.3-Valeur nutritionnelle pour 100 g d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*

#### II.2.3.3.1-Evaluation de la teneur en sucre totaux

En milieu acide et à chaud, l'anthrone réagit avec les oses pour produire un complexe verdâtre qui absorbe à 623 nm. 1g de l'extrait aqueux a été mélangé à 5 ml d'anthrone 2%. La solution d'anthrone a été préparée au moins 4 heures à l'avance et à l'abri de la lumière. L'ensemble était agité puis placé pendant 16 minutes dans un bain marie bouillant. La solution était refroidie dans un bain glacé puis ramenée à la température ambiante et la densité optique était lue à 623 nm contre le blanc constitué d'éthanol 80 %. Les solutions de glucose de 10, 20, 30, 40 et 50 µg/ml préparées à partir d'une solution mère de glucose à 1000 µg/ml et d'éthanol 80% étaient utilisées comme étalon. La teneur en sucres totaux a été donnée par la relation suivante :

$$\text{Sucres totaux (\%)} = \frac{50 \times Fd \times Q}{Me \times 10 \times TMS}$$

Q = représentait la concentration de glucose équivalente à la densité optique obtenue ;

Fd = est le facteur de dilution de l'extrait alcoolique utilisé ;

Me= quantité d'extrait de *M. oleifera* prélevée ;

TMS= teneur en matière sèche.

#### II.2.3.3.2-Evaluation de la teneur en lipides totaux

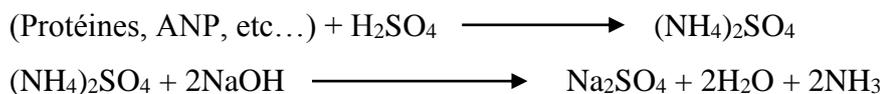
L'extraction des lipides totaux a été effectuée par la méthode de Folch *et al.* (1957). 50 mg d'extrait aqueux ont été pesés dans un ballon et 300 ml du solvant d'extraction (200 ml de

chloroforme et 100 ml de méthanol) ont été ajoutés. Le tout a été mélangé à l'aide d'un mixeur pendant 20 min. Le mélange a été filtré sous aspiration à travers un verre fritté n°3 en présence d'azote pour éviter toute oxydation éventuelle. Par la suite, 200 ml environ de solvant d'extraction (Chloroforme/méthanol: 2/1, V/V) ont été ensuite ajoutés sur le résidu pour maximiser l'extraction des lipides. Le filtrat a été transféré dans une ampoule à décanter avec ajout de 0,2 ml de solution de Na-Cl à 0,7%. Après séparation des deux phases, la phase inférieure a été récupérée dans un ballon taré ( $M_0$ ), puis le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous azote à 50°C. Après évaporation, le ballon a été pesé à nouveau ( $M_1$ ) et la différence de poids a constitué la masse des lipides ( $M$ ). Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage (%) de la matière lipidique.

$$M (\%) = \frac{(M_1 - M_0) \times 100}{M_0}$$

### II.2.3.3-Evaluation de la teneur en protéines totales

La détermination de la matière azotée a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1995). Cette méthode est basée sur la transformation de l'azote organique en azote minéral sous une forme ammoniacale  $(NH_4)_2SO_4$  par l'action oxydative de l'acide sulfurique bouillant sur la matière organique en présence d'un catalyseur. Environ 0,1 g de l'extrait aqueux a été introduit dans des matras (tubes de minéralisation) puis 2 ml de  $H_2SO_4$ , 1 ml de peroxyde d'hydrogène et une pincée de catalyseur ( $Na_2SO_4 + CaSO_4 + Se$ ) ont été ajoutés. Ensuite, le tout a été minéralisé sur une rampe à 400°C pendant deux heures. Le sulfate d'ammonium  $((NH_4)_2SO_4)$  est le produit essentiel de la minéralisation, obtenu par l'ajout d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ). Ensuite une forte base a été ajoutée ( $Na-OH$ ) en volume égal au volume de  $H_2SO_4$  à l'aide d'un système de type microanalyse (Vapodest 50, Gerhardt, Les Essarts le Roi, France) selon la réaction suivante :



Avec ANP = azote non protéique.

L'hydroxyde d'ammonium  $(NH_4OH)$  formé au cours de la distillation est entraîné par la vapeur d'eau et récupéré dans une solution d'acide borique. La formation du borate d'ammonium  $((NH_4)_3BO_3)$  fait augmenter le pH de la solution. La solution a été ensuite titrée par l'acide sulfurique. Le volume d'acide sulfurique ajouté correspond à l'ammonium contenu dans l'échantillon de départ. La teneur en azote total (Nt) était alors calculée pour 100 g d'échantillon selon la formule suivante :

$$Nt = \frac{(V_1 - V_0) \times MN_2 \times N(H_2SO_4) \times 100}{(1000 \times Me)}$$

Nt: azote total pour 100 g d'échantillon.

V<sub>1</sub>: Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en ml nécessaire à la titration de l'échantillon,

V<sub>0</sub>: Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en ml nécessaire à la titration du blanc,

MN<sub>2</sub>: Masse moléculaire de l'azote soit 14 g/mole,

N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): Normalité de l'acide sulfurique,

M<sub>e</sub>: Masse de l'échantillon de départ en g.

Le pourcentage de protéines totales a été déterminé de la manière suivante :

$$\mathbf{Pt = (Nt - ANP) \times 6,25}$$

#### **II.2.3.3.4-Détermination de la valeur énergétique**

La valeur énergétique d'un aliment peut être définie comme étant l'apport calorique (en termes d'énergie) qu'apportent les différents macronutriments de cet aliment à l'organisme lorsqu'il est consommé. Sachant qu'un gramme de glucides ou de protides équivaut à 4 kcal et qu'un gramme de lipides équivaut à 9 kcal, la valeur énergétique Q dans 1 kg d'extrait a été calculée comme suit:

$$\mathbf{Q = 9 \times \text{quantité lipides (g)} + 4 \times \text{quantité glucides (g)} + 4 \times \text{quantité de protéines (g)}}$$

#### **II.2.3.3.5-Détermination de la teneur en minéraux**

L'extrait aqueux (2,5 g) a été pesé dans un creuset puis introduits dans un four à moufle pendant 6 heures. La cendre obtenue était dissoute dans 4 ml d'acide hydrochlorique concentré et la solution obtenue a été filtrée dans un flacon de 10 ml. Le volume a été complété avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge avant de servir à l'analyse des minéraux.

Le fer a été déterminé par spectrophotomètre d'émission atomique couplé, d'après la méthode de Skunjins (1998). Les autres éléments tels que le sodium (Na), le potassium (K), le magnésium (Mg), le calcium (Ca), le zinc (Zn) et le cuivre (Cu) ont été déterminés par spectroscopie d'absorption atomique (Biotech Pharmacia Ultraspec 4000) suivant la méthode AACC (1995). En effet, lorsque les atomes d'un élément sont excités par une flamme, ils émettent des radiations de longueurs d'ondes déterminées dont l'intensité peut être mesurée par spectrométrie. La concentration initiale du cation à doser a été déduite de la valeur absolue de l'intensité de l'émission spectrale mesurée en comparant les spectres d'absorption des atomes de ces ions dans une série de solution standard. Du Lanthanum avait été ajoutée afin de prévenir l'intervention des composés réfractaires.

## **II.2.4-Effets antifatique de l'extrait aqueux de *M. oleifera***

Pour évaluer l'effet antifatique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*, deux protocoles expérimentaux ont été mis sur pieds. Le premier protocole a permis d'évaluer l'effet antifatique de cet extrait chez les rats soumis à une activité physique aigüe, tandis que le second a permis d'évaluer l'effet antifatique de cet extrait chez les rats soumis à une activité physique chronique (entraînement).

### **II.2.4.1-Protocole expérimental 1 : fatigue induite par une activité physique aigüe**

#### **II.2.4.1.1-Répartition et traitement des rats**

Quatre-vingt rats males de souche Wistar (130 à 132 g) ont été utilisés pour déterminer l'effet antifatique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* chez les rats soumis à l'activité physique isolée. Après une période d'acclimatation d'une semaine, les rats ont été répartis en cinq lots de seize rats chacun. Les traitements ont été les suivants pour les différents lots pendant 28 jours :

- lot 1 : reçoit par gavage de l'eau distillée et a servi de témoin normal sans activité physique;
- lot 2 : reçoit par gavage de l'eau distillée et a servi de témoin soumis à une activité physique (Témoin AP) ;
- lot 3, 4 et 5 : reçoivent par gavage l'extrait aqueux de *M. oleifera* respectivement à 100, 200 et 400 mg/kg de pc.

La quantité d'aliments et d'eau consommées par chaque groupe de rats, ainsi que l'évolution pondérale ont été mesurées tous les deux jours pendant 28 jours entre 11 et 12 heures et après administration des substances.

#### **II.2.4.1.2-Evaluation de l'endurance physique des rats (Test de la Nage Forcée)**

Le protocole de la nage forcée réalisé le 28<sup>e</sup> jour a été celui décrit dans des études précédentes avec quelques modifications (Jin and Wei, 2011 ; Tan *et al.*, 2012 ; Qi *et al.*, 2014). Trente minutes après la dernière administration des différentes substances, huit rats (08) ont été pris dans les groupes 2 à 5 pour le test de la nage forcée. Ce test a été réalisé dans un aquarium (90cm × 45cm × 45cm) rempli d'eau jusqu'à une profondeur de 35 cm (Figure 6). L'eau a été maintenue à la température ambiante  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , et a été renouvelé à chaque passage. Les rats ont été pesés, puis ont nagé avec une charge de 10 % de leur poids corporel attachée à leur queue. Ils ont été considérés comme fatigués lorsqu'il plongeait leur museau dans l'eau pendant plus de 10 secondes. Le temps de nage de chaque rat a été noté en seconde. Immédiatement après le test, les rats ont été nettoyés avec du papier hygiénique et remis dans leurs cages.



**Figure 6** : Photo du rat effectuant le Test de la Nage Forcée (prise par Bonoy, 2015)

#### **II.2.4.1.3-Evaluation des paramètres biochimiques et hématologiques : Test de la nage de 90 minutes**

Le protocole du test de nage de quatre-vingt-dix minutes réalisé le 28<sup>e</sup> jour a été celui décrit dans des études précédentes avec quelques modifications (Jin and Wei, 2011). Trente minutes après la dernière administration des différentes substances, huit rats (08) restant dans les lots 2 à 5 ont réalisé le test de nage de 90 minutes. Ce test a été réalisé dans les mêmes conditions que celui de la nage forcée, à la seule différence que les rats ont nagé sans charge pendant 90 minutes (Figure 7). Une heure de temps après ce test, les rats (lots 1 à 5) ont été sacrifiés. Du sang artério-veineux a été recueilli dans des tubes secs puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min pour l'obtention du sérum qui a été utilisé pour l'évaluation des paramètres biochimiques sériques. Une autre partie du sang artério-veineux a été collecté dans des tubes stériles contenant de l'éthylène diamine tétra-acétique acide (EDTA) et a servi à déterminer la Numération Formule Sanguine.



**Figure 7** : Photo du rat effectuant le test de la nage de 90 minutes (prise par Bonoy, 2015)

#### **II.2.4.1.4-Prélèvement des organes et préparation des homogénats**

Les organes (cœur, cerveau, foie, reins, poumons, rate, testicules et masse grasse viscérale) ont été prélevés et pesés. Le poids relatif de chaque organe a été obtenu à partir de la formule suivante :

$$\text{Poids relatif (en \% du poids corporel)} = \frac{\text{Poids de l'organe(g)}}{\text{Poids de l'animal(g)}} \times 100$$

Le foie et le muscle gastrocnémien ont été lavés dans du Na-Cl à 0,9%, essorés sur du papier hygiénique puis pesés. Après la pesée du foie et du muscle gastrocnémien, ces organes ont été emballés avec du papier aluminium puis conservés à -20°C en vue de la préparation des homogénats pour le dosage du glycogène hépatique et musculaire et des paramètres du stress oxydant (MDA, SOD, CAT et GSH).

#### **II.2.4.2-Protocole expérimental 2 : fatigue induite par une activité physique chronique**

##### **II.2.4.2.1-Répartition et traitement des rats**

Après une période d'acclimatation d'une semaine durant laquelle les rats males ont été accommodés à une nage de 15 minutes trois fois la semaine, quarante rats (154g en moyenne) de souche Wistar avec des temps de nage similaires à la troisième séance ont été retenus et répartis en 5 lots de huit rats chacun. Les traitements ont été les suivants pendant 14 jours :

- lot 1 : témoin normal sans entraînement, reçoit de l'eau distillée ;
- lot 2 : témoin entraîné, reçoit de l'eau distillée + entraînement ;
- lots 3, 4 et 5 : reçoivent par gavage l'extrait aqueux de *M. oleifera* respectivement à 100, 200 et 400 mg/kg de pc + entraînement ;

La quantité d'aliments et d'eau consommées par chaque groupe de rats, ainsi que l'évolution pondérale ont été mesurées tous les deux jours pendant 14 jours à la même heure et après administration des substances. Les substances ont été administrées tous les jours et trente minutes avant les séances d'entraînement à la nage.

##### **II.2.4.2.2-Protocole d'entraînement des rats**

Le protocole d'entraînement des rats a été celui décrit par Qi *et al.* (2014). L'entraînement à la nage a été effectué tous les 2 jours entre 11 h et 17 h pendant 14 jours, dans une piscine en plastique acrylique (90cm × 45cm × 45cm) rempli d'eau jusqu'à une profondeur de 35 cm. L'eau a été maintenue à la température ambiante 25 ± 1°C, et a été renouvelé à chaque passage. Les rats (lots 2 à 5) ont été pesés avant chaque séance d'entraînement à la nage, puis ont nagé avec une charge de 10 % de leur poids corporel attachée à leur queue. Les rats ont été considérés comme

fatigués lorsqu'il plongeait leur museau dans l'eau pendant plus de 10 secondes. Le temps moyen de nage de chaque lot durant les séances d'entraînement à la nage a été noté en seconde.

#### **II.2.4.2.3-Prélèvement des organes et préparation des homogénats**

Une heure de temps après la dernière séance d'entraînement à la nage, les rats (lots 1 à 5) ont été sacrifiés. Une partie du sang artériovoineux a été recueilli dans des tubes secs puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min pour l'obtention du sérum qui a été utilisé pour l'évaluation des paramètres biochimiques sériques. Une autre partie du sang artériovoineux a été collecté dans des tubes stériles contenant de l'éthylène diamine tétra-acétique acide (EDTA) et a servi à déterminer la Numération formule sanguine.

Les organes (cœur, cerveau, foie, reins, poumons, rate, testicules et masse grasse viscérale) ont été prélevés et pesés. Le poids relatif de chaque organe a été obtenu à partir de la formule suivante :

$$\text{Poids relatif (en \% du poids corporel)} = \frac{\text{Poids de l'organe(g)}}{\text{Poids de l'animal(g)}} \times 100$$

Le foie et le muscle gastrocnémien ont été lavés dans du Na-Cl à 0,9%, essorés sur du papier hygiénique puis pesés. Après la pesée d'un lobe du foie et du muscle gastrocnémien, ces organes ont été emballés avec du papier aluminium puis conservés à -20°C en vue de la préparation des homogénats pour le dosage du glycogène hépatique et musculaire et des paramètres du stress oxydant (MDA, SOD, CAT et GSH).

#### **II.2.4.2.4-Dosage des paramètres biochimiques sériques, hématologiques et tissulaires**

##### **II.2.4.2.1-Numération Formule Sanguine**

Les échantillons de sang collectés dans les tubes à EDTA ont servi pour la Numération Formule Sanguine (NFS). Les taux d'hémoglobine, l'hématocrite, des plaquettes sanguines, la numération des érythrocytes, des réticulocytes et la formule leucocytaire ont été déterminés grâce à un hématimètre (Hospitex Diagnostic Hema Screen 18) qui est un compteur des cellules sanguines. Cet automate fonctionne selon le principe dit de variation de l'impédance ou principe de Coulter. Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. De plus un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire.

#### II.2.4.2.2-Dosage de l'acide lactique

Le taux d'acide lactique pour chaque rat a été évalué à l'aide des bandelettes et d'un lactomètre (Lactate Scout+). Chaque bandelette est munie d'une zone réactive contenant des réactifs et utilise un Biosensor enzymatique ampérométrique comme élément de mesure. L'application du sérum (0,5µl) sur cette zone réactive provoque une réaction chimique. Le résultat correspondant a été obtenu en valeur numérique.

#### II.2.4.2.3-Dosage de triglycérides sériques

La méthode est celle utilisée par McGowan *et al.* (1983). Sous l'action de lipases, les triglycérides sont hydrolysés en glycérol. Le glycérol sera ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène sous l'action successive de la glycérol-kinase (GK) et de la glycéro-3-phosphate oxydase (GPO). La quinonéimine, qui sert d'indicateur se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, du 4-aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase (POD). Les réactifs provenant du Kit de dosage des triglycérides « Enzymatic Trinder Method » étaient constitués d'un mélange de solution: tampon PIPES pH 7,5 (50 mmol/l), 4-chlorophénol (5 mmol/l), 4-aminoantipyrine (0,25 mmol/l), ions magnésium (4,5 mmol/l), ATP (2 mmol/l), Lipases ( $\geq 1,3$  U/ml), peroxydase ( $\geq 0,5$  U/ml), glycérolkinase ( $\geq 0,4$  U/ml) et de glycérol-3-phosphate oxydase ( $\geq 1,5$  U/ml). La solution standard (étalon) était constituée de triglycérides (200 mg/dl).

#### -Mode opératoire

Les différents réactifs ont été additionnés dans les proportions indiquées dans le tableau II. Le contenu des tubes était homogénéisé et incubé 5 min à 37°C. L'absorbance de l'échantillon ( $\Delta A_{\text{Ech.}}$ ) et du standard ( $\Delta A_{\text{STD.}}$ ) a été lue à 500 nm contre le blanc dans les 60 min suivant la fin de l'incubation.

**Tableau II** : Dosage des triglycérides.

	Blanc	Échantillon	Standard
Echantillon (µl)	-	10	-
Solution de travail (µl)	1000	1000	<b>1000</b>
Standard (µl)	-	-	<b>10</b>

#### -Calcul de la concentration des triglycérides

La concentration des triglycérides était calculée de la façon suivante :

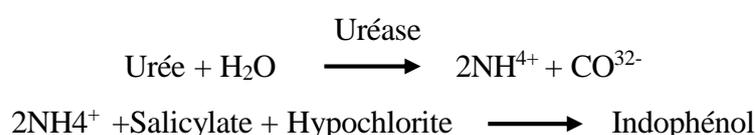
$$C = 200 \times \frac{\Delta A_{\text{Ech.}}}{\Delta A_{\text{STD}}} [\text{mg/dL}]$$

#### II.2.4.2.4-Dosage du glucose sérique

Nous avons évalué la glycémie de chaque rat à l'aide des bandelettes et d'un glucomètre (lecteur Accu-CHEK® Active). Chaque bandelette est munie d'une zone réactive contenant des réactifs. L'application de sang sur cette zone réactive provoque une réaction chimique se traduisant par un changement de couleur de la zone réactive. Le lecteur Accu-CHEK® Active détecte ce changement de couleur et convertit, par le biais des informations spécifiques à chaque lot figurant sur la puce de calibration, le résultat correspondant à la coloration obtenue en valeur numérique.

#### II.2.4.2.5-Dosage de l'Urée sérique

L'urée sérique a été dosée par la méthode colorimétrique et enzymatique (Kit Bioassay System, CA). La réaction consiste en une réaction enzymatique couplée à une réaction colorée.



L'uréase hydrolyse l'urée en produisant de l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Les ions ammonium réagissent en milieu alcalin avec du salicylate et de l'hypochlorite pour former un indophénol coloré en bleu. La détermination de la concentration de l'urée sérique dans les différents tubes a été réalisée comme indiqué dans le kit de dosage. Les réactifs 1 (tampon tris (pH 8,0) à 80 mmol/l et 2-oxoglutarate à 15 mmol/l) et 2 (GLDH à 6000 U/l, NADH à 0,32 mmol/l et l'uréase à 100 U/ml) sont mélangés à volume égal et représentent le réactif de travail. Le dosage de l'urée dans les différents tubes a été réalisé comme indiqué dans le tableau III.

**Tableau III** : Protocole de dosage de l'urée sérique

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Test</b>
<b>Sérum</b>	-	-	10 µl
<b>Urée standard (50 mg/dl)</b>	-	10 µl	-
<b>Solution de travail</b>	2000 µl	2000 µl	2000 µl
<b>Eau distillée</b>	10 µl	-	-

Les préparations ont été homogénéisées et laissées à incubation à 37° C pendant 15 minutes. Les absorbances des standards et échantillons ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm contre le blanc.

La concentration d'urée a été obtenue grâce à la formule suivante :

$$[\text{Urée}]_e = \frac{\Delta \text{ Abs échantillon}}{\Delta \text{ Abs standard}} \times 50$$

Avec :

- [Urée] : Concentration d'urée dans l'échantillon en mg/dl ;
- Abs standard : Absorbance du standard ;
- Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

#### II.2.4.2.6-Dosage du glycogène tissulaire

Le dosage du glycogène hépatique et musculaire a été réalisé par la méthode décrite par Chun and Yin (1998). En milieu acide et à chaud, l'antrone réagit avec les oses pour produire un complexe bleu-vert qui absorbe à 620 nm. En effet, après hydrolyse d'un gramme (1g) d'échantillon du foie/muscle gastrocnémien dans 3 ml de KOH 30 % à 100°C pendant 30 min, 1,5 ml d'éthanol 80% ont été ajouté au digestat potassique. Après centrifugation à 4000 tr/min pendant 15 minutes, le surnageant a été recueilli. Un (1) ml d'eau distillée et 2 ml d'antrone à 2% (0,2 g d'antrone mélangé à de l'acide sulfurique concentré (95-97%) pour un volume de 100 ml de solution) ont été ajoutés dans 1ml de digestat potassique et le tout a été mis au bain-marie pendant 20 min. La solution est refroidie dans un bain glacé puis ramenée à la température ambiante et la lecture à 620 nm contre le blanc (constitué d'1 ml d'eau distillée et 2 ml d'antrone à 2%) a été effectuée au spectrophotomètre (V-530, Jasco Co., Japan). La solution d'antrone devra être préparée au moins 4 heures d'avance, et conservée à l'abri de la lumière. Une gamme étalon (1 ml de solution de glucose standard et 2 ml d'antrone à 2%) est réalisée en double avec les points suivants : 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml de glucose. Les quantités obtenues en glucose sont ensuite transformées en quantités équivalentes de glycogène en mg/g de muscle gastrocnémien ou de foie à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 8).

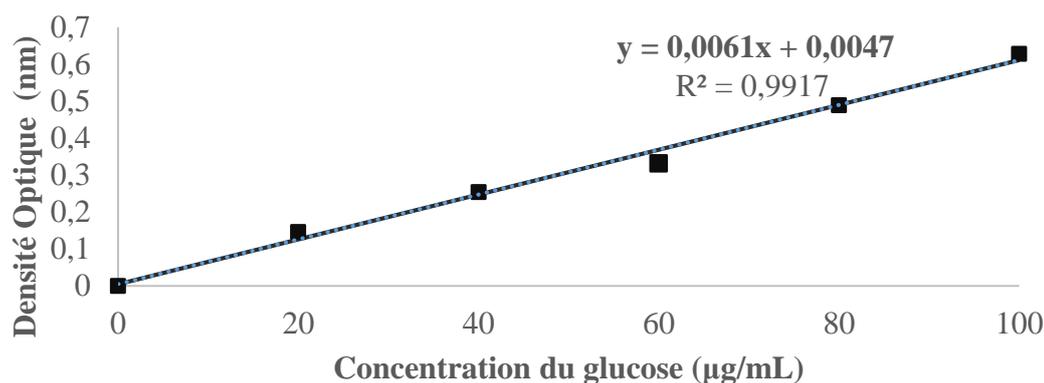


Figure 8 : Courbe d'étalonnage pour dosage de glycogène

#### II.2.4.2.7-Dosage des paramètres du stress oxydant

Un (1) g du muscle gastrocnémien et du foie ont été homogénéisés dans 4 ml de Tris/HCl. L'homogénat obtenu a été centrifugé à 4000 trs/min pendant 15 minutes et le surnageant a été récupéré et conservé à 4°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

#### II.2.4.2.7.1-Dosage du glutathion

Le dosage du glutathion réduit (GSH) a été effectué suivant le protocole décrit par Ellman en 1959. L'acide 2,2-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements SH du glutathion pour former un complexe jaune qui absorbe à 412 nm. Le tampon Tris/HCl (10µL) et les échantillons (10µL) ont été introduits dans les tubes à essai. En suite, 1500 µL de réactif d'Ellman ont été ajoutés dans chaque tube. Les tubes ont été incubés pendant 1 heure à température ambiante et la densité optique a été lue à 412 nm contre le blanc. La quantité de glutathion cellulaire (µM/mg de protéines) a été calculée à partir de la loi de Beer-Lambert.

$$DO = \varepsilon . C . l$$

Avec :

**DO** = densité optique ;  $\varepsilon$  = coefficient d'extinction molaire (13600/M x cm);

**C** = concentration du glutathion dans le tissu (mol/l ou M) ;

**l** = longueur de la cuve qui représente le trajet optique (1 cm).

#### II.2.4.2.7.2-Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Au cours des phases finales, les peroxydes se décomposent en composés volatils responsables de l'odeur de rance. Il y a notamment formation d'aldéhydes dont l'aldéhyde malonique qui réagit avec l'acide thiobarbiturique pour former un complexe rose qui absorbe à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949). Dans une série de tubes à essais, est introduit respectivement 1 ml de l'homogénat. Le tube témoin reçoit 1 ml de tampon Tris (50 mM, pH 8,4) KCL 150mM. Dans chaque tube est ajouté 0,5 ml de TCA 20% et 1 ml de TBA 0,67%. Les tubes sont bouchés à l'aide des billes de verre et chauffés pendant 10 minutes à 90°C au bain-marie. Ils sont ensuite refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 trs/min pendant 15 min à température ambiante. Le surnageant est décanté et la DO lue à 530 nm contre le blanc. La concentration en malondialdéhyde est calculée à l'aide de la formule de Beer Lambert:

$$DO = \varepsilon . C . l$$

Avec  $\varepsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ cm}^2 \cdot \text{mole}^{-1}$  = coefficient d'extinction molaire ; **C** = concentration

#### II.2.4.2.7.3-Mesure de l'activité de la Super-oxyde dismutase

La présence du Super-oxyde dismutase (SOD) dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité du super oxyde dismutase est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm. Dans le tube témoin on introduit 1666 µL de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2), 0,2 ml de solution d'adrénaline (0,3mM) et 134 µL d'eau distillée pour calibrer le spectrophotomètre. Ensuite on introduit 134 µl

d'homogénat dans la cuve à spectrophotométrie pour les essais et 1666 µl de tampon carbonate. Après le calibrage du spectromètre, on déclenche la réaction en ajoutant 0,2 ml de solution d'adrénaline dans le mélange réactionnel suivi de l'homogénéisation. Puis la lecture de la densité optique (DO) est faite après 20 et à 80 s. L'activité spécifique de la SOD est évaluée en unité de SOD/ mg de protéine. Une unité de l'activité de la SOD est définie comme la quantité de la SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

#### **Détermination de l'activité de la SOD**

La variation de la DO :  $\Delta DO_{\min} = DO_{20s} - DO_{80s}$

% inhibition =  $(100 - ((\Delta DO_{\text{essai}} \times 100)) / \Delta DO_{\text{blanc}}$

50 % d'inhibition correspond à 1 unité, X % d'inhibition correspond à N unités

#### **L'activité spécifique de la SOD :**

(Unité SOD/mg de protéine) = (Nombre d'unité SOD /ml) /mg de protéine x Facteur de dilution.

#### **II.2.4.2.7.4-Mesure de l'activité de la catalase (CAT)**

Le dosage de la catalase a été effectué suivant la méthode décrite par Sinha (1972). Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Ce peroxyde détruit se lie au dichromate de potassium pour former un précipité vert d'acide perchlorique instable, qui est ensuite détruit par la chaleur pour former un complexe vert absorbant à 570 nm. L'activité de la catalase qui est proportionnelle à la densité optique de ce complexe sera déterminée grâce à la courbe d'étalonnage. A 50 ml d'une solution aqueuse de dichromate de potassium à 5% (v/v) ont été ajoutés lentement 150 ml d'acide acétique glacial. Les tubes ont été complétés comme l'indique le tableau IV. Les données obtenues ont été utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (µmol) (Figure 9).

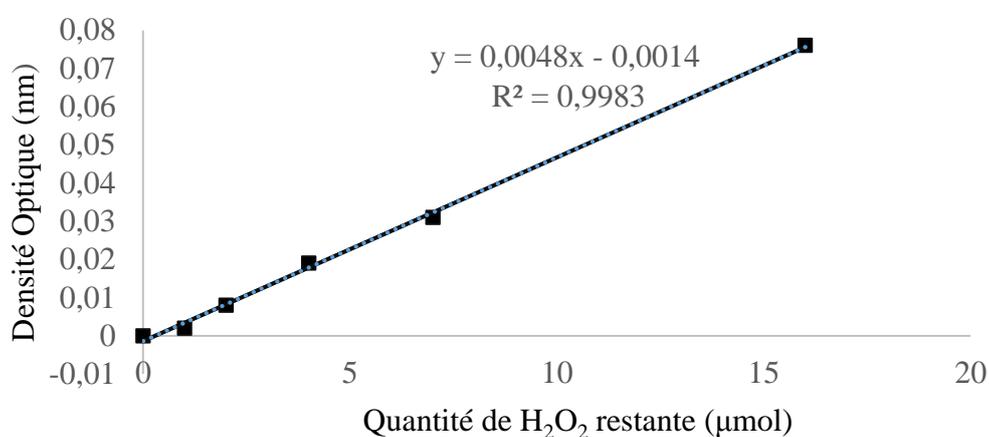
Dans chaque tube à essai test, a été introduit 50 µl d'homogénat et 750 µl de perchlorique 0,1 M de pH 7,5. Le chronomètre était déclenché lorsqu'on ajoutait 200 µl de substrat peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après 1 minute, la réaction était arrêtée par ajout de 2 ml de la solution de dichromate/acide acétique. Dans le tube témoin a été mis 800 µL de tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5. L'ensemble des tubes était chauffé à 100 °C pendant 10 minutes et après refroidissement, la densité optique était lue à 570 nm.

### -Calcul de la concentration en catalase

La quantité de peroxyde d'hydrogène qui reste dans la solution après ajout de l'acide perchromique a été évaluée en utilisant la courbe d'étalonnage. L'activité spécifique de la catalase est exprimée en  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  /min/mg de protéine.

**Tableau IV** : Protocol de dosage de la catalase

N° du tube	1	2	3	4	5	6
Volume de $\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\mu\text{l}$ )	0	20	40	80	160	520
Solution de dichromate/acide acétique (ml)	2	2	2	2	2	2
Solution de dichromate/acide acétique (ml)	2	2	2	2	2	2
Après formation d'un précipité bleu, les tubes sont chauffés jusqu'à ébullition pendant 10 min (apparition de la couleur verte de l'acétate chromique) et refroidis à température ambiante.						
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	1000	980	960	920	920	680
L'absorbance est lue à 570 nm						



**Figure 9** : Courbe d'étalonnage de la catalase

## II.2.5-Effet antistress de l'extrait de *M. oleifera* chez les rats

### II.2.5.1-Répartition et traitement des rats

Cinquante-cinq (55) rats males de souche Wistar (173-175 g) ont été utilisés pour déterminer l'activité antistress de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Les rats ont été répartis en onze

lots de 5 rats chacun dont 6 lots pour les effets de la plante sur le stress aigu, 5 lots restant pour les effets de la plante sur le stress chronique.

#### **II.2.5.1.1-Répartition et traitement pour le stress aigu**

Les traitements ont été les suivants pour les effets de l'extrait sur les stress aigu :

- le lot 1 : témoin normal qui a reçu par gavage de l'eau distillée (1ml/100g) pendant 14 jours;
- lot 2 : témoin stressé qui a reçu par gavage de l'eau distillée (1ml/100g) pendant 14 jours et a été soumis au stress aigu ;
- le lot 3 : témoin positif qui a reçu par gavage le diazépam (1 mg/kg) et a été soumis au stress aigu ;
- les lots 4, 5 et 6 : qui ont reçu par gavage l'extrait aqueux de *M. oleifera* respectivement à 100, 200 et 400 mg/kg de pc et ont été soumis au stress aigu.

#### **II.2.5.1.2-Répartition et traitement pour le stress chronique**

Les traitements ont été les suivants pour les effets de l'extrait sur les stress chronique :

- lot 1 : témoin stressé qui a reçu par gavage de l'eau distillée (1ml/100g) pendant 14 jours et a été soumis au stress chronique ;
- le lot 2 : témoin positif qui a reçu par gavage le diazépam (1 mg/kg) et a été soumis au stress chronique ;
- les lots 3, 4 et 5 : qui ont reçu par gavage l'extrait aqueux de *M. oleifera* respectivement à 100, 200 et 400 mg/kg de pc et ont été soumis au stress chronique.

#### **II.2.5.2-Induction du stress**

##### **II.2.5.2.1-Induction du stress aigu par immersion et immobilisation**

Le stress aigu a été induit par la méthode décrite par Tagaki et Okabe (1968) avec quelques modifications. Après 14 jours de traitement, les rats (lots 2 à 6) ont été mis à jeun pendant 48 heures et ont reçu par gavage 100, 200 et de 400 mg/kg d'extrait aqueux pour les groupes tests et 1 ml/100 g d'eau distillée pour le groupe témoin stressé. Le témoin positif a reçu 1 mg/kg de diazépam. Une heure après les traitements, les lots témoin stressé, témoin positif et *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg ont été introduits dans des cages grillagées individuelles et immergés dans l'eau (20±1°C) jusqu'au niveau du xyphoïde pendant 6 heures.

##### **II.2.5.2.2-Induction du stress chronique**

La méthode utilisée pour induire le stress chronique est celle qui a été décrite par Burgin *et al.* (1996) avec quelques modifications. Une heure après les traitements, les rats ont été soumis à la nage avec 5% de leur poids corporel attaché à leur queue une fois par jour pendant 14 jours. Les

séances de nage ont été réalisées dans un aquarium (90cm × 45cm × 45cm) rempli d'eau jusqu'à une profondeur de 35 cm. L'eau a été maintenue à la température ambiante  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  et a été renouvelé à chaque passage. Les rats ont été considérés comme fatigués lorsqu'il plongeait leur museau dans l'eau pendant plus de 10 secondes. Ils ont été nettoyés et séchés après chaque séance de nage avant leur retour dans les cages. Immédiatement après la dernière séance de nage, ils ont été mis à jeun pendant 48 heures et ont reçu par gavage 100, 200 et de 400 mg/kg d'extrait aqueux pour les groupes tests et 1 ml/100 g d'eau distillée pour le groupes témoin stressé. Le témoin positif a reçu 1 mg/kg de diazépam. Une heure après les traitements, ils ont été introduits dans des cages grillagées individuelles et immergés dans l'eau ( $20\pm 1^\circ\text{C}$ ) jusqu'au niveau du xyphoïde pendant 6 heures.

### **II.2.5.3-Evaluation du comportement des rats : Test de l'arène ouverte**

La méthode utilisée lors de nos expérimentations est celle qui a été décrite par Belzung (1999). Le test de l'arène ouverte est communément utilisé pour évaluer le niveau d'activité locomotrice, le niveau d'exploration et la réactivité émotionnelle chez les rongeurs (Bronikowski *et al.*, 2001). Une heure après le test d'immersion et immobilisation, chaque rat a été observé pendant une durée de 5 minutes dans l'arène ouverte (100×100×50cm). Plusieurs paramètres comportementaux ont été évalués, ce sont : le nombre de « crossing » (nombre de lignes traversées), le nombre de « grooming » (lorsque l'animal nettoie son corps), le nombre de « rearing » (lorsque l'animal se tient debout sur ses pattes postérieurs et prend appui sur les bords du dispositif expérimental), le temps passé au centre du dispositif expérimental et la masse de fèces produites. Après 5 minutes d'observation, le rat était simplement remis dans sa cage d'origine et le dispositif expérimental nettoyé avec de l'alcool éthylique ( $70^\circ\text{C}$ ) (Figure 10).



**Figure 10 :** Photo montrant un rat entrain d'exécuter l'Open Field Test (prise par Bonoy, 2016)

Après ce test, les animaux ont été sacrifiés sous faible anesthésie à l'éther éthylique. Une partie du sang artérioveineux a été recueillie dans des tubes secs puis centrifugés à 3000 trs/min pendant 10 min pour l'obtention du sérum qui a été utilisé pour l'évaluation des paramètres biochimiques sériques (glucose, urée et triglycérides). Une autre partie du sang artérioveineux a été collecté dans des tubes stériles contenant de l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) et a servi à déterminer la Numération formule sanguine. Les lésions gastriques ont été fixées dans du formol à 10% puis évaluées. Le mucus a été collecté et les estomacs ont par la suite été lavés dans une solution de Na-Cl (9 %) et conservés dans un congélateur à 4°C pour les dosages des paramètres de l'oxydation cellulaire.

#### II.2.5.4.1-Prélèvement du mucus de l'estomac

Après ouverture de l'estomac le long de sa grande courbure, il a été lavé délicatement sous l'eau du robinet coulant à faible pression, puis à l'aide du coton, la surface de la muqueuse a été essorée ; le mucus a été soigneusement raclé et pesé à l'aide d'une microbalance.

#### II.2.5.4.2-Score des ulcères

Le protocole d'attribution des scores aux ulcères gastriques aigus présentés dans le tableau V est celui décrit par Tan et *al.* (1996).

**Tableau V:** Attribution des scores en fonction de la surface ulcérée

Surface ulcérée (SU) (mm <sup>2</sup> )	Score
SU =0,0	0,0
0,0 < SU ≤ 0,5	1,0
0,5 < SU ≤ 2,5	2,0
2,5 < SU ≤ 5,0	3,0
5,0 < SU ≤ 10,0	4,0
10,0 < SU ≤ 15,0	5,0
15,0 < SU ≤ 20,0	6,0
20,0 < SU ≤ 25,0	7,0
25,0 < SU ≤ 30,0	8,0
30,0 < SU ≤ 35,0	9,0
SU > 35,0	10,0

#### II.2.5.4.3-Indice d'ulcère

L'indice d'ulcère (IU) est le score moyen d'ulcère de chaque traitement plus ou moins l'erreur standard de la moyenne (ESM).

$$IU = \sum_1^n \text{score} \pm \text{ESM}$$

#### **II.2.5.4.4-Pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition (%I) des ulcères d'un traitement donné est déterminé en fonction du lot témoin selon la formule de Njar *et al.* (1995) ci-après :

$$\%I = \frac{\text{Indice d'ulcère du contrôle} - \text{indice d'ulcère du test}}{\text{indice d'ulcère du contrôle}} \times 100$$

#### **II.2.5.4.5-Pourcentage de la surface ulcérée**

Le pourcentage de la surface ulcérée (%SU) chez un rat est égal au rapport de la surface totale ulcérée sur la valeur moyenne de la surface pyloro-antrale (675 mm<sup>2</sup>), multiplié par 100.

$$\%SU = \frac{\text{Surface ulcérée totale (mm}^2\text{)}}{675} \times 100$$

#### **II.2.5.5-Dosage des paramètres de l'oxydation cellulaire**

Dans un bac de glace, 1 g d'estomac de chaque animal a été broyé et homogénéisé à 20% avec 4 ml de tampon Tris-HCl (50 mM). Après centrifugation à 5700 tr/mn pendant 30 min, le surnageant (homogénat) a été récupéré et conservé dans un congélateur pour les dosages des paramètres du stress oxydant.

##### **II.2.5.5.1-Dosage du glutathion**

Le protocole de dosage du glutathion réduit (GSH) a été le même que celui décrit en II.2.4.2.7.1.

##### **II.2.5.5.2-Dosage du Malondialdéhyde (MDA)**

Le protocole de dosage du Malondialdéhyde (MDA) a été le même que celui décrit en II.2.4.2.7.2.

##### **II.2.5.5.3-Mesure de l'activité de la Super-oxyde dismutase (Misra et Fridovich, 1972)**

Le protocole de dosage de l'activité de la Super-oxyde dismutase (SOD) a été le même que celui décrit en II.2.4.2.7.3.

##### **II.2.5.5.4-Mesure de l'activité de la catalase (CAT)**

Le protocole de dosage de l'activité de la catalase (CAT) a été le même que celui décrit en II.2.4.2.7.4.

## **II.2.5.6-Dosage des paramètres biochimiques sériques**

### **II.2.5.6.1-Dosage du glucose sérique**

Le protocole d'évaluation du glucose sérique a été le même que celui décrit en II.2.4.2.4.

### **II.2.5.6.2-Dosage de l'Urée sérique**

Le protocole d'évaluation de l'urée sérique a été le même que celui décrit en II.2.4.2.5.

### **II.2.5.6.3-Dosage de triglycérides sériques**

La méthode utilisée pour le dosage des triglycérides sériques a été le même que celui décrit en II.2.4.2.3.

## **II.2.6-Etude de la toxicité de l'extrait aqueux de *M. oleifera***

### **II.2.6.1-Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera***

#### **II.2.6.1.1-Principe de l'essai**

La toxicité aiguë a été évaluée conformément à la ligne directrice N° 423 de l'OCDE (méthode par classe de toxicité) concernant les essais de substances chimiques (OCDE, 2001) adoptée le 17 Décembre 2001. Le principe est d'obtenir en utilisant un nombre minimum d'animaux par étape, des informations suffisantes sur la toxicité aiguë de la substance. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus par classe dans lequel trois animaux de même sexe sont utilisés à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est-à-dire :

-arrêt de l'essai (lorsque la dose de 5 mg/kg provoque le décès de 2 à 3 animaux ou la dose de 5000 mg/kg ne cause aucune mortalité) ;

-administration de la même dose à trois animaux supplémentaires (lorsque la dose administrée provoque le décès d'au plus un animal) ;

-administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaire (lorsque la dose administrée provoque le décès d'au plus 1 animal ou d'au moins 2 animaux).

#### **II.2.6.1.2-Répartition et traitement des rats**

Pour la toxicité aiguë des extraits de *M. oleifera*, 9 rats males ont été réparties en 3 lots de 3 rats dont un témoin, 1 lot test et 1 lot utilisé pour le test de confirmation après 48 h d'observation. Les rats ont été laissés à jeun pendant 12 heures avant le début des manipulations. Les animaux du groupe témoin ont reçu par gavage de l'eau distillée et ceux du groupe essai ont reçu l'extrait à la

dose unique de 2000 mg/kg de poids corporel. Les animaux du lot de confirmation ont également reçu l'extrait à la dose de 2000 mg/kg par gavage. Les substances ont été administrées dans un volume maximale de 2ml/100g de pc. Les animaux ont été privés d'eau et de nourriture les quatre premières heures qui ont suivi le gavage. Après gavage, les animaux ont été observés régulièrement durant les premières 24 heures avec une attention particulière pendant les 4 premières heures afin de déceler des éventuels troubles du comportement (sensibilité au bruit, tremblement, automutilation, convulsion, salivation) et des modifications potentielles des aspects des selles et de la fourrure. La sensibilité au bruit a été évaluée par activation d'une sonnerie de téléphone portable. Le nombre d'animaux morts par lots a été noté après 48 heures et les survivants ont été suivis pendant 14 jours. Le nombre de décès a été noté et le taux de mortalité a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité} = \frac{\text{Nombre de rat morts}}{\text{Nombre total de rats traités à l'extrait}} \times 100$$

La DL<sub>50</sub> a été déterminée suivant le Système de classification Globalement Harmonisé (SGH) des substances entraînant la toxicité aigüe.

La quantité d'aliments et d'eau consommées par chaque groupe de rats, ainsi que l'évolution pondérale ont été mesurées tous les deux jours pendant 14 jours à la même heure.

A la fin de la période d'observation, tous les animaux ont été pesés, puis sacrifiés. Les organes (cœur, foie, reins, poumons, rate, estomac et ovaires) ont été prélevés pour une observation macroscopique et une détermination de leurs poids relatifs. Les poids relatifs de ces organes ont été calculés à partir de la formule suivante :

$$\text{Poids relatif (en \% du poids corporel)} = \frac{\text{Poids de l'organe(g)}}{\text{Poids de l'animal(g)}} \times 100$$

## II.2.6.2-Evaluation de la toxicité sub-chronique de l'extrait aqueux de *M. oleifera*

### II.2.6.2.1-Répartition et traitement des rats

Pour la toxicité sub-chronique des extraits de *M. oleifera*, 60 rats (81-86g) ont été répartis en 6 lots de 10 animaux chacun (5 mâles et 5 femelle), les mâles et les femelles étant logés séparément. Les animaux ont été placés dans les cages cinq jours avant le début de l'étude pour leur permettre de s'acclimater à leur nouvel environnement. Partant des résultats préliminaires obtenus dans notre travail de recherche où l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* à la dose de 200 mg/kg de poids corporel a montré les effets antifatigues, antioxydants et antistress les plus efficaces, nous

avons multiplié cette dose par deux et retenu le résultat comme dose toxicologique initiale. Les lots ont reçu différents traitements pendant 42 jours. Les traitements ont été les suivantes :

-lots 1 : reçoit de l'eau distillée à la dose de 1ml/100g ;

-lots 2, 3 et 4 reçoivent les extraits aqueux de *M. oleifera* aux doses respectives de 400, 800 et 1600 mg/kg de pc ;

-lot 5 ou essai satellite : reçoit l'extrait aqueux de *M. oleifera* à une dose de 1600 mg/kg de pc pendant 42 jours, puis a été observé pendant 14 jours supplémentaires ;

-lot 6 ou témoin satellite : reçoit de l'eau distillée pendant 42 jours, puis une observation pendant 14 jours supplémentaires.

Les observations après arrêt de gavage ont permis d'évaluer la réversibilité, la persistance ou l'apparition tardive de possibles effets toxiques induits par l'extrait.

#### **II.2.6.2.2-Collecte des données**

La quantité d'aliments et d'eau consommées par chaque groupe de rats, ainsi que l'évolution pondérale ont été mesurées tous les deux jours pendant 42 jours (lots 1 à 4) et 56 jours (lots 5 et 6) à la même heure. Tous les animaux ont été pesés, puis sacrifiés, soit à la fin de l'administration de l'extrait (lot 1 à 4), soit 14 jours après l'arrêt des gavages (lots 5 et 6). Le sang a été collecté et conservé dans des tubes à EDTA et des tubes secs. Les organes (foie, poumon, reins, rate, testicules, cœur et estomac) ont été prélevés pour une observation macroscopique et une détermination de leurs poids relatifs. Des coupes histologiques du foie, des reins et des poumons ont été réalisées. Les poids relatifs de ces organes ont été calculés dans les mêmes conditions que ceux de la toxicité aiguë.

#### **II.2.6.2.3-Numération formule sanguine**

La méthode utilisée pour déterminer la numération formule sanguine a été la même que celle décrite en II.2.4.2.4.

#### **II.2.6.2.4-Evaluation des paramètres biochimiques sériques**

Le sang collecté dans les tubes secs a été centrifugé à 4000 trs/min pendant 15 minutes et le surnageant a été récupéré et conservé à -4°C pour les différents dosages biochimiques.

##### **II.2.6.2.4.1-Evaluation des paramètres biochimiques de la fonction rénale**

###### **II.2.6.2.4.1.1-Dosage de la créatinine**

Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode de Bartels *et al.* (1972). La créatinine réagit en milieu alcalin avec l'acide picrique pour former un complexe orangé. La quantité de complexe formée est directement proportionnelle à la concentration de la créatinine dans

l'échantillon. L'acide picrique (35 mmol/l) et l'hydroxyde de sodium (0,32 mol/l) sont mélangés à volume égal et représentent la solution de travail. Le dosage de la créatinine dans les différents tubes a été réalisé comme indiqué dans le tableau VI.

**Tableau VI:** Protocole de dosage de la créatinine sérique.

	<b>Standard</b>	<b>Test</b>
<b>Sérum</b>	-	100 µl
<b>Créatinine standard (2 mg/dl)</b>	100 µl	-
<b>Solution de travail</b>	1000 µl	1000 µl

Les préparations ont été homogénéisées et les absorbances de standard et échantillons ont été lues après 30 secondes puis après 120 secondes à 492 nm au spectrophotomètre. La concentration de la créatinine sérique a été obtenue grâce à la formule suivante :

$$[\text{Créatinine}]_e = \frac{\Delta \text{ Abs échantillon}}{\Delta \text{ Abs standard}} \times 2$$

Avec :

- [Créatinine]<sub>e</sub> : concentration de la créatinine dans l'échantillon en mg/dl ;
- Δ Abs standard : variation de l'absorbance du standard entre 30 et 120 secondes ;
- Δ Abs échantillon : variation de l'absorbance de l'échantillon entre 30 et 120 secondes.

#### **II.2.6.2.4.1.2-Dosage de l'urée sérique**

Le protocole d'évaluation de l'urée sérique a été le même que celui décrit en II.2.4.2.5.

#### **II.2.6.2.4.2-Evaluation des paramètres biochimiques de la fonction cardiovasculaire**

##### **II.2.6.2.4.2.1-Dosage du cholestérol total**

Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters de cholestérol présents dans le sérum sont hydrolysés en cholestérol et en acide gras. L'oxydation du cholestérol en présence du cholestérol oxydase produit le 4-cholesténone et du peroxyde d'hydrogène. L'indicateur quinonimine se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du phénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon.

A partir du kit de dosage de marque Fortress Diagnostic (BXCO261C), le contenu d'un flacon R2 (pipes pH 6,9 (90 mmol/l) et phénol (26 mmol/l)) est dissous dans le contenu d'un flacon R1 (peroxydase (1250 U/l), cholestérol estérase (300 U/l), cholestérol oxydase (300 U/l) et 4-Aminophenazone (0,4 mmol/l)). Ce mélange représente la solution de travail. La détermination de

la concentration du cholestérol total dans les différents tubes a été réalisée comme indiqué dans le tableau VII.

Les préparations ont été homogénéisées et incubées pendant 5 minutes à 37°C. L'absorbance des standards et échantillons a été lue contre le blanc à 505 nm au spectrophotomètre. La concentration du cholestérol total est a été obtenue grâce à la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol}]_e = \frac{\Delta \text{ Abs échantillon}}{\Delta \text{ Abs standard}} \times 200$$

Avec :

- [cholestérol]<sub>e</sub>: Concentration de cholestérol total dans l'échantillon en (mg/dl) ;
- Abs : absorbance.

**Tableau VII : Protocole de dosage du cholestérol total**

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Test</b>
<b>Sérum</b>	-	-	10 µl
<b>Cholestérol standard (200 mg/dl)</b>	-	10 µl	-
<b>Solution de travail</b>	1000 µl	1000 µl	1000 µl
<b>Eau distillée</b>	10 µl	-	-

#### II.2.6.2.4.2-Dosage du HDL Cholestérol

Les lipoprotéines de faible densité (LDL et VLDL) sont précipitées spécifiquement par l'acide phosphotungstique en présence des ions magnésium et peuvent ainsi être séparées par centrifugation. Les lipoprotéines à haute densité (HDL) restent en suspension et peuvent être dosées en utilisant le surnageant clair. La détermination de la concentration de HDL cholestérol dans les différents tubes a été réalisée comme indiqué dans le kit de dosage (kit Fortress Diagnostic BXC0421C). 100 µl de sérum et 50 µl de réactif 1 (acide phosphotungstique (14 mmol/l) et chlorure de magnésium (2 mmol/l)) ont été mis dans les tubes. Après homogénéisation, les préparations ont été incubées pendant 10 minutes à température ambiante. Elles ont ensuite été centrifugées à 12000 tours/minute pendant 2 minutes et le surnageant a été prélevé. La détermination de la concentration du HDL cholestérol dans les différents tubes a été réalisée comme indiqué dans le tableau VIII.

**Tableau VIII: Protocole de dosage du HDL cholestérol**

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Test</b>
<b>Surnageant obtenu</b>	-	-	10 µl
<b>HDL Cholestérol standard (50 mg/dl)</b>	-	10 µl	-
<b>Solution de travail</b>	1000 µl	1000 µl	1000 µl
<b>Eau distillée</b>	10 µl	-	-

Les préparations ont été homogénéisées et incubées pendant 5 minutes à 37°C. Les absorbances des standards et échantillons ont été lues contre le blanc à 505nm au spectrophotomètre. La concentration du HDL cholestérol total est a été obtenue grâce à la formule suivante :

$$[\text{HDL Cholestérol}]_e = \frac{\Delta \text{ Abs échantillon}}{\Delta \text{ Abs standard}} \times 200$$

Avec :

- [HDL cholestérol]<sub>e</sub>: Concentration de cholestérol total dans l'échantillon en (mg/dl) ;
- Abs : absorbance.

#### **II.2.6.2.4.2.3-Détermination de l'index athérogène**

L'index athérogène (IA) a été déterminé suivant la formule de Youmbissi *et al.* (2001).

$$\text{IA} = \frac{\text{Cholestérol total}}{\text{HDL cholestérol}}$$

Avec :

- [cholestérol total] = Concentration de cholestérol total dans l'échantillon (mg/dl) ;
- [cholestérol HDL] = Concentration de HDL cholestérol dans l'échantillon (mg/dl).

#### **II.2.6.2.4.2.4-Dosage de triglycérides sériques**

La méthode utilisée pour le dosage des triglycérides sériques a été le même que celui décrit en II.2.4.2.3.

#### **II.2.6.2.4.2.5-Détermination du LDL Cholestérol**

La concentration de LDL cholestérol dans les échantillons a été déterminée grâce à l'équation de Friedewald *et al.* (1972).

$$[\text{LDL Cholestérol}]_e = [\text{Cholestérol Total}] - [\text{HDL Cholestérol}] - ([\text{Triglycérides}] \div 5)$$

Avec :

- [LDL Cholestérol]<sub>e</sub> = concentration du cholestérol LDL dans l'échantillon
- [Cholestérol Total] = concentration du cholestérol total dans l'échantillon
- [HDL Cholestérol] = concentration du cholestérol HDL dans l'échantillon
- [Triglycérides] = concentration de triglycérides dans l'échantillon

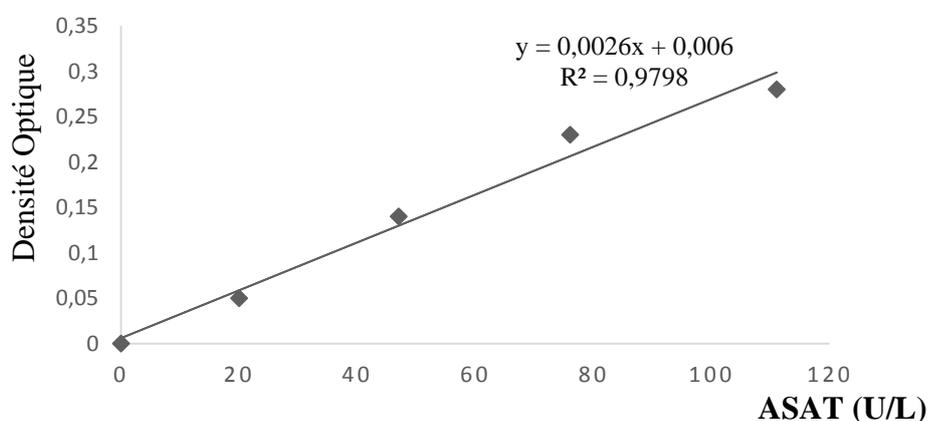
### II.2.6.2.4.3-Evaluation des paramètres biochimiques de la fonction hépatique

#### II.2.6.2.4.3.1-Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

L'aspartate aminotransférase a été dosée par la méthode décrite par Reitman et Frankel (1957). L'ASAT catalyse le transfert du groupement amine de L-aspartate sur l' $\alpha$ -oxoglutarate pour former l'oxaloacétate et le L-glutamate. L'oxaloacétate formé réagit avec le dinitrophénylhydrazine pour donner l'hydrazone. L'intensité de la coloration de l'hydrazone est directement proportionnelle à la quantité d'oxaloacétate. Suivant les indications du kit de dosage (DiaSys Diagnostic Systems GmbH), 50  $\mu$ l d'échantillon ont été mis dans les tubes tests et la même quantité en eau distillée a été mise dans le tube blanc. Puis, l'on a ajouté dans l'ensemble des tubes 250  $\mu$ l du réactif 1 (tampon phosphate (100 mmol/l), L-aspartate (200 mmol/l) et  $\alpha$ -oxoglutarate (2 mmol/l)). Les solutions ont été homogénéisées et laissées pour incubation pendant 30 minutes à 37°C. 250  $\mu$ l du réactif 2 (2,4-dinitrophénylhydrazine (2 mmol/l)) ont été ajoutées dans les tubes et les solutions ont été homogénéisées et laissées au repos pendant 20 minutes à température ambiante. Par la suite, 2,5 ml d'hydroxyde de sodium (4 mol/l) ont été ajoutés dans les tubes et les solutions ont été homogénéisées. Après 5 minutes, les absorbances des échantillons ont été lues contre le blanc à 546 nm au spectrophotomètre. La préparation de la courbe d'étalonnage (Figure 11) s'est fait comme indiqué dans le tableau IX.

**Tableau IX** : Préparation de la courbe d'étalonnage du dosage de l'ASAT

Tubes	Pyruvate Standard (2 mmol/L)	Substrats ASAT	Eau Distillée	ASAT U/L
1	-	1,0 ml	200 $\mu$ l	0
2	100 $\mu$ l	0,9 ml	200 $\mu$ l	20
3	200 $\mu$ l	0,8 ml	200 $\mu$ l	47
4	300 $\mu$ l	0,7 ml	200 $\mu$ l	76
5	400 $\mu$ l	0,6 ml	200 $\mu$ l	111



**Figure 11** : Courbe d'étalonnage du dosage de l'ASAT

### II.2.6.2.4.3.2-Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

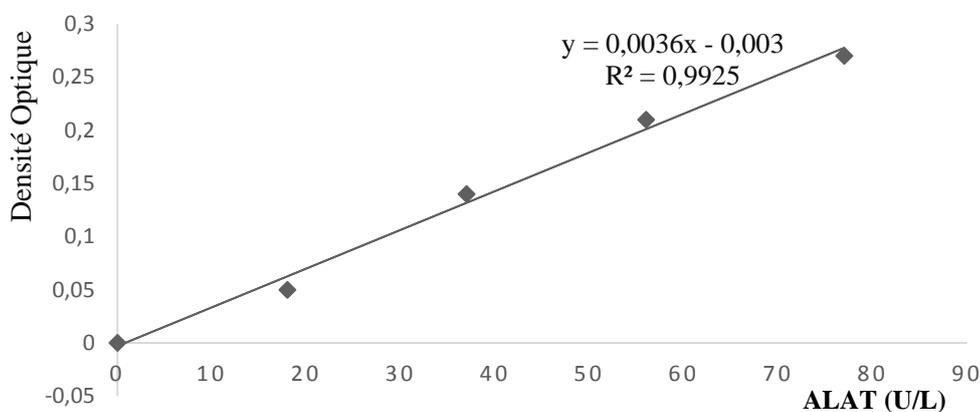
L'alanine aminotransférase a été dosée par la méthode de Reitman et Frankel (1957). L'ALAT catalyse le transfert du groupement amine de L-aspartate sur l' $\alpha$ -oxoglutarate pour former le pyruvate et le L-glutamate. Le pyruvate formé réagit avec le dinitrophénylhydrazine pour donner l'hydrazone. L'intensité de la coloration de l'hydrazone est directement proportionnelle à la quantité de pyruvate.

Suivant les indications du kit de dosage (DiaSys Diagnostic Systems GmbH), 50  $\mu$ l d'échantillon ont été mis dans les tubes tests et la même quantité en eau distillée a été mise dans le tube blanc. Puis, l'on a ajouté dans l'ensemble des tubes 250  $\mu$ l du réactif 1 (tampon phosphate (0,1 mol/l), L-alanine (0,2 mol/l) et  $\alpha$ -oxoglutarate (2mmol/l)). Les solutions ont été homogénéisées et laissées pour incubation pendant 30 minutes à 37°C. 250  $\mu$ l du réactif 2 (2,4-dinitrophénylhydrazine (2 mmol/l)) ont été ajoutées dans les tubes et les solutions ont été homogénéisées et laissées au repos pendant 20 minutes à température ambiante.

Par la suite, 2,5 ml d'hydroxyde de sodium (4 mol/l) ont été ajouté dans les tubes et les solutions ont été homogénéisées. Après 5 minutes, les absorbances des échantillons ont été lues contre le blanc à 546 nm au spectrophotomètre. La préparation de la courbe d'étalonnage (Figure 12) s'est fait comme indiqué dans le Tableau X.

**Tableau X** : Préparation de la courbe d'étalonnage du dosage de l'ALAT

Tubes	Pyruvate Standard (2 mmol/L)	Substrats ALAT	Eau Distillée	ALAT U/L
1	-	1,0 ml	200 $\mu$ l	0
2	100 $\mu$ l	0,9 ml	200 $\mu$ l	18
3	200 $\mu$ l	0,8 ml	200 $\mu$ l	37
4	300 $\mu$ l	0,7 ml	200 $\mu$ l	56
5	400 $\mu$ l	0,6 ml	200 $\mu$ l	77



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage du dosage de l'ALAT

### II.2.6.2.4.3.3-Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines dans le sérum a été effectué suivant la méthode de Biuret (Henry et *al.*, 1974). En milieu basique, la tartrate double de sodium et de potassium forme avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre complexé avec le tartrate pour former un autre complexe cuivro-protéique de couleur violette qui présente un maximum d'absorption à 546 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des protéines dans le milieu.

Dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique ont été introduits 1 ml de réactif de Biuret et 200 µl de plasma ou d'eau distillée. Après homogénéisation au vortex, le mélange a été incubé à 25° C pendant 30 minutes. Après avoir calibré le spectrophotomètre avec le blanc (réactif de Biuret + eau distillée), la densité optique (D.O.) des échantillons a été lue à une longueur d'onde de 560 nm. La concentration des protéines totales a été calculée suivant la formule ci-après :

-protéines totales (g/l)=190 x D.O. de l'échantillon ;

-protéines totales (g/dl)= 19 x D.O. de l'échantillon.

### II.2.6.2.4.3.4-Dosage de la bilirubine totale

La bilirubine est convertie en azobilirubine révélée en présence du diméthylsulphoxyde par réaction avec l'acide sulphonilique diazotisé. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de bilirubine présente dans le milieu. La détermination de la concentration de bilirubine totale dans les différents tubes a été réalisée comme indiqué dans le tableau XI.

Conformément au kit de dosage (DiaSys Diagnostic Systems GmbH), les préparations ont été homogénéisées et laissées pendant 5 minutes à température ambiante. Les absorbances de tous les tubes ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à 540 nm. La concentration en bilirubine a été obtenue grâce à la formule suivante :

$$[\text{Bilirubine}]_e = \frac{\Delta \text{ Abs échantillon}}{\Delta \text{ Abs standard}} \times 17,5$$

Avec  $[\text{Bilirubine}]_e$  : concentration de bilirubine dans l'échantillon (mg/dl)

**Tableau XI** : Protocole de dosage de la bilirubine totale

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Test</b>
<b>Réactif 1 (acide sulphonilique (30 mmol/l) et acide chlorhydrique (400 mmol/l))</b>	200 µl	200 µl	200 µl
<b>Réactif 2 (nitrate de sodium (50 mmol/l))</b>	-	50 µl	50 µl
<b>Eau distillée</b>	2000 µl	-	-
<b>Réactif 3 (caféine (100 mmol/l))</b>	-	1750 µl	1750 µl
<b>Echantillon</b>	-	200 µl	-
<b>Réactif 4 (bilirubine standard (17,5 mg/dl))</b>	-	-	200 µl

### **II.2.6.3-Réalisation des coupes histologiques**

Les organes (foie, rein et poumon) prélevés après sacrifice des animaux à la fin de l'essai sub-chronique ont été fixés dans du formol à 10 % pendant 72 heures. La préparation des coupes histologiques s'est faite suivant le protocole ci-après :

#### **Etape 1 : La découpe ou « Trimming »**

Des coupes fines et régulières de chaque organe fixé ont été réalisées à l'aide d'un bistouri, puis rangées dans des cassettes en matière plastique.

#### **Etape 2 : Déshydratation**

La déshydratation s'est faite en trois étapes : la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

##### **-Déshydratation proprement dite**

Les cassettes ont séjourné successivement dans des bains d'éthanol de concentration croissante : éthanol 50° (1h) → éthanol 70° (1h) → éthanol 95° n°1 (1h) → éthanol 95° n°2 (1h 30 mn) → éthanol 100° n°1 (1h) → éthanol 100° n°2 (1h 30 mn) → éthanol 100° n°3 (2 h).

##### **-Eclaircissement**

Les cassettes ont séjourné successivement dans deux bains de xylène respectivement pendant 1 heure et 1 heure 30 minutes.

##### **-Imprégnation**

Les organes ont été infiltrés de paraffine par passage dans trois bains de paraffine à 60°C pendant respectivement 1 heure, 1 heure 30 minutes et 2 heures.

#### **Etape 3 : Inclusion**

Les tissus ont été placés dans des moules remplis de paraffine en fusion qui ont été placés sur des plaques réfrigérantes pour solidification après orientation appropriée des tissus dans le bloc.

#### **Etape 4 : Les coupes**

Les coupes de 5 µm d'épaisseur ont été réalisées au microtome. Les sections obtenues ont été dépliées dans un bain marie à 40° C puis les meilleures coupes ont été récupérées sur des lames porte-objets et placées à l'étuve (45° C) pour séchage pendant 24 heures.

#### **Etape 5 : Coloration**

La technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E) a été utilisée. L'hématoxyline, basophile, colore en bleu noir les composants nucléaires et l'éosine, acidophile, colore les composants cytoplasmiques en rose-rouge.

##### **-Déparaffinage et réhydratation**

Les coupes ont été déparaffinées et réhydratées par passage successif dans une série de bains selon la séquence suivante : Xylène n°1 (5 min) → Xylène n°2 (5 min) → Xylène n°3 (5 min) →

éthanol 100° n°1 (10 min) → éthanol 100° n°2 (10 min) → éthanol 100° n°3 (10 min) → éthanol 95° (5 min) → éthanol 70° (5 min) . Les lames ont ensuite été rincées à l'eau distillée.

#### **-Coloration proprement dite**

Les coupes ont été immergées pendant 10 min dans un bac contenant de l'hématoxyline de Mayer, puis rincées à l'eau courante du robinet. Elles ont ensuite été passées dans un bain d'éthanol 95° pendant 5 min, puis elles ont été immergées pendant 5 min dans de l'éosine alcoolique 0,5 % et dans 40 µl d'acide acétique par 100 ml de solution. Les coupes ont ensuite été déshydratées dans 3 bains d'éthanol 100° (5 min), éclaircies dans 3 bains de xylène (5 min).

#### **Étape 6 : Montage, microscopie et photographie**

Une fois sorties du xylène, quelques gouttes de résine ont été déposées sur les coupes, puis ces dernières ont été recouvertes d'une fine lamelle de verre pour l'observation au microscope.

L'observation des coupes colorées s'est faite au microscope photonique de marque Olympus. Les microphotographies ont pu être réalisées en reliant un ordinateur au microscope.

#### **II.2.7-Traitement statistiques des résultats**

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Les comparaisons ont été effectuées en utilisant l'ANOVA suivi du post test de Dunnett. Le calcul statistique a été réalisé avec le logiciel Graph Pad Prism v5.03. La différence a été considérée comme significative à  $p < 0,05$ .



**CHAPITRE III :**  
**RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### III.1-RESULTATS

#### III.1.1-Phytochimie qualitative, caractéristiques organoleptiques et valeur nutritionnelle de l'extrait de *M. oleifera*

##### III.1.1.1-Phytochimie qualitative de l'extrait de *M. oleifera*

Le tableau XII présente les résultats de l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Les classes des composés majoritaires présentes comprennent les phénols, les tanins, les sucres (polysaccharides) et dans une moindre mesure les flavonoïdes, les glycosides et les protéines.

**Tableau XII** : Classes de composés phytochimiques présentes dans l'extrait des feuilles de *M. oleifera*

Elément phytochimique	Quantité
Tanins	+++
Alcaloïdes	+
Résines	-
Saponines	-
Flavonoïdes	++
Anthocyanines	-
Phénols	+++
Quinones	-
Acides	+
Sucres (polysaccharides)	+++
lipides	+
Coumarines	-
Stérols	+
Triterpenoïde	+
Glycosides	++
Protéines	++

Forte Présence (+++), Présente (++), Faible Présence (+), Absence (-).

##### III.1.1.2-Caractéristiques organoleptiques et valeur nutritionnelle de l'extrait de *M. oleifera*

Le tableau XIII présente la valeur nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Les résultats de ce tableau montrent que cet extrait a une énergie métabolisable de 2810,98

kcal/kg d'extrait. Des éléments minéraux sont retrouvés dans des proportions variables dans cet extrait. Il s'agit du sodium, potassium, calcium, fer, magnésium, zinc et cuivre.

**Tableau XIII** : Caractéristiques organoleptiques et valeur nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*

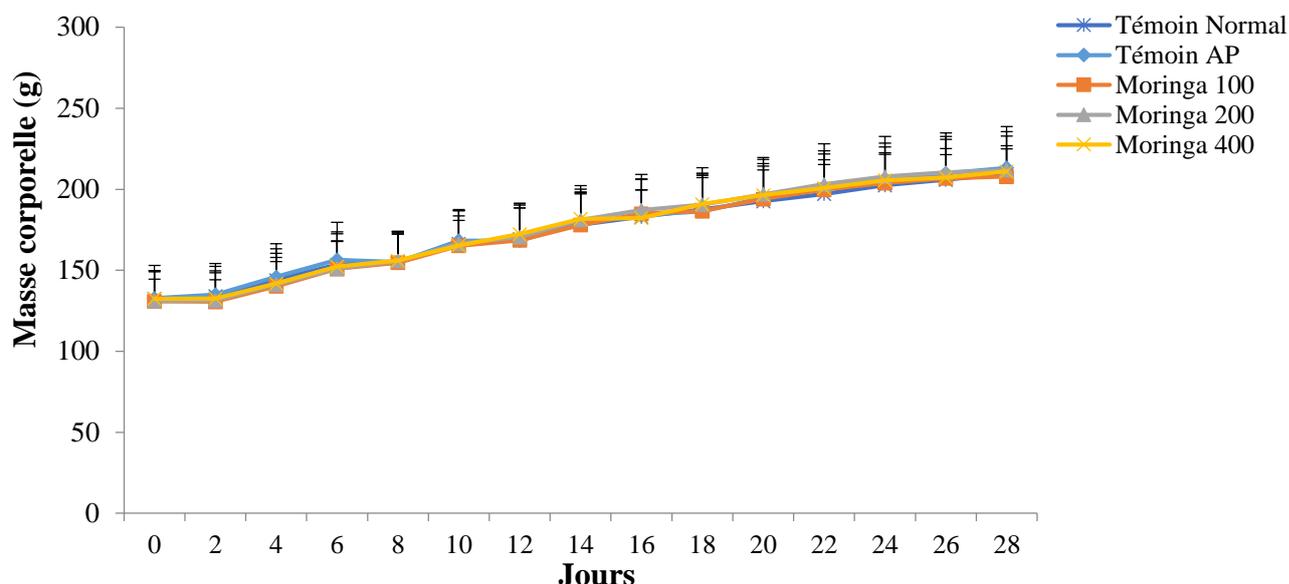
<b>Caractéristiques organoleptiques</b>	<b>Quantités (%)</b>
Teneur en eau	76,73±0,11
Teneur en Matière sèche	23,27±0,89
Teneur en cendres	10,54±0,43
<b>Valeur nutritionnelle</b>	<b>Quantités (g/kg matière sèche)</b>
Sucres totaux	504,69±0,21
Lipides totaux	42,14±0,03
Protéines totales	103,24±0,28
Fer	26,44±3,51
Cuivre	3,52±0,17
Sodium	272,70±28,04
Calcium	28,368±0,94
Potassium	120,70±14,18
Magnésium	11,57±0,59
Zinc	21,06±0,29
Energie (kcal)	2810,98

### **III.1.2-Effets antifatigues de l'extrait de *M. oleifera***

#### **III.1.2.1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur la fatigue induite par l'activité physique aigue**

##### **III.1.2.1.1-Evolution pondérale**

La figure 13 présente l'évolution de la masse pondérale des rats. L'analyse de cette figure n'a montrée aucune différence significative entre la masse pondérale des rats des groupes tests et celle des témoins respectifs ( $p > 0,05$ ). L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* n'a pas eu d'effet sur la masse pondérale des rats au cours de l'expérimentation.



**Figure 13 :** Evolution de la masse pondérale des rats

Les points représentent les moyennes de la masse corporelle  $\pm$  ESM,  $n = 16$ . Témoin AP = Témoin Activité Physique. Moringa 100, Moringa 200 et Moringa 400 sont constitués de rats ayant reçu respectivement 100, 200 et 400 mg/kg d'extrait de *M. oleifera*.

### III.1.2.1.2-Prises alimentaire et hydrique

La variation de la prise alimentaire et hydrique des différents lots au cours de l'expérimentation est présentée dans le tableau XIV. L'analyse de ces résultats n'a montré aucune différence significative entre les quantités d'aliments et d'eau consommés par les rats des groupes tests et ceux du groupes témoin AP ( $p > 0,05$ ). L'extrait aqueux de *M. oleifera* n'a donc pas eu d'effet sur la prise hydrique et alimentaire des rats.

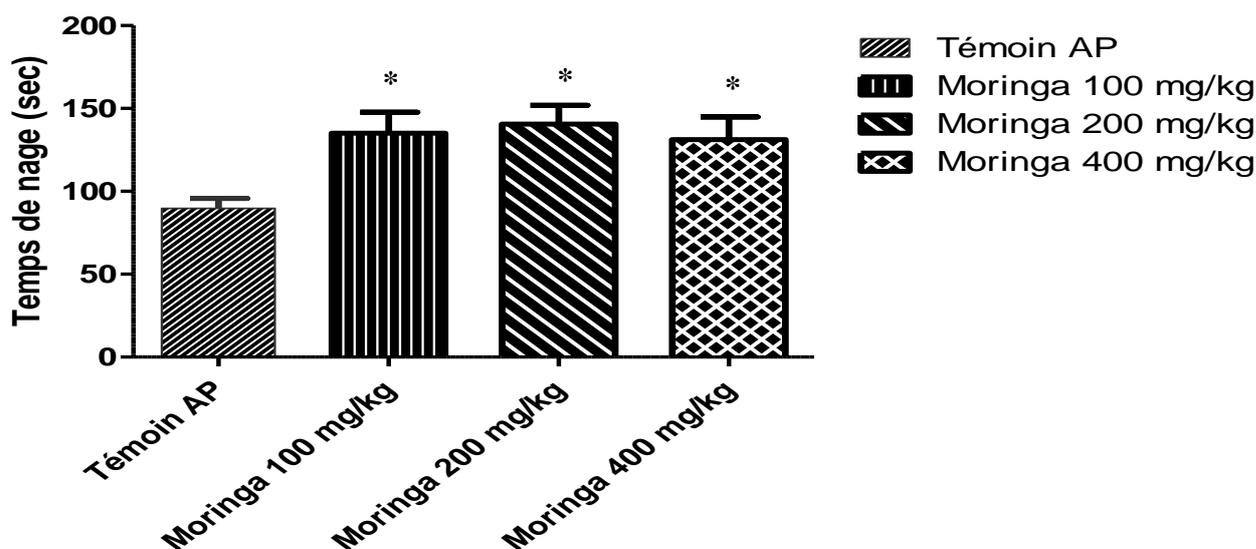
**Tableau XIV:** Prises alimentaire et hydrique des rats

	Semaine	Témoin Normal	Témoin AP	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	<i>M. oleifera</i> 400mg/kg
<b>Prise alimentaire (g/rat)</b>	1	121,73 $\pm$ 8,61	143,36 $\pm$ 17,85	110,25 $\pm$ 16,36	117,69 $\pm$ 14,03	139,71 $\pm$ 8,32
	2	131,74 $\pm$ 10,57	124,95 $\pm$ 6,37	101,21 $\pm$ 21,57	112,73 $\pm$ 7,71	133,00 $\pm$ 18,52
	3	126,7 $\pm$ 11,69	131,11 $\pm$ 7,35	106,61 $\pm$ 14,81	101,64 $\pm$ 15,54	126,87 $\pm$ 12,5
	4	138,88 $\pm$ 9,31	146,58 $\pm$ 9,66	109,05 $\pm$ 12,97	125,23 $\pm$ 13,02	140,77 $\pm$ 16,56
<b>Prise hydrique (ml/rat)</b>	1	145,46 $\pm$ 13,16	149,31 $\pm$ 14,63	139,56 $\pm$ 6,47	149,19 $\pm$ 13,35	141,17 $\pm$ 10,68
	2	160,72 $\pm$ 12,67	173,53 $\pm$ 7,35	150,06 $\pm$ 15,16	166,83 $\pm$ 6,45	170,62 $\pm$ 16,81
	3	137,06 $\pm$ 10,01	145,39 $\pm$ 20,13	124,83 $\pm$ 8,55	147,73 $\pm$ 11,65	135,04 $\pm$ 5,35
	4	153,44 $\pm$ 17,5	151,48 $\pm$ 11,53	140,87 $\pm$ 13,89	154,44 $\pm$ 7,25	141,64 $\pm$ 14,71

Chaque valeur représente la moyenne de la prise hydrique ou alimentaire  $\pm$  ESM,  $n = 16$ . Témoin AP = Témoin Activité Physique.

### III.1.2.1.3-Endurance physique des rats

La performance exprimée en temps de nage des rats soumis au test de la nage forcée est présentée sur la figure 14. Il ressort de cette figure que les rats ayant consommé l'extrait de *M. oleifera* à différente dose ont présenté des performances supérieures à celle du lot témoin AP ( $p < 0,05$ ). Le meilleur temps de nage a été enregistré dans le groupe de rats ayant consommé 200 mg/kg d'extrait ( $140,50 \pm 32,17$  sec) avec une augmentation de 56,54 % par rapport au groupe témoin AP.



**Figure 14 :** Temps de nage des rats soumis au test de la nage forcée. Chaque barre représente la moyenne du temps de nage  $\pm$  ESM,  $n = 8$ . Témoin AP= Témoin Activité Physique. \* $P < 0,05$  différence significative à 5% par rapport au Témoin AP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.1.4-Poids relatif des organes des rats soumis au test de nage de 90 minutes

Le tableau XV présente le poids relatif des organes des rats soumis au test de la nage de 90 minutes. Des données de ce tableau, il ressort que la masse des organes tels que le foie et le cœur ont connu des variations significative ( $p < 0,05$ ). Ces variations concernent la masse du foie du lot Moringa 100 et celle du cœur du lot Moringa 400. En effet, la masse du foie dans le lot Moringa 100 ( $3,24 \pm 0,69$ ) a connu une baisse significative par rapport au témoin AP ( $3,74 \pm 0,27$ ). La masse du cœur dans le lot Moringa 400 ( $0,34 \pm 0,04$ ), quant à elle, a connu une augmentation significative par rapport au témoin AP ( $0,28 \pm 0,04$ ).

**Tableau XV** : Poids relative des organes des rats soumis au test de la nage de 90 minutes

Poids relative des organes (%)	Témoin Normal	Témoin AP	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	<i>M. oleifera</i> 400mg/kg
Cœur	0,29±0,06	0,28±0,04	0,30±0,04	0,29±0,05	0,34±0,04*
Foie	3,66±0,30	3,74±0,27	3,24±0,69*	3,38±0,24	3,53±0,17
Poumons	0,78±0,10	0,73±0,12	0,93±0,23	0,89±0,41	0,85±0,07
Rate	0,27±0,09	0,24±0,06	0,32±0,08	0,28±0,17	0,34±0,09
Rein gauche	0,29±0,04	0,28±0,03	0,27±0,05	0,28±0,03	0,31±0,04
Rein droit	0,28±0,05	0,30±0,02	0,26±0,04	0,26±0,05	0,32±0,06
Testicule gauche	0,60±0,11	0,50±0,14	0,47±0,08	0,61±0,14	0,59±0,08
Testicule droit	0,55±0,12	0,55±0,14	0,44±0,10	0,51±0,07	0,59±0,07
Masse graisseuse	1,49±0,59	1,65±0,32	1,43±0,55	2,27±1,07	1,67±0,37

Chaque valeur représente la moyenne du poids relatif des organes ± ESM, n= 8. Témoin AP = Témoin Activité Physique. \*P< 0,05, différence significative à 5% par rapport au Témoin AP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.1.5-Paramètres biochimiques sériques des rats

Les paramètres biochimiques sériques (glucose, lactate, urée et triglycérides) ont été évalués chez les rats à la suite du test de nage de 90 minutes. Les résultats de ces paramètres sont présentés dans le tableau XVI. Les données de ce tableau montrent que tous les paramètres biochimiques sériques des rats des groupes test et témoin normal ont connu des variations significatives (p<0,05- p<0,001) en comparaison au témoin AP. Les taux de lactate, urée et triglycérides ont connu des baisses significatives dans les groupes tests en comparaison au témoin AP. La glycémie quant à elle a connu une augmentation significative (p<0,05) dans tous les groupes tests. A l'exception du taux de triglycérides sériques, les variations des autres paramètres biochimiques sériques évalué dans ce travail semblent être doses dépendantes.

**Tableau XVI:** Variation des paramètres biochimiques sériques des rats soumis au test de nage de 90 minutes

Paramètres biochimiques sériques	Témoin Normal	Témoin AP	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	<i>M. oleifera</i> 400mg/kg
Glucose sérique (mg/dl)	79,38±4,62***	119,90±24,87	145,01±16,25*	147,40±21,35*	163,90±16,10***
Lactate sérique (mmol/L)	4,25±0,88***	31,27±3,21	24,14±2,41*	19,37±4,53***	18,87±6,77***
Urée sérique (mg/dl)	14,27±3,09***	45,03±13,26	26,78±8,77**	26,41±8,19**	28,21±9,37***
Triglycérides sériques (mg/dl)	68,83±5,45***	176,77±26,61	75,05±7,63***	125,28±12,40***	58,42±7,22***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres biochimiques sériques ± ESM, n= 8. Témoin AP = Témoin Activité Physique. \*P< 0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1‰ par rapport au Groupe TAP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.1.6-Glycogène hépatique et musculaire

Les quantités de glycogène hépatique et musculaire dans les différents groupes de rats sont présentées dans le tableau XVII. L'analyse de ce tableau a montré une diminution significative ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) de la quantité de glycogène dans le lot témoin AP en comparaison aux lots expérimentaux (Moringa 100, 200 et 400 mg/kg) et témoin normal. En effet, les taux de glycogènes hépatiques des rats des groupes tests ont augmenté de 22,00, 28,34 et 28,05% respectivement pour les groupes Moringa 100, 200 et 400 mg/kg. Quant aux taux de glycogènes musculaires des rats des groupes tests, ils ont connu des augmentations de 73,11, 131,93 et 125,21% respectivement pour les groupes Moringa 100, 200 et 400 mg/kg.

**Tableau XVII:** Variation des quantités de glycogènes hépatique et musculaire chez les rats soumis au test de la nage de 90 minutes

Groupes	Quantité de glycogène (mg/g)	
	Glycogène hépatique	Glycogène musculaire
Témoin Normal	52,69±4,86***	6,14±1,09***
Témoin AP	17,68±1,74	1,19±0,46
<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	21,57±2,45*	2,06±0,77*
<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	22,69±3,44**	2,76±0,78***
<i>M. oleifera</i> 400mg/kg	22,64±3,69**	2,68±0,68***

Chaque valeur représente la moyenne des quantités de glycogènes hépatique ou musculaire  $\pm$  ESM, n= 8. Témoin AP = Témoin Activité Physique. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin AP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.1.7-Paramètres du stress oxydant

Les tableaux XVIII présentent la variation des paramètres du stress oxydant hépatiques et musculaires dans les différents lots de rats soumis au test de la nage de 90 minutes. L'analyse des données de ce tableau a montré que l'activité de la SOD et le GSH ont augmenté de manière significatives ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) chez les rats du groupe témoin AP en comparaison aux groupes Moringa 100, 200 et 400 mg/kg et témoin normal, aussi bien au niveau hépatique que musculaire. La CAT (musculaire et hépatique) a connu une augmentation significative ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) seulement dans les groupes Moringa 200 et 400 mg/kg. Le MDA (hépatique et musculaire) a quant à lui connu une baisse significative dans tous les lots tests ( $p < 0,01$ - $p < 0,001$ ). L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* en modifiant les paramètres du stress oxydant (SOD, CAT, GSH et MDA), aurait donc des propriétés antioxydant.

**Tableau XVIII :** Variation des paramètres du stress oxydant des rats soumis au test de la nage de 90 minutes

Paramètres du stress oxydant	Témoin Normal	Témoin AP	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	<i>M. oleifera</i> 400mg/kg
<b>FOIE</b>					
<b>SOD</b> (U/mg de protéine)	13,17±2,64***	31,09±3,1	35,35±2,61*	38,42±3,22***	39,11±3,48***
<b>MDA</b> (µmol/g)	8,82±3,08***	52,00±5,66	42,13±3,64***	41,63±4,91***	42,32±4,43***
<b>CAT</b> (U/mg de protéine)	14,66±0,97***	25,13±2,17	27,52±1,64	29,33±1,92**	28,34±2,67*
<b>GSH</b> (µmol/mg de protéine)	3,23±1,04	3,62±0,71	5,63±1,13**	6,22±1,12***	6,95±1,74***
<b>MUSCLE GASTROCNEMIEN</b>					
<b>SOD</b> (U/mg de protéine)	5,86±1,07	6,55±0,98	8,95±1,06***	9,23±1,54***	9,12±0,87***
<b>MDA</b> (µmol/g)	5,69±1,02***	33,24±5,24	24,13±4,57**	22,28±4,63***	22,14±4,54***
<b>CAT</b> (U/mg de protéine)	0,22±0,07	0,27±0,05	0,32±0,04	0,38±0,03***	0,39±0,05***
<b>GSH</b> (µmol/mg de protéine)	0,65±0,98	0,88±0,37	2,98±0,26**	4,09±1,97***	3,75±1,04***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres du stress oxydant ± ESM, n= 8. Témoin AP = Témoin Activité Physique. \*P< 0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin AP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

**Tableau XIX:** Variation des paramètres hématologiques des rats soumis au test de la nage de 90 minutes

Paramètres Hématologiques	Témoin Normal	Témoin AP	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	<i>M. oleifera</i> 400mg/kg
<b>Globules Blanc</b> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	8,69±1,93	10,70±4,45	9,07±1,67	9,60±2,47	11,32±4,31
<b>Globules Rouges</b> (×10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	6,34±0,28	6,51±0,25	6,57±0,70	6,12±0,16	6,36±0,20
<b>Hémoglobine</b> (g/dl)	13,04±0,71	12,30±1,01	13,00±0,22*	12,37±0,26	12,22±0,29
<b>Hématocrite</b> (%)	36,10±1,54	35,12±0,22	33,82±0,85	32,55±1,35**	34,2±1,09
<b>Plaquettes</b> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	561,50±78,17	559,25±40,79	543,75±19,50	649,25±113,84	497,75±58,26
<b>%Lymphocytes</b> (%)	33,96±6,30*	54,82±23,35	70,87±6,42*	63,70±7,44	62,17±3,55
<b>%Monocytes</b> (%)	8,65±2,08	10,13±5,05	13,72±4,19	13,15±2,92	14,02±1,27
<b>%Granulocytes</b> (%)	57,38±5,47***	24,80±6,70	15,40±3,75*	23,15±7,75	23,80±4,75
<b>Lymphocytes</b> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	2,90±0,81***	8,10±2,20	6,30±0,70*	6,05±1,61*	5,42±1,03
<b>Monocytes</b> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,71±0,14	1,20±0,89	1,22±0,58	1,17±0,22	1,17±0,27
<b>Granulocytes</b> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	4,87±1,27*	3,00±1,73	1,55±0,50*	2,37±1,26	2,22±0,61

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres hématologiques ± ESM, n= 8. Témoin AP = Témoin Activité Physique. \*P< 0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin AP (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

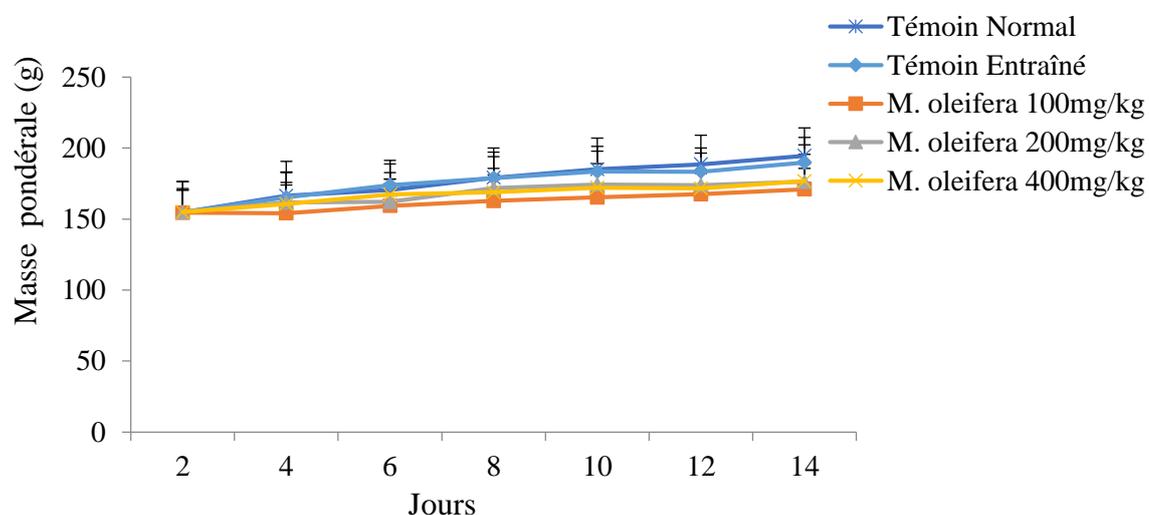
### III.1.2.1.8-Paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques sont présentés dans le tableau XIX. L'analyse de ces données montre une augmentation significative du taux d'hémoglobine et du pourcentage de lymphocyte dans le lot Moringa 100 en comparaison au témoin AP ( $p < 0,05$ ). Par ailleurs, une baisse significative ( $p < 0,05$ ) du taux d'hématocrite, du pourcentage de Granulocyte, des lymphocytes et des granulocytes a été observée dans le lot Moringa 100 et le lot Moringa 200 en comparaison au témoin AP.

### III.1.2.2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur la fatigue induite par l'activité physique chronique

#### III.1.2.2.1-Masse pondérale

L'évolution de la masse pondérale des rats de différents groupes soumis à une activité physique chronique est présentée sur la figure 15. L'analyse des données de cette figure n'a montré aucune différence significative entre la masse pondérale des rats du groupe témoin entraîné et celles des rats des groupes tests et témoin normal ( $p > 0,05$ ) durant toute la période d'expérimentation. L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* n'a pas eu d'effet sur l'évolution pondérale des rats soumis à une activité physique chronique.



**Figure 15 :** Evolution de la masse pondérale des rats soumis à une activité physique chronique. Chaque point représente la moyenne de la masse corporelle  $\pm$  ESM,  $n = 8$ .

#### III.1.2.2.2-Prises alimentaire et hydrique

La variation de la prise alimentaire et hydrique des différents lots au cours de l'expérimentation est présentée dans le tableau XX. L'analyse de ces résultats n'a montré aucune différence significative entre les quantités d'aliments consommés par les rats des groupes tests et témoin normal et celle du groupe témoin entraînement ( $p > 0,05$ ) pendant toute la durée de

l'expérimentation. Cependant, une augmentation significative de la consommation d'eau des rats du groupe *M. oleifera* 200mg/kg en comparaison à celle du groupe témoin entraînement, aussi bien durant la première semaine que la deuxième ( $p < 0,05$ ), a été observée.

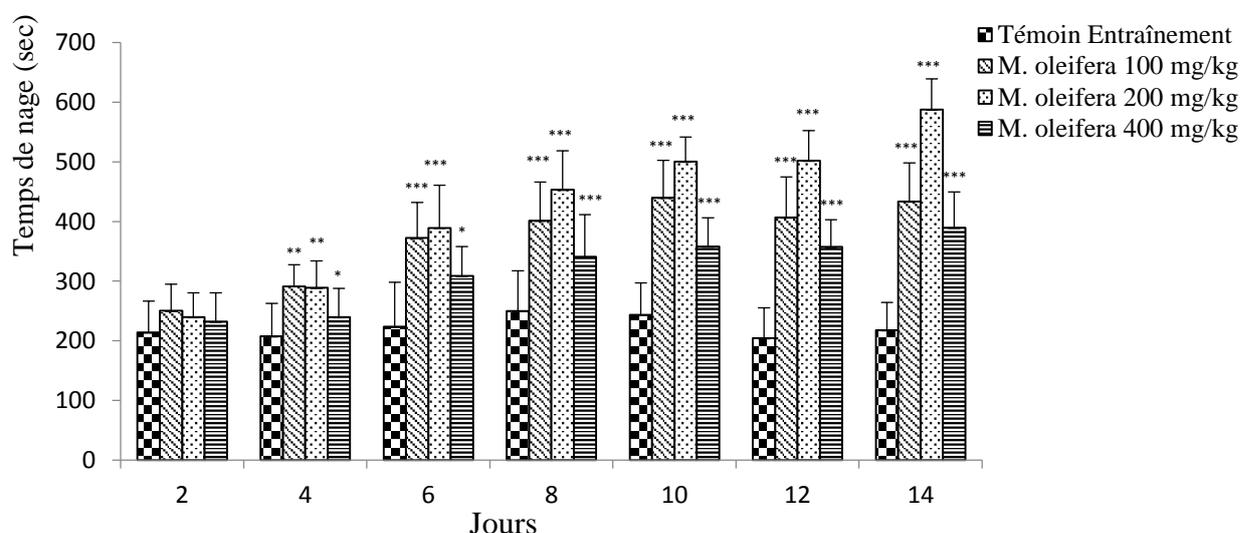
**Tableau XX :** Quantités d'aliments et d'eau consommées par les rats soumis à une activité physique chronique

	Semaine	Témoin Normal	Témoin Entraînement	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Prise alimentaire (g/rat)	1	205,72±17,64	200,08±19,66	194,44±13,31	184,14±18,64	194,44±16,10
	2	169,64±18,71	160,85±14,39	167,42±18,09	171,79±16,69	163,19±18,74
Prise hydrique (ml/rat)	1	144,98±15,84	140,97±13,42	146,61±13,52	160,14±8,92*	148,94±14,59
	2	144,25±12,80	140,29±9,34	148,60±19,09	158,73±15,54*	142,04±10,42

Chaque valeur représente la moyenne de la prise alimentaire ou hydrique  $\pm$  ESM,  $n = 8$ . \* $P < 0,05$  : différence significative à 5% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.2.3-Temps de nage des rats soumis à une activité physique chronique

L'endurance physique des rats lors des séances d'entraînement à la nage avec une charge de 10% de poids corporel est exprimée en temps de nage (Figure 16). Les données de cette figure n'ont montré aucune différence significative de temps de nage à la première séance d'entraînement, entre les rats du groupe témoin entraînement et ceux des groupes tests ( $p > 0,05$ ). A contrario, de la 2<sup>ème</sup> à la 7<sup>ème</sup> séance d'entraînement, le temps de nage des rats des groupes tests ont significativement augmenté en comparaison au groupe témoin entraîné ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ). Cette augmentation du temps de nage a été progressive dans tous les groupes tests. La valeur maximale du temps de nage ( $587,50 \pm 51,64$  secondes) a été obtenue à la dose de 200 mg/kg lors de la 7<sup>ème</sup> séance d'entraînement à la nage (14<sup>ème</sup> jour d'expérimentation).



**Figure 16 :** Temps de nage des rats au cours d'une activité physique chronique

Chaque barre représente la moyenne du temps de nage  $\pm$  ESM,  $n = 8$ . \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.2.4-Poids relatif des organes

Le tableau XXI présente la variation du poids relatif des organes des rats soumis à une activité physique chronique. L'analyse des données de ce tableau n'a montré aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les poids relatifs des organes (foie, poumon, rein testicule, rate et masse grasse) des rats du lot témoin entraîné et ceux des lots expérimentaux et témoin normal. Par contre, des augmentations significatives ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) du poids relatifs du cœur et du cerveau à la dose de 100 mg/kg ( $0,38 \pm 0,03$  et  $0,91 \pm 0,14\%$  respectivement pour le cœur et le cerveau) et 200 mg/kg ( $0,42 \pm 0,10$  et  $0,99 \pm 0,19\%$  respectivement pour le cœur et le cerveau) ont été observées en comparaison au groupe témoin entraîné ( $0,29 \pm 0,04$  et  $0,70 \pm 0,07\%$  respectivement pour le cœur et le cerveau). L'extrait aqueux de *M. oleifera* aux doses de 100 et 200mg/kg aurait donc des effets sur le poids relatif du cœur et du cerveau des rats soumis à un entraînement à la nage.

**Tableau XXI :** Poids relatif des organes des rats soumis à une activité physique chronique

Poids relative des organes (%)	Témoin Normal	Témoin Entraînement	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Foie	3,51±0,62	3,29±0,45	3,31±0,25	3,36±0,42	3,12±0,42
Poumons	0,78±0,24	0,79±0,22	0,89±0,25	1,11±0,32	0,83±0,23
Rein gauche	0,29±0,05	0,29±0,06	0,31±0,05	0,35±0,11	0,29±0,07
Reins droit	0,30±0,04	0,28±0,05	0,32±0,04	0,33±0,03	0,32±0,06
Testicule gauche	0,61±0,09	0,57±0,08	0,61±0,07	0,68±0,10	0,62±0,09
Testicule droit	0,60±0,11	0,58±0,11	0,63±0,06	0,67±0,10	0,62±0,12
Cœur	0,28±0,06	0,29±0,04	0,38±0,03*	0,42±0,10**	0,35±0,06
Rate	0,27±0,06	0,24±0,11	0,30±0,11	0,34±0,14	0,31±0,08
Cerveau	0,68±0,10	0,70±0,07	0,91±0,14*	0,99±0,19***	0,76±0,09
Masse grasseuse	1,16±0,19	1,01±0,20	1,02±0,21	1,18±0,28	1,06±0,22

Chaque valeur représente la moyenne du poids relatif des organes  $\pm$  ESM, n = 8. \*P< 0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.2.5-Paramètres biochimiques sériques

Les paramètres biochimiques sériques évalués au cours de l'expérimentation sont: le glucose, le lactate, l'urée et les triglycérides. Le tableau XXII présente les résultats de ces paramètres chez les rats soumis à une activité physique chronique. Les données de ce tableau montrent qu'à l'exception de la glycémie qui n'a pas varié de façon significatives dans les groupes tests ( $p > 0,05$ ), le lactate, l'urée et triglycériques ont connu une baisse significative ( $p < 0,05$ - $p < 0,01$ ) dans ces lots en comparaison au lot témoin entraîné. L'urée n'a baissé de façon significative que dans les groupes *M. oleifera* 200 et 400 mg/kg ( $p < 0,01$ - $p < 0,001$ ), avec des taux de baisse de 34,35 et 35,69%

respectivement pour les doses de 200 mg/kg et 400mg/kg. Les taux de baisse du lactate dans les groupes tests varient entre 38,55 et 53,83% tandis que ceux des triglycérides varient entre 59,03 et 62,08% par rapport au groupe témoin entraîné. Les taux de baisse du lactate, de l'urée et des triglycérides les plus élevés ont été observés à la dose de 200 mg/kg.

**Tableau XXII:** Paramètres biochimiques sériques des rats soumis à une activité physique chronique

Paramètres biochimiques sériques	Témoin normal	Témoin entraîné	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Glucose (mg/dl)	81,26±6,37***	157,12±41,39	170,25±29,35	132,37±35,42	157,62±26,75
Lactate (mmol/l)	5,04±0,96***	26,25±1,91	15,50±1,77***	12,12±1,13***	16,13±1,46***
Urée (mg/dl)	12,58±2,21***	35,75±6,90	29,06±5,63	23,47±5,04**	22,99±6,84***
Triglycérides (mg/dl)	74,26±4,87***	157,29±25,57	61,24±7,42***	59,65±9,72***	64,44±10,46***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres biochimiques sériques ± ESM, n = 8. \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 1% et 1% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.2.6-Glycogène hépatique et musculaire

Les quantités de glycogène hépatique et musculaire dans les différents groupes de rats sont présentées dans le tableau XXIII. L'analyse des résultats de ce tableau a montré une augmentation significative (p<0,05 et p<0,001) de la quantité de glycogène musculaire dans tous les lots tests en comparaison au groupe témoin. Pour ce qui est de la quantité de glycogène hépatique, elle n'a augmenté de façon significative que dans les groupes *M. oleifera* 200 et *M. oleifera* 400mg/kg (p<0,001). Les quantités maximales de glycogène hépatiques (42,09±7,61 mg/g) et musculaire (5,05±1,28 mg/g) ont été observées à la dose de 200 mg/kg.

**Tableau XXIII :** Quantités de glycogène hépatique et musculaire des rats soumis à une activité physique chronique

Groupes	Glycogène (mg/g)	
	Foie	Muscle
Témoin normal	41,73±5,27***	6,91±1,83***
Témoin entraîné	23,89±4,34	2,06±0,77
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	30,35±4,44	3,77±1,33*
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	42,09±7,61***	5,05±1,28***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	38,78±7,56***	4,62±1,05***

Chaque valeur représente la moyenne des réserves glycogéniques ± ESM, n = 8. \*P<0,05, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5% et 1% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.7-Paramètres du stress oxydant

Les résultats des paramètres du stress oxydant chez les rats au niveau hépatiques et musculaires sont présentés dans le tableau XXIV. Il ressort de l'analyse de ces résultats que la SOD et la CAT hépatique du groupe *M. oleifera* 100mg/kg n'ont pas connu d'augmentation significative ( $p>0,05$ ) en comparaison au groupe témoin entraîné. Ils ont significativement augmenté ( $p<0,05$  et  $p<0,01$ ) chez les rats des groupes *M. oleifera* 200mg/kg, *M. oleifera* 400mg/kg et témoin normal aussi bien au niveau hépatique que musculaire en comparaison au témoin entraîné. Le GSH quant à lui a connu une augmentation significative dans tous les groupes tests aussi bien au niveau hépatique que musculaire ( $p<0,05$ - $p<0,001$ ). A l'exception du lot *M. oleifera* 100 mg/kg dans lequel le MDA hépatique n'a pas diminué de manière significative ( $p>0,05$ ), tous les autres lots tests (*M. oleifera* 200mg/kg et *M. oleifera* 400mg/kg) ont montré une diminution significative de ce paramètre aussi bien au niveau hépatique que musculaire ( $p<0,01$ - $p<0,001$ ).

**Tableau XXIV:** Paramètres du stress oxydant au niveau hépatique et musculaire chez les rats soumis à l'activité physique chronique

Parameters du stress oxydant	Témoin normal	Témoin entraîné	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
<b>PARAMETRES HEPATIQUES</b>					
SOD (U/mg de protéine)	12,26±1,83***	29,90±2,65	33,05±2,51	33,84±3,52*	34,10±3,71*
MDA (µmol/g)	6,07±1,04***	47,00±7,76	39,13±5,55	33,80±7,58**	33,60±6,17**
CAT (U/mg de protéine)	10,31±1,62***	21,40±2,43	23,89±1,71	25,53±1,87**	24,63±2,71*
GSH (µmol/mg de protéine)	1,48±0,34	2,40±0,50	4,35±1,06***	4,82±1,55***	5,69±0,62***
<b>PARAMETRES MUSCULAIRES</b>					
SOD (U/mg de protéine)	3,39±0,37***	5,85±0,89	7,25±0,86*	7,60±1,23**	7,42±0,95*
MDA (µmol/g)	4,72±1,02***	30,08±5,05	22,34±3,21**	18,92±3,52***	22,03±4,47**
CAT (U/mg de protéine)	0,13±0,02***	0,25±0,03	0,29±0,02*	0,30±0,02**	0,29±0,03**
GSH (µmol/mg de protéine)	0,38±0,07	0,82±0,40	2,90±1,17***	2,39±1,65*	3,71±0,87***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres du stress oxydant ± ESM, n = 8. \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.2.8-Paramètres hématologiques

Les résultats des paramètres hématologiques des rats soumis à l'activité physique chronique sont présentés dans le tableau XXV. Les données de ce tableau montrent une augmentation significative du taux d'hémoglobine, du pourcentage de lymphocyte, des globules blancs et des globules rouges dans les lots *M. oleifera* 200mg/kg et 400mg/kg en comparaison au témoin entraîné ( $p<0,05$ - $p<0,001$ ). Le pourcentage de granulocyte des rats du lot *M. oleifera* 200mg/kg a connu une baisse significative en comparaison au témoin entraîné ( $p<0,05$ ).

**Tableau XXV:** Paramètres hématologiques des rats soumis à l'activité physique chronique

Paramètres hématologiques	Témoin normal	Témoin entraîné	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Globules Blanc ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	9,43 $\pm$ 2,15*	7,04 $\pm$ 1,73	7,70 $\pm$ 2,02	9,94 $\pm$ 0,92**	9,72 $\pm$ 1,34*
Lymphocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	5,79 $\pm$ 0,99***	1,76 $\pm$ 0,60	2,46 $\pm$ 0,96	4,42 $\pm$ 1,21***	3,88 $\pm$ 1,16***
Monocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	0,91 $\pm$ 0,31	0,88 $\pm$ 0,22	0,87 $\pm$ 0,23	0,90 $\pm$ 0,22	0,94 $\pm$ 0,30
Granulocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	3,94 $\pm$ 1,09	4,40 $\pm$ 1,47	4,37 $\pm$ 1,31	4,71 $\pm$ 1,47	5,03 $\pm$ 0,76
%Lymphocytes (%)	54,31 $\pm$ 11,36***	25,34 $\pm$ 7,42	31,36 $\pm$ 8,53	45,03 $\pm$ 13,90**	39,19 $\pm$ 7,20*
%Monocytes (%)	8,57 $\pm$ 2,06*	13,20 $\pm$ 5,38	11,60 $\pm$ 2,68	9,13 $\pm$ 2,33	9,85 $\pm$ 3,46
%Granulocytes (%)	37,12 $\pm$ 4,37***	61,46 $\pm$ 6,91	57,03 $\pm$ 7,97	46,75 $\pm$ 12,25**	52,14 $\pm$ 8,07
Globules Rouges ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	4,94 $\pm$ 0,80	5,30 $\pm$ 0,77	5,63 $\pm$ 0,55	6,63 $\pm$ 0,91**	6,25 $\pm$ 0,81
Hématocrite (%)	38,17 $\pm$ 5,84	34,39 $\pm$ 2,44	37,31 $\pm$ 2,15	38,59 $\pm$ 4,39	39,23 $\pm$ 5,71
Hémoglobine (g/dl)	12,65 $\pm$ 1,28	12,04 $\pm$ 1,08	13,06 $\pm$ 0,81	13,54 $\pm$ 0,82*	13,05 $\pm$ 1,08
Plaquettes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	548,14 $\pm$ 73,23	539,37 $\pm$ 90,95	622,25 $\pm$ 110,67	628,50 $\pm$ 169,27	654,62 $\pm$ 91,39

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres hématologiques  $\pm$  ESM, n = 8. \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Groupe témoin entraîné (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.3-Effets antistress de l'extrait de *M. oleifera*

#### III.1.3.1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur le stress aigu

##### III.1.3.1.1-Prises alimentaire et hydrique

La prise alimentaire et hydrique des rats soumis au stress aigu est présentée dans le tableau XXVI. L'analyse des données de ce tableau n'a montré aucune différence significative entre les différents lots ( $p>0,05$ ). L'extrait de *M. oleifera* n'aurait donc pas d'effet sur la prise hydrique et alimentaire des rats soumis au stress aigu.

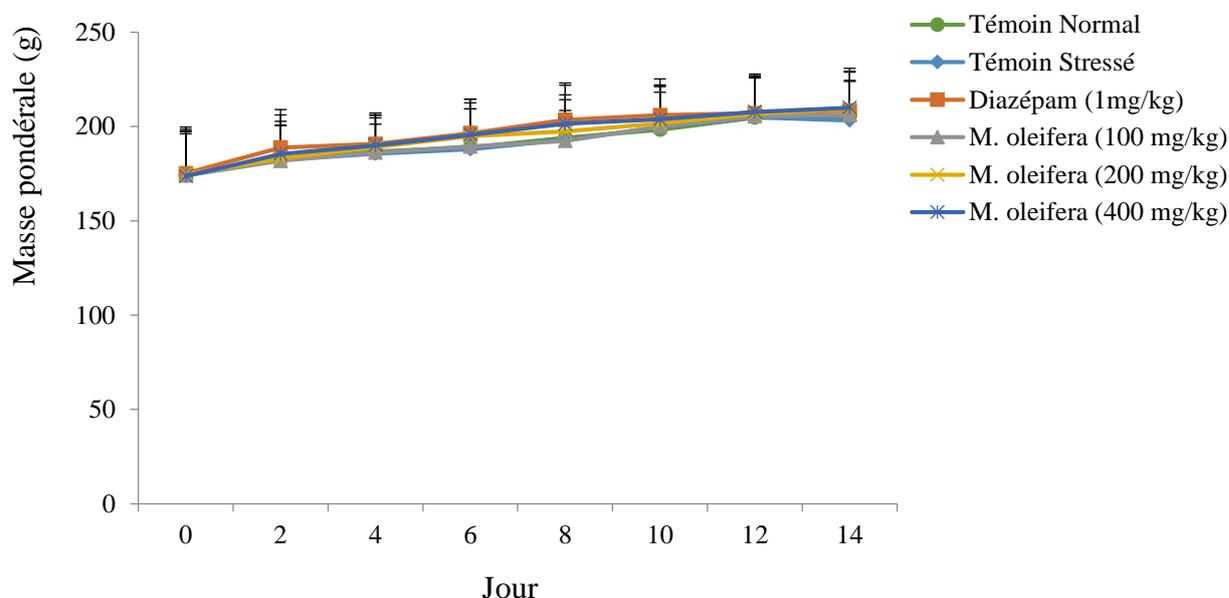
**Tableau XXVI :** Prises alimentaire et hydrique des rats soumis au stress aigu

Groupes	Prise alimentaire (g/rat)		Prise hydrique (ml/rat)	
	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 1	Semaine 2
<i>Témoin Normal</i>	161,76 $\pm$ 5,52	162,78 $\pm$ 6,24	141,88 $\pm$ 5,42	156,31 $\pm$ 8,22
<i>Témoin Stressé</i>	164,25 $\pm$ 6,38	164,79 $\pm$ 9,50	139,23 $\pm$ 7,16	162,16 $\pm$ 6,51
Diazépam (1mg/kg)	169,46 $\pm$ 6,66	176,16 $\pm$ 8,50	143,71 $\pm$ 6,24	170,34 $\pm$ 5,51
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	166,54 $\pm$ 4,93	169,46 $\pm$ 6,03	147,67 $\pm$ 6,24	163,62 $\pm$ 7,81
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	170,34 $\pm$ 4,73	175,59 $\pm$ 9,61	146,71 $\pm$ 5,86	169,23 $\pm$ 7,22
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	170,34 $\pm$ 8,14	169,46 $\pm$ 6,35	142,34 $\pm$ 7,50	164,79 $\pm$ 9,50

Chaque valeur représente la moyenne de la prise alimentaire ou hydrique  $\pm$  ESM, n = 5.

### III.1.3.1.2-Evolution pondérale

La figure 17 présente l'évolution de la masse pondérale des rats de différents groupes. Les données de cette figure n'ont montré aucune différence significative de masse pondérale entre le groupe témoin stressé et les autres groupes expérimentaux ( $p > 0,05$ ). L'extrait de *M. oleifera* n'aurait donc pas d'effet sur l'évolution de la masse pondérale des rats soumis à un stress aigu.



**Figure 17 :** Evolution de la masse pondérale des rats soumis au stress aigu  
Chaque barre représente la moyenne de la masse pondérale  $\pm$  ESM,  $n = 5$ .

### III.1.3.1.3-Paramètres comportementaux : test de l' « open Field »

Les paramètres comportementaux (poids des fèces, temps passé au centre du dispositif, nombre de Crossing, Grooming et Rearing) en fonction des différents groupes sont présentés dans le tableau XXVII. L'analyse des données de ce tableau montre que le poids de fèces a diminué de façon significative ( $p < 0,001$ ) dans les groupes témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg, en comparaison au groupe témoin stressé. Il en est de même du temps passé au centre du dispositif et du nombre de « grooming » qui ont significativement diminué ( $p < 0,001$ ) dans les autres groupes (Témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison au groupe témoin stressé. Par contre, le nombre de « crossing » et de « rearing » ont significativement augmenté ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) aussi bien chez le témoin normal que chez le témoin positif (Diazépam) et les groupes test (*M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison au témoin stressé. L'extrait de *M. oleifera* modifierait de manière dose-dépendante le comportement des rats soumis au stress aigu.

**Tableau XXVII : Paramètres comportementaux des rats soumis au stress aigu**

Paramètres comportementaux	Poids des fèces (g)	TPC (sec)	Crossing	Grooming	Rearing
<i>Témoin Normal</i>	0,24±0,05***	3,36±0,97***	47,36±6,14***	1,54±0,96***	20,38±4,52***
<i>Témoin Stressé</i>	0,92±0,11	13,80±1,92	14,44±5,73	6,60±1,52	5,21±1,30
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	0,23±0,06***	3,24±0,71***	44,80±5,80***	1,60±0,89***	10,40±1,14**
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	0,29±0,06***	5,31±1,30***	23,40±5,94	3,03±0,70***	6,82±1,09
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	0,22±0,07***	4,60±0,88***	31,40±5,81***	2,11±1,14***	9,20±1,30*
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	0,36±0,09***	4,12±1,19***	35,32±4,61***	1,69±0,55***	8,81±1,92

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres comportementaux ± ESM, n = 5. \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett). TPC= Temps Passé au Centre du dispositif.

### III.1.3.1.4-Poids des organes

Les poids relatif des organes de différents groupes de rats sont présentés dans le tableau XXVIII. L'analyse des données de ce tableau n'a montré aucune différence significative entre le poids relatif des organes des rats du groupe témoin stressé et celui des groupes témoin normal, témoin positif (Diazépam) et *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg (p>0,05).

**Tableau XXVIII: Poids relatifs des organes des rats soumis au stress aigu**

Organes	<i>Témoin Normal</i>	<i>Témoin Stressé</i>	<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>
<b>Foie</b>	3,61±0,24	3,53±0,22	3,74±0,33	3,74±0,19	3,47±0,25	3,33±0,22
Poumons	0,69±0,16	0,71±0,10	0,77±0,13	0,96±0,17	0,65±0,26	0,87±0,09
Cœur	0,30±0,04	0,27±0,03	0,29±0,04	0,32±0,03	0,27±0,03	0,31±0,04
Reins	0,28±0,04	0,27±0,03	0,29±0,02	0,29±0,02	0,26±0,01	0,31±0,05
Testicules	0,52±0,11	0,51±0,13	0,58±0,13	0,50±0,07	0,64±0,18	0,56±0,08
Rate	0,25±0,06	0,23±0,07	0,24±0,08	0,36±0,04	0,24±0,16	0,34±0,10
Estomac	0,97±0,32	0,98±0,29	0,99±0,41	1,01±0,51	0,97±0,45	0,85±0,28
Cerveau	0,84±0,10	0,71±0,07	0,92±0,23	0,89±0,10	0,92±0,11	0,91±0,06

Chaque valeur représente la moyenne du poids relatif des organes ± ESM, n = 5.

### III.1.3.1.5-Score des ulcères

Le score des ulcères des rats de différents lots soumis au stress aigu est présenté dans le tableau XXIX. Les données de ce tableau montrent que l'extrait de *M. oleifera* aux doses 100, 200 et 400 mg/kg a réduit l'indice d'ulcère de manière dose-dépendante et de façon significative (p<0,001) avec des valeurs d'IU respectives de 6,2±1,30, 4,8±1,48 et 4,6±1,14 par rapport au témoin stressé (9,8±0,45), avec des pourcentages d'inhibition de 36,73, 51,02 et 53,06 respectivement pour

les groupes *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg. La production du mucus a connu une augmentation dose-dépendante significative ( $p < 0,001$ ) chez les lots *M. oleifera* 200 et 400 mg/kg par rapport au témoin stressé.

**Tableau XXIX:** Score des ulcères des rats de différents lots soumis au stress aigu

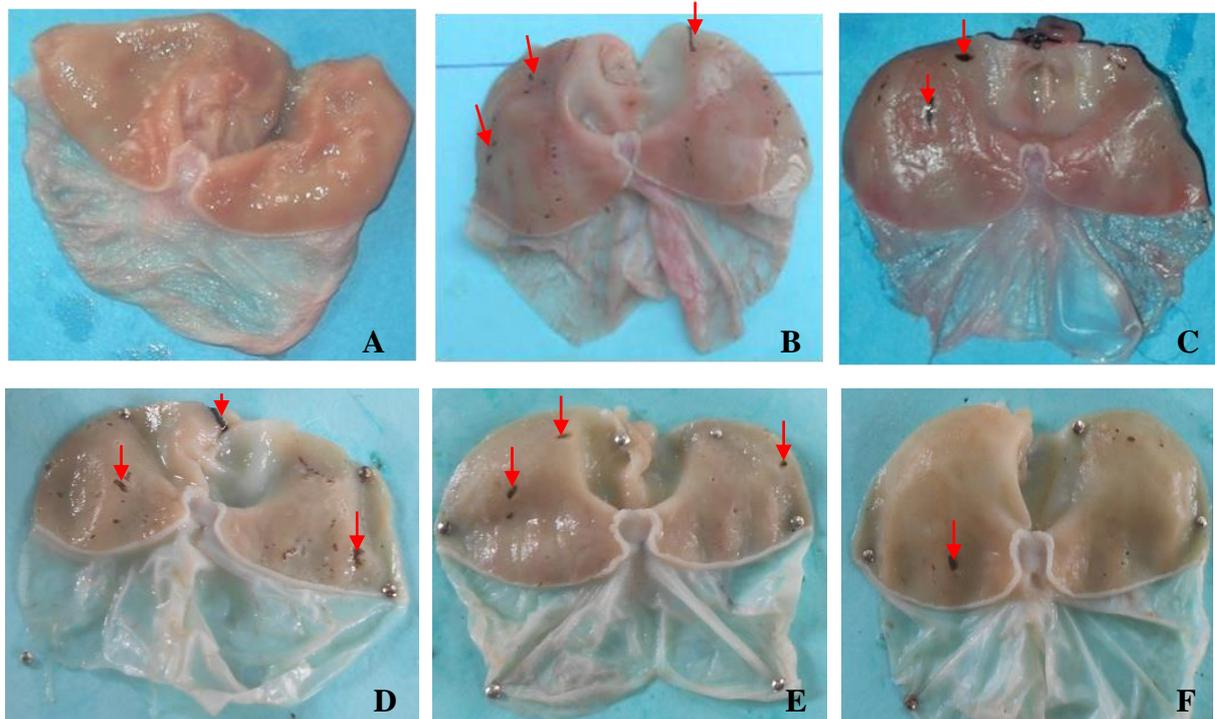
Score des ulcères	Surface Ulcérée	%SU	Indice d'Ulcère	%I	Poids du mucus (mg)
<i>Témoin Normal</i>	-	-	-	-	270,57±5,33
<i>Témoin Stressé</i>	48±10,52	7,11±1,56	9,8±0,45	-	257,46±4,57
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	6,7±4,09***	1,05±0,23***	3,4±1,14***	65,31	266,58±7,41*
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	18,3±6,96***	2,71±1,03***	6,2±1,30***	36,73	259,65±3,08
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	11,7±7,02***	1,73±1,04***	4,8±1,48***	51,02	278,02±4,72***
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	10,5±5,69***	1,56±0,84***	4,6±1,14***	53,06	284,31±5,88***

Les valeurs représentent les moyennes du score des ulcères ± ESM, n=5. \* $P < 0,05$ , \*\*\* $P < 0,001$  : différence significative à 5% et 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett). % SU = pourcentage de la surface ulcérée; % I = pourcentage d'inhibition.

Les photographies des lésions gastriques des rats de différents lots sont présentées sur la figure 18. Le plus grand niveau d'ulcération est observé chez le témoin stressé (photo B), avec un pourcentage de surface ulcéré de 7,11±1,56%. Ce pourcentage baisse progressivement et de manière dose dépendante chez les lots ayant consommé l'extrait. Le plus petit niveau d'ulcération est observé chez les rats traités avec la plus grande dose de l'extrait (Photo F), avec un pourcentage de la surface ulcérée de 1,56±0,84 %.

### III.1.3.1.6-Paramètres du stress oxydant

Les résultats des paramètres du stress oxydant des rats de différents lots soumis au stress aigu sont présentés dans le tableau XXX. Il ressort de l'analyse des données de ce tableau, que l'activité de la SOD, la CAT et le MDA ont augmenté de manière significative chez les rats du groupe témoin stressé en comparaison aux rats du groupe témoin normal ( $p < 0,01$ - $p < 0,001$ ). Par contre, une baisse significative du GSH chez les rats du groupe témoin stressé en comparaison aux rats du groupe témoin normal a été observée ( $p < 0,01$ ). Chez les rats ayant consommé l'extrait, l'activité de la SOD, le GSH et la CAT ont augmenté de manière significative dans tous les lots en comparaison aux rats du groupe témoin stressé ( $p < 0,001$ ). L'augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT dans ces lots est dose dépendante. Le MDA a, quant à lui, connu une baisse significative chez les rats ayant consommé l'extrait à différente dose, en comparaison au témoin stressé ( $p < 0,001$ ).



**Figure 18 :** Photos des estomacs des différents lots après induction du stress aigu

(A): Témoin Normal ; (B): Témoin stressé ; (C): Diazépam (1 mg/kg) ; (D): 100 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*; (E): 200 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*; (F); 400 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. →: Indications des lésions gastriques.

**Tableau XXX :** Paramètres du stress oxydant des rats soumis au stress aigu

Paramètres du stress oxydant	SOD (U/mg protéine)	GSH (μmol/mg de protéine)	CAT (U/mg protéine)	MDA (μmol/cm/g)
Témoin Normal	8,26±1,12**	3,20±0,41**	4,17±0,31**	7,20±1,48***
Témoin Stressé	11,53±0,77	1,64±0,11	5,83±0,54	30,08±3,05
Diazépam (1mg/kg)	25,49±1,08***	4,42±0,85***	13,77±1,05***	13,89±2,11***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	18,64±2,16***	5,06±1,00***	7,91±0,57***	13,70±1,96***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	20,37±1,17***	3,81±0,32***	9,64±0,83***	16,86±1,35***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	24,50±0,94***	4,51±0,61***	11,46±1,02***	15,92±1,09***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres du stress oxydant ± ESM, n = 5. \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 1% et 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.3.1.7-Paramètres biochimiques sériques

Le tableau XXXI présente le résultat des paramètres biochimiques sériques (glucose, urée et triglycérides) des rats qui ont été soumis au stress aigu. Des analyses de ce tableau, il ressort que le glucose, l'urée et les triglycérides sériques ont baissé de manière significative dans tous les lots

(témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison aux rats du lot témoin stressé ( $p < 0,001$ ). Les baisses du taux de glucose et des triglycérides sériques sont plus importantes à la dose de 400 mg/kg (dont les valeurs respectives sont de  $85,55 \pm 6,74$  mg/dl pour le glucose et de  $55,78 \pm 6,93$  mg/dl pour les triglycérides), tandis que la baisse du taux d'urée sérique est plus importante à la dose de 200 mg/kg ( $18,93 \pm 3,81$  mg/dl).

**Tableau XXXI:** Paramètres biochimiques sériques des rats soumis au stress aigu

Paramètres biochimiques sériques	Glucose (mg/dl)	Urée (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)
<i>Témoin Normal</i>	$76.61 \pm 5.42^{***}$	$14.63 \pm 3.11^{***}$	$52.84 \pm 7.12^{***}$
<i>Témoin Stressé</i>	$142.26 \pm 11.34$	$43.39 \pm 7.22$	$137.94 \pm 13.57$
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	$82.06 \pm 9.31^{***}$	$17.57 \pm 4.72^{***}$	$51.13 \pm 6.04^{***}$
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	$112.71 \pm 13.51^{***}$	$22.48 \pm 5.66^{***}$	$77.08 \pm 7.31^{***}$
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	$91.88 \pm 8.66^{***}$	$18.93 \pm 3.81^{***}$	$80.44 \pm 8.65^{***}$
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	$85.55 \pm 6.74^{***}$	$19.02 \pm 6.10^{***}$	$55.78 \pm 6.93^{***}$

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres biochimiques sériques  $\pm$  ESM,  $n = 5$ .  $^{***}P < 0,001$  : différence significative à 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.3.2-Effet de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur le stress chronique

#### III.1.3.2.1-Prise alimentaire et hydrique

La prise alimentaire et hydrique des rats soumis au stress chronique pendant deux semaines est présenté dans le tableau XXXII. L'analyse des données de ce tableau n'a montré aucune différence significative des prises alimentaires et hydrique entre les différents lots tout au long de l'expérimentation ( $p > 0,05$ ).

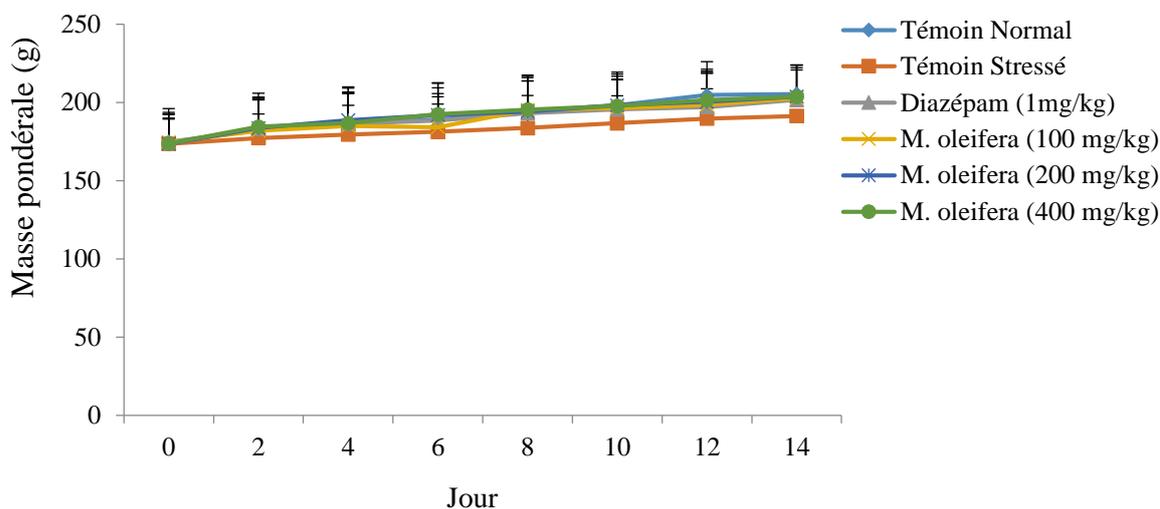
**Tableau XXXII:** Prises alimentaire et hydrique des rats soumis au stress chronique

Groupes	Prise alimentaire (g/rat)		Prise hydrique (ml/rat)	
	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 1	Semaine 2
<i>Témoin Normal</i>	$161,76 \pm 8,02$	$162,78 \pm 8,74$	$141,88 \pm 7,92$	$156,31 \pm 10,72$
<i>Témoin Stressé</i>	$154,25 \pm 9,18$	$156,62 \pm 10,44$	$144,67 \pm 10,00$	$152,41 \pm 10,14$
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	$163,89 \pm 4,81$	$169,03 \pm 6,86$	$150,59 \pm 6,86$	$155,87 \pm 6,50$
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	$156,91 \pm 6,29$	$166,63 \pm 9,56$	$140,32 \pm 9,31$	$152,25 \pm 12,14$
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	$166,84 \pm 8,01$	$169,85 \pm 8,74$	$142,04 \pm 10,58$	$156,98 \pm 10,00$
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	$168,45 \pm 11,40$	$176,01 \pm 5,96$	$156,77 \pm 13,19$	$160,13 \pm 13,54$

Chaque valeur représente la moyenne des prises alimentaire ou hydrique  $\pm$  ESM,  $n = 5$ .

### III.1.3.2.2-Evolution pondérale

La figure 19 présente l'évolution de la masse pondérale des rats de différents groupes soumis au stress chronique. Les données de cette figure n'ont montré aucune différence significative de masse pondérale entre le groupe témoin stressé et les autres groupes expérimentaux ( $p > 0,05$ ). L'extrait de *M. oleifera* n'aurait donc pas d'effet sur l'évolution de la masse pondérale des rats soumis au stress chronique.



**Figure 19** : Evolution de la masse pondérale des rats soumis au stress chronique  
Chaque barre représente la moyenne de la masse pondérale  $\pm$  ESM,  $n = 5$ .

### III.1.3.2.3-Paramètres comportementaux : test de l'arène ouverte (Open Field)

Les paramètres comportementaux (poids des fèces, temps passé au centre du dispositif, nombre de « crossing », « grooming » et « rearing ») en fonction des différents groupes sont présentés dans le tableau XXXIII. L'analyse des données de ce tableau montre que le poids de fèces a diminué de façon significative ( $p < 0,01$ - $p < 0,001$ ) dans les groupes témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg, en comparaison au groupe témoin stressé. Il en est de même du temps passé au centre du dispositif qui a significativement diminué ( $p < 0,001$ ) dans les autres groupes (Témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison au groupe témoin stressé. Le nombre de « grooming » n'a augmenté de manière significative que dans le groupe témoin normal en comparaison au témoin stressé ( $p < 0,01$ ). Le nombre de « crossing » et de « rearing » ont significativement augmenté ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ) aussi bien chez le témoin normal que chez le témoin positif (Diazépam) et les groupes test (*M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison au témoin stressé. L'augmentation du nombre de « crossing » et du nombre de « rearing », ainsi que la baisse du poids des fèces et du temps passé au centre du dispositif chez les rats ayant consommé l'extrait sont dose dépendante.

**Tableau XXXIII : Paramètres comportementaux des rats soumis au stress chronique**

Paramètres comportementaux	Poids des fèces (g)	TPC (sec)	Crossing	Grooming	Rearing
<i>Témoin Normal</i>	0,24±0,05***	3,36±0,97***	47,36±6,14***	1,54±0,96**	20,38±4,52***
<i>Témoin Stressé</i>	0,48±0,11	11,60±3,36	19,00±7,97	4,05±1,58	6,20±2,17
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	0,27±0,06***	3,85±1,64***	33,28±4,38**	2,15±1,0	15,40±1,34***
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	0,31±0,06**	5,84±1,64***	24,60±7,24	3,22±1,21	14,80±1,48***
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	0,24±0,07***	4,32±2,17***	30,46±5,76*	3,12±0,89	17,40±1,14***
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	0,26±0,09***	4,66±1,14***	37,44±6,27***	2,83±1,02	19,80±1,92***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres comportementaux ± ESM, n = 5. \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett). TPC= Temps Passé au Centre du dispositif.

### III.1.3.2.4-Poids des organes

Les poids relatif des organes de différents groupes de rats sont présentés dans le tableau XXXIV. L'analyse des données de ce tableau n'a montré aucune différence significative entre le poids relatif des organes des rats du groupe témoin stressé et celui des groupes témoin normal et témoin positif (Diazépam) (p>0,05). Une augmentation significative du poids relatif du cerveau dans les groupes *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg en comparaison au témoin stressé a été observé (p<0,05).

**Tableau XXXIV: Poids relatifs des organes des rats soumis au stress chronique**

Organes	<i>Témoin Normal</i>	<i>Témoin Stressé</i>	<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>
<b>Foie</b>	3,61±0,24	3,20±0,41	3,52±0,42	3,19±0,24	3,12±0,21	3,28±0,25
Poumons	0,69±0,16	0,69±0,10	0,86±0,25	0,91±0,31	1,03±0,36	0,84±0,15
Cœur	0,30±0,04	0,28±0,03	0,29±0,04	0,32±0,02	0,32±0,05	0,33±0,04
Reins	0,28±0,04	0,26±0,06	0,33±0,03	0,28±0,03	0,29±0,06	0,30±0,07
Testicules	0,52±0,11	0,55±0,08	0,60±0,06	0,59±0,06	0,68±0,13	0,65±0,08
Rate	0,25±0,06	0,24±0,04	0,29±0,11	0,30±0,11	0,32±0,17	0,31±0,09
Estomac	0,97±0,32	0,86±0,24	0,81±0,18	0,87±0,09	0,83±0,16	0,78±0,16
Cerveau	0,84±0,10	0,67±0,04	0,82±0,08	0,91±0,17*	0,93±0,22*	0,94±0,09*

Chaque valeur représente la moyenne du poids relatif des organes ± ESM, n = 5. \*P<0,05 : différence significative à 5% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.3.2.5-Score des ulcères

Le score des ulcères des rats de différents lots soumis au stress chronique est présenté dans le tableau XXXV. Les données de ce tableau montrent que l'extrait de *M. oleifera* aux doses 100,

200 et 400 mg/kg a réduit l'indice d'ulcère de façon significative ( $p < 0,001$ ) avec des valeurs d'IU respectives de  $4,80 \pm 0,84$ ,  $4,83 \pm 0,84$  et  $4,62 \pm 0,55$  par rapport au témoin stressé ( $9,80 \pm 0,45$ ). Les pourcentages d'inhibition sont de 51,02, 51,02 et 53,06 respectivement pour les groupes *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg. La production du mucus a connu une augmentation dose-dépendante et significative ( $p < 0,001$ ) chez les lots *M. oleifera* 200 et 400 mg/kg par rapport au témoin stressé.

**Tableau XXXV: Score des ulcères des rats soumis au stress chronique**

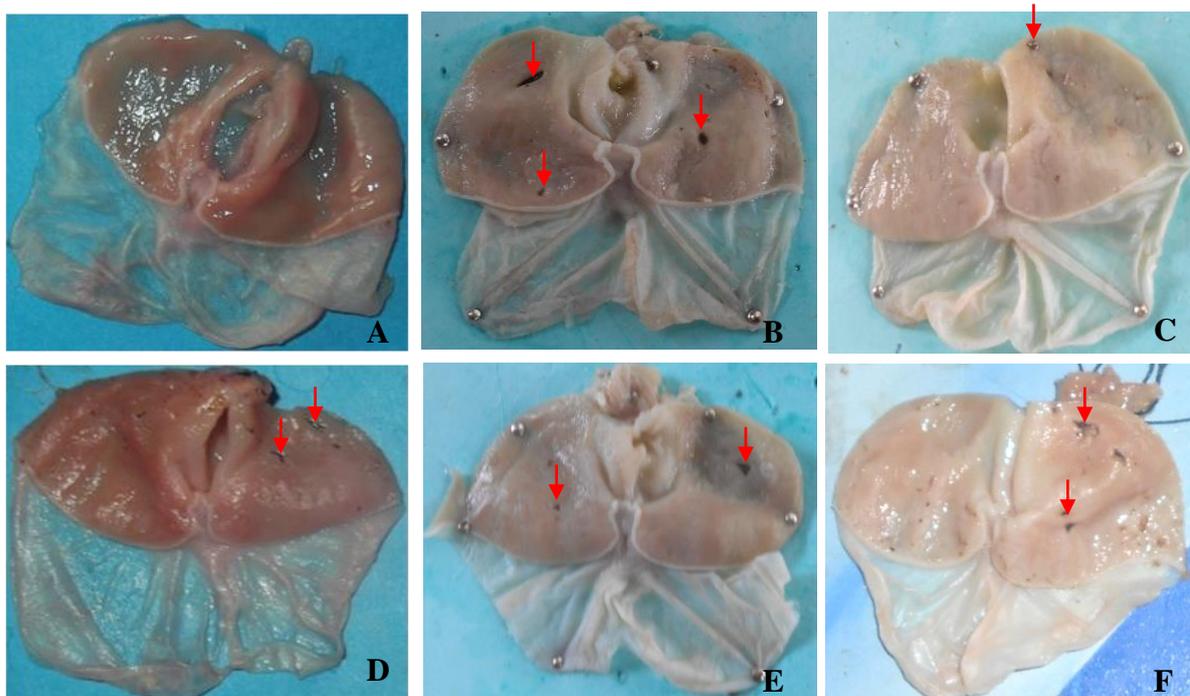
Score des ulcères	Surface Ulcérée	%SU	Indice d'Ulçère	% I	Poids du mucus (g)
<i>Témoin Normal</i>	-	-	-	-	$270,57 \pm 5,33$
<i>Témoin Stressé</i>	$50,60 \pm 12,22$	$7,50 \pm 1,81$	$9,80 \pm 0,45$	-	$237,46 \pm 4,57$
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	$7,00 \pm 3,24^{***}$	$1,04 \pm 0,48^{***}$	$3,60 \pm 0,55 \pm^{***}$	63,26	$264,33 \pm 8,67^{***}$
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	$11,91 \pm 5,22^{***}$	$1,76 \pm 0,77^{***}$	$4,80 \pm 0,84^{***}$	51,02	$245,96 \pm 6,41$
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	$11,50 \pm 4,36^{***}$	$1,70 \pm 0,65^{***}$	$4,83 \pm 0,84^{***}$	51,02	$276,87 \pm 7,95^{***}$
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	$10,92 \pm 2,61^{***}$	$1,61 \pm 0,39^{***}$	$4,62 \pm 0,55^{***}$	53,06	$278,63 \pm 5,64^{***}$

Chaque valeur représente la moyenne du score des ulcères  $\pm$  ESM,  $n=5$ .  $^{***}P < 0,001$  : différence significative à 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

Les photographies des lésions gastriques des rats de différents lots sont présentées sur la figure 20. Le plus grand niveau d'ulcération est observé chez le témoin stressé (photo B), avec un pourcentage de surface ulcérée de  $7,50 \pm 1,81\%$ . Ce pourcentage baisse progressivement et de manière dose dépendante chez les lots ayant consommé l'extrait. Le plus petit niveau d'ulcération est observé chez les rats traités avec la plus grande dose de l'extrait (Photo F), avec un pourcentage de la surface ulcérée de  $1,61 \pm 0,39\%$ .

### III.1.3.2.6-Paramètres du stress oxydant

Les résultats des paramètres du stress oxydant des rats de différents lots soumis au stress chronique sont présentés dans le tableau XXXVI. Il ressort de l'analyse des données de ce tableau, que l'activité du GSH a abaissé de manière significative chez les rats du groupe témoin stressé en comparaison aux rats du groupe témoin normal ( $p < 0,05$ ). Par contre, une augmentation significative du MDA chez les rats du groupe témoin stressé en comparaison aux rats du groupe témoin normal a été observée ( $p < 0,01$ ). Chez les rats ayant consommé le Diazépam et l'extrait, l'activité de la SOD, le GSH et la CAT ont augmenté de manière significative dans tous les lots en comparaison aux rats du groupe témoin stressé ( $p < 0,001$ ). L'augmentation de l'activité de la GSH chez les rats ayant consommé l'extrait est dose dépendante. Le MDA a, quant à lui, connu une baisse significative et dose dépendante chez les rats ayant consommé l'extrait, en comparaison au témoin stressé ( $p < 0,001$ ).



**Figure 20 :** Photos des estomacs des différents lots après induction du stress chronique  
 (A): Témoin Normal ; (B): Témoin stressé ; (C): Diazépam (1 mg/kg) ; (D): 100 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*; (E): 200 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*; (F): 400 mg/kg d'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. →: Indications des lésions gastriques.

**Tableau XXXVI :** Paramètres du stress oxydant des rats soumis au stress chronique

Paramètres du stress oxydant	SOD (U/mg protéine)	GSH ( $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	CAT (U/mg protéine)	MDA ( $\mu\text{mol/cm/g}$ )
Témoin Normal	8,26 $\pm$ 1,12	3,20 $\pm$ 0,41*	4,17 $\pm$ 0,31	7,20 $\pm$ 1,48***
Témoin Stressé	10,44 $\pm$ 0,58	2,32 $\pm$ 0,16	4,33 $\pm$ 0,19	27,55 $\pm$ 4,16
Diazépam (1mg/kg)	22,03 $\pm$ 2,15***	4,81 $\pm$ 0,67***	10,22 $\pm$ 0,97***	11,47 $\pm$ 1,91***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	18,21 $\pm$ 1,69***	3,71 $\pm$ 0,46***	6,43 $\pm$ 0,81***	11,03 $\pm$ 0,98***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	21,71 $\pm$ 1,87***	3,94 $\pm$ 0,30***	10,44 $\pm$ 0,72***	12,14 $\pm$ 1,04***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	20,10 $\pm$ 1,13***	4,18 $\pm$ 0,59***	10,11 $\pm$ 0,88***	10,17 $\pm$ 0,73***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres du stress oxydant  $\pm$  ESM, n = 5. \*P<0,05, \*\*\*P<0,001 : différence significative à 5%, et 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.3.2.7-Paramètres biochimiques sériques

Le tableau XXXVII présente le résultat des paramètres biochimiques sériques (glucose, urée et triglycérides) des rats qui ont été soumis au stress chronique. Des analyses de ce tableau, il ressort que le glucose, l'urée et les triglycérides sériques ont baissé de manière significative dans tous les lots (témoin normal, Diazépam, *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg) en comparaison aux rats du lot témoin stressé (p<0,001). Les baisses du taux de glucose et de l'urée sériques sont plus importantes

à la dose de 400 mg/kg (79,64±7,55 mg/dl pour le glucose et 15,21±3,51 mg/dl pour l'urée), tandis que celle du taux des triglycérides sériques est observée à 100 mg/kg (59,43±6,19 mg/dl).

**Tableau XXXVII:** Paramètres biochimiques sériques des rats soumis au stress chronique

Paramètres biochimiques sériques	Glucose (mg/dl)	Urée (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)
<i>Témoin Normal</i>	76,61±5,42***	14,63±3,11***	52,84±7,12***
<i>Témoin Stressé</i>	156,37±9,74	40,90±6,17	129,34±10,47
<i>Diazépam (1mg/kg)</i>	88,54±8,27***	18,53±2,36***	38,66±4,49***
<i>M. oleifera (100 mg/kg)</i>	93,28±7,19***	21,82±4,62***	59,43±6,19***
<i>M. oleifera (200 mg/kg)</i>	80,35±8,03***	18,01±2,71***	64,33±7,08***
<i>M. oleifera (400 mg/kg)</i>	79,64±7,55***	15,21±3,51***	65,84±5,10***

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres biochimiques sériques ± ESM, n = 5. \*\*\*P<0,001 : différence significative à 1% par rapport au Témoin stressé (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.4-Profil toxicologique de l'extrait de *M. oleifera*

#### III.1.4.1-Toxicité aiguë

##### III.1.4.1.1-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le comportement des animaux

Les résultats des observations effectuées sur les animaux en essai aigu sont présentés dans le tableau XXXVIII. Aucun changement de l'apparence physique des animaux traités à l'extrait, comparativement au témoin, n'a été observé durant la période d'observation. Aucune manifestation de tremblement, de convulsion, de diarrhée, de salivation, d'automutilation ou de marche à reculons n'a été observée.

**Tableau XXXVIII:** Effets de l'extrait de *M. oleifera* sur l'aspect et le comportement des animaux

Temps	0 min - 30 min		30 min - 4 h		4 h - 48 h		2 j - 14 j	
	Témoin	Test	Témoin	Test	Témoin	Test	Témoin	Test
Aspect des fèces	G	G	G	G	G	G	G	G
Aspect de la fourrure	H	H	N	N	N	N	N	N
Tremblements	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Salivation	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	abs
Automutilation	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Sensibilité au bruit	N	N	N	N	N	N	N	N

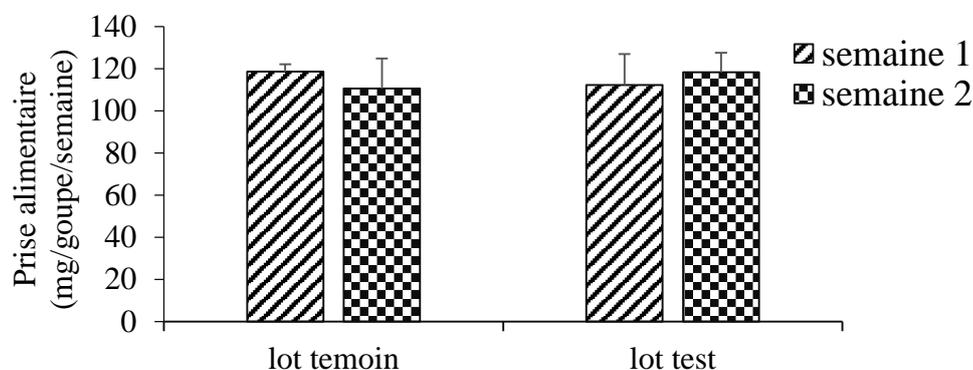
*Normal(e) (N) ; Granuleux (G) ; Hérissés (H) ; Absent (Abs).*

##### III.1.4.1.2 Effets de l'extrait de *M. oleifera* sur le taux de mortalité et la DL50

Aucun décès n'est survenu chez les animaux durant la période de 14 jours d'observation suivant l'administration orale d'une dose unique de l'extrait de *M. oleifera* à la dose de 2000 mg/kg. La dose létale 50 (DL 50) a été estimée supérieure à 2000 mg/kg.

### III.1.4.1.3-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise alimentaire

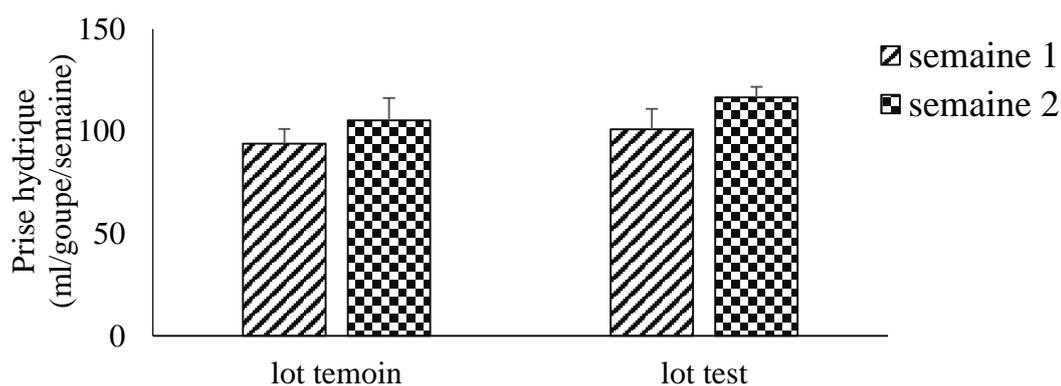
La figure 21 représente la consommation alimentaire des animaux (g/animal/jour). L'administration d'une dose unique de 2000 mg/kg de l'extrait aqueux de *M. oleifera* n'a provoqué aucune variation significative de la consommation alimentaire des animaux traités à l'extrait par rapport aux témoins ( $p>0,05$ ).



**Figure 21 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la prise alimentaire en essai aigu (les barres représentent la prise alimentaire moyenne  $\pm$  ESM (n=3)).

### III.1.4.1.4-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise hydrique

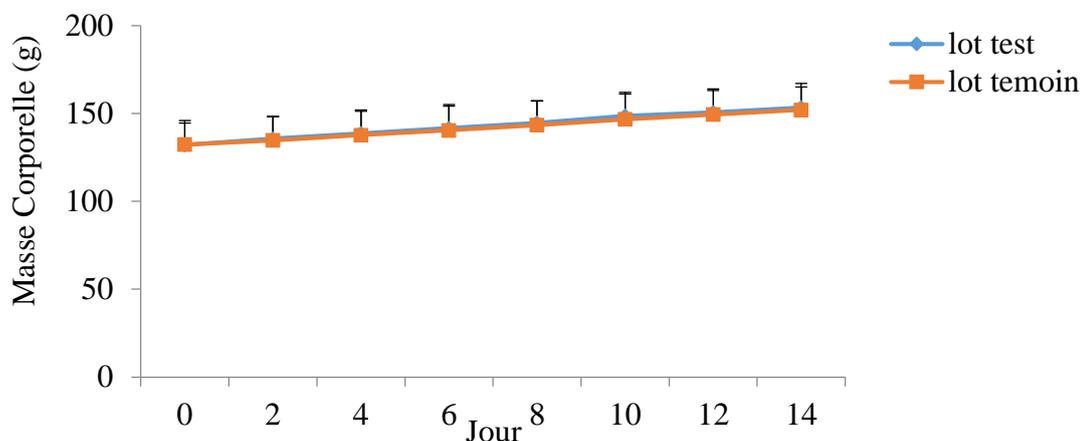
La consommation hydrique (ml/animal/jour) des animaux est représentée par la figure 22. L'administration d'une dose unique de 2000 mg/kg de l'extrait aqueux de *M. oleifera* n'a pas provoqué de variation significative de la consommation hydrique des animaux traités à l'extrait par rapport aux témoins ( $p>0,05$ ).



**Figure 22 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise hydrique en essai aigu (les barres représentent la prise hydrique moyenne  $\pm$  ESM (n=3))

### III.1.4.1.5-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la masse corporelle

L'évolution de la masse corporelle des animaux après l'administration d'une dose unique d'extrait aqueux de *M. oleifera* est représentée sur la figure 23. La courbe ne montre aucune variation significative du poids corporel des animaux traités comparativement aux témoins ( $p>0,05$ ).



**Figure 23 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la masse corporelle en essai aigu (Les points représentent la masse corporelle moyenne  $\pm$  ESM (n=3))

### III.1.4.1.6-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le poids relatif de quelques organes

Le tableau XXXIX représente les effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le poids relatif du foie, des poumons, du cœur, de la rate, de l'estomac, des reins, des ovaires et du cerveau. Aucune différence significative n'a été observée entre les poids des organes des animaux traités à l'extrait comparativement à ceux des témoins ( $p>0,05$ ).

**Tableau XXXIX:** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le poids relatif des quelques organes en essai aigu

Organes (g)	lot test	lot Témoin
Foie	3,90 $\pm$ 0,58	3,52 $\pm$ 0,69
Poumons	0,81 $\pm$ 0,05	0,82 $\pm$ 0,07
Cœur	0,39 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,01
Rate	0,35 $\pm$ 0,08	0,34 $\pm$ 0,06
Estomac	0,92 $\pm$ 0,29	0,92 $\pm$ 0,24
Reins	0,30 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,04
Ovaires	0,05 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,00
Cerveau	0,86 $\pm$ 0,01	0,90 $\pm$ 0,08

Chaque valeur représente la moyenne du poids relatif des organes  $\pm$  ESM, n = 3.

### III.1.4.2-Toxicité Sub-chronique

#### III.1.4.2.1-Effets de l'extrait de *M. oleifera* sur le comportement et la mortalité

L'administration prolongée de l'extrait n'a pas entraîné de troubles comportementaux pendant toute la durée de l'essai. Sur les 60 animaux de départ, tous ont survécu jusqu'à la fin du traitement.

#### III.1.4.2.2-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise hydrique

Les résultats de l'évolution de la consommation hydrique (ml/animal/semaine) des animaux utilisés lors de la toxicité sub-chronique sont présentés dans le tableau XXXX. Il ressort de l'analyse de ces résultats que la prise hydrique n'a pas connu de différence significative entre les groupes traités à l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* en comparaison leurs témoins respectifs aussi bien chez les males que chez les femelles ( $p > 0,05$ ).

**Tableau XXXX:** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise hydrique des rats

FEMELLES (ml/animal/semaine)						
	M400	M800	M1600	Témoin	M1600 sat	Témoin sat
S1	97,65±8,43	98,21±5,66	99,4±9,076	105,00±7,38	104,30±7,952	108,01±3,45
S2	101,5±5,33	93,31±4,48	106,75±6,70	106,4±6,02	102,51±9,54	112,3±6,52
S3	119,00±9,20	110,11±7,60	111,16±10,56	113,96±5,25	113,61±9,03	113,19±6,93
S4	119,61±6,03	119,21±9,40	116,41±3,52	114,8±5,76	115,71±9,37	121,45±3,89
S5	91,41±4,22	95,41±3,45	96,11±6,03	102,7±5,16	108,99±10,05	108,99±10,42
S6	103,95±10,26	97,86±8,31	101,36±7,63	113,96±9,57	103,75±7,84	113,26±8,36
S7	-	-	-	-	116,81±8,91	122,29±7,18
S8	-	-	-	-	105,41±5,61	111,30±3,90
MALES (ml/animal/semaine)						
	M400	M800	M1600	Témoin	M1600 sat	Témoin sat
S1	122,99±8,11	116,90±6,46	118,3±7,21	111,09±4,21	112,5±9,26	122,71±9,98
S2	111,51±10,48	119,2±6,02	121,51±4,59	124,25±6,73	113,6±4,54	116,75±6,63
S3	112,95±4,24	117,21±5,37	109,00±8,81	117,15±4,87	108,01±7,46	113,61±5,49
S4	102,41±8,21	97,01±4,72	101,00±7,33	105,91±9,40	107,31±5,48	110,81±5,58
S5	108,91±5,40	107,85±8,94	112,96±8,98	120,66±4,21	110,95±3,60	111,59±8,55
S6	126,60±5,76	111,01±9,73	123,10±5,11	121,31±5,42	113,59±7,18	118,56±4,96
S7	-	-	-	-	117,46±5,68	116,69±5,87
S8	-	-	-	-	129,99±8,93	134,06±7,74

Chaque valeur représente la prise hydrique moyenne ± ESM, n= 5. M400= lot traité à la dose de 400 mg/kg ; M800= lot traité à la dose de 800 mg/kg ; M1600= lot traité à la dose de 1600 mg/kg ; Témoin sat = lot témoin satellite ; M1600 sat= lot satellite traité à l'extrait à la dose de 1600 mg/kg.

### III.1.4.2.3-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise alimentaire

Le tableau XXXXI représente l'évolution de la consommation alimentaire (g/animal/semaine) des animaux utilisés lors de l'expérimentation. Chez les rats femelles et mâles, la prise alimentaire des animaux traités à l'extrait aqueux de *M. oleifera* n'a pas varié de façon significative comparativement aux témoins et ce tout au long de l'expérimentation ( $p>0,05$ ).

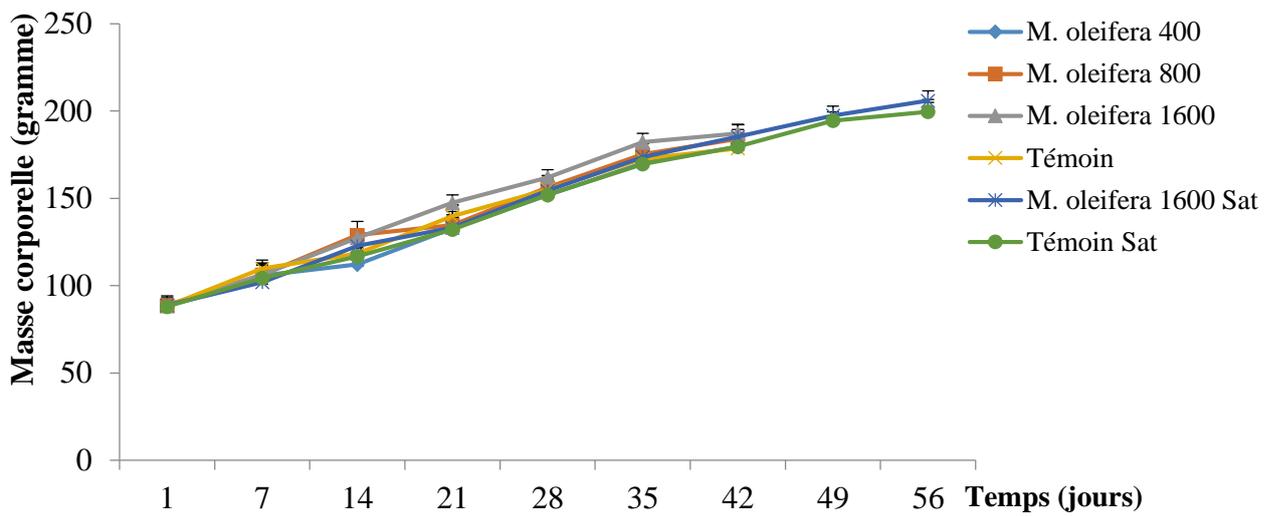
**Tableau XXXXI:** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la prise alimentaire

FEMELLES (g/animal/semaine)						
	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin</i>	<i>M1600 sat</i>	<i>Témoin sat</i>
S1	129,81±4,89	132,91±8,99	142,1±5,45	140,29±10,01	140,49±4,57	139,3±6,75
S2	130,06±4,023	139,01±4,09	142,66±7,17	134,66±4,65	138,10±5,91	137,20±5,77
S3	145,60±6,10	136,36±5,75	145,61±5,18	141,70±5,09	141,96±7,49	146,30±5,29
S4	144,69±3,54	147,70±5,28	150,50±4,20	150,65±8,65	155,40±8,36	157,21±7,91
S5	154,60±6,28	155,36±6,69	154,91±5,59	163,01±5,21	157,36±4,86	158,56±5,87
S6	159,80±5,08	158,55±10,15	159,95±8,98	171,06±7,53	171,36±6,07	176,05±8,16
S7	-	-	-	-	182,00± 7,86	173,59±5,43
S8	-	-	-	-	178,71±7,87	171,50±9,17
MALES (g/animal/semaine)						
	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin</i>	<i>M1600 sat</i>	<i>Témoin sat</i>
S1	135,80±5,55	134,40±6,42	140,21±6,86	128,10±7,88	137,69±4,79	132,30±5,09
S2	123,76±3,59	127,26±5,07	127,96±5,38	134,26±5,65	129,85±5,17	127,61±4,32
S3	152,25±6,30	149,05±5,63	145,81±3,89	144,61±7,96	144,71±7,95	141,51±7,27
S4	146,30±6,02	147,00±6,75	147,91±4,53	151,41±5,40	154,21±7,06	146,51±4,77
S5	151,20±8,61	149,59±7,08	147,49±9,13	145,39±7,34	152,11±7,62	150,71±6,53
S6	145,81±6,24	135,31±7,90	137,20±7,33	138,39±4,83	145,40±8,98	150,16±8,12
S7	-	-	-	-	194,39±5,59	194,60±7,20
S8	-	-	-	-	229,60±7,53	232,26±3,36

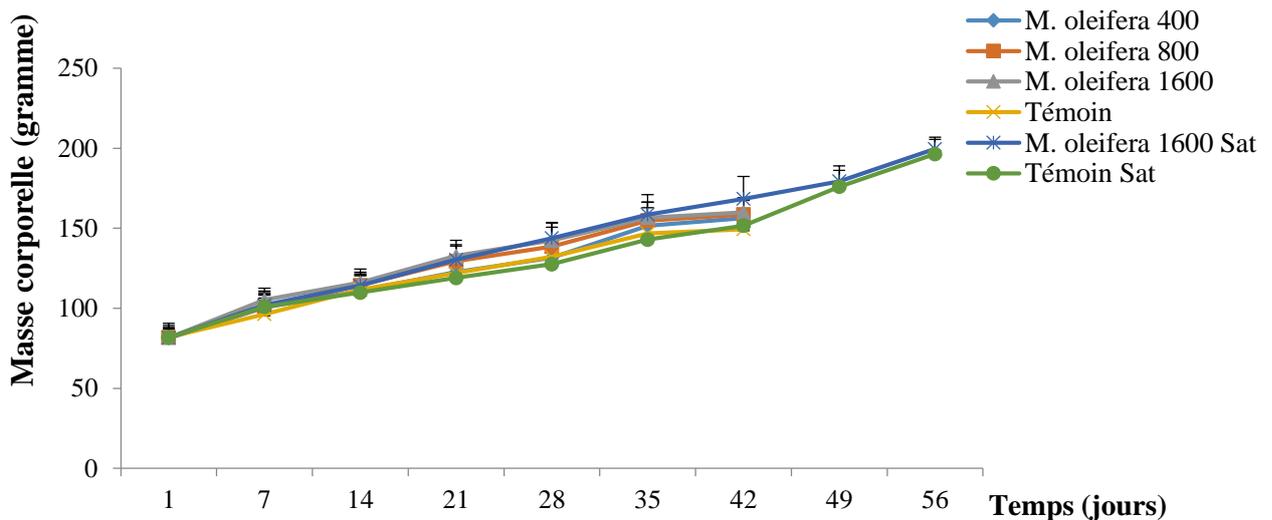
Chaque valeur représente la prise hydrique moyenne  $\pm$  ESM, n= 5. M400= lot traité à la dose de 400 mg/kg ; M800= lot traité à la dose de 800 mg/kg ; M1600= lot traité à la dose de 1600 mg/kg ; Témoin sat = lot témoin satellite ; M1600 sat= lot satellite traité à l'extrait à la dose de 1600 mg/kg.

### III.1.4.2.4-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la masse corporelle

Les figures 24 et 25 représentent l'évolution de la masse corporelle des animaux mâles et femelles utilisés lors de l'expérimentation. Aucune différence significative dans la variation de la masse corporelle chez les mâles et les femelles traités à l'extrait comparativement à leurs témoins respectifs n'a été observée ( $p>0,05$ ).



**Figure 24 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la masse corporelle des rats femelles en essai sub-chronique (Les points représentent les masses corporelles moyennes  $\pm$  ESM, n=5)



**Figure 25 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur l'évolution de la masse corporelle des rats mâles en essai sub-chronique (Les points représentent les masses corporelles moyennes  $\pm$  ESM, n=5)

#### III.1.4.2.5-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le poids relatif de quelques organes

Les résultats des effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur le poids relatif de quelques organes sont présentés dans le tableau XXXXII. Chez les mâles tout comme chez les femelles, aucune différence significative n'a été notée dans la variation des poids relatifs des organes des animaux traités comparativement à leurs témoins respectifs ( $p > 0,05$ ).

**Tableau XXXXII:** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur le poids relatif de quelques organes chez les mâles et femelles en essai sub-chronique

<b>FEMELLES (poids relatif en % de la masse corporelle)</b>						
<i>Organes</i>	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin</i>	<i>M1600 Sat</i>	<i>Témoin Sat</i>
<b>Foie</b>	3,03±0,92	3,02±0,38	2,97±0,24	2,67±0,60	2,84±0,46	3,10±0,14
<b>Poumons</b>	0,96±0,34	0,96±0,19	0,86±0,31	0,98±0,33	0,70±0,11	0,71±0,11
<b>Cœur</b>	0,29±0,04	0,32±0,05	0,31±0,03	0,29±0,03	0,27±0,03	0,30±0,02
<b>Ovaires</b>	0,05±0,03	0,03±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01	0,04±0,02	0,04±0,01
<b>Rate</b>	0,27±0,04	0,23±0,06	0,21±0,05	0,19±0,04	0,19±0,03	0,25±0,06
<b>Estomac</b>	0,91±0,11	1,00±0,45	0,85±0,40	0,73±0,13	0,49±0,04	0,56±0,09
<b>Reins</b>	0,27±0,04	0,29±0,04	0,28±0,05	0,28±0,02	0,24±0,03	0,24±0,01
<b>Cerveau</b>	0,76±0,09	0,76±0,08	0,73±0,04	0,79±0,07	0,63±0,04	0,67±0,02
<b>MALES (poids relatif en % de la masse corporelle)</b>						
<i>Organes</i>	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin</i>	<i>M1600 Sat</i>	<i>Témoin Sat</i>
<b>Foie</b>	2,49±0,51	2,11±0,77	1,99±0,50	2,72±0,25	1,76±0,36	2,30±0,21
<b>Poumons</b>	0,53±0,1	0,58±0,22	0,60±0,07	0,64±0,07	0,63±0,10	0,65±0,05
<b>Cœur</b>	0,26±0,06	0,22±0,05	0,24±0,05	0,29±0,02	0,24±0,06	0,28±0,05
<b>Testicules</b>	0,50±0,10	0,47±0,05	0,50±0,21	0,68±0,07	0,43±0,05	0,61±0,09
<b>Rate</b>	0,20±0,03	0,19±0,09	0,17±0,06	0,22±0,03	0,18±0,06	0,24±0,03
<b>Estomac</b>	0,50±0,10	0,47±0,05	0,48±0,08	0,40±0,05	0,43±0,05	0,41±0,02
<b>Reins</b>	0,24±0,03	0,22±0,04	0,21±0,06	0,25±0,03	0,19±0,04	0,24±0,03
<b>Cerveau</b>	0,79±0,11	0,74±0,09	0,77±0,06	0,77±0,14	0,65±0,07	0,70±0,03

Chaque valeur représente la prise hydrique moyenne  $\pm$  ESM, n= 5. M400= lot traité à la dose de 400 mg/kg ; M800= lot traité à la dose de 800 mg/kg ; M1600= lot traité à la dose de 1600 mg/kg ; Témoin sat = lot témoin satellite ; M1600 sat= lot satellite traité à l'extrait à la dose de 1600 mg/kg.

### III.1.4.2.6-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur quelques paramètres hématologique

Le tableau XXXXIII présente les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur quelques paramètres hématologiques. Chez les femelles, le taux des plaquettes sanguines a subi une augmentation significative chez les animaux traités aux doses de 800 et 1600 mg/kg ainsi que chez le groupe satellite traité à la dose de 1600 mg/kg comparativement à leurs témoins respectifs ( $p<0,01$ - $p<0,001$ ). Le pourcentage de Monocytes a connu également une augmentation significative dans les lots ayant consommé l'extrait en comparaison du groupe témoin ( $p<0,05$ ,  $p<0,001$ ). Le pourcentage de lymphocytes a connu une baisse significative dans les lots *M. oleifera* 400 et 800 mg/kg en comparaison au témoin ( $p<0,05$ - $p<0,01$ ).

Chez les mâles, on a noté une augmentation significative du taux de globules blanc (800 mg/kg), du pourcentage de Lymphocytes (400, 800 et 1600 mg/kg), du pourcentage de Monocytes (400 mg/kg), du taux de Lymphocytes (800mg/kg et 1600 mg/kg Sat) et du taux de monocytes (400 mg/kg) en comparaison à leurs témoins respectifs ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ). Une baisse significative du pourcentage de granulocytes (400, 800 et 1600 mg.kg) a été observée en comparaison au témoin ( $p < 0,01$ - $p < 0,001$ ).

**Tableau XXXXIII :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur quelques paramètres hématologiques.

Paramètres Hématologiques	FEMELLES					
	Témoin	<i>M. oleifera</i> 400 mg/kg	<i>M. oleifera</i> 800 mg/kg	<i>M. oleifera</i> 1600 mg/kg	Témoin Sat	<i>M. oleifera</i> 1600 mg/kg Sat
<b>Globules Blancs (10<sup>6</sup>/µl)</b>	9,08±0,95	9,08±0,94	7,96±1,09	8,88±1,86	7,232±0,68	9,4±1,40
<b>Globules Rouges (10<sup>6</sup>/µl)</b>	6,70±0,46	6,23±0,95	6,88±0,52	7,20±0,32	6,08±0,91	6,20±0,64
<b>Hémoglobine (g/dl)</b>	13,50±0,97	13,6±1,48	13,58±0,80	14,42±0,36	13,06±1,81	13,36±1,05
<b>Hématocrite (%)</b>	36,22±3,03	40,50±3,88	35,94±2,09	39,88±1,84	35,20±3,79	35,67±3,26
<b>Plaquettes (10<sup>3</sup>/µl)</b>	751,22±78,07	720,20±86,37	923,01± 95,31**	1014,20± 72,05***	678,64±58,85	538,21±66,78 <sup>##</sup>
<b>THT</b>	0,56±0,10	0,53±0,08	0,55± 0,07	0,63± 0,08	0,34±0,09	0,44±0,08
<b>VGM</b>	56,81±1,48	55,86±0,84	57,45±1,52	56,83±0,84	56,60±1,34	56,04±1,02
<b>TGMH</b>	21,46±1,93	19,28±1,55	19,74±1,34	20,32±0,54	21,74±1,08	20,92±0,72
<b>CCMH</b>	36,82±1,71	34,64± 1,79	34,58±1,62	35,68±0,45	38,44±1,99	37,04±0,78
<b>IDR</b>	13,84±0,43	14,14± 0,56	14,53±0,57	14,54±0,44	14,76±0,57	14,22±0,48
<b>VMP</b>	7,04±0,41	7,14± 0,18	7,16± 0,57	7,16±0,27	6,78±0,28	6,46±0,31
<b>IDP</b>	11,93±1,81	13,84±1,28	10,68±2,70	12,84±2,02	9,22±2,81	9,62±2,87
<b>Lymphocytes (%)</b>	91,24±1,99	86,86± 1,54*	85,02± 3,79**	87,21±3,56	95,4±2,31	95,36±0,87
<b>Monocytes (%)</b>	5,58±1,17	8,61± 1,14*	10,32± 1,72*	6,88± 1,44***	3,06±1,03	3,28±0,65
<b>Granulocytes (%)</b>	2,98±0,77	4,54±0,74	4,66±0,79	5,92±0,81	1,54±0,89	1,36±0,76
<b>Lymphocytes</b>	6,44±1,37	6,38±1,56	6,16±1,43	7,08±1,44	5,23±1,78	7,58±1,79
<b>Monocytes</b>	1,56±0,89	1,38±0,85	1,04±0,69	0,94±0,23	1,16±0,65	1,02±0,66
<b>Granulocytes</b>	1,12±0,14	1,32±0,18	0,76±0,11	0,86±0,22	0,87±0,19	0,82±0,19

	<b>MALES</b>					
	<b>Témoin</b>	<b><i>M. oleifera</i> 400 mg/kg</b>	<b><i>M. oleifera</i> 800 mg/kg</b>	<b><i>M. oleifera</i> 1600 mg/kg</b>	<b>Témoin Sat</b>	<b><i>M. oleifera</i> 1600 mg/kg Sat</b>
<b>Globules Blancs (10<sup>6</sup>/µl)</b>	4,04±0,72	5,18±0,79	7,81± 1,12***	4,32±1,23	6,18±1,52	7,76±1,97
<b>Globules Rouges (10<sup>6</sup>/µl)</b>	5,08±1,49	5,62±0,87	6,32±1,29	5,17±1,83	5,32±0,85	6,49±0,22
<b>Hémoglobine (g/dl)</b>	12,80±2,46	12,16±1,78	12,88±2,59	11,24±2,24	12,36±0,76	13,30±0,72
<b>Hématocrite (%)</b>	43,66±2,26	41,68± 2,63	42,88±3,09	43,74±3,24	34,41±2,94	38,48±2,43
<b>Plaquettes (10<sup>3</sup>/µl)</b>	506,85±73,78	562,11±46,10	617,24±59,93	535,66±82,43	564,44±79,41	523,49±87,60
<b>THT</b>	0,27±0,05	0,32± 0,10	0,29± 0,07	0,24±0,08	0,40±0,08	0,44±0,02
<b>VGM</b>	72,83±7,92	69,11±5,34	75,41±7,40	60,82±7,79	65,79±10,35	59,24±6,73
<b>TGMH</b>	22,16±4,11	24,16±4,93	25,26±4,27	20,02±1,66	22,08±4,78	20,51±1,48
<b>CCMH</b>	31,54±0,63	33,84±1,15	32,36±1,90	32,44±2,68	33,41±3,25	33,09±2,92
<b>IDR</b>	24,18±2,33	26,56±2,97	26,22± 3,61	27,16±1,20	17,66±0,29	15,54±0,26
<b>VMP</b>	8,68±0,44	8,68±0,54	8,51±0,34	9,18±0,81	7,63±0,43	7,68±0,67
<b>IDP</b>	8,62±1,14	10,50± 2,02	9,86±1,56	11,34±1,75	8,36±1,50	10,74±1,91
<b>Lymphocytes (%)</b>	36,82±3,67	50,38± 2,62*	58,22± 7,07***	67,66± 10,33***	26,11±5,70	34,91±7,99
<b>Monocytes (%)</b>	7,64±1,55	11,84± 3,29*	9,54±2,88	7,98±2,02	11,35±1,21	8,95±1,91
<b>Granulocytes (%)</b>	55,54±3,39	42,58± 4,95***	33,04± 3,99***	26,76± 5,07***	62,54±3,35	56,14±6,13
<b>Lymphocytes</b>	1,49±0,31	2,59±0,37	4,55± 0,91***	2,62±0,74	1,64±0,57	2,76± 0,99 <sup>#</sup>
<b>Monocytes</b>	0,37±0,08	0,64± 0,10**	0,73± 0,17***	0,42±0,10	0,81±0,07	0,68±0,15
<b>Granulocytes</b>	2,18±0,52	1,94±0,91	2,52±0,78	1,28±0,27	3,92±0,90	4,32±1,03

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres hématologiques ± ESM, n = 5. \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001: différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin. <sup>#</sup>P<0,01: différence significative à 1% par rapport au Témoin Satellite (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.4.2.7-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur quelques paramètres biochimiques

Les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur quelques paramètres biochimiques sont représentés dans le tableau XXXIV. Chez les femelles, une augmentation significative du taux d'ASAT (800 et 1600 mg/kg), de bilirubine (400, 800 et 1600 mg/kg) et de l'urée (1600mg/kg) dans les lots traités à l'extrait en comparaison aux témoins a été observée ( $p<0,05$ - $p<0,01$ ). Chez les mâles, une augmentation significative du taux d'ASAT (1600mg/kg) et de bilirubine (400, 800 et 1600 mg/kg) a également été observée chez les animaux traités à l'extrait en comparaison aux témoins ( $p<0,05$ - $p<0,001$ ).

**Tableau XXXIV:** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur quelques paramètres biochimiques

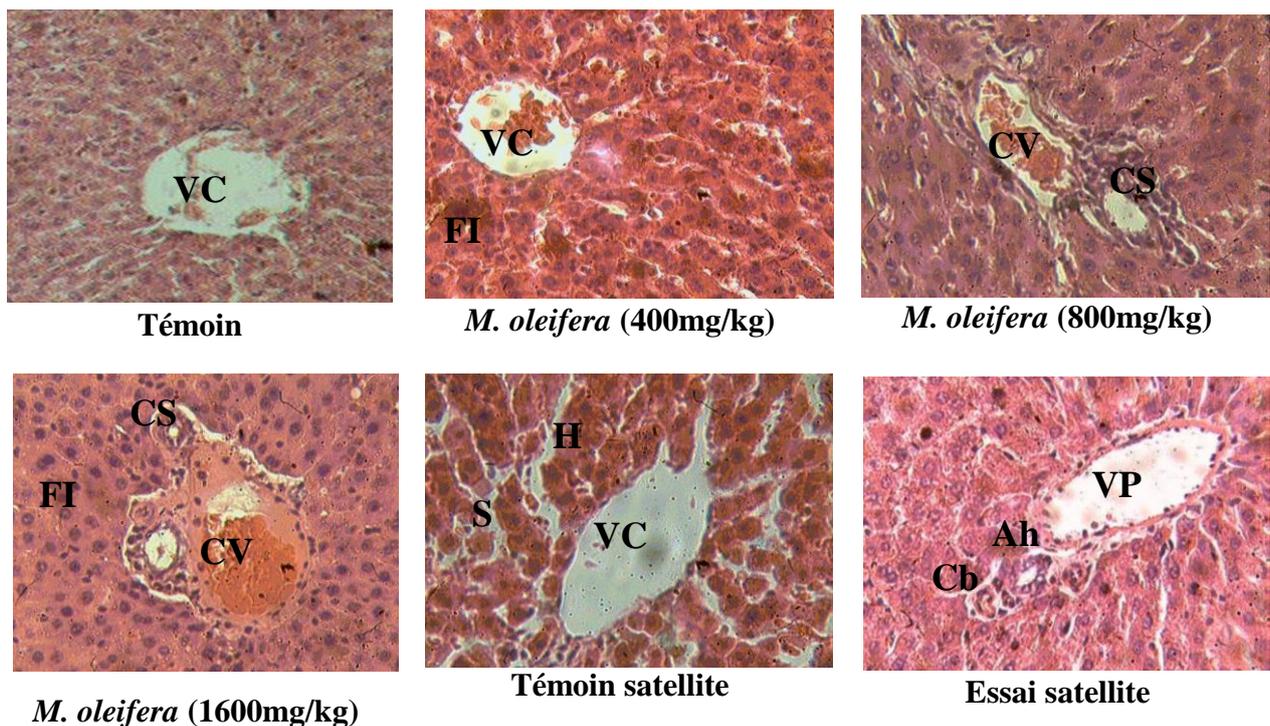
FEMELLES						
	<i>Témoin</i>	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin Sat</i>	<i>M1600 Sat</i>
<b>Protéines Totales (g/dl)</b>	5,40±0,78	4,48±0,42	5,95±0,81	6,15±0,88	5,36±0,63	5,07±0,73
<b>Créatinine Sérique (mg/dl)</b>	0,68±0,11	0,62± 0,09	0,59± 0,07	0,64± 0,08	0,68±0,04	0,58±0,10
<b>Urée (mg/dl)</b>	44,86±2,60	47,01± 3,55	49,63± 3,94	51,39±3,23*	46,70±3,56	45,45±4,13
<b>ALAT (U/l)</b>	65,19±8,54	61,46±9,15	53,04±5,91	64,72±6,43	63,70±9,14	66,28±7,81
<b>ASAT (U/l)</b>	124,39±12,40	131,70±11,34	142,21±9,98*	141,7± 10,21*	122,00±9,67	124,34± 10,25
<b>Bilirubine Totale (mg/dl)</b>	3,54±0,55	4,65±0,91*	4,74±0,41*	5,22±0,61**	3,75 ±0,49	4,08±0,61
<b>Glycémie (mg/dl)</b>	61,80±6,83	59,88±5,41	60,12±7,67	58,55±5,64	67,21±4,71	61,33±6,11
<b>Cholestérol total (mg/dl)</b>	124,44±9,17	126,44±9,22	126,61±7,11	127,11±10,73	126,00±8,36	125,21±5,67
<b>Triglycérides (mg/dl)</b>	60,88±8,23	53,15±8,02	65,11±8,46	61,05±7,94	61,02±5,56	62,86±5,95
<b>HDL-Cholestérol (mg/dl)</b>	35,52±3,27	35,88±5,42	33,93±2,15	35,16±4,13	38,41±3,48	34,57±1,83
<b>LDL-Cholestérol (mg/dl)</b>	28,04±1,65	28,41± 1,61	27,57± 1,69	30,90± 2,59	26,57±1,97	27,78± 2,19
<b>Index athérogène</b>	3,50±0,28	3,52±0,17	3,73±0,33	3,61±0,26	3,28±0,24	3,62±0,31
MALES						
	<i>Témoin</i>	<i>M400</i>	<i>M800</i>	<i>M1600</i>	<i>Témoin Sat</i>	<i>M1600 Sat</i>
<b>Protéines Totales (g/dl)</b>	5,82±0,89	6,43± 0,72	6,76± 0,43	6,19±0,74	5,36±0,37	6,13±0,68
<b>Créatinine sérique (mg/dl)</b>	0,79±0,12	0,69± 0,07	0,64± 0,11	0,65± 0,06	0,75±0,05	0,68± 0,08
<b>Urée (mg/dl)</b>	64,65±3,92	63,49±4,06	67,81±5,44	66,38±3,67	62,50±3,95	65,33±4,43
<b>ALAT (U/l)</b>	62,68±9,04	60,63±10,55	58,73±6,83	65,84±7,37	63,23±7,94	64,82±8,22
<b>ASAT (U/l)</b>	120,74±9,31	31,91± 10,44	136,07± 10,86	139,73±9,19*	119,05±8,77	123,24± 11,17
<b>Bilirubine Totale (mg/dl)</b>	2,71±0,52	3,93±0,64**	4,12±0,44**	4,54± 0,38***	2,59±0,67	3,27± 0,48
<b>Glycémie (mg/dl)</b>	65,92±4,98	68,16±6,08	69,75±5,53	71,41±5,14	64,53±6,02	66,82±5,62
<b>Cholestérol Total (mg/dl)</b>	129,77±6,64	128,38±7,21	129,84±8,07	132,66±9,14	127,03±8,05	131,24±7,32
<b>Triglycérides (mg/dl)</b>	50,99±5,82	52,49± 5,31	55,88± 7,74	53,69± 6,49	49,77±6,07	48,41±4,76
<b>HDL-Cholestérol (mg/dl)</b>	40,87±5,02	40,88±4,97	38,55±3,18	42,53±4,42	38,94±4,03	43,83±2,96
<b>LDL-Cholestérol (mg/dl)</b>	37,91±2,93	35,01± 2,19	35,41± 3,23	36,44± 3,43	38,32±3,31	39,00± 4,07
<b>Index athérogène</b>	3,17±0,29	3,14±0,11	3,36±0,25	3,11±0,33	3,26±0,38	2,99±0,42

Chaque valeur représente la moyenne des paramètres biochimiques sériques ± ESM, n=5. \* $P<0,05$ , \*\* $P<0,01$ , \*\*\* $P<0,001$  : différence significative à 5%, 1% et 1% par rapport au Témoin (ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Dunnett).

### III.1.4.2.8-Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique de quelques organes

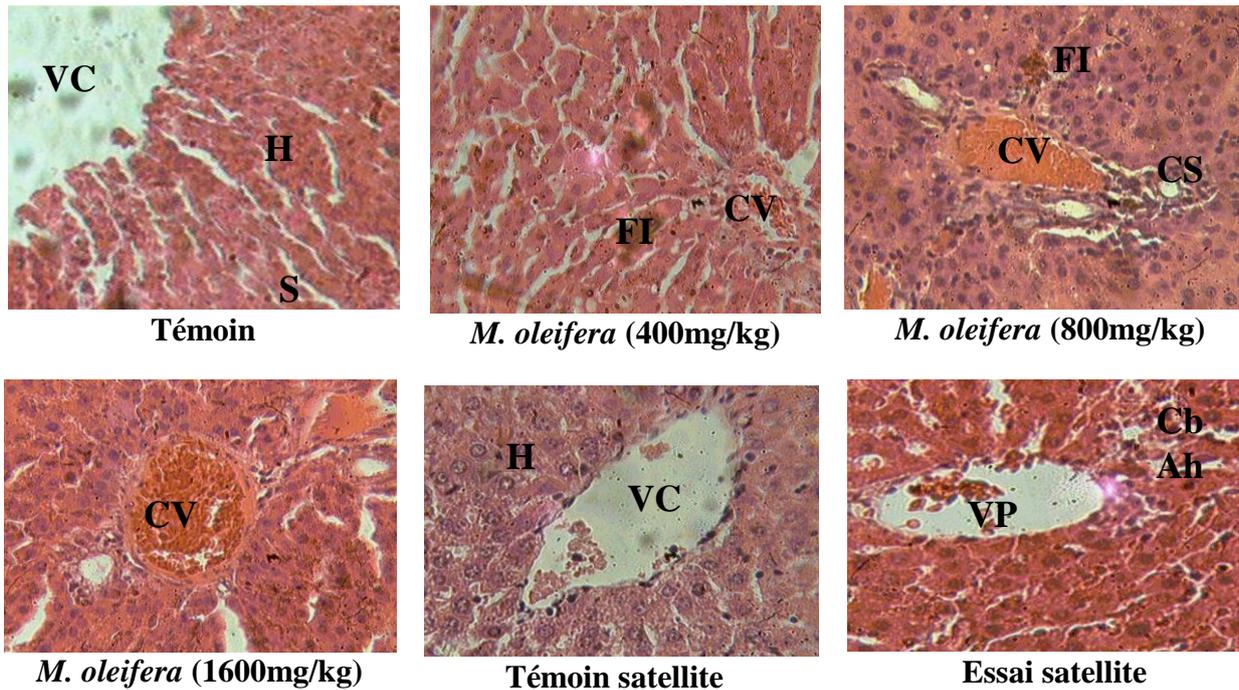
#### III.1.4.2.8.1-Effets de l'extrait sur la structure du foie

Les microphotographies des coupes histologiques de foie réalisées chez les animaux femelles et males utilisés lors de la manipulation sont présentées sur les figures 26 et 27. Les foies des différents lots témoins et satellites ont montré une architecture normale avec des hépatocytes, des veines centro-lobulaires, des branches de la veine porte et de l'artère hépatique ainsi que des conduits biliaires. Chez les animaux traités à l'extrait, quelques anomalies ont été décelées. A la dose de 800 et 1600 mg/kg, on a noté des foyers inflammatoires, des congestions vasculaires et des stases biliaires chez deux femelles et trois males. Les animaux du lot satellite traités à la dose de 1600 mg/kg présentaient une architecture normale.



**Figure 26 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique du foie des femelles (H&E×400)

VP= Veine Porte, VC= Veine Centro-lobulaire, CV= Congestion Vasculaire, S=Sinusoïde, H= Hépatocyte, IN= Foyer Inflammatoire, CS=Cholestase biliaire, Cb= Canal biliaire et Ah= Artère hépatique.

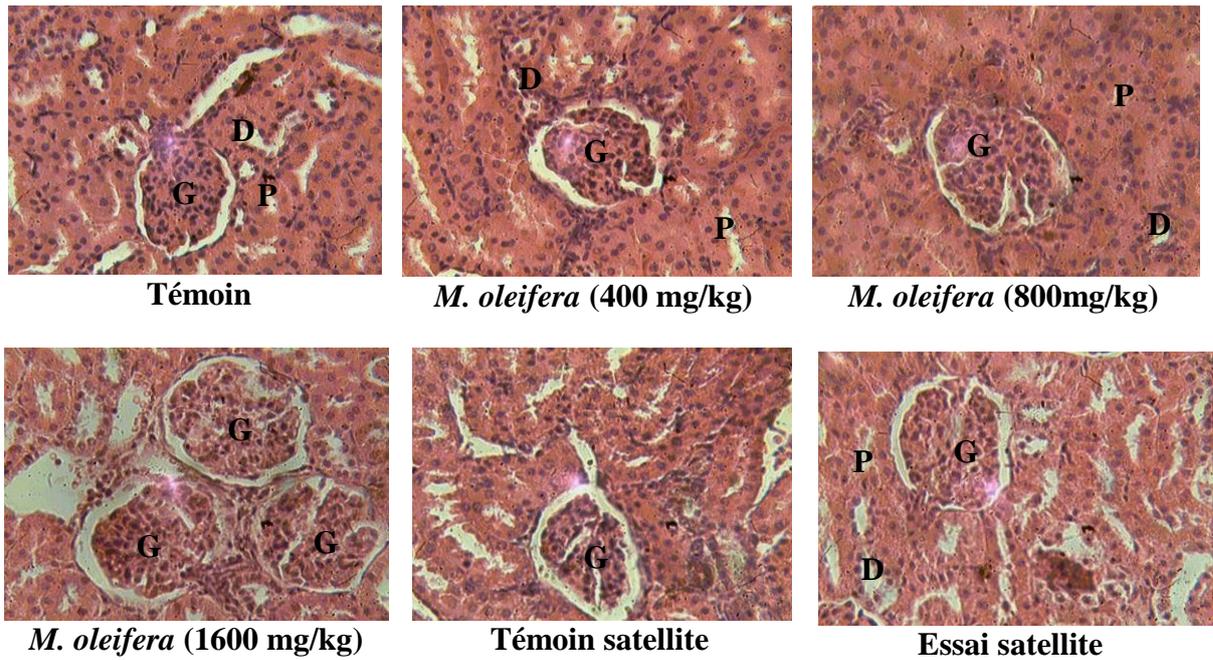


**Figure 27 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique du foie des males (H&E×400)

VP= Veine Porte, VC= Veine Centro-lobulaire, CV= Congestion Vasculaire, S=Sinusoïde, H= Hépatocyte, IN= Foyer Inflammatoire, CS=Cholestase biliaire, Cb= Canal biliaire et Ah= Artère hépatique.

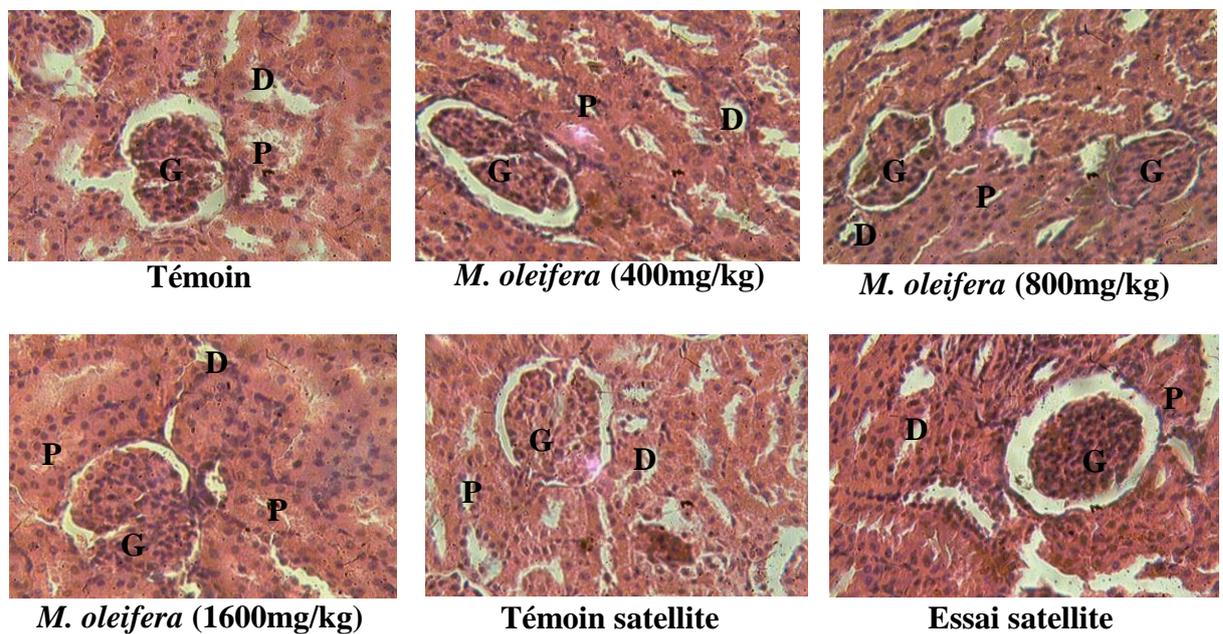
#### III.1.4.2.8.2-Effets de l'extrait sur la structure du rein

Les microphotographies des coupes histologiques du rein réalisées chez les animaux femelles et males utilisés lors de la manipulation sont présentées sur les figes 28 et 29. Les reins des différents lots témoins ont présenté une architecture normale. Chez les mâles traités à la dose de 800 et 1600 mg/kg et chez les femelles traitées aux mêmes doses, on a noté une réduction de l'espace de Bowman. Chez tous les animaux du lot satellite traité à l'extrait, l'espace de Bowman est revenu à la normale.



**Figure 28 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique des reins des femelles (H&E×400)

G = Glomérule, P = Tube contourné proximal, D = Tube contourné distal.

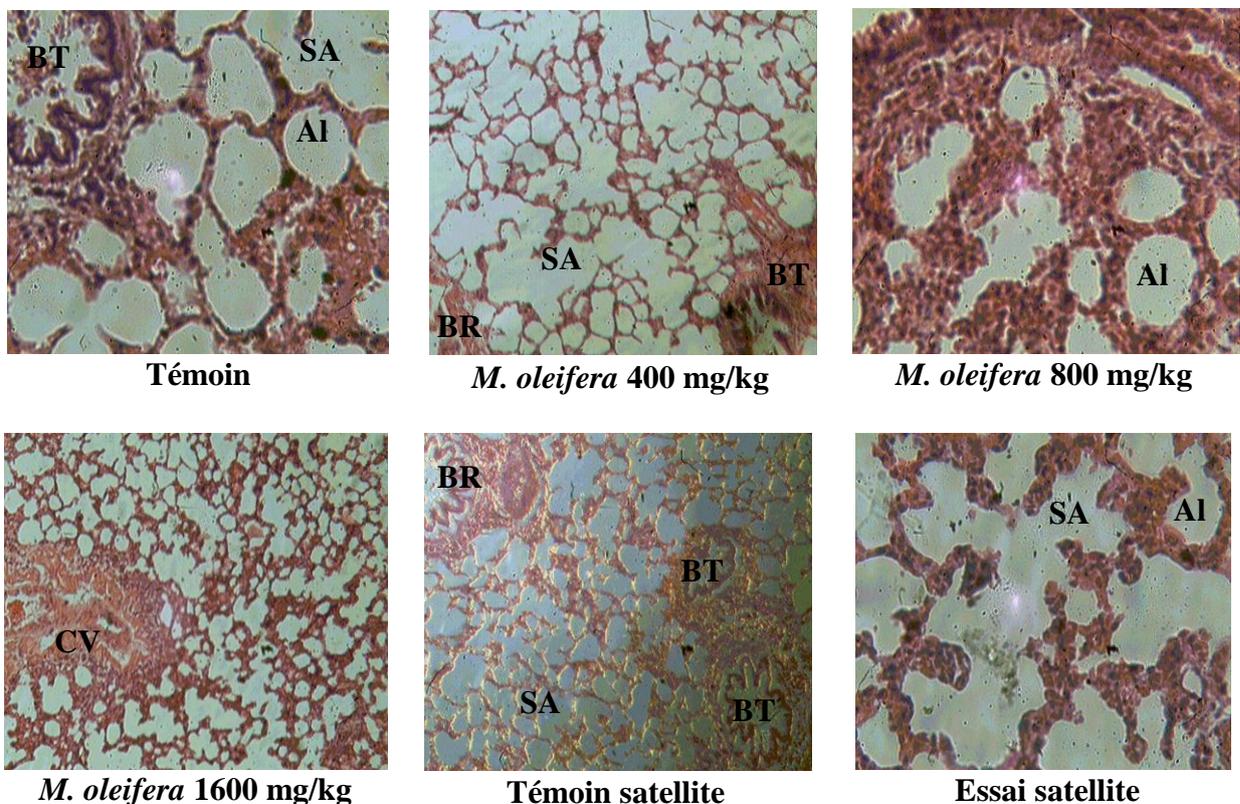


**Figure 29 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique des reins des males (H&E×400)

G = Glomérule, P = Tube contourné proximal, D = Tube contourné distal.

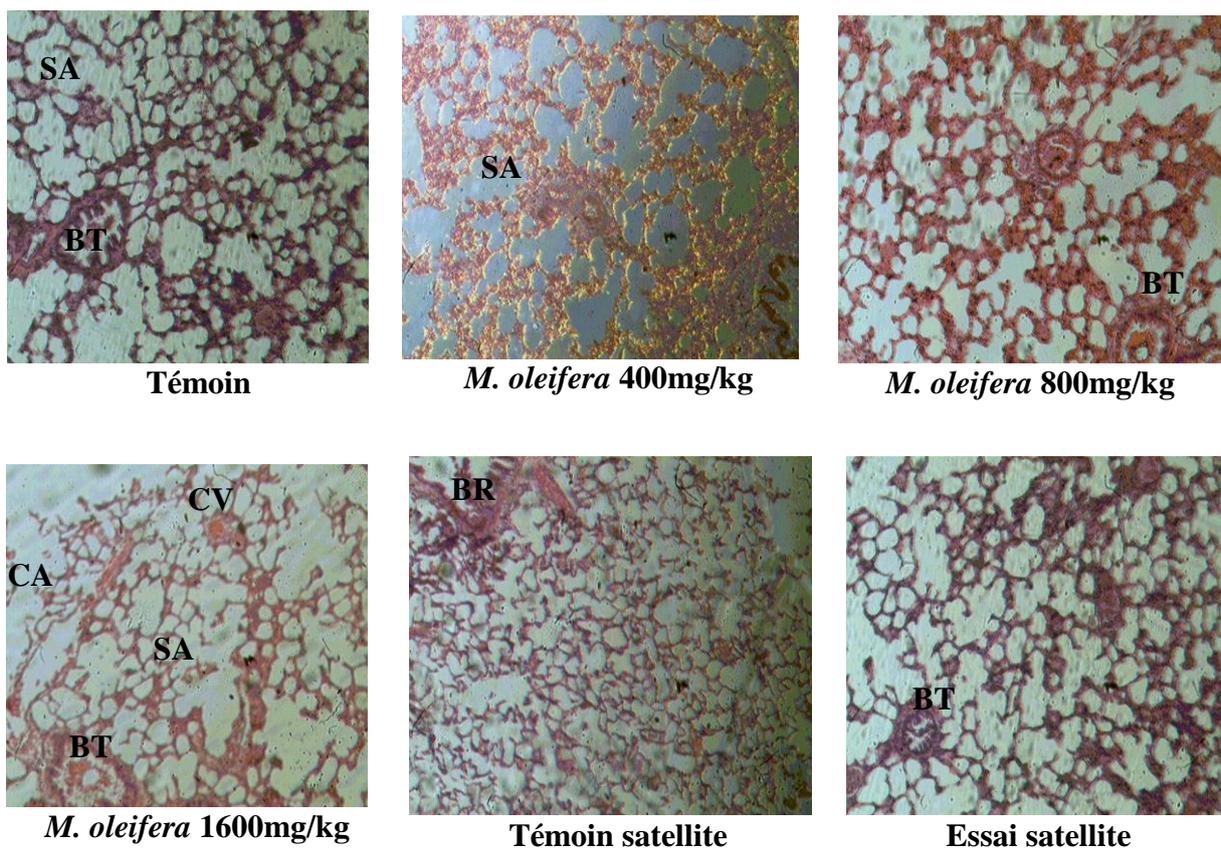
### III-1-4-2-8-3-Effets de l'extrait sur la structure du poumon

Les figures 30 et 31 représentent les microphotographies des coupes histologiques de poumons réalisées chez les animaux femelles et males utilisés lors de la manipulation. Chez les différents lots témoins, les poumons ont présenté une structure normale avec des alvéoles, des sacs alvéolaires et des bronchioles tapissées d'un épithélium. Chez les animaux traités à l'extrait, quelques anomalies ont été constatées. A la dose de 1600 mg/kg, deux mâles et deux femelles traités à la dose de 1600 mg/kg ont montré des alvéoles pulmonaires très développées et des congestions vasculaires. Dans le lot satellite traité à l'extrait, on a noté la présence d'alvéoles très développées.



**Figure 30 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique des poumons des males (H&E×400)

BT= bronchiole terminale, BR= bronchiole respiratoire, Al= alvéole pulmonaire, SA= sac alvéolaire, CA= canal alvéolaire et CV= congestion vasculaire.



**Figure 31 :** Effets de l'extrait aqueux de *M. oleifera* sur la structure histologique des poumons des males (H&E×400)

BT= bronchiole terminale, BR= bronchiole respiratoire, Al= alvéole pulmonaire, SA= sac alvéolaire, CA= canal alvéolaire, CV= congestion vasculaire.

### III.2-DISCUSSION

Le screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires (tannins, phénols, flavonoïdes, glycosides, protéines et polysaccharides) dans des proportions variables. Les dérivés coumariniques, les alcaloïdes, les saponines et les quinones sont à l'état de traces. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Bennett *et al.* (2010) et Awodele *et al.* (2012), qui avaient noté la présence en quantité variable de certains composés phytochimiques (flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, phénols, tanins et glucosinolates) dans diverses parties de la plante.

La pratique d'une activité physique et sportive nécessite un apport énergétique important, lequel doit être apporté par une alimentation riche et variée. Les nutriments vont ainsi être dégradés pendant l'exercice pour resynthétiser l'ATP nécessaire à la poursuite de l'effort (IFN, 2010). Les besoins énergétiques du sportif désignent la quantité d'énergie nécessaire à un athlète pour assurer ses dépenses énergétiques. Ces derniers sont très variables selon les individus, le sexe, l'âge et le niveau de pratique sportive et doivent par conséquent être totalement individualisés. Il existe cependant des disciplines sportives où l'apport calorique est volontairement accru pour maintenir le déficit calorique engendré par la pratique d'un régime équilibré, ce qui aurait pour effet, de minimiser la perte de masse maigre et de permettre à l'athlète de s'entraîner dans des conditions adéquates. L'analyse nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* a montré que cet extrait est très riche en énergie métabolisable (2810,98 kcal/kg d'extrait). Ce résultat est semblable à ceux obtenus par Makkar et Becker (1996) et Olugbemi *et al.* (2010), qui ont également trouvé une teneur relativement élevée en énergie métabolisable dans les feuilles de cette plante (2273 et 2978 kcal/kg MS respectivement). Ce qui pourrait présenter un avantage dans l'alimentation des sportifs qui ont généralement un énorme besoin en énergie métabolisable (900 kcal/h). En effet, les travaux de Fuglie (2002), Ndong *et al.* (2007) et Aissi *et al.* (2013) ont montré que les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans des régimes alimentaires traditionnels dans plusieurs pays tropicaux et subtropicaux, dans le traitement de la malnutrition et du rachitisme chez les nouveau-nés et comme complément alimentaire chez les personnes vivants avec le VIH.

L'activité physique pratiquée de manière intense et prolongée entraîne également des pertes électrolytiques énormes chez le sportif. Selon Melin (1996), la carence en électrolytes chez le sportif a pour conséquence une importante diminution de la capacité de travail musculaire, du volume sanguin et de l'élévation de l'osmolarité plasmatique. Les sels minéraux sont apportés principalement par les aliments d'origine végétale, et se divisent en macroéléments et en oligo-éléments. Les macroéléments représentent 99% des minéraux de l'organisme ; ce sont le calcium,

le phosphore, le magnésium, le zinc, le potassium, le sodium, le chlore et le soufre. Les oligo-éléments sont le fer, l'aluminium, l'arsenic, le bore, le brome, le chrome, le cobalt, le cuivre, le fluor, l'iode, le manganèse, le molybdène, le nickel, le plomb, le silicium, le sélénium, le vanadium et le plutonium. Les résultats de l'analyse nutritionnelle de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* ont montré la présence des sels minéraux dans des proportions variables (sodium ( $272,70 \pm 28,04$  g/kg de MS), potassium ( $120,70 \pm 14,18$  g/kg de MS), calcium ( $28,368 \pm 0,94$  g/kg de MS), fer ( $26,44 \pm 3,51$  g/kg de MS), zinc ( $21,06 \pm 0,29$  g/kg de MS), magnésium ( $11,57 \pm 0,59$  g/kg de MS) et cuivre ( $3,52 \pm 0,17$  g/kg de MS)). En effet, les minéraux représentent 1,05% de matière sèche de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Fuglie (2002) et Olugbemi *et al.* (2010). Ces auteurs ont montré que les minéraux occupent une part modeste de la matière sèche de feuilles de *M. oleifera* avec des teneurs de 0,6 à 11,42% MS.

Les résultats de l'effet antifatique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* chez les rats soumis à une activité physique aiguë ont montré que cet extrait n'a pas modifié significativement la prise hydrique et alimentaire des rats. De plus, aucunes différences significatives du poids relatif des organes et de l'évolution de la masse pondérale (207-213g) des rats ayant consommé l'extrait, en comparaison au groupe témoin, n'ont été observés après 28 jours de traitement. Les valeurs du gain pondéral de tous les groupes se situent entre 77,00 et 80,80 g. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus par Osman *et al.* (2012) qui ont montré une évolution de la masse corporelle de plus de 14 % chez les rats ayant consommé l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* pendant 21 jours. Ces auteurs ont attribué ces changements à la qualité nutritionnelle exceptionnelle des feuilles de *M. oleifera*. Des différences dans les protocoles d'études, le nombre de sujet et les types d'analyses effectuées pourraient rendre compte des contrastes entre les résultats.

Le test de la nage forcée a été utilisé pour évaluer l'endurance physique des rats soumis à une activité physique aiguë. Les résultats montrent que les rats ayant consommé l'extrait à différentes doses ont présenté des temps de nage supérieures au groupe témoin ( $p < 0,05$ ). Le temps de nage le plus élevé a été enregistré chez les rats ayant consommé l'extrait à la dose de 200 mg/kg ( $140,50 \pm 32,17$  secondes), ce qui représente une augmentation de 56,55 % par rapport au lot témoin ( $89,75 \pm 17,19$  secondes). Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* aurait des propriétés antifatiques, ce qui aurait pour conséquence une augmentation du temps de nage chez les rats. Ces résultats sont en accords avec ceux obtenus par Choi *et al.* (2012), Prasad et Khanum (2012), Xu *et al.* (2013) et Hao *et al.* (2014), qui ont travaillé sur l'effet antifatique de divers extraits de plantes. En effet, la littérature fournie une très grande variété de plantes ou d'extraits de plantes ayant des propriétés antifatiques (*Panax ginseng*, *Ginkgo biloba*, *Rhodiola*

*rosea*, *Kola*, *Eleutherococcus senticosus*, *Ginkgo biloba*, *Ocimum sanctum* etc.). Il s'agit, pour l'essentiel des plantes riches en caféines, polysaccharides, flavonoïdes, phénols, saponines et en terpènes. Plusieurs travaux ont montré l'effet d'extraits de plantes tant sur la fatigue aiguë que sur la fatigue chronique, aussi bien chez l'homme que chez l'animal (Prasad et Khanum, 2012 ; Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014). L'activité antifatique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* pourrait donc être attribuée à la qualité nutritionnelle des feuilles de cette plante. Les résultats de l'analyse nutritionnelle (qualitative et quantitative) ont, à cet effet, montré que l'extrait des feuilles de cette plante est très riche en énergie métabolisable (2810,98 kcal/kg d'extrait), en sels minéraux (1,05% de MS) et en d'autres constituants phytochimiques (tannins, phénols, flavonoïdes, glycosides, protéines et polysaccharides).

Dans le but de vérifier cette hypothèse, plusieurs paramètres biochimiques sériques (glucose, lactate, triglycérides et urée), tissulaires (glycogène hépatique et musculaire, paramètres du stress oxydant) et hématologiques (NFS) ont été évalués chez des rats qui ont été soumis au test de nage de 90 minutes. Les résultats de ce test ont montré que ces paramètres ont connu des variations significatives dans les lots ayant consommé l'extrait à différentes doses en comparaison au témoin. En effet, des quantités élevées de glycogènes hépatique et musculaire à toutes les doses ont été observées en comparaison au groupe témoin ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ). Les taux d'augmentation par rapport au groupe témoin varient entre 22,00 et 28,34% pour le glycogène hépatique, et entre 73,11 et 131,93% pour le glycogène musculaire. Par ailleurs, une augmentation significative et dose dépendante du glucose sérique (20,94 à 36,70%) et une baisse significative des taux de triglycérides sériques (29,13 à 66,95%), de lactate sérique (22,80 à 39,65%) et de l'urée sérique (37,35 à 41,35%) ont été observées dans les mêmes lots en comparaison au groupe témoin. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus par Divi *et al.* (2012) et Edoga *et al.* (2013), qui ont montré que les extraits aqueux, éthanolique et hydro-alcoolique des feuilles de *M. oleifera* (100 à 300 mg/kg de PC) ont entraîné une baisse significative de la glycémie chez rats souffrant du diabète. Des différences de protocoles expérimentaux et des méthodes d'extraction pourraient expliquer ces résultats.

Les substrats énergétiques dégradés au cours d'une activité physique dépendent de l'intensité et de la durée de l'exercice (Miller, 1994). Pour les exercices intenses, l'énergie fournie sous forme d'ATP proviendrait majoritairement de la glycolyse (aérobie ou anaérobie) et de la glycogénolyse. Ainsi, les réserves glycogéniques hépatiques et musculaires seraient des indicateurs du niveau de fatigue (Dohm *et al.*, 1983). En effet, la pratique de l'exercice physique intense ou prolongé entraîne une baisse de ces réserves, qui pourrait conduire à une hypoglycémie néfaste au fonctionnement musculaire et cérébrale (transmission de l'influx nerveux). La poursuite de l'effort lors de ce type

d'exercices serait liée à la capacité du muscle à maintenir le taux de glucose circulant et à mobiliser d'autres sources d'énergie (acides gras libres, triglycérides et acides aminés) contenus dans le muscle, le foie et les cellules adipeuses. Diverses études ont montré que les plantes antifatigues auraient des effets sur la glycolyse et la glycogénolyse et sur l'utilisation préférentielle des lipides au cours d'une activité physique, aussi bien chez l'homme que chez l'animal (Prasad et Khanum, 2012 ; Xu *et al.*, 2013 ; Nallamuthu *et al.*, 2014). L'hyperglycémie observée chez les rats ayant consommé l'extrait lors du test de la nage de 90 minutes serait donc due à une augmentation de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse par la libération périphérique d'adrénaline, de la noradrénaline et de glucocorticoïdes (Sapolsky *et al.*, 2000). L'augmentation de la libération de ces hormones entraînerait une inhibition de la libération d'insuline par le pancréas (Diane *et al.*, 2008), ce qui aurait pour conséquence une augmentation de la lipolyse et une baisse du contenu en malonyl-CoA. La diminution de ce dernier stimulerait l'oxydation des acides gras dans les muscles squelettiques (Bavenholm *et al.*, 2000). En effet, le malonyl-CoA inhiberait les carnitine O-palmitoyltransférases I (CPT I) dont le rôle est de transporter les acides gras à longues chaînes au sein de la mitochondrie pour qu'ils subissent une  $\beta$ -oxydation. Ce mécanisme serait donc responsable durant l'effort d'une baisse du catabolisme des glucides et des protéides, ce qui favoriserait le maintien des réserves glycogéniques et la survenue tardive de la fatigue (Guezennec et Pesquiès, 1985).

La baisse du taux de lactate observée chez les rats ayant consommé l'extrait à toutes les doses lors du test de la nage de 90 minutes serait due à l'effet de cet extrait sur la glycolyse anaérobie. En effet, l'acide lactique est un métabolite issu de la dégradation anaérobie du glucose, ce qui entraîne une production de protons  $H^+$  et d'anions lactate *in vivo*. Son accumulation dans le sang et les muscles est un bon indicateur du degré de fatigue lors d'un exercice d'intensité élevée et de courte durée (Yu *et al.*, 2008). Selon Sahlin (1991), l'acidose métabolique qui en résulte est considérée par de nombreux auteurs comme le principal facteur de fatigue et d'arrêt de l'exercice intense et de courte durée (30 sec à 5 min). Deux explications plausibles sont retenues. D'une part, Dobson *et al.* (1986) ont émis l'hypothèse selon laquelle, l'accumulation de protons  $H^+$  entraîne une baisse importante du pH cellulaire (7 à 6), ce qui inhiberait l'activité de l'enzyme régulatrice de la glycolyse (phosphofructokinase ou PFK). Cette inhibition entraînerait l'arrêt de la glycolyse et en conséquence l'arrêt de la synthèse de l'ATP, donc une baisse de la force contractile, synonyme d'incapacité fonctionnelle. D'autre part, Metzger et Fitts (1987) ont démontré que les protons  $H^+$  entreraient en compétition avec les ions calcium, les empêchant d'interagir avec les sites calciques de la troponine. Dans ces conditions, la levée de l'inhibition exercée au repos par le complexe troponine-tropomyosine sur la formation des ponts d'actomyosine ne pourrait être réalisée : la

contraction musculaire ne pourrait donc avoir lieu. L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* pourrait donc avoir une action soit sur le blocage de l'accumulation du lactate au niveau sanguin, soit au niveau de sa synthèse (Li *et al.*, 2008).

Tous comme le lactate, l'urée sérique est un indicateur du niveau de fatigue. L'urée est le produit final issu de la dégradation des protéines. Selon Huang *et al.* (2011), l'urée est un bon indicateur du niveau d'endurance physique des athlètes qui sont soumis à une activité physique. Une élévation de l'urée sérique serait un indicateur de la dégradation des protéines, de la déshydratation, du stress et de la fatigue chez l'athlète. Pour des efforts prolongés, la baisse des réserves en glycogène stimule l'utilisation d'autres substrats dont les acides gras libres (AGL) et les acides aminés. Sur le plan du mécanisme, il est probable que la diminution du flux énergétique des glucides pendant la contraction musculaire augmente la mobilisation de l'azote par la mise en jeu du cycle des purines nucléotides. L'augmentation de l'ammoniaque stimule l'uréogénèse hépatique et la production d'acide urique (Kirwan *et al.*, 1990). Il en résulte une augmentation de la production d'urée qui est un autre facteur de la fatigue musculaire. En effet, dans le but de maintenir le ratio ATP/ADP, l'adenylate-kinase transfère un groupement phosphate d'une molécule d'ADP à une autre, aboutissant à la formation d'une molécule d'ATP et d'une molécule d'AMP. L'AMP est ensuite dégradée en présence de l'AMP-désaminase en IMP et en ammoniaque (Hancock *et al.*, 2006). La baisse de l'urée sérique observée dans les lots ayant consommé l'extrait aqueux des feuilles de *M. Oleifera* à toutes les doses pourrait donc être due à une diminution de la protéolyse dans ces lots.

L'augmentation de l'utilisation de l'oxygène qui se produit pendant l'exercice, est associée à une accentuation de la production de radicaux libres (RL) (Lenn *et al.*, 2002). Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait, l'activité de quelques enzymes du stress oxydant (SOD, CAT et GSH) ainsi que la peroxydation lipidique ont été mesurées. La peroxydation des lipides a été mesurée par le MDA. Elle a baissé dans le foie et le muscle dans tous les groupes ayant reçu l'extrait de la plante. A contrario, une augmentation de la SOD, de la CAT et du GSH a été observée chez les lots ayant consommé l'extrait à différentes doses. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Chumark *et al.* (2008) et Singh *et al.* (2009) qui ont démontré *in vitro* que l'extrait méthanoïque et éthanolique des feuilles de *M. oleifera* à une grande capacité antioxydante (65,1% et 66,8% respectivement pour l'extrait méthanoïque et éthanolique). En effet, des quantités significatives de molécules antioxydantes comme les  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -tocophérols, le stigmastérol, le campestérol, la quercétine, le kaempférol, la vitamine A et C, les polyphénols, les flavonoïdes, les polysaccharides et les terpenoïdes (Chumark *et al.*, 2008 ; Singh *et al.*, 2009 ; Bennett *et al.*, 2010 ; Awodele *et al.*,

2012 ; Kumbhare *et al.*, 2012) ont été trouvées dans différents extraits des feuilles de cette plante. En outre, les flavonoïdes, les polysaccharides, les terpenoïdes sont des agents de protection contre les radicaux libres (Yadav *et al.*, 2011) au niveau du foie et des muscles. Ils ont été retrouvés en grande quantité dans l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Leur implications dans la prévention de la fatigue aiguë a fait l'objet de plusieurs études (Kuo *et al.*, 2009 ; Hao et Zhaobao, 2010 ; Huang *et al.*, 2011). En effet, la réduction de la peroxydation lipidique et l'élévation de l'activité de la SOD, la CAT et le GPx pourrait être dues à la présence de ces constituants phytochimiques dans l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Ce qui pourrait favoriser la neutralisation des radicaux libres produits lors de l'effort physique et réduire l'effet de la fatigue.

L'exercice physique isolé est associé à un certain nombre de modifications hématologiques, en relation aussi bien avec la lignée rouge que la lignée blanche. Les résultats des paramètres hématologiques montrent une augmentation du taux d'hémoglobine (5,69%) et du pourcentage de lymphocyte (29,28%) dans le lot ayant consommé l'extrait à la dose de 100 mg/kg. Par ailleurs, des baisses du taux d'hématocrite (7,31%), du pourcentage de granulocyte (37,90%), des lymphocytes (22,22 à 25,31%) et des granulocytes (48,33%) ont également été observées dans le même lot. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Hisham *et al.* (2012), Otitoju *et al.* (2014) et Okwari *et al.* (2014) qui ont évalué l'effet de l'extrait aqueux et éthanoloïque des feuilles de *M. oleifera* sur les paramètres hématologiques. Les modifications hématologiques pourraient être dues à la réponse immuno-modulatrice et à l'immunogénicité de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante. En effet, les feuilles de *M. oleifera* sont riches en acides aminés, en vitamine (A, B, C, D, E etc.) et en minéraux (fer), ce qui pourrait accroître la production des globules rouges et mobiliser les cellules immunocompétentes. L'augmentation du taux d'hémoglobine pourrait présenter un avantage dans la pratique des activités physiques et sportives. En effet, le taux d'hémoglobine est l'un des indicateurs qui reflète le degré de récupération d'un athlète après un effort physique (Gao et Wu, 2008). L'hémoglobine intervient dans le transport de l'O<sub>2</sub> et du CO<sub>2</sub> et assure à cet effet, l'équilibre acido-basique et le maintien de l'homéostasie. L'augmentation du taux d'hémoglobine améliore la disponibilité en O<sub>2</sub> et l'élimination du CO<sub>2</sub>, d'où la poursuite de l'exercice physique. Le taux d'hémoglobine élevé dans les lots ayant consommé l'extrait pourrait expliquer les performances observées dans ces lots.

L'augmentation du pourcentage de lymphocyte pourrait également présenter un avantage dans la pratique de l'activité physique. En effet, bien qu'étant généralement considérée comme bénéfique pour l'organisme, l'activité physique menée de manière intense pourrait modifier le système immunitaire (Suzuki *et al.*, 1999). En général, pendant et immédiatement après l'exercice

intense, le nombre total de leucocytes (polynucléaires et mononucléaires) circulants augmente. Cette leucocytose est proportionnelle à l'intensité et à la durée de l'exercice. Elle disparaît 24 heures après l'exercice. La baisse du taux de lymphocytes et granulocytes observée chez les lots ayant consommé l'extrait serait due à l'effet de la plante sur la réduction des déchets métabolique (lactate et urée), sur le maintien de l'équilibre du système oxydant et sur la préservation des réserves énergétiques. Cette situation pourrait être bénéfique pour les athlètes qui pourront avoir une meilleure récupération.

Chez les rats soumis à une fatigue induite par une activité physique chronique pendant deux semaines, l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* n'a pas modifié significativement l'évolution pondérale et la prise alimentaire de ces rats. Des augmentations significatives de la prise hydrique (200 mg/kg d'extrait) et des poids relatifs du cœur et du cerveau (100 et 200 mg/kg d'extrait) ont été observées, en comparaison au groupe témoin. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Nandave *et al.* (2009) et Kirisattayakul *et al.* (2013), qui ont montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *M. oleifera* aurait des propriétés cardio-protectrices et cérébro-protectrices chez les rats. En effet, l'activité physique chronique sans apport en énergie et en certains nutriments essentiels peut conduire à une déficience biologique ou à une carence clinique et avoir des effets délétères sur la santé et la performance. Des modifications structurelles, fonctionnelles et électriques de certains organes comme le cœur et le cerveau sont alors observés (La Gerche *et al.*, 2009). L'augmentation du poids relatif du cœur et de cerveau des rats ayant consommé l'extrait de *M. oleifera* pourrait être due à la qualité nutritionnelle de cet extrait.

Les résultats de l'endurance physique des rats lors des séances d'entraînement à la nage avec 10% de poids corporel montrent une augmentation significative du temps de nage des rats ayant consommé l'extrait de la 2<sup>ème</sup> à la 7<sup>ème</sup> séance d'entraînement en comparaison au groupe témoin ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ). Cette augmentation du temps de nage a été progressive dans tous les groupes ayant consommé l'extrait, avec des taux d'augmentation qui varie entre 45,17 et 67,71%. La valeur maximale du temps de nage ( $587,50 \pm 51,64$  secondes) a été obtenue à la dose de 200mg/kg lors de la 7<sup>ème</sup> séance d'entraînement à la nage (14<sup>ème</sup> jour d'expérimentation). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Prasad and Khanum (2012) qui ont montré l'effet antifatigue de l'extrait éthanolique de *Ocimum sanctum* chez les rats soumis à une activité physique chronique pendant deux semaines. Les résultats des paramètres biochimiques sériques, tissulaires et hématologiques montrent que ces paramètres ont connu des variations significatives dans les lots ayant consommé l'extrait à différentes doses en comparaison au témoin.

L'entraînement mené de façon efficiente entraîne une amélioration de la capacité physique de l'athlète. Ce dernier voit ses capacités énergétiques (réserves glycogéniques, AGL, triglycérides et résistance à l'acide lactique) augmentées. Des baisses du taux de lactate variant entre 38,55 et 53,83% ont été observées dans les groupes ayant consommé l'extrait de *M. oleifera*, ce qui semble plus important que celles enregistrés lors de l'activité physique aiguë (entre 22,80 et 39,65%). Concomitamment à la baisse du lactate sérique, des baisses de la concentration en triglycérides et en urées sériques et une augmentation des réserves hépatiques et musculaires en glycogène ont été également observées dans les groupes ayant consommé l'extrait. Les taux de baisse sont situés entre 34,35 et 35,69% pour l'urée et entre 59,03 et 62,08% pour les triglycérides et les taux d'augmentation des réserves glycogéniques sont situés entre 22,00 et 28,34% pour le glycogène hépatique et entre 73,11 et 131,93% pour le glycogène musculaire. En effet, les travaux de Kiens *et al.* (1993) ont montré que l'entraînement entraîne une augmentation des réserves glycogéniques hépatiques et musculaires, ce qui aurait pour conséquence une augmentation de la capacité du muscle à utiliser préférentiellement les lipides (AGL et triglycérides) comme source d'énergie. De plus, Tsopanakis et Tsopanakis (1998) et Huang *et al.* (2011) ont apporté la preuve d'une baisse de la concentration en urée sérique observée suite à un entraînement intense qui serait liée à une diminution de la sollicitation de la gluconéogenèse. La consommation de l'extrait de *M. oleifera* pourrait donc favoriser chez les rats soumis à une activité physique chronique, des modifications physiologiques et énergétiques importantes permettant une bonne récupération.

Des sujets entraînés présentent par rapport à des sédentaires des niveaux sanguins et musculaires en MDA significativement inférieurs (Arikawa *et al.*, 2013 ; Azizbegi *et al.*, 2014) et en antioxydants (SOD, GSH, CAT) significativement supérieurs (Douris *et al.*, 2009). Ces résultats reflètent une activité antioxydante de repos plus performante et une moindre oxydation chez les individus entraînés. L'entraînement en anaérobie à dominante lactique a été démontré capable d'augmenter les antioxydants musculaires et hépatiques (SOD, GSH, CAT) et de diminuer les niveaux sanguins de MDA (Bloomer *et al.*, 2008). L'activité physique intense peut induire une activation redox sensible de facteurs de transcription comme les NFkB qui activent la production d'antioxydants endogènes (GSH, CAT et SOD), et renforcent l'organisme contre de nouvelles agressions oxydatives (Bloomer *et al.*, 2006). Ce qui sera à l'origine d'une hypertrophie musculaire, d'un meilleur fonctionnement du cœur, d'une meilleure consommation du glucose et d'une meilleure endurance (Davies *et al.*, 1982). En cas de surentraînement, le système de défense antioxydant pourrait être dépassé dans sa capacité de faire face au stress oxydant dû à l'effort physique intense (Knez *et al.*, 2007). Les résultats de cette étude ont montré une augmentation de l'activité de la SOD, du GSH et de la CAT tant au niveau hépatique que musculaire chez les rats

ayant consommé l'extrait en comparaison au groupe témoin. Par ailleurs, une baisse du taux de MAD hépatique et musculaire dans les lots ayant consommé l'extrait en comparaison au témoin a été observée. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* pourrait améliorer le système antioxydant des rats soumis à une activité physique chronique. Cette amélioration pourrait être due non seulement aux antioxydants endogènes, mais également à ceux exogènes rencontrés en grande quantité dans cet extrait.

L'entraînement intense et le surentraînement sont responsables d'une réponse inflammatoire qui agit non seulement sur le système immunitaire, mais également sur la lignée rouge (Romeo *et al.*, 2010). Ce qui aurait pour conséquences des réductions du nombre de globules rouges, de l'hémoglobine, du taux d'hématocrite et d'une diminution des lymphocytes. En effet, la diminution de lymphocyte observée lors d'un entraînement intense serait due à une migration des cellules immunitaires du sang vers les sites inflammatoires qui sont plus nombreux dans la suite de ce type d'entraînement (Gleeson *et al.*, 1995). Elle pourrait également s'expliquer par une diminution de la concentration plasmatique de la glutamine (Parry-Billings *et al.*, 1992). Cette dernière constitue la principale source d'énergie des lymphocytes et une altération de sa concentration pourrait contribuer à une immunosuppression responsable de diverses infections observées chez les sportifs d'endurance (Gastmann et Lehmann, 1998). Par ailleurs, la diminution du nombre de globules rouges, de l'hémoglobine et du taux d'hématocrite observées chez les sportifs d'endurance serait due à une diminution de la concentration en fer observée chez ces derniers (Dressendorfer *et al.*, 1981). Les résultats des paramètres hématologiques dans le cadre de cette étude ont montré une augmentation du taux d'hémoglobine (12,46%), du pourcentage de Lymphocyte (54,66 à 77,70%), des globules blancs (38,07 à 41,19%) et des globules rouges (25,09%) dans les lots ayant consommé l'extrait à la dose de 200 et 400mg/kg en comparaison au groupe témoin. Par contre, le pourcentage de granulocyte (23,93%) des rats du lot *M. oleifera* 200mg/kg a connu une baisse en comparaison au groupe témoin. En comparant ces résultats à ceux obtenus chez les rats soumis à l'activité aiguë, il apparaît que les modifications des paramètres hématologiques semblent plus importantes lors d'une activité physique chronique chez les rats ayant consommé l'extrait aux doses les plus fortes (200 et 400 mg/kg). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Hisham *et al.* (2012), Otitoju *et al.* (2014) et Okwari *et al.* (2014) qui ont évalué l'effet de l'extrait aqueux et éthanoïque des feuilles de *M. oleifera* sur les paramètres hématologiques. Les modifications hématologiques dues à la réponse immuno-modulatrice et à l'immunogénicité de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante observé lors de l'activité physique aiguë pourraient également se prolonger lors d'une activité physique chronique. Ce qui pourrait représenter un atout pour la santé des sportifs qui consommeraient cette plante.

Ces résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* aurait des effets non seulement sur l'activité physique aiguë, mais également sur l'activité physique chronique ou intense. En effet, l'augmentation de l'endurance physique des rats serait due à une bonne récupération et une mise en place plus efficiente des mécanismes adaptatifs chez les rats ayant consommé cet extrait. Ces effets ont été plus visibles à la dose de 200 mg/kg. Les mécanismes physiologiques mis en place pourraient inclure une réduction de certains métabolites (acide lactique, urée et radicaux libres), une augmentation des réserves énergétiques (glycogène hépatique et musculaire), une meilleure utilisation des réserves lipidiques durant l'effort (triglycérides) et une modification des paramètres hématologiques.

L'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* aux animaux soumis au stress aigu a modifié de manière dose-dépendante les paramètres comportementaux (poids des fèces, Temps Passé au Centre du Dispositif, nombre de crossing, grooming et rearing) des rats soumis au stress aigu en comparaison au témoin stressé. Une réduction dose dépendante de l'indice d'ulcère et une augmentation dose-dépendante du poids du mucus chez les rats ayant consommé l'extrait ont été observées en comparaison au témoin stressé. L'analyse des paramètres du stress oxydant au niveau de l'estomac et des paramètres biochimiques sériques (glucose sérique, triglycérides sériques et urée sérique) ont également montré des modifications significatives chez les rats ayant consommé l'extrait de cette plante.

Suite au test de l'effet de l'extrait sur le stress chronique, les rats ayant consommé l'extrait n'ont présenté aucune différence significative de prise hydrique et d'évolution pondérale pendant toute la durée de l'expérimentation en comparaison au groupe témoin stressé. Des modifications des paramètres comportementaux, de la prise alimentaire, du score des ulcères, des paramètres du stress oxydant et des paramètres biochimiques sériques ont été observées dans tous les lots ayant consommé l'extrait ou le diazépam, en comparaison au témoin. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* pourrait diminuer les effets délétères du stress aussi bien dans sa phase aiguë que chronique chez les rats. Toutefois, l'amplitude des variations des paramètres comportementaux, physiques et physiologiques évaluées au cours de cette étude semble moins importante chez les rats en situation de stress chronique en comparaison à ceux soumis au stress aigu. Ce qui est en concordance avec les données de la littérature (Radley *et al.*, 2008) et laisse supposé que les mécanismes physiologiques impliqués pourraient dépendre du modèle de stress étudié.

La réponse adaptative au stress aigu ou chronique implique le rôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et du système nerveux autonome sympathique (Rai *et al.*, 2003). Toutefois,

l'exposition à un stress chronique entraîne des modifications neurologiques, comportementales et biochimiques différentes de ceux d'une exposition aiguë. En effet, les changements comportementaux observés lors d'un stress aigu sont modulés par les médiateurs du stress que sont des neuropeptides et hormones régulateurs de l'homéostasie sécrétés par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien et le système nerveux sympathique associé aux glandes médullosurrénales: la corticolibérine (CRF), l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), les glucocorticoïdes et les catécholamines. Ces modifications sont limitées dans le temps et peuvent induire des effets désagréables. Une exposition à un stress chronique entraîne une altération des structures et des fonctions des régions du cerveau impliquées dans le contrôle de l'axe corticotrope et du système nerveux autonome. En effet, le stress chronique induit des modifications structurelles au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Radley *et al.*, 2008). Au niveau du noyau para-ventriculaire, une augmentation de l'expression de CRF et d'arginine vasopressine (AVP) et une diminution de l'expression des GR sont mises en évidence, ainsi qu'une altération de nombreux autres récepteurs (Ziegler *et al.*, 2005). Des changements neurochimiques sont également démontrés dans de nombreuses voies de signalisation projetant vers le PVN, notamment une augmentation des niveaux de neurotransmetteurs GABA dans l'hypothalamus et le noyau du lit de la strie terminale. Ces changements sont à l'origine des effets délétères du stress chronique.

Par ailleurs, les changements observés dans la prise alimentaire en réponse au stress chronique sont différents de ceux en réponse au stress aigu. En effet, l'on a observé lors de l'étude portant sur le stress chronique, une augmentation dose-dépendante de la prise alimentaire dans les lots ayant consommé l'extrait à différentes doses et le Diazépam en comparaison aux rats du lot témoin stressé ( $p < 0,05$ - $p < 0,001$ ). La diminution de la prise alimentaire chez les rats du groupe témoin stressé serait due à une augmentation de la libération de la CRH (Harris, 2015). En se fixant sur ses récepteurs (CRHR1 et CRHR2), cette hormone modifie la production des glucocorticoïdes. En effet, les études ont montré qu'à la dose physiologique normale, les glucocorticoïdes ont une action anabolisante, tandis qu'à dose élevée comme en situation de stress chronique, ils induisent des effets cataboliques sur les réserves glucidiques et lipidiques via les GR. Au même moment, ils exercent un effet anorexigénique via une hyperleptinémie, les GR du NPV, ou indirectement via d'autres systèmes.

La barrière hémato-encéphalique est sélectivement perméable à une large variété de substances biologiquement actives. Les acides aminés par exemple, peuvent pénétrer dans le cerveau grâce à différents transporteurs. Ils peuvent donc être impliqués dans le processus de régulation et d'adaptation au stress par l'organisme (Lieberman, 2003). La tyrosine et la

phénylalanine sont des précurseurs des catécholamines et le tryptophane est précurseur de la sérotonine. Il peut exister un lien direct entre les apports nutritionnels de la tyrosine, de la phénylalanine et du tryptophane et la biosynthèse de ces neuromédiateurs. En outre, les systèmes sérotoninergiques, GABAergiques, opioïdiques et catécholaminergiques centraux sont des cibles privilégiées des médicaments anti-stress et des peptides issus du catabolisme digestif des protéines ou directement présents dans les protéines natives des aliments. Ils peuvent avoir une action agoniste ou antagoniste sur des récepteurs au sein de ces systèmes et induire ainsi une activité antistress. Les effets protecteurs de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* observés aussi bien lors du stress aigu que du stress chronique, pourraient être dus à une modification structurelle et fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et du système nerveux autonome sympathique. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Bakre *et al.* (2013) et Kirisattayakul *et al.* (2013). En effet, Bakre *et al.* (2013) ont démontré que l'extrait éthanolique des feuilles de *M. oleifera* (250-2000 mg/kg) a modifié les paramètres comportementaux des rats (locomotion, mémoire, toilettage et poids des selles), réduit le niveau d'anxiété et l'apparition des crises convulsives. Kirisattayakul *et al.* (2013) ont également montré que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* possède un effet cérébro-protecteur, permettant de limiter l'altération des neurones impliqués dans la régulation du stress. Ce qui leur a permis de conclure que l'activité de cet extrait pourrait être due à une amélioration du mécanisme inhibiteur central impliquant la libération de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA).

Les manifestations désagréables du stress peuvent provenir des changements physiques et physiologiques observés au niveau de certains organes à l'instar de l'estomac. Une hypothèse formulée par Peters *et al.* (1999) stipule qu'une vasoconstriction de l'ensemble de la circulation splanchnique consécutive à la stimulation sympathique, associée à un stress physique, diminueraient le volume sanguin circulant, et aggraverait le phénomène d'ischémie au niveau gastro-intestinale. En effet, des études ont montré qu'une ischémie au niveau stomacal serait à l'origine d'une diminution des sécrétions muqueuses, d'un œdème du chorion avec extravasation de globules rouges, des plaques de muqueuse congestive ou hémorragique (McMahon *et al.*, 1984). Dans la présente étude, une évaluation du score des ulcères a montré une réduction dose-dépendante de l'indice d'ulcère et une augmentation dose-dépendante du poids du mucus chez les rats ayant consommé l'extrait en comparaison au témoin stressé. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Pal et Sahib (1995) et Debnath *et al.* (2011), qui ont montré que l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles de *M. oleifera* possédaient des propriétés antiulcérogéniques. En effet, cet extrait a entraîné une réduction significative de la formation de lésions gastriques causées par un stress. Dans le cas du stress aigu, les pourcentages d'inhibition sont de 36,73, 51,02 et 53,06 respectivement pour

les groupes *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg. Pour le stress chronique, les pourcentages d'inhibition sont de 51,02, 51,02 et 53,06 respectivement pour les groupes *M. oleifera* 100, 200 et 400 mg/kg. Le taux d'augmentation du poids du mucus des rats ayant consommé l'extrait varie entre 0,85 et 10,42% pour le stress aigu et entre 3,57 et 17,34% pour le stress chronique. Ces résultats pourraient s'expliquer par l'effet de cet extrait sur la densité des cellules entérochromaffines (CE) (Debnath *et al.*, 2011). L'augmentation de la densité des cellules entérochromaffines aurait comme conséquence une élévation du taux de la 5-hydroxytryptamine (5-HT) et de l'épaisseur de la muqueuse stomacale (Debnath *et al.*, 2011). La 5-HT est un neurotransmetteur régulateur clé des muscles lisses des voies cardiovasculaires et gastro-intestinales, se trouvant à une concentration élevée dans les cellules entérochromaffines. Ainsi, l'effet antiulcérogéniques de l'extrait aqueux de *M. oleifera* serait probablement due à la libération de la 5-HT à partir de cellules entérochromaffines, ce qui augmente la sécrétion de mucus via la voie cyclooxygénase, tout en induisant la synthèse de prostaglandine (PG), en particulier PGE2 et PGI2 et menant à la cytoprotection.

Par ailleurs, il a été établi que les stressseurs (physiques ou psychologiques) appliqués de manière aiguë ou chronique, provoquent une augmentation tissulaire des formes réactives de l'oxygène (Carnevale *et al.*, 2011). Ces radicaux libres oxygénés sont produit par les cellules endothéliales et les neutrophiles polynucléaires. Ils provoquent la destruction des tissus de la muqueuse gastrique en induisant l'ischémie au niveau de la micro-vascularisation gastrique, et le rôle directe des radicaux libres oxygénés dans l'éthiopathologie des ulcères induits par le stress a été bien établi. La formation des ulcères induits par le stress à l'eau froide implique aussi l'action corrosive de l'acide gastrique sur les cellules de la muqueuse gastrique, ainsi que la peroxydation lipidique de la paroi cellulaire qui entraîne la formation du MDA (Tandon *et al.*, 2004). Les antioxydants agiraient comme piègeurs/inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions superoxydes, du singulet d'oxygène, ou comme régulateurs du système antioxydant (De-Faria *et al.*, 2012). Les résultats de cette étude ont montré, aussi bien dans l'étude du stress aigu que celui du stress chronique, une augmentation de l'activité de la SOD, de la CAT et du GSH au niveau de l'estomac dans les lots ayant consommé l'extrait en comparaison au témoin stressé. Par contre, une baisse significative du MDA au niveau de l'estomac a été observée dans les mêmes groupes. La protection gastrique contre les dommages provoqués par le stress aigu ou chronique chez les rats ayant consommé l'extrait aqueux des feuilles de cette plante serait donc liée au renforcement du statut antioxydant de ces animaux. Ce renforcement du statut antioxydant pourrait être attribué à la présence en quantité importante dans l'extrait des flavonoïdes, alcaloïdes, polyphénols et

triterpénoïde, qui sont des classes de composés bioactifs dont l'activité antioxydante est bien connue (Chumark *et al.*, 2008).

Les résultats de l'évaluation des effets du stress aigu/chronique chez les rats ayant consommé l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* ont montré des taux de glucose (entre 20,77 et 39,86 % pour le stress aigu et entre 40,35 et 49,07% pour le stress chronique), d'urée (entre 48,19 et 56,37% pour le stress aigu et entre 46,65 et 62,81% pour le stress chronique) et de triglycérides sériques (entre 41,68 et 59,56% pour le stress aigu et entre 49,09 et 54,05% pour le stress chronique) moins élevés en comparaison au groupe témoin stressé. Ce qui suggère, au vue de la quantité de polyphénols retrouvés dans cet extrait, qu'il pourrait avoir des propriétés hypoglycémiantes et hypolipidémiantes chez les rats soumis à un stress. Des résultats similaires ont été obtenus chez des rats souffrants de diabète de type 2 (Ndong *et al.*, 2007). La réponse au stress comprend également un hypermétabolisme (augmentation de la consommation d'oxygène, hyperglycémie, hyperlactémie, catabolisme protéique), une réaction d'hyperactivité cardio-vasculaire et des réactions cliniques telles que la fièvre, l'hypothermie, la tachycardie, la tachypnée et l'hyperleucocytose. L'hyperglycémie observé lors d'un stress aigu serait due à une augmentation de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse par la libération périphérique d'adrénaline, de la noradrénaline et de glucocorticoïdes (Sapolsky *et al.*, 2000). L'augmentation de la libération de ces hormones entrainerait une inhibition de la libération d'insuline par le pancréas (Diane *et al.*, 2008). Ce qui aurait pour conséquence une augmentation de la lipolyse et de la protéolyse.

L'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* possède donc des effets aussi bien contre les changements à court termes induits par le stress aigu, que ceux structurels et fonctionnels induits par le stress chronique. Les changements observés chez les rats ayant consommé l'extrait pourraient être dus à l'effet de cet extrait sur le fonctionnement du système nerveux central (modification du comportement des rats), sur l'hypermétabolisme (action hypolipidémiantes et hypoglycémiantes) et sur la production des radicaux libre et le renforcement de la capacité antioxydante.

L'étude de la toxicité aiguë a consisté à l'administration orale d'une dose unique de 2000 mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera*. Les résultats de cette étude n'ont montré aucune modification du comportement, des prises alimentaire et hydrique, de l'évolution pondérale et du poids relatif des organes comparativement aux témoins respectifs. L'administration orale de cet extrait n'a entraîné aucun signe visible de toxicité et tous les animaux traités ont survécu durant les 14 jours d'observation qui ont suivi cette administration. Ces résultats montrent que la DL50 de l'extrait aqueux de *M. oleifera* est supérieure à 2000 mg/kg. Ramesh *et al.* (2007) ont montré que les substances possédant une DL50 de 2000 mg/kg étaient non ou faiblement toxiques. En vertu des

recommandations faites par l'OCDE (OCDE, 2001), nous pouvons classer notre extrait dans la catégorie 5 du système de classification globalement harmonisé (SGH), catégorie correspondant aux substances faiblement toxiques. Tous ces résultats laissent penser que l'administration orale d'une dose unique de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* serait quasiment sans risque pour l'organisme. Ces résultats sont semblables à d'autres études qui ont été menées sur l'extrait aqueux des feuilles de cette plante qui ont rapporté des DL50 supérieures à 6400mg/kg (Awodele *et al.*, 2012 ; Ilyas *et al.*, 2016).

Selon Chapman *et al.* (2010), la détermination des doses létales chez les animaux ne prédit pas forcément de la dose létale humaine d'un médicament ou d'un poison. Les données de toxicité aiguë sont d'applications cliniques limitées car des effets toxiques cumulatifs peuvent survenir même à de faibles doses. De ce fait, des études incluant des prises répétées et plusieurs niveaux de doses sont indispensables pour évaluer la toxicité des phytomédicaments (Abotsi *et al.*, 2011). C'est dans ce cadre que la toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* en administration orale répétée pendant 42 jours et à trois niveaux de doses (400, 800 et 1600 mg/kg) a été évaluée. Au cours de cette manipulation, nous n'avons enregistré aucun décès.

La baisse de la masse corporelle est un indicateur assez sensible de toxicité après exposition d'un organisme à des substances toxiques (Pillai *et al.*, 2011). Il en est de même de la masse relative des organes, qui est également un bon indicateur du niveau d'altération d'un organe par une drogue. Ce qui se manifeste généralement par une atrophie anormale de l'organe altéré (Hor *et al.*, 2012). L'administration orale répétée de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* n'a entraîné aucune variation significative de la masse corporelle et la masse relative des organes des animaux traités des deux sexes comparativement à leurs témoins respectifs. De même, les consommations alimentaire et hydrique des animaux traités à l'extrait n'ont subi aucune variation significative comparativement à celles de leurs témoins respectifs. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Awodele *et al.* (2012) et Ilyas *et al.* (2016), qui ont conclu dans leurs études respectives que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* présenterait de faibles risques de toxicité pour l'homme.

Le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus exposées aux substances toxiques. Il est aussi un marqueur important du statut physiologique et pathologique chez l'homme et l'animal (Sujith *et al.*, 2012). L'analyse des paramètres sanguins fournit des données importantes sur une possible atteinte du système hématopoïétique et a une grande valeur prédictive de la toxicité chez les humains (91%) lorsque les essais sont effectués sur des rongeurs (Olson *et al.*, 2000). Le statut hématologique de tous les animaux a été évalué après 42 jours d'administration orale de l'extrait aqueux de *M. oleifera*. Chez les femelles, des augmentations significatives du taux des plaquettes

sanguines, du pourcentage de monocyte, et une baisse significative du pourcentage de lymphocytes ont été observées. Chez les mâles, on a noté une augmentation significative du taux de globules blanc, du pourcentage de Lymphocytes et de Monocytes, du taux de Lymphocytes et de monocytes en comparaison à leurs témoins respectifs. Une baisse du pourcentage de granulocytes a été observée en comparaison au témoin. Ces fluctuations concernant les globules blancs et ses constituants n'étaient pas dose-dépendantes et différaient en fonction des sexes. Des résultats similaires ont été obtenus par Hisham *et al.* (2012), Otitoju *et al.* (2014) et Okwari *et al.* (2014) qui ont évalué l'effet de l'extrait aqueux et éthanoïque des feuilles de *M. oleifera* sur les paramètres hématologiques. Les globules blancs ayant pour principale fonction de détruire les corps étrangers, les irrégularités obtenus dans leurs répartitions s'expliqueraient par une réponse de l'organisme des animaux aux corps étrangers contenus dans l'extrait et qui stimuleraient le système immunitaire des rats (Adedapo *et al.*, 2009).

Il est évident que le signe des dommages hépatiques est la fuite d'enzyme cellulaire dans le plasma. Quand la membrane plasmique des hépatocytes est endommagée, une variété d'enzymes normalement situés dans le cytosol est libérée dans le sang, leur évaluation dans le sérum est un marqueur utile pour l'ampleur et le type de dommages hépatocellulaires (Kumar *et al.*, 2004). Les transaminases (ALAT et ASAT) sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules, l'augmentation de leurs taux sérique reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique (Lazare *et al.*, 2011). L'ALAT est un enzyme cytoplasmique se trouvant à des concentrations très élevées dans le foie et une augmentation sérique de cet enzyme, suggère des dommages hépatocellulaires. L'ASAT par contre est un enzyme qui est présent en quantité élevée dans le cytoplasme et les mitochondries des différents tissus, y compris le foie, cœur, muscle squelettique, rein et cerveau (Gad *et al.*, 2013). L'augmentation de la bilirubine est associée à diverses fonctions du foie, une petite élévation de sa concentration sérique est un indicateur important des dommages du foie chez des animaux de laboratoire ou pourrait être un signe d'obstruction des canaux biliaires (Hor *et al.*, 2012), ainsi qu'une probabilité d'une hyper hémolyse (Atsamo *et al.*, 2011). Les résultats de cette étude n'ont montré aucune différence significative entre les taux d'ALAT et de protéines totales chez les animaux des deux sexes ayant consommé l'extrait en comparaison à leurs témoins respectifs. Une augmentation significative de l'ASAT et de la bilirubine dans les lots mâles et femelles traités à l'extrait en comparaison aux témoins a été observée. De plus, les analyses histologiques des foies de ces animaux ont présenté quelques anomalies. En effet, des cholestases biliaires, des congestions vasculaires et des foyers inflammatoires ont été observés aux doses les plus fortes (800 et 1600 mg/kg). Ce qui conforte les résultats obtenus lors du dosage biochimique faisant état d'une augmentation significative du taux

d'ASAT et de bilirubine chez ces rats. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Asare *et al.* (2012), Awodele *et al.* (2012) et Ilyas *et al.* (2016) qui ont également évalué le profil toxicologique des feuilles de *M. oleifera*. L'ASAT étant localisée à 80 % dans les mitochondries et provenant d'origines diverses (foie, cœur, muscle squelettique, rein et cerveau) (Djami *et al.*, 2011), ces résultats suggèrent que cet extrait pourrait à forte dose (1600mg/kg), causer des dommages cellulaires au niveau des hépatocytes et/ou au niveau d'autres organes. Toutefois, le taux d'ASAT est revenu à la normale chez les animaux du lot satellite traités à l'extrait, ce qui montre que ces altérations hépatiques seraient mineures et transitoires et que l'extrait aqueux de *M. oleifera* n'entraînerait pas d'altérations graves et irréversibles de la fonction hépatique.

L'augmentation du taux sérique de cholestérol pourrait occasionner des troubles cardiovasculaires à travers le développement des plaques d'athéromes (Patel *et al.*, 2011). Les taux de cholestérol total, HDL cholestérol, LDL cholestérol et triglycérides n'ont pas varié de façon significative chez les animaux ayant consommé l'extrait comparativement à leurs témoins respectifs. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* n'aurait pas d'effets néfastes sur le système cardiovasculaire et sur le métabolisme lipidique.

La fonction rénale est évaluée par le dosage sérique de l'urée, de la créatinine et des électrolytes. L'augmentation de l'urée sérique est un indicateur fiable d'une altération de la fonction rénale plus précisément de la filtration glomérulaire (Gad *et al.*, 2013). L'accumulation de l'urée dans le sang peut également être consécutive à une alimentation hyperprotéique, à une hémorragie, à un stress ou à une déshydratation. Le taux d'urée a significativement augmenté chez les rats femelles ayant consommé l'extrait à la dose de 1600mg/kg en comparaison aux témoins respectifs. Sur les microphotographies des coupes histologiques des reins, l'on a observé chez les mâles traités à la dose de 800 et 1600 mg/kg et chez les femelles traitées aux mêmes doses, une réduction de l'espace de Bowman qui est revenu à la normale dans le groupe essai satellite. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Awodele *et al.* (2012) qui ont obtenu des résultats similaires chez les rats ayant consommé l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* aux doses de 250, 500 et 1500 mg/kg. En effet, cette augmentation du taux d'urée sérique serait due à la composition de cet extrait, qui contient des quantités élevées de composés azotés (protéines et acides aminés). Toutefois, le retour à la normale du taux d'urée chez les rats du groupe satellite traité à l'extrait montre que l'altération des reins serait mineure et transitoire et que l'extrait aqueux de *M. oleifera* n'entraînerait pas d'altérations graves et irréversibles de la fonction rénale.



**CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

L'objectif de ce travail était d'étudier l'activité de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur les performances physiques ainsi que la toxicité chez les rats en vue de recommander son utilisation par les sportifs. Il ressort de ce travail que :

-l'extrait de *M. oleifera* possède plusieurs composés bioactifs (tannins, phénols, flavonoïdes, glycosides, protéines, polysaccharides), des sels minéraux et une énergie métabolisable de 2810,98 kcal/kg d'extrait ;

-l'extrait de *M. oleifera* provoque une augmentation de l'endurance physique. Il provoque une mise en place plus efficace des mécanismes adaptatifs (réduction de certains métabolites (acide lactique, urée et radicaux libres), augmentation des réserves énergétiques (glycogène hépatique et musculaire), utilisation des réserves lipidiques durant l'effort (triglycérides) et modification des paramètres hématologiques). Ces effets ont été optimaux à la dose de 200 mg/kg ;

-l'extrait de *M. oleifera* possède des effets contre le stress aigu, ainsi que contre les changements induits par le stress chronique. En plus de l'activité antioxydante, ces effets pourraient être dus à l'action de l'extrait sur le système nerveux et au niveau métabolique ;

-le test de toxicité aigu montre que l'extrait de *M. oleifera* présenterait de faibles risques de toxicité pour l'organisme, la DL50 ayant été évaluée à plus de 2000 mg/kg. Le test de toxicité sub-chronique montre que la consommation de l'extrait de *M. oleifera* à des faibles doses (200 mg/kg) serait sans risque pour l'organisme. Cependant, à des fortes doses (>800 mg/kg), l'administration répétée de l'extrait entraîne certains signes passagers de toxicité, lesquelles anomalies se corrigent 14 jours après l'arrêt du traitement.

## PERSPECTIVES

Compte tenu de l'utilisation courante des feuilles de cette plante, nous envisageons de mener des travaux ultérieurs portant sur :

- une quantification de certains constituants phytochimiques présents dans cet extrait au niveau sérique et musculaire ;

- l'évaluation des mécanismes centraux en relation avec les activités antifatigues de cet extrait ;

- la détermination des mécanismes physiologiques centraux impliqués dans l'activité antistress de cet extrait ;

- l'évaluation de la toxicité reproductive et chronique, ainsi que des études sur d'autres espèces animales (lapins, cobayes etc.) ;

- la production d'un supplément alimentaire destiné aux sportifs.

## RECOMMANDATIONS

*M. oleifera* est une plante aux qualités nutritionnelles et pharmacologiques exceptionnelles. Les données de cette étude ont montré que les feuilles de cette plante pourraient avoir des effets bénéfiques pour la performance et la santé du sportif. Ces effets ont été plus visibles à la dose de 200 mg/kg, qui serait recommandée comme complément alimentaire pour les sportifs.



## **RÉFÉRENCES**

- AACC. (1995).** Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. *The Association. St. Paul. N.*, 40-71.
- Abotsi W.K.M., Ainooson G.K. and Gyasi E.B. (2011).** Acute and sub-acute toxicity studies of the ethanolic extract of the aerial parts of *Hillieria latifolia* (Lam.) H Walt. (Phytolaccaceae) in Rodents. *West African Journal of Pharmacology*, 22(1): 27-35.
- Abou-Elezz F.M.K., Sarmiento F.L., Santos R.R. and Solorio S.J.F. (2012).** The nutritional effect of *Moringa oleifera* Lam. fresh leaves as feed supplement on Rhode Island Red hen egg production and quality. *Tropical Animal Health and Production*, 44(5): 1035-1040.
- Adedapo A.A., Mogbojuri O.O. and Emikpe B.O. (2009).** Safety evaluation of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(8): 586-591.
- Adeyemi O.S. and Elebiyo T.C. (2014).** *Moringa oleifera* supplemented diets prevented nickel-induced nephrotoxicity in wistar rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 1-8.
- AFNOR. (1982).** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. *Ed. AFNOR* : 325.
- Aïssi K.A., Hounto O.A., Jonhson R.C., Kplakatcha S., Dougnon T.V., Tchiakpe E., Klotoe J.R., Etorh A.P. and Loko F. (2013).** Frequency deficiencies in trace elements and correlations with the degree of immunosuppression in people living with HIV in Cotonou (Benin). *International Journal of Biosciences*, 3(4): 58-67.
- American Institute of Nutrition (1977).** Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for Nutritional Studies, *The Journal of Nutrition*, 107(7): 1340-1348.
- AOAC (1990).** Official methods of analysis (15th ed.). Washington, DC: *Association of Official Analytical Chemists*.
- AOAC (1995).** Official Methods of Analysis (1995) 16th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, sec.33.2.11, Method 991.20.
- Ara N., Rashid M. and Amran M.S. (2008).** Comparison of *Moringa oleifera* Leaves Extract with Atenolol on Serum triglyceride, Serum Cholesterol, Blood glucose, heart weight, body weight in Adrenaline Induced Rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 15: 253-258.
- Arent S.M. and Landers D.M. (2003).** Arousal, anxiety, and performance. A reexamination of the inverted-U hypothesis. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 74: 436-444.
- Arikawa A.Y., Thomas W., Gross M., Smith A., Phipps W.R., Kurzer M.S. and Schmitz K.H. (2013).** Aerobic training reduces systemic oxidative stress in young women with elevated levels of F2-isoprostanes. *Contemporary Clinical Trials*, 34: 212-217.
- Asare N., Instanes C., Sandberg W.J., Refsnes M., Schwarze P., Kruszewski M. and Brunborg G. (2012).** Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. *Toxicology*, 291(1-3): 65-72.
- Asiedu-Gyekye I.J., Frimpong-Manso S., Awortwe C., Antwi D.A. and Nyarko A.K. (2014).** Micro- and macroelemental composition and safety evaluation of the nutraceutical *Moringa oleifera* Leaves. *Journal of Toxicology*, 2014: 786979.
- Atsamo A.D., Nguenefack T.B., Datté J.Y. and Kamany A. (2011).** Acute and sub chronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 697-702.

- Awodele O., Oreagba I.A., Odoma S., Teixeira Da Silva J.A. and Osunkalu V.O. (2012).** Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2): 330-336.
- Azizbeigi K., Stannard S.R., Atashak S. and Haghighi M.M. (2014).** Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: Comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. *Journal of Exercise Science & Fitness*, 12: 1-6.
- Bakre A.G., Aderibigbe A.O. and Ademowo O.G. (2013).** Studies on neuro-pharmacological profile of ethanol extract of *Moringa oleifera* leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 149: 783-789.
- Bartels H., Bohmer M. and Heierli C. (1972).** Serum creatinine determination without protein precipitation. *Clinical Chemistry Acta*, 37: 193-197.
- Bavenholm P.N., Pigon J., Saha A.K., Ruderman N.B. and Efendic S. (2000).** Fatty acid oxidation and the regulation of malonyl-CoA in human muscle. *Diabetes*, 49: 1078-1083.
- Belzung C. (1999).** Measuring rodent exploratory behavior. Handbook of Molecular-Genetic techniques. *Brain and Behavioral Research*, 11: 738-749.
- Bennett E.P., Chen Y.W., Schwientek T., Mandel U., Schjoldager K.T., Cohen S.M. and Clausen H. (2010).** Rescue of *Drosophila Melanogaster* l (2)35Aa lethality is only mediated by polypeptide GalNAc-transferase pgant35A, but not by the evolutionary conserved human ortholog GalNAc-transferase-T11. *Glycoconjugate Journal*, 27(4): 435-444
- Bennett R.N., Mellon F.A. and Foidl N. (2003).** Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (Horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 3546-3553.
- Berkovich L., Earon G., Ron I., Rimmon A., Vexler A. and Lev-Ari S. (2013).** *Moringa Oleifera* aqueous leaf extract down-regulates nuclear factor-kappa B and increases cytotoxic effect of chemotherapy in pancreatic cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(13): 212.
- Besse, F. (1996).** L'Arbre du mois -*Moringa oleifera* Lam.; Le flamboyant. *Bulletin de liaison des membres du réseau Arbres tropicaux*, 40: 4-7.
- Bhattacharya K., Ghil M. and Vulis I.L. (1982).** Internal variability of an energy-balance model with delayed albedo effects. *Journal of Atmospheres Sciences*, 39: 1747-1773.
- Bigland-Ritchie B.R., Jones D.A. and woods J.J. (1979).** Excitation frequency and muscle fatigue: Electrical responses during human voluntary and stimulated contractions. *Experimental Neurology*; 64: 414-427.
- Blain H., Vuillemin A., Blain A. and C. Jeandel. (2000).** Les effets préventifs de l'activité physique chez les personnes âgées. *Presse Médecine*, 29: 1240-1248.
- Bloomer R.J., Falvo M.J., Fry A.C., Schilling B.K., Smith W.A. and Moore C.A. (2006).** Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Medicine Sciences in Sports Exercise*, 38(8): 1436-1442.
- Bloomer S.A., Brown K.E., Buettner G.R. and Kregel K.C. (2008).** Dysregulation of hepatic iron with aging: Implications for heat stress-induced oxidative liver injury. *American Journal of Physiology-Regulatory (Integrative and Comparative Physiology)*, 294(4): 1165-1174.
- Bloomer R.J., Larson D.E., Fisher-Wellman K.H., Galpin A.J. and Schilling B.K. (2009).** Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory

- and oxidative stress biomarkers: A randomized, placebo controlled, cross-over study. *Lipids in Health and Disease*, 19: 8-36.
- Breton E. (2004).** 2004 sera-t-elle une année chargée en terme de lutte et de prévention antidopage ? Thèse présentée pour le Diplôme de Docteur en Pharmacie, Université Toulouse III, 147p.
- Bruneton J. (1993).** Photochemistry and Pharmacology of Medicinal plants: Tehnics. 2<sup>nd</sup> edition. *Lavoisier*, 309-320.
- Bogdanis G.C., Nevill M.E., Lakomy H.K. and Boobis L.H. (1998).** Power output and muscle metabolism during and following recovery from 10 and 20s of maximal sprint exercise in humans. *Acta Physiology Scandinavia*, 163(3): 261-272.
- Borloz S. and Gremion G. (2013).** Dopage chez les sportifs amateurs. *Schweizerische Zeitschrift für Sportmedizin und Sporttraumatologie*, 61(1): 21-22.
- Bourreille A., Doubrelle M., Raingeard de la Blétière D., Toquet G., Buelow R., Galmiche J.P. and Segain J.P. (2001).** A novel immunomodulatory peptide, RDP58, with anti-tumor necrosis factor activity in Crohn's disease suppresses inflammation in experimental model of colitis. *Gastroenterology*, 5: A685.
- Brenner I.K.M., Severs Y.D., Rhind S.G., Shepard R.J. and Shek P.N. (2000).** Immune function and incidence of infection during basic infantry training. *Military Medicine*, 165: 878-883.
- Bronikowski A.M., Carter P.A., Swallow J.G., Girard I.A., Rhodes J.S. and Garland T. (2001).** Open-Field Behavior of House Mice Selectively Bred for High Voluntary Wheel-Running. *Behavior Genetics*, 31(3): 309-316.
- Bruneton T. (1993).** Photochemistry and pharmacology of medicinal plants: Technical. 2<sup>nd</sup> edition, *Lavoisier, Paris*, 309-320.
- Burgin A.B.J., Gonzalez C., Matulic-Adamic J., Karpeisky A.M., Usman N., McSwiggen J.A. and Beigelman L. (1996).** Chemically modified hammerhead ribozymes with improved catalytic rates. *Biochemistry*, 35(45): 14090-14097.
- Carnevale G., Zanolli P., Zavatti M. and Baraldi M. (2011).** Further evidence of the antiulcer activity of IAC, a novel free radical scavenger. *Pharmacology*, 88(3-4): 133-136.
- Chaouloff F., Kennett G.A., Serrurier B., Merino D. and Curzon G. (1986).** Amino Acid Analysis Demonstrates that Increased Plasma Free Tryptophan Causes the Increase of Brain Tryptophan During Exercise in the Rat. *Journal of Neurochemistry*, 46(5): 1647-1650.
- Chaouloff V. (2000).** Serotonin, stress and cortisol. *Journal of Psychopharmacology*; 14(2): 139-151.
- Chapman K., Cretona S., Kupferschmid H., Martin G.R. and Wilks F. (2010).** The value of acute toxicity studies to support the clinical management of overdose and poisoning: A cross-discipline consensus. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58: 354-359.
- Charoensin S. (2014).** Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7): 318-25.
- Chasiotis D. and Hultinam E. (1985).** The effect of adrenalin infusion on the regulation of glycogenolysis in human muscle during isometric contraction. *Acta Physiology Scandinavia*, 123: 55-60.
- Chennaoui M., Grimaldi B., Fillion M.P., Bonnin A., Drogou C., Fillion G. and Guezennec C.Y. (2000).** Effects of physical training on functional activity of 5-HT receptors in rat central nervous system: role of 5-HT-moduline. *Naunyn Schmiedeberg's Archive Pharmacology*; 361: 600-604.

- Chesley A., Hultman E. and Spriet L.L. (1995).** Effect of epinephrine infusion on muscle glycogenolysis during intense aerobic exercise. *American Journal of Physiology*, 268: 127-134.
- Choi E.H., Kang J.I., Cho J.Y., Lee S.H., Kim T.S., Yeo I.H. and Chun H.S. (2012).** Supplementation of standardized lipid-soluble extract from maca (*Lepidium meyenii*) increases swimming endurance capacity in rats. *Journal of Functional Foods*, 4(2): 568-573.
- Chrousos G.P. (2009).** Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*, 5: 374-381.
- Chumark P., Khunawat P., Sanvarinda Y., Phornchirasilp S., Morales N.P., Phivthong-Ngam L., Ratanachamnong P., Srisawat S. and Pongrapeeporn K.U. (2008).** The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(3): 439-446.
- Chun Y. and Yin Z.D. (1998).** Glycogen assay for diagnosis of female genital Chlamydia trachomatis infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 34: 1081-1082.
- Chung K.T, Wong T.Y., Wei C.I. and Huang Y.W. (1998).** Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38: 421-464.
- Coppin J.P., Xu Y., Chen H., Pan M.H., Ho C.T. and Juliani. (2013).** Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *Journal of Functional Foods*, 5: 1892-1899.
- Costill D.L., Daniels J., Evans W., Fink W., Krahenbuhl G. and Saltin B. (1976).** Skeletal muscle enzyme and fiber composition in male and female track athletes. *Journal of Applied Physiology*, 40: 149-154.
- Costill D.L., Flynn M.G. and Kirwan J.P. (1988).** Effects of repeated days of intensified training on muscle glycogen and swimming performance. *Medicine Sciences and Sports Exercises*; 20: 249-254.
- Coudray C. and Herberg S. (2001).** Fer. In : *Apports nutritionnels conseillés. Paris: Tec et Doc. Lavoisier*, 150-155.
- Cuaz M. (2016).** Place de la phytothérapie dans l'optimisation de l'effort du sportif. Thèse soutenue publiquement à la faculté de pharmacie de Grenoble le 20 mai 2016, France. 160p.
- Cyrne L., Oliveira-Marques V., Marinho H.S. and Antunes F. (2013).** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the induction of NF-κB-dependent selective gene expression. *Methods Enzymology*, 528: 173-88.
- Das N., Sikder K., Bhattacharjee S., Majumdar S.B., Ghosh S., Majumdar S. and Dey S. (2013).** Quercetin alleviates inflammation after short-term treatment in high-fat-fed mice. *Food Function*, 4: 889-898.
- Daussin F.N., Rasseneur L., Bouitbir J., Charles A.L., Dufour S.P., Geny B., Burelle Y. and Richard R. (2012).** Different timing of changes in mitochondrial functions following endurance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 44: 217-224.
- Davies K.J.A., Quintanilha A.T., Brooks G.A. and Packer L. (1982).** Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107: 1198-1205.
- Davis J.M. and Bailey S.P. (1997).** Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Medicine Science and Sports Exercise*; 29(1): 45-57.
- De Jesus N.Z., De Souza Falcão H., Gomes I.F., De Almeida Leite T.J., De Moraes Lima G.R., Barbosa-Filho J.M., Tavares J.F., Da Silva M.S., De Athayde-Filho P.F. and Batista L.M.**

- (2012). Tannins, peptic ulcers and related mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3): 3203-3228.
- Debnath S., Biswas D., Ray K. and Guha D. (2011).** *Moringa oleifera* induced potentiation of serotonin release by 5-HT (3) receptors in experimental ulcer model. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 18(2-3): 91-95.
- Decorte N. (2009).** Fatigabilité à l'exercice musculaire: exploration physio-pathologique. Physiologie. Thèse de doctorat soutenue le 11 décembre 2009, Université Joseph-Fourier-Grenoble I. 175p.
- De-Faria F.M., Almeida A.C., Luiz-Ferreira A., Takayama C., Dunder R.J., Da Silva, M.A., Salvador M.J., Abdelnur P.V., Eberlin M.N., Vilegas W., Toma W. and Souza-Brito A.R. (2012).** Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. *Scientific World Journal*, 2012: 327071.
- De Hon O., Kuipers H. and Van Bohenburg M. (2015).** Prevalence of doping use in elite sports: a review of numbers and method. *Sport Medicine*, 45(1): 57-69.
- Diane A., Victoriano M., Fromentin G., Tome D. and Larue-Achagiotis C. (2008).** Acute stress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite*, 50: 397-407.
- Divi S.M., Bellamkonda R. and Dasireddy S.K. (2012).** Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic potential of aqueous extract of *Moringa oleifera* in fructose fed insulin resistant and STZ induced diabetic wistar rats: a comparative study. *Asian Journal of Pharmacology and Clinical Research*, 5: 67-72.
- Djami T.A.T., Asongalem E.A., Nana P., Choumessi A., Kamtchouing P. and Asonganyi T. (2011).** Subacute toxicity study of the aqueous extract from *Acanthus montanus*. *Electronic Journal of Biology*, 7(1): 11-15.
- Dobson G.P., Yamamoto E. and Hochachka P.W. (1986).** Phosphofructokinase control in muscle: nature and reversal of pH dependent ATP inhibition. *American Journal of Physiology*, 250: 71-76.
- Dohm G.L., Tapscott E.B., Barakat H.A. and Kasperek G.J. (1983).** Influence of fasting on glycogen depletion in rats during exercise. *Journal of Applied Physiology (Respiratory Environmental and Exercise Physiology)*, 55(3): 830-833.
- Douris P.C., Elokda A.S., Handrakis J.P., Principal S., Rondo E., Bovell J., Coughlin W.P., Mastro-ianni C.N., Wong M.J. and Zimmerman T. (2009).** Martial art training enhances the glutathione anti-oxidant system in middle-aged adults. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 23(5):1518-1523.
- Dressendorfer R.H., Wade C.E. and Amsterdam E.A. (1981).** Development of pseudoanemia in marathon runners during a 20 day road race. *Jama*, 246: 1215-1218.
- Duchateau J., Balestra C., Carpentier A. and Hainaut K. (2002).** Reflex regulation during sustained and intermittent submaximal contraction in humans. *Journal of Physiology*; 541: 959-967.
- Edoga C.O., Njoku O., Amadi E.N. and Okeke J.J. (2013).** Blood sugar lowering effect of *Moringa oleifera* lam in albinos rats. *International Journal of Technology*, 3: 88-90.
- Ellman G.L. (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, 82: 70-77.
- El-Mesery M.E., Al-Gayyar M.M., Salem H.A., Darweish M.M. and El-Mowafy A.M. (2009).** Chemopreventive and renal protective effects for docosahexaenoic acid (DHA): implications of CRP and lipid peroxides. *Cell Division*, 4: 6.

- Esbjörnsson M., Norman B., Suchdev S., Viru M., Lindhgren A. and Jansson E. (2009).** Greater growth hormone and insulin response in women than in men during repeated bouts of sprint exercise. *Acta Physiology (Oxf)*, 197(2): 107-115.
- Favero T.G., Zable A.C. and Abramson J.J. (1995).** Hydrogen peroxide stimulates the Ca<sup>2+</sup> release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Journal of Biology and Chemistry*, 27: 25557-25563.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 108-115.
- Ferreira M.A., Meng Y.A., Jones I.R., Ruderfer D.M., Jones L., Fan J. and Kirov G.P. (2008).** Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nature Genetics*, 40(9): 1056-1058.
- Filaire E. (1999).** Aspects biologique de la contrainte physique et/ou psychologique. In : *La fatigue centrale : mythe ou réalité*. 2<sup>e</sup> colloque de biologie de l'exercice musculaire. *Société de Physiologie*. 28-29 Mai 1999.
- Finaud J., Lac G. and Filaire E. (2006).** Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36: 327-358.
- Fisher R.P., Falkner K.L., Trevisan M. and McCauley M.R. (2000).** Adapting the cognitive interview to enhance long-term (35 years) recall of physical activities. *Journal of Applied Psychology*, 85: 180-189.
- Fisher-Wellman K., Bell H.K. and Bloomer R.T. (2009).** Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(1): 43-51.
- Foidl N., Makkar H.P.S. and Becker K. (2001).** The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: L. J. Fuglie, Eds., *The Miracle Tree: Multiple Attributes of Moringa*, CTA/CWS, 45-76.
- Folch J., Lees M. and Sloane Stanley G.H. (1957).** A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biology and Chemistry*, 226(1): 497-509.
- Forster N., Ulrichs C., Schreiner M., Muller C.T. and Mewis I. (2015).** Development of a reliable extraction and quantification method for glucosinolates in *Moringa oleifera*. *Food Chemistry*, 166: 456-464.
- Friedewald W.T., Levy R.I. and Fredrickson D.S. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6): 499-502.
- Fuglie L.J. (2002).** Nutrition naturelle sous les tropiques. In L. J. Fuglie (éd.) *L'arbre de la vie : les multiples usages du Moringa*. CTA et CWS, 105-118.
- Funk V., Hollowell T., Berry P., Kelloff C. and Alexander S. N. (2007).** Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). *Contributions from the United States National Herbarium*, 55: 1-580.
- Gad M.M.S., Mohammad Y.S. and Mohammad T.G.M. (2013).** Acute and Repeated-Doses (28 Days) Toxicity of Thymol Formulation in Male Albino Rats. *Australian Journal of Basic & Applied Sciences*, 7(10): 594-601.

- Galbo H., Chnstensen N.J. and Holst J.J. (1977).** Glucose-induced decrease in glucagon and epinephrine responses to exercise in man. *Journal of Applied Physiology (Respiration and, Environmental Exercise Physiology)*, 42: 525-530.
- Gao S.J. and Wu D. (2008).** Research of various dosage carnosine affecting on anti-fatigue of mobility for rats. *Journal of Guangzhou Sport University*, 28: 90-92.
- Gastmann U.A. and Lehmann M.J. (1998).** Overtraining and the BCAA hypothesis. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30: 1173-1178.
- Geng P., Siu K.-C., Wang Z. and Wu J.-Y. (2017).** Antifatigue Functions and Mechanisms of Edible and Medicinal Mushrooms. *BioMed Research International*, 2017: 16p.
- Geyer H., Parr M.K., Mareck U., Reinhart U., Schrader Y. and Schanzer W. (2004).** Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic-androgenic steroids-results of an international study. *International Journal of Sport Medicine*, 25: 124-129.
- Gleeson M. McDonald W.A. and Cripps W. (1995).** The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers. *Clinical and Experimental Immunology*, 102: 210-216.
- Gollnick P.D., Piehl K. and Saltin B. (1974).** Selective glycogen depletion pattern in human muscle fibers after exercise of varying intensity and at varying pedaling rates. *Journal of Physiology*, 241(1): 45-57.
- Gomes L.C., Alcalde C.R., de Macedo F.D.F., Dos Santos G.T., Valloto A.A., De Lima L.S. and Molina B.S.D. (2012).** Performance of lactating goats fed diets containing inactive dry yeast. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(10): 2249-2254.
- Gomez-Merino D., Béquet F., Berthelot M., Chennaoui M. and Guezennec C.Y. (2001).** Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. *Neurosciences Letters*, 301: 143-146.
- Greiwe J.S., Hickner R.C., Hansen P.A., Racette S.B., Chen M.M. and Holloszy J.O. (1999).** Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans. *Journal of Applied Physiology*, 87(1): 222-226.
- Grimaldi B., Bonnin A., Fillion M.P., Massot O., Rousselle J.C., Prudhomme N., and Fillion G (1999).** Interaction of the serotonergic and immune systems: 5-HT-moduline. In: *Muller N (ed) Psychiatriy, Psychoimmunology, and Viruses. Sprienger, Wien/NewYork*, 45-54.
- Guéguen L. (2001).** Calcium, phosphore. In: *Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier*, 2001: 131-146.
- Guezennec C.Y. and Pesquiès P.C. (1985).** Biochemical basis for physical exercise fatigue. *Médecine and Sport Sciences*, 19: 79-89.
- Guezennec C.Y., Abdelmalki A., Serrurier B., Merino D., Bigard X., Berthelot M., Pierard C. and Peres M. (1998).** Effects of prolonged exercise on brain ammonia and amino acids. *International Journal Sports Medicine*, 19: 323-327.
- Haller C.A. and Benowitz N.L. (2000).** Adverse cardiovascular and central nervous system events associated with dietary supplements containing ephedra alkaloids. *The New England Journal of Medicine*, 343(25): 1833-1838.
- Hancock L.C., Behta R.P. and Lopes J.M. (2006).** Genomic analysis of the opiphenotype. *Genetics*, 173: 621-634.
- Hao G., Zhang C., Cao W. and Hao J. (2014).** Effects of intragastric administration of five oyster components on endurance exercise performance in mice. *Pharmaceutical Biology, Early Online*: 1-6.

- Hao S. and Zhaobao W. (2010).** Effects on exercise endurance capacity and antioxidant properties of astragalus membranaceus polysaccharides (APS). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10): 982-986.
- Hardie D.G., Hawley S.A. and Scott J.W. (2006).** AMP-activated protein kinase development of the energy sensor concept. *Journal of Physiology*, 574(1): 7-15.
- Harris R.C., Essén B. and Hultman E. (1976).** Glycogen phosphorylase activity in biopsy sample and single muscle fibers of musculus quadriceps femoris of man at rest. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation*, 36: 521-526.
- Harris R.B. (2015).** Chronic and acute effects of stress on energy balance: are there appropriate animal models? *American Journal of Physiology*, 308: 250-265.
- Hayward L., Wesselman U. and Rymer W.Z. (1991).** Effects of muscle fatigue on mechanically sensitive afferents of slow conduction velocity in the cut triceps surae. *Journal of Neurophysiology*; 65: 360-370.
- Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter E.A. and Bangsbo J. (2001).** Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during sub-maximal exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11):1313-1322.
- Henry R.J., Canon D.C. and Winkelman J.W. (1974).** Clinical chemistry, principles and Techniques. *Harper and Row*, 2: 412-525.
- Hercberg S., Preziosi P., Galan P., Deheeger M., Papoz L. and Dupin H. (1991).** Apports nutritionnels d'un échantillon représentatif de la population du Val de Marne. III. Les apports en minéraux et vitamines. *Revue Epidémiologique de Santé Publique*, 39: 245-261.
- Hisham M., Osman M.E., Shayoub E.M. and Babiker. (2012).** The Effect of *Moringa oleifera* Leaves on Blood Parameters and Body Weights of Albino Rats and Rabbits. *Jordan Journal Biological Sciences*, 5(3): 147-150.
- Hoelzer D.R., Dalsky G.P., Schwartz N.S., Clutter W.E., Shah S.D., Holloszy J.O. and Cryer P.E. (1986).** Epinephrine is not critical to prevention of hypoglycemia during exercise in human. *American Journal of Physiology*, 251(14): 104-110.
- Holloszy J. O. (1967).** Biochemical adaptations in muscle. Effect of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *Journal of Biology and Chemistry*, 242: 2278-2282.
- Hor S.Y., Ahmad M., Farsi E., Yam M.F., Hashim M.A., Lim C.P., Sadikun A. and Asmawi M.Z. (2012).** Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63: 106-114.
- Houten S.M. and Wanders R.J. (2010).** A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 33: 469-477.
- Huang L.Z., Huang B.K., Ye Q. and Qin L.P. (2011).** Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue of *Acanthopanax senticosus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 213-219.
- Ikeuchi M., Yamaguchi K., Koyama T., Sono Y. and Yazawa K. (2006).** Effects of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) extract on endurance capacity in mice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(4): 287-292.
- Ilyas M., Arshad M.U., Basra S.M.A., Kausar A., Rana F.A. and Riaz A. (2016).** Oxidological assessment of aqueous extracts of leaves and seeds of *Moringa oleifera* on the blood biochemical profile of rats. *International Journal of Agriculture and Biology*, 18: 1263-1270.
- Institut Français pour la Nutrition (IFN). (2010).** Lettre scientifique IFN N° 142.

- Jin H-M. and Wei P. (2011).** Anti-Fatigue Properties of Tartary Buckwheat Extract in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 4770-4780.
- Kancheva V.D. and Kasaikina O.T. (2013).** Bio-antioxidants-a chemical base of their antioxidant activity and beneficial effect on human health. *Current Medicinal Chemistry*, 20: 4784-4805.
- Kasolo J.N., Bimenya G.S., Okwi A.I., Othieno E.M. and Ogwal Okeng J.W. (2012).** Acute toxicity evaluation of *Moringa oleifera* leaves extracts of ethanol and water in mice. *African Journal of Animal and Biomedical Sciences*, 7(1): 40-44.
- Katz A., Sahlin K. and Henriksson J. (1986).** Muscle ATP turnover rate during isometric contraction in humans. *Journal of Applied Physiology*, 60: 1839-1842.
- Kerharo J. (1994).** La Pharmacopée africaine, Plantes médicinales et toxiques 1974. Direction de la Statistique et de la Prévision, Enquête Démographique et de Santé II (EDS II) ; Ministère de l'Economie, des Finances et du Plan du Sénégal, 1992/1993. *Rapport de synthèse*, 12p.
- Kiens B., Éssen-Gustavsson B., Christensen N.J. and Saltin B. (1993).** Skeletal muscle substrate utilization during submaximal exercise in man: effect of endurance training. *Journal of Physiology*, 469: 459-478.
- Kirisattayakul W., Wattanathorn J., Tong-Un T., Muchimapura S., Wannanon P. and Jittiwat J.(2013).** Cerebroprotective Effect of *Moringa oleifera* against Focal Ischemic Stroke Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013: 10p.
- Kirwan J.P., Costill D.L. and Mitchell J.B. (1990).** Changes in selected blood measures during repeated days of intense training and carbohydrate control. *International Journal Sports Medicine*; 11:362-366.
- Kjaer M., Farrel A., Christensen J. and Galbo H. (1986).** Increase epinephrine response and inaccurate glucose regulation in exercising athletes. *Journal of Applied Physiology*, 61: 1693-1700.
- Kjaer M. (1992).** Regulation of hormonal and metabolic responses during exercise in humans. *Exercise Sport Science Review*, 20: 161-184.
- Knez W.L., Jenkins D.G. and Coombes J.K. (2007).** Oxidative stress in half and full ironman triathletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(2): 283-288.
- Koçer G., Sentürk U.K., Kuru O. and Gündüz F. (2008).** Potential sources of oxidative stress that induce postexercise proteinuria in rats. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 104: 1063-1068.
- Kooltheat N., Sranujit R.P., Chumark P., Potup P., Laytragoon-Lewin N. and Usuwanthim K. (2014).** An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. Inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients*, 6: 697-710.
- Kramer T.R., Moore R.J., Shippee R.L., Friedl K.E., Martinez-Lopez L. and Chan M.M. (1997).** Effects of food restriction in military training on T-lymphocyte responses. *International Journal of Sports Medicine*, 18: 84-87.
- Kumar R.A., Sridevi K., Kumar N.V., Nanduri S. and Rajagopal S. (2004).** Anticancer and immuno-stimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2-3): 291-295.
- Kumar R.A., Negi P.S., Singh B., Ilavazhagan G., Bhargava K. and Sethy N.K. (2011).** *Cordyceps sinensis* promotes exercise endurance capacity of rats by activating skeletal muscle metabolic regulators. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1): 260-266.
- Kumar S. and Pandey A.K. (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*, 2013:162750.

- Kumbhare M.R., Sivakumar T., Udavant P.B., Dhake A.S. and Surana A.R. (2012).** In vitro antioxidant activity, phytochemical screening, cytotoxicity and total phenolic content in extracts of *Caesalpinia pulcherrima* (Caesalpinaceae) pods. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(7): 325-332.
- Kundrat S. (2005).** Herbs and athletes. *Sports Science Exchange*, 18(1): 1-6.
- Kuo Y.H., Tsai W.J., Loke S.H., Wu T.S. and Chiou W.F. (2009).** *Astragalus membranaceus* flavonoids (AMF) ameliorate chronic fatigue syndrome induced by food intake restriction plus forced swimming. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(1): 28-34.
- La Gerche A, Taylor A.J. and Prior D.L. (2009).** Athlete's heart: the potential for multimodality imaging to address the critical remaining questions. *JACC Cardiovascular and Imaging*, 2: 350-363.
- Lazare T., Jacques D.Y. and Michel O.A. (2011).** Alcoolisation chronique des rats (*Rattus norvegicus*) de souche Wistar à une eau-de-vie traditionnelle produit en Côte d'Ivoire (Koutou-kou). *Journal of Applied Biosciences*, 41: 2772-2779.
- Lenn J., Uhl T., Mattacola C., Boissonneault G., Yates J., Ibrahim W. and Bruckner G. (2002).** The effects of fish oil and isoflavones on delayed onset muscle soreness. *Medicine Sciences and Sports Exercise*, 34(10): 1605-1613.
- Li M., Donglian C., Huaixing L., Bende T., Lihua S. and Ying W. (2008).** Anti-fatigue effects of salidroside in mice. *Journal of Medical Colleges of PLA*, 23(2): 88-93.
- Liang L.S., Jackson J., Min W., Risovic V., Wasan K.M. and Burt H.M. (2004).** Methotrexate loaded poly (L-lactic acid) microspheres for intra-articular delivery of methotrexate to the joint. *Journal of Pharmacological Sciences*, 93(4): 943-956.
- Lieberman H.R. (2003).** Nutrition, brain function and cognitive performance. *Appetite*, 40: 245-254.
- Liebman M. and Wilkinson J.G. (1994).** Carbohydrate metabolism and exercise. In: Wolinski I., Hickson, J. F. (Eds.): *Nutrition in exercise and sport*. 2nd ed. Ed: CR C Press, Boca Raton, Florida, 15-41.
- Lupien S.J. (2008).** Consequence of the stress response: Stress and cognition. In: L.R. Squire (Editor-in-Chief). *Encyclopedia in Neurosciences*. Academic Press, Oxford.
- Ly L., Luo X. and Wang X. (2001).** Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412(6842): 95-99.
- Maclaren D.P., Gibson H., Parry-Billings M. and Edwards R.H. (1989).** A review of metabolic and physiological factors in fatigue. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 17: 29-66.
- Madukwe D.K., Onuh M.O. and Christo I.E. (2012).** Effects of *M. oleifera* leaf extract on the growth and yield of soybean (*Glycine max* L. Merri) and sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Applied Research and Technology*, 1(3): 90-97.
- Maes M., Kenis G. and Bosmans E. (2002).** The negative immunoregulatory effects of serotonin (5-HT) modulate, an endogenous 5-HT<sub>1B</sub> receptor antagonist with anxiety properties. *Cytokine*, 19(6): 308-311.
- Makkar H.P.S. and Becker K. (1996).** Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 63: 211-228.
- Makkar H.P.S. and Becker K. (1997).** Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science*, 128(3): 311-322.

- Man S., Gao W., Zhang Y., Huang L. and Liu C. (2010).** Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 81: 703-714.
- Margaritis I., Palazzetti S., Rousseau A.S., Richard M.J. and Favier A. (2003).** Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2): 147-156.
- Martens R., Vealey R.S. and Burton D. (1990).** Competitive Anxiety in Sport. *Human Kinetics, Champaign, IL*: 288p.
- Mastaloudis A., Marrow J.D., Hopkins D.W., Devaraj S. and Traber M.G. (2004).** Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radical Biology Medicine*, 36: 1329-1341.
- Mcgowan M.W., Artiss J.D., Standbergh D.R. and Zark B. (1983).** A peroxidase coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*, 29: 538-542.
- McGrath J.E. (1970).** A conceptual formulation for research on stress. In *J.E. McGrath (Ed.), Social and Psychological Factors in Stress, p.1-13, Holt Rinehart and Winston, New York, 1970.*
- McMahon D.J., Richardson G.H. and Brown R.J. (1984).** Enzymic milk coagulation: Role of equations involving coagulation time and curd firmness in describing coagulation. *Journal of Dairy Science*, 67: 1185-1193.
- Meeusen R. and De Meirleir K. (1995).** Exercise and brain neurotransmission. *Sports Medicine*, 20: 160-188.
- Mehta L.K., Balaraman R., Amin A.H., Bafna P.A. and Gulati O.D. (2003).** Effect of fruits of *Moringa oleifera* on lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 86: 191-195.
- Melin B. (1996).** Effets de l'activité physique et sportive sur les pertes en électrolytes (sodium, chlore, potassium) : Recommandations d'apport. *Médecine et Nutrition*, 32: 205-213.
- Metzer J.M. and Fitts R.H. (1987).** Role of intracellular pH in muscle fatigue. *Journal of Applied Physiology*, 62: 1392-1397.
- Michailidis Y., Jamurtas A.Z., Nikolaidis M.G., Fatouros I.G., Koutedakis Y., Papassotiropoulos I. and Kouretas D. (2007).** Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Sciences in Sports Exercises*, 39(7): 1107-1113.
- Miller G.D. (1994).** Carbohydrate in ultra-endurance exercise and athletic performance. In: *Wolinski i., Hickson, J. F. (Eds.): Nutrition in exercise and sport. 2nd ed. Ed: CRC Press, Boca Raton, Florida, 49-61.*
- Misra and Fridovich. (1972).** Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven*, 1: 101-109.
- Molinos D.Á. (2013).** Effects of adaptogen supplementation on sport performance. A recent review of published studies. *Journal of Human Sport and Exercise*, 8: 1054-1066.
- Morgan G.S., Linares D.J. and May C.E. (1988).** New species of fossil vampire bat (*Mammalia chiroptera Desmondontidae*) from Florida and Venezuela: proceedings of the biological society of Washington. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 101: 912-928.
- Morgan K.N. and Tromborg C.T. (2007).** Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behavior Science*, 102: 262-302.
- Mounir C., Gomez D. and Merino. (2010).** Fatigue et activités physiques: origine, mécanismes et conséquences. *Edition Vigot- Edisem, Paris*, 41: 255.

- Nallamuthu I., Tamatam A. and Khanum F. (2014).** Effect of hydroalcoholic extract of *Aegle marmelos* fruit on radical scavenging activity and exercise-endurance capacity in mice. *Pharmaceutical Biology*, 52(5): 551-559.
- Nandave M., Ojha S.K., Joshi S., Kumari S. and Arya D.S. (2009).** *Moringa oleifera* leaf extract prevents isoproterenol-induced myocardial damage in rats: evidence for an antioxidant, antiperoxidative and cardioprotective intervention. *Journal of Medicinal Food*, 12: 47-55.
- Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro A.T. and Gning R.D. (2007).** Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development*, 7(3): 1-17.
- Neuzil J., Gebicki J.M. and Stocker R. (1993).** Radical-induced chain oxidation of proteins and its inhibition by chain-breaking antioxidants. *Biochemistry Journal*, 293(3): 601-606.
- Njar V.C.O., Adesanwo J.K. and Raji Y. (1995).** Methyl angolensate: the anti-ulcer agent of the stem bark of *Etandrophragma angolense*. *Planta Medicine*, 61: 91-92.
- Nordsborg N., Mohr M., Pedersen L.M. Nielsen J.J., Langberg H. and Bangsbo J. (2003).** Muscle interstitial potassium kinetics during intense exhaustive exercise: effect of previous arm exercise. *American Journal of Physiology Regulation Integration Comp Physiology*, 285: 143-148.
- OCDE. (2001).** Toxicité orale aiguë-méthode par classe de toxicité aiguë. *Dans la ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produit chimiques*, 1: 1-14.
- Okwari O.O., Emerole C.G., Dasofunjo K., Ezugwu H.C. and Obi J. (2014).** Haematological Profile of Rats Administered With Aqueous Leaf Extract of *Moringa Oleifera* Following Thermooxidized Palm Oil Diet Induced Toxicity. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9: 41-45.
- Olson H., Betton G., Robinson D., Thomas K., Monro A. and Kolaja G. (2000).** Concordance of toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32: 56-67.
- Olugbemi T.S., Mutayoba S.K. and Lekule F.P. (2010).** Effect of *Moringa (Moringa oleifera)* inclusion in cassava based diets to broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 9(4): 363-367.
- Osman H.M., Shayoub M.E. and Babiker E.M. (2012).** The Effect of *Moringa oleifera* Leaves on Blood Parameters and Body Weights of Albino Rats and Rabbits. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 5(3): 147-150.
- Otitoju O., Nwamarah J.U., Otitoju G.T.O., Okorie A.U., Stevens C. and Baiyeri K.P. (2014).** Effect of *Moringa oleifera* aqueous leaf extract on some haematological indices in Wistar rats. *Chemical and Process Engineering Research*, 18: 26-30.
- Oxendine J.B. (1970).** Emotional arousal and motor performance. *Quest Monograph*, 13: 23-32.
- Oyagbemi A.A., Omobowale T.O., Azeez I.O., Abiola J.O., Adedokun R.A. and Nottidge H.O. (2013).** Toxicological evaluations of methanolic extract of *Moringa oleifera* Leaves in liver and kidney of male Wistar rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 24: 307-312.
- Pal S.M. and Sahib P. (1995).** Studies on anti-ulcer activity of *Moringa oleifera* leaves extract on gastric ulcer models in rats. *Journal of Phytotherapy Research*, 9: 463-465.
- Parolin M.L., Spriet L.L., Hultman E., Matsos M.P., Hollidge-Horvat M.G., Jones N.L. and Heigenhauser G.J. (2000).** Effects of PDH activation by dichloroacetate in Human skeletal muscle

during exercise in hypoxia. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 279: 752-761.

**Parry-Billings M., Budgett R., Koutedakis Y., Blomstrand E., Brooks S., Williams C., Calder P.C., Pilling S., Baigrie R. and Newsholme E.A. (1992).** Plasma amino acid concentrations in the overtraining syndrome: possible effects on the immune system. *Medicine and Sciences Sports Exercises*, 24(12): 1353-1358.

**Patel S.S., Verma S., Nayak G., Singhai A.K. and Ganesh N. (2011).** Acute and sub-acute toxicity studies of *Passiflora nepalensis* in rats. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(4): 730-736.

**Pedersen B.K. and Hoffman-Goetz L. (2000).** Exercise and the immune system: regulation integration and adaptation. *Physiology Reviews*, 80: 1055-1081.

**Peters E.R., Joseph S.A. and Garety P.A. (1999).** Measurement of delusional ideation in the normal population: introducing the PDI (Peters et al. Delusions Inventory). *Schizophrenia Bulletin*, 25(3): 553-576.

**Petroczi A. and Naughton D.P. (2008).** The age-gender-status profile of high performing athletes in the UK taking nutritional supplements: Lesson for the future. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 5:2.

**Pialoux V., Mounier R., Ponsot E., Rock E., Mazur A., Dufour S., Richard R., Richalet J.P., Coudert J. and Fellmann N. (2006).** Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60(12): 1345-1354.

**Pieters S. (2001).** De la déshydratation à la réhydratation du sportif, il n'y a qu'un geste. *Diète*, 10:14-18.

**Pillai P.G., Suresha P., Mishrab G. and Annapurna M. (2011).** Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the methanolic leaf extract of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng in Balb C mice. *European Journal of Experimental Biology*, 1(3): 236-245.

**Poortmans J. et Boisseau N. (2012).** Bases biochimiques de la fatigue (577-599). In : *Biochimie des activités physiques et sportives*. Ed. De Boeck. Bruxelles.

**Porter N.A., Caldwell S.E. and Millis K.A. (1995).** Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30: 277-290.

**Powers S.K. and Jackson M.J. (2010).** Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiology Review*, 88: 1243-1276.

**Prasad V.M.P. and Khanum F. (2012).** Antifatigue activity of Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* in rats. *Research Journal of Medicinal Plant*, 6(1): 37-46.

**Price M.L. (2007).** The Moringa Tree. ECHO technical 1 note. *Revised Edition*, 11-12.

**Price T.B., Rothman D.L., Avison M.J., Buonamico P. and Shulman R.G. (1991).** <sup>13</sup>C-NMR measurements of muscle glycogen during low intensity exercise. *Journal of Applied Physiology*, 70: 1836-1844.

**Qi B., Liu L., Zhang H., Zhou G., Wang S., Duan X., Bai X., Wang S. and Zhao D. (2014).** Anti-fatigue effects of proteins isolated from *Panax quinquefolium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1-5.

**Radak Z., Chung H.Y., Koltai E., Taylor A.W. and Goto S. (2008).** Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Review*, 7: 34-42.

**Radley J.J., Rocher A.B., Rodriguez A., Ehlenberger D.B., Dammann M., McEwen B.S., Morrison J.H., Wearne S.L. and Hof P.R. (2008).** Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *Journal of Comp Neurology*, 507: 1141-1150.

- Rahnama N., Gaeini A.A. and Hamedinia M.R. (2007).** Oxidative stress responses in physical education students during 8 weeks aerobic training. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 47(1): 119-123.
- Rai D., Bhatia G., Sen T. and Palit G. (2003).** Anti-stress effects of *Ginkgo biloba* and *Panax ginseng*: a comparative study. *Journal of Pharmacology Science*, 93:458-464.
- Rajanandh M.G., Satishkumar Dr.M.N., Elango K. and Suresh B. (2012).** *Moringa Oleifera Lam.* A herbal medicine for hyperlipidemia: A pre-clinical report. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2: 790-795.
- Ramel W., Goldin P.R., Carmona P.E. and McQuaid J. (2004).** The effect of mindfulness meditation on cognitive processes and affect in patients with past depression. *Cognitive Therapy and Research*, 28: 433-455.
- Ramesh T., Lee K., Lee H.W. and Kim S.J. (2007).** Acute oral toxicity study of *Asiasari radix* extract in mice. *International Journal of Toxicology*, 26(3): 247-251.
- Reitman S. and Frankel S.A. (1957).** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *American Journal of Clinical Pathology*, 28: 56-63.
- Richter E.A., Kiens B. and Turcotte L. (1998).** Transport and metabolism of FFA in muscle. *Biochemistry of Exercise*, IX: 97-104.
- Richter N., Siddhuraju P. and Becker K. (2003).** Evaluation of nutritional quality of *Moringa (Moringa oleifera Lam)* leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*). *Aquaculture*, 217: 599-611.
- Rilke R.M. (2004).** La respiration cellulaire et la fermentation. In: *Campbell NA. and Reece JB. (eds) : Biologie, Ed. De Boeck, Bruxelles, Belgique*: pp. 163-186.
- Ritov V.B. and Kelley D.E. (2001).** Hexokinase isozyme distribution in human skeletal muscle. *Diabete*, 50: 1253-1262.
- Rodwell V.W. (2002).** Catabolisme des protéines et de l'azote des acides aminés (313-322). In: *Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. et al. (Eds.): Biochimie de Harper. Ed. De boeck, Bruxelles, Belgique*, 313-322.
- Romeo J., Wärnberg J., Pozo T. and Marcos A. (2010).** Physical activity, immunity and infection. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(3): 390-399.
- Rousselle J.C., Massot O., Delepierre M., Zifa E., Rousseau B. and Fillion G. (1996).** Isolation and characterization of an endogenous peptide from rat brain interacting specifically with the serotonergic 1B receptor subtypes. *Journal of Biology and Chemistry*, 271: 726-735.
- Sahlin K. (1991).** Role of intracellular pH in fatigue. In: *Athlan, Beliveau, Bouissou, edition. Muscle fatigue: Biochemical and physiological aspects-Paris: Masson*, 25 hp.
- Sahlin K., Shabalina I.G., Mattsson C.M., Bakkman L., Fernström M., Rozhdestvenskaya Z., Enqvist J.K., Nedergaard J., Ekblom B. and Tonkonogi M. (2010).** Ultraendurance exercise increases the production of reactive oxygen species in isolated mitochondria from human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 108: 780-787.
- Saltin B. and Karlsson J. (1971).** Diet, muscle glycogen, and endurance performance. *Journal of Applied Physiology*, 31(2): 203-206.
- Saltin B. and Gollnick P. D. (1983).** Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. *Handbook of Physiology. Section 10: skeletal muscle. L. D. Peachey, R. H. Adrian and S. R. Geiger. Bethesda. American Physiological Society*, 555-631.

- Sanders C.A., Levinson G.E., Abelmann W.H. and Freinkel N. (1964).** Effect of exercise on peripheral utilization of Glucose in man. *New England Journal of Medicine*, 271: 220.
- Sapolsky R.M., Romero L.M. and Munck. (2000).** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrinology Review*, 21(1): 55-89.
- Sayre R., Bow J., Josse C., Sotomayor L. and Touval J. (2008).** Terrestrial ecosystems of South America. *Chapter 9 of Campbell J., Jones K.B., Smith J.H. and Koeppe M. (eds), North America Land Cover Summit.* Washinton DC. *Association of America Geographers*, 131-152.
- Scheepers A., Joost H. G. and Schürmann A. (2004).** The glucose transporter families SGLT and GLUT: Molecular basis of normal and aberrant function. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 28: 364-371.
- Schuback K., Essén-Gustavsson B. and Persson S.G. (1999).** Incremental treadmill exercise until onset of fatigue and its relationship to metabolic response and locomotion pattern. *Equine Veterinary Journal Supplement*, 30: 337-341.
- Selye H. (1976).** The stress of life. McGraw-Hill Education; 2 edition, New-York, 516p.
- Sen C.K. and Packer L. (1996).** Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB Journal*, 10: 709-720.
- Sibella-Argüelles C. (2001).** The proliferation of human t lymphoblastic cells induced by 5-HT1B receptors activation is regulated by 5-HTmoduline. *Life Science*, 324: 365-372.
- Siegel L.B., Dalton H.J., Hertzog J.H., Hopkins R.A., Hannan R.L. and Hauser G.J. (1996).** Initial postoperative serum lactate levels predict survival in children after open heart surgery. *Intensive Care Medicine*, 22(12): 1418-1423.
- Singh B.N., Singh B.R., Singh R.L., Prakash D., Dhakarey R.G., Upadhyay G. and Singh H.B. (2009).** Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chemistry and Toxicology*, 47: 1109-1116.
- Sinha A.K. (1972).** Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47(2): 389-394.
- Skunjins. S. (1998).** Handbook for ICP-AES (Varian-Vista). *A short guide to Vista Series ICP-AES operation. Version 1.0. Varian Int. AG. Zug.*
- Skurvydas A., Kamandulis S., Stanislovaitis A., Streckis V., Mamkus G., and Drazdauskas A. (2006).** Leg immersion in warm water, stretch-shortening exercise, and exercise-induced muscle damage. *Journal Athletic Train*, 43(6): 592-599.
- Steinbacher P. and Eckl P. (2015).** Impact of Oxidative Stress on Exercising Skeletal Muscle. *Biomolecules*, 5: 356-377.
- Sujith K., Darwin R. and Suba V. (2012).** Toxicological evaluation of ethanolic extract of *Anacyclus pyrethrum* in albino wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 437-441.
- Suzuki K., Totsuka M., Nakaji S., Yamada M., Kudoh S., Liu Q., Sugawara K., Yamaya K. and Sato K. (1999).** Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutro-phil dynamics, and muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, 87(4): 1360-1367.
- Tagaki K. and Okabe S. (1968).** The effects of drugs on the stress ulcer in rat. *Japanese Journal of Pharmacology*, 18: 9-18.
- Tallec D. (2008).** Thé, café : aliments ou médicaments. *La Phytothérapie Européenne*, 43: 22-27.

- Tan V.P., Nditafon G.N., Yewah M.P., Ayafor J.F. and Dimo T. (1996).** *Eremomastax speciosa* : effect on the leaf aqueous extract on ulcer formation and gastric secretion in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 54: 139-142.
- Tan W., Yu K.Q., Liu Y.Y., Ouyang M.Z., Yan M.H., Luo R. and Zhao X.S. (2012).** Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from *Radix rehmanniae preparata*. *International Journal of Biology and Macromolecule*, 50: 59-62.
- Tandon R., Khanna H.D., Dorababu M. and Goel R.K. (2004)** Oxidative stress and antioxidants status in peptic ulcer and gastric carcinoma. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 48: 115-118.
- Teixeira E.M.B., Carvalho M.R.B., Neves V.A., Silva M.A. and Arantes-Pereira L. (2014).** Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera Lam.* leaves. *Food Chemistry*, 147: 51-54.
- Thilza I.B., Sanni S., Zakari A.I., Sanni F.S., Muhammed T. and Musa B.J. (2010).** In vitro antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases. *Academia Arena*, 2(6): 80-82.
- Thomas C., Bishop D.J., Lambert K., Mercier J. and Brooks G.A. (2012).** Effect of acute and chronic exercise on sarcolemmal (MCT1 and MCT4 contents in human skeletal muscle: current status. *American Journal of Physiology*, 302: R1-R14.
- Tiloke C., Phulukdaree A. and Chuturgoon A.A. (2013).** The antiproliferative effect of *Moringa oleifera* crude aqueous extract on cancerous human alveolar epithelial cells. *BMC Complement Alternative Medicine*, 13: 226-233
- Tsigos C. and Chrousos G.P. (2002).** Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, 53: 865-871.
- Tsopanakis C. and Tsopanakis A. (1998).** Stress hormonal factors fatigue and antioxidant responses to prolonged speed driving. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 60: 747-751.
- Ulrich-Lai Y.M. and Herman J.P. (2009).** Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Natural Review of Neuroscience*, 10: 397-409.
- Verma S., Singh A. and Mishra A. (2013).** Gallic acid: molecular rival of cancer. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35: 473-485.
- Viitala P.E. and Newhouse J. (2004).** Vitamin E supplementation, exercise and lipid peroxidation in human participants. *European Journal of Applied Physiology*, 93: 108-115.
- Wang H.J., Pan Y.X., Wang W.Z., Zucker I.H. and Wang W. (2009).** NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Modulates the Exercise Pressor Reflex. *Journal of Applied Physiology*, 107(2): 450-459.
- Waterman C., Rojas-Silva P., Tumer T., Kuhn P., Richard A.J. and Wicks S. (2015).** Isothiocyanate-rich *Moringa oleifera* extract reduces weight gain, insulin resistance and hepatic gluconeogenesis in mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(6): 1013-1024.
- Wilbur K.M., Bernheim F. and Shapiro O.W. (1949).** The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 24: 305-313.
- Wilmore J. and Costill D. (2006).** Physiologie du sport et de l'exercice. *Ed. De Boeck. Bruxelles, Belgique*, 563p.
- Xu C., Lv J., Lo Y.M., Cui S.W., Hu X. and Fan M. (2013).** Effects of oat  $\beta$ -glucan on endurance exercise and its anti-fatigue properties in trained rats. *Carbohydrate Polymers*, 92(2): 1159-1165.

- Xu X-H, Li T., Fong C.M.V., Chen X., Chen X-J., Wang Y-T., Huang M-Q. and Lu J-J. (2016).** Saponins from Chinese Medicines as Anticancer Agents. *Molecules*, 21(10): 1326.
- Yadav N., Singh P. and Mehrotra R. (2011).** Determination of some ethnomedicinally important constituents of *Aegle marmelos* fruit during different stages of ripening. *Chinese Journal of Natural Medicine*, 9: 204-209.
- Yang R.Y., Tsou S.C.S., Lee T.C., Chang L.C., Kuo G. and Lai P.Y. (2006).** Moringa, a novel plant rich in antioxidants, bioavailable iron, and nutrients. In: C. T. Ho (ed) *Challenges in Chemistry and Biology of Herbs*. American Chemical Society, Washington, D.C., 224-239.
- Yang R.Y., Yang R.Y., Lin S. and Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pac. Journal of Clinical Nutrition*, 17: 275-279.
- You L.J., Zhao M.M., Regenstein J.M. and Ren J.Y. (2011).** In vitro antioxidant activity and in vivo anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion. *Food Chemistry*, 124(1): 188-194.
- Youbissi T.J., Djoumessi S., Nouedoui C., Ndofo P. and Meli J. (2001).** Profil lipidique d'un groupe d'hypertendus camerounais noirs africains. *Médecine Africaine Noire*, 48(7): 305-314.
- Yu B., Lu Z.X., Bie X.M., Lu F.X. and Huang X.Q. (2008).** Scavenging and anti-fatigue activity of fermented defatted soybean peptides. *European Food Research Technology*, 226: 415-421.
- Zarkadas C.G., Yu Z. and Burrows V.D. (1995).** Protein quality of three new Canadian-developed naked oat cultivars using amino acid compositional data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 415-421.
- Ziegler O., Filipecki J., Girod I. and Guillemin F. (2005).** Development and validation of a French obesity specific quality of life questionnaire: Quality Of Life, Obesity and Dietetics (QOLOD) rating scale. *Diabetes and Metabolism*, 31: 273-283.
- Zlott D.A. and Byrne M. (2010).** Mechanisms by which pharmacologic agents may contribute to fatigue. *American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2(5): 451-455.



**ANNEXES**

## ANNEXE 1 : PRÉPARATION DES DIFFÉRENTES SOLUTIONS CHIMIQUES

### *Annexe 1a : Dilution des extraits aqueux des feuilles de *M. oleifera**

Les solutions des extraits et des fractions administrées aux rats ont été préparées par solubilisation de 8, 4 et 2 g d'extraits de *M. oleifera* dans 15 ml d'eau distillée. Les solutions ont été complétées à 20 ml avec d'eau distillée, ce qui correspondait à des solutions mères de concentration pondérale 400, 200 et 100 mg/ml. Connaissant la dose (D), le poids de l'animal (P) et la concentration de l'extrait; le volume (V) à administrer à un rat est déterminé à partir de la formule suivante:

$$V = \frac{D \times P}{C} \quad \text{Avec}$$

V: en ml  
D: en mg/kg  
P: en kg  
C: en mg/ml

### *Annexe 1b: Solution de diazépam (1 mg/ml)*

La solution de Diazépam a été préparée en solubilisant 10 comprimés de 10mg (100 mg) de comprimé de diazépam (Diazépam TEWA, N°100-110, ESPLANADE DU GÉRAL DE GAULLE, 92931 PARIS LA DÉFENSE CEDEX, France) dans 95 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 ml avec d'eau distillée. Cette solution a été utilisée comme médicament de référence pour l'activité antistress de l'extrait.

### *Annexe 1c: Solution de NaCl (9 ‰)*

La solution de NaCl a été obtenue en dissolvant 0,9 g de NaCl anhydre (NaCl, lot. n° 6301, Riedel-de Haën ; Germany) dans 95 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 ml avec d'eau distillée Cette solution a été conservée à température ambiante. Elle avait permis de maintenir les cellules en état d'isotonocité physiologique pendant l'opération.

### *Annexe 1d: Préparation de l'anthrone 2%*

0,2 g d'anthrone mélangé à l'acide sulfurique concentré à 95-97 % pour un volume de 100 ml de solution. Cette solution d'anthrone à 2 % a été utilisée pour le dosage du glycogène hépatique et musculaire.

### *Annexe 1e: Solutions de formaldéhyde (10% et 2%)*

La solution de formaldéhyde 10% a été préparée à partir d'une solution de formaldéhyde 40 %. Un volume  $V_1$  de formaldéhyde 40 % a été introduit dans une éprouvette graduée et dilué 4 fois avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour fixer les organes. A partir de la solution de formaldéhyde 10 % obtenue, a été préparée la solution de formaldéhyde 2 %. Un volume  $V_2$  de cette

solution a été diluée 5 fois avec de l'eau distillée. Cette solution de formaldéhyde 2 % a été utilisée pour fixer les ulcères.

***Annexe 1f: Solution d'adrénaline***

La solution d'adrénaline (0,3 mM) est préparée en dissolvant, 6 mg d'adrénaline dans 95 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 ml avec d'eau distillée.

***Annexe 1g: Solution de dichromate de potassium (5%)***

La solution de dichromate de potassium (5%) a été préparée par la dissolution de 2,5 g de dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) dans 45 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 50 ml avec d'eau distillée

***Annexe 1h: Réactif de biuret***

Le réactif de Biuret a été préparé en dissolvant 0,75 g de sulfate de cuivre, 3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 95 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 ml avec d'eau distillée. Cette solution a été nommée solution A. 15 g d'hydroxyde de sodium ont été ensuite dissouts dans 95 ml d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 ml avec d'eau distillée. Cette solution a été nommée solution B. Les solutions A et B ont été mélangées, et le volume final a été complété à 500 ml avec l'eau distillée.

***Annexe 1i: Réactif d'Ellman***

Le réactif d'Ellman a été préparé en mélangeant 4,96 mg d'acide 5,5'-dithio bis-nitrobenzoïque (DTNB), dans une fiole de 250 ml avec le tampon phosphate 0,1 M; pH 6,5 jusqu'au trait de jauge.

***Annexe 1j: Solution de peroxyde d'hydrogène (50 mM)***

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM, a été préparée en dissolvant 243  $\mu$ L de peroxyde d'hydrogène 35% dans 45 ml l'eau distillée. La solution a été complétée à 50 ml avec d'eau distillée

***Annexe 1k: Tampon carbonate (0,05 M; pH 10,2)***

Le tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) a été préparé en dissolvant 4,3 g de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3 \cdot 10 H_2O$ ) et 4,2 g d'hydrogénocarbonate de sodium ( $NaHCO_3$ ) dans 900 ml d'eau distillée. Le pH a été ensuite ajusté à 10,2 avec la soude et le volume complété à 1 L avec l'eau distillée.

***Annexe 1l: Tampon phosphate (0,1 M pH 7,5)***

Le tampon phosphate (0,1 M pH 7,5) a été préparé en dissolvant 4,08 g de phosphate monosodique hydraté ( $NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ ) et 11,75 g de phosphate disodique hydraté ( $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ) dans 0,95 L d'eau distillée. La solution a été complétée à 1 L avec d'eau distillée.

***Annexe 1m: Tampon Tris-HCl (50 mM pH 7,4)***

Le tampon Tris-HCl (50 mM pH 7,4 KCl 150 mM) a été préparé en dissolvant 1,21 g de tribase, 2,79 g de KCl dans 250 ml d'eau distillée. Le pH est ajusté par ajout de HCl 11,8 N et le volume complété à 500 ml avec de l'eau distillée.

***Annexe 1n: TCA 20% et TBA 0,67%***

Acide trichloracétique (TCA) 20 %: 2g de TCA sont dissouts dans 10 ml d'eau distillée.

Acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %: 0,67 g de TBA sont dissouts dans 100ml d'eau distillée.

Les solution de TCA 20% et TBA 0,67% ont permis de doser les MDA.

***Annexe 1o: Préparation du Dichromate/ Acide acétique***

5 g de dichromate solide ont été dissouts dans 100 ml d'eau distillée afin d'obtenir une solution à 5%. Puis 150 ml d'acide acétique glacial ont été ajoutés de manière douce dans 50 ml de cette solution de dichromate.

***Annexe 1p: Solution d'Hydroxyde de sodium 10%***

Dissoudre 10 g de NaOH dans 95 ml d'eau distillée. Agiter soigneusement jusqu'à obtenir une dissolution totale, et compléter le volume à 100ml dans une fiole jaugée.

***Annexe 1q: Solution de KOH 30%***

Dissoudre 3g de potasse (KOH) dans 95 ml d'eau distillée et compléter le volume à 100 ml dans une fiole jaugée.

***Annexe 1r: Solution d'éthanol 80%***

Pour obtenir 50 ml d'une solution d'éthanol 80%, nous avons prélevé 41,67 ml d'éthanol 96% et ajouté 8,33 ml d'eau distillée.

***Annexe 1s: Solution de sulfate de cuivre***

Dissoudre 2,5g de sulfate de cuivre pentahydraté dans 95 ml d'eau distillée. Compléter ensuite le mélange à 100 ml dans une fiole jaugée.

***Annexe 1t: Solution d'acide perchlorique***

La solution d'acide perchlorique a été préparée en mélangeant 50 ml de dichromate de potassium (5 %) avec 150 ml d'acide acétique glacial.



**ARTICLES ISSUS DE LA THESE**

## Research Article

# Antioxidant and Antifatigue Properties of the Aqueous Extract of *Moringa oleifera* in Rats Subjected to Forced Swimming Endurance Test

Bonoy Lamou,<sup>1</sup> Germain Sotoing Taiwe,<sup>2</sup> André Hamadou,<sup>3</sup> Abene,<sup>3</sup> Justin Houlray,<sup>3</sup> Mahamat Mey Atour,<sup>2</sup> and Paul Vernyuy Tan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, P. O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>2</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Buea, P. O. Box 63, Yaoundé, Cameroon

<sup>3</sup>Department of Biology and Sport Education, National Institute of Youth and Sports, P. O. Box 1016, Yaoundé, Cameroon

Correspondence should be addressed to Paul Vernyuy Tan; pvernyuy@yahoo.com

Received 4 October 2015; Accepted 29 December 2015

Academic Editor: Denis Delic

Copyright © 2016 Bonoy Lamou et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The effects of the aqueous extract of *Moringa oleifera* on swimming performance and related biochemical parameters were investigated in male Wistar rats (130–132 g). Four groups of rats (16 per group) were fed a standard laboratory diet and given distilled water, 100, 200, or 400 mg/kg of extract, respectively, for 28 days. On day 28, 8 rats from each group were subjected to the forced swimming test with tail load (10% of body weight). The remaining 8 rats per group were subjected to the 90-minute free swim. Maximum swimming time, glycemia, lactamia, uremia, triglyceridemia, hepatic and muscle glycogen, hematological parameters, and oxidative stress parameters (superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, and malondialdehyde) were measured. *Results.* *M. oleifera* extract increased maximum swimming time, blood hemoglobin, blood glucose, and hepatic and muscle glycogen reserves. The extract also increased the activity of antioxidant enzymes and decreased the blood concentrations of malondialdehyde. Furthermore, it decreased blood concentrations of lactate, triglycerides, and urea. In conclusion, the antifatigue properties of *M. oleifera* extract are demonstrated by its ability to improve body energy stores and tissue antioxidant capacity and to reduce the tissue build-up of lactic acid.

## 1. Introduction

Fatigue is best defined as difficulty in initiating or sustaining voluntary activities [1]. Fatigue is accompanied by a feeling of extreme physical or mental tiredness, resulting from severe stress and hard physical or mental work [2]. Physical fatigue is thought to be accompanied by deterioration in performance [1, 3]. There are several theories about the mechanisms of physical fatigue. These include the exhaustion theory, the clogging theory, the radical theory, and the hemoglobin theory. The exhaustion theory suggests that during exercise, many energy sources, such as glucose and liver glycogen, will be exhausted, thus leading to physical fatigue [4]. Prolonged, continuous utilization of carbohydrates depletes hepatic and muscle glycogen reserves (at 60 to 80% of maximal oxygen consumption ( $VO_2$ max)) and considerably diminishes blood

glucose concentration to subphysiological concentrations, resulting in fatigue [5, 6]. The radical theory suggests that intense exercise can produce an imbalance between the body's oxidation system and its antioxidation system. The accumulation of reactive-free radicals will put the body in a state of oxidative stress and bring injury to the body by attacking large molecules and cell organs. The mechanisms and cellular systems responsible for oxidative stress include mitochondria, leucocytes, and ischemia-reperfusion, and recovery from exercise-induced fatigue requires damage repair and elimination of the accumulated metabolic products [1, 4, 7–10]. The clogging theory suggests that exercise can cause the production and accumulation of metabolism-related substances such as lactic acid and urea in the body, which affect cellular homeostasis. The resulting acute or chronic acidosis triggers muscle cramps, muscular pain, acute

respiratory distress, inhibition of enzymatic systems, and eventually fatigue [11–13]. The hemoglobin theory on its part suggests that myoglobin and an energy metabolic system coenzyme leak out into the blood from cells and tissues damaged by exercise, and destruction of red blood cells occurs [14].

*Moringa oleifera* Lam. is a plant of Indian origin which is now widespread in Asia and Africa. It belongs to the family Moringaceae with about 13 species [15]. It is commonly referred to as “tree of life,” “miracle tree,” or “divine plant” due to its numerous nutritive, medicinal, and industrial potentials [16, 17]. The leaves are widely consumed as a legume and used in traditional medicine in Africa in general and in Cameroon in particular. The leaves are an excellent source of protein (19–35% dry matter) [18–26] and are rich in metabolisable energy (2273–2978 kcal/kg DM) [18, 25], vitamins (A, B, C, and E), minerals (0.6–11.2% DM), for example, iron, calcium, zinc, selenium, and  $\beta$ -carotene [19, 27], and fats (2.3–10% DM) and contain the 10 amino acids essential to man [19, 20, 24, 25]. Crude protein levels of 30.3% and 19 amino acids have been reported in the South African ecotype of the plant [28]. *M. oleifera* leaves are used in traditional medicine to treat malnutrition, fever, headaches, nerve pain, and diabetes [24, 29]. The leaves are used in Benin as food supplements for HIV patients [30] and as antipyretic and antibiotic [31]. In part one of a comprehensive review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties, *M. oleifera* has been cited for its numerous applications in disease treatment and prevention. These include antibiotic, antitrypanosomal, hypotensive, antispasmodic, antiulcer, anti-inflammatory, hypocholesterolemic, and hypoglycemic activities, as well as having considerable efficacy in water purification by flocculation, sedimentation, antibiosis, and even reduction of schistosoma cercariae titer. The plant family is rich in compounds containing the simple sugar, rhamnose, and also rich in a fairly unique group of compounds called glucosinolates and isothiocyanates, some with anticancer activity [32, 33]. Torres-Castillo et al. [34] have provided an overview of the histological organization and the composition of some biochemical components (e.g., enzymatic inhibitors, phytochemicals, enzymatic profiles, and antifungal potential) of different plant tissues of *M. oleifera*, associating these components with the physiology and defense mechanisms of the plant.

Nutrient supplementation to improve exercise performance has involved the use of high fat diets, carbohydrate supplements, and various dietary supplements or “tonics” of plant origin to enhance exercise capacity. In the fight against fatigue, more and more sports professionals and athletes are turning to plant extracts as sources of energy in replacement of banned doping substances. Studies have revealed the widespread use of plant extracts in many African countries for performance enhancement [35]. It is therefore important to develop efficient and safe plant-based antifatigue products that can enhance exercise performance without deleterious effects on the health of the users. It has been widely claimed that “ounce-for-ounce, Moringa leaves contain more Vitamin A than carrots, more calcium than milk, more iron than spinach, more Vitamin C than oranges, and more potassium

than bananas” and that the protein quality of Moringa leaves rivals that of milk and eggs. Given the rich nutrient, phytochemical, and organoleptic potential of *M. oleifera*, we designed the present experiment to study the antifatigue potency of the aqueous extract in rats subjected to the forced swimming test.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

**2.1.1. Plant Material and Preparation of Aqueous Extract of Leaves from *M. oleifera*.** The fresh leaves of *M. oleifera* were harvested from the North Region of Cameroon in December 2014 and identified in the National Herbarium (Yaoundé) where a voucher specimen No. 49178/HNC exists. The leaves were cleaned immediately after harvest, cut into small pieces, and dried in the shade for about 2 weeks. The dried material was ground into a powder using an electrical homogenizer (Zaiba®). The aqueous extract was prepared as described by Thilza et al. [36]. 100 g of ground plant material was macerated in 1.5 L of boiled distilled water for one hour. The mixture was filtered through Whatman filter paper No. 3 and filtrate obtained was evaporated to dryness using a rotator evaporator at 45°C. The extract obtained (22, 9% yield) was stored at 4°C. Extract solution was prepared in distilled water each time prior to experimentation.

### 2.1.2. Animals and Grouping

**(1) Animals.** Male albino rats of Wistar strain weighing 130–132 g were obtained from the Animal House of the National Institute of Youth and Sports in Yaoundé. They were placed in plastic cages in a room under standard laboratory conditions (temperature 20 to 30°C, relative air humidity 45 to 55%, and 12/12 h light/dark cycle). The rats were fed with a basal diet and water *ad libitum*. The feed was a standard rat chow (National Veterinary Laboratory (LANAVET), Cameroon) composed of carbohydrates (52%), protein (22%), fat (6.5%), water (12%), ash (6%), and fiber (4.5%). The authorization for the use of laboratory animals in this study was obtained from the Cameroon National Ethics Committee (Reg. No. FWA-IRBoooo1954). The use, handling, and care of animals were done in adherence to the European Convention (Strasbourg, 18.III.1986) for the protection of vertebrate animals used for experimental and other purposes (ETS-123), with particular attention to Part III, articles 7, 8, and 9. The animals were transferred to the laboratory at least 1 hour before the start of the experiment. The experiments were performed during the day (11:00–17:00 hr).

**(2) Animal Grouping.** After two weeks of acclimatization, sixty-four rats were divided randomly into four groups of sixteen rats each: group 1: a control group which received the vehicle (distilled water) only, and three treatment groups (groups 2, 3, and 4) which received 100, 200, and 400 mg/kg, respectively, of *M. oleifera* extract orally once a day for 28 days. The quantity of food and water consumed by each group of rats, as well as body weights were measured every two

days during 28 days, between 11:00 AM and 12:00 AM before extract administration.

## 2.2. Methods

**2.2.1. Weight Loaded Force Swimming Test.** The weight loaded force swimming test was performed as described previously [37–41] but with some modifications. Briefly, 30 minutes after the last dose of extract on day 28 of treatment, eight rats taken from each group were subjected to the force swimming exercise. Each animal was supplied with a constant load (corresponding to 10% of the body weight) tagged to the tail and placed individually in a swimming pool (90 cm × 45 cm × 45 cm), filled with water to a depth of 35 cm [42, 43] and maintained at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  [41]. Exhaustion was determined by observing loss of coordinated movements and failure to return to the surface within 10 sec [41, 44] and swimming time was recorded immediately. The rats were then removed from the pool, dried with a paper towel, and returned to their original cages. The pool water was replaced after each session.

**2.2.2. The 90-Minute Free Swimming Test.** Thirty minutes after the final extract treatment, the remaining eight rats from each group were subjected to the 90-minute free swimming experience without a weight load. At the end of the swim, the rats were rested for an hour and then sacrificed (under ether anesthesia) by cutting through the jugular vein. Blood samples were taken into sterile tubes and serum was prepared (centrifuging at 3000 rpm for 10 min) for the analysis of blood glucose (Glu), triglycerides concentration (TG), blood lactic acid (BLA), and blood urea nitrogen (BUN). Another part of blood collected into bottles containing EDTA as anticoagulant was used to determine blood cell count. Vital body organs (spleen, fatty mass, heart, lungs, kidneys, and testicles) were cleaned using 0.9% saline and then weighed using a sensitive electronic balance. Tissue samples of liver and gastrocnemius muscle were taken and stored frozen at  $-20^\circ\text{C}$  awaiting determination of glycogen and antioxidant status parameters.

**2.2.3. Measurement of Serum Biochemical Parameters and Blood Cell Count.** Blood cell count in all rat groups was measured with the help of blood analyzer (Hospitex Diagnostic Hema Screen 18). The serum levels of glucose were estimated using a glucometer (Reader Accu-CHEK® Active). Blood lactic acid concentrations and levels of BUN were measured using an L-lactate assay kit (Abcam 65331 L-Lactate assay kit) and a colorimetric and enzymatic method (Bioassay System, CA Kit), respectively. Triglyceride concentrations were measured using a commercial kit for measurement of triglycerides in serum or plasma (Enzymatic Trinder Method).

**2.2.4. Measurement of Tissue Glycogen.** Liver and muscle glycogen contents were measured calorimetrically using anthrone reagent [45]. Briefly, after hydrolysis of the liver and gastrocnemius muscle samples in 30% KOH at  $100^\circ\text{C}$  for 30 min, 1.5 mL of anhydrous ethanol was added to the vials.

After centrifugation at  $4000 \times g$  for 15 min, the supernatants were discarded. 0.5 mL of distilled water and 1 mL of 0.2% anthrone were added, and the vials were placed in a boiling water bath for 20 min. The absorbance of the solution in vials was determined at 620 nm using a spectrophotometer (V-530, Jasco Co., Japan).

**2.2.5. Measurement of Antioxidant Status in Liver and Gastrocnemius Muscle.** The liver and gastrocnemius muscle tissue (1g of each) was homogenized in 4 mL of Tris/HCl. These tissue homogenates were centrifuged at 4000 g for 15 min at  $4^\circ\text{C}$  and the supernatants were assessed for the antioxidant status. Lipid peroxidation (the level of thiobarbituric acid reactive substances in terms of malondialdehyde) was measured as described previously [46], and total glutathione (GSH) content was measured according to the method of Ellman [47]. Catalase activity was measured according to the method of Sinha [48]. Superoxide dismutase (SOD) activity was measured using the pyrogallol autoxidation method [49].

**2.2.6. Statistical Analysis.** Statistical analysis was done by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test for multiple comparisons and *P* values less than 0.05 were considered significant. The results are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (SEM).

## 3. Results and Discussion

The forced swimming test represents a valid animal model for screening antifatigue potency of various bioactive compounds [3, 50–52]. Administration of *M. oleifera* extract did not bring about significant differences in food and water intake (Table 1). In addition, we did not observe significant differences in final body weights (207–213 g) (Figure 1) and organ weights (Table 2) following 28 days of extract administration. Body weight gain ranged between 77.0 and 80.8 g for the four treatment groups. This result was in contrast to the results obtained by Osman et al. [53] who reported up to 14% changes in body weight of rats given *M. oleifera* extract for 21 days, attributing these changes to the rich nutrient quality of the extract.

In this study, the forced swimming capacity test in mice was employed to evaluate the effect of leaf aqueous extract from *M. oleifera* on exercise durability of rats with 10% tail load. The forced swimming capacities are shown in Figure 2. The results showed that the swimming time to exhaustion of each extract-treated group was significantly longer ( $P < 0.05$ ) than that recorded for the control group. The maximum forced swimming times were  $135.12 \pm 35.62$ ,  $140.5 \pm 32.17$ , and  $131.25 \pm 38.64$  seconds, respectively, for the 100, 200, and 400 mg/kg extract-treated groups compared with  $89.75 \pm 17.19$  seconds for the control group. The 200 mg/kg dose was most effective. The shortness of the length of the exhaustive swimming time indicates the degree of fatigue [54]. The results therefore indicated that extract of *M. oleifera* enhanced the swimming capacity by delaying the onset of physical fatigue in rats. Similar results have been obtained by other

TABLE 1: Effect of *M. oleifera* extract on food (g/group/week) and water (mL/group/week) intake in rats.

	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Food intake				
Week 1	327.67 ± 40.81	252.00 ± 37.40	269.00 ± 32.08	319.33 ± 19.03
Week 2	285.67 ± 14.64	231.33 ± 4.93	257.67 ± 17.62	304.00 ± 42.33
Week 3	299.67 ± 16.86	243.67 ± 33.86	232.33 ± 35.53	290.00 ± 28.58
Week 4	335.00 ± 22.01	249.25 ± 29.65	286.25 ± 29.77	321.75 ± 37.85
Water intake				
Week 1	341.33 ± 33.50	319.00 ± 14.8	341.00 ± 30.51	322.67 ± 24.42
Week 2	396.67 ± 16.77	343.00 ± 34.65	381.33 ± 14.74	390.00 ± 38.43
Week 3	332.33 ± 46.01	285.33 ± 19.55	337.67 ± 26.63	308.67 ± 12.22
Week 4	346.25 ± 26.36	322.01 ± 31.76	353.02 ± 16.58	323.75 ± 33.63

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ .

TABLE 2: Effect of *M. oleifera* extract on relative organ weights of the rats.

Organ weight (% body weight)	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Heart	0.28 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.34 ± 0.04*
Liver	3.74 ± 0.27	3.24 ± 0.69*	3.38 ± 0.24	3.53 ± 0.17
Lungs	0.73 ± 0.12	0.93 ± 0.23	0.89 ± 0.41	0.85 ± 0.07
Spleen	0.24 ± 0.06	0.32 ± 0.08	0.28 ± 0.17	0.34 ± 0.09
Left kidney	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.05	0.28 ± 0.03	0.31 ± 0.04
Right kidney	0.30 ± 0.02	0.26 ± 0.04	0.26 ± 0.05	0.32 ± 0.06
Left testis	0.50 ± 0.14	0.47 ± 0.08	0.61 ± 0.14	0.59 ± 0.08
Right testis	0.55 ± 0.14	0.44 ± 0.10	0.51 ± 0.07	0.59 ± 0.07
Fatty mass	1.65 ± 0.32	1.43 ± 0.55	2.27 ± 1.07	1.67 ± 0.37

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ . \* $P < 0.05$  compared with control group.

workers who tested the antifatigue potential of various plant extracts [3, 50–52].

Serum biochemical parameters are shown in Table 3. Results show that after the swimming test, blood glucose levels were significantly and dose-dependently higher ( $P < 0.05$ – $P < 0.01$ ) in the extract-treated groups compared with the controls. On the contrary, blood lactate levels were significantly ( $P < 0.05$ – $P < 0.01$ ) and dose-dependently reduced (20.9–36.7%) by extract treatment compared with the controls. Blood lactate is the glycolysis product of carbohydrates under anaerobic conditions and glycolysis is the main energy source for intense exercise over a short time. Therefore, lactate concentrations serve as indicators for judging the intensity of the exercise or the degree of fatigue. With the accumulation of blood lactate, blood and muscle tissue pH reduces, a condition which is harmful to some vital organs and which also causes fatigue [55–57]. Blood lactate levels are therefore representative of the degree of postexercise fatigue and the condition of recovery [44, 58]. Antifatigue agents have been shown to effectively work by delaying lactate accumulation either by reducing the glycolytic process or by increasing the rate of removal of blood lactate [56, 59]. The leaf extract of *M. oleifera* could effectively delay the onset of fatigue through one or both of these mechanisms.

The importance of muscle glycogen levels in endurance exercise has been demonstrated and it is suggested that

depletion of muscle glycogen is an important factor in fatigue and exhaustion [60]. However, there is evidence that energy provision for intense prolonged aerobic muscular work relies mainly on fat utilization [61]. In this study, plasma TG levels were significantly lowered ( $P < 0.05$ ) in all extract-treated groups compared with the controls, while extract treatment raised blood glucose levels (Table 3). In addition, following the swim test, extract-treated rats at all dose levels maintained significantly higher concentrations of muscle and hepatic glycogen compared with the controls (Table 4). Hepatic and muscle glycogen reserves constitute reliable determinants of fatigue on which endurance capacity relies [62], and the prolonged exercise-induced hypoglycemia can be harmful to nervous function [63, 64]. The concomitant significant drop in serum triglyceride concentrations and elevated blood glucose levels after endurance exercise suggest that *M. oleifera* extract preferentially promoted the utilization of fat during prolonged exercise, a glycogen-sparing mechanism that delays the onset of fatigue [65, 66]. There is experimental evidence that endurance can be improved by increasing the availability of fatty acids and that this effect is mediated by a slowing of glycogen depletion [67].

Blood urea nitrogen (BUN) levels are shown in Table 3. BUN concentrations of extract-treated rats (26.4–28.2 mg/dL) were significantly lower ( $P < 0.01$ ) following the experimental swimming exercise compared with controls (45.0 mg/dL). The positive correlation between

TABLE 3: Effect of *M. oleifera* extract on rat serum biochemical parameters.

	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Glycemia (mg/dL)	119.9 ± 24.87	145.01 ± 16.25*	147.4 ± 21.35*	163.9 ± 16.10***
Lactamia (mmol/L)	31.27 ± 3.21	24.14 ± 2.41*	19.37 ± 4.53***	18.87 ± 6.77***
Urea (mg/dL)	45.03 ± 13.26	26.78 ± 8.77**	26.41 ± 8.19**	28.21 ± 9.37**
Triglycerides (mg/dL)	176.77 ± 26.61	75.05 ± 7.63***	125.28 ± 12.40***	58.42 ± 7.22***

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  compared with control group.

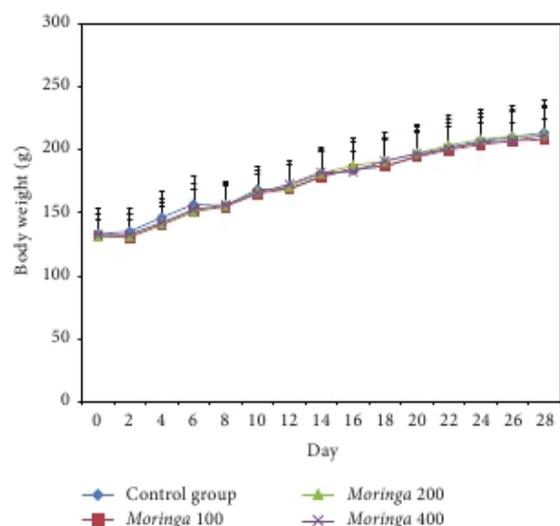


FIGURE 1: Body weight change of the rats during the experimentation. The values are expressed as mean ± SEM,  $n = 16$ . Control group = rats treated with distilled water; *Moringa* 100, *Moringa* 200, and *Moringa* 400 group = rats treated with 100, 200, and 400 mg/kg, respectively, of *Moringa oleifera* extract.

TABLE 4: Effect of *M. oleifera* extract on rat hepatic and muscle glycogen.

Groups	Glycogen (mg/g)	
	Liver	Muscle
Control	17.68 ± 1.74	1.19 ± 0.46
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	21.57 ± 2.45*	2.06 ± 0.77*
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	22.69 ± 3.44**	2.76 ± 0.78***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	22.64 ± 3.69**	2.68 ± 0.68***

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  compared with control group.

BUN levels and the degree of exercise tolerance is well known [60, 68, 69]. The less adapted or tolerant the body is to prolonged exercise, the more significant the rise in BUN levels following protracted exercise [70, 71]. The results therefore suggest that treatment with *M. oleifera* extract for 28 days can contribute to fatigue retardation by reducing hepatic amino acid and protein catabolism during exercise.

Intense physical exercise also causes oxidative stress in the body due to excessive generation of oxygen-derived free radicals. During exercise, a large amount of oxygen is consumed and 4-5% of the total oxygen consumed during

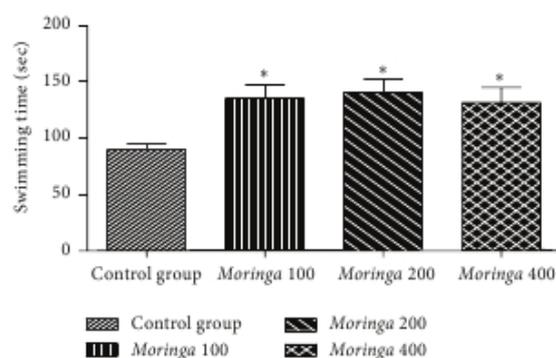


FIGURE 2: Effect of the *M. oleifera* aqueous extract on swimming time in rats. Data are presented as mean ± SEM,  $n = 8$ . Control group = rats treated with distilled water; *Moringa* 100, *Moringa* 200, and *Moringa* 400 group = rats treated with 100, 200 and 400 mg/kg of *M. oleifera* extract, respectively. \* $P < 0.05$  compared with control group.

respiration is incompletely reduced to water and therefore results in the acceleration of free radical generation. These radicals, in turn, oxidatively degrade biomolecules such as lipids, proteins, and nucleic acids and therefore affect the homeostatic environment of cells. A vast amount of evidence indicates that reactive oxygen species (ROS) are responsible for exercise-induced protein oxidation and contribute strongly to muscle fatigue [72]. As shown in Table 5, MDA concentrations in liver and gastrocnemius muscle of rats treated with *Moringa* extract were significantly lower ( $P < 0.05$ ) compared with the controls, while the activities of SOD, GPx, and CAT in liver and gastrocnemius muscle of control rats were significantly lower ( $P < 0.05$ ) compared with the extract-treated groups. MDA is one of the degradation products in the lipid peroxidation process [71]. Earlier studies have shown that lipid peroxidation in liver and muscle tissues increases during intense physical exercise [44]. Peroxidation is an important indicator of oxidative stress that results from degradation of cell membrane by free radicals. The results of the present study indicated the antiperoxidation capacity of *M. oleifera* extract. Enzymatic antioxidant systems, such as GPx, SOD, and CAT, are important in scavenging free radicals and their metabolites [73]. SOD protects cells by catalyzing the conversion of superoxide radicals to  $O_2$  and  $H_2O_2$ . This toxic  $H_2O_2$  is further decomposed into  $O_2$  and  $H_2O$  by catalase. GPx catalyzes the reduction of hydroperoxides by glutathione. These antioxidant defense mechanisms become weaker during chronic fatigue and other disease

TABLE 5: Effect of *M. oleifera* extract on rat hepatic and muscle antioxidant parameters.

	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Hepatic parameters				
SOD (U/mg protein)	31.09 ± 3.15	35.35 ± 2.61*	38.42 ± 3.22***	39.11 ± 3.48***
MDA (μmol/g)	52.00 ± 5.66	42.13 ± 3.64***	41.63 ± 4.91***	42.32 ± 4.43***
CAT (U/mg protein)	25.13 ± 2.17	27.52 ± 1.64	29.33 ± 1.92**	28.34 ± 2.67*
GPx (μmol/mg protein)	3.62 ± 0.71	5.63 ± 1.13**	6.22 ± 1.12***	6.95 ± 1.74***
Muscle parameters				
SOD (U/mg protein)	6.55 ± 0.98	8.95 ± 1.06***	9.23 ± 1.54***	9.12 ± 0.87***
MDA (μmol/g)	33.24 ± 5.24	24.13 ± 4.57**	22.28 ± 4.63***	22.14 ± 4.54***
CAT (U/mg protein)	0.27 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.38 ± 0.03***	0.39 ± 0.05***
GLU (μmol/mg de protein)	0.88 ± 0.37	2.98 ± 0.26**	4.09 ± 1.97***	3.75 ± 1.04***

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  compared with control group.

TABLE 6: Effect of *M. oleifera* aqueous extract on hematological parameters of rats.

	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
WBC × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	10.70 ± 4.45	9.08 ± 1.67	9.60 ± 2.47	11.32 ± 4.31
RBC × 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	6.52 ± 0.25	6.57 ± 0.70	6.13 ± 0.16	6.3575 ± 0.2
Hb (g/dL)	12.30 ± 1.01	13.00 ± 0.22*	12.38 ± 0.262	12.225 ± 0.29
HCT (%)	35.12 ± 0.22	33.82 ± 0.85	32.55 ± 1.35**	34.2 ± 1.09
PLA × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	559.25 ± 40.79	543.75 ± 189.50	649.25 ± 113.84	497.75 ± 58.26
%LYM (%)	54.82 ± 23.35	70.87 ± 6.42*	63.7 ± 7.44	62.17 ± 3.55
%MON (%)	10.13 ± 5.05	13.72 ± 4.19	13.15 ± 2.92	14.02 ± 1.27
%GRA (%)	24.88 ± 6.70	15.4 ± 3.75*	23.15 ± 7.75	23.8 ± 4.75
LYM × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	8.10 ± 2.20	6.30 ± 0.70*	6.05 ± 1.61*	5.43 ± 1.03
MON × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1.20 ± 0.89	1.22 ± 0.58	1.17 ± 0.22	1.17 ± 0.27
GRA × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	3.00 ± 1.73	1.55 ± 0.50*	2.37 ± 1.26	2.22 ± 0.61

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 8$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  compared with control group.

conditions [1, 72]. Thus, the improvement in the activities of these defense mechanisms can help to fight against fatigue. Our results indicated that the antifatigue effect of *M. oleifera* extract probably occurs through protection of corpuscular membranes by preventing lipid oxidation via modifying activities of several enzymes. These results are in accordance with the findings by Wang and Yan [74], which demonstrated similar effects of ginseng polysaccharides on MDA and GPx levels. Extract effect was maximal at doses 100, 200, and 400 mg/kg, respectively, for blood hemoglobin (Table 6), hepatic/muscle glycogen (Table 4), and blood glucose concentrations (Table 3). However, the dose-dependent increase in blood glucose levels was not translated into a corresponding dose-dependent increase in maximum swimming time which peaked at dose 200 mg/kg. This limited response may be explained by the effect of extract on hepatic and muscle antioxidant parameters which peaked at dose 200 mg/kg (Table 5). These results respond to the notion that antioxidants can paradoxically become prooxidant when administered at excessive doses. It is for this reason that food-derived antioxidants are preferably taken in the form of a composite mixture of many antioxidants with complimentary activity rather than a massive supply of a single antioxidant [75]. The results obtained here may therefore reflect an excessively massive import of a high

concentration of one or more potent antioxidant components of the extract at the dose of 400 mg/kg.

Hematological parameters of the rats measured after exercise are presented in Table 6. There were significant increases ( $P < 0.05$ ) in hemoglobin (Hb) and percentage lymphocytes in rats given 100 mg/kg of extract compared with the controls. Hemoglobin is the main component of erythrocytes whose main function is to serve as the carrier for oxygen and carbon dioxide. Hb also plays a role in the maintenance of the body fluid's acid/alkali balance [76]. Therefore, it can directly affect energy metabolism, body function, and exercise ability, the loading capacity of the exercise and consequently fatigue [77]. Hb normally is one of the indicators that reflect the degree of recovery from fatigue after exercise, and higher levels of Hb can improve exercise ability [44]. Our results are in accordance with the findings by Okwari et al. [78], who demonstrated similar effects of the leaf aqueous extract of *M. oleifera* on hemoglobin levels in rats subjected to thermooxidized palm oil diet-induced toxicity. Table 6 also shows that extract treatment also decreased hematocrit, percentage of granulocyte, and lymphocytes at 100 and 200 mg/kg doses ( $P < 0.05$ ). Many studies describe changes induced by physical exercise on subtypes of blood mononuclear cells (neutrophils, lymphocytes, and monocytes) [79, 80]. In general, during and immediately

after intense exercise, total circulating numbers of leucocytes (polynuclear and mononuclear) increase in proportion to the intensity and the duration of the exercise [81] but disappear 24 hours after the exercise.

In conclusion, the leaf aqueous extract of *M. oleifera* possesses antifatigue properties. It improved the swimming ability of rats by delaying the accumulation of blood lactate and blood urea nitrogen, by increasing the mobilization and use of body fats, and by slowing the depletion of glycogen stores. The antifatigue potential may be expressed through mechanisms that involve the antioxidant activity of the extract. Further studies are needed to determine the effect of the extract on chronic physical activity.

### Conflict of Interests

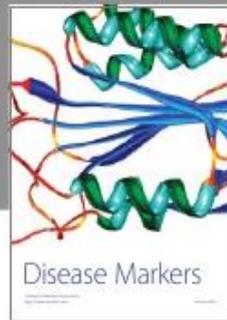
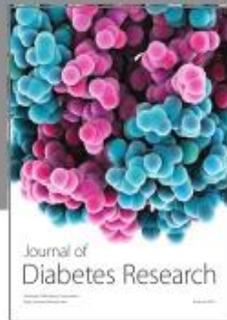
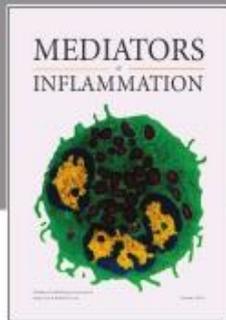
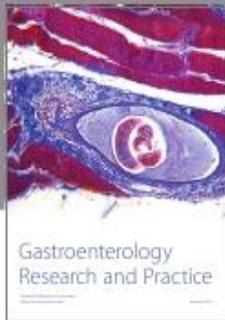
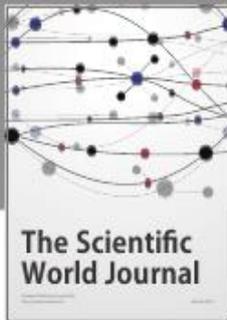
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

### References

- [1] L. J. You, M. M. Zhao, J. M. Regenstein, and J. Y. Ren, "In vitro antioxidant activity and in vivo anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion," *Food Chemistry*, vol. 124, no. 1, pp. 188–194, 2011.
- [2] L.-Z. Huang, B.-K. Huang, Q. Ye, and L.-P. Qin, "Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of *Acanthopanax senticosus*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 133, no. 1, pp. 213–219, 2011.
- [3] G. Hao, C. Zhang, W. Cao, and J. Hao, "Effects of intragastric administration of five oyster components on endurance exercise performance in mice," *Pharmaceutical Biology*, vol. 52, no. 6, pp. 723–728, 2014.
- [4] L. Wang, H.-L. Zhang, R. Lu et al., "The decapeptide CMS001 enhances swimming endurance in mice," *Peptides*, vol. 29, no. 7, pp. 1176–1182, 2008.
- [5] M. Zhang, H. Chen, J. Li, Y. Pei, and Y. Liang, "Antioxidant properties of *Tartary buckwheat* extracts as affected by different thermal processing methods," *LWT—Food Science and Technology*, vol. 43, no. 1, pp. 181–185, 2010.
- [6] E. F. Coyle, A. R. Coggan, M. K. Hemmert, and J. L. Ivy, "Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate," *Journal of Applied Physiology*, vol. 61, no. 1, pp. 165–172, 1986.
- [7] K. J. A. Davies, A. T. Quintanilha, G. A. Brooks, and L. Packer, "Free radicals and tissue damage produced by exercise," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 107, no. 4, pp. 1198–1205, 1982.
- [8] M. J. Jackson, "Muscle damage during exercise: possible role of free radicals and protective effect of vitamin E," *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 46, no. 1, pp. 77–80, 1987.
- [9] J. Pastre, *Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques [Ph.D. thesis]*, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 2005.
- [10] A. Mastaloudis, J. D. Morrow, D. W. Hopkins, S. Devaraj, and M. G. Traber, "Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 36, no. 10, pp. 1329–1341, 2004.
- [11] T. H. Pedersen, O. B. Nielsen, G. D. Lamb, and D. G. Stephenson, "Intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle," *Science*, vol. 305, no. 5687, pp. 1144–1147, 2004.
- [12] L. Hermansen, "Muscular fatigue during maximal exercise of short duration," in *Physiological Chemistry of Exercise and Training*, P. E. di Prampero and J. R. Poortman, Eds., vol. 13, pp. 45–52, 1981.
- [13] H. Blain, A. Vuillemin, A. Blain, and C. Jeandel, "Les effets préventifs de l'activité physique chez les personnes âgées," *La Presse Médicale*, vol. 29, no. 22, pp. 1240–1248, 2000.
- [14] M. Ikeuchi, K. Yamaguchi, T. Koyama, Y. Sono, and K. Yazawa, "Effects of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) extract on endurance capacity in mice," *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, vol. 52, no. 4, pp. 287–292, 2006.
- [15] N. Foidl, H. P. S. Makkar, and K. Becker, "The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses," in *The Miracle Tree: Multiple Attributes of Moringa*, L. J. Fuglie, Ed., pp. 45–76, CTA/CWS, Dakar, Senegal, 2001.
- [16] L. J. Fuglie, "Introduction to the multiple uses of *Moringa* (7–10)," in *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, L. J. Fuglie, Ed., p. 177, CTA, Wageningen, The Netherlands; CWS, Dakar, Senegal, 2001.
- [17] M. E. Olson, "Introduction to *Moringa* family," in *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, L. J. Fuglie, Ed., pp. 11–28, CTA, Wageningen, The Netherlands; CWS, Dakar, Senegal, 2001.
- [18] H. P. S. Makkar and K. Becker, "Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 63, no. 1–4, pp. 211–228, 1996.
- [19] L. J. Fuglie, "Nutrition naturelle sous les tropiques," in *L'arbre de la Vie : Les Multiples Usages du Moringa*, L. J. Fuglie, Ed., pp. 105–118, CTA et CWS, Dakar, Senegal, 2002.
- [20] N. Richter, P. Siddhuraju, and K. Becker, "Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L)," *Aquaculture*, vol. 217, no. 1–4, pp. 599–611, 2003.
- [21] C. Tchiégang and K. Aissatou, "Données ethnobotaniques et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun)," *Tropicalicultura*, vol. 22, no. 1, pp. 11–18, 2004.
- [22] E. T. Pamo, A. T. Niba, F. A. Fonteh et al., "Effet de la supplémentation au *Moringa oleifera* ou aux blocs multivitamines sur l'évolution du poids post partum et la croissance pré-sevrage des cobayes (*Cavia porcellus* L.)," *Livestock Research for Rural Development*, vol. 17, no. 4, 2005.
- [23] A. M. V. Kakengi, J. T. Kaijage, S. V. Sarwatt, S. K. Mutayoba, M. N. Shem, and T. Fujihara, "Effect of *Moringa oleifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania," *Livestock Research for Rural Development*, vol. 19, pp. 1–12, 2007.
- [24] M. Ndong, S. Wade, N. Dossou, A. T. Guiro, and R. D. Gning, "Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles," *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, vol. 7, no. 3, pp. 1–17, 2007.
- [25] T. S. Olugbemi, S. K. Mutayoba, and F. P. Lekule, "Effect of *Moringa (Moringa oleifera)* inclusion in cassava based diets fed to broiler chickens," *International Journal of Poultry Science*, vol. 9, no. 4, pp. 363–367, 2010.

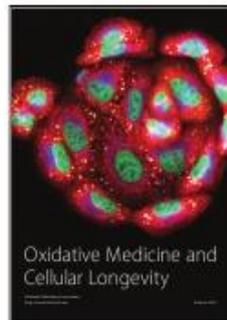
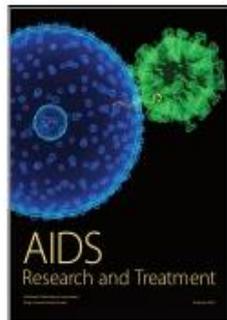
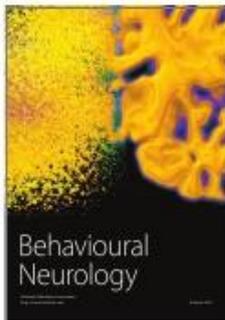
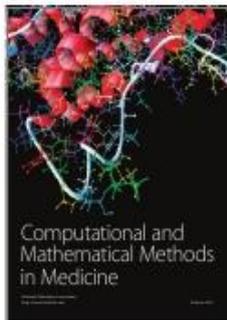
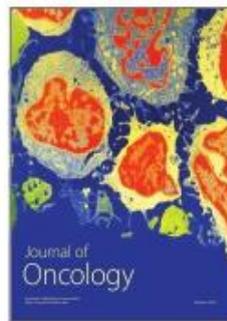
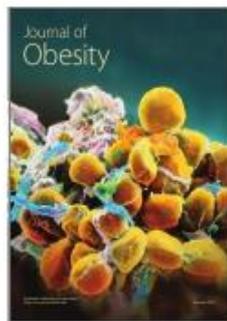
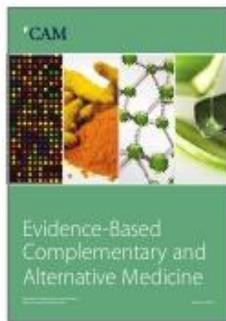
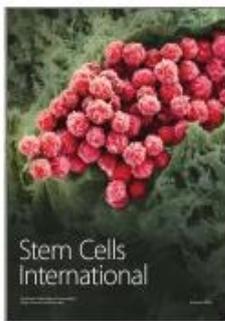
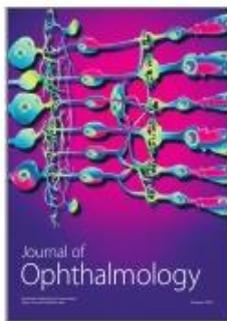
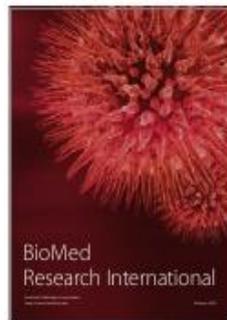
- [26] K. Abou-Elezz Foud Mohamed, L. Sarmiento-Franco, R. Santos-Ricalde, and J. F. Solorio-Sanchez, "The nutritional effect of *Moringa oleifera* fresh leaves as feed supplement on Rhode Island Red hen egg production and quality," *Tropical Animal Health and Production*, vol. 44, no. 5, pp. 1035–1040, 2012.
- [27] A. Mbora, G. Mundia, and S. Muasya, *Combating Nutrition with Moringa oleifera*, World Agroforestry Centre, Nairobi, Kenya, 2004.
- [28] B. Moyo, P. J. Masika, A. Hugo, and V. Muchenje, "Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera Lam.)* leaves," *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 60, pp. 12925–12933, 2011.
- [29] J. Kerrharo, "La pharmacopée Africaine, plantes médicinales et toxiques 1974," Rapport de Synthèse, Direction de la Statistique et de la Prévision, Enquête Démographique et de Santé II (EDS II), Ministère de l'Economie, des Finances et du Plan du Sénégal, 1992/1993, 1994.
- [30] K. A. Aïssi, O. A. Hounto, R. C. Jonhson et al., "Frequency deficiencies in trace elements and correlations with the degree of immunosuppression in people living with HIV in Cotonou (Benin)," *International Journal of Biosciences*, vol. 3, no. 4, pp. 58–67, 2013.
- [31] R. Y. Yang, S. C. S. Tsou, T. C. Lee, L. C. Chang, G. Kuo, and P. Y. Lai, "Moringa, a novel plant rich in antioxidants, bioavailable iron, and nutrients," in *Challenges in Chemistry and Biology of Herbs*, C. T. Ho, Ed., pp. 224–239, American Chemical Society, Washington, DC, USA, 2006.
- [32] J. W. Fahey, "*Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1," *Trees for Life Journal*, vol. 1, article 5, 2005.
- [33] M. M. Khalafalla, E. Abdellatef, H. M. Dafalla et al., "Active principle from *Moringa oleifera Lam* leaves effective against two leukemias and a hepatocarcinoma," *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 49, pp. 8467–8471, 2010.
- [34] J. A. Torres-Castillo, S. R. Sinagawa-García, G. C. G. Martínez-Ávila et al., "*Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties," *International Journal of Experimental Botany*, vol. 82, pp. 193–202, 2013.
- [35] D. Tallec, "Thé, café: aliments ou médicaments," *La Phytothérapie Européenne*, vol. 43, pp. 22–27, 2008.
- [36] I. B. Thilza, S. Sanni, A. I. Zakari, F. S. Sanni, T. Muhammed, and B. J. Musa, "In vitro antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases," *Academia Arena*, vol. 2, no. 6, pp. 80–82, 2010.
- [37] S. Uthayathas, S. S. Karuppagounder, S. I. Tamer et al., "Evaluation of neuroprotective and anti-fatigue effects of sildenafil," *Life Sciences*, vol. 81, no. 12, pp. 988–992, 2007.
- [38] Y. Nozawa, K. Yamada, Y. Okabe, T. Ishizaki, and M. Kuroda, "The anti-fatigue effects of the low-molecular-weight fraction of bonito extract in mice," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 32, no. 3, pp. 468–474, 2009.
- [39] H.-M. Jin and P. Wei, "Anti-fatigue properties of tartary buckwheat extracts in mice," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 12, no. 8, pp. 4770–4780, 2011.
- [40] W. Tan, K.-Q. Yu, Y.-Y. Liu et al., "Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from *Radix Rehmanniae Preparata*," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 50, no. 1, pp. 59–62, 2012.
- [41] B. Qi, L. Liu, H. Zhang et al., "Anti-fatigue effects of proteins isolated from *Panax quinquefolium*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 153, no. 2, pp. 430–434, 2014.
- [42] K. Matsumoto, K. Ishihara, K. Tanaka, K. Inoue, and T. Fushiki, "An adjustable current swimming pool for the evaluation of endurance capacity of mice," *Journal of Applied Physiology*, vol. 81, no. 4, pp. 1843–1849, 1996.
- [43] M. Kamakura, N. Mitani, T. Fukuda, and M. Fukushima, "Antifatigue effect of fresh Royal jelly in mice," *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, vol. 47, no. 6, pp. 394–401, 2001.
- [44] J.-J. Wang, M.-J. Shieh, S.-L. Kuo, C.-L. Lee, and T.-M. Pan, "Effect of red mold rice on antifatigue and exercise-related changes in lipid peroxidation in endurance exercise," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 70, no. 2, pp. 247–253, 2006.
- [45] Y. Chun and Z. D. Yin, "Glycogen assay for diagnosis of female genital *Chlamydia trachomatis* infection," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 36, no. 4, pp. 1081–1082, 1998.
- [46] K. M. Wilbur, F. Bernheim, and O. W. Shapiro, "The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 24, no. 2, pp. 305–313, 1949.
- [47] G. L. Ellman, "Tissue sulfhydryl groups," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 82, no. 1, pp. 70–77, 1959.
- [48] A. K. Sinha, "Colorimetric assay of catalase," *Analytical Biochemistry*, vol. 47, no. 2, pp. 389–394, 1972.
- [49] Misra and Fridovich, *Determination of the Level of Superoxide Dismutase in Whole Blood*, vol. 1, Yale University Press, New Haven, Connecticut, 1972.
- [50] E. H. Choi, J. Kang, J. Y. Cho et al., "Supplementation of standardized lipid-soluble extract from maca (*Lepidium meyenii*) increases swimming endurance capacity in rats," *Journal of Functional Foods*, vol. 4, no. 2, pp. 568–573, 2012.
- [51] M. P. Venu Prasad and F. Khanum, "Antifatigue activity of Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* in rats," *Research Journal of Medicinal Plant*, vol. 6, no. 1, pp. 37–46, 2012.
- [52] C. Xu, J. Lv, Y. M. Lo, S. W. Cui, X. Hu, and M. Fan, "Effects of oat  $\beta$ -glucan on endurance exercise and its anti-fatigue properties in trained rats," *Carbohydrate Polymers*, vol. 92, no. 2, pp. 1159–1165, 2013.
- [53] H. M. Osman, M. E. Shayoub, and E. M. Babiker, "The effect of *Moringa oleifera* leaves on blood parameters and body weights of albino rats and rabbits," *Jordan Journal of Biological Sciences*, vol. 5, no. 3, pp. 147–150, 2012.
- [54] M. Tanaka, F. Nakamura, S. Mizokawa, A. Matsumura, S. Nozaki, and Y. Watanabe, "Establishment and assessment of a rat model of fatigue," *Neuroscience Letters*, vol. 352, no. 3, pp. 159–162, 2003.
- [55] S. P. Cairns, "Lactic acid and exercise performance: culprit or friend?" *Sports Medicine*, vol. 36, no. 4, pp. 279–291, 2006.
- [56] M. Li, C. Donglian, L. Huaixing, T. Bende, S. Lihua, and W. Ying, "Anti-fatigue effects of salidroside in mice," *Journal of Medical Colleges of PLA*, vol. 23, no. 2, pp. 88–93, 2008.
- [57] N.-H. Kim, P.-D. Moon, S. C. Pak, H.-M. Kim, and H.-J. Jeong, "Anti-fatigue effect of *Zizania caudiflora* (Turczaninow) Nakai," *The American Journal of Chinese Medicine*, vol. 40, no. 1, pp. 111–120, 2012.
- [58] B. Yu, Z.-X. Lu, X.-M. Bie, F.-X. Lu, and X.-Q. Huang, "Scavenging and anti-fatigue activity of fermented defatted soybean peptides," *European Food Research and Technology*, vol. 226, no. 3, pp. 415–421, 2008.
- [59] D. A. Evans, A. Subramoniam, S. Rajasekharan, and P. Pushpan-gadan, "Effect of *Trichopus zeylanicus* leaf extract on the energy

- metabolism in mice during exercise and at rest," *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 34, no. 1, pp. 32–37, 2002.
- [60] H. P. Shang, S. H. Cao, J. H. Wang, H. Zheng, and R. Putheti, "Glabridin from Chinese herb licorice inhibits fatigue in mice," *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, vol. 7, no. 1, pp. 17–23, 2009.
- [61] N. L. Jones and R. J. Havel, "Metabolism of free fatty acids and chylomicron triglycerides during exercise in rats," *The American Journal of Physiology*, vol. 213, no. 4, pp. 824–828, 1967.
- [62] G. L. Dohm, E. B. Tapscott, H. A. Barakat, and G. J. Kasperek, "Influence of fasting on glycogen depletion in rats during exercise," *Journal of Applied Physiology: Respiratory Environmental and Exercise Physiology*, vol. 55, no. 3, pp. 830–833, 1983.
- [63] K. Jung, I.-H. Kim, and D. Han, "Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 93, no. 1, pp. 75–81, 2004.
- [64] S.-H. Suh, I.-Y. Paik, and K. A. Jacobs, "Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise," *Molecules and Cells*, vol. 23, no. 3, pp. 272–279, 2007.
- [65] J. L. Walberg, M. R. C. Greenwood, and J. S. Stern, "Lipoprotein lipase activity and lipolysis after swim training in obese Zucker rats," *The American Journal of Physiology*, vol. 245, no. 5, pp. 706–712, 1983.
- [66] C. Y. Guezennec and P. C. Pesquiés, "Biochemical basis for physical exercise fatigue," in *High Altitude Deterioration*, vol. 19 of *Medicine Sport Sciences*, pp. 79–89, Karger Publishers, Basel, Switzerland, 1985.
- [67] R. J. Favier and H. E. Koubi, "Metabolic and structural adaptations to exercise in chronic intermittent fasted rats," *The American Journal of Physiology—Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, vol. 254, no. 6, pp. 877–884, 1988.
- [68] H.-N. Koo, J.-K. Lee, S.-H. Hong, and H.-M. Kim, "Herbkinines increases physical stamina in mice," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 27, no. 1, pp. 117–119, 2004.
- [69] J. L. Wu, Q. P. Wu, J. M. Huang, R. Chen, M. Cai, and J. B. Tan, "Effects of L-malate on physical stamina and activities of enzymes related to the malate-aspartate shuttle in liver of mice," *Physiological Research*, vol. 56, no. 2, pp. 213–220, 2007.
- [70] Y. Zhang, X. Yao, B. Bao, and Y. Zhang, "Anti-fatigue activity of a triterpenoid-rich extract from Chinese bamboo shavings (*Caulis bambusae* in *Taeniam*)," *Phytotherapy Research*, vol. 20, no. 10, pp. 872–876, 2006.
- [71] J.-F. Ding, Y.-Y. Li, J.-J. Xu, X.-R. Su, X. Gao, and F.-P. Yue, "Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation," *Food Hydro-colloids*, vol. 25, no. 5, pp. 1350–1353, 2011.
- [72] S. K. Powers and K. Hamilton, "Antioxidants and exercise," *Clinics in Sports Medicine*, vol. 18, no. 3, pp. 525–536, 1999.
- [73] R. J. Elias, S. S. Kellerby, and E. A. Decker, "Antioxidant activity of proteins and peptides," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 48, no. 5, pp. 430–441, 2008.
- [74] Z. B. Wang and B. Yan, "Gastrodia elata Blume extract ameliorates exercise-induced fatigue," *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 36, pp. 5978–5982, 2010.
- [75] K. M. Wilbur, F. Bernheim, and O. W. Shapiro, "Determination of lipid peroxidation," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 24, pp. 305–310, 1949.
- [76] M. Nikinmaa, "Oxygen and carbon dioxide transport in vertebrate erythrocytes: an evolutionary change in the role of membrane transport," *Journal of Experimental Biology*, vol. 200, no. 2, pp. 369–380, 1997.
- [77] S. J. Gao and D. Wu, "Research of various dosage carnosine affecting on anti-fatigue of mobility for rats," *Journal of Guangzhou Sport University*, vol. 28, pp. 90–92, 2008.
- [78] O. O. Okwari, C. G. Emerole, K. Dasofunjo, H. C. Ezugwu, and J. Obi, "Haematological profile of rats administered with aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* following thermoxidized palm oil diet induced toxicity," *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 9, no. 1, pp. 41–45, 2014.
- [79] D. C. Nieman, A. R. Miller, D. A. Henson et al., "Effect of high-versus moderate-intensity exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 15, no. 4, pp. 199–206, 1994.
- [80] B. K. Pedersen and L. Hoffman-Goetz, "Exercise and the immune system: regulation, integration and adaptation," *Physiological Reviews*, vol. 80, no. 3, pp. 1055–1081, 2000.
- [81] D. A. McCarthy and M. M. Dale, "The leucocytosis of exercise. A review and model," *Sports Medicine*, vol. 6, no. 6, pp. 333–363, 1988.



**Hindawi**

Submit your manuscripts at  
<http://www.hindawi.com>





**ANTISTRESS EFFECTS OF THE LEAVES AQUEOUS EXTRACT OF  
*MORINGA OLEIFERA* IN RATS SUBJECTED TO ACUTE AND  
CHRONIC ANIMAL MODEL OF STRESS**

**Bonoy Lamou<sup>1,2\*</sup>, Mbame Jean-Pierre<sup>2</sup>, Djofang Hugues<sup>2</sup>, Monabang Marcelle Yvana<sup>2</sup>,  
Tan V. Paul<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé  
I, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon.

<sup>2</sup>Department of Biology and Sport Education, National Institute of Youth and Sports, P.O. Box 1016  
Yaoundé, Cameroon.

Article Received on  
05 Sept. 2018,

Revised on 26 Sept. 2018,  
Accepted on 17 Oct. 2018

DOI: 10.20959/wjpps201811-12613

**\*Corresponding Author**

**Dr. Bonoy Lamou**

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

**ABSTRACT**

**Aims:** This study aimed to investigate the antistress properties of the leaves aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats subjected to acute and chronic stress models. **Methods:** For this purpose, fifty five rats (173-175 g) were divided randomly into eleven groups of five rats each. Six groups were used to evaluate the effect of extract in acute stress model, and five remaining groups were used for the evaluation of this effect in chronic stress. The antistress effect of *M. oleifera* extract was tested at dose levels of 100, 200 and 400 mg/kg, orally and compared with diazepam (1 mg/kg) as standard. Rats were subjected to acute and chronic animal model of stress for 14 days, after which behaviors scored, gastric lesions, oxidative stress parameters in stomach and serum biochemical parameters were measured. In

addition, food and water intake and body weights were determined. **Results:** The administration of *M. oleifera* extract had no significant effect on body weight, food and water intake as compared to respective stress control groups ( $p > 0.05$ ) in acute and chronic stress model. However, significant modifications of behavioral parameters, gastric lesions, oxidative stress parameters and serum biochemical parameters in extract-treated groups as compare to their respective control groups ( $p < 0.05$ - $p < 0.001$ ) were observed. **Conclusion:** results suggest that *M. oleifera* extract significantly prevented the dysfunctions induced by acute or chronic stressors.

**KEYWORDS:** *Moringa Oleifera*, Chronic Stress, Acute Stress, Antistress.

## INTRODUCTION

Stress is considered to be any condition (real or perceived) which results in perturbation of body's homeostasis.<sup>[1]</sup> Generally, it is accepted that Homeostasis is re-established by a complex repertoire of behavioral and physiological adaptive response of the organism. However, inadequate or excessive and/or prolonged activation of stress systems can disturb normal physiological and behavioral function.<sup>[2]</sup> This can lead to a range of adverse consequences such as peptic ulcer, chronic fatigue, metabolic disorder, hypertension, osteoporosis, diabetes, immunosuppression, reproductive and growth dysfunctions, behavior dysfunction (anxiety and depression) and reduced life expectancy. These consequences are due to the involvement of central nervous system, endocrine system and metabolic system.<sup>[3]</sup> Amphetamine, benzodiazepines, caffeine and anabolic steroids are the most widely used drugs by people to combat stress.<sup>[4]</sup> The incidence of toxicity and dependence had limited the therapeutic usefulness of these drugs. In fact, those drugs have not proved effective against chronic stress and induced adverse effects on immunity and behavior cognition.<sup>[5]</sup> Hence it is imperative to find out drugs with minimum side effect and effective adaptogenic activity.

*Moringa oleifera* is a plant of Indian origin but which is now widespread in Asia and Africa. It belongs to the Family Moringaceae with about 13 species.<sup>[6]</sup> It is commonly referred to as 'tree of life', 'miracle tree' or 'divine plant' due to its numerous nutritive, medicinal and industrial potentials.<sup>[7]</sup> Different parts of this plant contain a profile of important minerals, and are a good source of protein, vitamins,  $\beta$ -carotene, amino and various phenolic acids.<sup>[9]</sup> Various therapeutic potentials are also credited to different parts of the plant. It is reported to have antitumor, hepatoprotective, analgesic, antispasmodic, antipyretic, antiulcer, diuretic, hypotensive, hypolipidemic and antimicrobial activities. The leaves are widely consumed as a legume and used in traditional medicine in Africa in general and in Cameroon in particular. They are an excellent source of protein, metabolisable energy, vitamins (A, B, C, E), minerals, and contain the 10 amino acids essential to man.<sup>[9]</sup> *M. oleifera* leaves are used in traditional medicine to treat malnutrition, fever, headaches, nerve pain, diabetes and many other diseases.<sup>[10]</sup> This study is to investigate antistress effects of the aqueous leaves extract of *M. oleifera* in rats subjected to acute and chronic animal model of stress.

## METHODS

### Plant material and preparation of aqueous leaf extract of *M. oleifera*

The fresh leaves of *M. oleifera* were collected harvested from the North Region of Cameroon in December 2014 and identified in the National Herbarium (Yaoundé) where a voucher specimen No. 49178/HNC exist. The leaves were cleaned immediately after harvest, cut into small pieces, and dried in the shade for about 2 weeks. The dried material was ground into a powder using an electrical homogenizer (Zaiba®). The aqueous extract was prepared as described by Thilza *et al.*<sup>[11]</sup> 100g of ground plant material was macerated in 1.5 l of boiled distilled water for one hour. The mixture was filtered through Whatman filter paper N° 3 and the filtrate obtained was evaporated to dryness using a rotator evaporator at 45°C. The extract obtained (22.9% yield) was stored at 4°C. Extract solution was prepared in distilled water each time prior to experimentation.

**Phytochemical Tests:** Phytochemical tests for the major metabolites of the extract were performed using standard protocols.<sup>[12]</sup> The aqueous extract of *M. oleifera* was screened for the presence of biologically active compounds such as tannins, alkaloids, saponins, flavonoids, anthocyanins, phenols, quinones, coumarins, sterols, triterpenoids, glycosids and proteins. Based on the intensity of coloration, the lather or the precipitate formed during the test, secondary metabolite proportions were characterized as present (++) or weakly present (+) when the test result was positive, and absent (-) when the test result was negative.

**Animals:** Male albino rats of Wistar strain weighing 173-175 g were obtained from the Animal house of the National Institute of Youth and Sports in Yaoundé. They were placed in plastic cages in a room under standard Laboratory conditions (temperature 20 to 30°C, relative air humidity 45 to 55%, and 12/12 h light/dark cycle). The rats were fed with a basal diet and water ad libitum. The feed was a standard rat chow (National Veterinary Laboratory (LANAVET), Cameroon) composed of carbohydrates (52%), protein (22%), fat (6.5%), water (12%), ash (6%), and fiber (4.5%). The authorization for the use of laboratory animals in this study was obtained from the Cameroun National Ethics committee (Reg. No FWA-IRB00001954). The use, handling and care of animals were done in adherence to the European Convention (Strasbourg, 18.III.1986) for the protection of vertebrate animals used for experimental and other purposes (ETS-123), with particular attention to Part III, articles 7, 8 and 9. The animals were transferred to the laboratory at least 1 hour before the start of the experiment. The experiments were performed during the day (11:00-17:00hr).

**Animals grouping and experimental model for antistress activity**

After two weeks of acclimatization, fifty five rats were divided randomly into eleven groups of five rats each. Six groups were used to evaluate the effect of extract in acute stress model, and five remaining groups were used for the evaluation of chronic stress.

**Preparation of animals for the acute stress:** group 1: a non-stress control group (NSCG) in which rats were kept undisturbed, group 2: a stress control group (SCG) which received the vehicle (distilled water) only, group 3: positive control group (PCG) which receive diazepam (1mg/kg), three treatment groups (group 4, 5 and 6) which received 100, 200 and 400 mg/kg, respectively of *M. oleifera* extract orally once a day for 14 days.

**Preparation of animals for the chronic stress:** group 1: a stress control group (SCG) which received the vehicle (distilled water) only, group 2: positive control group (PCG) which receive diazepam (1mg/kg), three treatment groups (group 3, 4 and 5) which received 100, 200 and 400 mg/kg, respectively of *M. oleifera* extract orally once a day for 14 days.

The quantity of food and water consumed by each group of rats, as well as body weights were measured every two days during 2 weeks, between 11:00 AM and 12:00 AM before extract administration.

**Induction of acute stress:** Acute stress was induced by using the method earlier described by Takagi and Okabe<sup>[13]</sup> with some modifications. After the final extract treatment and following 48 hours of food (but not water) deprivation, test rats were given the extract (100, 200 and 400 mg/kg) by oral route while stress control and positive control rats received respectively the vehicle and diazepam (1mg/kg). Thirty minutes later, the rats were placed in small individual wire cages (4.5×4.5×18 cm) and immersed in cold water (20±1°C), up to the level of the xiphoid for 6 hours. The rats were then removed from the cages, dried with a paper towel, and were prepared for the open field test.

**Induction of chronic stress:** Chronic stress was induced by using the method described earlier by Burzing *et al.*<sup>[14]</sup> with some modifications. One hour after treatments rats of the extract-treated, normal and positive control groups were subjected to the weight loaded force swimming every alternate day for a period of 14 days. Each animal was supplied with a constant load (corresponding to 5% of the body weight) tagged to the tail, and placed individually in a swimming pool (90cm×45cm×45cm), filled with water to a depth of 35 cm,

and maintained at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Exhaustion was determined by observing loss of coordinated movements and failure to return to the surface within 10sec. The rats were then removed from the pool, dried with a paper towel, and returned to their original cages. The pool water was replaced after each session. Briefly after the last swimming session and following 48 hours of food (but not water) deprivation, test rats were given the extract (100, 200 and 400 mg/kg) by oral route while stress control and positive control rats received respectively the vehicle and diazepam (1mg/kg). Thirty minutes later, the rats were placed in small individual wire cages ( $4.5 \times 4.5 \times 18$  cm) and immersed in cold water ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ), up to the level of the xiphoid for 6 hours. The rats were then removed from the cages, dried with a paper towel, and were prepared for the open field test.

**Open field test:** One hour after cold restraint stress, animals of all groups were submitted to open field test as described by Belzung.<sup>[15]</sup> The rats were individually placed at the center of a clean open field apparatus ( $40 \times 40 \times 15$  cm, divided into 25 squares), and the activity of each was video-recorded for 5 minutes and analyzed later. The latency period (time in the center square), defecation, crossing (number of squares crossed indicating spontaneous locomotor activity), grooming and rearing (exploratory activity) for individual rat were scored. The arena was cleaned after each test using a 70% v/v ethanol. Animals were then sacrificed using ether blood samples were taken into sterile tubes and serum was prepared (centrifuging at 3000 rpm for 10 min) for the analysis of blood glucose, triglycerides concentration and blood urea nitrogen. The stomachs were removed for the assessment of lesion formation and mucus production. The sum of length (mm) of all lesions for each stomach was used as the ulcer index (UI), and the inhibition percentage was calculated by the formula: Inhibition (%) = [(UI control - UI treated) / UI control]  $\times$  100. Stomach samples were also preserved frozen awaiting measurement of antioxidant parameters.

**Mucus production assessment:** The mucus covering of each stomach was gently scraped using a glass slide and the mucus weighed carefully using a sensitive digital electronic balance. The same experimenter performed this exercise each time.

**Measurement of antioxidant status in stomach:** Gastric tissue sample (1g of each) obtained from the experimental animals were homogenized in 4 ml of Tris/HCl. The tissue homogenates were centrifuged at 4000g for 15 min at  $4^\circ\text{C}$  and the supernatants were assessed for the antioxidant status. Lipid peroxidation (the level of thiobarbituric acid reactive substances in terms of Malondialdehyde (MDA)) was measured as described previously<sup>[16]</sup>,

and total glutathione (GPx) content was measured according to the method of Ellman.<sup>[17]</sup> Catalase (CAT) activity was measured according to the method of Sinha.<sup>[18]</sup> Superoxide dismutase (SOD) activity was measured using the pyrogallol autoxidation method.<sup>[19]</sup>

**Measurement of Serum Biochemical Parameters:** The serum levels of glucose were estimated using a glucometer (Reader Accu-CHEK®Active). Levels of BUN were measured using a colorimetric and enzymatic method (Bioassay System, CA Kit) and triglyceride concentrations were measured using a commercial kit for measurement of triglycerides in serum or plasma (Enzymatic Trinder Method).

#### Statistical analysis

Statistical analysis was done by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Dunnett's test for multiple comparisons and P values less than 0.05 were considered as significant. The results are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (SEM).

### RESULTS AND DISCUSSION

The present study was undertaken to evaluate the antistress effects of the aqueous leaves extract of *M. oleifera* in rats. To achieve this objective, rats were subjected to acute and chronic animal model of stress for 14 days, after which behaviors scored, gastric lesions, oxidative stress parameters in stomach and serum biochemical parameters were evaluated. The preliminary phytochemical screening carried out on the aqueous extract of *M. oleifera* revealed the presence of many phytoconstituents. These included, phenols, tannins, sugars and amino acids (+++), proteins, glycosides and flavonoids (++), alkaloids, acids, Oils, sterols and triterpenoids (+), coumarins, quinines, anthocyanins, saponins and resins (-) were absent. The administration of *M. oleifera* extract had no significant effect on body weight (Figure 1), food and water intake (Table 1) as compared to respective SCG ( $p > 0.05$ ) in acute and chronic stress model. Similar results have been obtained in previous research which tested antifatigue and anti-oxidant properties of *M. oleifera* aqueous extract.<sup>[9]</sup>

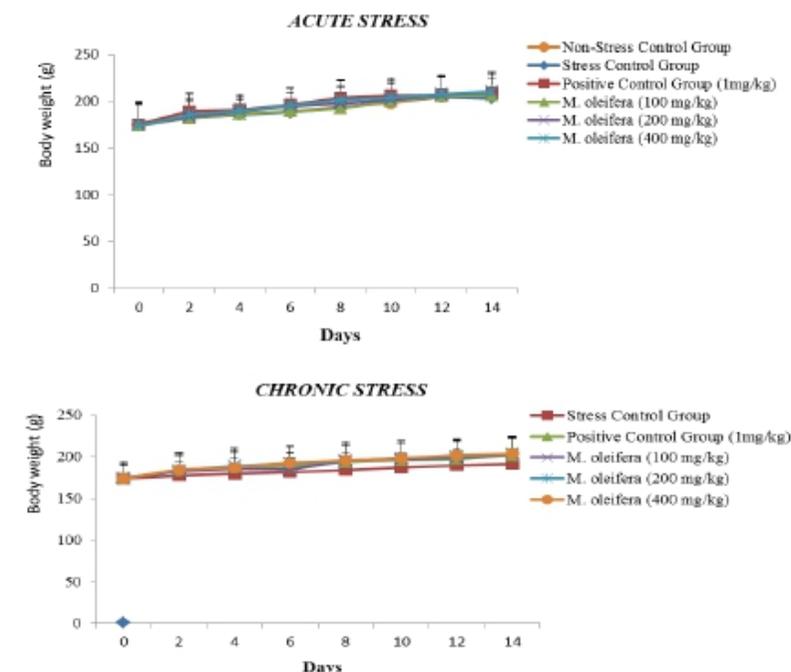
**Table. 1:** Effect of *M. oleifera* extract on food (g/group/week) and water (ml/group/week) intake in rats.

Acute stress				
Treatment	Food intake (ml/group/week)		Water intake (ml/group/week)	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
	NSCG	184.87±5.52	186.04±6.24	162.15±5.42
SCG	187.72±4.36	188.33±9.50	159.12±7.16	185.33±3.51
PCG	193.67±6.66	201.33±8.50	164.24±6.24	194.67±3.51
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	190.33±4.93	193.67±6.03	168.77±6.24	187±7.81
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	194.67±4.73	200.67±9.61	167.67±5.86	193.41±7.22
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	194.67±8.14	193.67±6.35	162.67±7.50	188.33±9.50

Chronic Stress				
Treatment	Food intake (ml/group/week)		Water intake (ml/group/week)	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
	SCG	176.29±6.68	179.00±7.94	165.34±7.50
PCG	177.31±2.31	183.18± 4.36	172.10±4.36	178.14±4.00
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	179.33±3.79	180.44±7.06	160.37±6.81	174.00±9.64
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	180.67±5.51	184.11±6.24	162.33±8.08	179.41±7.50
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	178.52±8.90	175.15±3.46	179.17±10.69	183.01±11.04

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 5$ . NSCG= Non-Stress Control Group, SCG= Stress Control Group, PCG= Positive Control Group treated with Diazepam (1mg/kg).



**Figure 1:** Body weight change of the rats subjected to acute and chronic stress Data are presented as mean ± SEM,  $n = 5$ .

Open field test were used to evaluate some behavioral parameters (latency period, defecation, crossing, grooming and rearing) in rats subjected to acute and chronic stress model. As shown in table 2, results indicated significant modifications of behavioral parameters in extract-treated groups as compare to their respective control groups ( $p < 0.05$ - $p < 0.001$ ). Defecation, grooming and latency period of the SCG were significantly lower than those of extract-treated groups and PCG in both acute and chronic stress model ( $p < 0.01$ - $p < 0.001$ ). However, significant increase was observed in the number of crossing and rearing of SCG as compare with extract-treated groups and PCG in both acute and chronic stress model ( $p < 0.05$ - $p < 0.001$ ). Those modifications indicate an antistress effect of *M. oleifera* extract in rats subjected to acute or chronic stress model. Similar results were reported by Das *et al.*<sup>[20]</sup> In fact, those authors postulated that stress is involved in behavioral changes like anxiety because of an involvement of the central nervous system and the endocrine system.

**Table. 2: Effect of *M. oleifera* extract on behaviors scored in the rat subjected to acute and chronic stress.**

<i>Acute Stress</i>					
Treatment	Defecation (g)	Latency period (sec)	Crossing	Grooming	Rearing
NSCG	0.24±0.05***	3.36±0.97***	47.36±6.14***	1.54±0.96***	20.38±4.52***
SCG	0.92±0.11	13.80±1.92	14.44±5.73	6.60±1.52	5.21±1.30
PCG	0.23±0.06***	3.24±0.71***	44.80±5.80***	1.60±0.89***	10.40±1.14**
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	0.29±0.06***	5.31±1.30***	23.40±5.94	3.03±0.70***	6.82±1.09
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	0.22±0.07***	4.60±0.88***	31.40±5.81***	2.11±1.14***	9.20±1.30*
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	0.36±0.09***	4.12±1.19***	35.32±4.61***	1.69±0.55***	8.81±1.92
<i>Chronic Stress</i>					
Treatment	Defecation (g)	Latency period (sec)	Crossing	Grooming	Rearing
SCG	0.48±0.11	11.60±3.36	19.00±7.97	4.05±1.58	6.20±2.17
PCG	0.27±0.06***	3.85±1.64***	33.28±4.38**	2.15±1.0	15.40±1.34***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	0.31±0.06**	5.84±1.64***	24.60±7.24	3.22±1.21	14.80±1.48***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	0.24±0.07***	4.32±2.17***	30.46±5.76*	3.12±0.89	17.40±1.14***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	0.26±0.09***	4.66±1.14***	37.44±6.27***	2.83±1.02	19.80±1.92***

Each value represents the mean  $\pm$  SEM,  $n = 5$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  compared with their respective SCG (Stress Control Group). NSCG= Non-Stress Control Group, PCG= Positive Control Group treated with Diazepam (1mg/kg).

Antistress agents have been shown to effectively work by reducing ulceration and increasing gastric mucus.<sup>[21]</sup> Several mechanisms were developed to explain the protecting effect of those extracts on stomach damages induced by stressors. Literature shows that during stress,

reduction of prostaglandin I<sub>2</sub> and prostaglandin E<sub>2</sub> production in gastric mucosa were observed.<sup>[22]</sup> Prostaglandins play important roles in the regulation of gastric mucosal integrity. In fact, a reduction of these compounds leads to decreases in mucus synthesis and mucosal blood flow resulting in the susceptibility of gastric mucosa to gastric acid and noxious factors.<sup>[23]</sup>

**Table 3: Effect of *M. oleifera* extract on gastric ulceration and secretion induced by acute and chronic stress.**

<i>Acute Stress</i>					
Treatment	Ulcerated Surface (mm <sup>2</sup> )	% of Ulcerated Surface	Ulcer Index	Inhibition (%)	Gastric mucus (mg)
NSCG	-	-	-	-	270.57±5.33
SCG	48±10.52	7.11±1.56	9.8±0.45	-	257.46±4.57
PCG	6.7±4.09***	1.05±0.23***	3.4±1.14***	65.31	266.58±7.41*
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	18.3±6.96***	2.71±1.03***	6.2±1.30***	36.73	259.65±3.08
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	11.7±7.02***	1.73±1.04***	4.8±1.48***	51.02	278.02±4.72***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	10.5±5.69***	1.56±0.84***	4.6±1.14***	53.06	284.31±5.88***
<i>Chronic Stress</i>					
Treatment	Ulcerated Surface (mm <sup>2</sup> )	% of Ulcerated Surface	Ulcer Index	Inhibition (%)	Gastric mucus (mg)
SCG	50.60±12.22	7.50±1.81	9.80±0.45	-	237.46±4.57
PCG	7.00± 3.24***	1.04± 0.48***	3.60±0.55± ***	63.26	264.33±8.67***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	11.91±5.22***	1.76± 0.77***	4.80±0.84***	51.02	245.96±6.41
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	11.50± 4.36***	1.70± 0.65***	4.83±0.84***	51.02	276.87±7.95***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	10.92± 2.61***	1.61± 0.39***	4.62±0.55***	53.06	278.63±5.64***

Each value represents the mean ± SEM, n = 5. \*P<0.05 and \*\*\*P< 0.001 compared with SCG (Stress Control Group). NSCG= Non-Stress Control Group, PCG= Positive Control Group treated with Diazepam (1mg/kg).

Results of the effect of *M. oleifera* extract on gastric lesion formation and mucus production in rats subjected to acute and chronic stress model are shown in Table 3. Exposure to stress led to increases in Ulcer Index and decreases in mucus production of SCG compared with those of NSCG (p<0.001). Administration of extract shown, in acute stress model, significant and dose-related reduced of Ulcer Index from 9.8±0.45 in SCG to 6.2±1.30, 4.8±1.48 and 4.6±1.14 in *M. oleifera* 100, 200 and 400 mg/kg respectively (p<0.001). However, treatment with the extracts resulted in significant (p<0.001) and dose-dependent increases in gastric mucus ranging from 257.46±4.57 mg in SCG to 259.65±3.08, 278.02±4.72 and 284.31±5.88 mg in *M. oleifera* 100, 200 and 400 mg/kg respectively. Similar results were obtained in chronic stress model with Ulcer Index reducing from 9.80±0.45 in SCG to 4.80±0.84,

4.83±0.84 and 4.62±0.55 in *M. oleifera* 100, 200 and 400 mg/kg respectively. In the same way, the gastric mucus significantly and dose-dependently increased from 237.46±4.57 mg in SCG to 245.96±6.41, 276.87±7.95 and 278.63±5.64 mg in *M. oleifera* 100, 200 and 400 mg/kg respectively. These results indicated that *M. oleifera* extract had a protective effect against acute and chronic stressors by preventing reduction in prostaglandins and mucus content of gastric mucosa. In addition, phenols and flavonoids which were found in significant quantities in the extract, are natural plant substances with well-known preventive antioxidant and antiulcer activities.<sup>[24]</sup> These compounds most likely inhibit gastric mucosal injury by scavenging stress-generated oxygen metabolites.<sup>[25]</sup>

Earlier studies have shown that exposure to stress conditions can stimulate numerous pathways leading to an increased production of free radicals.<sup>[26]</sup> These radicals generate a process, producing lipid peroxidation, protein oxidation, DNA damage, and cell death, and they contribute to the occurrence of pathological conditions. MDA is one of the degradation products in the lipid peroxidation process.<sup>[27]</sup> Peroxidation is an important indicator of oxidative stress that results from degradation of cell membrane by free radicals. As shown in table 4, MDA concentrations in extract-treated groups and PCG were significantly lower ( $p<0.001$ ) as compared with the SCG in both acute and chronic stress model. This result indicated that *M. oleifera* extract possessed antiperoxidation capacity and prevent generation of gastric ulcer caused by acute and chronic stress. Stress conditions may also impair the antioxidant defense system, leading to oxidative damage, by changing the balance between oxidant and antioxidant factors. Enzymatic antioxidant systems, such as GPx, SOD, and CAT, are important in scavenging free radicals and their metabolites.<sup>[28]</sup> The improvement in the activities of these defense mechanisms can help to fight against stress. Table 4 shown stomach antioxidant parameters in rats subjected to acute and chronic stress. In both stress model, exposure to stress led to decreases in the activities of SOD, GPx, and CAT in stomach of SCG compared with those of NSCG ( $p<0.001$ ). These effects were significantly ( $p<0.001$ ) attenuated following *M. oleifera* extract and diazepam treatment. These results indicated that antistress effect of *M. oleifera* extract probably occurs through modifying activities of several antioxidant defenses. These results are in accordance with our previous study which demonstrated antioxidant effects of this extract in rats subjected to acute fatigue.<sup>[9]</sup>

**Table. 4: Effect of *M. oleifera* extract on stomach antioxidant parameters in rats subjected to acute and chronic stress.**

<i>Acute Stress</i>				
Treatment	SOD (U/mg protein)	GPx ( $\mu\text{mol/mg}$ of protein)	CAT (U/mg protein)	MDA ( $\mu\text{mol/cm/g}$ )
NSCG	8.26 $\pm$ 1.12**	3.20 $\pm$ 0.41**	4.17 $\pm$ 0.31**	7.20 $\pm$ 1.48***
SCG	11.53 $\pm$ 0.77	1.64 $\pm$ 0.11	5.83 $\pm$ 0.54	30.08 $\pm$ 3.05
PCG	25.49 $\pm$ 1.08***	4.42 $\pm$ 0.85***	13.77 $\pm$ 1.05***	13.89 $\pm$ 2.11***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	18.64 $\pm$ 2.16***	5.06 $\pm$ 1.00***	7.91 $\pm$ 0.57***	13.70 $\pm$ 1.96***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	20.37 $\pm$ 1.17***	3.81 $\pm$ 0.32***	9.64 $\pm$ 0.83***	16.86 $\pm$ 1.35***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	24.50 $\pm$ 0.94***	4.51 $\pm$ 0.61***	11.46 $\pm$ 1.02***	15.92 $\pm$ 1.09***
<i>Chronic Stress</i>				
Treatment	SOD (U/mg protein)	GPx ( $\mu\text{mol/mg}$ of protein)	CAT (U/mg protein)	MDA ( $\mu\text{mol/cm/g}$ )
SCG	10.44 $\pm$ 0.58	2.32 $\pm$ 0.16	4.33 $\pm$ 0.19	27.55 $\pm$ 4.16
PCG	22.03 $\pm$ 2.15***	4.81 $\pm$ 0.67***	10.22 $\pm$ 0.97***	11.47 $\pm$ 1.91***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	18.21 $\pm$ 1.69***	3.71 $\pm$ 0.46***	6.43 $\pm$ 0.81***	11.03 $\pm$ 0.98***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	21.71 $\pm$ 1.87***	3.94 $\pm$ 0.30***	10.44 $\pm$ 0.72***	12.14 $\pm$ 1.04***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	20.10 $\pm$ 1.13***	4.18 $\pm$ 0.59***	10.11 $\pm$ 0.88***	10.17 $\pm$ 0.73***

Each value represents the mean  $\pm$  SEM,  $n = 5$ . \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  compared with their respective SCG (Stress Control Group). NSCG= Non-Stress Control Group, PCG= Positive Control Group treated with Diazepam (1mg/kg).

Stress situations is also link to plasma cortisol increase which mobilize stored fat and carbohydrate reserves and turn increases blood glucose, total protein, urea, cholesterol and triglyceride levels.<sup>[29]</sup> In fact, the major neural pathways activated by stressors are the Sympathetic nervous system and Hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis. This activation lead to increase in corticotrophin releasing hormone (CRH) secretion and this stimulates the anterior pituitary to secrete adrenocorticotropin hormone (ACTH) into the systemic circulation.<sup>[30]</sup> ACTH acts on the adrenal cortex to stimulate the synthesis and release of cortisol. Cortisol influences the mobilization of stores fat and carbohydrate reserves which in turn increased blood glucose level, triglycerides level and urea level.<sup>[31]</sup> Antistress agents were known to reverse increased cortisol level, blood glucose level, triglyceride level and urea level.<sup>[32]</sup> Serum biochemical parameters in rats subjected to acute and chronic stress are presented in Table 5. There were significant decreased ( $p < 0.001$ ) in blood glucose, urea and triglyceride levels in extract-treated groups and PCG compared to their respective SCG. These results indicated that antistress effect of *M. oleifera* extract probably occurs through regulation of the metabolism of glucose, proteins and lipids.

**Table. 5: Effect of *M. oleifera* extract on serum biochemical parameters in rats subjected to acute and chronic stress.**

<i>Acute Stress</i>			
Treatment	Glycemia (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)
NSCG	76.61±5.42***	14.63±3.11***	52.84±7.12***
SCG	142.26±11.34	43.39±7.22	137.94±13.57
PCG (1mg/kg)	82.06±9.31***	17.57±4.72***	51.13±6.04***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	112.71±13.51***	22.48±5.66***	77.08±7.31***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	91.88±8.66***	18.93±3.81***	80.44±8.65***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	85.55±6.74***	19.02±6.10***	55.78±6.93***
<i>Chronic Stress</i>			
Treatment	Glycemia (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)
SCG	156.37±9.74	40.90±6.17	129.34±10.47
PCG (1mg/kg)	88.54±8.27***	18.53±2.36***	38.66±4.49***
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	93.28±7.19***	21.82±4.62***	59.43±6.19***
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	80.35±8.03***	18.01±2.71***	64.33±7.08***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	79.64±7.55***	15.21±3.51***	65.84±5.10***

Each value represents the mean ± SEM,  $n = 5$ . \*\*\* $P < 0.001$  compared with their respective SCG (Stress Control Group). NSCG= Non-Stress Control Group, PCG= Positive Control Group treated with Diazepam (1mg/kg).

## CONCLUSION

All results indicated that the administration of leaf aqueous extract of *M. oleifera* could significantly prevented the dysfunctions induced by acute or chronic stressors. The underlying mechanisms responsible for the antistress effect of *M. oleifera* extract involves mainly the modulation of oxidative stress and the regulation of the metabolism of glucose, proteins and lipids. These results suggest that *M. oleifera* extract has significant health benefits due to its antistress activity, which provided scientific evidence for further development of natural products for prevention and treatment of diseases related to stress conditions.

## REFERENCES

1. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. Nature Reviews Endocrinology, 2009; 5: 374-381.
2. Desai SK, Desai SM, Navdeep S, Arya P, Pooja T. Antistress activity of Boerhaavia diffusa root extract and polyherbal formulation containing Boerhaavia diffusa using cold restraint stress model. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2011; 3: 130-132.

3. Koppula S, Kapoli SR, and Srcemantula S. Adaptogenic and nootropic activities of aqueous extract of *Carum carvi* Linn (caraway) fruit: an experimental study in Wistar rats. *Australian Journal of Medical Herbalism*, 2009; 21: 72-73.
4. Piazza PV, Lemoal M. The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacological Sciences*, 1998; 19: 67-74.
5. Vinod PS, Shivakumar H. A current status of adaptogens: natural remedy to stress. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2012; S480-S490.
6. Foidl N, Makkar HPS, Becker K. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: L. J. Fuglie, Eds., *The Miracle Tree: Multiple Attributes of Moringa*, CTA/CWS, 2001; 45-76.
7. Fuglie LJ. Nutrition naturelle sous les tropiques. In L. J. Fuglie (éd.) *L'arbre de la vie : les multiples usages du Moringa*. CTA et CWS, 2002; 105-118.
8. Farooq A, Sajid L, Muhammad A, Anwarul HG. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 2007; 21: 17-25.
9. Lamou B, Sotoing TG, Hamadou A, Abene, Houlay J, Mey AM, Vernuy TP. Antioxidant and antifatigue properties of the aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats subjected to force swimming endurance test. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016; 1-9.
10. Ndong M, Wade S, Dossou N, Guiro AT, Gning RD. Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development*, 2007; 7(3): 1-17.
11. Thilza IB, Sanni S, Zakari AI, Sanni FS, Muhammed T, Musa BJ. In vitro antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases. *Academia Arena*, 2010; 2(6): 80-82.
12. Bruneton J. *Photochemistry and Pharmacology of Medicinal plants: Techniques*. 2<sup>nd</sup> edition. Lavoisier, 1993, pp. 309-320.
13. Tagaki K, Okabe S. The effects of drugs on the stress ulcer in rat. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1968; 18: 9-18.
14. Burgin ABJ, Gonzalez C, Matulic-Adamic J, Karpeisky AM, Usman N, McSwiggen JA, Beigelman L. Chemically modified hammerhead ribozymes with improved catalytic rates. *Biochemistry*, 1996; 35(45):14090-14097.
15. Belzung C. Measuring rodent exploratory behavior. *Handbook of Molecular-Genetic techniques*. *Brain and Behavioral Research*, 1999; 11: 738-749.

16. Wilbur KM, Bernheim F, Shapiro OW. The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1949; 24: 305-313.
17. Ellman GL. Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1959; 82: 70-77.
18. Sinha AK. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 1972; 47(2): 389-394.
19. Misra HP, Fridovich I. Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven*, 1972; 1: 101-109.
20. Das A, Rai D, Dikshit M, Palit G, Nath C. Nature of stress: differential effects on brain acetylcholinesterase activity and memory in rats. *Life Sciences*, 2005; 77(18): 2299-2311.
21. Bagchi D, Carryl OR, Tran MX, Bagchi M, Garg A, Milnes MM. Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal mucosal injury in rats and protection by bismuthsalicylate. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1999; 196: 109-116.
22. Harada N, Okajima K, Murakami K, Isobe H, Liu W. Gastric prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) prevents stress-induced gastric mucosal injury in rats primarily by inhibiting leukocyte activation. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 1999; 57: 291-303.
23. Debnath S, Biswas D, Ray K, Guha D. *Moringa oleifera* induced potentiation of serotonin release by 5-HT (3) receptors in experimental ulcer model. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 2011; 18(2-3): 91-95.
24. Abdulla MA, AL-Bayaty FH, Younis LT, Abu Hassan MI. Antiulcer activity of *Centella asiatica* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Journal of Medicinal Plant Research*, 2010; 4(13): 1253-1259.
25. Shetty BV, Arjuman A, Jorapur A, Samanth R, Yadav SK, Valliammai N, Tharian AD, Sudha K, Rao GM. Effect of extract of *Benincasa hispida* on oxidative stress in rats with indomethacin-induced gastric ulcers. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2008; 52(2): 178-182.
26. Carnevale G, Zanolini P, Zavatti M, Baraldi M. Further evidence of the antiulcer activity of IAC, a novel free radical scavenger. *Pharmacology*, 2011; 88(3-4): 133-136.
27. Ding J-F, Li Y-Y, Xu J-J, Su X-R, Gao X, Yue F-P. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and antioxidation. *Food Hydro-colloids*, 2011; 25(5): 1350-1353.
28. De-Faria FM, Almeida AC, Luiz-Ferreira A, Takayama C, Dunder RJ, Da Silva MA, Salvador MJ, Abdelnur PV, Eberlin MN, Vilegas W, Toma W, Souza-Brito AR. Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by

- absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. *Scientific World Journal*, 2012; 327071.
29. Sapolsky RM, Romero LM, Munck. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrinology Review*, 2000; 1(1): 55-89.
30. Diane A, Victoriano M, Fromentin G, Tome D, Larue-Achagiotis C. Acute stress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite*, 2008; 50: 397-407.
31. Lakshmi BVS, Sudhakar M. Attenuation of acute and chronic restraint stress-induced perturbations in experimental animals by *Zingiber officinale* Roscoe. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48(2): 530-535.
32. Meera S, Mustafa SS. Antistress, adaptogenic and immunopotentiating activities of roots of *Berberis diffusa* in mice. *International Journal of Pharmacology*, 2007; 3: 416-420.



Original Research Article

doi: <https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2019.609.005>

## Adaptogenic effects of the leaves aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats

Bonoy Lamou<sup>1, 2\*</sup>, Ebal Minye Edmond<sup>2</sup>, Mbouh Samuel<sup>2</sup>, Hamadou André<sup>2</sup>  
and Tan Vernyuy Paul<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I,  
P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>2</sup>Department of Physical Activities Biology and Sport Education, National Institute of Youth and Sports,  
P. O. Box 1016, Yaoundé, Cameroon

\*Corresponding author; e-mail: lamoukessi007@yahoo.com

### Article Info

Date of Acceptance:  
18 August 2019

Date of Publication:  
06 September 2019

### Keywords

Adaptations  
Antioxidant  
Aqueous extract  
Endurance capacity  
*Moringa oleifera*

### ABSTRACT

The present study was undertaken to elucidate the mechanism responsible for the adaptogenic effects of the leaves aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats. Thirty two male Wistar rats weighing 154 g were used. Four groups of rats (8 rats per group) were fed a standard laboratory diet with or without the *M. oleifera* extract (0, 100, 200 and 400 mg/kg body weight) for 14 days. The control group rats received distilled water. Rats were allowed for swimming exercise, with a load (10% of body weight) attached to the tail, every alternate day for a period of 14 days and swimming time of each session was recorded immediately. After the last training session, glycaemia, lactatemia, uraemia, triglyceridemia, hepatic and muscle glycogen, oxidative stress parameters (superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, malondialdehyde) and hematological parameters were measured. Results shown that extract of *M. oleifera* ameliorated endurance capacity of rats by an increase in the swimming time, blood hemoglobin, red blood cells, white blood cells, hepatic and muscle glycogen reserves and the activity of antioxidant enzymes. Furthermore, the extract decreased blood concentrations of malondialdehyde, lactate, triglycerides and urea. These results also confirm that 200 mg/kg is the optimum dose with anti-fatigue activity.

### Introduction

Intense exercise can be sustained for only a few minutes before the force and motion generating capacity of skeletal muscle is severely compromised, a phenomenon which defines fatigue (You et al., 2011). Fatigue causes various disorders in relation to bio-regulatory, autonomic nervous, endocrine and immune system. The fatigue experienced by athletes in training and

competition is a necessary part of the adaptive process (Ferrauti et al., 2003). The stressful components of training and competition may temporarily impair an athlete's performance (Barnett, 2006). This impairment may be transitory, lasting minutes or hours after training or competition, or lasting for a longer period, up to several days. Short-term impairment results from metabolic disturbances following high-intensity exercise (Westerblad et al., 2002).

For several years, nutritional strategies such as overfeeding and ingesting carbohydrates/proteins before and after exercise have been the foundation for enhancing exercise performance and muscular strength (Yi, 2000). Many athletes use a variety of dietary supplements in the belief that a specific drug will have a positive influence on skill, strength, power, or endurance (Piattoly, 2005). Some dietitians and exercise scientists believe that an adequate diet which meets the recommended dietary allowance (RDA) for macronutrients, vitamins and minerals, is sufficient to achieve top performance. However, other experts believe that supplementation is necessary to restore specific nutrient, vitamin, or mineral levels that may be suppressed during prolonged or intense exercise.

*Moringa oleifera* (*M. oleifera*) is a plant of Indian origin which is now widespread in Asia and Africa. It belongs to the Family Moringaceae with about 13 species (Foidl et al., 2001). It is commonly referred to as 'tree of life', 'miracle tree' or 'divine plant' due to its numerous nutritive, medicinal and industrial potentials (Fuglie, 2001). Different parts of this plant contain a profile of important minerals, and are a good source of proteins, vitamins,  $\beta$ -carotene, amino and various phenolic acids (Lamou et al., 2016). Various therapeutic potentials are also credited to different parts of the plant. It is reported to have antitumor, hepatoprotective, analgesic, antispasmodic, antipyretic, antiulcer, diuretic, hypotensive, hypolipidemic and antimicrobial activities. The leaves are widely consumed as a legume and used in traditional medicine in Africa in general and in Cameroon in particular. They are an excellent source of protein, metabolisable energy, vitamins (A, B, C, E), minerals, and contain the 10 amino acids essential to man (Lamou et al., 2016). *M. oleifera* leaves are used in traditional medicine to treat malnutrition, fever, headaches, nerve pain, diabetes and many other diseases (Mall and Tripathi, 2017).

Studies have revealed the widespread use of plant extracts in many African countries for performance enhancement (Tallec, 2008). It is therefore important to develop efficient and safe plant-based anti-fatigue products that can enhance exercise performance without deleterious effects on the health of the users. Recently it has been reported that aqueous leaves extract from *M. oleifera* had acute effect on physical fatigue (Lamou et al.,

2016). However, the chronic effects of this plant on endurance capacity have not been demonstrated. In the present study, we investigated adaptogenic effects by administrating the aqueous leaves extract of *M. oleifera* to rats and then subjecting the animals to exercises in the form of swimming. Glycaemia, lactatemia, uraemia, triglyceridemia, hepatic and muscle glycogen, oxidative stress parameters (SOD, CAT, GPx and MDA), and hematological parameters were then measured.

## Materials and methods

### Plant material and preparation of aqueous leaf extract of *M. oleifera*

The fresh leaves of *M. oleifera* were harvested from the North Region of Cameroon in December 2014 and identified in the National Herbarium (Yaoundé) where a voucher specimen No. 49178/HNC exist. The leaves were cleaned immediately after harvest, cut into small pieces, and dried in the shade for about 2 weeks. The dried material was ground into a powder using an electrical homogenizer (Zaiba®). The aqueous extract was prepared as described by Thilza et al. (2010). 100 g of ground plant material was macerated in 1.5 l of boiled distilled water for one hour. The mixture was filtered through Whatman filter paper No. 3 and the filtrate obtained was evaporated to dryness using a rotator evaporator at 45°C. The extract obtained (22.9% yield) was stored at 4°C. Extract solution was prepared in distilled water each time prior to experimentation.

## Animals and grouping

### Animals

Male albino rats of Wistar strain weighing 154 g were obtained from the Animal house of the National Institute of Youth and Sports in Yaoundé. They were placed in plastic cages in a room under standard laboratory conditions (temperature 20 to 30°C, relative air humidity 45 to 55%, and 12/12 h light/dark cycle). The rats were fed with a basal diet and water *ad libitum*. The feed was a standard rat chow (National Veterinary Laboratory (LANAVET), Cameroon) composed of carbohydrates (52%), protein (22%), fat (6.5%), water (12%), ash (6%), and fiber (4.5%). The authorization for the use of laboratory animals in

this study was obtained from the Cameroun National Ethics committee (Reg. No FWA-IRB00001954). The use, handling and care of animals were done in adherence to the European Convention (Strasbourg, 18.III.1986) for the protection of vertebrate animals used for experimental and other purposes (ETS-123), with particular attention to Part III, articles 7, 8 and 9. The animals were transferred to the laboratory at least 1 hour before the start of the experiment. The experiments were performed during the day (11:00-17:00 h).

### **Animal grouping**

After two weeks of acclimatization, thirty two rats were divided randomly into four groups of eight rats each: group 1: a control group which received the vehicle (distilled water) only, and three treatment groups (group 2, 3 and 4) which received 100, 200 and 400 mg/kg, respectively, of *M. oleifera* extract orally once a day for 14 days. The quantity of food and water consumed by each group of rats, as well as body weights were measured every two days during 14 days, between 11:00 AM and 12:00 AM before extract administration.

### **Weight loaded force swimming Test**

The weight loaded force swimming test was performed as describe previously (Qi et al., 2014) but with some modifications. The rats of the extract-treated and control groups were allowed for swimming exercise every alternate day for a period of 14 days. Each animal was supplied with a constant load (corresponding to 10% of the body weight) tagged to the tail, and placed individually in a swimming pool (90cm × 45cm × 45cm), filled with water to a depth of 35 cm and maintained at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Exhaustion was determined by observing loss of coordinated movements and failure to return to the surface within 10 sec and swimming time was recorded immediately. The rats were then removed from the pool, dried with a paper towel, and returned to their original cages. The pool water was replaced after each session. After the last training session, the rats were rested for an hour and then sacrificed (under ether anesthesia) by cutting through the jugular vein. Blood samples were taken into sterile tubes and serum prepared (centrifuging at 3000 rpm for 10 min) for the

analysis of blood glucose (Glu), triglycerides concentration (TG), blood lactic acid (BLA) and blood urea nitrogen (BUN). Another part of blood collected into bottles containing EDTA as anticoagulant was used to determine blood cell count. Vital body organs (spleen, fatty mass, heart, lungs, brain, kidneys and testicles) were cleaned using 0.9% saline and then weighed using a sensitive electronic balance. Tissue samples of liver and gastrocnemius muscle were taken and stored frozen at  $-20^\circ\text{C}$  awaiting determination of glycogen and antioxidant status parameters.

### **Measurement of serum biochemical parameters and blood cell count**

Blood cell count in all rat groups was measured using a blood analyzer (Hospitex Diagnostic Hema Screen 18). The serum levels of glucose were estimated using a glucometer (Reader Accu-CHEK® Active). Blood lactic acid concentrations and levels of BUN were measured using an L-lactate assay kit (Abcam 65331 L-Lactate assay kit) and a colorimetric and enzymatic method (Bioassay System, CA Kit), respectively. Triglyceride concentrations were measured using a commercial kit for measurement of triglycerides in serum or plasma (Enzymatic Trinder Method).

### **Measurement of tissue glycogen**

Liver and muscle glycogen contents were measured calorimetrically using anthrone reagent (Chun and Yin, 1998). Briefly, after hydrolysis of the liver and gastrocnemius muscle samples in 30% KOH at  $100^\circ\text{C}$  for 30 min, 1.5 ml of anhydrous ethanol was added to the vials. After centrifugation at  $4000 \times g$  for 15 min, the supernatants were discarded. 0.5 ml of distilled water and 1 ml of 0.2% anthrone were added, and the vials were placed in a boiling water bath for 20 min. The absorbance of the solution in vials was determined at 620 nm using a spectrophotometer (V-530, Jasco Co., Japan).

### **Measurement of antioxidant status in liver and gastrocnemius muscle**

The liver and gastrocnemius muscle tissue (1g of each) were homogenized in 4 ml of Tris/HCl. The tissue homogenates were centrifuged at  $4000 g$  for 15 min at  $4^\circ\text{C}$  and the supernatants were assessed for the antioxidant status. Lipid peroxidation (the

level of thiobarbituric acid reactive substances in terms of Malondialdehyde (MDA)) was measured as described previously (Wilbur et al., 1949), and total glutathione (GPx) content was measured according to the method of Ellman (1959). Catalase (CAT) activity was measured according to the method of Sinha (1972). Superoxide dismutase (SOD) activity was measured using the pyrogallol autoxidation method (Misra and Fridovich, 1972).

### Statistical analysis

Statistical analysis was done by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Dunnett's test for multiple comparisons and *P* values less than 0.05 were considered as significant. The results are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (SEM).

## Results

### Body weight, swimming time, food and water intake

Administration of *M. oleifera* extract did not bring about significant differences in food intake ( $P > 0.05$ ). Significant difference in water intake was observed at the 200 mg/kg dose (Table 1). The swimming exercise with 10% tail load was carried out for 14 days to evaluate swimming endurance capacity of rats. On day one, no significant difference in swimming time between control and extract-treated groups was observed ( $P > 0.05$ ). However, it was observed that the swimming time was significantly increased from day 4 to the last day (day 14). Maximum swimming time was recorded on day 14 with the 200 mg/kg dose ( $587.50 \pm 51.64$  seconds) compared with the control group ( $217.75 \pm 46.64$  seconds) ( $P < 0.05$ ) (Fig. 1). We did not observe significant differences in final body weights (173-192g) (Fig. 2) following 14 days of the training program and administration of extract. Body weight gain ranged between 18.75 and 38.00 g for the four treatment groups.

### Relative organ weights and antioxidant status in liver and muscle

As shown in Table 2, *Moringa* extract (100 and 200 mg/kg, respectively) significantly increased relative heart weights ( $0.38 \pm 0.03$  and  $0.42 \pm 0.10\%$ ) and brain weights ( $0.91 \pm 0.14$  and  $0.99 \pm 0.19\%$ ) compared with the control group

( $0.29 \pm 0.04$  and  $0.70 \pm 0.07\%$ ) ( $P < 0.05$ ). Antioxidant Status in Liver and Muscle are presented in Table 3, MDA concentrations in liver and gastrocnemius muscle of rats treated with *Moringa* extract were significantly lower ( $P < 0.05$ ) compared with the controls. However, the activity of SOD, GPx and CAT in liver and gastrocnemius muscle of control rats were significantly higher ( $P < 0.05$ ) compared with the extract-treated groups.

### Hematological parameters

Hematological parameters of the rats measured post exercise are presented in Table 4. There were significant increases ( $P < 0.05$ ) in hemoglobin (Hb), percentage of Lymphocyte (% LYM), White Blood Cell (WBC), and Red Blood Cell (RBC) in rats given 200 mg/kg and 400 mg/kg of extract compared with the controls. On the contrary, the extract decreased percentage of Granulocyte (% GRA) in rats given 200 mg/kg of extract compared with the controls ( $P < 0.05$ ).

### Serum biochemical parameters

Serum biochemical parameters are shown in Table 5. Results show that after the last swimming exercise, blood glucose levels were not significantly higher ( $P > 0.01$ ) in the extract-treated groups compared with the controls. Blood lactate levels were significantly ( $P < 0.001$ ) reduced by extract treatment (38.55-53.83%) compared with the controls. In the same way, BUN concentrations of extract-treated rats (22.99-29.06 mg/dl) were significantly and dose-dependently lower ( $P < 0.05$ ) following the experimental swimming exercise compared with controls (35.75 mg/dl). *Moringa* extract-treated group had also, significantly lower TG levels (Table 5), which were 58-62% lower than those of control group ( $P < 0.01$ - $P < 0.001$ ).

### Muscle and hepatic glycogen

Following the swimming exercise, extract-treated rats at all dose levels maintained significantly higher concentrations of muscle and hepatic glycogen compared with the controls ( $P < 0.05$ ) (Table 6). Maximum value of liver ( $42.09 \pm 7.61$  mg/g) and muscle ( $5.05 \pm 1.28$  mg/g) glycogen were recorded in the 200 mg/kg group compared with the controls, ( $23.89 \pm 4.34$  mg/g and  $2.06 \pm 0.77$  mg/g for liver and muscle glycogen respectively).

**Table 1.** Effect of *M. oleifera* extract on food (g/group/week) and water (ml/group/week) intake in rats.

Food intake	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Week 1	343.00±60.85	333.33±22.81	315.67±59.09	333.33±44.74
Week 2	275.75±68.95	287.00±48.15	294.50±45.76	279.75±69.27
Water intake				
Week 1	241.67±5.86	251.33±6.03	<b>279.67±13.58*</b>	255.33±25.01
Week 2	240.50±9.15	254.75±15.59	<b>265.25± 9.50*</b>	243.50±9.29

Each value represents the mean ± SEM, n= 8. \*P < 0.05 compared with control group.

**Table 2.** Effect of *M. oleifera* extract on relative organ weights of the rats.

Organs (g)	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Liver	3.29±0.45	3.31±0.25	3.36±0.42	3.12±0.42
Lungs	0.79±0.22	0.89±0.25	1.11±0.32	0.83±0.23
Left kidney	0.29±0.06	0.31±0.05	0.35±0.11	0.29±0.07
Right kidney	0.28±0.05	0.32±0.04	0.33±0.03	0.32±0.06
Left testis	0.57±0.08	0.61±0.07	0.68±0.10	0.62±0.09
Right testis	0.58±0.11	0.63±0.06	0.67±0.10	0.62±0.12
Heart	0.29±0.04	<b>0.38±0.03*</b>	<b>0.42±0.10**</b>	0.35±0.06
Spleen	0.24±0.11	0.30±0.11	0.34±0.14	0.31±0.08
Brain	0.70±0.07	<b>0.91±0.14*</b>	<b>0.99±0.19***</b>	0.76±0.09
Fatty mass	1.01±0.20	1.02±0.21	1.18±0.28	1.06±0.22

Each value represents the mean ± SEM, n= 8. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 compared with control group.

**Table 3.** Effect of *M. oleifera* extract on rat hepatic and muscle antioxidant parameters.

Parameters	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Hepatic parameters				
SOD (U/mg protein)	29.90±2.65	33.05±2.51	<b>33.84±3.52*</b>	<b>34.10±3.71*</b>
MDA (µmol/g)	47.00±7.76	39.13±5.55	<b>33.80±7.58**</b>	<b>33.60±6.17**</b>
CAT (U/mg protein)	21.40±2.43	23.89±1.71	<b>25.53±1.87**</b>	<b>24.63±2.71*</b>
GPx (µmol/mg of protein)	2.40±0.50	<b>4.35±1.06**</b>	<b>4.82±1.55***</b>	<b>5.69±0.62***</b>
Muscle parameters				
SOD (U/mg protein)	5.85±0.89	<b>7.25±0.86*</b>	<b>7.60±1.23**</b>	<b>7.42±0.95*</b>
MDA (µmol/g)	30.08±5.05	<b>22.34±3.21**</b>	<b>18.92±3.52***</b>	<b>22.03±4.47**</b>
CAT (U/mg protein)	0.25±0.03	<b>0.29±0.02*</b>	<b>0.30±0.02**</b>	<b>0.29±0.03**</b>
GPx (µmol/mg of protein)	0.82±0.40	<b>2.90±1.17**</b>	<b>2.39±1.65*</b>	<b>3.71±0.87***</b>

Each value represents the mean ± SEM, n= 8. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 compared with control group.

**Table 4.** Effect of *M. oleifera* aqueous extract on hematological parameters.

Parameter	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
WBC×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	7.04±1.73	7.70±2.02	<b>9.94±0.92**</b>	<b>9.72±1.34**</b>
LYM×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1.76±0.60	2.46±0.96	<b>4.42±1.21***</b>	<b>3.88±1.16***</b>
MON×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0.88±0.22	0.87±0.23	0.90±0.22	0.94±0.30
GRA×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	4.40±1.47	4.37±1.31	4.71±1.47	5.03±0.76
%LYM (%)	25.34±7.42	31.36±8.53	<b>45.03±13.90***</b>	<b>39.19±7.20*</b>
%MON (%)	13.20±5.38	11.60±2.68	9.13±2.33	9.85±3.46
%GRA (%)	61.46±6.91	57.03±7.97	<b>46.75±12.25**</b>	52.14±8.07
RBC×10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5.30±0.77	5.63±0.55	<b>6.63±0.91**</b>	6.25±0.81
HCT (%)	34.39±2.44	37.31±2.15	38.59±4.39	39.23±5.71
Hb (g/dl)	12.04±1.08	13.06±0.81	<b>13.54±0.82*</b>	13.05±1.08
PLA×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	539.37±90.95	622.25±110.67	628.50±169.27	654.62±91.39

Each value represents the mean ± SEM, n= 8. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 compared with control group.

**Table 5.** Effect of *M. oleifera* extract on rat hepatic and muscle glycogen.

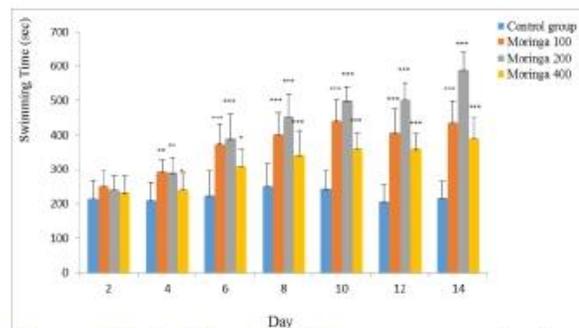
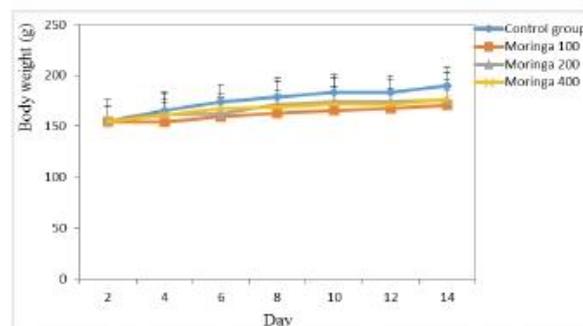
Groups	Glycogen content (mg/g)	
	Liver	Muscle
Control	23.89±4.34	2.06±0.77
<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	30.35±4.44	3.77±1.33*
<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	42.09±7.61***	5.05±1.28***
<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)	38.78±7.56***	4.62±1.05***

Each value represents the mean ± SEM, n = 8. \*P < 0.05 and \*\*\*P < 0.001 compared with control group.

**Table 6.** Effect of *M. oleifera* extract on rat serum biochemical parameters.

Parameters	Control	<i>M. oleifera</i> (100 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (200 mg/kg)	<i>M. oleifera</i> (400 mg/kg)
Glycemia (mg/dl)	157.12±41.39	170.25±29.35	132.37±35.42	157.62±26.75
Lactatemia (mmol/L)	26.25±1.91	15.50±1.77***	12.12±1.13***	16.13±1.46***
Urea (mg/dl)	35.75±6.90	29.06±5.63	23.47±5.04**	22.99±6.84***
Triglycerides (mg/dl)	157.29±25.57	61.24±7.42***	59.65±9.72***	64.44±10.46***

Each value represents the mean ± SEM, n = 8. \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 compared with control group.

**Fig. 1:** Effect of the *M. oleifera* aqueous extract on swimming time in rats. Data are presented as Mean ± SEM, n=8. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 compared with control group. Control group= rats treated with distilled water; *Moringa* 100, *Moringa* 200 and *Moringa* 400 group= rats treated with 100, 200 and 400 mg/kg of *M. oleifera* extract, respectively.**Fig. 2:** Body weight change of the rats during the experimentation. The value are expressed as Mean ± SEM, n=16. Control Group = rats treated with distilled water; *Moringa*100, *Moringa* 200 and *Moringa* 400 group = rats treated with 100, 200 and 400 mg/kg, respectively, of *M. oleifera* extract.

## Discussion

The present study explored the potential of leaves aqueous extract from *M. oleifera* to enhance physical endurance by facilitating recovery from fatigue and preventing various types of damages from exercise stress (adaptations). The weight-forced swimming test used in this work represents a valid animal model for screening anti-fatigue potency of various bioactive compounds (Hao et al., 2014). The data on swimming exercise showed that administration of *Moringa* extract extended the swimming time significantly (67.71 to 45.17% of amelioration from the first to the last session) and had no significant effect on body weight. Similar results have been reported by Prasad and Khanum (2012), on the anti-fatigue activity of the ethanolic extract of *Ocimum sanctum* in rats subjected to weight forced swimming test every alternate day for two weeks. In the present study, swimming exercise significantly increased relative heart and brain weights (P<0.05). Diet has a significant effect on brain and cardiovascular function (Mattson, 2000). Increase in relative organ weight (heart and brain) of rats during training session, resulting from administration of *Moringa* extract may indicate the improvement in the nutritional state of the animal. *Moringa* leaves have a long history as an herbal remedy, and nutritious addition to the diet (Mall and Tripathi, 2017). *Moringa* leaves are an excellent source of protein, and are rich in metabolisable energy, vitamins, minerals, fats, and contain the 10 amino acids essential to man (Oyeyinka and Oyeyinka, 2018).

Regular exercise training induces the endogenous anti-oxidative system and protects the body against adverse effects of oxidative damage (Belviranlı and Gökbel, 2006). Regular exercise has been shown to increase the activity of antioxidant enzymes. Evaluation of the long-term effects of exercise training showed that muscle content of reduced glutathione (GSH), a main substrate for GPx, increased and the glutathione disulfide ratio decreased during exercise training (Elokda and Nielsen, 2007). Endurance training also has been accompanied with higher activity of CAT and SOD (Terblanche, 2000). On the contrary, exercise training has been shown to decrease lipid peroxidation (MDA) in liver and muscle tissues (Alessio and Goldfarb, 1988). In addition, activity of antioxidant enzymes may lead to muscle hypertrophy, better cardiac function, lower resting heart rate, improved glucose uptake, and better endurance (Davies et al., 1986). This adaptation is effectively influenced by physiological and environmental factors such as gender, age, and diet (Shao, 2011). As shown in Table 3, MDA concentrations in liver and gastrocnemius muscle of rats treated with *Moringa* extract were significantly lower ( $P < 0.05$ ) compared with the controls, while the activity of SOD, GPx and CAT in liver and gastrocnemius muscle of control rats were significantly higher ( $P < 0.05$ ) compared with the extract-treated groups. These results can be explained by the fact that, apart from the endogenous antioxidants, which are obviously regulated by exercise, exogenous antioxidants such as vitamin C, E, and carotenoids contained in *Moringa* leaves extract can be beneficial during exercise. These results are in accordance with the findings by Wang and Yan (2010), which demonstrated similar effects of ginseng polysaccharides on MDA and GPx levels. They also confirm earlier findings by Lamou et al. (2016) on antioxidant and anti-fatigue effects of *Moringa* extract in rats submitted to an acute exercise.

Hematological parameters of the rats measured post exercise are presented in Table 4. There were significant increases ( $P < 0.05$ ) in Hb (*Moringa* 200), %LYM, WBC, and RBC in rats given 200 mg/kg and 400mg/kg of extract compared with the controls. Hb is the main component of erythrocytes whose main function is to serve as the carrier for oxygen and carbon dioxide. Hb also

plays a role in the maintenance of the body fluid's acid/alkali balance (Nikinmaa, 1997). Therefore, it can directly affect energy metabolism, body function and exercise ability, the loading capacity of the exercise and consequently fatigue. Hb normally is one of the indicators that reflect the degree of recovery from fatigue after exercise, and higher levels of Hb can improve exercise ability. Our results are in accordance with the findings by Okwari et al. (2014), who demonstrated similar effects of the leaf aqueous extract of *M. oleifera* on hemoglobin levels in rats subjected to thermo-oxidized palm oil diet-induced toxicity.

Table 4 also shows that extract treatment increased significantly %LYM, WBC, and RBC in rats given 200 mg/kg and 400mg/kg of extract compared with the controls ( $P < 0.05$ ). In contrary, *Moringa* extract decreased %GRA in rats given 200 mg/kg of extract compared with the controls ( $P < 0.05$ ). Many studies describe changes induced by physical exercise on sub-types of blood mononuclear cells (Peake and Suzuki, 2004). In fact, strenuous exercise can elicit muscle injuries, which then lead to the activation of the neutrophils and macrophages via interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) (Moylan and Reid, 2007). These immune cells excessively produce ROS (oxidative burst), which is a central component of neutrophil defense mechanism. Thus, a single bout of exhaustive exercise has been shown to cause oxidative damage in untrained persons while in trained subjects, no such effects are observed due to an increased resistance of such persons to oxidative stress (Wang et al., 2006).

Muscular work, performed aerobically in the post-absorptive state, depends mainly on the energy provided by utilization of TG or fatty acids. It is documented that during prolonged exercises the body increases clearance of plasma TG by skeletal muscle to provide sufficient energy consumption (Jones and Havel, 1967). A lot of folk medicines and functional foods were certified to increase clearance of plasma TG, and thus, make better utilization of fat during swimming (Jung et al., 2004). Another possible explanation for the anti-fatigue effect seen following *Moringa* extract treatment could involve TG mobilization during exercise, as indicated by the decrease in TG level. Such an effect might become advantageous during prolonged exercise, since better utilization of TG

allows the sparing of glycogen and therefore delays fatigue (Wu et al., 2007). Our results showed that *Moringa* extract group has significantly lower TG content (Table 5), which is 58.29-62.08 % lower than that of control group ( $P < 0.01$ - $P < 0.001$ ). This suggests that *Moringa* extract increased fat mobilization in trained rats.

Serum biochemical parameters are shown in Table 5. Results show that blood lactate levels were significantly ( $P < 0.001$ ) reduced (38.55-53.83%) by extract treatment compared with the controls (Table 5). It has been reported that strenuous exercise alters the levels of blood parameters particularly causing an increased accumulation of lactate, a biomarker for fatigue, in the muscle and plasma compared to resting conditions (Tan et al., 2012). Lactate is a catabolic product of glycolysis and therefore can be used as an index of anaerobic metabolism. The accumulation of lactate eventually leads to the occurrence of fatigue and exhaustion in the exercising subject (Jung et al., 2004). Anti-fatigue agents have been shown to effectively work by delaying lactate accumulation either by reducing the glycolytic process or by removing the blood lactate (Li et al., 2008). The leaf extract of *M. oleifera* could effectively delay the onset of fatigue through one or both of these mechanisms.

Blood urea nitrogen (BUN), the product of protein and amino acid metabolism, is a sensitive index for evaluating the bearing capability when human bodies suffer from a physical load (Huang et al., 2011). Thus, the more the body is adapted for exercise tolerance, the more significantly the BUN level decreases (Tsopanakis and Tsopanakis, 1998). Reduced BUN levels also reflect the reduction in protein metabolism, indicative of enhanced endurance. BUN levels are shown in Table 5. BUN concentrations of extract-treated rats (22.99-29.06 mg/dl) were significantly and dose-dependently lower ( $P < 0.05$ ) following the experimental swimming exercise compared with controls (35.75 mg/dl). The results suggested that treatment with *M. oleifera* extract could decrease the level of BUN of rats after swimming exercise, which indicated that they could reduce hepatic amino acid and protein catabolism during exercise and ameliorate recovery.

Following the swimming exercise, extract-treated

rats at all dose levels maintained significantly higher concentrations of muscle and hepatic glycogen compared with the controls (Table 6). Energy for exercise is initially derived from the breakdown of glycogen and later from circulating glucose released by the liver (Suh et al., 2007). The contribution of glycogen to energy production during exhaustive exercise is necessary because glycogen can be degraded rapidly to produce adenosine triphosphate both aerobically and anaerobically (Andreeva et al., 2001). Fatigue sets in when most of the glycogen is already consumed. Thus, liver and muscle glycogen are sensitive parameters related to fatigue (Ding et al., 2011). Enhancement of exercise capacity could be accounted for by a reduced rate of liver and muscle glycogen breakdown (Jung et al., 2004). Endurance training increases the capacity of skeletal muscle to store glycogen (Kiens et al., 1993). The ability of trained muscles to use fat as an energy source is also improved, and this greater reliance on fat spares glycogen stores. As shown in Table 6, *Moringa* extract significantly elevated these carbohydrates relative to the control group ( $P < 0.05$ ). This remarkable increase of liver and muscle glycogen levels seem to be a great contributor to the increase in swimming time during training sessions (Figure 2). These results suggest that *Moringa* extract has the capacity to decrease or slow the utilization of carbohydrate sources; otherwise physical fatigue occurs by depletion of glycogen. This result is concordant with the earlier published reports on acute effect of leaves extract from *M. oleifera* on physical fatigue (Lamou et al., 2016).

## Conclusion

In conclusion, our data suggest that *Moringa oleifera* extract may have beneficial effects on endurance capacity, recovery from fatigue and promoting adaptations. The possible underlying mechanisms could be mediated by the delay in the accumulation of serum lactic acid and blood urea nitrogen, increase in fat utilization and up-regulation of skeletal muscle metabolic regulators. In addition, the results suggested that supplementation of *Moringa* extract reduced exercise-induced oxidative damage through its antioxidant potential. These results also confirm that 200 mg/kg is the optimum dose with anti fatigue activity. However, further investigations are

necessary to elucidate the molecular mechanisms at the cellular level including the effect of bioactive constituents on the expression of fatigue responsive metabolic regulators and genes.

### Acknowledgement

We would like to express our gratitude to the Physiology Lab., Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, and Physical Activity Biology Lab., Department of Physical Activities Biology and Sport Education, National Institute of Youth and Sports of Yaounde, Cameroon.

### Conflict of interest statement

Authors declare that they have no conflict of interest.

### References

- Alessio, H.M., Goldfarb, A.H., 1988. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: Adaptive response to training. *J. Appl. Physiol.* 64, 1333-1336.
- Andreeva, I.E., Makeeva, V.F., Livanova, N.B., Petukhov, S.P., and Kurganov B.I., 2001. Studies on interaction of phosphorylase kinase from rabbit skeletal muscle with glycogen in the presence of ATP and ADP. *Biochim. Biophysiol. Acta* 1549, 188-196.
- Barnett, A., 2006. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes does it help? *Sports Med.* 36(9), 781-796.
- Belviranlı, M., Gökbek, H., 2006. Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes. *Eur. J. Genet. Med.* 3(3), 126-131.
- Chun, Y., Yin, Z.D., 1998. Glycogen assay for diagnosis of female genital *Chlamydia trachomatis* infection. *J. Clin. Microbiol.* 36(4), 1081-1082.
- Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., Packer, L., 1982. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 107, 1198-205.
- Ding, J.F., Li, Y.Y., Xu, J.J., Su, X., Gao, X., Yue, F-P., 2011. Study on effect of jelly fish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation. *Food Hydrocolloid.* 25, 1350-1353.
- Ellman, G. L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82(1), 70-77.
- Elokda, A. S., Nielsen, D. H., 2007. Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 14(5), 630-637.
- Ferrauti, A., Plum, B.M., Busch, T., Weber, K., 2003. Blood glucose responses and incidence of hypoglycaemia in elite tennis under practice and tournament conditions. *J. Sci. Med. Sport.* 6, 28-39.
- Foidl, N., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: *The Miracle Tree: Multiple Attributes of Moringa* (Ed.: Fuglie, L. J.), Church World Service, Dakar, Senegal, pp.45-76.
- Fuglie, L. J., 2001. Introduction to the multiple uses of *Moringa*. In: *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*. (Ed.: Fuglie, L. J.), Church World Service, Dakar, Senegal, p. 177.
- Hao, G., Zhang, C., Cao, W., Hao, J., 2014. Effects of intragastric administration of five oyster components on endurance exercise performance in mice. *Pharmaceut. Biol.* 1, 1-6.
- Huang, L. Z., Huang, B. K., Ye, Q., Qin, L. P., 2011. Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of *Acanthopanax senticosus*. *J. Ethnopharmacol.* 133, 213-219.
- Jones, N. L., Havel, R. J., 1967. Metabolism of free fatty acids and chylomicron triglycerides during exercise in rats. *Amer. J. Physiol.* 213, 824-828.
- Jung, K., Kim, I. H., Han, D., 2004. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J. Ethnopharmacol.* 93, 75-81.
- Kiens, B., Éssen-Gustavsson, B., Christensen, N.J., Saltin, B., 1993. Skeletal muscle substrate utilization during submaximal exercise in man: effect of endurance training. *J. Physiol.* 469, 459-478.
- Lamou, B., Sotoing, T. G., Hamadou, A., Abene, Houlray, J., Mey, A. M., Vernuy, T. P., 2016. Antioxidant and antifatigue properties of the aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats subjected to force swimming endurance test. *Oxid. Med. Cell. Longe.* Vol. 2016, Article ID 3517824, 9 pages.
- Li, M., Donglian, C., Huaixin, L., Bende, T., Lihua, S., Ying, W., 2008. Anti-fatigue effects of salidroside in mice. *J. Med. Coll. PLA.* 23, 88-93.

- Mall, T. P., Tripathi, S. C., 2017. *Moringa oleifera*: A miracle multipurpose potential plant in health management and climate change mitigation from Bahraich (UP) India - An overview. Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 4(8), 52-66.
- Mattson, M. P., 2000. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. Brain Res. 886, 47-53.
- Misra, H.P., Fridovich, I., 1972. Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. Yale University Press, New Haven. 1, 101-109.
- Moylan, J.S., Reid, M.B., 2007. Oxidative stress chronic disease and muscle wasting. Muscle Nerve. 35, 411-429.
- Nikinmaa, M., 1997. Oxygen and carbon dioxide transport in vertebrate erythrocytes: an evolutionary change in the role of membrane transport. J. Exp. Biol. 200(2), 369-380.
- Okwari, O. O., Emerole, C. G., Dasofunjo, K., Ezugwu, H. C., Obi, J., 2014. Haematological profile of rats administered with aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* following thermooxidized palm oil diet induced toxicity. J. Pharm. Biol. Sci. 9, 41-45.
- Oyeyinka, A. T., Oyeyinka, S. A., 2018. *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 17(2), 127-136.
- Peake, J., Suzuki, K., 2004. Neutrophil activation antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. Ex. Immunol. Rev. 10, 129-141.
- Piattoly, T., 2005. L-glutamine supplementation: Effects on recovery from exercise B.S. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Department of Kinesiology, Louisiana, USA.
- Prasad, V. M. P., Khanum, F., 2012. Antifatigue activity of ethanolic extract of *Ocimum sanctum* in rats. Res. J. Med. Plant. 6(1), 37-46.
- Qi, B., Liu, L., Zhang, H., Zhou, G. X., Wang, S., Duan, X. Z., 2014. Anti-fatigue effects of proteins isolated from *Panax quinquefolium*. J. Ethnopharmacol. 153(2), 430-434.
- Shao, J. P., 2011. Anti-fatigue effect of aqueous extract of salvia in endurance training rats' skeletal muscle. Int. J. Phys. Sci. 6(11), 2697-2700.
- Sinha, A. K., 1972. Colorimetric assay of catalase. Anal. Biochem. 47(2), 389-394.
- Suh, S. H., Paik, I. Y., Jacobs, K., 2007. Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. Mol. Cells. 23, 272-279.
- Taltec, D., 2008. Thé café: Aliments ou médicaments. La Phytothérapie Européenne. 43, 22-27.
- Tan, W., Yu, K., Liu, Y., Ouyang, M., Yan, M., Luo, R., 2012. Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from *Radix Rehmanniae* Preparata. Int. J. Biol. Macromol. 50, 59-62.
- Terblanche, S. E., 2000. The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats. Cell Biol. Int. 23(11), 749-753.
- Thilza, I. B., Sanni, S., Zakari, A. I., Sanni, F. S., Muhammed, T., Musa, B. J., 2010. *In vitro* antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases. Academia Arena. 2(6), 80-82.
- Tsopanakis, C., Tsopanakis, A., 1998. Stress hormonal factors fatigue and antioxidant responses to prolonged speed driving. Pharmacol. Biochem. Behav. 60, 747-751.
- Wang, J. J., Shieh, M. J., Kuo, S. L., Lee, C. L., Pan, T. M., 2006. Effect of red mold rice on antifatigue and exercise-related changes in lipid peroxidation in endurance exercise. Appl. Microbiol. Biotechnol. 70, 247-253.
- Wang, Z. B., Yan, B., 2010. *Gastrodia elata* Blume extract ameliorates exercise-induced fatigue. Afr. J. Biotechnol. 9(36), 5978-5982.
- Westerblad, H., Allen, D. G., Lannergren, J., 2002. Muscle fatigue: Lactic acid or inorganic phosphate the major cause? New Physiol. Sci. 17, 17-21.
- Wilbur, K.M., Bernheim, F., and Shapiro, O.W., 1949. The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. Arch. Biochem. Biophys. 24(2), 305-313.
- Wu, J. L., Wu, Q. P., Huang, J. M., Chen, R., Cai, M., Tan, J. B., 2007. Effects of L-malate on physical stamina and activities of enzymes related to the malate aspartate shuttle in liver of mice. Physiol. Res. 56, 213-220.
- Yi, F., 2000. The experimental study for

*Gynostemma pentaphyllum* with sport endurance? J. Chengdu Physical Educ. Inst. 26(2), 63-65.  
You, L. J., Zhao, M. M., Regenstein, J. M., Ren, J.

Y., 2011. *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion. Food Chem. 124(1), 188-194.

**How to cite this article:**

Bonoy Lamou1, 2\*, Ebal Minye Edmond2, Mbouh Samuel2, Hamadou André2 and Tan Vernyuy Paul1, 2019. Adaptogenic effects of the leaves aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats. Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 6(9), 33-43. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2019.609.005>