

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

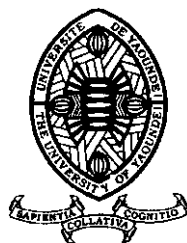
\*\*\*\*\*

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

\*\*\*\*\*

UNITE DE RECHERCHE EN SCIENCE  
DE LA VIE

\*\*\*\*\*



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

CENTRE FOR RESEARCH AND  
TRAINING SCHOOL FOR LIFE  
SCIENCE -HEALTH AND  
ENVIRONMENT

\*\*\*\*\*

DOCTORAL TRAINING UNIT OF LIFE  
SCIENCE

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

*DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY*

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE

*LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY*

**Effets de la boisson « tenghõ » à base d'épices  
camerounaises sur l'inflammation, la douleur et  
quelques troubles cognitifs induits chez les rongeurs**

**THESE**

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

Par

**DJIKEM TADAH Rudig Nikanor**

*Master-ès Sciences* en **Biologie des Organismes Animaux**

Option : **Physiologie Animale**

Matricule : **10Q0130**



Défendue publiquement le 08 Juin 2023, devant un jury composé ainsi qu'il suit :

**Président :** M. DIMO Théophile, Professeur, Université de Yaoundé I ;  
**Rapporteurs :** M. NJAMEN Dieudonné, Professeur, Université de Yaoundé I ;  
M. DJIOGUE Séfirin, Maître de Conférences, Université de Yaoundé I ;  
**Membres :** M. DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré, Professeur, Université de Yaoundé I ;  
Mme MEGNEKOU Rosette, Maître de Conférences, Université de Yaoundé I ;  
M. SEKE ETET Paul, Maître de Conférences, Université de Garoua.

**Année 2023**

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie  
\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

FACULTÉ DES SCIENCES  
\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace-Work-Fatherland  
\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE  
\*\*\*\*\*

**DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE**

## ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/PhD en **Biologie des Organismes Animaux**, Option : **Physiologie Animale**, de Monsieur **DJIKEM TADAH Rudig Nikanor**, matricule **10Q0130**, soutenance autorisée par la correspondance N° **2023-209/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/SPDA/Alc** de Monsieur le recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 25 Mai 2023 sur le sujet intitulé : « Effets de la boisson « **tenghõ** » à base d'épices camerounaises sur l'inflammation, la douleur et quelques troubles cognitifs induits chez les rongeurs », attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation, qui a eu lieu le jeudi 08 juin 2023 dans la salle S01/S02 de la Faculté des Sciences, ont réellement été effectuées.

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

Fait à Yaoundé, le .....**19**.....**JULI**.....**2023**

L'Examineur

R. Megnetou


Le Président du jury

Charles Etélie Bilong Bilong

Le chef de Département



Charles Etélie Bilong Bilong  
Professeur

<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 YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2022/2023**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 31 MAI 2023**

**ADMINISTRATION**

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

**VICE-DOYEN / DPSAA**: ATCHADE Alex de Théodore, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

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

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
15.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>

16.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
18.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
19.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
20.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
21.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
22.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

24.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
26.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
31.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

37.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
40.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
41.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
42.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
23.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
24.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
25.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
26.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

31.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste

37.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
38.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
39.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
40.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
41.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
43.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
44.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
46.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
47.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

49.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
51.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
52.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (34)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En poste
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

19.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
20.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste

21.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
25.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
32.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste
33.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
34.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (28)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
18.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
19.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS</i>

			<i>Bertoua</i>
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
22	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

23.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
24.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
28.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

### 5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
11	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
15	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
17	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
18	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
19	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
20	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
21	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
24	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste



25	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
26	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
27	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
28	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
34	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

36	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
37	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste

## 6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOU HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
16	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

19	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
22	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

### 7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
21	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
23	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
30	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
31	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
32	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
33	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>

3.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
4.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
5.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
11	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
12	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
13	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
14	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
15	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
16	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
17	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

18	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
20	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUENAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

### 9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	HONA Jacques	Professeur	En poste
6.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
23.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
24.	MVOGO ALAIN	Maître de	En poste

		Conférences	
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UJI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférence	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
38.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	Directeur Unité de production des réactifs/IMPM
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

#### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

9.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
11.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
12.	Elisé SABABA	Maître de Conférences	En poste
13.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. d'Etat/MINMIDT</i>
14.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maître de Conférences	En poste
17.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
19.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
21.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
24.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
25.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

26.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
27.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
31.	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
32.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
34.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

41.	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	<b>43 (20)</b>
BPA	14 (01)	16 (09)	18 (04)	4 (02)	<b>52 (16)</b>
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	<b>34 (10)</b>
CI	7 (01)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>28 (06)</b>
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	<b>37 (09)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (01)	7 (02)	<b>33 (03)</b>
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (02)	<b>24 (10)</b>
PHY	15 (01)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	<b>43 (06)</b>
ST	8 (00)	17 (03)	15 (04)	3 (01)	<b>43 (08)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (07)</b>	<b>125 (40)</b>	<b>125 (30)</b>	<b>40 (12)</b>	<b>359 (89)</b>

Soit un total de **359 (89)** dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **125 (40)**
- Chargés de Cours **125 (30)**
- Assistants **40 (12)**

( ) = Nombre de Femmes **89**



## DEDICACES

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents, mon père M. TADAH René et ma mère Mme TSAYEM Dieumitrice, pour leur sacrifice de tous les jours, leur patience sans limite et l'éducation qu'ils m'ont inculqué, je leur dis merci.*



# REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Dieu tout puissant qui m'a permis d'accomplir ce travail ;

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

- ☞ Au **Professeur DJIOGUE Séfirin** qui a accepté de m'encadrer comme Directeur de thèse, pour sa rigueur scientifique, sa généreuse disponibilité, ses encouragements et ses conseils avisés qui m'ont permis de partager son expérience et ses connaissances scientifiques ; Merci d'avoir été très patient envers moi, Merci d'avoir mis votre expérience à mon profit ;
- ☞ Au **Professeur NJAMEN Dieudonné**, qui a accepté de co-diriger ce travail et pour ses multiples conseils prodigués. Je tiens à présenter mes sincères et vifs remerciements ;
- ☞ Au **Professeur NGUEFACK Julienne** pour m'avoir assisté lors de la confection de la boisson « tenghõ » qui a été au centre de ce travail de recherches ;
- ☞ Au **Dr. ZEMO GAMO Franklin** pour son assistance permanente et son accompagnement lors des travaux ;
- ☞ Aux **Professeur ZINGUE Stéphane ; Professeur MVONDO Marie ; Dr. ATEBA Benjamin ; Dr. TCHOUPANG NANA Edwige, Dr. AWOUNFACK Charline, Dr. SIMO Rudy Valdès ; Dr. SILIHE KAMGA kevine** pour leurs conseils avisés et leur soutien multiforme ;
- ☞ Au **Professeur DONGMO Alain** pour son accueil chaleureux lors de mon séjour à l'Université de Douala, pour sa patience et sa gentillesse, pour m'avoir fourni le matériel nécessaire pour la réalisation des tests analgésiques et anti-inflammatoires ;
- ☞ Au **Professeur TINDO Maurice** pour son encouragement et ses conseils ;
- ☞ Au **Professeur James OLOPADE** et son équipe de recherche de l'Université d'IBADAN (Nigeria) pour leur aide dans la réalisation de la partie immunohistochimie de ce travail ;
- ☞ A **M. TAKALA Jean Pierre** pour avoir mis à ma disposition le plateau technique nécessaire à la réalisation des coupes histologiques ;
- ☞ A Mes aînés de Laboratoire : **MOUCHILI Oumarou ; NANBO Telesphore ; SIPPING Marius** pour leurs conseils et leur assistance lors des diverses manipulations ;
- ☞ A Mes cadets de Laboratoire : **BAKAM Berlise ; MOTOUM TEDJO Florette ; KEMMOGNE Vanelle ; MINDANG Elisabeth ; REBE NHOUMA Roland ; TUECHE Alain ; ADJOFOIN Chiara ; ATSAMA Perpetue ; MASSOP WAMBA Christelle ; DJUNIE Corine ; AZEBAZE Franck Arnold ; EBANGA EBANGA Ricky ; NSANGOU Moussa ;**

**DJIMELI FOFIE Franck ; MBOU DEFFO William ; NKUIMI KAMI Ornella ; FEUDJIO TCHOMNOU Merveille ; KEMMO Christelle ; TEFFO Hornela et FOTSING Sorelle** pour leur assistance lors des diverses manipulations ;

- ☞ Aux membres du laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Douala, appartenant à l'équipe de recherche du Professeur **DONGMO Alain** : Je pense particulièrement au **Dr. MBOGNING Calvin** et au **Dr. BELLE EBANDA Philippe**, qui ont été d'une grande aide durant les manipulations au sein du laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Douala ;
- ☞ Aux membres du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I ;
- ☞ Aux **Enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animale**, (Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I), précisément de l'option Physiologie Animale pour leur encadrement et les connaissances transmises ;
- ☞ A ma famille : mes Frères et sœurs (**NGOUFO TADAH Yvana Kévine, KAHOU TADAH Rivaldo Bernes, TIOMATSA TADAH Huranie Lea ; GAMBO TADAH Hosnald Lowel**) ; mes oncles, **M. FOPA François, M. KENNE DJIKEM Arsène Fabrice ; Dr. FOMEKONG TIOFACK Emile** ; Je ne pourrai jamais oublier de vous exprimer ma profonde gratitude, je vous remercie pour votre soutien moral, votre patience et votre dévouement pour ce travail. Je vous dédie le fruit de nos efforts ;
- ☞ A Mes amis **Dr. NYOUMA Achille ; DONKEU Christiane ; CHIMI Pierre ; YONKEU Gaelle ; PELLOW Nelly ; MONGO Ferdinand ; ABOYA Éric ; LESSA Fabrice ; DJITHY Winnie** qui m'ont fait oublier que j'étais en thèse ;
- ☞ Merci à celles et ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ;
- ☞ Et finalement, une pensée pour tous les animaux utilisés au cours des différents protocoles : sans eux, rien n'aurait été possible.



# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES .....	i
DEDICACE.....	xiv
REMERCIEMENTS .....	xv
SOMMAIRE .....	xvii
LISTE DES FIGURES.....	xx
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xxvi
RESUME.....	xxviii
ABSTRACT .....	xxx
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I-1- Inflammation .....	6
I-1.1- Définition .....	6
I-1.2- Types d'inflammation .....	6
I-1.3- Facteurs étiologiques.....	6
I-1.4- Cellules et médiateurs de l'inflammation .....	7
I-1.5- Phases de l'inflammation .....	8
I-1.6- Anti-inflammatoires conventionnels.....	9
I-1.7- Inflammation, stress oxydant et maladies neurodégénératives .....	10
I-1.8- Neuro-inflammation .....	12
I-1.9- Relation inflammation et douleur.....	14
I-2- Douleur.....	14
I-2.1- Définition et types de douleur .....	14
I-2.2- Médiateurs de la douleur .....	16
I-2.3- Traitement conventionnel de la douleur.....	16
I-2.4- Limites des traitements conventionnels contre la douleur .....	17
I-3- Système nerveux .....	17
I-3.1- Organisation générale du système nerveux.....	17
I-3.2- Histologie du système nerveux .....	17
I-3.3- Mémoire .....	18

I-3.4- Maladies neurodégénératives .....	20
I-3.5- Méthodes d'induction de la maladie d'Alzheimer .....	24
I-3.6- Traitement de la maladie d'Alzheimer .....	24
I-4- Hormones ovariennes, ménopause, ovariectomie et mémoire .....	26
I-5- Toxicologie.....	28
I-5.1- Définition .....	28
I-5.2- Toxicité aiguë .....	28
I-5.3- Toxicité subchronique .....	28
I-6- Boisson « tenghõ » .....	28
I-6.1- Principaux ingrédients de la boisson « tenghõ » .....	28
I-6.2- Taxonomie des épices de la boisson « tenghõ ».....	29
I-6.3- Description des différentes épices de la boisson « tenghõ » .....	31
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	35
II.1- Matériel .....	36
II.1.1- Matériel végétal.....	36
II.1.2- Matériel animal .....	36
II.1.3- Substances de références, d'anesthésies et de pansements .....	36
II.1.4- Dispositifs expérimentaux.....	37
II.2- Méthodes .....	42
II.2.1- Organigramme méthodologique.....	42
II.2.2- Préparation de la boisson « tenghõ ».....	44
II.2.3- Détermination des doses thérapeutiques de la boisson « tenghõ » .....	44
II.2.4- Ovariectomie .....	45
II.2.5- Test comportementaux .....	45
II.2.6- Etudes pharmacologiques.....	49
II.2.7- Sacrifice des animaux.....	61
II.2.8- Prélèvement des organes .....	62
II.2.9- Réalisation des homogénats .....	62
II.2.10- Dosages de quelques paramètres biochimiques .....	62
II.2.11- Techniques histologiques et immunohistochimiques.....	80
II.2.12- Masse relative des organes et analyse microscopique .....	83
II.2.13- Analyse statistique.....	83
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION .....	84

III-1- Résultats.....	85
III-1.1- Effets anti-inflammatoires de la boisson « tenthõ » .....	85
III-1.2- Effets analgésiques de la boisson « tenthõ » .....	88
III-1.3- Effets neuroprotecteurs de la boisson « tenthõ » .....	91
III-1.4- Etude de la capacité antioxydante de la boisson « tenthõ ».....	136
III-1.5-Etudes phytochimiques de la boisson « tenthõ » .....	136
III-1.6- Toxicité.....	139
III.2-Discussion .....	159
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES .....	173
REFERENCES .....	176
ANNEXES .....	I
LISTE DES PUBLICATIONS.....	XII

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b>	Principales réactions pro-oxydantes-antioxydantes pertinentes dans le système biologique.....	11
<b>Figure 2 :</b>	Schéma d'un neurone.....	18
<b>Figure 3 :</b>	Photographies des principaux ingrédients de la boisson « tenghõ ».....	29
<b>Figure 4 :</b>	Photographie de l'Elevated Plus Maze.....	38
<b>Figure 5 :</b>	Photographie du labyrinthe zéro surélevé.....	38
<b>Figure 6 :</b>	Photographie de l' « Open field » .....	39
<b>Figure 7 :</b>	Photographie du dispositif de réalisation du test de reconnaissance du nouvel objet.....	39
<b>Figure 8 :</b>	Photographie du Y MAZE.....	40
<b>Figure 9 :</b>	Photographie du « Morris Water Maze » .....	41
<b>Figure 10 :</b>	Photographies du « Wire-Suspension Grip/Agility test ».....	41
<b>Figure 11 :</b>	Photographie du « Grid Suspension Grip-Strength test ».....	42
<b>Figure 12 :</b>	Organigramme des différentes activités réalisées .....	43
<b>Figure 13 :</b>	Protocole expérimentale de préparation de la boisson « tenghõ ».....	44
<b>Figure 14 :</b>	Protocole expérimental d'évaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (0,6 mg/kg) chez des rates ovariectomisées.....	53
<b>Figure 15 :</b>	Protocole expérimental d'évaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (1 mg/kg) chez des rates ovariectomisées.....	54
<b>Figure 16 :</b>	Protocole expérimental de toxicité aiguë de la boisson « tenghõ ».....	60
<b>Figure 17 :</b>	Protocole expérimental de toxicité subchronique de la boisson « tenghõ ».....	61
<b>Figure 18 :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur le temps de préhension des animaux lors du test de préhension à la corde et au grillage.....	98
<b>Figure 19 :</b>	Effet de la boisson « tenghõ » sur le gain pondéral lors du modèle d'induction de la neuro-inflammation à la scopolamine 0,6 mg/kg.....	99
<b>Figure 20 :</b>	Effet de la boisson « tenghõ » sur le poids relatif de l'utérus frais, la taille de l'épithélium utérin et la taille de l'épithélium utérin. ....	101
<b>Figure 21 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson «	102

	tenghõ » sur la taille de l'épithélium utérin. ....	
<b>Figure 22 :</b>	Effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur la taille de l'épithélium vaginal .....	103
<b>Figure 23 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur la taille de l'épithélium vaginal .....	104
<b>Figure 24 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les glandes mammaires. ....	105
<b>Figure 25 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules CA 1 de l'hippocampe des rats.....	106
<b>Figure 26 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules CA 2 de l'hippocampe des rats. ....	107
<b>Figure 27 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules CA 3 de l'hippocampe des rats.....	108
<b>Figure 28 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur le gyrus denté de l'hippocampe des rats.....	109
<b>Figure 29 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur la corne d'Amont des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection <i>i.p.</i> de scopolamine lors de la coloration au cresyl violet.....	111
<b>Figure 30 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur le cortex cérébral des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection <i>i.p.</i> de scopolamine lors de la coloration au cresyl violet.....	112
<b>Figure 31 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les microglies des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection <i>i.p.</i> de scopolamine après immunohistochimie aux anticorps IBA-1 dans le cortex cérébral. ....	114
<b>Figure 32 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les astrocytes des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection <i>i.p.</i> de scopolamine après immunohistochimie aux anticorps GFAP dans le cortex cérébral.....	115
<b>Figure 33 :</b>	Effet de la boisson « tenghõ » sur la mémoire à long terme au cours du test de la piscine de Morris.....	124
<b>Figure 34 :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur la concentration du GABA et de la sérotonine.....	127

<b>Figure 35 :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur la masse relative de l'utérus frais au cours du second test d'évaluation des effets anti-mnésique. ....	130
<b>Figure 36 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 1 de l'hippocampe des rats.....	132
<b>Figure 37 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 2 de l'hippocampe des rats.....	133
<b>Figure 38 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 3 de l'hippocampe des rats.....	134
<b>Figure 39 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules du cortex cérébral des rats. ....	135
<b>Figure 40 :</b>	Profil HPLC de la boisson « tenghõ ».....	137
<b>Figure 41 :</b>	Spectrométrie de masse de la boisson « tenghõ ».....	138
<b>Figure 42 :</b>	Effets de l'administration aiguë de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du gain pondérale des animaux. ....	139
<b>Figure 43 :</b>	Microphotographies montrant les effets de l'administration aiguë de la boisson « tenghõ » sur le foie, les poumons et les reins.....	143
<b>Figure 44 :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du gain pondérale des rats mâles et femelles.....	145
<b>Figure 45 :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les coupes histologiques du foie, des poumons, des reins et du cœur chez les rats femelles.	157
<b>Figure 46 :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les coupes histologiques du foie, des poumons, des reins et du cœur chez les rats mâles....	158



# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b>	Taxonomie des différents ingrédients de la boisson « tenghõ ».....	30
<b>Tableau II :</b>	Composition de l'alimentation classique de laboratoire (Avec et sans soja) pour les tests utilisant des animaux ovariectomisés.....	36
<b>Tableau III :</b>	Protocole de dosage de la SOD.....	62
<b>Tableau IV :</b>	Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase...	63
<b>Tableau V :</b>	Protocole de dosage de la catalase .....	63
<b>Tableau VI :</b>	Protocole de dosage du glutathion réduit .....	64
<b>Tableau VII :</b>	Protocole de dosage du MDA.....	65
<b>Tableau VIII :</b>	Protocole de dosage des nitrites.....	65
<b>Tableau IX :</b>	Protocole de dosage des protéines totales.....	66
<b>Tableau X :</b>	Protocole de dosage de l'acide gamma aminobutyrique.....	67
<b>Tableau XI :</b>	Protocole de dosage de la sérotonine.....	68
<b>Tableau XII :</b>	Protocole de dosage de l'ALAT.....	70
<b>Tableau XIII :</b>	Protocole de dosage de l'ASAT.....	71
<b>Tableau XIV :</b>	Protocole de dosage de la créatinine.....	71
<b>Tableau XV :</b>	Protocole de dosage de la bilirubine totale.....	72
<b>Tableau XVI :</b>	Protocole de dosage de la bilirubine.....	73
<b>Tableau XVII :</b>	Protocole de dosage des protéines totales.....	73
<b>Tableau XVIII :</b>	Protocole de dosage du cholestérol total.....	74
<b>Tableau XIX :</b>	Protocole de dosage des triglycérides.....	75
<b>Tableau XX :</b>	Protocole du dosage du HDL cholestérol.....	76
<b>Tableau XXI :</b>	Procédure de coloration des lames.....	82
<b>Tableau XXII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par la carragénine.....	86
<b>Tableau XXIII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par l'histamine.....	87
<b>Tableau XXIV :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par la sérotonine.....	88

<b>Tableau XXV :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur le nombre de crampe abdominale induit par l'acide acétique.....	89
<b>Tableau XXVI :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur le temps de latence de retrait de la queue lors du test d'immersion de la queue.....	90
<b>Tableau XXVII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres de l'EPM	92
<b>Tableau XXVIII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'EPM .....	93
<b>Tableau XXIX :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l' « Open field » (OF) .....	94
<b>Tableau XXX :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à court terme évaluée par le labyrinthe en Y.....	95
<b>Tableau XXXI :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à long terme évaluée par la piscine de Morris .....	96
<b>Tableau XXXII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres du stress oxydant.....	100
<b>Tableau XXXIII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'EZM chez des rates ovariectomisées .....	117
<b>Tableau XXXIV :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'OF chez des rates ovariectomisées .....	118
<b>Tableau XXXV :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur l'anxiété chez des rates ovariectomisées dans le test de l'EPM.....	120
<b>Tableau XXXVI :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l' « Open field » (OF) .....	122
<b>Tableau XXXVII :</b>	Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à court terme lors du test du labyrinthe en Y .....	123
<b>Tableau XXXVIII :</b>	Effet de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à court terme lors du test de reconnaissance de l'objet.....	125
<b>Tableau XXXIX :</b>	Effet de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à long terme lors du test de reconnaissance de l'objet (OR test) .....	126

<b>Tableau XL :</b>	Concentration des cytokines pro-inflammatoire dans l'hippocampe et le cortex cérébral.....	129
<b>Tableau XLI :</b>	Concentration des cytokines anti-inflammatoire dans l'hippocampe et le cortex cérébral.....	129
<b>Tableau XLII :</b>	Capacité antioxydante du « tenghõ ».....	136
<b>Tableau XLIII :</b>	Composition phytochimique quantitative de la boisson « tenghõ »	136
<b>Tableau XLIV :</b>	Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres comportementaux.....	141
<b>Tableau XLV :</b>	Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur la masse relative des organes. ....	142
<b>Tableau XLVI :</b>	Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur la masse relative des organes chez les rats femelles.....	147
<b>Tableau XLVII :</b>	Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur la masse relative des organes chez les rats mâles. ....	148
<b>Tableau XLVIII :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur la numération formule sanguine (NFS) chez les rats femelles....	151
<b>Tableau XLIX :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur la numération formule sanguine (NFS) chez les rats mâles.....	152
<b>Tableau L :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les quelques paramètres biochimiques chez les rats mâles.....	155
<b>Tableau LI :</b>	Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les quelques paramètres biochimiques chez les rats femelles....	156

## LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

<b>5-HT :</b>	5-hydroxytryptamine ;
<b>AA :</b>	Acide arachidonique ;
<b>ACh :</b>	Acide arachidonique ;
<b>AChE :</b>	Acétylcholinestérase ;
<b>AD :</b>	« Alzheimer's disease » ;
<b>ADI :</b>	« Alzheimer's disease International » ;
<b>ADP :</b>	Adénosine diphosphate ;
<b>AMPA :</b>	Alpha -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate ;
<b>AMPc :</b>	Adénosine monophosphate cyclique ;
<b>APP A :</b>	« Amyloid precursor protein-amyloid peptide (protéine précurseur amyloïde) » ;
<b>A<math>\beta</math> :</b>	« Amyloid beta » ;
<b>COX :</b>	Cyclooxygénase ;
<b>DRs :</b>	« Death receptors » ;
<b>DZP :</b>	Animaux ovariectomisés et traités au Diazépam à la dose de 1 mg/kg ;
<b>E2 :</b>	Œstradiol ;
<b>E2V :</b>	Animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg ;
<b>ERN :</b>	Espèces réactives de l'Azote ;
<b>ERO :</b>	Espèces réactives de l'Oxygène ;
<b>ESCOF :</b>	« European Scientific Cooperative On Phytotherapy » ;
<b>ESM :</b>	Erreur standard sur la moyenne ;
<b>GABA :</b>	Acide gamma-aminobutyrique ;
<b>GAPDH :</b>	Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase ;
<b>GSH :</b>	Glutathion réduit ;
<b>HRT :</b>	« Hormone Replacement Therapy » ;
<b>MA :</b>	Maladie d'Alzheimer ;
<b>MCH :</b>	Hémoglobine corpusculaire moyenne ;
<b>MCHC :</b>	Concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine ;
<b>MCV :</b>	Taux moyen d'hémoglobine dans le volume occupé par les globules rouges dans le sang ;
<b>MOR :</b>	Récepteur Mu-opioïde ;
<b>NFT :</b>	« Neurofibrillar tangles » (dégénérescences neurofibrillaires) ;

- NF- $\kappa$ B** : « Nuclear factor kappa B » ;
- NMDA** : N-méthyl-D-Aspartate ;
- NO** : Monoxyde d'Azote ;
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé ;
- OVX** : Animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée ;
- PAF** : « Platelet Activating Factor » (Facteur d'activation plaquettaire) ;
- PG** : Prostaglandines ;
- PLC** : Phospholipase C;
- RIPK** : « Receptor-interacting protein kinase »;
- SCOPO** : Scopolamine ;
- Sham Nor** : Animaux ayant subis une chirurgie blanche (Sham operated) et traités à de l'eau distillée ;
- SNC** : Système nerveux central ;
- SOD** : Super Oxyde Dismutase ;
- TEN (200, 400 et 600)** : Animaux recevant la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg ;
- THS** : Traitement hormonal substitutif ;
- TUNEL** : « Terminal deoxynucleotidyl transferase d'UTP nick end labeling » ;
- WHIMS** : « Women's Health Initiative Memory Study ».

## RESUME

L'inflammation, la douleur et les maladies neurodégénératives représentent un défi majeur pour la santé mondiale. Au Cameroun, une boisson à base d'épices locale et de propolis, du nom de « tenghõ » est traditionnellement utilisée pour soulager l'inflammation, la douleur et l'anxiété. L'objectif principal de ce travail a été d'évaluer les effets de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation, la douleur et quelques troubles neurodégénératifs induits chez les rongeurs. Pour atteindre cet objectif, la boisson « tenghõ » a été confectionnée à base d'épices locales [(gingembre (*Zingiber officinale*); ail (*Allium Sativum*); citronnelle (*Cymbopogon citratus*); persil (*Petroselinum crispum*); basilic (*Ocimum basilicum*)] et de propolis d'abeille. L'activité anti-inflammatoire de la boisson a été évaluée sur l'inflammation aigüe induite à la carragénine, à l'histamine et la sérotonine. La boisson « tenghõ » a été administré par voie orale à des rats aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg. Les effets analgésiques de la boisson ont été évalués sur la douleur périphérique aigüe induite à l'acide acétique 1% et la douleur centrale induite à l'eau chaude (test d'immersion de la queue). L'activité de la boisson a été évaluée sur un modèle de trouble neurodégénératif induit à la scopolamine chez des rates ovariectomisées. Pour se faire, après 28 jours post-ovariectomie, la scopolamine 0,6 mg/kg a été injectée aux rates pendant 14 jours pour induire les troubles de mémoire et la neuroinflammation. Les animaux ont ensuite été soumis au test du labyrinthe en Y (Y Maze) ; au test de la piscine de Morris (« Morris Water Maze ») et aux tests de préhension à la corde et au grillage. Après 52 jours post-ovariectomie, les animaux ont été sacrifiés. L'utérus, le vagin et le cerveau ont été prélevés ; l'hémisphère gauche du cerveau a été broyé pour le dosage des paramètres du stress oxydatif tandis que l'hémisphère droit, l'utérus, le vagin et les glandes mammaires ont été introduits dans du formol 10% pour analyse histologique et immunohistochimique. Pour accentuer la neuroinflammation, la scopolamine 1 mg/kg a été injecté pendant 17 jours chez des rates ovariectomisées après 28 jours post ovariectomie. Ces animaux ont été par la suite soumis au test de l'« Elevated Plus Maze » (EPM), de l'« Elevated Zero Maze » (EZM) et de l'« Open Field » (OF). A l'issu de ces tests, les animaux ont été sacrifiés, l'hippocampe et le cortex cérébral ont été prélevés et broyés pour le dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires. L'évaluation de l'innocuité de la boisson « tenghõ » a été réalisée via des tests de toxicité aigüe et subchronique. Les résultats obtenus ont montré que la boisson « tenghõ » à toutes les doses testées a significativement réduit l'œdème de la patte induit à la carragénine ( $p < 0,001$ ), à l'histamine- ( $p < 0,01$ ) et à la sérotonine- ( $p < 0,01$ ).

La boisson « tenghõ » a significativement réduit ( $p < 0,001$ ) le nombre de contorsions abdominale provoquées par l'acide acétique à toutes les doses testées. La boisson « tenghõ » a significativement augmenté ( $p < 0,001$ ) la latence de retrait de la queue de l'eau chaude, de manière temps dépendante. Ces effets suggèrent un effet analgésique périphérique et central. La boisson « tenghõ » a amélioré la mémoire à court terme à la dose de 400 mg/kg (lors du test du labyrinthe en Y et lors du test de reconnaissance du nouvel objet). La boisson « tenghõ » a amélioré ( $p < 0,01$ ) la mémoire à long terme à la dose de 400 mg/kg lors du test de la piscine de Morris. La boisson « tenghõ » a induit selon la dose, une réduction du taux de MDA et une augmentation significative de la concentration de la SOD ( $p < 0,01$ ), de nitrites ( $p < 0,001$ ) et de l'activité de la catalase. La boisson « tenghõ » a inhibé l'activation des astrocytes et des microglies à la dose de 400 mg/kg et la nécrose des cellules neuronales des régions CA1 et CA3 de l'hippocampe. Les résultats obtenus ont également montré que la boisson « tenghõ » a des propriétés anxiolytiques aux doses de 200 et 600 mg/kg. La boisson « tenghõ » a significativement réduit ( $p < 0,01$ ) la production des cytokines pro-inflammatoires (IL-6 ; IL 1 $\beta$  et TNF  $\alpha$ ) et augmenté la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-4 et IL 10). Les résultats obtenus ont montré que la boisson « tenghõ » serait faiblement toxique. Ces résultats indiquent que la boisson « tenghõ » possède des effets analgésiques, anti-inflammatoires et neuroprotecteurs, qui justifieraient son utilisation empirique en médecine traditionnelle comme alternative au soulagement de l'inflammation, de la douleur et des maladies neurodégénératives.

**Mots clés :** Boisson « tenghõ » ; Anti-inflammatoire ; Analgésique ; Anxiolytique ; Anti-mnésique

# ABSTRACT

Inflammation, pain and neurodegenerative diseases represent a major challenge to global health. In Cameroon, a local spice-based drink called « *tenghõ* » is traditionally used to relieve inflammation, pain and anxiety. The main objective of this research work was to evaluate the effects of the « *tenghõ* »'s drink on inflammation, pain and some neurodegenerative disorders induced in rodents. To achieve this objective, the « *tenghõ* »'s drink was made with local spices: ginger (*Zingiber officinale*); garlic (*Allium Sativum*); lemongrass (*Cymbopogon citratus*); parsley (*Petroselinum crispum*); basil (*Ocimum basilicum*) and bee glue. The anti-inflammatory effect of the drink was evaluated on acute inflammation induced by carrageenan, histamine and serotonin. In these tests, « *tenghõ* »'s drink was administered orally to rats at doses of 200, 400 and 600 mg/kg. The analgesic properties of this drink were evaluated on a peripheral pain induced with 1% acetic acid in mice and a central pain induced with hot water in rats (tail immersion test). Neuroprotective activity of the « *tenghõ* »'s drink were performed on a scopolamine-induced neurodegenerative disorder model in ovariectomized rats. After 28 days post-ovariectomy, scopolamine 0.6 mg/kg was injected into the rats for 14 days to induce memory impairment and neuroinflammation. Animals were submitted to Y maze, Morris's water maze and grip strength tests. After 52 days post-ovariectomy, animals were sacrificed. Uterus, vagina and brain were removed; The left hemisphere of the brain was crushed for the determination of oxidative stress parameters while the right hemisphere, uterus, vagina and mammary glands were introduced into 10% formalin for histological and immunohistochemical analysis. To accentuate neuroinflammation, scopolamine 1 mg/kg was injected for 17 days in ovariectomized rats after 28 days post ovariectomy. Animals were ovariectomized and were subjected 14 days later to the Elevated Plus Maze (EPM), « Elevated Zero Maze » (EZM) and « Open field » (OF) tests. At the end of these tests, animals were sacrificed, hippocampus and cerebral cortex were collected and ground for the determination of pro- and anti-inflammatory cytokines. The safety of the « *tenghõ* » was evaluated by acute and subchronic toxicity tests. The obtained results showed that « *tenghõ* »'s drink at all tested doses significantly reduced carrageenan-induced ( $p < 0.001$ ), histamine-induced ( $p < 0.01$ ) and serotonin-induced ( $p < 0.01$ ) paw oedema. Also, « *tenghõ* »'s drink significantly reduced ( $p < 0.001$ ) the number of abdominal contortions induced by acetic acid at all tested doses. « *tenghõ* » significantly increased ( $p < 0.001$ ) the latency of tail withdrawal from hot water in a time-dependent manner. « *tenghõ* » improved short-term memory at a dose of 400



mg/kg in the Y Maze test. « tenthõ »'s drink improved long-term memory at the dose of 400 mg/kg in the « Morris Water Maze » test. the oxidative status parameters revealed that « tenthõ » was a potent antioxidant (due to the reduction of MDA and the increase in SOD, reduced Glutathione and nitrite concentration as well as catalase activity). In addition, « tenthõ » inhibited the activation of astrocytes and microglia at the dose of 400 mg/kg as well as necrosis of neuronal cells in the CA1 and CA3 regions of the hippocampus. the drink also has anxiolytic properties at the doses of 200 and 600 mg/kg. The « tenthõ »'s drink significantly ( $p < 0.01$ ) reduced the production of pro-inflammatory cytokines (IL-6; IL 1 $\beta$  and TNF  $\alpha$ ) and increased the production of anti-inflammatory cytokines (IL-4 and IL 10). The obtained results showed that The « tenthõ »'s drink is weakly toxic. Taken together, these results indicate that « tenthõ » has analgesic, anti-inflammatory and neuroprotective effects and is weakly toxic in acute and subchronic administration. This would justify its empirical use in traditional medicine as an alternative to alleviate uncontrolled pathologies such as inflammation, pain and neurodegenerative diseases.

**Keywords:** « Tenthõ »'s drink; Anti-inflammatory; Analgesic; Anxiolytic; Neuroprotector.



**INTRODUCTION**

L'organisation mondiale de la santé (OMS) éprouve d'énormes difficultés à couvrir la santé pour tous, en raison de la persistance et de la recrudescence de nombreuses maladies non maîtrisées parmi lesquels les maladies inflammatoires, les affections douloureuses et les maladies neurodégénératives (OMS, 2013). L'inflammation est un processus physiologique de défense et d'adaptation de l'organisme à une stimulation cellulaire excessive ou anormale due à une agression tissulaire d'origine diverse (physique, chimique, biologique) (Perianayagam *et al.*, 2006). Il existe une relation entre l'inflammation et la douleur. La douleur nociceptive (aiguë) évoquée avec rougeur, gonflement, chaleur et *functio laesa* (perte de fonction) est un symptôme majeur de l'inflammation (Ji *et al.*, 2014) ; c'est également une source majeure de souffrance (Brand et Al-Rais, 2019). Qu'elle soit aiguë ou chronique, la modulation de la douleur implique à la fois les mécanismes du système nerveux central et périphérique.

Il existe une relation étroite entre l'inflammation et les maladies neurodégénératives. En effet, l'inflammation chronique est un facteur causal des maladies du système nerveux central (SNC) (Block *et al.*, 2007). Les maladies neurodégénératives entraînent une perte progressive des neurones et conduisent par la suite à la démence. On estime à 50 millions le nombre de personnes atteintes de démences dans le monde, parmi lesquelles 60 à 80 % sont atteintes de la maladie d'Alzheimer (MA) (Nour *et al.*, 2022). Ce nombre va atteindre 152 millions à l'horizon 2050 si rien n'est fait. La maladie d'Alzheimer et les autres démences représentent ainsi un défi majeur et croissant pour la santé mondiale (Wu *et al.*, 2017). La MA est un trouble multifactoriel où l'inflammation, le stress oxydatif excessif et la perte synaptique agissent en synergie pour provoquer des déficits cholinergiques et la démence (Saravanaraman *et al.*, 2020).

La privation en œstrogènes résultant de la ménopause, en association avec des facteurs liés à l'âge augmente de manière disproportionnée le risque de nombreuses maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer (Yaffe *et al.*, 1998). La ménopause est un facteur de risque pouvant accentuer la survenue des maladies neurodégénératives notamment la maladie d'Alzheimer. La société actuelle étant de plus en plus reconnue comme une société vieillissante, une attention accrue est accordée à l'état de santé des personnes âgées dont la grande majorité est représenté par les femmes qui subissent la ménopause.

De l'antiquité à nos jours, l'Homme s'est toujours donné les moyens de combattre l'inflammation, les affections douloureuses et les maladies neurodégénératives. L'analgésie est réalisée par des analgésiques (Seifert, 2019), tandis que les maladies inflammatoires sont actuellement traitées par des médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS). Ces médicaments sont également utilisés pour soulager la douleur qui accompagne les maladies inflammatoires. Les médicaments anti-Alzheimer actuellement

disponibles regroupent les anticholinestérasiques (donépézil, rivastigmine et galantamine), les antiglutamates et les nootropes (Piracetam).

Les médicaments conventionnels utilisés pour atténuer ces phénomènes soulagent les patients de manière indéniable et sauvent de nombreuses vies. Toutefois, l'utilisation chronique des AINS par exemple est souvent associée à plusieurs effets indésirables. Les Inhibiteurs de la cyclooxygénase (Ibuprofène, indométacine, diclofénac et aspirine) peuvent provoquer une hémorragie gastro-intestinale, un infarctus du myocarde, une hypertension, une insuffisance rénale et un ulcère gastroduodéal (Mc Gettigan et Henry, 2013). Les médicaments synthétiques sont souvent toxiques et ne sont pas communément disponibles pour la population rurale (Li *et al.*, 2003). L'augmentation de la résistance aux médicaments synthétiques inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (Fernandez, 2003). Il est donc urgent de découvrir des thérapies innovatrices ou des molécules pour soulager la douleur, la neuroinflammation et ralentir la progression de la MA. La phytothérapie est une solution alternative et garde toute son importance, surtout dans les pays en voie de développement où environ 80% de la population y ont recours pour leur besoin de santé primaire (OMS, 2013). Les coutumes et les traditions africaines facilitent le traitement par les plantes. Au Cameroun par exemple, plusieurs plantes vue leur richesse en métabolites secondaires a permis le développement de thérapies alternatives. Certaines recommandations diététiques peuvent être mises en œuvre à titre de mesure préventive pour cibler avec succès l'inflammation dans la maladie d'Alzheimer (Mir *et al.*, 2018). Une approche combinatoire de type cocktail est aussi suggérée comme une intervention rationnelle pour atténuer l'inflammation chronique et conférer une neuroprotection dans la maladie d'Alzheimer (Mc Larnon, 2019).

Dans le souci de proposer un traitement efficace, accessible par approche combinatoire de type cocktail et ayant moins d'effets secondaires, nous avons entrepris d'évaluer les effets de la boisson « tenghõ », une boisson camerounaise faite principalement à base d'épices [gingembre (*Zingiber officinale*), ail (*Allium sativum*), citronnelle (*Cymbopogon citratus*), basilic (*Ocimum basilicum*), persil (*Petroselinum crispum*)] et de propolis d'abeille. Cette boisson est traditionnellement utilisée au Cameroun pour lutter contre l'inflammation, la douleur, l'hypertension artérielle, le diabète, le cancer et l'anxiété. Les utilisations traditionnelles et les preuves scientifiques des effets de certaines des plantes utilisées dans cette boisson (*Zingiber officinale*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* et la Propolis d'abeille) contre divers types et modèles de douleur et d'inflammation ont été indiquées dans la littérature (Rajesh et Subha, 2018). La présente étude a été conçue dans le but d'évaluer les propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et neuroprotectrices de cette boisson et de fournir ainsi une base scientifique substantielle à son utilisation empirique.

## **Hypothèse de recherche**

La boisson « tenghõ » faite à base d'épices et de propolis possède des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et neuroprotectrices.

## **Objectifs**

### **Objectif principal**

L'objectif principal de cette étude a été d'étudier les effets de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation, la douleur et quelques troubles neurologiques induits chez les rongeurs.

### **Objectifs spécifiques**

Il s'agissait précisément de :

1. évaluer les propriétés anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ » ;
2. évaluer les propriétés analgésiques de la boisson « tenghõ » ;
3. évaluer les propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » ;
4. réaliser une étude de toxicité orale aiguë et subchronique de la boisson « tenghõ ».



**CHAPITRE I :  
REVUE DE LA  
LITTERATURE**

## **I-1- Inflammation**

### **I-1.1- Définition**

L'inflammation est un processus physiologique de défense et d'adaptation de l'organisme à une stimulation cellulaire excessive ou anormale due à une agression tissulaire d'origine diverse (physique, chimique, biologique). Elle peut être déclenchée par une brûlure, un traumatisme, une irradiation ou par la pénétration d'agents pathogènes extérieurs (virus, bactéries, ...) (Schoroderet, 1992). Le déroulement d'une réaction inflammatoire quel que soit son siège et la nature de l'agent inducteur, présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs. Les différentes étapes présentent des variations liées à la nature de l'agent inducteur, l'organe où elle se déroule et le terrain physiologique de l'hôte. Tous ces éléments conditionnent l'intensité, la durée de la réaction inflammatoire et l'aspect lésionnel.

### **I-1.2- Types d'inflammation**

Dans la classification de l'inflammation, on distingue :

- **L'inflammation aiguë ou primaire**, ayant une cause immédiate et localisée, elle est caractérisée par l'exsudation des protéines liquides et plasmatiques (œdème) et l'émigration des leucocytes (principalement des neutrophiles). L'inflammation aiguë dure de quelques jours à quelques semaines et est caractérisée par les quatre signes classiques de l'inflammation à savoir, la rougeur, la chaleur, l'œdème et la douleur (Ru-Rong *et al.*, 2016). Elle peut également s'accompagner d'atteintes fonctionnelles régionales selon la gravité de l'agression (Ru-Rong *et al.*, 2016).
- **L'inflammation chronique ou secondaire**, est définie comme une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années (Moulin, 1998). Contrairement à l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique est souvent néfaste et entraîne des maladies telles que la parodontite, l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde et même le cancer (Ji *et al.*, 2014).

Dans le monde, 3 personnes sur 5 meurent des suites de maladies inflammatoires chroniques comme les accidents vasculaires cérébraux, les maladies respiratoires chroniques, les troubles cardiaques, le cancer, l'obésité et le diabète (Pahwa *et al.*, 2023).

### **I-1.3- Facteurs étiologiques**

Les agents phlogogènes à l'origine de l'inflammation sont de deux types : les agents phlogogènes endogènes et les agents phlogogènes exogènes. Les agents phlogogènes endogènes sont représentés par les auto-antigènes, les complexes immuns circulants, également les cristaux formés dans les liquides biologiques (urates, cholestérol...) (Bayes, 1997). Les agents phlogogènes exogènes peuvent être de plusieurs nature : les agents physiques (Radiation, électricité, froid, chaleur, piqûre, coupure, contusion), les agents

chimiques (acide, base, substances minérales diverses), les agents biologiques (microorganismes pathogène (virus, bactérie, parasite, champignon) et certains produits comme le venin (le pollen et les toxines) (Bayes, 1997).

## **I-1.4- Cellules et médiateurs de l'inflammation**

### **I-1.4.1- Cellules impliquées dans l'inflammation**

Plusieurs cellules sont impliquées dans le processus inflammatoire, ce sont : les polynucléaires neutrophiles, les phagocytes mononucléés, les lymphocytes, les polynucléaires éosinophiles, les mastocytes (qui contiennent de l'histamine), les cellules endothéliales, les cellules dendritiques, les fibroblastes et les plaquettes (Capron, 1998).

### **I-1.4.2- Médiateurs de l'inflammation**

#### **I-1.4.2.1- Les médiateurs cellulaires**

Les médiateurs cellulaires intervenant dans le processus inflammatoire sont principalement les amines vasoactives et les cytokines :

##### **a. Amines vasoactives**

Le processus inflammatoire fait intervenir les amines vasoactives telle que :

- **La sérotonine** : libérée, elle stimule les fibres lisses vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales ;
- **L'histamine** : elle est libérée lors de la dégranulation des cellules phagocytaires et a des propriétés chimiotactiques pour les phagocytes (Capron, 1998).
- **Les eicosanoïdes** : Ce sont des composés dérivés de l'acide arachidonique. Les uns sont de structures linéaires, les leucotriènes et les autres de structure cyclique, les prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes. En réponse à une perturbation physique ou chimique, il se produit une activation de la phospholipase A2 qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires et libère des dérivés de l'acide arachidonique. L'acide arachidonique est par la suite métabolisé selon deux voies possibles : La voie de la lipooxygénase qui le transforme en leucotriène et la voie de la cyclooxygénase qui le transforme principalement en prostaglandine. Les dérivés de l'acide arachidonique ont des rôles différents dans le processus inflammatoire :
  - **Les leucotriènes** augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimioattractivité sur les polynucléaires ;
  - **Les prostaglandines** produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire, en outre, ils dépriment certains mécanismes immunitaires et potentialisent les effets algogènes de la bradykinine (Moulin, 1998) ;
  - **Les thromboxanes** stimulent les mécanismes de l'agrégation plaquettaire (Diouf, 1991).



## **b. Les cytokines**

Les cytokines qui sont constituées en majorité des monokines et des lymphokines, forment un groupe de protéines jouant un rôle essentiel dans les communications intercellulaires, notamment entre les acteurs du processus inflammatoire (Capron, 1998). On distingue deux types de cytokines dans le processus inflammatoire : Les cytokines pro-inflammatoires [(les interleukines IL -1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 et IL-23, interféron (IFN- $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , et le granulocyte-macrophage colony-stimulating-factor (GMCSF)] ; le « platelet activating factor » acether (PAF acether) (Von Bernhardt *et al.*, 2010) et les cytokines anti-inflammatoires (Les interleukines : IL-4 et IL-10) (Capron, 1998).

### **I-1.4.2.2- Les médiateurs plasmatiques**

Les médiateurs plasmatiques sont également impliqués dans la régulation du processus inflammatoire, ce sont : Les kinines (la plus active est la bradykinine) (Diouf, 1991) ; le système du complément ; les facteurs de la coagulation (la fibrine) (Haslett *et al.*, 2000).

### **I-1.5- Phases de l'inflammation**

Le processus inflammatoire quel que soit son origine s'effectue en différentes phases qui sont les suivantes :

- **Phase exsudative précoce** : Elle fait directement suite à l'agression. Cette phase associe les phénomènes vasculaires, tissulaires et cellulaires :
  - **Phénomènes vasculaires** : de l'ordre de minutes, ils sont caractérisés par des modifications de la microcirculation locale, induits par la libération de médiateurs humoraux préexistants (bradykinine, histamine, sérotonine...) ou néosynthétisés par les membranes de certaines cellules (prostaglandines, leucotriènes et « platelet activating factor »). Ces phénomènes vasculaires se caractérisent par une vasodilatation artérielle entraînant un érythème, une augmentation de la perméabilité vasculaire, d'où la rougeur des téguments, une hyperesthésie et l'hyperthermie locale (Haslett *et al.*, 2000).
  - **Phénomènes tissulaires** : Ce sont des conséquences directes des phénomènes vasculaires. Elles se caractérisent par une extravasation plasmatique et donc une infiltration tissulaire d'un liquide plus ou moins riche en fibrinogène, en albumine, et en globuline, d'où la tuméfaction, l'œdème, et épanchements, source de douleur (Haslett *et al.*, 2000).
  - **Phénomènes cellulaires** : Ces phénomènes concernent la migration extravasculaire (diapédèse) des leucocytes, des polynucléaires neutrophiles et monocytes (Haslett *et al.*, 2000). Cette succession d'événements au sein de la lésion inflammatoire entraîne : la phagocytose d'agents extérieurs ; la captation et la présentation d'antigènes ainsi que la production de radicaux libres.

- **Phase proliférative tardive** : Celle-ci intervient suite à la persistance de l'agression ou à la dénaturation des protéines endogènes, source de néo-antigènes déclenchant une réponse immunitaire. On constate alors un infiltrat cellulaire important avec prédominance de cellules mononucléées (macrophages, lymphocytes et plasmocytes). Cet afflux cellulaire, aggravé par un chimiotactisme positif, s'accompagne d'une hyperproduction de collagène, de néovascularisation et donc de fibrose tissulaire (Haslett *et al.*, 2000).
- **Phase de régénération** : Elle passe premièrement par une élimination de l'agent causal et des débris cellulaires et tissulaires du foyer inflammatoire de façon interne (phagocytose, pinocytose), externe (par les orifices naturels ou par formation d'abcès) et artificielle (incision chirurgicale). La phase de régénération passe ensuite par une cicatrisation, celle-ci dépend de l'importance de la perte de substance survenue à la phase aiguë. Le tissu conjonctif est construit de nouveau par la synthèse de collagène, la multiplication cellulaire (fibroblastes) et la néogénèse vasculaire à partir des capillaires persistants ou localisés en périphérie du site. La surproduction de tissu conjonctif lors de la cicatrisation aboutit à la formation de cicatrices hypertrophiques et de chéloïdes, également un défaut de détersion peut entraîner une persistance des phénomènes inflammatoires (chronicité) (Haslett *et al.*, 2000).

Les maladies qui résultent d'une réaction inflammatoire sont : les manifestations rhumatismales, poussées aiguës de l'arthrose, douleur, fièvres, états grippaux, les fractures, les stomatites, les lésions génitales et urinaires.

### **I-1.6- Anti-inflammatoires conventionnels**

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens.

#### **a. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

L'action antiinflammatoire des glucocorticoïdes comme la cortisone s'exerce grâce à des impacts multiples. Ils augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique. En outre, ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines et les ions superoxydes.

#### **b. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont constitués d'une vaste famille de produits chimiquement distincts qui se caractérise tous par leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et anti-agrégantes plaquettaires. Ils inhibent principalement le métabolisme de

l'acide arachidonique par la voie de la cyclo-oxygénase. Cependant d'autres effets doivent être évoqués, en particulier la diminution de la migration cellulaire, du métabolisme oxydatif ainsi que des actions sur divers constituants du tissu conjonctif (protéoglycane, glycoprotéine, collagène). Les groupes d'AINS sont principalement : les indoliques (Indométacine), les salicyclés (Aspirine, Aspegic), les pyrazolés (Phénylbutazone), les oxicams (Piroxicam, Ténoxicams), les propioniques (Ibuprofène), les dérivés de l'acide arylacétique (Voltarène), les phénylacétiques (Etodolac), les Anthraniliques (Nifluril), et l'acide méfénamique (Ponstyl).

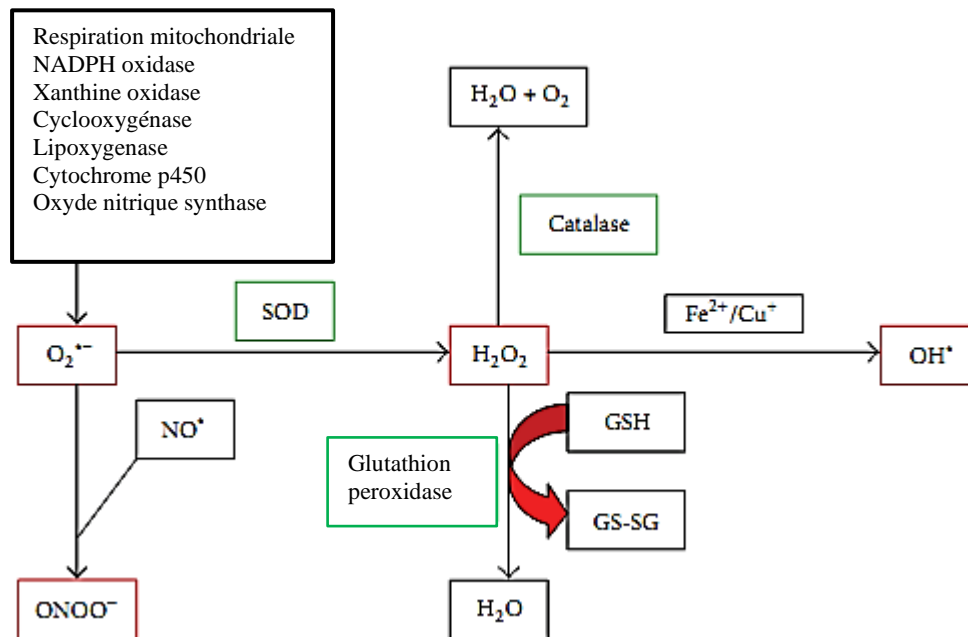
### **c. Limites des anti-inflammatoires conventionnels**

Les anti-inflammatoires bien qu'étant efficaces, présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation à long terme (Gaziano *et al.*, 2006). Les Effets secondaires des anti-inflammatoires sont d'ordre digestif (ulcère), rénal (rétention hydrosol), hépatique, cutanéomuqueuse, hématologique (cytopénie, atteinte médullaire), allergique. Plusieurs rapports ont montré que l'administration d'AINS augmente les risques de troubles des voies digestives, de lésions rénales, d'infection et de maladies cardiovasculaires (Bertagnolli *et al.*, 2006).

## **I-1.7- Inflammation, stress oxydant et maladies neurodégénératives**

### **a. Stress oxydant, antioxydant et oxydant**

Lorsqu'il y a surproduction d'espèces réactives instables dans l'organisme, il se produit des dommages sur l'ADN, la peroxydation des lipides ou encore la fragmentation des protéines (Chevalley, 2000). Pour minimiser les dommages oxydatifs, des systèmes antioxydants ont été développés. Les principales réactions pro-oxydant/antioxydant sont résumées à la figure 1. En fait, l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) produit à partir d'un certain nombre de sources agit comme espèce réactive primaire. L' $O_2^{\cdot-}$  réagit rapidement avec l'oxyde nitrique ( $NO\cdot$ ) pour produire du peroxynitrite ( $ONOO^-$ ), ou est catalysé par du superoxyde dismutase (SOD) pour produire du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ce dernier peut être neutralisé par la catalase ou la glutathion peroxydase. Cependant, en présence d'ions de métal de transition comme le fer ( $Fe^{2+}$ ) et le cuivre ( $Cu^{2+}$ ), les radicaux libres hydroxyles hautement toxiques ( $OH\cdot$ ) peuvent être produit à partir du  $H_2O_2$  via la réaction de Fenton (Subrata, 2016).



**Figure 1:** Principales réactions pro-oxydantes-antioxydantes pertinentes dans le système biologique (Subrata, 2016).

Superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) ; Oxyde nitrique ( $NO^{\cdot}$ ) ; peroxydrite ( $ONOO^-$ ) ; superoxyde dismutase (SOD) ; peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ; radicaux libres hydroxyles hautement toxiques ( $OH^{\cdot}$ ) ; glutathion réduit (GSH) ; glutathion oxydé (GS-SG). Les espèces réactives sont indiquées en rouge et les enzymes antioxydantes sont indiquées dans des cases vertes.

### b. Inflammation et stress oxydant

L'inflammation et le stress oxydant sont des processus physiopathologiques étroitement liés. L'un d'eux peut apparaître avant ou après l'autre, mais lorsque l'un d'eux apparaît, l'autre est le plus susceptible d'apparaître ; puis, tous deux participent à la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques (Subrata, 2016). Le stress oxydant a été impliqué dans de nombreuses maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, le cancer, les complications diabétiques, la maladie d'Alzheimer (Sesso *et al.*, 2008). Les cellules inflammatoires libèrent un certain nombre d'espèces réactives au site de l'inflammation, conduisant à un stress oxydatif exagéré (Collins, 1999). En effet, pendant le processus inflammatoire, les cellules phagocytaires activées comme les neutrophiles et les macrophages produisent de grandes quantités d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), d'espèces réactives d'azote (ERN) et de chlore, pour éliminer les agents envahisseurs (Fialkow *et al.*, 2007). Outre la production directe d'espèces réactives par les cellules phagocytaires, les cellules non phagocytaires peuvent également produire des espèces réactives en réponse aux cytokines pro-inflammatoires.

### **c. Stress oxydant et maladies neurodégénératives**

Le cerveau représente les 2% du poids corporel de l'organisme ; cependant, il utilise 20% de l'oxygène (O<sub>2</sub>) de l'organisme cellulaire (Kannan et Jain, 2000). Sa richesse en métaux de transition et en acide gras polyinsaturés potentiellement peroxydables et sa concentration relativement faible en enzymes antioxydantes en comparaison avec d'autres tissus le rend particulièrement exposé au stress oxydant. L'organisme normal gère les radicaux libres par des antioxydants et des enzymes antioxydantes. Cependant, la production excessive et l'accumulation non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) peuvent entraîner la destruction des composants cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN, et finalement, la mort par apoptose ou nécrose cellulaire (Kannan et Jain, 2000). Le stress oxydant modifie également les cellules et leurs mécanismes, provoquant une altération des propriétés cellulaires telles que la fluidité, le transport ionique, l'activité enzymatique et la réticulation des protéines (Liu *et al.* 2017). Il est l'un des principaux facteurs impliqués dans la pathogenèse des troubles neurodégénératifs, y compris la maladie d'Alzheimer (MA) (Liu *et al.* 2017).

### **I-1.8- Neuro-inflammation**

#### **a. Définition**

La neuroinflammation est une inflammation localisée qui se produit dans le système nerveux périphérique (SNP) et le système nerveux central (SNC) en réponse à un traumatisme, une neurodégénérescence, une infection bactérienne ou virale, une auto-immunité et des toxines (Xanthos *et al.*, 2014). Elle se caractérise par l'activation et l'infiltration des leucocytes, l'activation des cellules gliales et la production accrue des médiateurs inflammatoires (Xanthos *et al.*, 2014).

L'inflammation est de plus en plus reconnue comme un facteur causal dans la pathologie et la nature chronique des maladies du système nerveux central (SNC) (Block *et al.*, 2007). Des preuves de plus en plus nombreuses suggèrent un lien entre l'inflammation des neurones et la dysfonction neuronale dans la maladie d'Alzheimer (MA), orchestrée par l'activation progressive des cellules microgliales et des astrocytes avec la surproduction des molécules pro-inflammatoires qui en résulte (Tuppo et Arias., 2005). La MA peut être considérée comme un trouble inflammatoire chronique du système nerveux central (SNC) (Tuppo et Arias, 2005). La libération concomitante des médiateurs anti-inflammatoires antagonise les processus inflammatoires et conduit à la sévérité de la pathologie de la MA (Mir Hilal *et al.*, 2018). Les cytokines et chimiokines inflammatoires peuvent jouer un rôle vital dans l'apparition et le développement de la MA. De même, Les immunogènes formés par un dépôt anormal d'A $\beta$  chez les patients atteints de MA, entraînant l'activation de la

microglie, des astrocytes, du complément et la libération des cytokines inflammatoires, entraînent des lésions neuronales par les effets toxiques directs ou indirects de la réponse immunitaire chronique (Heneka *et al.*, 2010). Aux premiers stades de la MA, les voies neuroprotectrices, telles que la clairance de la plaque amyloïde et les mécanismes antioxydants contre la génération d'espèces réactives de l'oxygène, sont très efficaces (McNaull *et al.*, 2010). Cependant, avec la progression de la MA, le degré élevé de stress oxydatif régule à la hausse les médiateurs cellulaires du système immunitaire, entraînant une surproduction de molécules pro-inflammatoires et une inflammation du cerveau (Bagyinszky *et al.*, 2017). Les cellules du SNC telles que les neurones, les microglies et les astrocytes constituent ainsi la base de la neuroinflammation (Shastri *et al.*, 2013).

#### **b. Neuro-inflammation et Neurones**

En réponse à une lésion, les neurones produisent des molécules d'adhésion et des facteurs trophiques qui recrutent les cellules microgliales et astrocytaires (Ramberg *et al.*, 2011). Les neurones produisent une réponse inflammatoire en exacerbant les réactions inflammatoires locales entraînant leur propre destruction (Heneka *et al.*, 2010).

#### **c. Neuro-inflammation, microglies et maladie d'Alzheimer**

La microglie constitue le principal système de défense du SNC grâce à un programme d'activation conservateur évolutif qui peut produire de nombreux phénotypes neuroprotecteurs et neurotoxiques (Scuderi *et al.*, 2014). Dans leur forme au repos, les microglies effectuent la neurogenèse, la neuroprotection et l'élagage synaptique (Vinet *et al.*, 2012), mais leur persistante suractivation se traduit par une clairance de dépôts inefficace d'A $\beta$  par les microglies entraînant un état pro-inflammatoire (Johnston *et al.*, 2011). L'activation microgliale peut entraîner la progression de la MA à travers une séquence de suractivation et de up-régulation des facteurs pro-inflammatoires, du stress oxydatif et finalement de la neuroinflammation (Cai *et al.*, 2014). L'induction d'une réponse inflammatoire par la microglie entraîne la libération de cytokines neurotoxiques (Akiyama *et al.*, 2000), de même que la production et sécrétion de plusieurs médiateurs pro-inflammatoires, y compris la Tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine (IL) -6 et l'oxyde nitrique (NO, qui confèrent le début et/ou la progression de la MA (Cai *et al.*, 2014).

#### **d. Neuro-inflammation et astrocytes**

Dans les cerveaux aux derniers stades de la maladie d'Alzheimer et dans les cerveaux isolés de modèles animaux atteints de la MA, un nombre accru d'astrocytes (astrogliose) a été observé (Verkhatsky *et al.*, 2010). Ces signes d'astrogliose sont autour des dépôts  $\beta$  amyloïdes (Okabe *et al.*, 2012). Les astrocytes englobent les formes oligomères de l'A $\beta$  (Sollvander *et al.*, 2016). Cependant, ces astrocytes s'accumulent, ce qui entraîne des

protofibrilles annulaires extracellulaires qui provoquent une augmentation du stress oxydatif et une perte de neurones (Sollvander *et al.*, 2016). Les dommages et dysfonctionnements entre les astrocytes et les neurones environnants peuvent détruire l'homéostasie synaptique et déclencher une cascade de lésions neuronales (Avila-Muñoz *et al.*, 2014). Ces mécanismes pourraient entraîner une production accrue d'ERO et une perte d'astrocytes et éventuellement la mort des neurones (Sollvander *et al.*, 2016). Les astrocytes ont un rôle plus important et soutenu que la microglie dans la neuroinflammation durable (Li *et al.*, 2011), et contrairement à la microglie, les astrocytes sont capables d'éliminer et de dégrader l'A $\beta$  sans médiateurs ou stimuli tels que les opsonines ou les cytokines (Blasko *et al.*, 2004). Comme la microglie, les astrocytes libèrent des cytokines (par exemple, IL-1 $\beta$  ou IL-6), du NO et d'autres molécules potentiellement cytotoxiques après exposition aux  $\beta$  amyloïdes, exacerbant ainsi la réponse neuroinflammatoire (Cai *et al.*, 2014).

#### **e. Neuro-inflammation et cytokines**

Les caractéristiques pathologiques techniques du système nerveux central dans la MA comprennent la production des cytokines inflammatoires (González-Reyes *et al.*, 2017). Cette production s'observe à plusieurs niveaux : Les astrocytes et les microglies produisent quelques cytokines pro-inflammatoires (Mir Hilal *et al.*, 2018) parmi lesquels le TNF- $\alpha$  (Zhao *et al.*, 2011) ; IL-1 $\beta$  (Kitazawa *et al.*, 2011) ; IL-6 ; IL-8 (Spooren *et al.*, 2011) ; IL-18 et IL-23 (Sutinen *et al.*, 2012). Tandis que les dépôts  $\beta$  amyloïdes entraînent la production des médiateurs inflammatoires tels que les interleukines [(IL -1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 et IL-23), l'interféron (IFN- $\gamma$ ), le TNF- $\alpha$ , et le granulocyte-macrophage colony-stimulating-factor (GM-CSF)] (Von Bernhardt *et al.*, 2010), les chimiokines (protéine chimiotactique monocyttaire 1 (MCP-1), MCP-113, fractalkine) (Wu *et al.*, 2013), les récepteurs CD36 et les récepteurs de type NOD (NLR) (Bamberger *et al.*, 2003).

### **I-1.9- Relation inflammation et douleur**

L'un des principaux liens qui existe entre l'inflammation et la douleur vient du fait que la douleur est un signe cardinal de l'inflammation (Sollvander *et al.*, 2016). L'histamine, la bradykinine et les prostaglandines (PGE1, PGF) qui sont des médiateurs inflammatoires, interviennent également au cours du processus douloureux (Ru-Rong *et al.*, 2016).

### **I-2- Douleur**

#### **I-2.1- Définition et types de douleur**

La douleur est définie comme une « constellation complexe d'expériences sensorielles, émotionnelles et cognitives désagréables provoquées par des lésions tissulaires réelles ou perçues et se manifestant par certaines réactions autonomes, psychologiques et comportementales » (Terman et Bonica, 2003). Elle résulte de processus physiologiques

complexes déclenchés lorsque les terminaisons nerveuses périphériques libres réagissent à des stimuli nociceptifs de natures diverses : brûlure, piqûre, pincement, compression, agents algésiques de nature physique et chimique, produits toxiques.

Les estimations de la prévalence de la douleur au niveau de la population varient considérablement d'une étude à l'autre dans le monde. Selon une étude de prévalence de la douleur non spécifiée chez les adultes âgés de plus de 25 ans dans 52 pays en utilisant les données de l'Enquête mondiale sur la santé de 2002 à 2004, La prévalence globale pondérée de la douleur, normalisée selon l'âge et le sexe, a été estimée à 27,5 %, avec des variations significatives d'un pays à l'autre (de 9,9 % à 50,3 %). Les femmes, les personnes âgées et les habitants des zones rurales étaient significativement plus susceptibles de déclarer des douleurs (Zachary *et al.*, 2022).

Il existe plusieurs types de douleurs :

- **La douleur par excès de nociception (douleur nociceptive)** : Elle est due à une hyperstimulation des terminaisons libres, entraînant une hyperesthésie ou hyperalgésie. Le stimulus peut être mécanique (douleur osseuse), chimique (douleur de l'ulcère, goutte aiguë) ou inflammatoire (dépôt d'urate par production de médiateurs endogènes tels que les kinines, les prostaglandines, la sérotonine, l'histamine). Le siège se trouve au niveau du foyer lésionnel ou à distance (douleur référée ou projetée). Cette douleur est sensible aux inhibiteurs des prostaglandines comme les AINS (Bourin *et al.*, 1993) ;
- **La douleur neurogène** : Elle survient à la suite d'une lésion périphérique médullaire ou centrale (traumatisme, troubles métaboliques ou ischémiques), elle résulte également d'un dysfonctionnement de la transmission de messages ; c'est le cas de brûlure, d'une décharge électrique, d'un coup de poignard, d'une hyperpathie. La douleur neurogène est peu sensible aux antalgiques, elle est plutôt traitée par les antidépresseurs ;
- **La douleur psychologique ou psychopathologique** : elle relève de la psychologie, et n'est pas traitée par les antalgiques (Bourin *et al.*, 1993) ;
- **La douleur mixte** : qui associe une composante inflammatoire et une composante mixte comme dans les lombosciatiques ou après une intervention chirurgicale ;
- **La Douleurs *sine materia*** (sans substrat organique identifié).  
On peut également distinguer en fonction de la durée deux types de douleur :
  - ❖ **La douleur aiguë** : également appelée douleur nociceptive, qui est protectrice et constitue une caractéristique cardinale de l'inflammation (Ru-Rong Ji *et al.*, 2016) ;
  - ❖ **La douleur chronique** : Elle fait suite à une arthrite, une lésion nerveuse, un cancer et une chimiothérapie. Cette douleur est associée à une neuroinflammation chronique, une inflammation locale dans le système nerveux périphérique ou central (Ru-Rong Ji *et al.*, 2016). Une accumulation de preuves suggère que les cellules non neuronales telles que les



cellules immunitaires, les cellules gliales, les kératinocytes, les cellules cancéreuses et les cellules souches jouent un rôle actif dans la pathogenèse et la résolution de la douleur (Ru-Rong Ji *et al.*, 2016).

### **I-2.2- Médiateurs de la douleur**

La majorité des médiateurs inflammatoires connus provoquent la douleur en se liant à leurs récepteurs sur les neurones sensoriels primaires nociceptifs du système nerveux périphérique (SNP) (nocicepteurs) qui innervent les tissus lésés de la peau, des muscles et des articulations (Xanthos *et al.*, 2014). Quelques médiateurs de la douleur sont : L’histamine, la bradykinine, les prostaglandines (PGE1, PGF), les enképhalines (neuropeptides impliqués dans l’analgésie morphinique, ils sont de deux types : La leucine-enképhaline et la méthionine enképhaline), la substance P (peptide) et la sérotonine (Pieri, 1992).

### **I-2.3- Traitement conventionnel de la douleur**

Les antalgiques conventionnels sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations contrairement aux anesthésiques. On distingue les antalgiques centraux et les antalgiques périphériques.

#### **a. Antalgiques centraux ou majeurs**

Il s’agit de la morphine et ses dérivés, ainsi que des analgésiques de synthèse dont la structure est dérivée de celle de la morphine. La morphine agirait directement sur la transmission de l’influx douloureux au niveau médullaire et indirectement au niveau du tronc cérébral par renforcement des contrôles inhibiteurs. Les effets multiples morphiniques sont expliqués par l’existence de divers récepteurs mu ( $\mu$ ), et kappa (K). Sur le plan biochimique, il se produit un déplacement des enképhalines vers leurs récepteurs. Les régions les plus sensibles sur la conscience et la sensation de la douleur sont les structures du cerveau moyen (régions aqueducule et peri- ventriculaire ainsi que le noyau médullaire du raphé). Il existe de nombreuses formes d’analgésiques classées en trois groupes : les analgésiques opioïdes (morphine et codéine) ; les analgésiques non opioïdes (AINS ; aspirine, diclofénac) et les analgésiques adjuvants, qui sont généralement des composés utilisés à des fins autres que la douleur, mais qui pourraient être prises dans certaines circonstances.

#### **b. Antalgiques périphériques**

Ils regroupent des composés chimiques très hétérogènes et agissent localement au niveau du stimulus douloureux, leur mode d’action souvent proche fait intervenir pour l’essentielle l’inhibition de prostaglandines. Ce sont :

- Les antalgiques purs comme les phénines Floctaphénine : Idarac

- Les antalgiques antipyrétiques,
  - Les anilides, Paracétamol : Doliprane
  - Les pyrazolés Aminophénazone : Pyramidon Méthane sulfonate sodique de noramidopyrine : Novalgine
  - Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

#### **I-2.4- Limites des traitements conventionnels contre la douleur**

Les effets secondaires indésirables qui peuvent apparaître suite à une prise d'analgésiques peuvent être les manifestations dysphoriques, l'effet émétisant, la constipation, la dépression respiratoire, l'hypotension orthostatique, la rétention urinaire, l'effet toxicomanogène, la dilatation veineuse, l'hypovolémie, les sueurs, la sécheresse buccale, les hallucinations... (Bourin *et al.*, 1993).

### **I-3- Système nerveux**

Le système nerveux est le centre de régulation et le réseau de communication pour les informations concernant l'ensemble de l'organisme.

#### **I-3.1- Organisation générale du système nerveux**

On distingue 2 grands systèmes :

- **Le système nerveux central** : ensemble des centres nerveux qui sont chargés d'assurer le bon fonctionnement des différents appareils (centre de régulation). Il est composé de 2 structures : l'encéphale et la moelle épinière (axe cérébro-spinal).
- **Le système nerveux périphérique** : C'est la partie du système nerveux formée des ganglions et des nerfs à l'extérieur du cerveau et de la moelle épinière.

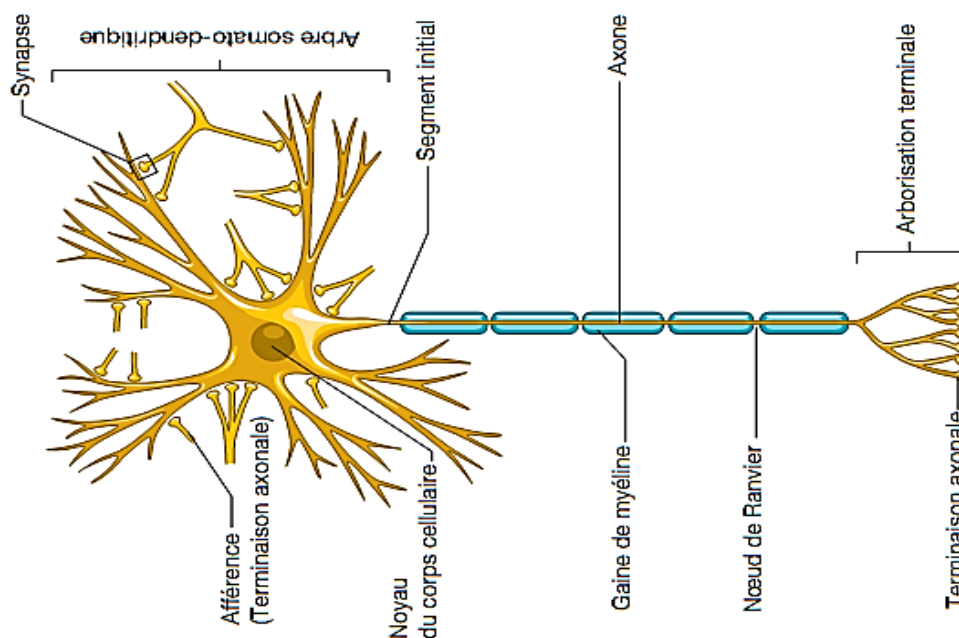
#### **I-3.2- Histologie du système nerveux**

##### **a. Cellules gliales**

Les cellules gliales sont des cellules de soutien et d'enveloppement du système nerveux central. Elles assurent les fonctions d'un tissu conjonctif (soutien, échange et nutrition). On distingue plusieurs types de cellules gliales : les oligodendrocytes (fabrication de la myéline), les épendymocytes (cellules épithéliales qui vont former le revêtement des ventricules cérébraux et du canal de l'épendyme), les astrocytes (soutiennent les cellules endothéliales de la barrière hémato-encéphalique, maintiennent l'équilibre ionique et fournissent des nutriments aux neurones (Morales *et al.*, 2014), les microglies [(cellules immunitaires qui interviennent dans la mise en forme de la connectivité synaptique neuronale, l'élimination des neurones redondants ou apoptotiques, dans le développement et la régulation de la transmission synaptique (Wu *et al.*, 2013)].

## b. Neurone

Le neurone (Figure 2) est l'unité structurale et fonctionnelle du système nerveux. C'est une cellule hautement spécialisée dont le nombre est défini à la naissance. Par contre, un certain nombre de ces cellules n'atteint pas sa maturité à la naissance et ne se reproduisent pas. Les parties d'un neurone sont : le corps cellulaire, les dendrites et l'axone.



**Figure 2** : Schéma d'un neurone

### I-3.3- Mémoire

La mémoire est la fonction qui permet à l'Homme de capter, stocker et restituer les stimulations et informations qu'il perçoit. La perte partielle ou totale de cette fonction appelée amnésie, est souvent caractéristique de démence. Selon la durée de conservation de l'information, on distingue plusieurs types de mémoire :

- **La mémoire sensorielle**, qui conserve très brièvement l'information issue de l'environnement (quelques centaines de millisecondes à 2 secondes). Cette information est ensuite filtrée avant d'être transmise à la mémoire à court terme.
- **La mémoire à court terme**, également baptisée « mémoire de travail » ou « mémoire immédiate » ou « mémoire primaire », correspond à la capacité de saisir une information et à la restituer immédiatement. Elle est sollicitée en permanence. C'est une mémoire qui nous offre la capacité de retenir, pendant une durée comprise entre une et quelques dizaines de secondes, jusqu'à 7 éléments d'information en moyenne. Elle rend très active certaines régions du cerveau comme le lobe préfrontal.
- **La mémoire à long terme** : Elle stocke les informations pendant une longue période et même pendant toute la vie (Squire, 2009). D'une capacité considérable, elle est dépositaire

de nos souvenirs et de nos apprentissages. Le passage de la mémoire à court terme à la mémoire à long terme s'effectue grâce à l'hippocampe, situé dans le repli du lobe temporal. La mémoire à long terme regroupe la mémoire épisodique et la mémoire sémantique, d'une part, et la mémoire procédurale et la mémoire déclarative, d'autre part.

#### **a. Processus de mémorisation**

La mémoire repose sur trois processus : l'encodage (grandement influencée par l'attention et la motivation, permet au cerveau d'enregistrer l'information), le stockage ou consolidation et la récupération (Mc Gauh, 2000).

#### **b. Structures cérébrales impliquées dans la mémoire**

De nombreuses structures cérébrales sont impliquées dans la mémoire explicite, notamment :

- **Les récepteurs sensoriels (visuels, auditifs, tactiles) :** qui reçoivent l'information, la transmettent au cerveau sous forme de potentiel d'action à travers des réseaux de neurones afférents, la traitent et l'acheminent via des réseaux de neurones bien structurés vers le système limbique (Laflamme, 2000) ;
- **Les neurones corticaux :** qui distribuent les influx dans deux réseaux parallèles destinés à l'hippocampe ;
- **L'hippocampe :** qui reçoit toutes les informations décodées dans les aires sensorielles du cortex. L'hippocampe est formé de 3 composantes principales (le gyrus denté, la corne d'amont constitué des neurones CA1, CA2, CA3 et le subiculum) ;
- **La voie des faisceaux perforants et la voie de la fimbria-formix :** qui sont des systèmes d'entrée-sortie liant l'hippocampe aux structures corticales. Le cortex rhinal (entorhinal et perirhinal) et le corps amyloïde ont pour rôle de répéter les potentiels d'action à l'hippocampe jusqu'à ce que celle-ci décide de les accepter ou non (ainsi naît la mémoire à court terme) (Laflamme, 2000). L'hippocampe génère des potentiels d'action qui seront acheminés vers le cortex cérébral, où l'information sera conservée définitivement sous forme de neurotransmetteurs au cœur des synapses (ainsi prend place la mémoire à long terme) (Laflamme, 2000).

#### **c. Mécanisme moléculaires et cellulaires de la mémorisation**

L'activité électrique cérébrale lors de l'apprentissage, se fraye progressivement un chemin dans les réseaux nerveux en entraînant des modifications cellulaires ou connexions biochimiques des neurones activés, de sorte que la force des connexions synaptiques augmente (Libé-Philippot, 2017). L'acétylcholine (ACh) sécrétée par les neurones au niveau des terminaisons synaptiques est rapidement dégradée par une enzyme nommée

l'acétylcholinestérase (AChE). La conséquence de l'action excessive de l'AChE c'est la diminution de l'ACh qui entraîne des troubles de la mémoire. L'apprentissage et la mémoire peuvent être améliorés en augmentant le niveau d'ACh dans le cerveau (Zhang *et al.*, 2004).

### **I-3.4- Maladies neurodégénératives**

Les maladies neurodégénératives sont définies comme des affections sporadiques caractérisées par un dysfonctionnement progressif du système nerveux (Gitler *et al.*, 2017). Elles surviennent lorsque les cellules nerveuses du cerveau ou du système nerveux périphérique perdent leur fonction au fil du temps et finissent par mourir. Ces troubles sont souvent associés à une atrophie des structures centrales ou périphériques affectées du système nerveux. Les maladies neurodégénératives sont : la maladie de Parkinson ; la maladie de Kreutzfeld-Jakob ; la maladie de Huntington ; la sclérose amyotrophique latérale ; la démence frontolatérale ; l'ataxie spinocérébrale ; la maladie d'Alzheimer (Gitler *et al.*, 2017).

#### **I-3.4.1- Démences**

Les troubles de la mémoire sont définis comme une perte de la capacité à interférer avec les activités professionnelles et sociales, les relations en raison de la présence de trouble important de la conscience ou d'implication motrice (Parle *et al.*, 2011).

La démence renvoie à une détérioration globale des fonctions cognitives d'une gravité suffisante pour avoir des répercussions sur la vie quotidienne de la personne atteinte. À l'échelle mondiale, en 2016, les décès dus à la démence représentaient environ 4,4% du nombre total de décès, mais 8,6% des décès chez les personnes âgées de plus de 70 ans, environ 2,2 millions de décès (Naghavi *et al.*, 2017). On estime à 50 millions, le nombre de personnes atteintes de démences dans le monde et 152 millions à l'horizon 2050, parmi lesquelles 60 à 70 % sont atteintes de la maladie d'Alzheimer (Wu *et al.*, 2017). Au Cameroun, la démence a causé environ 1811 morts en 2016, avec environ 26814 cas recensés (Hay *et al.*, 2016).

#### **I-3.4.2- Maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer (MA) est un trouble neurologique irréversible progressif qui entraîne une perte de mémoire, un comportement inhabituel, des changements de personnalité et une perte de la capacité de penser (Farooqui, 2017). C'est le type de démence le plus courant liée à l'âge et qui montre une prévalence croissante en raison du vieillissement de la population (Aliev *et al.*, 2019). La MA est la cause de 60 à 80% des cas de démence (Nour *et al.*, 2022) et a été officiellement classée comme la septième cause de décès en 2020 et 2021, lorsque le COVID-19 est entré dans la liste des dix premières causes de décès (Alzheimer's association, 2022). Entre 2000 et 2019, les décès déclarés dus à la maladie d'Alzheimer ont augmenté de plus de 145 %. Plus de 11 millions de membres de la famille et d'autres aidants

non rémunérés ont fourni environ 16 milliards d'heures de soins à des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ou d'autres démences en 2021. Les soins non rémunérés prodigués aux personnes atteintes de démence ont été évalués à 271,6 milliards de dollars en 2021 (Alzheimer's association, 2022).

La MA est caractérisée par une perte neuronale progressive, mais les mécanismes de mort cellulaire à différents stades de la maladie restent inconnus (Darya *et al.*, 2019). Les symptômes de la maladie d'Alzheimer sont : les troubles de mémoire ; les difficultés à effectuer les tâches familières, les troubles du geste (apraxie), les troubles du langage et de la compréhension (aphasie), les troubles de la reconnaissance (agnosie), la désorientation dans l'espace et le temps, les errances ; troubles de l'abstraction ; objets égarés ; changement d'humeur (labilité émotionnelle) ou de comportement ; changement de personnalité et manque d'enthousiasme ; hallucinations et délires ; incontinence (Lise *et al.*, 2003).

#### **a. Facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer**

La présence d'un facteur de risque détermine l'apparition de la maladie. Les personnes à faible facteur de risque présenteront un déclin cognitif plus tardivement que celles à facteur de risque élevé (Ana, 2019). Plusieurs facteurs favorisent l'installation et la progression de la MA, notamment :

- **Les facteurs génétiques** : les mutations de plusieurs gènes tel que le gène de l'apolipoprotéine  $\epsilon 4$ , le gène « Amyloid precursor protein » (APP) et les gènes de préséniline peuvent augmenter les risques de développer la maladie d'Alzheimer (Bertram *et al.*, 2007) ;
- **L'âge** : l'augmentation de l'âge semble liée à une augmentation exponentielle de la fréquence de la maladie. A partir de 60 ans, la prévalence double tous les 5 ans (Moreau, 2011) ;
- **Le niveau d'éducation** : le lien entre le niveau d'éducation et la maladie d'Alzheimer s'explique par le maintien d'une réserve cognitive qui permettrait de compenser l'arrivée des premiers symptômes ;
- **Le genre** : les femmes sont plus à risques de développer la maladie que les hommes (Katzman et Kawas, 1994) ;
- **Les risques cardiovasculaires** : l'artériosclérose et les ischémies cérébrales peuvent être impliquées dans la physiopathologie de la maladie (Snowdon *et al.*, 1997) ;
- **Les traumatismes crâniens** : Le cerveau des boxeurs présente des dégénérescences neuro-fibrillaires identiques à celles retrouvées dans le cerveau des patients atteints de maladie d'Alzheimer. Ceci suggère que les traumatismes crâniens pourraient favoriser la survenue de la maladie ;

- **L'âge des parents** : des études ont rapporté des associations entre la maladie d'Alzheimer et un âge avancé de la mère à la naissance du patient ;
- **Causes environnementales** : on suppose que la forme tardive de la maladie d'Alzheimer résulte de facteurs environnementaux inconnus agissant sur un fond de prédisposition génétique. Quelques études épidémiologiques ont suggéré un lien faible entre l'exposition à l'aluminium sous diverses formes, notamment alimentaires, et la survenue de maladie d'Alzheimer. Mais cette association n'est pas retrouvée dans toutes les études.

D'autres facteurs étiologiques sont associés à des troubles de la mémoire tels que le stress oxydatif, l'hypercholestérolémie, l'ischémie cérébrale, la défaillance énergétique, la surcharge en calcium, l'excitotoxicité induite par le glutamate et les changements fonctionnels (Wang *et al.*, 2009).

### **b. Facteurs protecteurs de la maladie d'Alzheimer**

Des travaux récents suggèrent un certain nombre de facteurs protecteurs contre la maladie d'Alzheimer, il s'agit de :

- **La prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens** : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) semblent, dans une certaine mesure, apporter une protection contre le développement de la maladie d'Alzheimer ;
- **La consommation de vin** : la consommation régulière et modérée de vin a un effet protecteur, et améliore, sous certaines conditions, les performances cognitives. Toutefois, la consommation excessive d'alcool est toxique pour les neurones ;
- **Le niveau d'éducation** : Le niveau d'éducation semble avoir une influence sur l'altération des fonctions cognitives et la démence. Chez les sujets à niveau d'éducation élevé, bénéficiant potentiellement de plus grandes réserves neuronales, la perte neuronale due à la maladie d'Alzheimer s'exprimerait cliniquement plus tardivement ;
- **Les traitements hormono-substitutifs (THS)** : plusieurs études récentes ont montré que la prise de traitement hormono-substitutifs de la ménopause semblait être associée à une réduction de plus de 50% du risque de maladie d'Alzheimer ;
- **La consommation de tabac** : Plusieurs études cas témoins ont observé que le risque de maladie d'Alzheimer semblait réduit d'environ 20% chez les fumeurs.

### **c. Evolution de la maladie d'Alzheimer**

Les troubles cognitifs dans la MA se caractérisent par leur aspect évolutif ; de ce fait, on distingue trois stades dans la maladie d'Alzheimer : stade léger (ou premier stade), stade modéré (ou deuxième stade), stade avancé (ou troisième stade) (Solomon, 2005).

- **Stade léger de la maladie :** Il dure 2 à 4 années marquées par la destruction des neurones du système limbique, particulièrement ceux de l'hippocampe, avec une perte de 25 % du volume de l'hippocampe ; seuls les neurones cholinergiques impliqués dans la mémorisation sont détruits (Laflamme, 2000). Cette perte de neurones se manifeste chez le patient par des oublis bénins et par la baisse de la faculté à mémoriser de nouvelles informations.
- **Stade modéré :** Il dure 2 à 10 années au cours desquelles l'hippocampe continue progressivement à perdre des neurones et plusieurs autres zones cérébrales sont endommagées ; ces dommages se manifestent chez le patient par une altération profonde de la mémoire à court et à long terme et des troubles du comportement (changements de personnalité, confusion, tristesse, colère, troubles de la concentration et de l'orientation) (Laflamme, 2000) ;
- **Stade sévère :** Il dure 3 ans. La neurodégénérescence du système limbique progresse, avec 90 % de dégénérescence des cellules hippocampiques. A ce stade, les neurones cholinergiques du cortex sont détruits ainsi que les souvenirs qui y sont stockés, rendant ainsi la récupération impossible (Laflamme, 2000). Cette neurodégénérescence se manifeste chez le patient par des troubles du langage oral et écrit et par des troubles de la compréhension, de la motricité, incontinence et une perte totale de l'autonomie.

#### **d. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la formation de plaques amyloïdes extracellulaires et d'enchevêtrements neuro-fibrillaires intracellulaires (NFT) (Tiraboschi *et al.*, 2004), des troubles de la mémoire, accompagnés de dégénérescence des neurones cholinergique du cerveau antérieur basique cortical (Ferreira-Vieira *et al.*, 2016). La maladie d'Alzheimer est un trouble multifactoriel où des plaques bêta-amyloïdes (A $\beta$ ), la dysrégulation du Ca<sup>2+</sup>, le stress oxydatif excessif, le dysfonctionnement mitochondrial et la perte synaptique agissent en synergie pour provoquer des déficits cholinergiques et la démence (Saravanaraman *et al.*, 2020). La formation d'agrégats de protéines pathologiques intra et extracellulaires caractéristiques de la maladie d'Alzheimer impose un stress aux neurones et provoque des événements cytotoxiques, qui incluent une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène, un dysfonctionnement synaptique, une excitotoxicité, un stress endoplasmique-réticulum, des systèmes de dégradation des protéines altérés, un dysfonctionnement mitochondrial, des dommages à l'ADN, ainsi qu'une inflammation (Chi *et al.*, 2018).

L'accumulation des plaques amyloïdes autour des neurones, provoquent des anomalies du fonctionnement synaptique, qui perturbent le fonctionnement mitochondrial et diminuent



les niveaux de l'acétylcholine (Bronzuoli *et al.*, 2016). Le dépôt de NFT entraîne la mort des cellules neuronales, la déstabilisation des microtubules et la dégénérescence des membranes (Whittington *et al.*, 2017). La progression de la pathologie de type Alzheimer s'accompagne aussi d'une activation de l'apoptose et de la nécroptose résultant d'une baisse de la protéostase médiée par l'autophagie (Darya *et al.*, 2019).

### **I-3.5- Méthodes d'induction de la maladie d'Alzheimer**

Différentes méthodes, utilisant des produits chimiques, ont été utilisées pour induire des symptômes de type Alzheimer chez les rongeurs afin de dépister de nombreux médicaments thérapeutiques pour une variété de dysfonctionnements cognitifs (Mahdi *et al.*, 2019). Certains de ces produits chimiques sont les métaux lourds (tels que l'aluminium, le cuivre, le zinc, le plomb), les sucres réducteurs (D-galactose), la scopolamine, l'éthanol, la colchicine, la streptozotocine, le lipopolysaccharide et l'acide okadaïque (Mahdi *et al.*, 2019).

### **I-3.6- Traitement de la maladie d'Alzheimer**

Bien que les traitements puissent aider à soulager certains des symptômes physiques ou mentaux associés aux maladies neurodégénératives, il n'y a actuellement aucun moyen de ralentir la progression de la maladie et aucun remède connu. Les médicaments anti-Alzheimer actuellement disponibles appartiennent à deux classes : les inhibiteurs d'acétylcholinestérase et les antiglutamates (Salloway, 2009). Cependant plusieurs composés sont utilisés pour manager les symptômes de la maladie d'Alzheimer, c'est le cas des :

- **Anticholinestérasiques** : les inhibiteurs d'AChE augmentent le niveau d'ACh dans le cerveau, nécessaire pour la communication des cellules nerveuses. La tacrine, le donépézil (Aricept®), la rivastigmine (Exelon®) ou la galantamine (Reminyl®). Ce traitement n'est efficace que s'il est mis sur pied dans les stades précoces de la maladie. Plusieurs composés d'origine végétale présentent une activité anticholinestérase dans des études précliniques (Pinho *et al.*, 2013). La huperzine A, un alcaloïde extrait de la plante *Huperzia serrata*, a été identifié dans les années 1980 comme un puissant inhibiteur de l'acétylcholinestérase ;
- **Mémantine** : supprime l'effet nocif d'une concentration trop élevée de glutamate en bloquant son action sur les récepteurs NMDA. Ce blocage améliore la transmission entre les neurones et la fonction cérébrale ;
- **Piracetam** : Le piracétam module la neurotransmission cholinergique, sérotoninergique, noradrénergique et glutamatergique, bien que le médicament ne présente une affinité élevée pour aucun des récepteurs associés.
- **La thérapie de remplacement des œstrogènes** pour la prévention du déclin cognitif et le maintien normal des fonctions cérébrales est un sujet débattu (Engler-Chiurazzi *et al.*, 2016) ;

- **Les isoflavones** (génistéine, daïdzéine, glycitine) trouvées en forte concentration dans le soja, améliorent la mémoire et la cognition (Kridawati *et al.*, 2016), leur prétendue activité bénéfique semble être attribuable à l'agonisme œstrogénique via les récepteurs bêta présents dans le cerveau (Mecocci *et al.*, 2014) ;
- **Les flavonoïdes**, elles exercent une activité antioxydante, anti-inflammatoire et neuroprotectrices (Magalingam *et al.*, 2015) ;
- **Le traitement hormonal substitutif** : Les progestatifs et les androgènes peuvent jouer un rôle dans le contrôle des troubles de l'humeur (Genazzani *et al.*, 1999). Les effets positifs des œstrogènes sur l'humeur sont probablement liés à leur action stimulante sur le tonus adrénergique et sérotoninergique. L'administration d'œstrogène augmente le flux sanguin cérébral et cérébelleux total, l'administration de glucose cérébral et améliore le tonus cholinergique (Genazzani *et al.*, 1999).
- **Les anti-inflammatoires** (AINS) induisent des effets protecteurs chez les patients atteints de MA (Calsolaro et Edison, 2016). Ils diminuent la progression de la MA en réduisant les processus inflammatoires dans le cerveau, en inhibant la réponse inflammatoire des microglies et/ou des astrocytes, en réduisant la mort cellulaire due à l'excitotoxicité médiée par le glutamate (Morales *et al.*, 2014).

#### **I-3.6.1-Limites des traitements**

Les médicaments conventionnels anti-Alzheimer possèdent des effets indésirables (vomissements, diarrhées, hémorragies, syncopes, troubles de sommeil, vertiges, perte d'appétit...) (HAS, 2011). Les effets secondaires du piracétam occasionnellement rapportés (anxiété, insomnie, agitation, irritabilité et tremblements) sont identiques aux symptômes d'une neuroactivité excessive acétylcholine / glutamate (Goulliaev et Senning, 1994).

#### **I-3.6.2- Mesures préventives**

Divers facteurs comme les anti-inflammatoires, les hypocholestérolémiants, la vitamine E, l'acide folique, une substitution hormonale, la caféine, le vin rouge, ainsi que l'activité physique et mentale régulière peuvent avoir un effet préventif contre l'apparition d'une démence ou empêcher sa progression. De même, certaines stratégies thérapeutiques ou recommandations diététiques peuvent être mises en œuvre à titre de mesure préventive qui cible avec succès l'inflammation en cours (Mir Hilal *et al.*, 2018). Une approche de cocktail combinatoire est suggérée comme intervention rationnelle pour atténuer l'inflammation chronique et conférer une neuroprotection dans la maladie d'Alzheimer (Mc Larnon, 2019).

#### **I-4- Hormones ovariennes, ménopause, ovariectomie et mémoire**

La société actuelle étant de plus en plus reconnue comme une société vieillissante, une attention accrue est accordée à l'état de santé des personnes âgées. La grande majorité des femmes subissent un arrêt spontané des règles entre 47 et 55 ans, lorsque la production d'œstrogènes diminue en raison d'un manque de follicules ovariens fonctionnels ou d'une ablation chirurgicale des deux ovaires. Les changements physiologiques associés à la ménopause provoquent des symptômes inconfortables chez certaines femmes. Plus important encore, la privation en œstrogènes résultant de la ménopause, en association avec des facteurs liés à l'âge, augmente de manière disproportionnée le risque de nombreuses maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer (Yaffe *et al.*, 1998).

Le système nerveux central est une cible importante pour les hormones stéroïdes sexuelles. De nouvelles preuves cliniques suggèrent que les œstrogènes exercent un effet neuroprotecteur sur les maladies dégénératives et les lésions cérébrales (Cho *et al.*, 2003). Cependant, pendant la période climatérique, le déclin rapide des stéroïdes gonadiques provoque des changements neuroendocriniens dans différentes régions du cerveau. L'échec de la production d'hormones gonadiques entraîne des symptômes spécifiques dus à un trouble du système nerveux central. Au niveau hypothalamique, le sevrage des œstrogènes entraîne des symptômes vasomoteurs, des troubles du comportement alimentaire et une modification du contrôle de la pression artérielle (Genazzani *et al.*, 1999). Les troubles psychologiques tels que la dépression, l'anxiété, l'irritabilité et la fluctuation de l'humeur sont liés à des modifications du système limbique induites par les œstrogènes. Les atteintes du système nerveux dues au manque d'œstrogènes évoluent avec le temps. Elles commencent par l'anxiété, la dépression et les pertes de mémoire qui conduisent à la maladie d'Alzheimer (Genazzani *et al.*, 1999).

Les résultats des études animales fournissent également une justification solide pour l'utilisation de l'hormonothérapie substitutive (THS) dans la prévention de la démence et de la maladie d'Alzheimer (Dubal *et al.*, 1998). Cependant, les résultats de l'étude sur la mémoire de la « Women's Health Initiative » (WHIMS) indiquent que le THS (œstrogène plus progestatifs ou œstrogène seuls) augmente le risque de démence (Gandy, 2003). Compte tenu des événements indésirables pour la santé, associés à l'utilisation d'œstrogènes plus progestatifs ou d'œstrogènes seuls, le THS ne peut pas être recommandé comme traitement prophylactique sûr et efficace pour les maladies neurodégénératives, en particulier aux stades de développement (Gandy, 2003).

Des études sur l'Homme ont démontré que le taux de prévalence à vie des troubles de l'humeur est environ deux fois plus fréquent chez la femme que chez l'homme (Ter Horst *et al.*, 2009). Le risque accru de troubles affectifs chez la femme est lié aux changements

hormonaux prémenstruels, post-partum et hypoestrogéniques dus à une chirurgie thématique ou à la ménopause (Walf *et al.*, 2009). De plus, des niveaux très faibles d'estradiol ou des niveaux très élevés étaient associés à une altération de la capacité spatiale (Patki *et al.*, 2013).

Les hormones ovariennes circulantes jouent non seulement un rôle pivot dans le comportement reproducteur et la différenciation sexuelle, mais contribuent également à l'émotion, à la mémoire, à la survie neuronale et à la perception des stimuli somatosensoriels (Amandusson *et al.*, 2013). L'ovariectomie (OVX) entraîne une baisse soudaine des hormones ovariennes circulantes, y compris l'oestradiol (E2), créant une « ménopause chirurgicale ». Chez l'homme (Rocca *et al.*, 2007) et chez l'animal (Daniel *et al.*, 2006), la perte d'hormone ovarienne à long terme après la ménopause chirurgicale est associée à une altération cognitive. Alors que la thérapie E2 initiée peu de temps après l'OVX est protectrice (Rocca *et al.*, 2007).

La perte d'hormones ovariennes à long terme après l'OVX entraîne des déficits d'apprentissage dépendants de l'hippocampe (Daniel *et al.*, 2006). Ainsi, l'hippocampe des rats ovariectomisés (OVX) est un modèle raisonnable pour évaluer la perte d'hormones ovariennes induisant des changements pertinents pour la cognition.

Les changements dans les fonctions cognitives peuvent résulter de changements dans la transmission synaptique. En effet, les manipulations pharmacologiques ou génétiques qui renforcent la transmission synaptique CA3 – CA1 améliorent l'apprentissage et la mémoire dépendant de l'hippocampe (Knafo *et al.*, 2012). Inversement, une détérioration de la transmission synaptique CA3 – CA1 entraîne des déficits d'apprentissage et de mémoire dépendant de l'hippocampe (Puoliva *et al.*, 2002). La force synaptique réduite aux synapses CA3 – CA1 pour les rats OVX altérerait considérablement la fonction hippocampique, ce qui en ferait un mécanisme cellulaire plausible sous-tendant la déficience cognitive chez les animaux OVX (Daniel *et al.*, 2006) et les femmes chirurgicalement ménopausées (Rocca *et al.*, 2007). L'ovariectomie induit également une baisse de l'activité sérotoninergique (Cynthia *et al.*, 2011), une diminution de la concentration de GABA et une augmentation de la densité des récepteur NMDA (Maryvonne, 2007).

L'ovariectomie est associée à une augmentation de l'activité de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase qui est une enzyme responsable de la formation des radicaux libres dans la mitochondrie à l'origine de la peroxydation lipidique génératrice du MDA et de la baisse des taux de GSH du fait de son utilisation pour la neutralisation des radicaux libres sous l'action de la glutathion peroxydase (Alyson *et al.*, 2007).

## **I-5- Toxicologie**

### **I-5.1- Définition**

La toxicologie (Sood le, 1999) est l'étude de l'effet néfaste des produits chimiques sur les organismes vivants. Il concerne l'évaluation et la gestion ultérieure des risques chimiques potentiels pour l'homme, les animaux et l'environnement.

### **I-5.2- Toxicité aiguë**

L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50 % des animaux d'expérience (DL50) (Traoré, 1999). Des études aiguës démontrent l'effet indésirable survenant dans un court délai, généralement jusqu'à 2 mois, après l'administration d'une dose unique d'une substance ou de doses multiples administrées dans les 24 heures (Sood le, 1999 ; OCDE 2001). Les données qui peuvent être obtenues avec une conception de protocole appropriée sont : les signes cliniques (heure d'apparition, durée et rétablissement), la morbidité, le poids corporel, l'identification des organes cibles, les fonctions physiologiques (Immunologie ; réflexes neuromusculaires), pharmacocinétique (indice thérapeutique ; biodisponibilité).

Selon l'OCDE, les substances avec des valeurs supérieures à 5000 mg/kg de poids corporel sont considérées comme présentant une faible toxicité (OCDE, 2001).

### **I-5.3- Toxicité subchronique**

La définition de la toxicité subchronique prête à confusion car les opinions divergent quant à la durée d'exposition qui constitue une étude subaiguë. Cependant, leur objectif est le même, à savoir démontrer l'effet indésirable survenant à la suite de la dose quotidienne répétée d'un produit chimique pour une partie, ne dépassant pas 10 %, de la durée de vie de l'animal. Ainsi, des études de 14, 21 et 28 jours chez le rat sont généralement appelés études « subaiguës », tandis que les études de 90 jours et jusqu'à 150 jours constituent des tests « subchroniques » (OCDE, 2001).

## **I-6- Boisson « tenghõ »**

La boisson « tenghõ » encore appelé « ennemi de la maladie » en langue « Yemba », est utilisé empiriquement au Cameroun pour traiter diverses maladies notamment l'inflammation, les affections douloureuses, l'hypertension artérielle, l'arthrose et le diabète.

### **I-6.1- Principaux ingrédients de la boisson « tenghõ »**

La boisson « tenghõ » est constituée de 06 ingrédients : le gingembre (*Zingiber officinale*), l'ail (*Allium Sativum*), la citronnelle (*Cymbopogon citratus*), le persil (*Petroselinum crispum*), le basilic (*Ocimum basilicum*) et de produits de ruche tel que la propolis (*bee glue*) (Figure 3).



*Zingiber officinale*



*Allium sativum*



*Cymbopogon citratus*



*Petroselinum crispum*



*Ocimum basilicum*



*Propolis d'abeille*

**Figure 3 :** Photographies des ingrédients de la boisson « tenghõ » (photos prise par DJIKEM Rudig)

#### **I-6.2- Taxonomie des épices de la boisson « tenghõ »**

La taxonomie des différents ingrédients constituant la boisson « tenghõ » (*Zingiber officinale* ; *Allium sativum* ; *Cymbopogon citratus* ; *Petroselinum crispum* et *Ocimum basilicum*) est consignée dans le tableau I.

**Tableau I** : Taxonomie des différents ingrédients de la boisson « tenghõ » (Classification APG III, 2009 ; Classification APG II, 2003)

<i>Zingiber officinale</i>	<i>Allium sativum</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
<b>Règne</b> : Plantae <b>Sous règne</b> : Viridiplantae <b>Infra règne</b> : Streptophyta <b>Super division</b> : Embryophyta <b>Division</b> : Tracheophyta <b>Sous division</b> : Spermatophytina <b>Classe</b> : Magnoliopsida <b>Super ordre</b> : Liliales <b>Ordre</b> : Zingiberales <b>Famille</b> : Zingiberaceae <b>Genre</b> : <i>Zingiber</i> <b>Espèce</b> : <i>Zingiber officinale</i>	<b>Règne</b> : Plantae <b>Sous règne</b> : Viridiplantae <b>Infra règne</b> : Streptophyta <b>Super division</b> : Embryophyta <b>Division</b> : Tracheophyta <b>Sous division</b> : Spermatophytina <b>Classe</b> : Magnoliopsida <b>Super ordre</b> : Liliales <b>Ordre</b> : Asparagales <b>Famille</b> : Amaryllidaceae <b>Genre</b> : <i>Allium</i> <b>Espèce</b> : <i>Allium sativum</i>	<b>Règne</b> : Plantae <b>Sous règne</b> : Viridiplantae <b>Infra règne</b> : Streptophyta <b>Super division</b> : Embryophyta <b>Division</b> : Tracheophyta <b>Sous division</b> : Spermatophytina <b>Classe</b> : Magnoliopsida <b>Super ordre</b> : Liliales <b>Ordre</b> : Poales <b>Famille</b> : Poaceae <b>Genre</b> : <i>Cymbopogon</i> <b>Espèce</b> : <i>Cymbopogon citratus</i>
<i>Petroselinum crispum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	
<b>Règne</b> : Plantae <b>Sous règne</b> : Tracheobionta <b>Division</b> : Magnoliophyta <b>Classe</b> : Magnoliopsida <b>Sous classe</b> : Rosidae <b>Ordre</b> : Apiales <b>Famille</b> : Apiaceae <b>Sous famille</b> : Apioideae <b>Tribu</b> : Apieae <b>Genre</b> : <i>Petroselinum</i> <b>Espèce</b> : <i>Petroselinum crispum</i>	<b>Règne</b> : Plantae <b>Sous règne</b> : Viridiplantae <b>Infra règne</b> : streptophyta <b>Super division</b> : Embryophyta <b>Division</b> : Tracheophyta <b>Sous division</b> : Spermatophytina <b>Classe</b> : Magnoliopsida <b>Super ordre</b> : Asteranea <b>Ordre</b> : Lamiales <b>Famille</b> : Lamiaceae <b>Genre</b> : <i>Ocimum</i> <b>Espèce</b> : <i>Ocimum basilicum</i>	

### I-6.3- Description des différentes épices de la boisson « tenghõ »

#### a. Le gingembre (*Zingiber officinale*)

- **Description :** Le gingembre (*Zingiber officinale*) est une plante originaire de l'Inde. Il est constitué de deux parties : la partie souterraine, appelée le rhizome dont la pulpe est jaune à l'intérieur et la partie aérienne (formée de feuilles de couleur jaune avec une lèvre rouge). Les fruits renferment des graines noires peu nombreuses. Le gingembre se multiplie et se reproduit grâce à la division de son rhizome (Rout *et al.*, 1998) et il lui faut un temps humide, chaud et ensoleillé pour croître (Combest, 2007).
- **Utilisation traditionnelle indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** Le gingembre est couramment utilisé comme épice et plante médicinale (Chrubasik *et al.*, 2007). Il a largement été utilisé dans la médecine chinoise, ayurvédiques et Tibb-Unani pour le traitement des rhumatismes, des maladies nerveuses, de la gingivite, des maux de dents, de l'asthme, de l'AVC et de la constipation (Tapsell, 2006). Le gingembre a également montré des activités antiémétiques, antidiabétiques, analgésiques, antiarthritiques, anticancéreuses, antioxydantes, antiulcéreuses, antimicrobiennes, immunomodulatrices et cardiovasculaires anti-inflammatoires (Rajesh et Subha, 2018). L'extrait sec de gingembre a démontré une activité neuroprotectrice *in vitro* (Mathew et Subramanian, 2014). La curcumine, le métabolite actif du gingembre, a amélioré la mémoire de travail et l'attention (Cox *et al.*, 2015).
- **Analyse phytochimique :** Le gingembre est composé des antioxydants (vitamine C), des minéraux dont le magnésium, le manganèse, le phosphore, le fer, le calcium, le sodium, le cuivre ; des amidons ; une essence aromatique contenant des carbures sesquiterpéniques dont du zingibérène ; une résine lorsqu'il est frais ; des vitamines B1, B2 et B3 ; des gingérols ; des shogaols ; du paradol ; du zingérone (Rajesh et Subha, 2018).

#### b. L'ail (*Allium Sativum*)

- **Description :** L'ail est une plante bulbeuse vivace, qui a une légère odeur imperceptible jusqu'à ce qu'il soit pelé. Une fois pelé, tranché ou écrasé, il commence immédiatement à diffuser une odeur intense qui contient des glycosides de soufre. De nombreuses études ont indiqué que l'allicine est le composant le plus important de l'ail qui est responsable de son odeur caractéristique, de sa saveur ainsi que de la plupart de ses propriétés biologiques (Shalaby *et al.*, 2006). L'ail est également une épice utilisée pendant des différentes épidémies telles que la typhoïde, le choléra et la grippe (Topak et Mozaik, 2005).
- **Utilisation traditionnelle, indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** l'Ail (*Allium sativum*) a montré des activités antioxydantes, antiathérogéniques, antiapoptotiques et antiamyloïdogéniques, neuroprotectrices (au moins en



termes de prévention de la MA et des dommages neurovasculaires) (Mathew et Biju, 2008). L'administration d'extrait d'ail vieilli (Ray *et al.*, 2011) et l'ail frais (Haider *et al.*, 2008), semble pouvoir améliorer la mémoire et les fonctions cognitives chez les animaux de laboratoire. Des composés bioactifs extraits de l'ail comme l'allicine ont été capable de prévenir l'apoptose induite par le stress oxydatif dans les modèles cellulaires (Chen *et al.*, 2014), la thiocrémonone a présenté des effets anti-inflammatoires et antioxydants et une amélioration des performances cognitives dans les modèles de MA de souris (Yun *et al.*, 2016), et S- l'allyl-l-cystéine a amélioré les troubles cognitifs dans les modèles de souris MA, probablement comme les composés susmentionnés qui ont réduit le stress oxydatif (Javed *et al.*, 2011) et a modulé les voies intracellulaires liées à la dégénérescence synaptique et à la neuroinflammation (Ray *et al.*, 2011). En plus de l'amélioration cognitive, des études examinant l'extrait entier et non les composants individuels ont montré une augmentation de l'activité sérotoninergique chez le rat adulte (Haider *et al.*, 2008). D'autre part, il est capable d'inhiber la peroxydation lipidique et l'oxydation des LDL, contribuant ainsi à diminuer le risque cardiovasculaire (Lau, 2006).

- **Analyse phytochimique :** L'ail possède des composés soufrés tel que les thiosulfates dont le plus important est l'allicine, les ajoènes, les vinyldithiines et les sulfides (Muhammad et Ibrahim, 2019 ; Yusuf *et al.*, 2018). L'étude phytochimique qualitative des extraits aqueux et éthanolique d'ail (*A. sativum*) a indiqué la présence d'alcaloïdes, de terpénoïdes, de flavonoïdes, de stéroïdes, de phénol, d'antraquinones, de saponine, de tanin et de glycoside (Muhammad et Ibrahim, 2019 ; Yusuf *et al.*, 2018).

### c. La citronnelle (*Cymbopogon citratus*)

- **Description :** La citronnelle, de noms communs : verveine des Indes, citronnelle de Madagascar, herbe citron, ou *lemon grass* est une plante herbacée tropicale, cultivée pour ses tiges et feuilles aux qualités aromatiques (à goût de citron). La citronnelle a donné son nom à d'autres plantes avec lesquelles elle ne doit toutefois pas être confondue : la verveine citronnelle, la mélisse citronnelle et l'aurone citronnelle (Shackleton *et al.*, 2007). La citronnelle est une plante herbacée, aux longues feuilles étroites et linéaires, vert bleu, aux bords coupants. Ces feuilles, aux pédoncules en forme de branche, mesurent de 90 cm à 2 m. La tige de la citronnelle est creuse et bulbeuse. Le genre *Cymbopogon* est largement distribué dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique (Shackleton *et al.*, 2007).

- **Utilisation traditionnelle, indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** *Cymbopogon citratus* est classé parmi les plus répandus du genre *Cymbopogon* utilisé dans toutes les parties du monde (Opeyemi *et al.*, 2015). Il est utilisé au

Nigéria contre les maux d'estomac, le paludisme et comme antioxydant (Opeyemi *et al.*, 2015). Les applications traditionnelles du genre *Cymbopogon* dans différents pays montrent une applicabilité élevée en tant que thé commun, complément médicinal, insectifuge, insecticide, dans la lutte contre la grippe et en tant qu'anti-inflammatoire et analgésique (Opeyemi *et al.*, 2015).

- **Analyse phytochimique :** La citronnelle contient du citronellol, du Citrals (65 à 86%), du myrcène, géraniol, acide folique, vitamines B1, B5, B6 et des minéraux (Opeyemi *et al.*, 2015).

#### **d. Le persil (*Petroselinum crispum*)**

- **Description :** Le persil a pour noms communs : persil cultivé, persil odorant, *petersilie* (allemand) ; *parsley, persel* (anglais) ; *prezzemolo, petrosello* (italien). Le persil est une plante bisannuelle de 25 à 80 cm de haut, très aromatique au froissement et à odeur caractéristique. Les tiges sont striées et les feuilles sont glabres. Les feuilles d'un vert luisant, sont doublement divisées, surtout celle de la base (Mohammad *et al.*, 2013).

- **Utilisation traditionnelle, indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** Le persil a montré des effets comme diurétique, antiseptique des voies urinaires, anti-urolithiase, anti-dote et anti-inflammatoire et pour le traitement de l'aménorrhée, de la dysménorrhée, des troubles gastro-intestinaux, de l'hypertension, des maladies cardiaques, des maladie urinaire, d'otite, du diabète et aussi de diverses maladies cutanées dans les médecines traditionnelles (Mohammad *et al.*, 2013). La lutéoline, un flavonoïde présent dans le persil, le céleri et le romarin, a démontré un effet neuroprotecteur dans le modèle de maladie d'Alzheimer induit par la streptozotocine chez le rat, améliorant l'apprentissage spatial et les troubles de la mémoire (Wang *et al.*, 2016). L'apigénine (une autre flavone commune contenu dans le persil) a réduit la production des cytokines inflammatoires, les signaux apoptotiques et la production d'oxyde nitrique, atténuant ainsi le déclin cognitif associé au diabète chez le rat (Millington *et al.*, 2014).

- **Analyse phytochimique :** Les composés actifs identifiés dans *Petroselinum crispum* sont essentiellement les composés phénoliques et flavonoïdes (en particulier l'apigénine, l'apiine et la 6" acétylapiine) ; l'huile essentielle principalement la myristicine et l'apiol ; ainsi que les coumarines et glucides (Mohammad *et al.*, 2013).

#### **e. Le basilic (*Ocimum basilicum*)**

- **Description :** Le basilic ou basilic romain (*Ocimum basilicum* L.) est une espèce de plantes herbacées cultivée comme plante aromatique et condimentaire. Cette plante a eu plusieurs synonymes scientifiques dont *Ocimum basilicum* var. *glabratum* Benth, *Ocimum*

*basilicum* var. *majus* Benth. Le mot basilic peut parfois désigner d'autres espèces appartenant au genre *Ocimum* dont le basilic citron (*Ocimum canum* L.), le basilic de Ceylan (*Ocimum gratissimum*) ou encore le basilic sacré (*Ocimum sanctum* L.).

- **Utilisation traditionnelle, indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** *Ocimum basilicum* a montré des effets hépatoprotecteurs, immunomodulateurs, antihyperglycémiques, hypolipidémiques, antitoxiques, anti-inflammatoires, antibactérien et antifongique. (Khair-ul-Bariyah *et al.*, 2012).

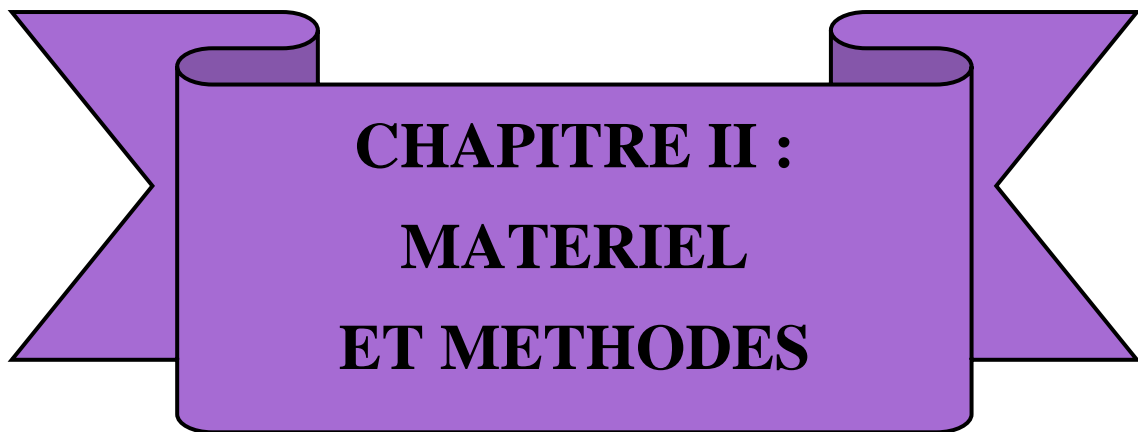
- **Analyse phytochimique :** les composés actifs identifiés dans *Ocimum basilicum* sont : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les glycosides de saponine et l'acide ascorbique (Khair-ul-Bariyah *et al.*, 2012).

#### **f. La propolis d'abeille (*bee glue*)**

- **Description :** La propolis d'abeille est une matière résineuse, gommeuse et balsamique collectée dans la flore par les abeilles et utilisée comme matériau de construction et isolant de leur ruche (Bankova *et al.*, 2005b).

- **Utilisation traditionnelle, indications thérapeutiques usuelles et études pharmacologiques :** Traditionnellement, l'extrait de propolis est connu depuis des siècles pour son effet anti-inflammatoire (Bankova *et al.*, 2000) et antibiotique (Adil *et al.*, 2016). Dans les modèles animaux de lésions ischémiques cérébrales, la pinocembrine (une flavanone présente dans la propolis) a amélioré les troubles cognitifs et le métabolisme énergétique (Meng *et al.*, 2014).

- **Analyse phytochimique :** Il a été signalé que les principaux phytoconstituants de la propolis d'abeille sont les flavonoïdes et leur groupement aglycones (Barbaric *et al.*, 2011).



**CHAPITRE II :  
MATERIEL  
ET METHODES**

## II.1- Matériel

### II.1.1- Matériel végétal

La boisson « tenghõ » utilisé dans cette étude est essentiellement composée d'épices locales tel que : l'ail, le gingembre, le basilic, le persil, la citronnelle et la propolis d'abeille. Les épices ont été récoltés dans les environs de la ville de Dschang.

### II.1.2- Matériel animal

Les animaux utilisés dans cette étude étaient des rats albinos *ratus norvegicus* de souche Wistar, âgés de 8 à 10 semaines et pesant entre 130 et 150 g et des souris albinos *mus musculus swiss* âgés de 8 à 10 semaines et pesant entre 25 et 30 g. Ils ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, dans des conditions standard d'éclairage (12 heures de lumière, 12 heures d'obscurité) et à la température ambiante. Ils ont été nourris à l'aliment standard (Tableau II) pour les rats de laboratoires et s'abreuvaient à volonté à l'eau du robinet.

**Tableau II:** Composition de l'alimentation classique de laboratoire (Avec et sans soja) pour les tests utilisant des animaux ovariectomisés

Composition	Pourcentage aliment	Pourcentage aliment
	sans soja	avec soja
Farine de maïs	36%	35.5%
Son de blé	35,5%	35%
Farine de poisson	14%	14%
Farine d'os	7%	2%
Tourteau de palmiste	7%	4%
Complexe multivitaminé (Prémix)	0,5%	0,5%
Tourteau d'arachide	0%	4%
Tourteau de soja	0%	5%
<b>Total</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

### II.1.3- Substances de références, d'anesthésies et de pansements

Les substances chimiques de références, d'anesthésie et de pansements utilisés au cours des tests étaient :

- La Kétamine (Ketamine hypochloride 50 mg/mL, Rotex Medica, Tritau, Germany) utilisée pour l'anesthésie des animaux ;
- La Betadine® (MEDA Manufactory, Merignag, France) a été utilisé pour le pansement des animaux après l'ovariectomie ;

- Le Diazépam (Valium® 10 mg/2mL, laboratoire Roche, Fontenay-sous-bois, France: DZP) utilisé pour l'anesthésie des animaux et comme substance de référence dans les tests d'anxiété (EPM, EZM et OF) ;
- Le Tramadol (Trabar™-50, Tramadol hypochlorite 50 mg, Fabriqué par Merckle GmbH, Blaubeuren-Weiler, Allemagne pour Acino Pharma AG, Liesberg, Suisse). Il est utilisé comme analgésique central de référence ;
- La Prométhazine (Anti-histaminique de référence) préparé à partir des comprimés enrobés de Prométhazine 25mg (Phénergan®, Chlorhydrate de prométhazine, Exploitant : Laboratoires FRILAB SA, 17, rue des Pierres du Niton, CH-1207 Genève ; Fabricant : Laboratoires Sophartex, 21, rue du Pressoir 28500 VERNOUILLET, France) ;
- La Cyproheptadine (Anti-sérotoninergique de référence et stimulant d'appétit) préparé à partir des comprimés de Chlorhydrate de Cyproheptadine 4mg/kg (NURABOL®, Fabriqué par le Laboratoires PHARMA 5, zone industrielle Ouled Saleh – Bouskoura – Maroc) ;
- Le Piracétam : Nootropyl ® fabriqué par UCB SA Braine-l'Alleud-Belgique ; sous forme de comprimés de 800 mg, il a été utilisé comme substance de référence lors des tests de neurodégénérescences ;
- L'œstradiol valérate : Progynova®, utilisé comme substance de référence à activité oestrogénique
- La Scopolamine : utilisée pour induire les troubles de mémoire chez les animaux, était produite par Jiangsu Huayang pharmaceutical Co. Ltd Zhiongxing (Chine).

#### **II.1.4- Dispositifs expérimentaux**

##### **a. Labyrinthe en croix surélevé « Elevated plus-maze »**

Le dispositif du labyrinthe en croix surélevé (Figure 4) ou Elevated plus-maze (EPM) était composé de deux bras ouverts en bois (50 cm × 15 cm) et de deux bras fermés en bois (50 cm × 15 cm × 40 cm). Les bras du même type étaient situés l'un en face de l'autre et sortaient d'une plate-forme centrale (15 cm × 15 cm), et le labyrinthe était élevé à une hauteur de 70,6 cm au-dessus du sol (Alireza *et al.*, 2014).



**Figure 4** : Photographie de l'« Elevated plus maze » : (A) Bras ouverts ; (B) Bras Fermés  
(Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

**b. Labyrinthe à zéro élevé « Elevated Zero Maze »**

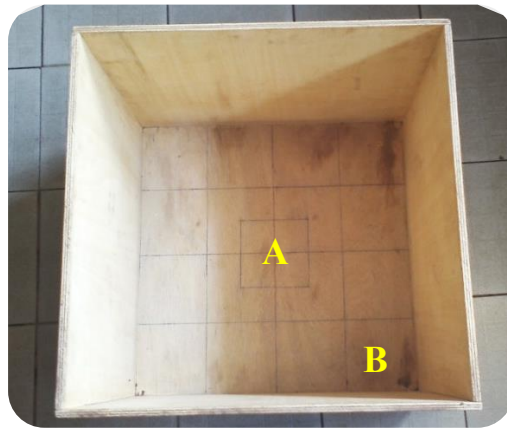
Le labyrinthe à zéro élevé (Figure 5) était fait en bois et consistait en un chemin circulaire de 10 cm de large surélevé de 1m au-dessus du sol par quatre pieds en bois (Tucker *et al.*, 2017). L'intérieur du labyrinthe avait un diamètre de 65 cm. Le chemin circulaire était divisé en quatre quadrants, dont deux avaient des murs (50 cm de haut) autour du bord (quadrants fermés), tandis que les deux autres n'avaient pas de murs (quadrants ouverts). Une petite lèvre (1 cm) a été placée sur le bord des quadrants ouverts pour empêcher les rats de tomber du labyrinthe. Des lignes blanches ont été tracées tous les 25 cm le long du sol du labyrinthe et ont été utilisées pour mesurer l'activité motrice.



**Figure 5** : Photographie du dispositif du labyrinthe zéro surélevé : (A) Bras ouverts ; (B) Bras Fermés (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

**c. Arène ouverte « Open-field »**

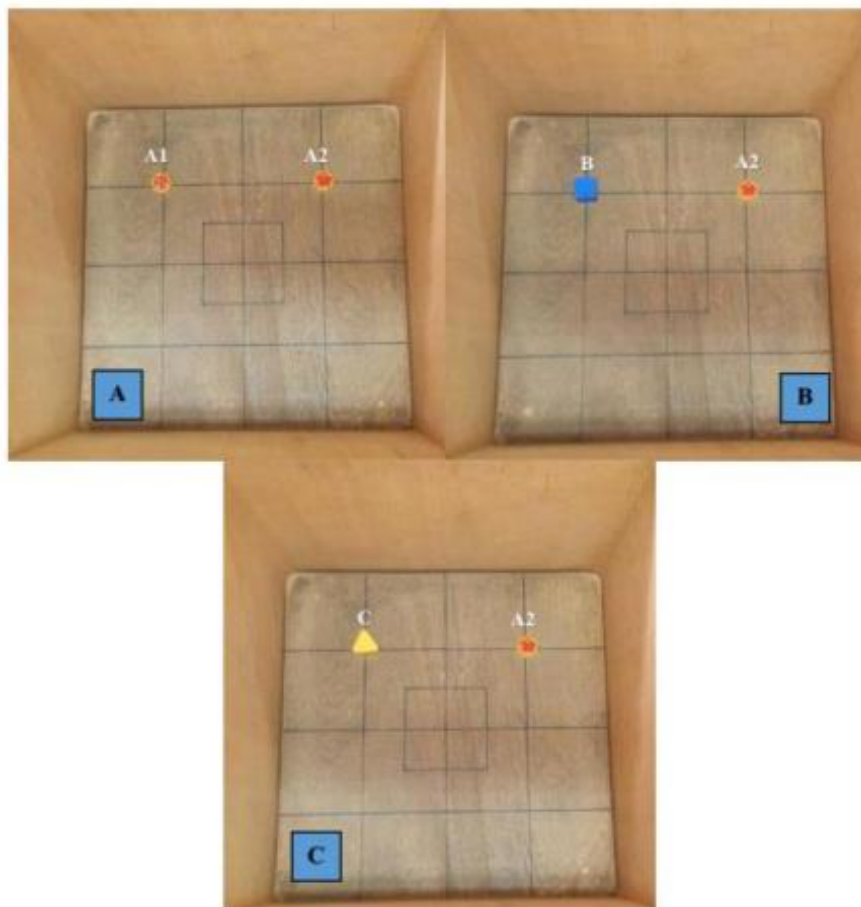
Le dispositif de l'« Open field » (OF) est une boîte en bois aux bords élevés de dimensions (60 cm × 60 cm × 60 cm) donc ne permettant pas à l'animal se retrouvant à l'intérieur de s'échapper et de se cacher (Figure 6). La surface d'exploration était divisée à l'aide d'un marqueur indélébile en 16 carreaux plus 1 carreau central (Zemo *et al.*, 2017).



**Figure 6** : Photographie du dispositif de l'« Open field » : (A) Carreau central ; (B) Carreaux périphériques (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

**d. Dispositif du test de reconnaissance de l'objet « Object recognition test »**

Le test de reconnaissance de l'objet (Object recognition test) était réalisé dans le dispositif de l'« Open field » (arène ouverte). Dans ce dispositif, les objets A1 et A2 (Figure 7 A) ont été introduits pendant la phase de familiarisation ; les objets A2 et B (Figure 7 B) ont été introduit lors de l'évaluation de la mémoire à court terme et les objets A2 et C (Figure 7 C) ont été introduits pendant les phases d'évaluation de la mémoire à long terme (Djiogue *et al.*, 2018).



**Figure 7** : Photographie du dispositif de réalisation du test de reconnaissance du nouvel objet (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).



(A) phase de familiarisation, (B) phase de test (mémoire à court terme) ; (C) phase de test (mémoire à long terme). A1 et A2 : objets identiques utilisés lors du test de familiarisation ; B : nouvel objet utilisé lors de l'évaluation de la mémoire à court terme ; C : nouvel objet utilisé lors de l'évaluation de la mémoire à long terme.

#### e. Labyrinthe en Y « Y-MAZE »

Le dispositif du labyrinthe en Y (Figure 8) utilisé dans cette étude était en bois, et était constitué de trois bras (11 x 50 x 32) séparés entre eux par un angle de 120° C (Kraeuter *et al.*, 2019). Un dispositif de blocage était placé à 5cm du centre du labyrinthe et permettait de fermer un bras du dispositif lors de la phase d'entraînement.



**Figure 8** : Photographie du dispositif du Y MAZE : (1) lors de la phase d'entraînement ; (2) : lors de la phase test ; (A) Nouveau bras ; (B) Ancien bras ; (C) bras de départ (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

#### f. Piscine de Morris

La piscine de Morris utilisé dans cette étude (Figure 9), est une cuve cylindrique rempli d'eau, sous la surface de laquelle est dissimulée une petite plate-forme de 8 cm de diamètre (immergée à 1 cm de la surface de l'eau), seul endroit où l'animal peut sortir de l'eau et cesser de nager. Le dispositif avait 120 cm de diamètre pour 50 cm de haut et était subdivisé virtuellement en 4 quadrants (Nord (N), Est (E), Sud (S) et Ouest (W)). Une plateforme d'évasion immergée à 1 cm à la surface de l'eau (invisible) est localisée dans le quadrant Sud (Vorhees et Williams, 2006). Le dispositif ainsi que la plateforme sont peints en noir et de l'eau y est ajouté.



**Figure 9 :** Photographie du « Morris Water Maze » : (A) plateforme immergée (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

**g. Dispositif de suspension à la corde ou « Wire-Suspension Grip/Agility Test »**

Le dispositif du test de suspension à la corde ou « Wire-Suspension Grip/Agility Test » (Figure 10) était constitué d'un fil métallique de 120 cm de long et 2 mm de diamètre. La corde était maintenue horizontale à une hauteur de 100 cm du sol (Maurissen *et al.*, 2003). Une bassine (36 cm de diamètre et 13 cm de hauteur) contenant de la litière de copeau était placée au niveau du sol sous la corde et permettait d'amortir la chute de l'animal.



**Figure 10 :** Photographies du « Wire-Suspension Grip/Agility Test » (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

**h. Test de suspension au grillage ou « Grid Suspension/Grip-Strength Test »**

Le dispositif du test de suspension au grillage ou « Grid Suspension/Grip-Strength Test » (Figure 11) était constitué d'une grille métallique de 55 cm de long et 45 cm de large, monté sur un cadre en bois. Les mailles en forme de losange, mesuraient 1,5 cm de côté (Maurissen *et al.*, 2003). Une bassine (36 cm de diamètre et 13 cm de hauteur) contenant de la litière de copeau était placée au niveau du sol sous la corde et permettait d'amortir la chute de l'animal.



**Figure 11** : Photographie du « Grid Suspension Grip-Strength Test » (Photo prise par DJIKEM Rudig, Novembre 2019).

A-animal sur le grillage, B- grillage retourné et C- animal sous le grillage.

## II.2- Méthodes

### II.2.1- Organigramme méthodologique

La Figure 12 est un résumé schématique de l'organigramme de la méthodologie expérimentale permettant une compréhension de l'ensemble du travail. Les études ont débuté par la confection de la boisson « *tenghõ* », suivis de la détermination des doses thérapeutiques. Des tests d'inflammation aiguë (test à la carragénine, à l'histamine et à la sérotonine) ont été réalisés. Le test à l'acide acétique (test de douleur périphérique) et le test d'immersion de la queue (test de douleur central) ont permis d'évaluer les propriétés analgésiques de la boisson. L'évaluation des effets neuroprotecteurs de la boisson « *tenghõ* » a été réalisé via des tests d'évaluation de l'anxiété (« *Elevated plus maze* », « *Open Field* » et « *Elevated zero maze* »), des tests de mémoire à court et à long terme (« *objet recognition test* », « *Y maze test* » et « *Morris water* »), des tests d'évaluation de la force de préhension (à la corde et au grillage). Des paramètres ont été évalués à savoir : des paramètres du stress oxydant, des analyses histologiques, le dosage des cytokines pro et antiinflammatoires, des tests *in vitro* (DPPH, ABTS et FRAP) ainsi que des études phytochimiques (dosage des flavonoïdes, flavonols, tanins, polyphénols et profil HPLC). La réalisation des études de toxicité s'est faite via un test de toxicité orale aiguë (sur 14 jours) et subchronique (sur 42 jours).

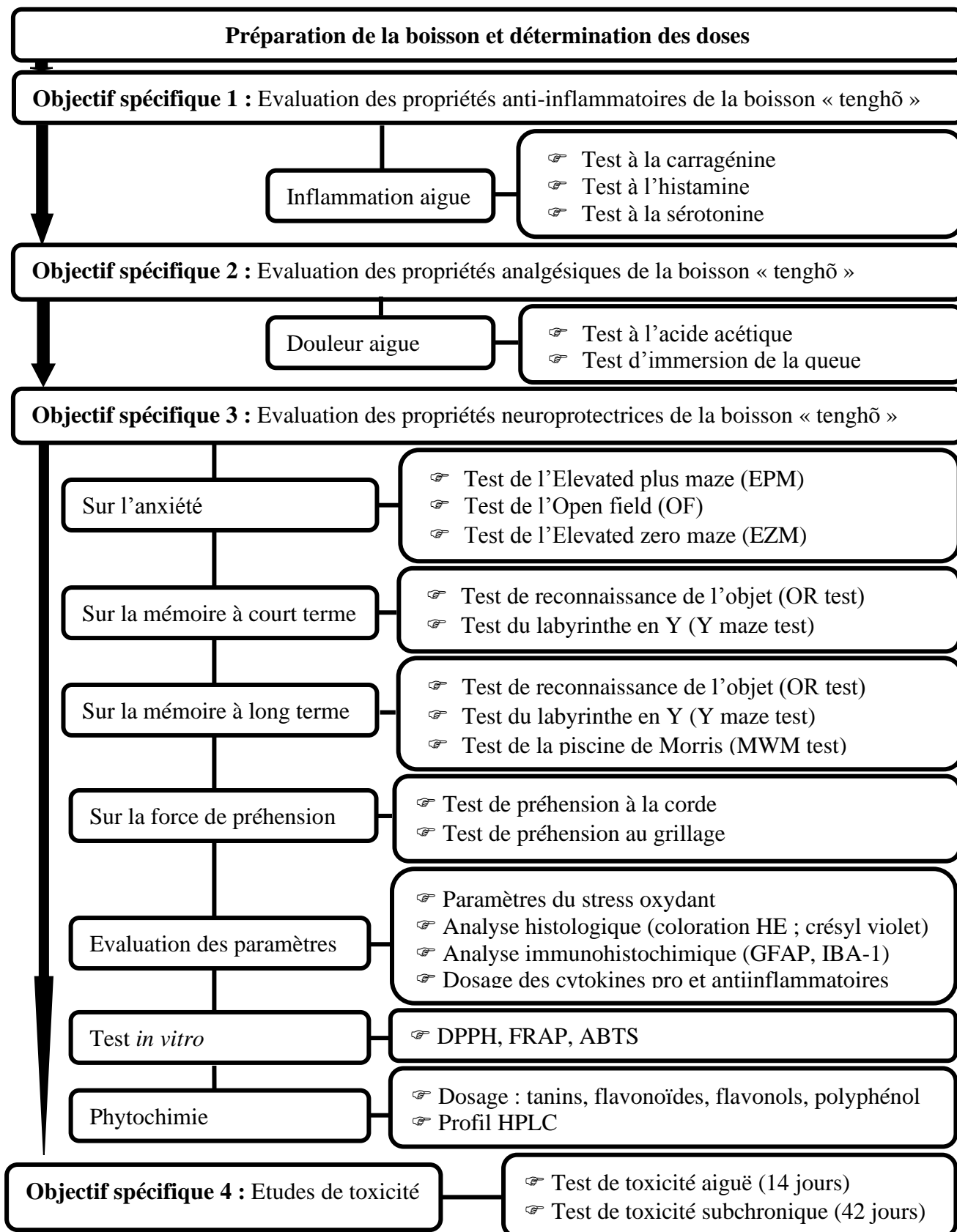
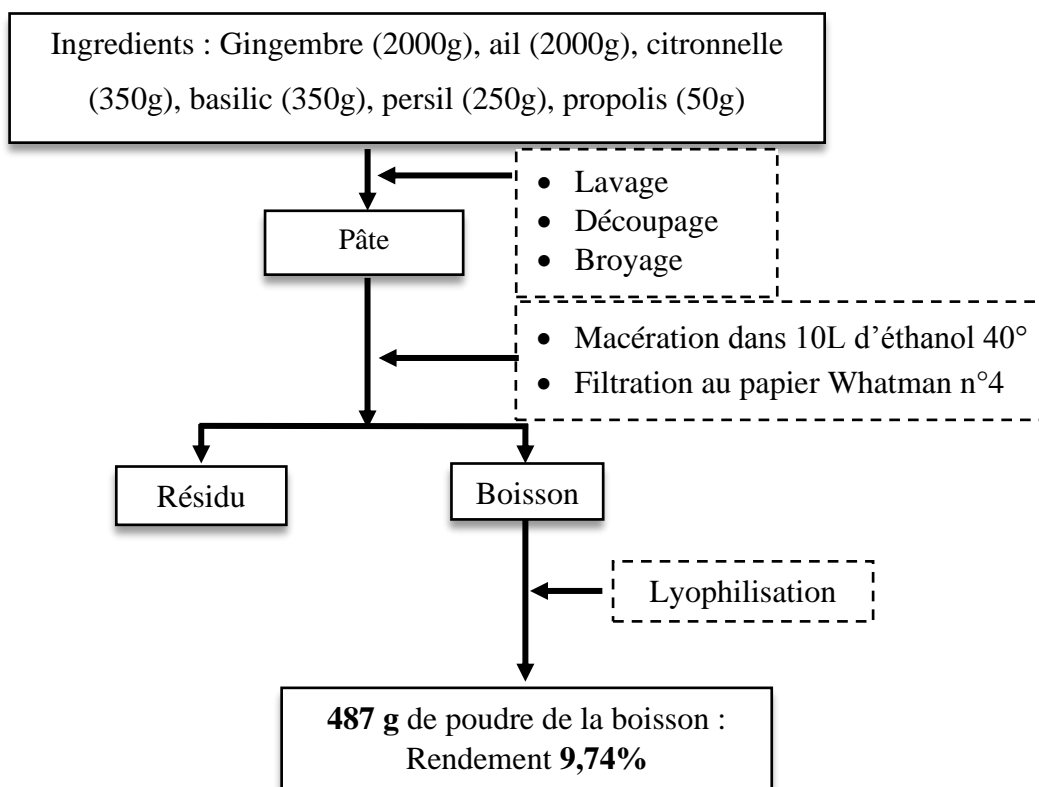


Figure 12 : Organigramme des différentes activités réalisées.

## II.2.2- Préparation de la boisson « tenghõ »

La préparation de la boisson « tenghõ » s'est faite après la récolte des épices (Gingembre, ail, basilic, citronnelle, propolis et persil). Les proportions des ingrédients utilisées étaient les suivantes : Gingembre (2000g), ail (2000g), citronnelle (350g), basilic (350g), persil (250g), propolis (50g). Ces épices ont été lavées, épluchées (Ail et gingembre) découpées et broyées. La boisson obtenue a été macérée dans 10L d'éthanol 40° pendant 10 jours et filtré. Le résidu a été jeté, tandis que le filtrat obtenu a été lyophilisé pour obtention d'une poudre (487g) soit un rendement de 9,74 % (Figure 13).



**Figure 13 :** Protocole expérimental de confection de l'extrait à base de la boisson « tenghõ ».

La poudre obtenue nous a permis de calculer et d'administrer les doses requises aux animaux pour les études thérapeutiques et toxicologiques.

## II.2.3- Détermination des doses thérapeutiques de la boisson « tenghõ »

La détermination des doses thérapeutiques de la boisson « tenghõ » s'est faite sur la base des recommandations du tradithérapeute : 2 verres de « tenghõ » (dose journalière à savoir 1 matin, 1 soir) ont été évaporés puis pesés pour avoir la masse sèche de produit consommé par jour pour un adulte. Cette dose a été ramener à la dose chez l'animal par extrapolation (Nair et Jacob, 2016) selon la formule :

$$X = \frac{\text{Dose chez l'Homme}}{0,162}$$

La dose obtenue, soit 400 mg/kg a été encadrer par les doses de 200 mg/kg et 600 mg/kg.

## **II.2.4- Ovariectomie**

L'ovariectomie est une technique qui consiste en l'ablation des ovaires. Les rates de 8 à 10 semaines pesant entre 130 et 150 g ont préalablement été anesthésiées avec une injection intrapéritonéale de Diazépam à la dose de 10 mg/kg et le sommeil a été prolongé par la Kétamine à la dose de 50 mg/kg. Les animaux ont ensuite été placés en décubitus ventral sur une plaque de liège, leur dos épilé a été désinfecté à l'aide d'un coton imbibé d'alcool 70° et une ouverture transversale d'environ 2 cm a été réalisée sur le dos, légèrement au-dessus des cuisses. Une fois l'ouverture faite, les muscles d'un des flancs ont été mis à nus, une autre ouverture est faite sur le péritoine et maintenue par une pince. Les cornes utérines mises en évidence, ont été débarrassé chacune de ses ovaires par ablation de celui-ci après une ligature effectuée entre la corne utérine et l'ovaire. La même opération a été pratiquée avec l'autre flanc. Après ces opérations, l'incision a été recouverte par des points de suture et les animaux ont été traités à la Bétadine pendant 7 jours pour éviter les infections.

## **II.2.5- Test comportementaux**

### **a. Test de l' « Elevated plus-maze »**

Le test du labyrinthe en croix surélevé ou « Elevated plus maze » (EPM) est un modèle d'anxiété qui a été largement utilisé pour caractériser les médicaments à activité anxiolytique chez les rongeurs (Frye *et al.*, 2007). Il s'agit d'un test basé sur l'éthologie qui utilise des stimuli non douloureux et non agressifs pour induire la peur et l'anxiété, réduisant ainsi les risques de confusion des états de motivation et de perception. Ce test permet de déterminer les processus liés à l'anxiété qui peuvent ne pas être détectés par d'autres tests (Sestakova *et al.*, 2013). Le test a été effectué dans un éclairage ambiant faible pendant 5 min. Le rat était placé au centre de la plate-forme face à un bras ouvert et a été autorisée à explorer. Dans ce test, une entrée était enregistrée lorsque les trois pattes du rat étaient dans un bras. L'activité dans les bras ouverts et fermés a été utilisée pour représenter un comportement semblable à l'anxiété. Les paramètres enregistrés étaient : Le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts et fermés ; le nombre de « rearing » (nombre de fois que l'animal se met debout et pose les pattes sur les bords du dispositif) ; le nombre de « grooming » (nombre de fois que l'animal nettoie son corps) ; le nombre de « head dipping » (nombre de fois que l'animal étant dans les bras ouvert, baisse la tête pour regarde le sol) ; le nombre et la masse des selles produites ainsi que la température rectale.

### **b. Test de l' « Elevated Zero Maze »**

Le test du labyrinthe à zéro élevé (« Elevated Zero Maze ») a été utilisé pour mesurer l'anxiété, l'exploration et l'activité motrice chez les rats en tirant parti de la tendance innée des rongeurs à éviter les zones ouvertes et surélevées.

Les rats ont été placés dans l'un des quadrants fermés au début de chaque essai. Les rats ont été autorisés à explorer l'appareil pendant 5 min et le comportement était noté. L'appareil était soigneusement nettoyé avant et après chaque essai pour limiter l'influence de tout stimuli résiduels des essais précédents. Les données collectées étaient le nombre de « crossing », de « head dipping », le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouvert, ainsi que le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts. La conception du labyrinthe à zéro élevé était basé sur la conception du labyrinthe en croix surélevé, car il est surélevé et contient des bras fermés et des bras ouvertes. Dans les deux labyrinthes élevés, les rats montrent un évitement naturel des régions élevées ouvertes (Lister, 1987). Cependant, le labyrinthe zéro surélevé présente plusieurs avantages par rapport au labyrinthe en croix surélevé en ceci qu'il n'a pas de carré central qui peut produire des mesures ambiguës et il a une conception circulaire qui permet une exploration ininterrompue.

### c. Test de l' « Open-field »

Le test de l'« Open-field » (OF) a été utilisé pour évaluer l'activité locomotrice et exploratoire des rats lorsqu'ils étaient placés dans un environnement inconnu (Dulawa *et al.*, 1999). Pour chaque session de test, un rat a été placé individuellement au centre de l'arène et a pu explorer librement l'environnement pendant 5 minutes. Le nombre de « crossing » (Nombre de ligne traversées) a été utilisée comme mesure de l'activité locomotrice générale. D'autres paramètres comme le nombre de « rearing » ; le nombre de « grooming » ; le nombre et la masse des selles produites ainsi que la température rectale ont également été enregistrés.

### d. Test de reconnaissance de l'objet (« Object recognition test »)

L'« Object Recognition » test est un test particulièrement adapté pour évaluer la mémoire épisodique ainsi que les effets des hormones stéroïdes sexuelles sur l'apprentissage et la mémoire hippocampo-dépendante chez les rats et les souris (Ennaceur et Delacour, 1988). Le principe de ce test repose sur l'affinité naturelle des rongeurs avec le nouvel objet (Fernandez *et al.*, 2008). La procédure d'évaluation de ce test a été adaptée de celle décrite par Djiogue et collaborateurs en 2018 (Djiogue *et al.*, 2018). Suivant ce protocole, le test a été réalisé en trois (03) phases sur 03 jours d'affilés :

- **La phase d'habituation ou « pre-training »** (jour 1) : Au cours de laquelle, chaque rate était introduite individuellement dans l'arène avant leur exposition à l'objet et était libre d'explorer le dispositif pendant 5 min. Cette étape était réalisée le jour 1 et permettait parallèlement de réaliser le test de l'« Open field » afin d'évaluer l'activité locomotrice et exploratrice des rates. Après la séance d'entraînement, les rats étaient replacés dans leurs cages et le dispositif était soigneusement nettoyé avec une lingette imbibée d'éthanol 70% suivi de l'eau de robinet.

- **La phase de familiarisation ou « training »** (jour 2) : au cours de laquelle, l'animal était retiré de sa cage et placé au centre de l'arène face à deux objets identiques (A1 et A2). Ces objets étaient présentés aux rates individuellement et le comportement exploratoire de chaque objet était suivi pendant 5 min. Les deux objets identiques (A1 et A2) étaient placés à une distance suffisante de la paroi du dispositif pour permettre aux animaux d'explorer librement les objets dans tous les angles.

- **La phase d'essai ou test** (jour 2, 3 heures après l'étape de familiarisation) : Au cours de laquelle les deux objets étaient ; l'un utilisé lors de la phase de familiarisation et l'autre nouveau pour les rates. Cette phase a été effectuée d'une part le jour 2, 3 heures après l'étape de familiarisation pour évaluation de la mémoire à court terme (ici, l'objet A1 était remplacé par un objet B) et d'autre part le jour 3, 24 heures après la familiarisation pour évaluation de la mémoire à long terme (l'objet B était remplacé par un objet C).

Les rongeurs étant naturellement curieux, en présence d'un nouvel et d'un ancien objet, ils se rappellent de l'ancien objet et passent par conséquent plus de temps à explorer le nouvel objet (Carter et Shieh, 2010). Au cours de ce test, les paramètres suivants ont été évalués : le temps passé à explorer les objets A1 et A2 pendant la phase de familiarisation et le temps passé à explorer les objets A2 et B, et A2 et C pendant les phases de test.

Les explorations d'objets étaient comptées lorsque l'animal était orienté vers l'objet, le museau à moins de 2 cm de l'objet. Si l'animal avait une immobilité supérieure à 10s, l'exploration était considérée comme terminée. Après analyse des vidéos, la reconnaissance des nouveaux objets était évaluée en comparant le temps passé à explorer le nouvel et l'ancien objet. Trois (3) méthodes sont communément rapportées dans la littérature (Lueptow, 2017).

- Le **score de biais d'objet** (objet biais score) qui était calculé grâce à la formule

$$\text{Score de biais d'objet} = \frac{\text{Temps d'exploration de l'ancien l'objet}}{\text{Temps total d'exploration des objets}} \times 100$$

NB : les animaux présentant un score de biais d'objet inférieur à 20% ou supérieur à 80% sont exclus de l'expérimentation ultérieure.

- **La préférence à la nouveauté** qui était calculé grâce à la formule :

$$\text{Préférence à la nouveauté} = \frac{\text{Temps d'exploration du nouvel objet}}{\text{Temps d'exploration (nouvel objet + Ancien objet)}} \times 100$$

- **L'indice de discrimination** (discrimination index) qui était calculé grâce à la formule :

$$\text{Indice de discrimination} = \frac{\text{Temps d'exploration (nouvel objet - Ancien objet)}}{\text{Temps d'exploration (nouvel objet + Ancien objet)}} \times 100$$

#### e. **Test du Y-MAZE**

Le labyrinthe en Y est un test qui permet d'évaluer la mémoire de travail spatiale à court terme ainsi que les comportements normaux de navigation des rongeurs. Le test du



labyrinthe en Y est particulièrement utile comme test initial de la fonction de mémoire chez les rongeurs (Kraeuter *et al.*, 2019).

Le principe du test est basé sur la curiosité innée des rongeurs à explorer des zones précédemment non visitées. Un rat avec une mémoire de travail intacte, et donc des fonctions corticales préfrontales intactes, se souviendra des bras précédemment visités et montrera une tendance à entrer dans un bras moins récemment visité et doit visiter ce bras plus souvent (nouveau bras).

La mémoire de référence spatiale peut être testée en plaçant le rat dans le labyrinthe en Y avec un bras du labyrinthe fermé pendant la phase d'entraînement (pour évaluer la mémoire de référence spatiale soulignée par l'hippocampe). Ce bras est désigné comme le « nouveau bras ». Après un certain temps d'intervalle (1h) (Inter-trial interval, ITI), pendant lequel le rat est retiré du labyrinthe, il est replacé dans le labyrinthe avec le blocage retiré et est autorisé à explorer les 2 bras ouverts pendant 2 min (Phase de test). Le premier bras entré, le temps passé et le nombre d'entrées dans chaque bras sont enregistrés. Toutes les entrées de bras sont notées séquentiellement de sorte que le nombre total d'entrées de bras, ainsi que la séquence d'entrées, soient enregistrés. Les données sont analysées pour déterminer le nombre d'entrées de bras sans répétition. Le succès de ce test est également indiqué par un taux élevé d'alternance dans les groupes témoins indiquant que les animaux peuvent se souvenir du bras entré en dernier. Un rat qui ne montre aucune préférence pour aucun des bras pendant la session de test est une indication d'une mémoire spatiale altérée, ce qui peut indiquer une altération du fonctionnement de l'hippocampe (Kraeuter *et al.*, 2019). Le calcul du pourcentage d'alternation s'est fait selon la formule :

$$\% \text{ Alternation} = \frac{\text{Nombre d'alternation}}{(\text{Nombre total d'entrée dans les bras} - 2)} \times 100$$

#### **f. Test de la piscine aquatique de Morris (« Morris Water Maze »)**

Le labyrinthe aquatique de Morris ou « Morris Water Maze » (MWM) est largement utilisé pour étudier la mémoire spatiale et la mémoire à long terme (D'Hooge et De Deyn, 2001). Le MWM est une procédure relativement simple, le principal avantage étant la différenciation entre les conditions spatiales (plateforme cachée) et non spatiales (plateforme visible). L'environnement du MWM réduit les interférences sur les traînées d'odeurs (Les animaux sont dans l'incapacité d'utiliser leurs propres signaux olfactifs).

Le principe de son utilité réside dans la motivation de l'animal à échapper à l'aversion causée par l'eau, celui-ci devant nager, trouver et grimper le plus rapidement possible sur la plateforme.

La position de la plateforme reste inchangée, contrairement à la position de départ du rongeur qui, elle, varie de quadrant en quadrant au fil des essais. Des signaux, répartis aux

alentours de la piscine, sont utilisés pour permettre à l'animal de s'y diriger plus facilement. Parce qu'ils sont dans une eau rendu opaque par la couleur du dispositif et de la plateforme, les animaux ne peuvent pas voir la plate-forme et ne peuvent pas compter sur l'odeur pour trouver la voie d'évacuation. Au lieu de cela, ils doivent s'appuyer sur des signaux externes / extra-labyrinthiques (bureau, frigidaire, poster, microscope, rotavapor, tabouret, ...) répartis aux alentours de la piscine pour se diriger plus facilement vers la plateforme. À mesure que les animaux se familiarisent avec le test, ils peuvent trouver la plate-forme plus rapidement. Les animaux sont surveillés lorsqu'ils nagent et les paramètres sont enregistrés par un système de suivi vidéo connecté à un ordinateur directement au-dessus du réservoir d'eau. L'animal apprend à localiser en un essai la position journalière d'une plateforme immergée située dans un des quadrants. Le rongeur, relâché dans l'un des trois autres quadrants après un délai de rétention, utilise l'information qu'il a gardée en mémoire de travail concernant la disposition de la plateforme par rapport à celle des signaux environnementaux. (Vorhees and Williams, 2006).

Le but de l'entraînement est de déterminer si l'animal se souvient ou non de la plateforme. Les indications d'une telle mémoire comprennent le nombre d'entrée dans le quadrant cible, le temps passé dans le quadrant cible, la latence d'entrée dans le quadrant cible (Brown *et al.*, 2004). Il est ainsi attendu que la latence soit de plus en plus courte, que le nombre d'entrée dans le quadrant cible soit élevé et que le temps passé dans le quadrant cible soit plus long au fil des essais.

Le pourcentage de temps passé dans le quadrant cible a été calculé via la formule :

$$\% \text{ Temps quadrant cible} = \frac{\text{Temps passé quadrant}}{60} \times 100$$

60 = Nombre de secondes c ontenu dans une minute de test

## **II.2.6- Etudes pharmacologiques**

### **II.2.6.1- Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ »**

#### **a. Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation aiguë induit chez le rat par la carragénine 1 %**

La méthode décrite par Elion Itou a été utilisée (Elion Itou *et al.*, 2014). Trente (30) rats Wistar de 8 à 10 semaines pesant entre 130 et 150g mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation ont été répartis en 5 lots de 6 rats chacun. Le groupe 1 : Témoin négatif (T neg), a reçu de l'eau distillé (solvant) par voie orale (*p.o*) a raison de 10mL/kg ; Le groupe 2 : Témoin positif (T pos), a reçu le Diclofénac (un anti-inflammatoire non stéroïdien servant de molécule de référence) à la dose de 5 mg/kg, *p.o*. Les groupes 3, 4, 5 : tests (Ten 200, Ten 400, Ten 600), ont reçu le boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et de 600 mg/kg PC, *p.o*. Une heure après administration des différents traitements, un volume de

0,1mL de carragénine 1 % a été injectée sous le coussinet plantaire de la patte gauche de chaque rat. La patte gauche de chaque animal a été préalablement marqué grâce à un feutre indélébile. L'effet anti-inflammatoire a été évalué en mesurant le volume de l'œdème de la patte ayant reçu la carragénine 1% au début du test (V0), ensuite à 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h et 6 h à l'aide d'un Pléthysmomètre (UGO basil) (Elion Itou *et al*, 2014). La formule de calcul du pourcentage d'inhibition (% I) a été appliquée.

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(V_t - V_0)_{\text{témoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}}{(V_t - V_0)_{\text{témoin}}} \times 100$$

V<sub>t</sub> = Moyenne de volume de l'œdème de chaque groupe

V<sub>0</sub> = Moyenne de volume de l'œdème obtenu pour chaque groupe après traitement

#### **b. Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation aiguë induit chez le rat par l'histamine**

L'inflammation aiguë induite à l'histamine a été réalisée avec 25 rats Wistar de 8 à 10 semaines pesant entre 130 et 150 g. les rats ont été mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation et répartis-en 5 groupes de 5 rats chacun. Le groupe 1 : Témoin négatif (T neg) a reçu de l'eau distillé (véhicule) par voie orale (*p.o*) à raison de 10mL / kg ; Le groupe 2 : Témoin positif (T pos), a reçu prométhazine (molécule de référence) à la dose de 1 mg/kg, *p.o*. Les groupes 3, 4, 5 : Tests (Ten 200, Ten 400, Ten 600), ont reçu la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et de 600 mg/kg PC, *p.o*. Une heure après administration des différents traitements, un volume de 10µL d'histamine 1 % a été injectée sous le coussinet plantaire de la patte gauche de chaque rat. L'effet anti-inflammatoire a été évalué en mesurant le volume de l'œdème de la patte ayant reçu l'histamine 1% à 30 min, 1 h et 2 h à l'aide d'un Pléthysmomètre.

La formule de calcul du pourcentage d'inhibition (% I) a été appliquée :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(V_t - V_0)_{\text{témoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}}{(V_t - V_0)_{\text{témoin}}} \times 100$$

V<sub>t</sub> = Moyenne de volume de l'œdème de chaque groupe

V<sub>0</sub> = Moyenne de volume de l'œdème obtenu pour chaque groupe après traitement

#### **c. Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation aiguë induite chez le rat par la sérotonine**

L'inflammation aiguë induite par la sérotonine a été réalisée selon le même protocole que celui de l'histamine. Les animaux ont reçu la sérotonine 1 % en lieu et place de l'histamine 1%. Dans ce protocole, le témoin positif a reçu la Cyproheptadine (molécule de référence) à la dose de 2 mg/kg, *p.o*.

## II.2.6.2. Evaluation des propriétés analgésiques de la boisson « tenghõ »

### a. Evaluation des propriétés analgésiques de la boisson « tenghõ » par le test à l'acide acétique

Le criblage de l'effet analgésique de la boisson « tenghõ » a été réalisé selon la méthode de Koster (Koster, 1959). Elle consiste à induire une action algogène par l'administration à des souris de l'acide acétique (1%), par voie *ip*. Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales. L'effet analgésique a été apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 30 min après l'injection de l'agent algogène. Pour l'évaluation de l'activité analgésique de la boisson « tenghõ », cinq groupes de cinq souris chacun ont été utilisés. Ces souris étaient de sexe mâle et femelle (2 mâles et 3 femelles par groupe) et ont été mis à jeun 10 heures avant l'essai. Le groupe 1, a reçu de l'eau distillé (véhicule) par voie orale ; Le groupe 2 : Témoin positif (T pos), a reçu l'aspirine à la dose de 200 mg/kg *p.o*; les groupes 3, 4, 5 : Tests (Ten 200, Ten 400, Ten 600), ont reçu la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg PC, 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique par voie intra péritonéale à raison de 1mL/100g PC. L'effet analgésique a été évalué en comptant le nombre de crampes abdominales de chaque souris pendant 30 min. Le pourcentage d'inhibition des crampes a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = \frac{\text{Moyenne témoin négatif} - \text{Moyenne essai}}{\text{Moyenne témoin négatif}} \times 100$$

### b. Evaluation des propriétés analgésiques de la boisson « tenghõ » sur la douleur aigüe induite chez le rat lors du test d'immersion de la queue (« Tail immersion test »)

Le test d'immersion de la queue a été réalisé grâce à l'eau chaude dans un bain marie maintenue à une température de  $55 \pm 2$  °C. Pour la réalisation de ces tests, 30 rats mâles et femelles ont été répartis en 5 groupes de 6 animaux chacun (3 mâles et 3 femelles par groupe) : le Groupe 1 recevait de l'eau distillée (solvant 10 mL/kg *p.o*) ; le Groupe 2 (Témoin positif) qui recevait du Tramadol (20 mg/Kg *p.o*) ; le Groupe 3, 4,5 (Tests) recevait le « tenghõ » aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg PC respectivement ; 1h après administration de ces traitements, la queue de chaque animal (marquée à 3 cm de l'extrémité) a été introduite dans de l'eau chaude et le temps de latence de retrait de la queue a été mesuré deux fois de suite à intervalle de 10 min. La moyenne des deux temps a été considérée comme temps initial (Ti) de réaction pour chaque animal avant traitement. Le temps de latence de retrait de la queue a été noté aux instant 0, 15, 30, 45, 60, 120 min après administration des traitements. Si 15 secondes après introduction de la queue dans l'eau chaude aucune réaction n'était

observée, la queue de l'animal était retirée de l'eau chaude : c'était le « cut off time ». Le pourcentage d'activité analgésique a été calculé à partir de la formule ci-dessous :

$$PAA = \frac{T_f - T_i}{T_i} \times 100$$

PAA = Pourcentage d'activité analgésique ;  
Tf = Temps moyen après le traitement de chaque groupe ;  
Ti = Temps moyen avant le traitement de chaque groupe.

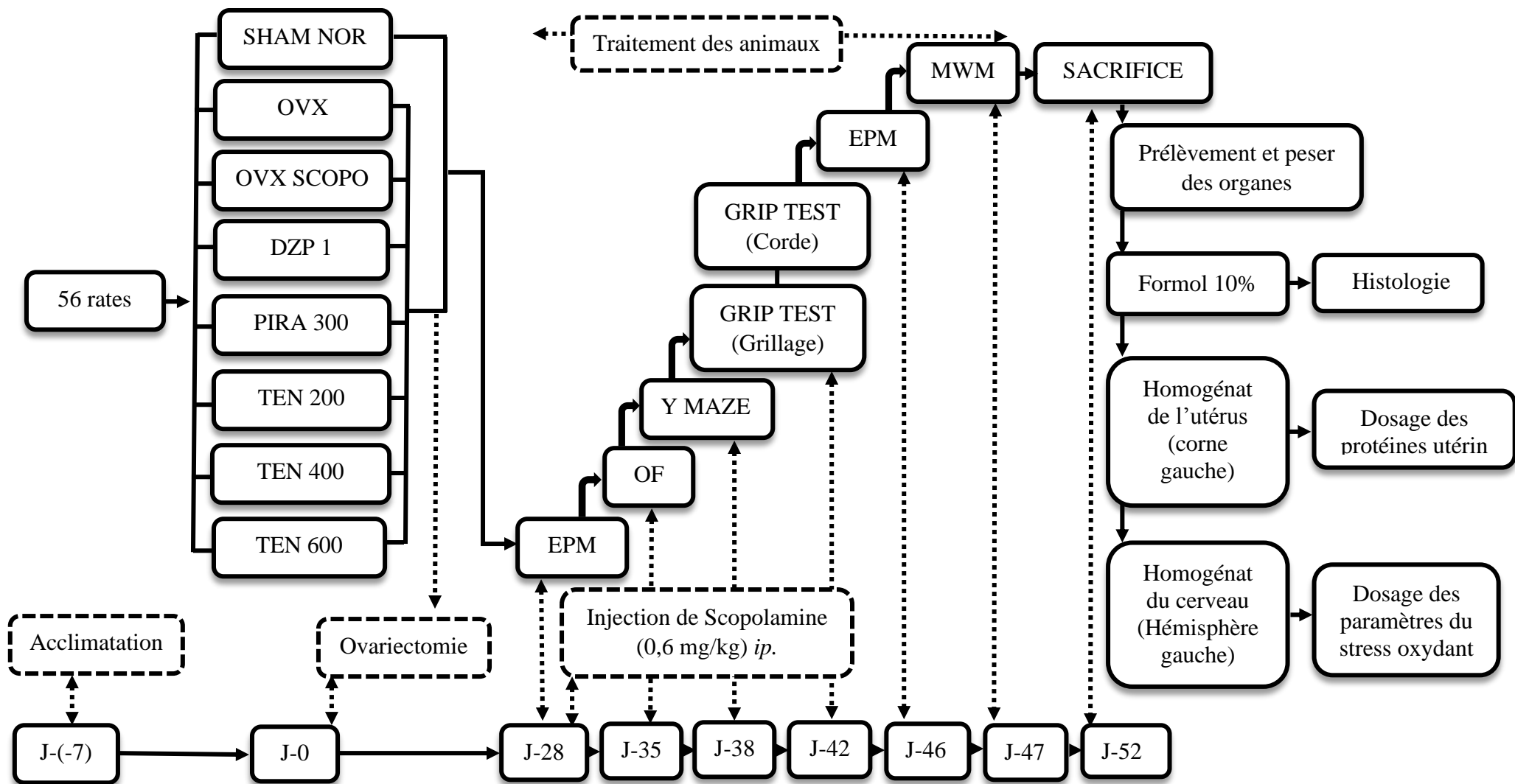
### II.2.6.3. Evaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ »

- **Evaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (0,6 mg/kg) chez des rates ovariectomisées**

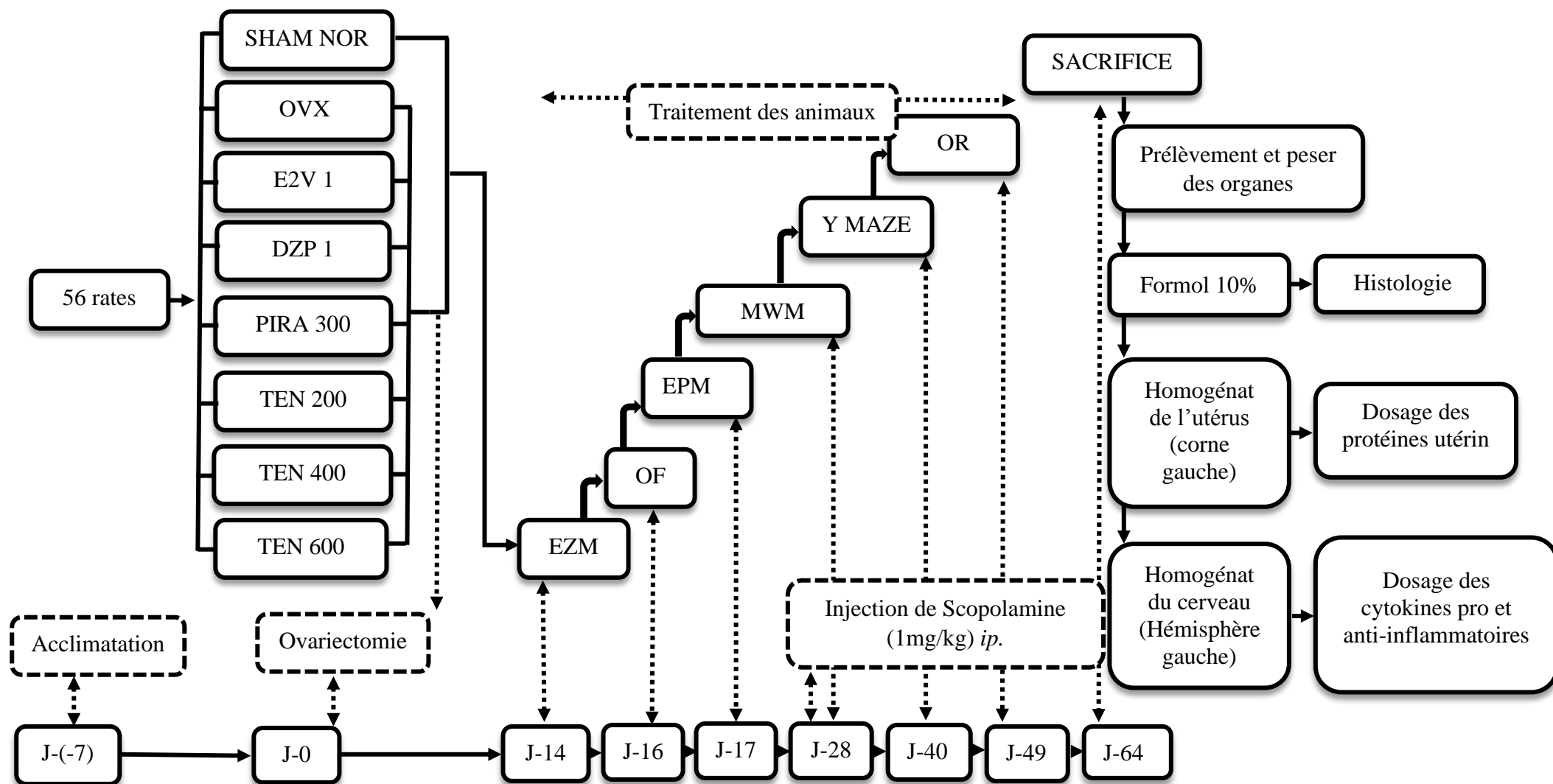
La réalisation des tests de mémoire s'est faite en deux expérimentations : Pour la première (Figure 14), 56 rates ont été réparties en 8 lots de 7 animaux chacun après 7 jours d'acclimation à l'alimentation sans soja. Les animaux ont été ovariectomisés (à l'exception du groupe Sham Nor qui n'a eu qu'une chirurgie blanche). Après 28 jours de déclin hormonal endogène, la scopolamine (0,6 mg/kg) a été injecté aux animaux pendant 14 jours à partir du jour 28 post ovariectomie. Les animaux sont tour à tour passés aux tests comportementaux : EPM (jour 28), OF (jour 35), Y Maze (jour 38), le grip strenght test à la corde et au grillage (jour 42), EPM (jour 46), MWM (jour 47). Les animaux ont été sacrifiés (jour 52) et les organes prélevés, broyés et introduits dans le formol 10% pour analyse histologique.

- **Evaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (1 mg/kg) chez des rates ovariectomisées**

Lors de la seconde expérimentation, 56 rates ont été réparties en 8 lots de 7 animaux chacun (Figure 15) après 7 jours d'acclimation à l'alimentation sans soja, les animaux ont été ovariectomisés (à l'exception du groupe Sham Nor qui n'a eu qu'une chirurgie blanche). Après 14 jours de déclin hormonal endogène la scopolamine (1 mg/kg) a été injecté aux animaux pendant 17 jours à partir du jour 30 post ovariectomie. Les animaux ont été tour à tour passés aux tests comportementaux : EZM (jour 14), OF (jour 16), EPM (jour 17), MWM (jour 30), Y Maze (jour 40), OR (jour 49). Les animaux ont été sacrifiés (jour 64) ; le cerveau a été prélevé, l'hippocampe et le cortex cérébral ont été isolés et broyés pour le dosage des cytokines (pro et anti-inflammatoires).



**Figure 14** : Protocole expérimental d'évaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghō » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (0,6 mg/kg) chez des rates ovariectomisées.



**Figure 15 :** Protocole expérimental d'évaluation des propriétés neuroprotectrices de la boisson « tenghō » sur un modèle de troubles neurocognitifs induit à la scopolamine (1 mg/kg) chez des rates ovariectomisées.

### **a. Evaluation des propriétés anxiolytiques grâce au test de l' « Elevated Plus Maze »**

Le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM) a été réalisé selon la méthode décrite par Andrews et File (1993). Ce test est basé sur l'étude du comportement spontané de l'animal et sur le conflit des rongeurs entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement ou conflit de type approche-évitement. Un animal qui explore les bras ouverts est décrit comme étant « peu anxieux ». L'animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif est quant à lui considéré comme étant « anxieux » et aura donc naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés (Oviedo *et al.*, 2006). Le test de l'EPM a beaucoup de mérites : (1) il est rapide et simple ; (2) il est basé sur le comportement spontané ; (3) il peut identifier des effets aigus des substances à activités anxiolytiques et (4) il est bi-directionnellement sensible aux manipulations de l'anxiété. Ce test est ainsi largement employé dans le screening des substances à activités anxiolytiques et dans l'étude des mécanismes de l'anxiété (Thakur and Mengi, 2005).

L'expérimentation a été réalisée selon la méthode décrite par Andrews et File (1993), dans une salle calme et éclairée par la lumière du jour. Les rates y ont été amenées 72 heures avant la réalisation du test afin qu'elles s'y acclimatent. Les rates de 10 à 12 semaines ont été au préalable ovariectomisées et ont subi un déclin hormonal endogène de 28 jours. Puis elles ont été réparties de façon aléatoire en 8 lots de 7 animaux chacun. Les animaux ont été traités à de l'eau distillée pour le lot témoin négatif ovariectomisé (OVX), à l'œstradiol valérate (1 mg/kg) pour le lot E2V, au Diazépam (1 mg/kg) pour le lot DZP, aux différentes doses de « tenguõ » (200 mg/kg, 400 mg/kg et 600 mg/kg). Ces substances ont été administrées en raison de 10 mL/kg PC. Après administration des différentes substances par voie orale à l'aide d'une sonde à gavage pour tous les lots excepté le lot DZP (administration intra péritonéale à l'aide d'une seringue à insuline), les rates ont à nouveau été remises dans leurs cages pour réduire les réponses néophobiques dues à l'environnement expérimental (Bourin *et al.*, 2001). Une heure après administration des différentes substances, les rates ont été placées l'une après l'autre au centre de la plate-forme du labyrinthe en croix surélevé. Le comportement de chaque rate a été observé pendant 5 minutes. Pour chaque rate, plusieurs paramètres comportementaux ont été évalués à savoir : le nombre d'entrées et le temps passé dans les différents bras du labyrinthe ; le nombre de « rearing » (nombre de fois que l'animal se tient debout sur ses pattes postérieures et prend appuie sur les bords du dispositif expérimental) le nombre de « Head dipping » (nombre de fois que l'animal se place dans les bras ouverts du labyrinthe et regarde en dessous du dispositif expérimental) et le nombre de « grooming » (nombre de fois que l'animal nettoie son corps) (Casarrubea *et al.*, 2012). Après 5 minutes d'observation, la rate a été remise dans sa cage d'origine et le dispositif



expérimental a été nettoyé avec de l'alcool éthylique (70 %) pour chasser toute odeur laissée par l'animal et qui pourrait influencer la rate suivante.

- **Test de l'EPM après Injection de Scopolamine**

Le deuxième test de l'EPM était réalisé pour évaluer le comportement anxieux des rongeurs cette fois ci lorsque les animaux avaient reçu la Scopolamine 0,6 mg/kg. Ce test est réalisé le jour 46 post-ovariectomie, soit 16 jours après le début des injections journalières de Scopolamine 0,6mg/kg à partir du 28<sup>ième</sup> jour post-ovariectomie. Une heure après administration des différentes substances, les animaux ont été tour à tour introduits dans le labyrinthe (5 min/rate) et les paramètres comportementaux ont été enregistrés via un système de vidéo camera connecté à un ordinateur. Les paramètres évalués étaient : Le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts, le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras fermés, le nombre de « rearing », de « head dipping » et de « grooming », ainsi que le nombre et la masse des selles produites et enfin la température rectale.

**b. Evaluation des propriétés anxiolytiques grâce au test de l'« Open Field Test »**

Le test de l'« Open Field » (OF) est un test d'évaluation du comportement anxieux chez les rongeurs. Il évalue le niveau d'activité locomotrice, le niveau d'exploration et la réactivité émotionnelle des rongeurs. Ce test permet d'évaluer plusieurs paramètres comportementaux chez les rongeurs en réponse à un environnement nouveau ou en présence d'un composant anxiogène (Seillier, 2003). La méthode utilisée lors de cette étude a été celle décrite par Belzung (1999).

Les rates ont été amenées au laboratoire 72 heures avant la réalisation du test pour acclimatation. Ce test a été réalisé le jour 35 post-ovariectomie, soit 7 jours après injection journalière de Scopolamine 0,6 mg/kg à partir du 28<sup>ième</sup> jour post-ovariectomie. Les rates ont été réparties de façon aléatoire en 8 lots de 7 animaux chacun. Les animaux ont été traités à de l'eau distillée pour le lot témoin normal (Sham Nor), le lot témoin négatif ovariectomisé (OVX), à l'œstradiol valérate (1 mg/kg) pour le lot E2V, au Diazépam (1 mg/kg) pour le lot DZP, au piracetam (300 mg/kg) pour le lot PIRA, aux différentes doses du « tenguõ » (200 mg/kg, 400 mg/kg et 600 mg/kg). Ces substances ont été administrées en fonction du poids des animaux (10 mL/Kg PC). Après administration des différentes substances par voie orale à l'aide d'une sonde à gavage pour tous les lots excepté le lot DZP (administration intra péritonéale à l'aide d'une seringue à insuline), les rates ont été placées l'un après l'autre au centre du dispositif expérimental. Le dispositif était éclairé à la lumière du jour et le comportement de chaque rate a été observé pendant 5 minutes. Après le passage de chaque animal, le dispositif était nettoyé à l'aide de l'éthanol 70 % et un tissu en coton sec (pour éviter la perturbation des animaux dus à l'odeur des urines et des fèces). Le test a été effectué

dans une salle calme sous lumière normale du jour entre 8 h et 16 h et les paramètres comportementaux étaient enregistrés via un système de vidéo camera connecté à un ordinateur. Les paramètres évalués étaient le temps passé au centre du dispositif ainsi que le nombre de « crossing » (nombre de lignes traversées), de « rearing » (nombre de fois que l'animal se tient debout sur ses pattes postérieures et prend appuie sur les bords du dispositif expérimental) et de « grooming » (nombre de fois que l'animal nettoie son corps), la température rectale, ainsi que le nombre et la masse des selles produite (Casarrubea *et al.*, 2012).

### **c. Evaluation de la mémoire spatiale à court terme grâce au labyrinthe en Y**

Le test du Y maze a été réalisé chez les animaux le jour 38 après ovariectomie, soit après 10 jours d'injection de Scopolamine 0,6 mg/kg à partir du 28<sup>ième</sup> jour après ovariectomie. Dans cette étude, les groupes considérés étaient les groupes SHAM NOR, OVX SCOPO, PIRA, Ten 200, Ten 400 et Ten 600. Concernant le test proprement dit, les animaux sont entraînés tour à tour dans le dispositif du Y maze pendant 5 min. Un bras était fermé dans le dispositif et appelé « bras nouveau ». Une heure après l'entraînement, les animaux sont tour à tour tester dans le dispositif pendant 2 min, cette fois ci le bras nouveau était ouvert. Et les paramètres comportementaux étaient enregistrés via un système de vidéo camera connecté à un ordinateur. Les paramètres évalués étaient le pourcentage du bon bras choisi (le bras choisi ne doit pas être le bras déjà visité en dernier), le pourcentage de temps passé dans l'ancien bras, le pourcentage de temps passé dans le nouveau bras.

### **d. Evaluation de la mémoire spatiale à long terme grâce à la piscine de Morris**

Le test de la piscine de Morris permet d'évaluer la mémoire spatiale et de la mémoire à long terme chez les rongeurs. Il a été réalisé chez les animaux le jour 47 après ovariectomie, soit le jour 19 (donc 5 jours après que les animaux aient reçu des injections de Scopolamine 0,6 mg/kg pendant 14 jours à partir du 28<sup>ième</sup> jour post-ovariectomie). Dans cette étude, les groupes considérés étaient les mêmes que ceux du Y maze. Les animaux ont été entraînés pendant 4 jours dans la piscine de Morris à raison de 3 passages de 1min chacun. Le test proprement dit s'est fait le 5<sup>ième</sup> jour à partir du 1er jour d'entraînement et consistait en un passage d'une durée de 1 min et les paramètres évaluer étaient : le temps et le nombre d'entrée dans le quadrant cible. Ce test a été réalisé une seconde fois lors de l'expérimentation à la scopolamine 1 mg/kg. Lors de cette expérimentation, le test s'est réalisé le jour 33, soit 5 jours à partir du 28<sup>ième</sup> jour post ovariectomie.

**e. Evaluation de la force de préhension grâce au test à la Corde : « Wire-Suspension Grip/Agility Test »**

Le test de suspension à la corde a été réalisé dans le but d'évaluer la force de préhension et la coordination motrice des animaux (Brooks and Dunnett, 2009). Les animaux ont été répartis comme dans le test du Y maze et ce test est réalisé le jour 42 soit après 14 jours d'injection de scopolamine à partir du 28<sup>ème</sup> jour après ovariectomie. Les animaux ont été introduits dans la salle d'expérimentation 3 jours avant la réalisation du test (acclimatation). Une heure après administration des différentes substances, chaque rat était retiré de sa cage. Le rat était placé sur le fil et relâché lorsqu'il le tenait à l'aide de ses deux pattes antérieures. La durée du test était de 60s par animal et le test était repris 3 fois de suite après 1 min d'intervalle. Le temps de latence de chute de la corde a été enregistré et la moyenne des 3 essais était calculé. Lorsque l'animal se déplaçait jusqu'au barreaux de soutien avant la fin du test, il recevait un score de 60 secondes.

**f. Evaluation de la force de préhension grâce au test à la grille : « Grid Suspension / Grip-Strength Test »**

Le test de suspension à la grille a été exécuté dans le but d'évaluer la force de préhension des animaux, avec moins de demande de coordination motrice que le test de suspension à la corde (Brooks and Dunnett, 2009). Les animaux ont été réparti comme dans le test du Y maze et ce test était réalisé le jour 42 soit après 14 jours d'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* à partir du 28<sup>ème</sup> jour post-ovariectomie. Pour la réalisation du test, l'animal a été posé sur la grille et cette dernière était lentement retourné par l'expérimentateur, de sorte que l'animal reste suspendu sous le dispositif pour une durée de 60 secondes. Chaque rat accomplissait trois épreuves et le temps de latence de chute de la grille était enregistré. Lorsque l'animal réussissait à se déplacer jusqu'au bord de la grille pour remonter par-dessus, l'animal recevait un score de 60s pour temps de préhension. Pour chaque rat, le test suivant était effectué après 1 min de repos et le temps moyen de préhension pour les trois essais était calculé.

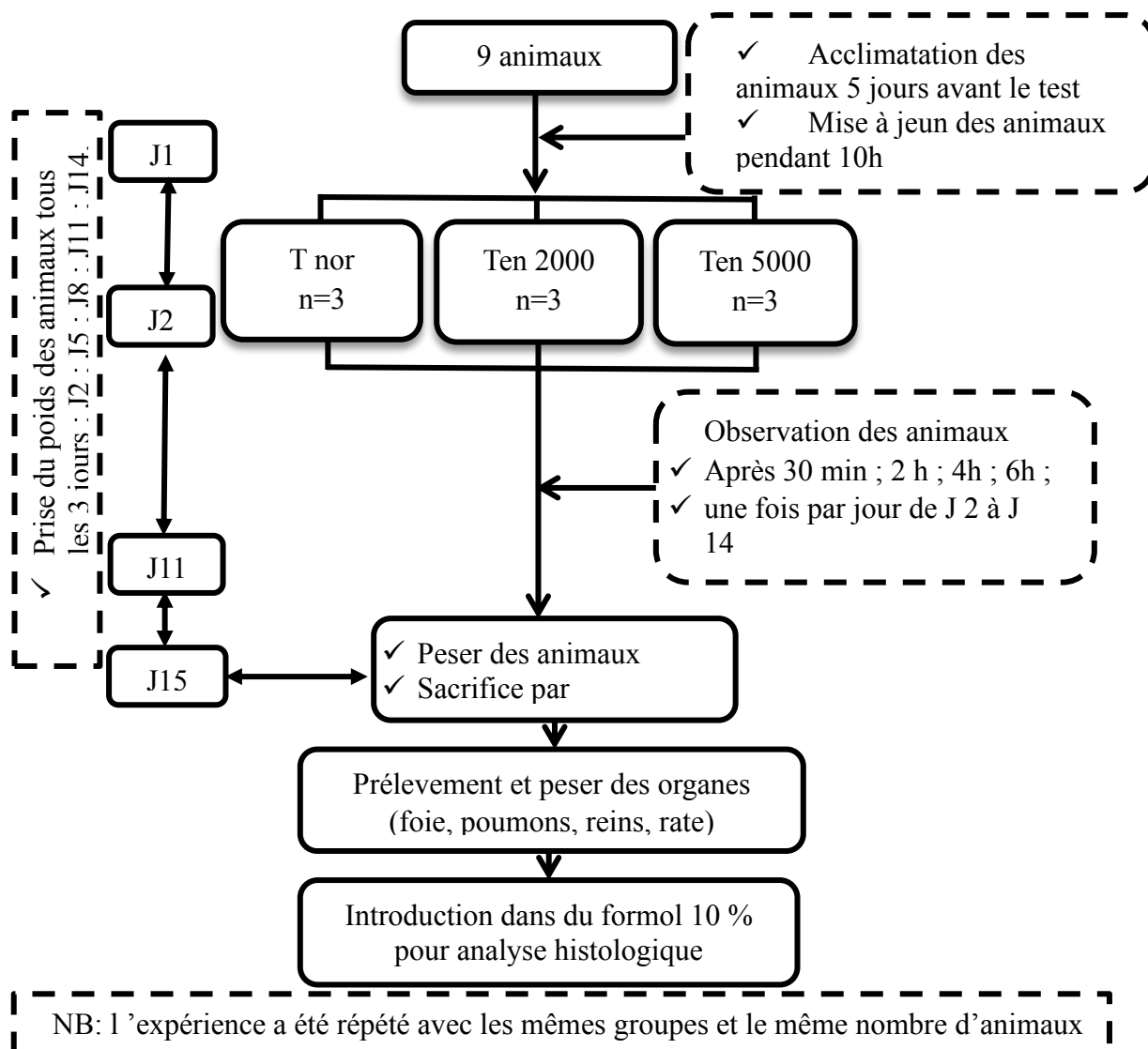
**II.2.6.4. Evaluation de la toxicité de la boisson « tenghõ »**

**a. Evaluation de la toxicité aiguë de la boisson « tenghõ »**

La toxicité aiguë a été évaluée conformément à la ligne directrice n°423 annexe 2d de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique) pour les essais de substances chimiques, adoptée le 17 Décembre 2001 (OCDE, 2001) (Figure 16). C'est un essai qui se déroule de manière séquentielle, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape (3 animaux). La méthode utilisée est celle des doses prédéterminées et stipule que : Si on a des informations disponibles sur le produit qui suggèrent une mortalité peu probable au

niveau de la dose initiale la plus élevée (2000 mg/kg de poids corporel), on peut procéder à un essai limite qui sous-entend que la toxicité se situe au-dessus de la dose limite réglementaire la plus élevée (2000 mg/kg). Ainsi, l'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe de 3 animaux ayant reçus une dose précise à une étape donnée, détermine l'étape suivante c'est-à-dire qu'on peut : arrêter l'essai si tous les animaux meurent alors qu'on est à la dose la plus faible prévue par le protocole (5 mg/kg); administrer la même dose à trois animaux supplémentaires de préférence femelles car les femelles sont un peu plus sensibles que les mâles (Lipnick *et al.*, 1995). Il est à noter que les mâles ne sont utilisés que si l'on a une connaissance antérieure de la possible toxicité de la substance utilisée chez les mâles ; et enfin on peut administrer la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

Comme l'indique le protocole, pour la réalisation du test de toxicité aiguë, 09 rates albinos femelles de souche Wistar de poids moyen 120 g ont été acclimatées pendant 5 jours au laboratoire. Les rates ont été réparties en 3 lots de 3 animaux chacun. Le premier lot Témoin normal (TN) recevait de l'eau distillée, le second et le dernier lot recevaient la boisson « *tenghõ* » aux doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg. Après 30 min, 2h, 4h, 6h et régulièrement pendant 14 jours, les animaux étaient observés, les paramètres tels que l'aspect du pelage, la salivation, la locomotion, les tremblements, l'aspect des fèces et le nombre de décès des animaux étaient enregistrés. 14 jours plus tard, les animaux sont sacrifiés et les organes de toxicité tel que le foie, les poumons, les reins, la rate, les glandes surrénales sont prélevés, pesés et introduits dans du formol 10% pour analyse histologique. L'expérience a été répétée sur 09 autres rates albinos femelles de souche Wistar suivant le protocole précédant.

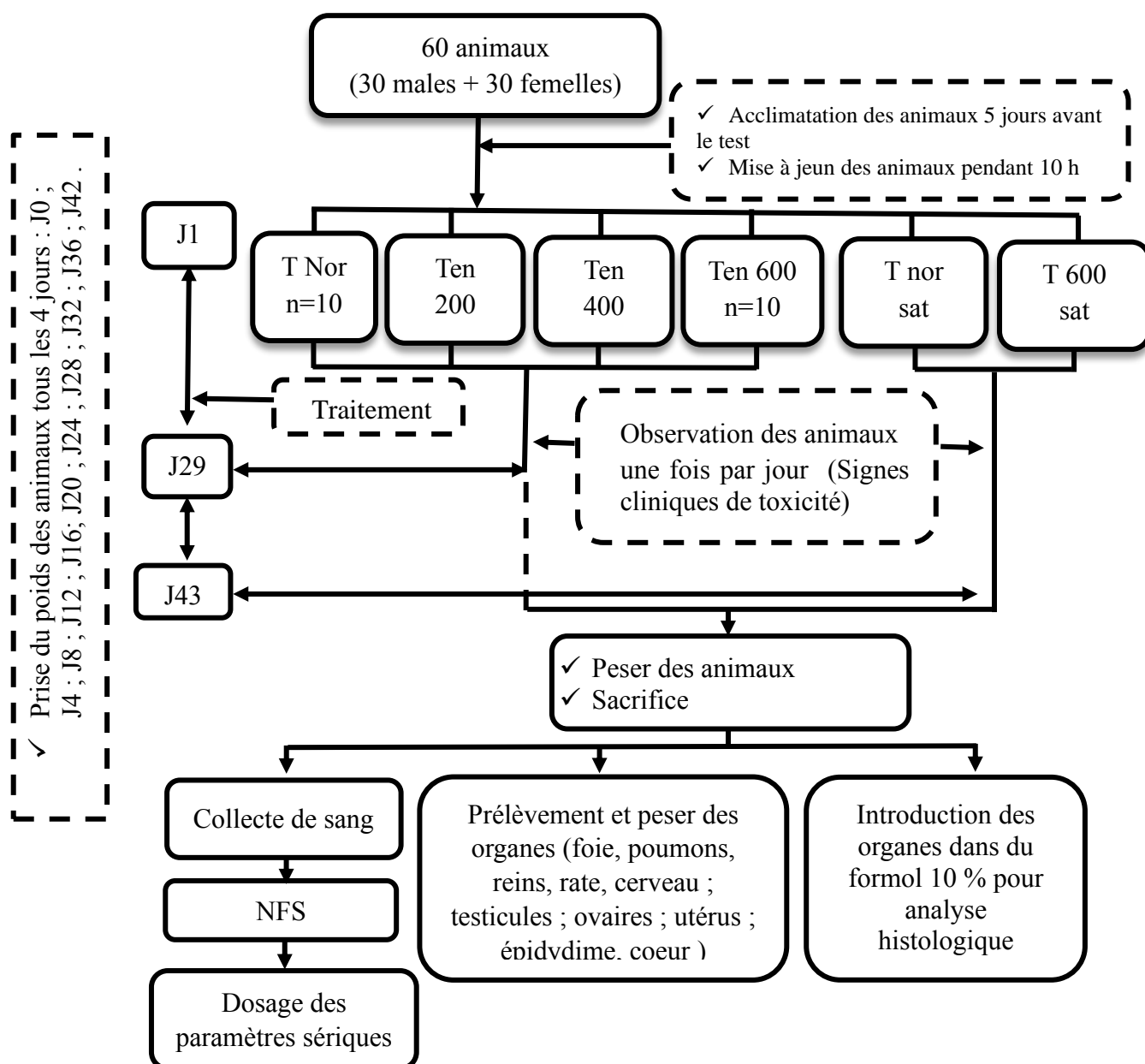


**Figure 16 :** Protocole expérimental de toxicité aiguë de la boisson « tenghõ »

#### b. Evaluation de la toxicité subchronique de la boisson « tenghõ »

L'évaluation de la toxicité subchronique de la boisson « tenghõ » s'est faite conformément au protocole de la figure 17. 60 animaux (30 mâles et 30 femelles) ont été acclimaté pendant 5 jours avant le début du test. Les animaux ont été mis à jeun pendant 10 h. Les 60 animaux ont été reparti en 6 lots de 10 animaux chacun (5 mâles et 5 femelles par lots). Les lots des mâles étaient séparés des lots des femelles. Deux lots d'animaux recevaient de l'eau distillée [Le lot témoin normal (T NOR) et le lot témoin normal satellite (T Nor Sat)]. Quatre lots recevaient la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg (Ten 200, Ten 400, Ten 600, Ten 600 Sat). Les traitements ont duré 28 jours. Le jour 29 les animaux ont été sacrifiés sauf ceux des groupes satellite (T Nor Sat ; Ten 600 Sat). Le traitement des animaux des groupes satellite ont été stoppé le jour 28. Ces animaux ont ensuite été observés pendant 14 jours, puis sacrifiés le jour 42. Pendant les traitements, tous les animaux ont été observés tous les jours pour déceler des signes de toxicité. Les jours de

sacrifice (jour 29 et jour 42), les animaux ont été pesés, anesthésiés et sacrifiés. Le sang a été collecté, une partie a été introduite dans des tubes EDTA pour évaluation de la Numération formule sanguine (NFS). L'autre partie a été introduite dans des tubes secs et centrifugés pour le dosage des paramètres sériques. Les organes (foie, poumons, reins, rate, cerveau ; testicules ; ovaires ; utérus ; épидидyme, cœur) ont été prélevés, pesés puis introduit dans du formol 10% pour analyse histologique.



**Figure 17 :** Protocole expérimental de toxicité subchronique de la boisson « tenghō »

## II.2.7- Sacrifice des animaux

Les animaux ont été anesthésiés, sacrifiés au lendemain des gavages. Les animaux ont été anesthésiés par une injection de diazépam (10mg/kg *ip*) associé à la kétamine (50 mg/kg *ip*). Pendant leur sommeil, le cou des animaux était coiffé et la carotide sectionnée pour le prélèvement des échantillons de sang. Les animaux ont été ensuite fixés sur une plaque de liège pour dissection et prélèvement des organes.

## II.2.8- Prélèvement des organes

Le prélèvement de la glande mammaire s'est fait par cisaillement de la peau entourant le mamelon. L'ouverture de la cavité abdominale a permis de mettre en évidence des organes (Foie, poumons, reins, rate, ...) ainsi que l'appareil génital. L'isolement de l'utérus et du vagin a été faite en sectionnant au niveau de l'anneau utérin (limite entre les deux organes), Le vagin a été isolé en coupant au niveau de l'orifice génital. Le cerveau a été isolé après avoir ouvert la boîte crânienne. Ces organes après prélèvement ont été pesés (excepté le vagin) avant d'être fixé dans le formol 10% pour analyse histologique.

## II.2.9- Réalisation des homogénats

Des proportions de 0,4 g de cerveau et de 0,1 g d'utérus ont été broyées à l'aide d'un mortier et un pilon en céramique sur bac de glaces. Ensuite, 2 mL de tampon Tris a été ajouté au broyat de cerveau et 1 mL de Mc Ewen à celui de l'utérus. Le mélange a été transféré dans des tubes à essai secs et étiquetés, puis centrifugé à 3000 tours/min à 4°C pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu après centrifugation a été recueilli dans des tubes eppendorf et conservé au congélateur à -20°C pour l'évaluation des paramètres biochimiques cérébraux (paramètres du statut oxydant) et utérins (protéines).

## II.2.10- Dosages de quelques paramètres biochimiques

### II.2.10.1- Dosage des paramètres du stress oxydant dans les homogénats de cerveau

#### a. Dosage de la superoxyde dismutase

- **Principe du dosage de la superoxyde dismutase**

L'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome dans un milieu est inhibée en présence de la superoxyde dismutase (SOD). La variation de l'absorbance, qui est proportionnelle à l'activité de la SOD, est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

- **Mode opératoire du dosage de la superoxyde dismutase**

Le dosage de la SOD a été réalisé comme décrit dans le tableau III.

**Tableau III** : Protocole de dosage de la SOD

	<b>Tube blanc</b>	<b>Tube échantillon</b>
Homogénats (µL)	-	134
Tampon carbonate 0,05 M, pH 10,2 (µL)	1800	1666
Adrénaline 0,3 mM (µL)	200	200

Après homogénéisation, l'absorbance des tubes tests à 480 nm a été mesurée à 20 et à 80 secondes contre le blanc.

L'activité de la SOD a été déterminée comme suit :

- La variation de l'absorbance :  $\Delta A (\text{min}) = A_{20S} - A_{80S}$
- % d'inhibition =  $100 - (\Delta A_{\text{essai}} \times 100 / \Delta A_{\text{blanc}}) = n$  unités de SOD.

L'activité spécifique de la SOD (unité de SOD/g d'organes) = (nombre d'unité de SOD/mL/g d'organes x f)

$A_{20s}$  = Absorbance mesurée à 20 secondes ;  $A_{80s}$  = Absorbance mesurée à 80 secondes ;  
 $\Delta A_{\text{essai}}$  = Variation de l'absorbance de l'échantillon ;  $\Delta A_{\text{blanc}}$  = Variation de l'absorbance du blanc ;  $f$  = facteur de dilution ; 50 % d'inhibition équivaut à une unité de SOD.

### b. Dosage de la catalase

- **Principe du dosage de la catalase**

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

- **Mode opératoire du dosage de la catalase**

Le protocole utilisé pour la réalisation de la courbe d'étalonnage est décrit dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Concentration de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mM)	0	2	4	8	16
Absorbances obtenues	-	-	-	-	-

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Voir annexe 1.5.1).

- **Evaluation de l'activité de la catalase dans les échantillons**

Le dosage colorimétrique de la catalase a été réalisé comme l'indique le tableau V.

**Tableau V** : Protocole de dosage de la catalase

	Tube blanc	Tube échantillon
Eau distillée (μL)	50	-
Homogénats (μL)	-	50
Tampon phosphate 0,1 mM ; pH 7,5 (μL)	750	750
Peroxyde d'hydrogène 50 mM (μL)	200	200
Incubation pendant 1 minute à température ambiante		
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000

Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et les solutions ont été chauffées à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été lue contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Urit-810 à 570 nm.



L'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Act CAT} = \frac{\Delta\text{DO}}{a \times t \times m}$$

**Act CAT** = Activité de la catalase (mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai - DO blanc ; **a** = Pente de la courbe d'étalonnages ; **t** = durée de la réaction (1 minute) ; **m** = Masse de l'organe (g).

### c. Dosage du glutathion réduit

- **Principe du dosage du glutathion réduit**

L'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe de coloration jaune dont l'absorption est maximale à 412 nm (Ellman, 1959).

- **Mode opératoire du dosage du glutathion réduit**

Le tableau VI présente le protocole de dosage colorimétrique du glutathion réduit.

**Tableau VI** : Protocole de dosage du glutathion réduit

	<b>Tube blanc</b>	<b>Tube échantillon</b>
<b>Tampon Tris-HCl 50 mM , pH 7,4/ tampon Mc-Even (μL)</b>	100	-
<b>Homogénats (μL)</b>	-	100
<b>Réactif de Ellman</b>	1500	1500

Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances des échantillons ont été lues contre le blanc à 412 nm.

La concentration en glutathion réduit (GSH) dans chaque échantillon a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

**[GSH]** = Concentration de GSH (mol/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai - DO blanc ; **L** = Trajet optique (1 cm) ; **ε** = Coefficient d'extinction molaire (13600 mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>) ; **m** = Masse de l'organe (g).

### d. Dosage du Malondialdéhyde

- **Principe du dosage du Malondialdéhyde**

Le malondialdéhyde (MDA) formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique en milieu acide et chaud, pour donner un complexe rose qui présente un maximum d'absorption à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de MDA présent dans le milieu.

- **Mode opératoire du dosage du Malondialdéhyde**

Le dosage colorimétrique du MDA a été réalisé comme décrit dans le tableau VII.

**Tableau VII : Protocole de dosage du MDA**

	<b>Tube blanc</b>	<b>Tube échantillon</b>
<b>Tampon Tris-HCl 50 mM , pH 7,4/ tampon Mc-Even (µL)</b>	250	-
<b>Homogénat (µL)</b>	-	250
<b>TCA 20 % (µL)</b>	125	125
<b>TBA 0.67 % (µL)</b>	250	250

Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90°C au bain-marie pendant 10 minutes, puis refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 tours/min à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue à 530 nm contre le blanc.

La concentration en MDA dans chaque échantillon a été déterminée par la

formule ci-dessous :

$$[\text{MDA}] = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

[MDA] = Concentration de MDA (mol/g d'organes) ;  $\Delta\text{DO}$  = DO essai - DO blanc ;  $L$  = Trajet optique

(1 cm) ;  $\epsilon$  = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>) ;  $m$  = Masse de l'organe (g).

**e. Dosage des nitrites**

- **Principe du dosage des nitrites**

En présence de l'amino-4-benzènesulfonamide (sulfanilamide) et le dichlorure de N(naphtyl-1)-diamino-1,2-éthane (N-1-naphtyléthylènediamine) en milieu acide, les nitrites subissent une réaction de diazotation. Le produit est proportionnel à la quantité de nitrites présente dans l'échantillon (Fermor *et al.*, 2001).

- **Mode opératoire du dosage des nitrites**

Le dosage des nitrites a été réalisé suivant le protocole présenté dans le tableau VIII.

**Tableau VIII : Protocole de dosage des nitrites**

	<b>Blanc</b>		<b>Etalons</b>					<b>Echantillons</b>	
<b>Tubes</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>X1... X2</b>	
<b>Concentration de NaNO<sub>2</sub> (µM)</b>	0	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	1	-	-
<b>Volume de NaNO<sub>2</sub> (µL)</b>	-	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Echantillons (µL)</b>	-	-	-	-	-	-	-	100	100
<b>Eau distillée (µL)</b>	500	400	400	400	400	400	400	400	400
<b>Réactif de Griess (µL)</b>	500	500	500	500	500	500	500	500	500

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc au spectrophotomètre à 546 nm.

**0** = Tube blanc ; **1-6** = Tubes étalons ; **X<sub>1</sub>-X<sub>n</sub>** = Tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage (voir annexe 1.5.2) a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la concentration de NaNO<sub>2</sub>. La concentration en nitrite dans chaque échantillon a été déterminée à partir de la formule :

$$[\text{Nitrite}] = \frac{\Delta\text{DO}}{a \times m}$$

[Nitrite] = Concentration de nitrites (μmol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai - DO blanc ; a = Pente de la courbe d'étalonnage ; m = Masse de l'organe (g).

### II.2.10.2. Dosage des protéines totales de l'utérus

- **Principe du dosage des protéines totales de l'utérus**

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

- **Mode opératoire du dosage des protéines totales de l'utérus**

Le dosage des protéines totales a été réalisé suivant la méthode de Biuret. Le protocole de dosage est présenté dans le tableau IX.

**Tableau IX** : Protocole de dosage des protéines totales

Tubes	Blanc			Etalons				Echantillons	
	0	1	2	3	4	5	6	X1... X2	
SAB (μL)	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée (μL)	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret (μL)	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons (μL)	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	-	-

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc à 540 nm.

SAB = Serum Albumin Bovin ; **0** = Tube blanc ; **1-6** = Tubes étalons ; **X<sub>1</sub>-X<sub>n</sub>** = Tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines (voir annexe 1.5.3). La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de la droite d'équation **y = ax+b**.

### II.2.10.3. Dosage de quelques marqueurs biochimiques de l'anxiété

#### a. Evaluation de la concentration de l'acide gamma aminobutyrique (GABA)

##### ➤ Principe du dosage de la

En milieu basique, la réaction entre la ninhydrine et l'acide gamma aminobutyrique (GABA) donne une coloration rouge violacée proportionnelle à la concentration de GABA dans l'homogénat (Lowe *et al.*, 1958).

##### ➤ Mode opératoire

Les tubes à essai ont été remplis comme l'indique le Tableau X.

**Tableau X** : Protocole de dosage de l'acide gamma aminobutyrique

Tubes	Etalons								Echantillons
	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	X <sub>1</sub> .....X <sub>2</sub>
Concentration de GABA (µg/mL)	0	20	40	60	80	100	120	140	-
Volume de GABA (µL)	100	100	100	100	100	100	100	100	-
Ninhydrine (0,14 M) (µL)	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Echantillon (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	100
TCA 10 % (µL)	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Le mélange a été incubé à 60°C dans un bain marie pendant 30 minutes puis laissé au repos et du tartrate de cuivre a été ajouté ainsi qu'il suit :									
Tartrate de cuivre (µL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Le mélange a été incubé à 25°C dans un bain marie pendant 10 minutes puis du TCA 10% a été ajouté									
TCA 10 % (µL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
L'absorbance des tubes a été mesurée entre 377-530 nm									
Absorbances obtenues	0,00	0,05	0,11	0,17	0,22	0,28	0,34	0,39	-

GABA : Acide gamma aminobutyrique, TCA : Acide tricarboxylique

Les étalons (tubes 1 à 8) ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage (voir annexe 1.5.4). L'activité du GABA été déterminée à partir de l'équation de droite  $y = 0,0028x$ .

#### b. Evaluation de la concentration de sérotonine

##### • Principe du dosage de la

En présence de l'acide chlorhydrique, la sérotonine va s'oxyder pour donner un dérivé de l'indole. Ce dernier va s'associer à l'O-phthaldialdéhyde pour donner un complexe fluorescent, dont l'absorbance à 470 nm, est proportionnelle à la concentration de la sérotonine (Yoshitake *et al.*, 2004).

##### • Mode opératoire

Les tubes à essai ont été remplis suivant le protocole du Tableau XI :

**Tableau XI** : Protocole de dosage de la sérotonine

	Blanc		Etalons						Echantillons
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	X <sub>1</sub> ,.....X <sub>2</sub>
Concentration de sérotonine (µg/mL)	-	20	40	60	80	100	120	140	-
Volume de sérotonine (µL)	-	100	100	100	100	100	100	100	-
Echantillon (µL)									80
Eau distillée (µL)	80								
Heptane (µL)	200	200	200	200	200	200	200	200	200
HCl (0,1 M) (µL)	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Les tubes ont été agités vigoureusement pendant 10 minutes à l'aide d'un vortex, puis centrifugés à 3000 tr/min à 0°C pendant 15 minutes									
Surnageant	200	200	200	200	200	200	200	200	200
O-phthaldialdéhyde	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Le mélange a été incubé à 70°C dans un bain marie pendant 10 minutes. L'absorbance des tubes a été mesurée contre le blanc à 470 nm									
Absorbances obtenues	0,000	0,010	0,020	0,027	0,035	0,045	0,055	0,065	-

Les étalons (tubes 1 à 7) ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage (voir annexe 1.5.5). Les concentrations de sérotonine (µg/mL) ont été déterminées à partir de l'équation de droite  $y = 0,0005x$ .

#### II.2.10.4. Dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires dans les homogénats du cortex cérébral et de l'hippocampe

Les concentrations des différentes cytokines (TNF $\alpha$  ; IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6 ou IL-10) dans les homogénats d'hippocampe et du cortex cérébral ont été déterminées par la méthode « ELISA sandwich », selon les protocoles expérimentaux fournis dans les kits (Invitrogen, Bender Med system, Austria) KRC 3011, BMS 621, BMS 630, BMS 628, BMS 625, BMS 629 respectivement pour le TNF $\alpha$  ; l'IFN- $\gamma$ , l'IL-1  $\beta$ , l'IL-4, l'IL-6 et l'IL-10.

- **Principe du dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires**

Il repose sur la détection de l'antigène à l'aide de 2 anticorps spécifiques, un de capture fixé à une phase solide et un de détection couplé à une enzyme, dont l'action sur le substrat produit une substance colorée nécessaire pour la révélation du complexe antigène-anticorps. Le principe était le même pour toutes les cytokines (TNF $\alpha$  ; IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6 ou IL-10) sauf les anticorps et les différentes concentrations de la cytokine standard variaient du dosage d'une cytokine à l'autre.

- **Mode opératoire du dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires**

Les microplaques de 96 puits utilisées étaient déjà sensibilisées avec les anticorps de capture spécifiques à la cytokine à doser (TNF $\alpha$  ; IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6 ou IL-10). Les puits des plaques ont été par la suite lavés (2 fois) avec 400 $\mu$ L/puits de la solution de lavage. Ensuite, 100  $\mu$ L de diluant d'échantillon a été introduit dans le puit blanc/50  $\mu$ L de diluant d'échantillon et 50  $\mu$ L de chaque échantillon de surnageant des homogénats d'hippocampe et de cortex cérébral ont été introduits dans les puits échantillon. Dans les puits standards, plusieurs concentrations en cytokines ont été préparées. La concentration du standard de chaque cytokine, était préparée selon le protocole fourni par le fabricant du kit. A partir de la concentration maximale (2000 pg/mL pour TNF $\alpha$  ; IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-6, 1000 pg/mL pour l'IL-10 et 100 pg/mL pour l'IL-4), 7 dilutions successives de 1/2 ont été réalisées pour obtenir des concentrations nécessaires à la construction des courbes d'étalonnage (voir annexe), laquelle devait permettre d'extrapoler automatiquement les concentrations approximatives de la cytokine par puits. Les solutions standard des cytokines servaient de témoins positifs tandis que celle du réactif de dilution servaient de témoin négatif.

Les anticorps de détection couplé à la biotine (50 $\mu$ L) ont été introduits dans chaque puits. Ces anticorps de détection couplés à la biotine ont été utilisés dans les 30 minutes suivant la dilution décrite par le fabricant. Par la suite, les barrettes de micropuits ont été couvertes et incubées pendant 2 heures à température ambiante (18°C à 25°C). Puis le film adhésif a été retiré et les puits ont été vidés. Les barrettes de micropuits ont été lavé comme décrit par le fabricant (en fonction du kit). Immédiatement, 100  $\mu$ L de « Horse-radish-peroxidase » (HRP) couplé à la Streptavidine diluée (selon le fabricant) ont été ajoutés dans tous les puits, y compris les puits de blanc. Le mélange a été couvert avec un film adhésif et incubé à température ambiante (18°C à 25°C) pendant 1 heure pour les cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6 ou IL-10) et 30 minutes pour le TNF $\alpha$  sur un agitateur de microplaques. Ensuite, les barrettes de micropuits ont été lavées comme décrit par le fabricant (en fonction du kit). Immédiatement après, a été introduit 100  $\mu$ L de solution de substrat TMB (3,3',5,5 tetreméthylbenzène) dans tous les puits. Puis les barrettes de micropuits ont été incubées à température ambiante (18-25°C) pendant environ 10 minutes pour les cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6 ou IL-10) et 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité pour le TNF $\alpha$ . A la fin de l'incubation, 100  $\mu$ L/puits d'acide phosphorique a été utilisé pour stopper l'activité de l'enzyme et raviver la coloration.

Les plaques étaient immédiatement lues à la longueur d'onde de 450 nm à l'aide d'un électrospectrophotomètre à ELISA (BIOBASE-EL 10A, Shandong Co., Ltd., CHINA) et les densités optiques (DO) obtenues. Ces densités optiques étaient fonction de l'intensité de la coloration. La densité optique du témoin négatif était soustraite de la densité optique moyenne

de chaque échantillon afin d'obtenir les DO réelles des échantillons respectifs. Le traçage de la courbe des DO des standards en fonction de leur concentration a permis d'extrapoler les concentrations plasmatiques en pg/mL des différents échantillons pour chaque cytokine.

- **Expression des résultats du dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires**

Une courbe standard a été préparée à partir de 7 dilutions du standard et la concentration en cytokine de l'échantillon a été déterminée.

## II.2.10.5. Dosage de quelques paramètres biochimiques dans le sérum

### a. Dosage de l'Alanine Aminotransférase

- **Principe du dosage de l'Alanine Aminotransférase**

L'Alanine Aminotransférase (ALAT) /Glutamate pyruvate transaminase (GTP) catalyse le transfert réversible d'un groupe Amine provenant de l'Alanine, en une  $\alpha$ -cetoglutarate, formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en Lactate par la LDH (Lactate déshydrogénase) et le NADPH. Le pourcentage de réduction de la concentration en NADH mesuré photométriquement était proportionnelle à la concentration d'ALAT catalytique présente dans l'échantillon.

- **Mode opératoire du dosage de l'Alanine Aminotransférase**

Les tubes à essai ont été remplis suivant le protocole du kit LABKIT (LKBEDTT26, CHEMELEX, S.A) résumé dans le Tableau XII.

**Tableau XII** : Protocole de dosage de l'ALAT

<b>Réactif (µL)</b>	1000
<b>Echantillon (µL)</b>	100

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 1 min à température ambiante. Les densités optiques des échantillons de plasma ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm toutes les 1min pendant 3min. La différence d'absorbance et la différence moyenne d'absorbance a été calculé par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).

La concentration d'ALAT exprimée en U/L a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{ALAT U/L} = (\Delta A/\text{min}) * 1750$$

Une unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui transforme 1µmol de substrat par minute dans les conditions standard.

### b. Dosage de l'Aspartate Aminotransférase

- **Principe du dosage de l'Aspartate Aminotransférase**

L'Aspartate aminotransférase (ASAT) formellement appelé Oxaloacetate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'Aspartate à l' $\alpha$ -cetoglutarate formant le

glutamate et l'Oxaloacetate produit est réduit en Malate par la Malate déshydrogénase (MDH) en NADH. Le taux de décroissance de la concentration du NADH mesuré photométriquement était proportionnelle à la concentration d'ASAT catalytique présente dans l'échantillon

- **Mode opératoire du dosage de l'Aspartate Aminotransférase**

Le dosage de l'ASAT a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBEDTT28, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XIII.

**Tableau XIII :** Protocole de dosage de l'ASAT

<b>Réactif (µL)</b>	1000
<b>Echantillon (µL)</b>	100

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 1 min à température ambiante. Puis les densités optiques des échantillons de plasma ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm toutes les 1min pendant 3min. La différence d'absorbance et la différence moyenne d'absorbance a été calculé par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ). La concentration d'ASAT exprimée en U/L a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{ASAT U/L} = (\Delta A/\text{min}) * 1750$$

Une unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui transforme 1µmol de substrat par minute dans les conditions standard.

**c. Dosage de la créatinine**

- **Principe du dosage de la créatinine**

La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisit pour les mesures évite les interférences d'autres composants du sérum. L'intensité de la couleur formée était proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.

- **Mode opératoire du dosage de la créatinine**

Le dosage de la créatinine a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBSDTT13, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XIV.

**Tableau XIV :** Protocole de dosage de la créatinine

	<b>Tube blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif (µL)</b>	1000	1000	1000
<b>Standard (µL)</b>	--	100	--
<b>Echantillon (µL)</b>	--	--	100
<b>Eau distillée (µL)</b>	100	--	--



Les tubes ont été homogénéisés à température ambiante. Les densités optiques des échantillons de plasma ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc à 492 nm après 30s (A1) et 90s (A2). Puis la variation de l'absorbance a été calculé :  $\Delta A = A2 - A1$

La concentration de la créatinine exprimée en mg/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Créatinine (mg/dL)} = \frac{(\Delta A)\text{échantillon} - (\Delta A)\text{blanc}}{(\Delta A)\text{ standard} - (\Delta A)\text{blanc}} \times 2 (\text{concentration du standard})$$

A=absorbance

#### d. Dosage de la bilirubine totale

- **Mode opératoire du dosage de la bilirubine totale**

Le dosage de la bilirubine totale a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBSDTT04, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XV.

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

	<b>Tube blanc</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif 1 (µL)</b>	1500	1500
<b>Réactif 2 (µL)</b>	--	50
<b>Echantillon/ Standard (µL)</b>	100	100
<b>Eau distillée (µL)</b>	50	--

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 5 min à température ambiante. Les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc à 555 nm.

La concentration de la bilirubine exprimée en mg/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Bilirubine(mg/dL)} = \frac{(A)\text{échantillon} - (A)\text{blanc}}{(A)\text{ Standard} - (A)\text{blanc}} \times (\text{concentration du standard})$$

A=absorbance

#### e. Dosage de la bilirubine directe

- **Principe du dosage de la bilirubine directe**

La bilirubine est convertie en Azobilirubine coloré par l'acide sulfanilique diazotisé et mesuré photométriquement. Des deux fractions présentes dans le sérum, la Bilirubine glucuronide et la bilirubine libre, librement lié à l'albumine. Seul la précédente réagit directement en solution aqueuse (bilirubine directe). Tandis que la bilirubine libre nécessite la solubilisation avec le DMSO (Diméthylsulfoxyde) pour réagir (Bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, la directe est aussi déterminée, le résultat correspond à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon.

- **Mode opératoire du dosage de la bilirubine directe**

Le dosage de la bilirubine a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBSDTT05, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XVI.

**Tableau XVI :** Protocole de dosage de la bilirubine

	<b>Tube blanc</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif 1 (µL)</b>	1500	1500
<b>Réactif 2 (µL)</b>	--	50
<b>Echantillon/ Standard (µL)</b>	100	100
<b>Eau distillée (µL)</b>	50	--

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 5 min à température ambiante. Les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc à 555 nm.

La concentration de la bilirubine exprimée en mg/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Bilirubine(mg/dL)} = \frac{(A)\text{échantillon} - (A)\text{blanc}}{(A)\text{ Standard} - (A)\text{blanc}} \times (\text{concentration du standard})$$

A=absorbance

**f. Dosage des protéines totales dans le sérum**

- **Principe du dosage des protéines totales dans le sérum**

Les protéines donnent un complexe intensif bleu-violet avec les complexes cuivrés dans un milieu alcalin. L'iodide est inclut comme un anti oxydant. L'intensité de la coloration formée était proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon.

- **Mode opératoire du dosage des protéines totales dans le sérum**

Le dosage des protéines totales a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBDSTT30, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XVII.

**Tableau XVII :** Protocole de dosage des protéines totales

	<b>Tube blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif (mL)</b>	1	1	1
<b>Standard (µL)</b>	--	25	--
<b>Echantillon (µL)</b>	--	--	25

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 10 min à température ambiante. Puis les densités optiques des échantillons de plasma ainsi que du standard ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc réactif à 540 nm.

La concentration des protéines totales exprimées en g/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Protéines totales (g/dL)} = \frac{(A)\text{échantillon} - (A)\text{blanc}}{(A)\text{ standard} - (A)\text{blanc}} \times 200 \text{ (concentration du standard)}$$

A=absorbance

## II.2.10.6. Dosage du profil lipidique dans le sérum

### a. Dosage du Cholestérol totale

#### • Principe du dosage du Cholestérol totale

L'hydrolyse enzymatique du cholestérol présent dans l'échantillon provoque un complexe coloré, l'intensité de coloration formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon.

#### • Mode opératoire du Cholestérol totale

Le dosage du cholestérol total a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT résumé dans le tableau XVIII.

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

	Tube blanc	Standard	Echantillon
<b>Réactif (mL)</b>	100	--	--
<b>Standard (µL)</b>	--	10	--
<b>Echantillon (µL)</b>	--	--	10

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 10 min à température ambiante. Puis les densités optiques des échantillons de plasma ainsi que du standard ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc réactif à 505 nm.

La concentration de cholestérol exprimées en mg/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Cholesterol (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du standard}} \times 200 \text{ (concentration du standard)}$$

### b. Dosage des triglycérides

#### • Principe du dosage des triglycerides

Les échantillons de plasma contenant des triglycérides incubés avec la lipoprotéine lipase (LPL) libère le glycérol et les acides gras libres selon l'équation :



Le Glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et en Adénosine-5-diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'ATP selon l'équation :



La glycérol-3-phosphate (G3P) est ensuite converti en Dihydroxyacetone phosphate (DAP) par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPD) ainsi qu'en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) selon l'équation :



Dans la dernière réaction, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec la 4-Aminophénazone (4-AP) et la P-chlorophenol en présence du peroxyde (POD) pour donner une teinture de couleur rouge. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides dans l'échantillon.



- **Mode opératoire du dosage des triglycérides**

Le dosage des triglycérides a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBSDTT49, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XIX.

**Tableau XIX :** Protocole du dosage des triglycérides

	<b>Tube blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif (mL)</b>	1	1	1
<b>Standard (µL)</b>	--	10	--
<b>Echantillon (µL)</b>	--	--	10

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 10 min à température ambiante. Puis les densités optiques des échantillons de plasma ainsi que du standard ont été lues au spectrophotomètre contre le blanc réactif à 505 nm.

La concentration des triglycérides exprimées en mg/dL a été déterminé à partir de la formule suivante.

$$\text{Triglycérides(mg/dL)} = \frac{(\text{A})\text{échantillon} - (\text{A})\text{blanc}}{(\text{A})\text{standard} - (\text{A})\text{blanc}} \times 200 \text{ (concentration du standard)}$$

**A**=absorbance

**c. Dosage du HDL Cholestérol**

- **Principe du dosage du HDL Cholestérol**

Les very low density (VLDL) et les low density (LDL) lipoprotéines provenant du sérum ou du plasma sont précipités par le phosphotungstate en présence des ions magnésium. Après centrifugation, le surnageant contient des High density lipoprotéines (HDL). La fraction de HDL cholestérol est déterminée en utilisant le réactif enzymatique du Cholestérol total.

- **Mode opératoire du dosage du HDL Cholestérol**

Le dosage du HDL cholestérol a été réalisé suivant le protocole du kit LABKIT (LKBSDTT12, CHEMELEX, S.A) résumé dans le tableau XX.

**Tableau XX:** Protocole du dosage du HDL cholestérol

<b>Réactif précipitant (µL)</b>	100
<b>Echantillon (µL)</b>	100

Les tubes ont été homogénéisés, incubés pendant 10 min à température ambiante. Puis centrifugés à 12000 tours par minute pendant 2 min. Le surnageant a été collecté et nous avons procédé comme dans le dosage du cholestérol.

**d. Détermination du LDL Cholestérol**

La concentration du LDL Cholestérol a été déterminé à partir de la formule de Friedewald (Friedewald *et al.*, 1972) :

$$\text{LDLc} = \text{Total cholesterol} - \text{HDLc} - (\text{TG}/5)$$

**II.2.10.7. Dosage quantitatif de la teneur en quelques métabolites secondaires et détermination de la capacité anti-oxydants in vitro de la boisson « tenguõ »**

**a. Dosage des phénols totaux**

- **Principe du dosage des phénols totaux**

Les polyphénols en milieu alcalins réduisent les acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques du réactif de folin ciocalteu en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène qui absorbe la lumière à 765 nm (Singleton *et al.*, 1999).

- **Mode opératoire du dosage des phénols totaux**

Au mélange contenant 200µL d'extrait à la concentration de 1 mg/mL, 800 µL du réactif dilué de folin ciocalteu fraîchement préparé a été ajouté à 2 mL de bicarbonate de sodium 7,5 %. Le mélange final a été dilué avec 7 mL d'eau distillée et gardé à l'obscurité à température ambiante pendant 2 h et l'absorbance a été lu à 765 nm.

- **Expression des résultats du dosage des phénols totaux**

La teneur en phénols totaux a été déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage (voir annexe). La teneur en polyphénols a été exprimée en mg Eq d'acide caféique / g de matière sèche (mg EAC/g MS).

**b. Dosage des flavonoïdes**

- **Principe du dosage des phénols totaux**

Le chlorure d'aluminium forme avec les groupements C-4 ceto C-3 ou C-5 hydroxy de flavones et de flavonols, des complexes acides stable. Il forme également des complexes

acides labiles avec les groupes ortho-dihydroxy dans l'anneau A-ou B- des flavonoïdes (Harbone, 1998).

- **Mode opératoire du dosage des phénols totaux**

Dans un tube à essai 0,1 mL d'extrait à 100 µg/mL a été ajouté à 0,3 mL d'eau distillé suivie de 0,03 mL de NaNO<sub>2</sub> (5%). Après 5 minutes d'incubation, 30 µL d'AlCl<sub>3</sub> (10%) ont été ajoutés et le mélange incubé à nouveau pendant 5 minutes. Le mélange a été traité avec 0,2 mL de NaOH 1mM puis le volume a été complété à 1mL avec de l'eau distillé et l'absorbance a été lu à 510 nm.

- **Expression des résultats du dosage des phénols totaux**

La teneur en flavonoïdes est déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage (voir annexe) et exprimée en mg d'équivalent de quercétine par g d'extrait sec (µg eq /g d'extrait sèche).

### c. Dosage des flavonols

- **Principe du dosage des flavonols**

En solution éthanolique les flavonols sont chélatés par l'AlCl<sub>3</sub>, et la densité optique est mesuré entre 380 et 460 nm (Kumaran et Karunakaran, 2007)

- **Mode opératoire du dosage des flavonols**

Dans les tubes à essai contenant 2 mL d'extrait de concentration 0,1 mg/mL, a été ajouté 2 mL de AlCl<sub>3</sub> (2 %) et 3 mL de solution d'acétate de sodium (50 g/L). Le mélange a été incubé pendant 2 h 30 min à 20°C. L'absorbance a été lu à 430 nm contre le blanc.

- **Expression des résultats du dosage des flavonols**

La concentration en flavonols a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage, établie à partir de la quercétine et est exprimé en mg d'équivalents de quercétine par g d'extrait sec (µg eq quercétine /g d'extrait sec).

### d. Dosage des tanins condensés totaux

- **Principe du dosage des tanins condensés totaux**

La méthode à la vanilline avec l'HCl dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation des complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (Scofield *et al.*, 2001).

- **Mode opératoire du dosage des tanins condensés totaux**

Un volume de 50 µL d'extrait a été ajouté à 1500 µL de la solution vanilline /méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µL d'acide

chlorydrique concentré (HCl) a été ajouté. Le mélange obtenu a été incubé à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 550 nm contre le blanc.

- **Expression des résultats du dosage des tanins condensés totaux**

Les différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/mL préparées à partir d'une solution mère de la vanilline, ont permis de tracer la courbe d'étalonnage (voir annexe). La concentration en tanins condensés des extraits ont été exprimées à partir de cette courbe.

**e. Evaluation du potentiel anti-oxydant par la méthode « Ferric Reducing Antioxydant Power » (FRAP)**

- **Principe d'évaluation du potentiel anti-oxydant par la méthode FRAP**

Il est basé sur la réduction des ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) en ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ) dû à l'action des molécules antioxydantes présentes dans l'extrait. Les ions  $Fe^{2+}$  formés, interagissent avec le 2,4,6-tris(2-pyridyl) -s-triazine (TPTZ) pour former un complexe bleu-cyanée qui absorbe à 593 nm (Benzie et strain, 1996)

- **Mode opératoire d'évaluation du potentiel anti-oxydant par la méthode FRAP**

A 0,1 mL d'extrait, 3 mL de réactif de TPZ fraîchement préparé ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 5 min. L'absorbance a été détectée à 593 nm.

- **Expression des résultats d'évaluation du potentiel anti-oxydant par la méthode FRAP**

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique /g de matière sèche (mg EAA/gMS) en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage.

**f. Evaluation de la capacité antioxydante totale**

- **Principe d'évaluation de la capacité antioxydante totale**

En milieu acide et en présence d'agents réducteurs, le molybdate d'ammonium réagit pour former un complexe vert de phosphomolybdates qui absorbe la lumière à 695 nm. L'absorbance à cette longueur d'onde est directement proportionnelle à la quantité de composés réducteurs présents dans l'échantillon (Prieto *et al.*, 1999)

- **Mode opératoire de l'évaluation de la capacité antioxydante totale**

Dans les tubes à essai, 0,3 mL d'extrait a été mélangé avec 3 mL de réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes ont été incubés à 95°C pendant 90min. Ensuite l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre le blanc.

- **Expression des résultats de l'évaluation de la capacité antioxydante totale**

La capacité antioxydante totale de l'extrait a été exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique /g d'extrait (mg EAA/g matière sèche) en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage (Voir annexe).

### g. Test anti-oxydant *in vitro*: Test au 2,2-diphényl-1-pyrcrilhydrazyle (DPPH)

- **Principe du test au DPPH**

Le test DPPH mesure l'activité antioxydante des composés capables de transférer des atomes d'Hydrogène. Le composé (DPPH<sup>+</sup>) est un cation radical coloré et stable de couleur pourpre qui montre un maximum d'absorbance à 517nm.

- **Mode opératoire du test au DPPH**

Dans une microplaque de 96 puits ; 100µL des échantillons ont été introduits a une concentration initiale de 5mg/mL puis 7 dilutions successive de raison 2 ont été réalisées. Ensuite 100µl de solution de DPPH ont été ajouté dans chaque puits. Le blanc était constitué de 100µl d'échantillons et 100µl de méthanol (solvant de dilution du DPPH). Le control était constitué du solvant de dilution de l'échantillon puis de la solution de DPPH. Tous les échantillons ont été réalisées en triplicata puis l'absorbance a été lu à 517 nm dans un lecteur de microplaque toutes les 15 minutes pendant 1h.

Les résultats ont été exprimés sous forme d'CI50 (concentration à laquelle 50% des radicaux libre ont été piégé).

$$\%I = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Control}} * 100$$

$$\text{Abs echantillon} = \frac{\text{Abs test} - \text{Abs blanc}}{\text{Abs test}}$$

### h. Test anti-oxydant *in vitro*: Methode de radical ABTS

- **Principe de la méthode de radical ABTS**

En réagissant avec le persulfate de sodium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline -6-sulfonique acide) (ABTS) forme le radical ABTS<sup>+</sup>, de couleur bleu verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoquer la décoloration du radical mesurée par spectrophotometrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en anti-oxydants. La méthode est généralement standardisée par rapport au Trolox.

- **Mode opératoire de la méthode de radical ABTS**

Dans une microplaque de 96 puits, 100µl d'échantillons de concentration initiale 1 mg/mL ont été introduits. Après 4,5,6,7 dilutions successives de raison 2, 100µl de solution d'ABTS ont été introduits dans les puits. Le blanc était constitué de 100µl d'échantillons puis 100µl d'éthanol (solvant de dilution de l'ABTS). Le control était constitué de 100µl de solvant de dilution de l'échantillon et 100µl d'ABTS. Tous les échantillons ont été réalisés en triplicata. L'absorbance a été lu à 734 nm dans un lecteur de microplaque toutes les 15 minutes pendant 1h.

Les résultats ont été exprimés sous forme de mg équivalents de trolox par gramme de matières sèches ou sous forme d'EC50.



$$\text{Abs echantillon} = \frac{\text{Abs test} - \text{Abs blanc}}{\text{Abs test}}$$

$$\%I = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Control}} * 100$$

## II.2.11- Techniques histologiques et immunohistochimiques

### a. Techniques histologiques

Les techniques d'études histologiques utilisées dans ce travail sont des techniques fondamentales décrites par Smith et Bruton (1997). Elle consiste en la fixation, le trimming, la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration et le montage.

#### ❖ Fixation

Les organes, une fois prélevés, ont été fixés dans le formol 10%.

#### ❖ Trimming

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

#### ❖ Déshydratation et imprégnation

La déshydratation, parfois aussi appelée circulation, comporte 3 étapes : la déshydratation elle-même, l'éclaircissement et l'imprégnation.

##### • La déshydratation

La paraffine n'étant pas miscible avec l'eau, les tissus fixés étaient débarrassés de toute trace d'eau avant de pouvoir être inclus dans ce milieu. Pour ce procédé, 8 bacs d'alcool, à raison de 2 heures dans chaque bac, ont été utilisés successivement dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 80%, 4 bacs d'éthanol à 95%, et 3 bacs d'alcool absolu (éthanol à 100%).

##### • L'éclaircissement

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

##### • L'imprégnation

Pour obtenir des coupes fines, il est nécessaire d'incorporer dans les tissus une substance neutre qui durcit les fragments. La substance utilisée était la paraffine. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4 heures (2 heures x 2 bains) dans de la paraffine chaude et liquide.

### ❖ Inclusion

Les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion (60°) qui est mise à solidifier sur une surface froide (-4°) après orientation approprié du tissu dans le bloc.

### ❖ Coupes

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque Leitz wetzlar. Des rubans de coupes de 5µm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie de température 40°C contenant de l'eau gélatinée. Au moyen de lames porte-objet propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve à 45°C pendant 24 heures.

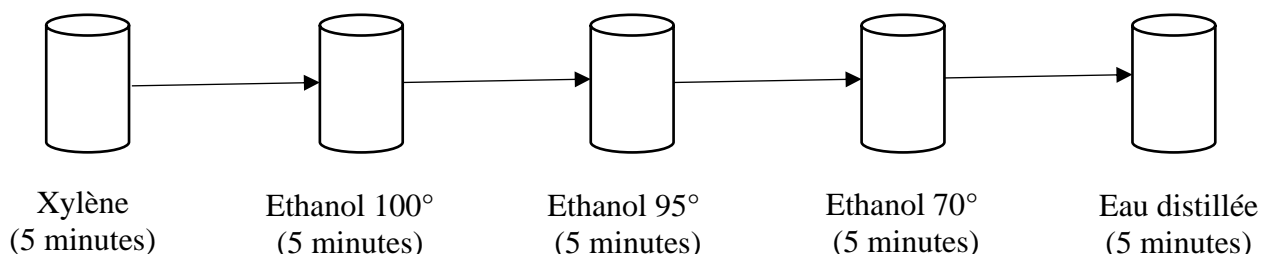
### ❖ Coloration

#### ➤ Coloration des coupes histologiques à l'hématoxyline-éosine

La technique de coloration utilisée est la technique usuelle et classique de coloration des préparations histologiques, la coloration à l'hématoxyline-éosine, dans laquelle l'hématoxyline colore les constituants acides en bleu-violacé et l'éosine les constituants basiques en rose-rouge. La procédure de coloration s'est déroulée en deux étapes :

#### • Déparaffinage et réhydratation

Il s'agit d'une étape au cours de laquelle les coupes sont débarrassées de la paraffine dans les bains de xylène et réhydratées dans des bains d'alcool à des concentrations décroissantes jusqu'à l'eau distillée. Chaque bain ayant une durée de 5 minutes.



#### Coloration proprement dite

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

### ❖ Montage

Il permet de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver. Le milieu de montage étant de la résine synthétique non miscible à l'eau, les coupes doivent être déshydratées avant d'être montées. Cette opération se fait en deux étapes : la première

consiste en la déshydratation dans 3 bains d'alcool absolu (3 x 5 minutes) et en l'éclaircissement dans 3 bains de xylène (3 x 5 minutes).

### **b. Coloration des coupes histologiques au crésyl violet**

La coloration au crésyl violet consistait à déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante. Il est nécessaire de plonger et de déplacer les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants. Les lames porte-objets ont été égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions. Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convenait de respecter les durées indiquées (Tableau XXI).

**Tableau XXI** : Procédure de coloration des lames

<b>Porte objet avec tissu histologique</b>	
<b>Solution de travail de violet de crésyl</b>	20 minutes
<b>Ethanol 70%</b>	1 secondes
<b>Ethanol 96 %</b>	1 rincer
<b>1-butanol</b>	2 minutes
<b>1-butanol</b>	2 minutes
<b>Xylène</b>	2 minutes
<b>Xylène</b>	2 minutes

Monter les préparations humides de xylène avec p. ex. l'Entellan® néo et couvre-objet.

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p. ex. DPX néo ou Entellan® néo) et une lamelle couvre-objet et être conservée.

- **Résultat**

Noyaux cellulaires (bleu) ; Corps de Nissl (violet) ; Fond (incolore).

### **c. Marquage immunohistochimique des astrocytes et des microglies par des anticorps sur les coupes de cortex cérébral**

Les immunomarquages ont été réalisés selon le protocole standard décrit par Folarin *et al.*, (2017). Les sections de paraffine ont été déparaffinées, réhydratées et immergées dans de l'eau distillée. La récupération de l'antigène a été effectuée dans un tampon citrate 10 mM (pH = 6,0) pendant 25 minutes, suivie d'une extinction de la peroxydase dans du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/méthanol à 3 %. Toutes les sections ont été bloquées dans du lait à 2 % pendant 1 h pour éviter toute coloration de fond non spécifique. Les sections de cerveau ont été immunomarquées avec les anticorps suivants : anti-Iba-1 (1:1000 ; Abcam, Cambridge, MA, USA) et anti-GFAP

(1:1000 ; Dako, Danemark). Chaque anticorps a été dilué dans du lait PBS à 1% et du détergent Triton X à 0,1% (pour faciliter la pénétration rapide de l'anticorps) et incubé pendant une nuit à 4°C. Des anticorps secondaires conjugués HRP dans le kit VECTA-STAIN (Vector Labs, Burlingame, USA) ont ensuite été utilisés pour détecter l'anticorps lié selon le protocole du fabricant. Le produit final de la réaction a été amélioré en utilisant la 3, 3'-diaminobenzidine comme chromogène (DAB) (dilution 1:25) pendant 5 min. Les sections ont été soigneusement déshydratées dans des solutions de concentrations graduelles d'alcool, puis passées au xylène, et montées humides dans du DPX, recouvertes d'un film et laissées sécher. Avec une intensité lumineuse et des paramètres d'exposition identiques, les images ont été prises avec un microscope à lumière vive (Biomicroscope, série YJ-2005) équipé d'objectifs à sec  $\times 4 \times 10$  et  $\times 40$  et à l'huile  $\times 100$  et d'une caméra Inspiration Marvotech (MYCH-10 L) et des logiciels AmScope ToupView 3.2 connectés à l'écran d'un ordinateur portable pour rechercher la présence des astrocytes ou des microglies activés.

## **II.2.12- Masse relative des organes et analyse microscopique**

### **a. Masse relative des organes**

L'expression de la masse relative des organes (mx) en mg/kg de la masse corporelle (mc) s'est faite par la formule suivante :

$$mx \text{ (en mg/kg)} = \frac{m \text{ (en g)}}{mc \text{ (en g)}} \times 10^6$$

### **b. Analyse microscopique**

L'analyse microscopique s'est effectuée au moyen d'un équipement complet consistant en un microscope Axioskop 40 fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne) relié à un ordinateur où les images sont transférées, éditées et analysées avec le logiciel image J et le logiciel YAIS fourni avec une Caméra digitale NXM-EP500 CMOS.

## **II.2.13- Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard sur de la moyenne (ESM). L'analyse de ces résultats a été effectuée à l'aide du test de ONE WAY ANOVA (Test d'analyse des variances) suivi du post test de Dunnet (pour comparer les différents lots tests au lot témoin négatif) et du test t de student (unpaired t-test) / test non paramétrique U de Mann-Whitney (pour comparer le lot Sham nor au lot témoin négatif OVX ou OVX SCOPO), ceci à l'aide du logiciel Graphpad Prism (Version 5.03). Les valeurs de probabilité  $p < 0,05$  ont été considérées comme significatives.



**CHAPITRE III:  
RESULTATS  
ET DISCUSSION**

### **III-1- Résultats**

#### **III-1.1- Effets anti-inflammatoires de la boisson « tenghõ »**

##### **III-1.1.1- Effets sur l'inflammation aiguë induite à la carragénine 1 % chez le rat**

L'analyse du tableau XXII montre que l'injection de 0,1 mL de carragénine 1% au niveau de la patte postérieure gauche du rat a provoqué une inflammation se traduisant par une augmentation du volume de l'œdème de la patte qui était visible qui est passé de  $0,27 \pm 0,01$  mL à un volume maximal  $0,47 \pm 0,01$  mL au bout de quatre heures chez le témoin négatif (T neg). Administré préventivement, le diclofénac (molécule de référence) a prévenu l'augmentation du volume de l'œdème avec un pourcentage d'inhibition de maximum de 85,4 % à la deuxième heure. Le prétraitement des rats par la boisson « tenghõ » (aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg) a protégé les animaux contre l'œdème induite par la carragénine avec un effet maximum à la cinquième heure (dose de 600 mg/kg) pour un pourcentage d'inhibition de 48,9 %. Aux doses de 200 et 400 mg/kg la boisson « tenghõ » a protégé les animaux contre cet œdème avec un maximum d'activité observé à la sixième heure pour des pourcentages d'inhibition respectifs de 52,3 % et 46,9%.

**Tableau XXII** : Effets de la boisson « tenghõ » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par la carragénine

Groupes de traitement	Dose	Volume de l'œdème (mL)						
		0,5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
<b>T neg</b> (Eau distillée)	-	0,20 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,41 ± 0,02
<b>Diclofénac</b>	<b>5 mg/kg</b>	0,12 ± 0,00 *** (40,2 %)	0,10 ± 0,01 *** (61,3 %)	0,06 ± 0,01 *** (85,4 %)	0,16 ± 0,01 *** (64,1%)	0,17 ± 0,01 *** (64,9%)	0,23 ± 0,01 *** (48,9 %)	0,19 ± 0,02 *** (54,3 %)
« <b>Tenghõ</b> »	<b>200 mg/kg</b>	0,16 ± 0,01 (20,5 %)	0,18 ± 0,02 *** (34,4 %)	0,32 ± 0,02 ** (17,6 %)	0,17 ± 0,01 *** (20,8 %)	0,31 ± 0,03 *** (33,3 %)	0,24 ± 0,01 *** (45,9 %)	0,1 ± 0,00 *** (52,3 %)
« <b>Tenghõ</b> »	<b>400 mg/kg</b>	0,14 ± 0,01 * (32 %)	0,2 ± 0,012 * (25 %)	0,32 ± 0,02 * (16,7 %)	0,23 ± 0,01 *** (22,4%)	0,32 ± 0,02 *** (31,9 %)	0,26 ± 0,01 *** (43,3 %)	0,22 ± 0,02 *** (46,9 %)
« <b>Tenghõ</b> »	<b>600 mg/kg</b>	0,13 ± 0,01 ** (34,4 %)	0,26 ± 0,01 *** (38,1 %)	0,26 ± 0,01 *** (33,9 %)	0,19 ± 0,02 *** (25,9 %)	0,28 ± 0,02 *** (40,4 %)	0,23 ± 0,01 *** (48,9 %)	0,22 ± 0,02 *** (45,7 %)

Les Pourcentages d'inhibition de l'œdème (%) sont entre parenthèses

**T neg** : témoin négatif recevant de l'eau distillée ; **T pos** : groupe d'animaux recevant le diclofénac à la dose de 5 mg/kg p.o ; **Ten 200, Ten 400, Ten 600** : groupes d'animaux recevant la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport au T neg.

### III-1.1.2- Effets de la boisson « *tenghõ* » sur l'inflammation aiguë induite à l'histamine 1% chez le rat

L'analyse du tableau XXIII montre que l'injection de 0,1 mL d'histamine 1% au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure gauche du rat a provoqué une inflammation se traduisant par une augmentation du volume de l'œdème de la patte ( $0,44 \pm 0,07$  mL après 2h). Le prétraitement des rats par la boisson « *tenghõ* » (aux doses de 200, 400 et 600 mg/Kg) a entraîné une réduction du volume de l'œdème à toutes les doses testées avec des pourcentages d'inhibition de 41,09 ; 41,09 ; 47,48% respectivement pour les doses de 200, 400 et 600 mg/kg. Administré préventivement, l'effet de la prométhazine 1mg/kg (molécule de référence) a prévenu l'augmentation du volume de l'œdème avec un pourcentage d'inhibition de maximum de 58,44 % à la deuxième heure.

**Tableau XXIII :** Effets de la boisson « *tenghõ* » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par l'histamine

Groupes de traitement	Dose	Volume de l'œdème (mL ± ESM)		
		0,5 h	1 h	2 h
<b>Control</b> (Eau distillée)	-	$0,42 \pm 0,06$	$0,40 \pm 0,08$	$0,44 \pm 0,07$
<b>T pos</b> (Prométhazine)	<b>1 mg/kg</b>	$0,17 \pm 0,02$ *** (58,68 %)	$0,17 \pm 0,02$ ** (56,63 %)	$0,18 \pm 0,01$ *** (58,44 %)
« <i>Tenghõ</i> »	<b>200 mg/kg</b>	$0,31 \pm 0,04$ (25,82 %)	$0,30 \pm 0,03$ (22,95 %)	$0,26 \pm 0,02$ ** (41,09 %)
« <i>Tenghõ</i> »	<b>400 mg/kg</b>	$0,32 \pm 0,01$ (23,00 %)	$0,31 \pm 0,01$ (19,89 %)	$0,26 \pm 0,01$ ** (41,09 %)
« <i>Tenghõ</i> »	<b>600 mg/kg</b>	$0,30 \pm 0,04$ (29,57 %)	$0,25 \pm 0,01$ (35,20 %)	$0,23 \pm 0,02$ *** (47,48 %)

Les Pourcentages d'inhibition de l'œdème (%) sont entre parenthèses.

*T neg* : témoin négatif recevant de l'eau distillée ; *T pos* : groupe d'animaux recevant le diclofénac à la dose de 5 mg/kg p.o ; *Ten 200*, *Ten 400*, *Ten 600* : groupes d'animaux recevant la boisson « *tenghõ* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o.



### III-1.1.3- Effets de la boisson « tenthõ » sur l'inflammation aiguë induite à la sérotonine 1% chez le rat

L'analyse du tableau XXIV montre que l'injection de 0,1 mL de sérotonine 1% au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure gauche du rat a provoqué une inflammation se traduisant par une augmentation du volume de l'œdème de la patte ( $0,38 \pm 0,05$  mL après 0,5 h). Le prétraitement des rats par la boisson « tenthõ » (aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg) a protégé les animaux contre l'œdème induite par la sérotonine avec des pourcentages d'inhibition de 24,6 ; 26,5 ; 44,04 % respectivement pour les doses de 200, 400 et 600 mg/kg après 1h. La Cyproheptadine à la dose de 2 mg/kg (molécule de référence) administré préventivement, a protégé les animaux contre l'œdème induite par la sérotonine avec un effet maximum après 2 heures pour un pourcentage d'inhibition de 63,7 %.

**Tableau XXIV :** Effets de la boisson « tenthõ » sur l'évolution du volume de l'œdème induite par la sérotonine

Groupes de traitement	Dose	Volume de l'œdème (mL $\pm$ ESM)		
		0,5 h	1 h	2 h
<b>T neg</b> (Eau distillée)	-	$0,38 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,05$	$0,34 \pm 0,03$
<b>T pos</b> (Cyproheptadine)	<b>2 mg/kg</b>	$0,31 \pm 0,03$ (16,84 %)	$0,35 \pm 0,05$ * (37,30 %)	$0,16 \pm 63,37$ *** (63,37 %)
« Tenthõ »	<b>200 mg/kg</b>	$0,36 \pm 0,02$ (3,68 %)	$0,38 \pm 0,01$ (24,60 %)	$0,27 \pm 0,01$ (20,93 %)
« Tenthõ »	<b>400 mg/kg</b>	$0,36 \pm 0,02$ (5,26 %)	$0,37 \pm 0,05$ (26,58 %)	$0,32 \pm 0,04$ (5,23 %)
« Tenthõ »	<b>600 mg/kg</b>	$0,36 \pm 0,05$ (5,78 %)	$0,28 \pm 0,05$ ** (44,04 %)	$0,21 \pm 0,04$ * (39,53 %)

Les Pourcentages d'inhibition de l'œdème (%) sont entre parenthèses

**T neg** : Témoin négatif recevant de l'eau distillée ; **T pos** : groupe d'animaux recevant le diclofenac à la dose de 5 mg/kg p.o ; **Ten 200, Ten 400, Ten 600** : groupes d'animaux recevant la boisson « tenthõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o.

### III-1.2- Effets analgésiques de la boisson « tenthõ »

#### III-1.2.1- Effets de la boisson « tenthõ » sur la douleur induite par l'acide acétique

L'analyse du tableau XXV montre que l'injection de 1mL/kg PC d'acide acétique 1% *i.p* chez la souris a provoqué une douleur caractérisée par des torsions de la musculature abdominale (le nombre de crampes abdominales était de  $106,8 \pm 8,6$  crampes). En présence de l'aspirine à la dose de 200 mg/kg (molécule de référence), le nombre de crampes abdominales était de  $55,2 \pm 3,73$  crampes soit un pourcentage d'inhibition de 48,41 % comparé au témoin

négatif (T neg). Le prétraitement des rats par la boisson « tenguõ » a entraîné une réduction significative du nombre de crampes abdominales soit  $70,8 \pm 6,43$  ( $p < 0,05$  à la dose de 200 mg/kg);  $45 \pm 9,26$  ( $p < 0,001$  à la dose de 400 mg/kg) et  $39 \pm 4,71$  crampes abdominales ( $p < 0,001$  à la dose de 600 mg/kg) respectivement avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 33,8 % ; 57,94 % et 63,55 % comparé au témoin négatif (T neg).

**Tableau XXV :** Effets de la boisson « tenguõ » sur le nombre de crampe abdominale induit par l'acide acétique

Groupes de traitement	Dose (mg/kg)	Nombre de crampes abdominales	Inhibition (%)
T neg (Eau distillée)	-	$106,80 \pm 8,61$	-
T pos (Aspirine)	200 mg/kg	$55,20 \pm 3,73$ ***	48,41 %
« Tenguõ »	200 mg/kg	$70,80 \pm 6,43$ *	33,83%
« Tenguõ »	400 mg/kg	$45,00 \pm 9,26$ ***	57,94%
« Tenguõ »	600 mg/kg	$39,00 \pm 4,71$ ***	63,55%

*T neg (Témoin négatif) : groupe d'animaux recevant de l'eau distillée ; T pos : (Témoin positif) groupe d'animaux recevant de l'aspirine à la dose de 200 mg/kg p.o ; Ten 200, Ten 400, Ten 600 : groupes d'animaux recevant la boisson « tenguõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à T neg.*

### III-1.2.2- Effets de la boisson « tenguõ » sur la douleur induite par l'eau chaude (test d'immersion de la queue)

L'analyse du tableau XXVI montre que les rats retirent leur queue préalablement mit dans de l'eau chaude ( $55 \pm 2$  °C) après un temps de latence de  $2,25 \pm 0,1$  s après 45 minutes d'administration de l'eau distillée. Le prétraitement des rats par la boisson « tenguõ » (aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg) a entraîné une augmentation significative de ce temps de latence à toutes les doses testées ( $p < 0,001$ ), soit  $4,96 \pm 0,30$  ;  $3,91 \pm 0,08$  ;  $4,58 \pm 0,30$  s respectivement pour les doses de 200, 400 et 600 mg/kg après 45 minutes d'administration. Administré préventivement, l'effet du Tramadol 20 mg/kg (molécule de référence) a entraîné une augmentation significative de ce temps de latence après 45 minutes ( $p < 0,001$ ), soit  $4,83 \pm 0,42$  s comparé au témoin négatif recevant de l'eau distillée.

**Tableau XXVI :** Effets de la boisson « tenthõ » sur le temps de latence de retrait de la queue lors du test d'immersion de la queue

Groupes de traitement	Dose	Temps de latence de retrait de la queue (s)					
		Temps de latence moyen de base (s)	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min
<b>T neg</b> (Eau distillée)	-	1,62 ± 0,12	1,50 ± 0,18	2,25 ± 0,1	2,33 ± 0,21	1,66 ± 0,10	1,50 ± 0,18
<b>T pos</b> (Tramadol)	<b>20 mg/kg</b>	2,29 ± 0,10 *	4,33 ± 0,51 *** (47,11 %)	4,83 ± 0,42 *** (52,58 %)	4,50 ± 0,34 *** (49,07 %)	2,58 ± 0,39 * (11,29 %)	2,58 ± 0,39 (11,29 %)
« Tenthõ »	<b>200 mg/kg</b>	2,20 ± 0,26 *	2,91 ± 0,32 * (24,3 %)	4,96 ± 0,30 *** (55,54 %)	3,91 ± 0,45 ** (43,62 %)	2,20 ± 0,10 (0 %)	2,33 ± 0,24 (5,35 %)
« Tenthõ »	<b>400 mg/kg</b>	1,58 ± 0,08	2,41 ± 0,20 (34,48 %)	3,91 ± 0,08 *** (59,57 %)	4,16 ± 0,16 *** (62 %)	2,00 ± 0,00 (20,83 %)	1,83 ± 0,10 (13,63 %)
« Tenthõ »	<b>600 mg/kg</b>	1,62 ± 0,05	3,33 ± 0,16 ** (51,25 %)	4,58 ± 0,30 *** (64,54 %)	3,5 ± 0,18 * (53,57 %)	2,41 ± 0,23 * (37,5 %)	1,83 ± 0,42 (11,36 %)

Les Pourcentages d'inhibition de la douleur (%) sont entre parenthèses

**T neg** : Témoin négatif recevant de l'eau distillée ; **T pos** : groupe d'animaux recevant le diclofenac à la dose de 5 mg/kg p.o ; **Ten 200, Ten 400, Ten 600** : groupes d'animaux recevant la boisson « tenthõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à T neg.

### **III-1.3- Effets neuroprotecteurs de la boisson « tenghõ »**

#### **III-1.3.1- Effets de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurologiques induit à la scopolamine 0,6 mg/kg chez des rates ovariectomisées de souche Wistar**

L'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* chez des rates ovariectomisées, nous a permis d'induire les troubles neurologiques, allant des troubles anxieux aux troubles de la mémoire spatiale à court et à long terme. Lors de cette expérimentation les troubles anxieux ont été évalué grâce au test de l'EPM (Jours 28 et 46 post-ovariectomie) et au test de l'OF (Jour 35 post-ovariectomie). Tandis que la force de préhension des animaux a été réalisé le jour 42 post-ovariectomie. Les troubles de la mémoire spatiale à court terme ont été évalué grâce au test du labyrinthe en Y le jour 38 post-ovariectomie et les troubles de la mémoire spatiale à long terme ont été réalisé grâce au dispositif de la piscine de Morris (jour 47 post-ovariectomie). L'injection scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* a débuté le jour 28 post-ovariectomie et a duré 14 jours (soit du jour 28 au jour 42 post ovariectomie).

##### **III-1.3.1.1- Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres de l'anxiété chez des rates ovariectomisées évalués par le labyrinthe en croix surélevé « Elevated Plus Maze »**

L'analyse des résultats illustrés dans le Tableau XXVII, révèle que lors de l'évaluation des propriétés anxiolytiques de la boisson « tenghõ » dans le test de l'EPM, l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* le jour 28 chez des rates ovariectomisée (28 jours post-ovariectomie) a entraîné une diminution non significative du nombre de « head dipping », du nombre d'entrée et temps passé dans les bras ouverts et a induit une augmentation non significative du nombre de « grooming » comparé au témoin normal (SHAM NOR). L'administration de la boisson « tenghõ » a entraîné une augmentation non significative du nombre d'entrée dans les bras ouverts, du nombre de « head dipping » à toutes les doses testées ainsi qu'une augmentation non significative du temps passé dans les bras ouverts du dispositif aux doses de 400 et 600 mg/kg comparé au témoin ovariectomisé (OVX). Le Diazépam (DZP) molécule de référence a entraîné une augmentation non significative du nombre de « head dipping », du nombre d'entrée et du temps passé dans les bras ouverts comparé au témoin ovariectomisé (OVX).

**Tableau XXVII** : Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres de l'anxiété évalués par le test de l'EPM

Paramètres	Sham Nor	OVX + SCOPO	DZP + SCOPO	TEN 200 + SCOPO	TEN 400 + SCOPO	TEN 600 + SCOPO
<b>Nombre d'entrée dans les bras ouverts</b>	1,42 ± 0,64	1,00 ± 0,80	2,71 ± 0,80	2,50 ± 0,80	1,57 ± 1,10	1,28 ± 0,68
<b>Nombre d'entrée dans les bras fermés</b>	3,50 ± 0,56	2,28 ± 0,71	3,00 ± 0,65	5,00 ± 0,78	2,16 ± 0,70	2,42 ± 0,61
<b>Temps passé dans les bras ouverts (s)</b>	26,17 ± 13,37	8,00 ± 3,78	44,71 ± 17,91	9,00 ± 3,99	20,00 ± 17,18	26,00 ± 19,83
<b>Nombre de « rearing »</b>	10,00 ± 1,06	9,85 ± 1,12	10,42 ± 1,06	12,71 ± 2,31	8,71 ± 1,12	8,14 ± 1,20
<b>Nombre de « grooming »</b>	3,14 ± 0,55	3,57 ± 0,36	3,50 ± 0,47	3,40 ± 0,63	3,80 ± 0,45	4,20 ± 0,50
<b>Nombre de « head dipping »</b>	5,71 ± 1,71	2,85 ± 0,73	5,00 ± 0,97	3,85 ± 0,67	6,71 ± 1,67	6,71 ± 1,71

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; *DZP* : animaux ovariectomisés et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; *SCOPO* : injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p.

### III-1.3.1.2- Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres de l'anxiété évalués par le test du labyrinthe en croix surélevé « Elevated Plus Maze »

L'analyse des résultats du tableau XXIII révèle que l'ovariectomie (46 jours post-ovariectomie) a entraîné une réduction non significative du nombre d'entrée dans les bras ouverts comparée au groupe témoin normal (SHAM NOR). L'injection de scopolamine 0,6 mg/kg i.p pendant 14 jours chez des rates ovariectomisée (46 jours post-ovariectomie) a entraîné une variation non significative du nombre de « rearing », du nombre de « head dipping », du nombre d'entrée et du temps passé dans les bras ouverts, ainsi qu'une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du temps passé dans les bras fermés comparée au groupe témoin normal (SHAM NOR). Comparé au témoin ovariectomisé recevant la Scopolamine (OVX SCOPO), la boisson « tenghõ » a entraîné une variation non significative du nombre d'entrée et du temps passé dans les bras ouverts, du nombre de « head dipping » aux doses des 400 et 600 mg/kg, du nombre « rearing » à toutes les doses testées et une variation non significative du temps passé dans les bras fermés à toutes les doses testées. Le Diazépam (DZP) a entraîné une variation non significative du nombre de « rearing », du nombre de « head dipping », du nombre et du temps passé dans les bras ouverts ainsi qu'une augmentation du temps passé

dans les bras fermés chez les animaux traités comparé au témoin ovariectomisé recevant la Scopolamine (OVX SCOPO).

**Tableau XXIII :** Effets de la boisson « tenthõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'EPM

Groupes de traitements	Nombre d'entrée dans les bras ouverts	Temps passé dans les bras fermés	Temps passé dans les bras ouverts	Nombre de « rearing »	Nombre de « head dipping »
<b>SHAM NOR</b>	0,42 ± 0,42	288,57 ± 4,59	2,16 ± 1,83	3,28 ± 1,32	1,28 ± 0,64
<b>OVX</b>	0,42 ± 0,20	280,71 ± 4,08	5,28 ± 2,31	5,28 ± 1,01	2,14 ± 0,45
<b>OVX SCOPO</b>	1,57 ± 0,29	258,28 ± 9,33 ##	11,85 ± 3,93	5,85 ± 1,38	2,57 ± 0,64
<b>DZP + SCOPO</b>	0,42 ± 0,42	281,42 ± 6,79	2,71 ± 2,71	1,85 ± 1,20	1,42 ± 0,81
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	1,28 ± 0,71	286,33 ± 7,57	17,71 ± 12,41	3,57 ± 1,84	2,85 ± 1,73
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	0,40 ± 0,27	281,09 ± 8,97	0,38 ± 0,27	1,20 ± 0,40	0,4 ± 0,27
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	0,42 ± 0,42	291,00 ± 4,69 *	4,28 ± 4,28	2,57 ± 1,34	0,71 ± 0,56

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée ; *DZP* : animaux ovariectomisés et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenthõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; *SCOPO* : injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p. (\*) :  $p < 0,05$  par rapport à *OVX Scopo*. (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *Sham Nor*

### III-1.3.1.3- Effets de la boisson « tenthõ » sur quelques paramètres d'anxiété sur via le test de l'arène ouverte « Open Field »

L'analyse des résultats du Tableau XXIX révèle que l'ovariectomie (OVX) (35 jours post-ovariectomie) a entraîné une réduction non significative du temps passé au centre de l'OF, du nombre de « grooming » et de « rearing » comparée au groupe témoin normal (SHAM NOR). L'injection de scopolamine 0,6 mg/kg i.p pendant 7 jours chez des rates ovariectomisée (OVX SCOPO) (35 jours post-ovariectomie) a entraîné une augmentation bien que non significative, du nombre de « crossing », de « rearing » et de « grooming » comparée au groupe témoin normal (SHAM NOR). Comparé au témoin ovariectomisé recevant la Scopolamine (OVX SCOPO), la boisson « tenthõ » a entraîné une réduction non significative du nombre de « crossing », de « rearing » et du temps passé au centre du dispositif.

**Tableau XXIX :** Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l' « Open field » (OF) après 7 jours d'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* chez des rates ovariectomisées (35 jours post-ovariectomie)

Groupes de traitement	Temps passé centre (s)	Nombre « crossing »	Nombre de « grooming »	Nombre de « rearing »
<b>Sham nor</b>	6,71 ± 0,74	53,28 ± 5,23	2,71 ± 0,60	11,00 ± 1,66
<b>OVX</b>	4,00 ± 0,21	54,14 ± 5,31	1,71 ± 0,28	6,71 ± 0,83 #
<b>OVX SCOPO</b>	5,85 ± 0,40	58,14 ± 4,27	3,14 ± 0,67	13,42 ± 1,04
<b>DZP + SCOPO</b>	4,28 ± 0,74	43,28 ± 3,04	2,71 ± 0,42	9,71 ± 0,56 *
<b>PIRA + SCOPO</b>	3,42 ± 0,61	43,57 ± 2,32	2,71 ± 0,28	8,57 ± 0,48 **
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	5,00 ± 0,69	52,85 ± 6,19	3,85 ± 0,40	10,85 ± 1,05
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	4,00 ± 0,78	54,71 ± 6,70	3,14 ± 0,40	10,14 ± 0,70
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	4,57 ± 0,97	54,57 ± 5,73	2,85 ± 0,70	10,42 ± 0,84

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.* et traité à l'eau distillée ; *DZP* : animaux ovariectomisés et traité au Diazepam 1 mg/kg *i.p.* ; *PIRA* : animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; *SCOPO* : injection de Scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.*

### III-1.3.1.4- Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à court terme évalué par le dispositif du labyrinthe en Y (« Y Maze »)

L'analyse des résultats après évaluation de la mémoire spatiale à court terme dans le dispositif du labyrinthe en Y (« Y Maze ») (Tableau XXX) a montré que l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* pendant 10 jours chez des rates ovariectomisée (OVX SCOPO) (38 jours post-ovariectomie) a entraîné une réduction non significative du temps passé dans le nouveau bras, du pourcentage de visite du nouveau bras en premier, ainsi qu'une augmentation non significative du temps passé dans l'ancien bras comparée au groupe témoin normal (SHAM NOR).

Cependant, le Piracetam (PIRA) substance de référence administré après une injection de Scopolamine *i.p* a induit une augmentation non significative du temps passé dans le nouveau bras ainsi que du pourcentage de visite du nouveau bras en premier comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée après injection de scopolamine (OVX SCOPO). Le « tenghõ » a induit une augmentation non significative du temps passé dans le nouveau bras (dose de 600 mg/kg), une réduction du temps passé dans l'ancien bras (dose de 400 mg/kg), ainsi qu'une augmentation du pourcentage de visite du nouveau bras en premier (aux doses de 200 et 600 mg/kg) comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX SCOPO).

**Tableau XXX :** Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à court terme évaluée par le labyrinthe en Y (Y Maze)

Groupes de traitement	Temps passé nouveau bras (s)	Nombre entrée nouveau bras	Temps passé ancien bras (s)	Pourcentage de visite du nouveau bras en premier (%)
<b>Sham nor</b>	51,80 ± 8,31	1,00 ± 0,23	8,42 ± 5,16	100,00
<b>OVX SCOPO</b>	29,42 ± 10,19	1,42 ± 0,20	17,14 ± 4,46	71,42
<b>PIRA + SCOPO</b>	34,16 ± 13,86	1,28 ± 0,56	2,66 ± 1,96	100,00
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	35,16 ± 14,85	1,14 ± 0,40	55,57 ± 18,43 *	83,33
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	4,66 ± 2,38	0,33 ± 0,19	23,85 ± 13,80	66,66
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	64,11 ± 11,67	1,14 ± 0,40	18,00 ± 7,02	80,00

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée ; *DZP* : animaux ovariectomisés et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; *SCOPO* : injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p. (\*) :  $p < 0,05$  par rapport à *OVX Scopo*.

### III-1.3.1.5- Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à long terme évalué par le dispositif de la piscine de Morris « Morris Water Maze »

L'analyse des résultats du Tableau XXXI a montré que lors du test de la pixine de Morris, l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg i.p pendant 14 jours chez des rates ovariectomisée (OVX SCOPO) (47 jours post-ovariectomie) a entraîné des augmentations significatives du temps de latence pour retrouver la plateforme lors des jours d'entraînement (jours 2 et 3). Le jour du test, les animaux de ce groupe ont présenté une réduction bien que non significative du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible.

Le Piracetam à la dose de 300 mg/kg (substance de référence) a induit une augmentation significative du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible le jour du test.

Le « tenghõ » a induit une réduction significative ( $p < 0,01$ , aux doses de 200 et 400 mg/kg le jour 3 d'entraînement et  $p < 0,05$  aux mêmes doses le jour 4 d'entraînement). Le jour du test (jour 5) le « tenghõ » a induit une augmentation significative ( $p < 0,01$  à la dose de 200 mg/kg) du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible ainsi que la réduction bien que non significative du temps de latence pour atteindre le quadrant cible aux doses de 200 et 600 mg/kg.



**Tableau XXXI :** Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à long terme évaluée par la piscine de Morris (MWM)

	Paramètres	Sham Nor	OVX SCOPO	PIRA + SCOPO	TEN 200 + SCOPO	TEN 400 + SCOPO	TEN 600 + SCOPO
Jours d'entraînements	Jour 1 Temps de latence plateforme (s)	35,38 ± 3,77	42,3 ± 3,36	39,38 ± 1,43	46,04 ± 2,74	33,65 ± 3,12	31,54 ± 2,83
	Jour 2 Temps de latence plateforme (s)	8,47 ± 1,12	21,23 ± 3,72 ##	11,55 ± 2,06 *	16,77 ± 1,13	14,77 ± 1,64	17,73 ± 2,86
	Jour 3 Temps de latence plateforme (s)	8,49 ± 1,19	20,85 ± 4,00 #	14,95 ± 3,79	9,00 ± 0,85 **	7,31 ± 1,04 **	12,15 ± 1,82
	Jour 4 Temps de latence plateforme (s)	10,12 ± 1,73	11,91 ± 0,67	17,14 ± 2,25	6,01 ± 0,64 *	6,13 ± 0,64 *	12,97 ± 1,68
	Jour 5 Temps de latence cadran cible	6,14 ± 0,26	5,42 ± 1,21	3,57 ± 0,48	3,14 ± 0,50	4,00 ± 0,43	3,42 ± 0,29
Jour du test	Nombre d'entrée cadran cible	4,85 ± 0,50	5,42 ± 0,61	6,00 ± 0,69	7,00 ± 0,69	6,85 ± 0,50	5,57 ± 0,48
	Temps passé cadran cible	15,14 ± 1,50	13,85 ± 1,18	17,28 ± 2,17	20,57 ± 1,17	17,00 ± 1,43	14,28 ± 1,70
	Pourcentage de temps passé cadran cible	26,33 ± 2,22	21,71 ± 1,36	30,47 ± 3,18 *	34,28 ± 1,95 **	30,00 ± 1,70	25,00 ± 2,57

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée ; **PIRA :** animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; **SCOPO :** injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p.. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$  par rapport à OVX Scopo. (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à Sham Nor.

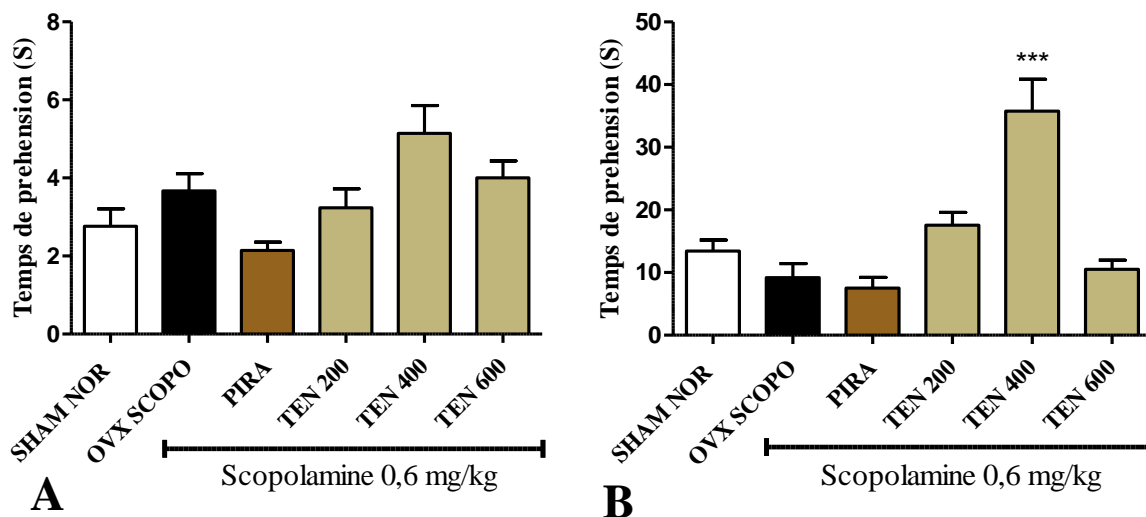
### **III-1.3.1.6- Effets de la boisson « tenguã » sur la force de préhension**

#### **a. Effets de la boisson « tenguã » sur la force de préhension évalué par le test de la corde**

L'observation de la Figure 18 A, montre que l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisée (OVX SCOPO) (42 jours post-ovariectomie) a entraîné une augmentation non significative du temps de préhension de la corde lors du grip test comparé au témoin normal (SHAM NOR). Le « tenguã » à la dose de 400 mg/kg a induit une augmentation non significative du temps de préhension de la corde comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX SCOPO).

#### **b. Effets de la boisson « tenguã » sur la force de préhension évalué par le test au grillage**

L'analyse de la Figure 18 B, montre que l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisée (OVX SCOPO) (42 jours post-ovariectomie) a entraîné une réduction non significative du temps de préhension du grillage lors du grip test comparé au témoin normal (SHAM NOR). Le « tenguã » à la dose de 400 mg/kg a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du temps de préhension du grillage comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX SCOPO).

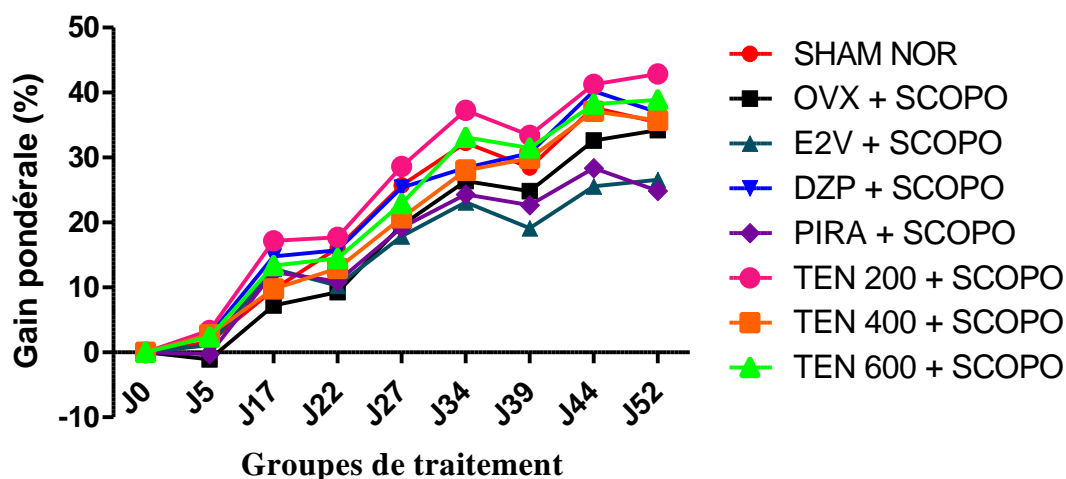


**Figure 18** : Effets de la boisson « tenghõ » sur le temps de préhension des animaux lors du test de préhension à la corde (A) et au grillage (B).

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée ; **OVX Scopo** : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée; **PIRA** : animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o. ; **SCOPO** : injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p.

### III-1.3.1.7- Effets de la boisson « tenghõ » sur le gain pondéral

L'analyse de la figure 18 concernant l'évolution pondérale des animaux lors de l'expérimentation à la scopolamine a montré que l'injection de Scopolamine *i.p* chez des rates ovariectomisées n'a induit aucune variation significative du gain pondérale des animaux comparé au témoin normal (SHAM NOR). aucune autre substance (Piracetam et « tenghõ » à toutes les doses testées), n'a induit de variation significative du gain pondérale comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX SCOPO).



**Figure 19 :** Effet de la boisson « tenghõ » sur le gain pondéral lors du modèle d'induction de la neuro-inflammation à la scopolamine 0,6 mg/kg

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et traité à l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **DZP :** animaux ovariectomisés et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg p.o.; **SCOPO :** injection de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p.

### III-1.3.1.8- Effets de la boisson « tenghõ » sur les paramètres du stress oxydant dans le cerveau

L'analyse du tableau XXXII montre que : l'injection de Scopolamine i.p. pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (52 jours post-ovariectomie) a induit une réduction significative ( $P < 0,05$ ) de la concentration de la SOD, ( $p < 0,01$ ) du taux de nitrites, ( $p < 0,05$ ) de l'activité de la catalase comparée au témoin normal (SHAM NOR).

Par contre le Piracetam à la dose de 300 mg/kg (substance de référence) administré après les injections de Scopolamine 0,6 mg/kg i.p. a significativement augmenté ( $P < 0,05$ ) l'activité de la catalase, et ( $p < 0,001$ ) le taux de nitrites comparée au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX SCOPO).

De même, comparé au témoin OVX SCOPO, le « tenghõ » a induit une augmentation significative de l'activité de la SOD ( $P < 0,05$  à la dose de 400 mg/kg et  $p < 0,01$  à la dose de 600 mg/kg), une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) de l'activité de la catalase (à la dose de 200 mg/kg), une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du taux de nitrites (à toutes les doses testées) et une réduction significative ( $P < 0,05$ ) de la concentration de MDA (à la dose de 400 mg/kg)..

**Tableau XXXII** : Effets de la boisson « *tenghõ* » sur quelques paramètres du stress oxydant

Groupes	Activité de SOD (Nbre d'unité de SOD/g de tissu)	Concentration GSH (mM/g de tissu)	Activité de la Catalase (mM de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /min/g de tissu)	Concentration de Nitrites (mmol/L)	Concentration MDA (mM/g de tissu)
<b>SHAM NOR</b>	3,64 ± 0,59	0,06 ± 0,00	30,61 ± 2,00	0,06 ± 0,00	0,10 ± 0,01
<b>OVX SCOPO</b>	1,97 ± 0,24 #	0,05 ± 0,00	25,15 ± 0,56 #	0,04 ± 0,00 ##	0,09 ± 0,01
<b>PIRA + SCOPO</b>	1,49 ± 0,50	0,06 ± 0,00	31,35 ± 1,31 *	0,08 ± 0,00 ***	0,10 ± 0,01
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	1,70 ± 0,44	0,04 ± 0,00 *	32,41 ± 0,74 **	0,08 ± 0,01 ***	0,07 ± 0,01
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	4,76 ± 0,72 *	0,06 ± 0,00	24,42 ± 1,62	0,09 ± 0,01 ***	0,07 ± 0,01 *
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	5,77 ± 0,89 ***	0,06 ± 0,01	28,88 ± 1,34	0,08 ± 0,01 ***	0,08 ± 0,00

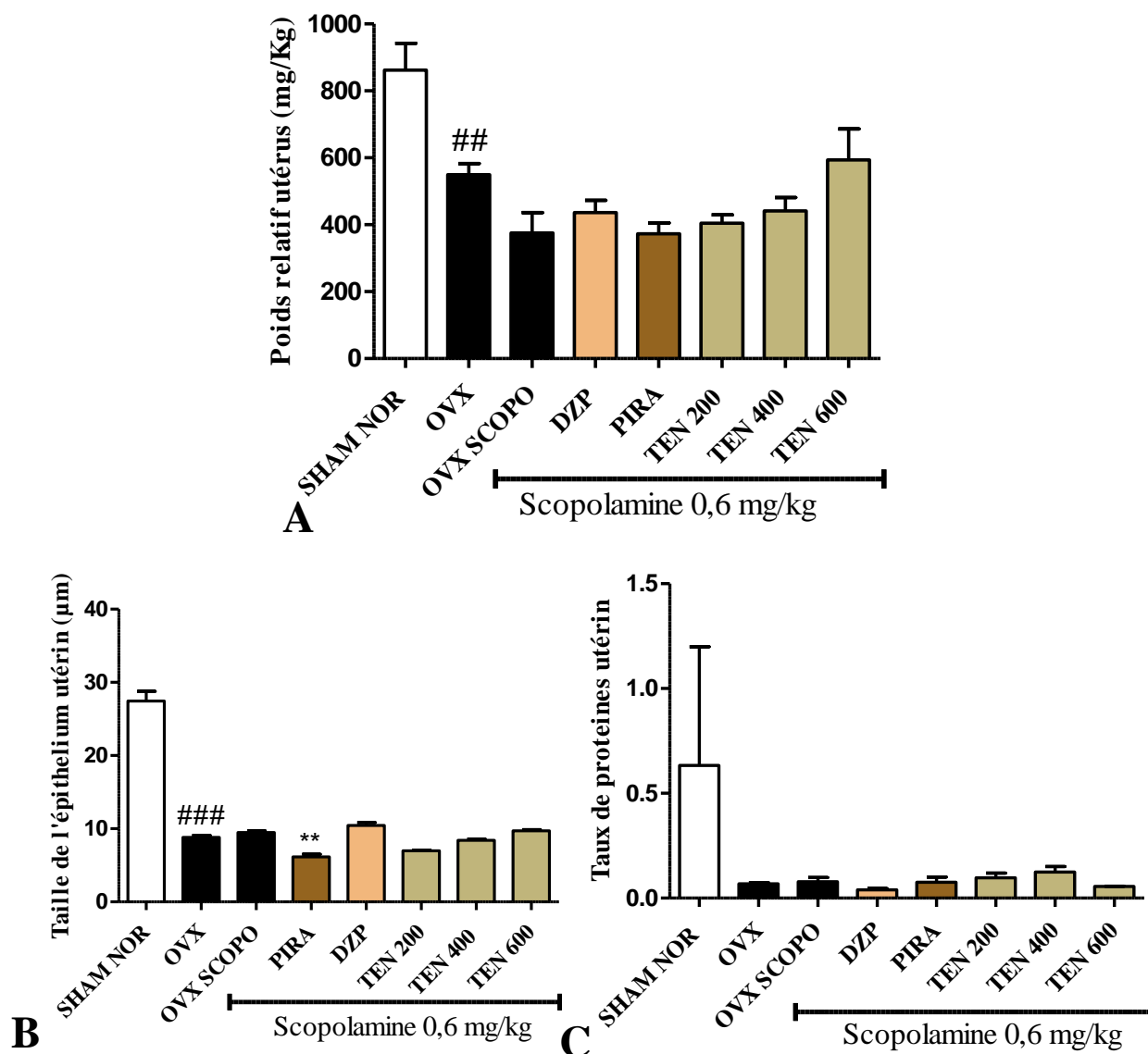
*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o, ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip, et traité à l'eau distillée p.o, ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p, et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o, ; **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip, et traités à la boisson « *tenghõ* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg , (\*):  $p < 0,05$  ; (\*\*):  $p < 0,01$  ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *OVX Scopo* ; (#) :  $p < 0,05$  ; (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *Sham Nor*

### III-1.3.1.9- Effets de la boisson « *tenghõ* » sur les cibles primaires des œstrogènes

#### a. Effets de la boisson « *tenghõ* » sur le poids relatif de l'utérus frais, la taille de l'épithélium utérin et le taux de protéine utérin

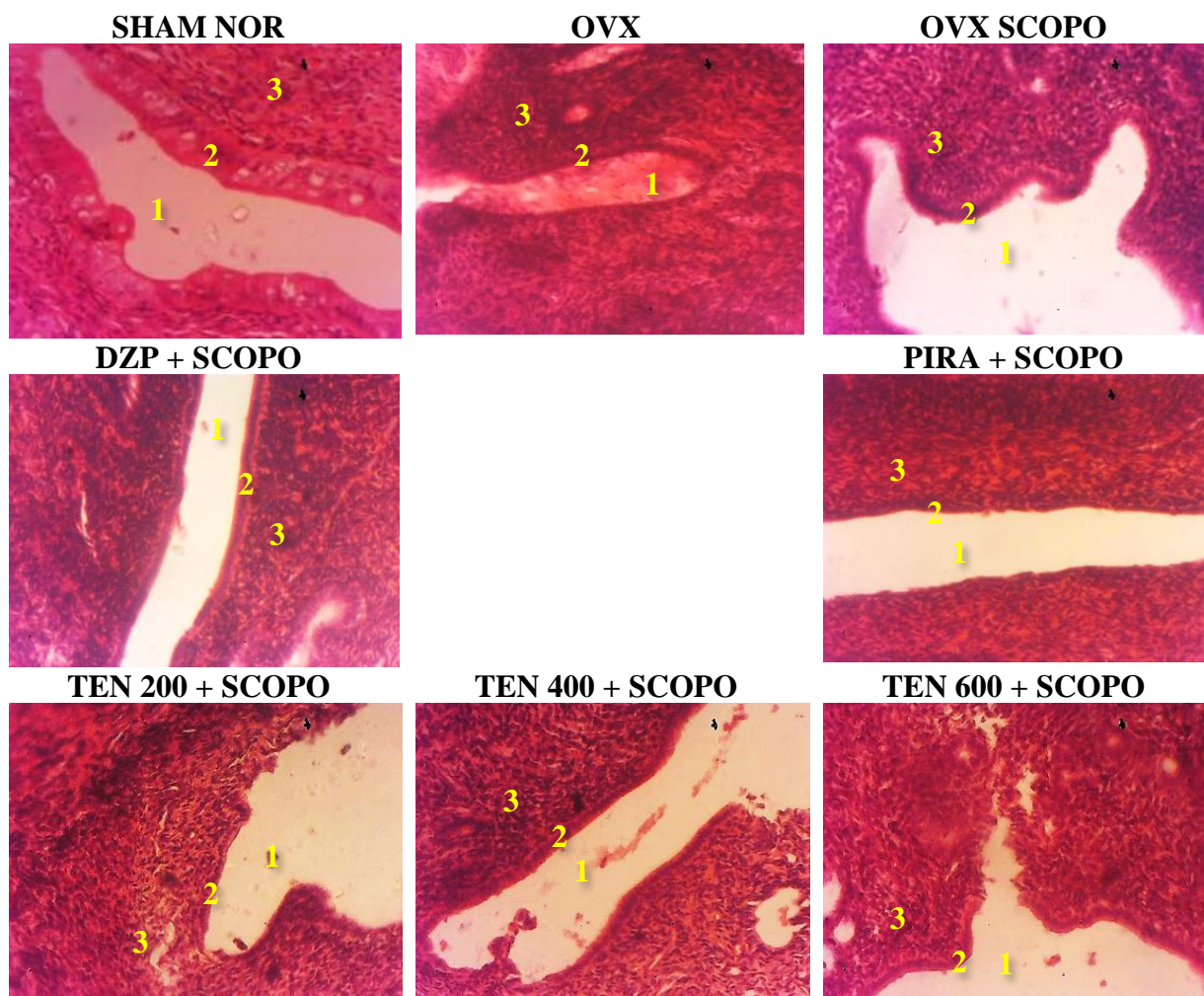
L'analyse de la figure 20 A, B et C ainsi que les microphotographies de la figure 21 montrent en comparaison au témoin normal (*Sham Nor*) que, l'ovariectomie a entraîné une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du poids relatif de l'utérus frais, ( $p < 0,001$ ) de la taille de l'épithélium utérin ainsi qu'une réduction du taux de protéine utérin.

Comparé au témoin ovariectomisé (*OVX*), aucune substance testée (*Diazépam*, *Piracetam* et « *tenghõ* ») n'a pu augmenter le poids relatif de l'utérus frais, la taille de l'épithélium utérin ainsi que le taux de protéine utérin.



**Figure 20** : Effet de la boisson « tenghō » sur le poids relatif de l'utérus frais (A), la taille de l'épithélium utérin (B) et la taille de l'épithélium utérin (C).

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.; *OVX* : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ; *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg .



**Figure 21** : Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur la taille de l'épithélium utérin.

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.;

**OVX** : Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopo** : Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ;

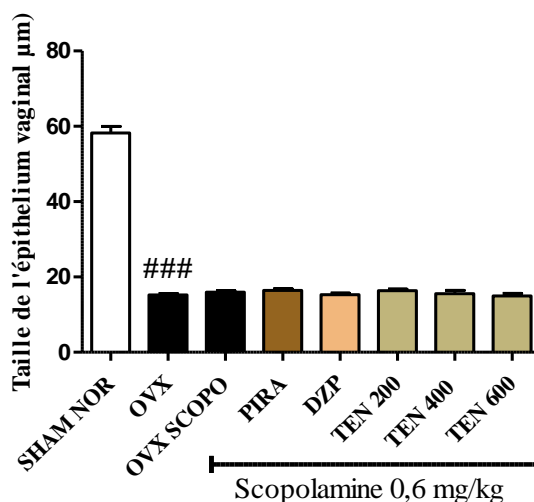
**DZP** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ;

**PIRA** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ;

**Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . **1**= Lumière utérine ; **2**= Epithélium utérin ; **3**=Chorion.

## b. Effets de la boisson « tenghõ » sur la taille de l'épithélium vaginal

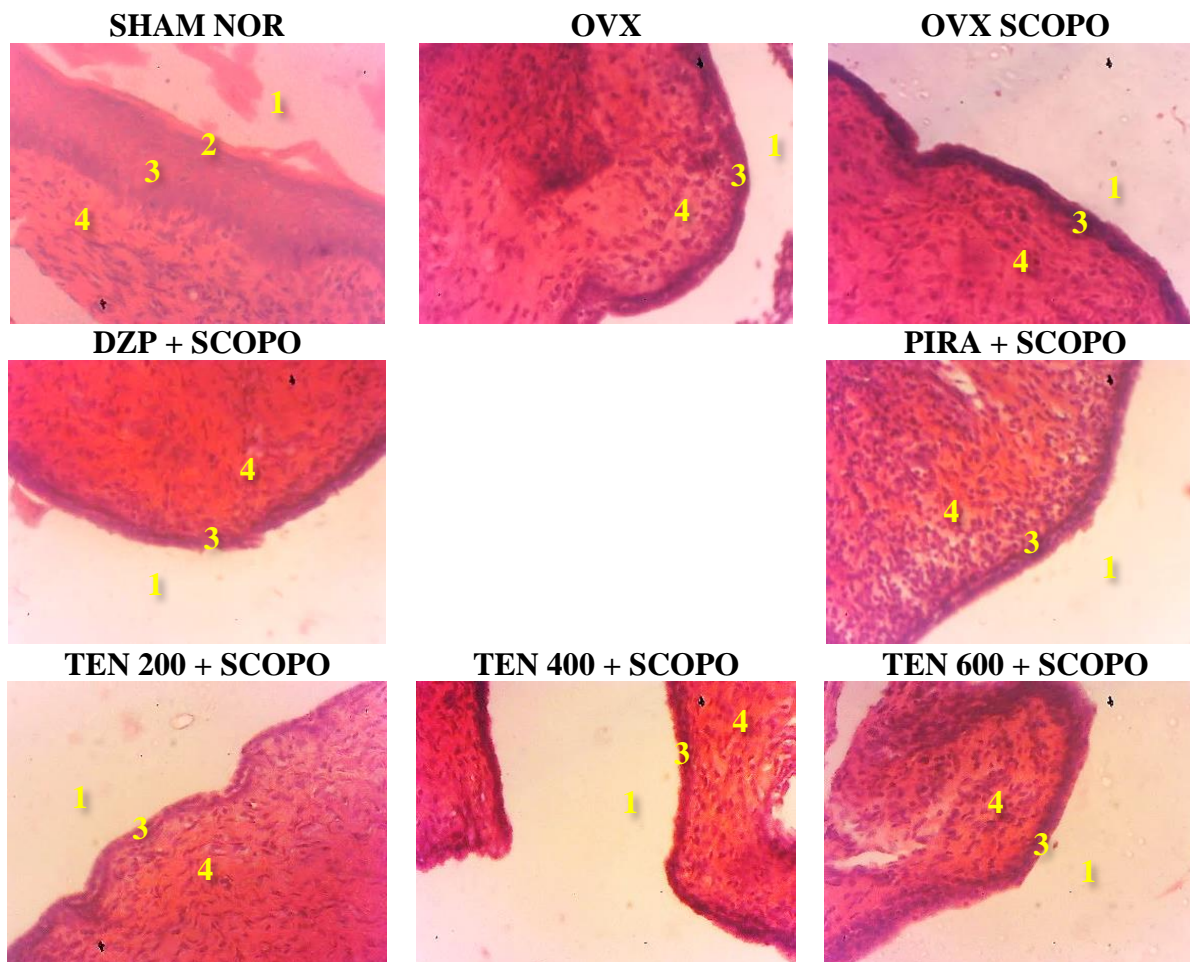
L'analyse de la figure 22 associée à l'analyse des microphotographies de la figure 23 montrent que comparé au témoin normal (Sham Nor) l'ovariectomie a induit une réduction significative de la taille de l'épithélium vaginal. Aucune substance (Diazépam, Piracetam ou la boisson « tenghõ ») n'a pu augmenter la taille de l'épithélium vaginal comparé au témoin ovariectomisé (OVX).



**Figure 22 :** Effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur la taille de l'épithélium vaginal.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.;  
**OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg ip. et traité au Diazepam 1 mg/kg ip. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg ip. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg .



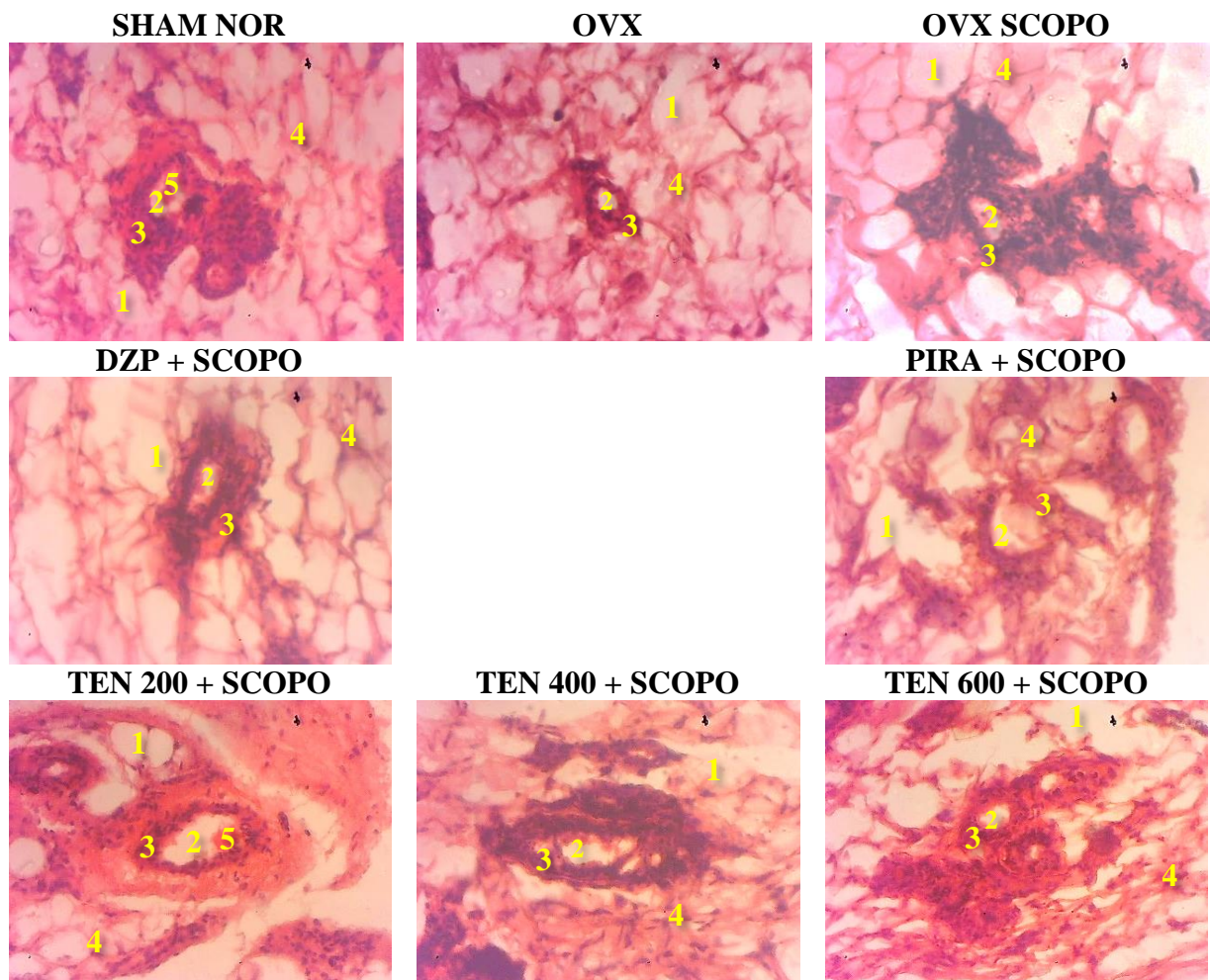


**Figure 23 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « *tenghõ* » sur la taille de l'épithélium vaginal.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.;  
**OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « *tenghõ* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . 1= Lumière vaginale ; 2= Couche cornée ; 3=Epithélium vaginal ; 4=Chorion

### c. Effets de la boisson « *tenghõ* » sur les glandes mammaires

L'analyse des microphotographies de la figure 24 montre que comparé au témoin normal (Sham Nor) l'ovariectomie a induit une réduction du diamètre des acini, une absence de sécrétion éosinophile et une augmentation du tissu adipeux. Le « *tenghõ* » à la dose de 200mg/kg exclusivement a induit des sécrétions éosinophiles dans les acini des glandes mammaires.



**Figure 24 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « *tenghō* » sur les glandes mammaires.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.;  
**OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopop :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg ip. et traité au Diazepam 1 mg/kg ip. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg ip. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « *tenghō* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . 1= Tissu adipeux ; 2= Lumière acinaire ; 3= acinus ; 4= tissu conjonctif ; 5= sécrétions éosinophiles.

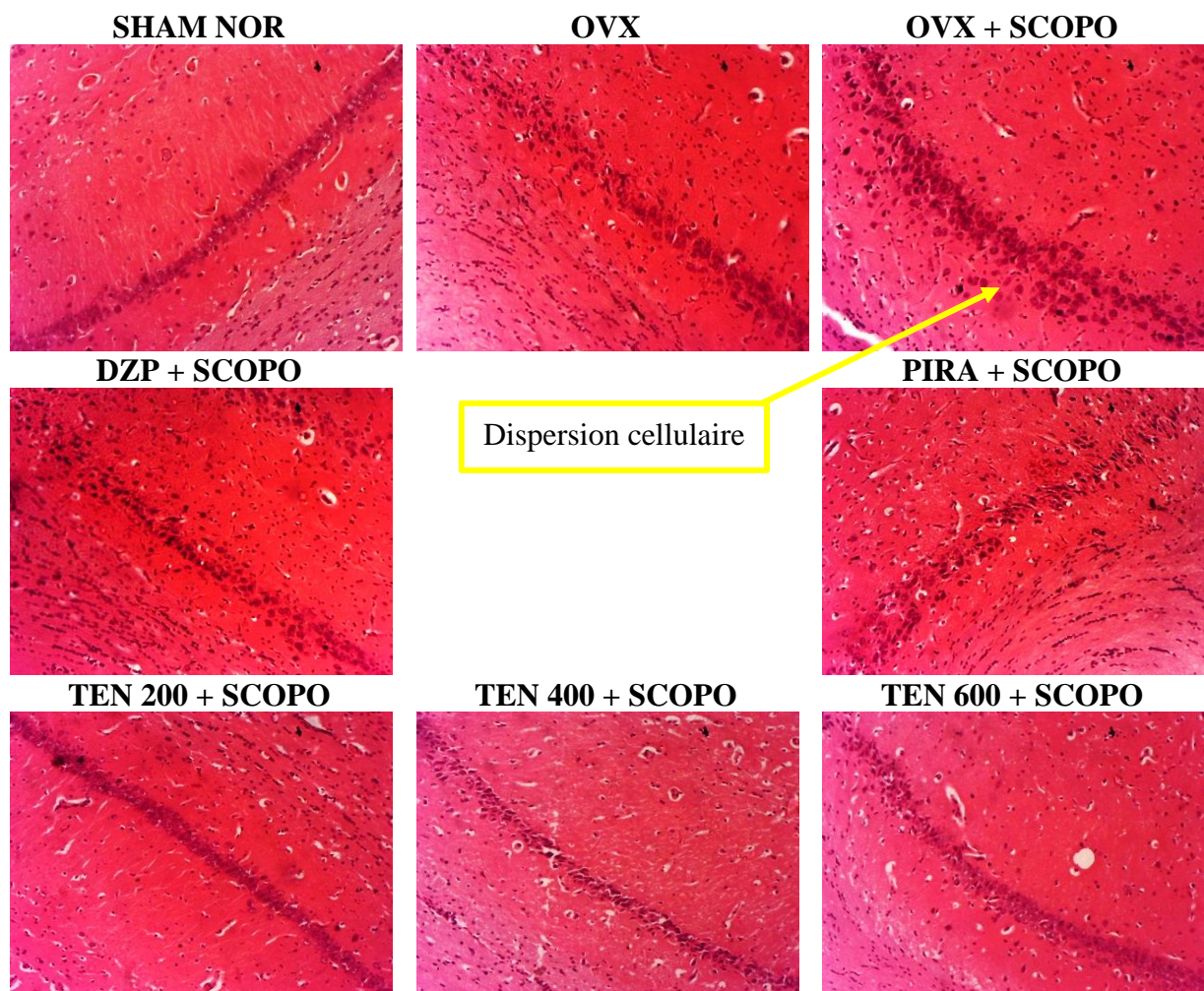
### III-1.3.1.10- Evaluation des effets de la boisson « *tenghō* » sur l'architecture cérébrale

#### a. Evaluation des effets de la boisson « *tenghō* » sur l'architecture cérébrale après coloration à l'hématoxiline-eosine

- Effets de la boisson « *tenghō* » sur l'architecture des cellules CA1 de l'hippocampe

L'analyse des microphotographies de la figure 25 montre que comparé au témoin normal (Sham Nor), l'injection de Scopolamine ip. 0,6 mg/kg pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées a induit une dispersion des cellules CA1 de l'hippocampe. La désorganisation cellulaire est plus accentuée chez le témoin ovariectomisé ayant reçu la

scopolamine (OVX SCOPO) que chez le témoin ovariectomisé n'ayant pas reçu la scopolamine (OVX). L'administration du piracetam à la dose de 300 mg/kg a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO). Le « tenghõ » à toutes les doses testées a également réduit la dispersion de ces cellules comparées au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO).

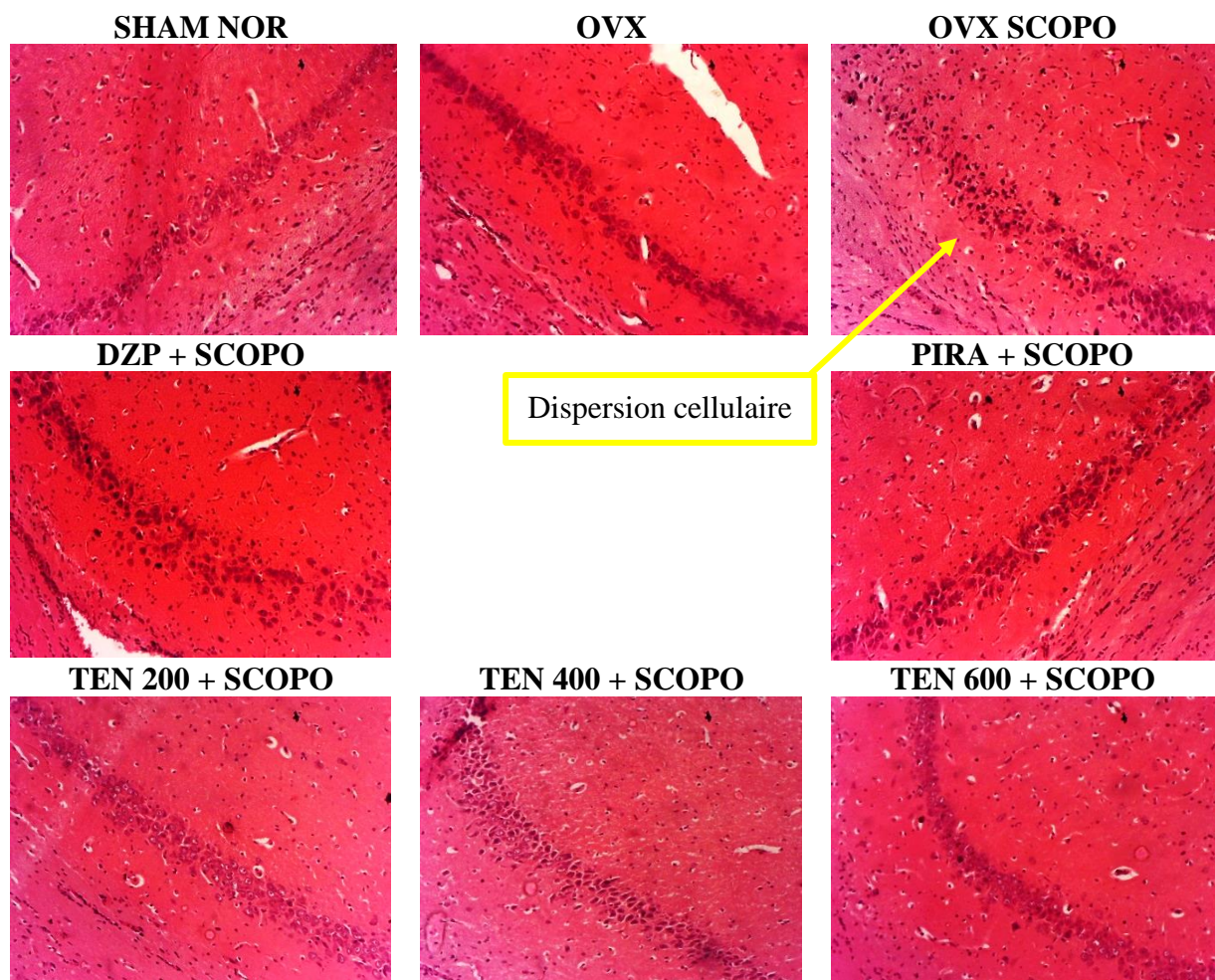


**Figure 25 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules CA 1 de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o. ;  
**OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée p.o. ; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg .

- **Effets de la boisson « tenthõ » sur l'architecture des cellules CA2 de l'hippocampe**

L'analyse des microphotographies de la figure 26 montre que comparé au témoin normal (Sham Nor), l'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg chez des rates ovariectomisées a induit une dispersion des cellules CA2 de l'hippocampe. La désorganisation cellulaire est plus accentuée chez le témoin ovariectomisé ayant reçu la scopolamine (OVX SCOPO) que chez le témoin ovariectomisé n'ayant pas reçu la scopolamine (OVX). L'administration du piracetam à la dose de 300 mg/kg a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO). Le « tenthõ » à toutes les doses testées a également réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO).

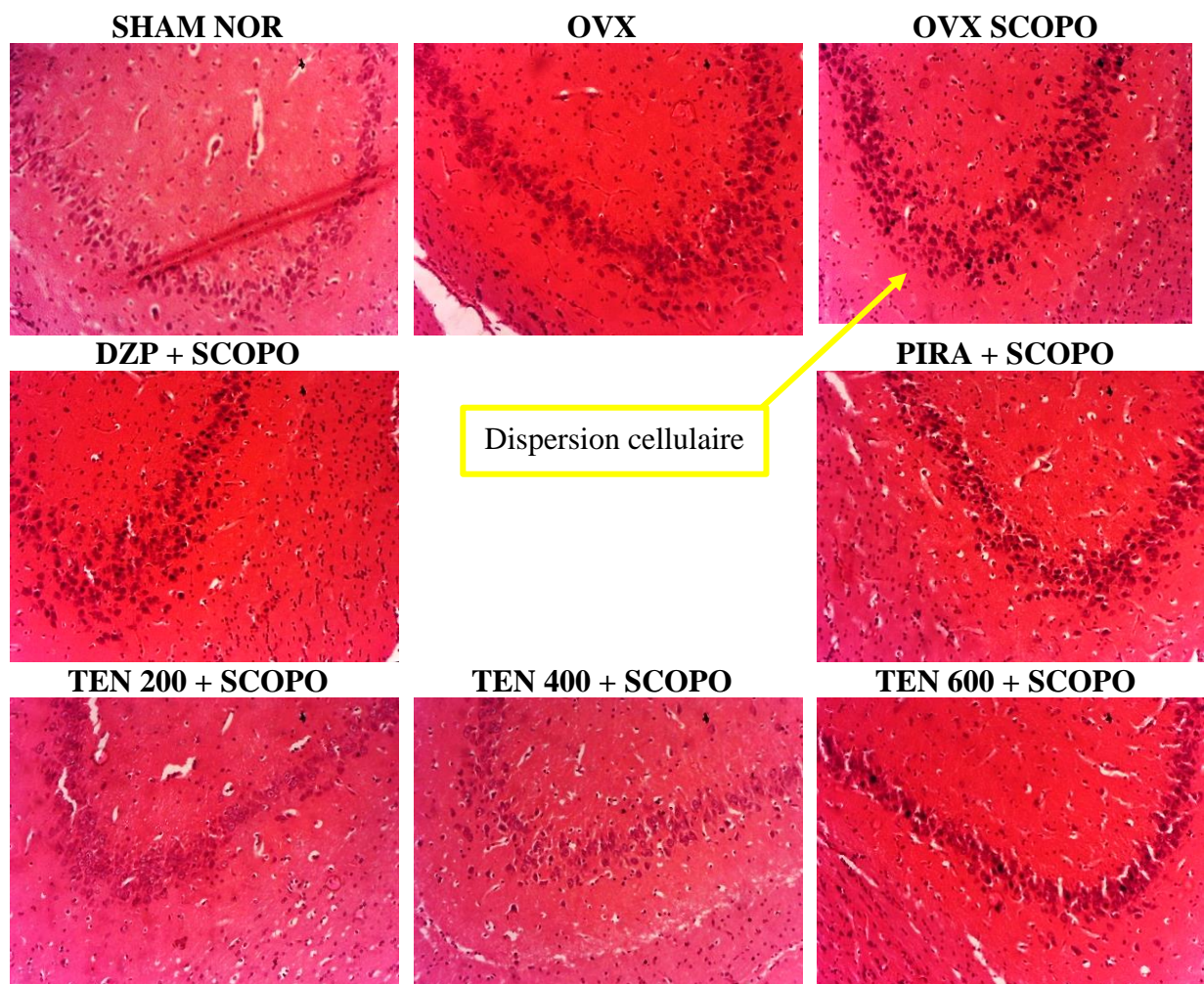


**Figure 26 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenthõ » sur les cellules CA 2 de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.*; **OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée *p.o.*; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.*; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Diazepam 1 mg/kg *i.p.*; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.*; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traités à la boisson « tenthõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg.

- **Effets de la boisson « tenthõ » sur l'architecture des cellules CA3 de l'hippocampe**

L'analyse des microphotographies de la figure 27 montre que l'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg chez des rates ovariectomisées a induit une dispersion des cellules CA3 de l'hippocampe comparé au témoin normal (Sham Nor). La désorganisation cellulaire est plus accentuée chez le témoin ovariectomisé ayant reçu la scopolamine (OVX SCOPO) que chez le témoin ovariectomisé n'ayant pas reçu la scopolamine (OVX). L'administration du piracetam à la dose de 300 mg/kg a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO). Également, le « tenthõ » à toutes les doses testées a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO).

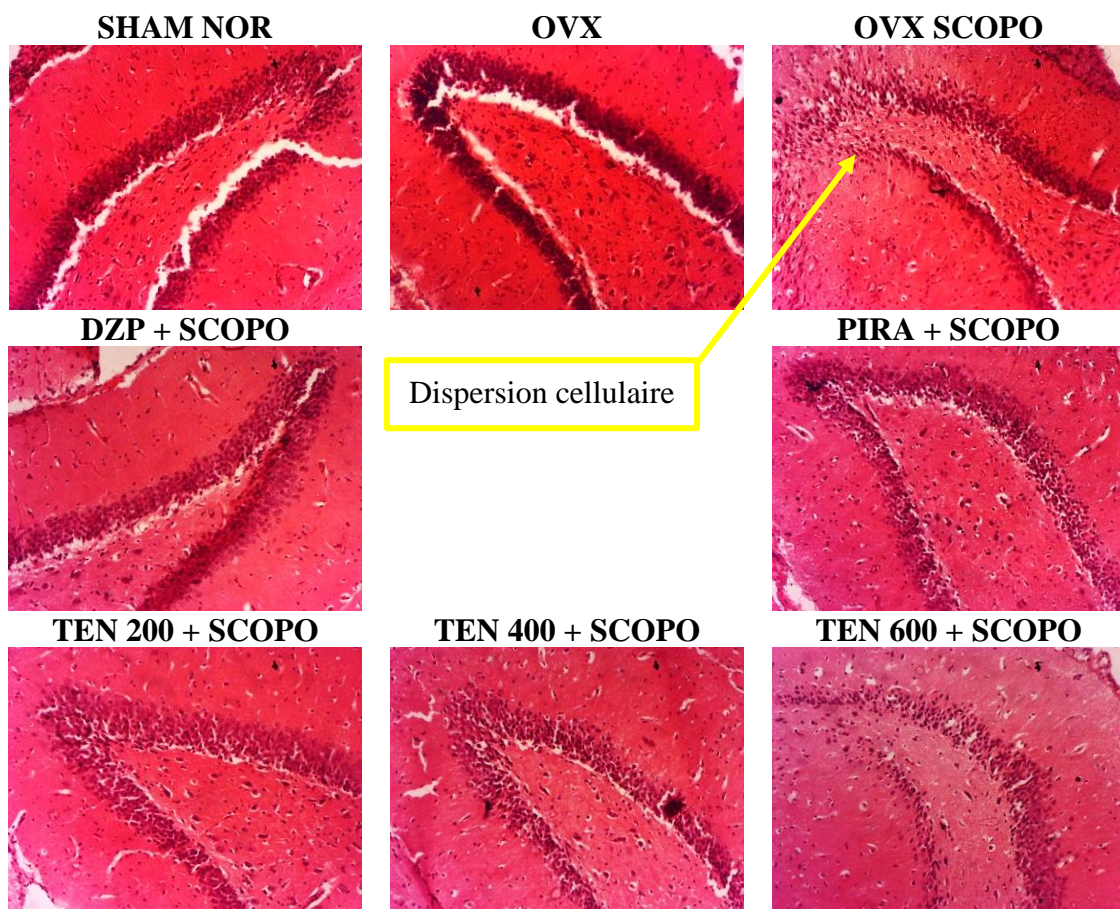


**Figure 27 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenthõ » sur les cellules CA 3 de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.* ; **OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée *p.o.* ; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.* ; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Diazepam 1 mg/kg *i.p.* ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.* ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traités à la boisson « tenthõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg.

- **Effets de la boisson « tenghõ » sur l'architecture des cellules du gyrus denté de l'hippocampe**

L'analyse des microphotographies de la figure 28 montre que l'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg chez des rates ovariectomisées a induit une dispersion des cellules du gyrus denté de l'hippocampe comparé au témoin normal (Sham Nor). La désorganisation cellulaire est plus accentuée chez le témoin ovariectomisé ayant reçu la scopolamine (OVX SCOPO) que chez le témoin ovariectomisé n'ayant pas reçu la scopolamine (OVX). L'administration du piracetam à la dose de 300 mg/kg a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO). Également, le « tenghõ » à toutes les doses testées a réduit la dispersion de ces cellules, comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO).



**Figure 28 :** Microphotographies 200X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur le gyrus denté de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.*; **OVX :** Animaux ovariectomisés et traité à l'eau distillée *p.o.*; **OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.*; **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Diazepam 1 mg/kg *i.p.*; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.*; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg .

**b. Effets de la boisson « tenghõ » sur l'architecture de l'hippocampe après coloration au crésyl violet**

**• Effets de la boisson « tenghõ » sur la corne d'Amont (CA1) de l'hippocampe au crésyl violet**

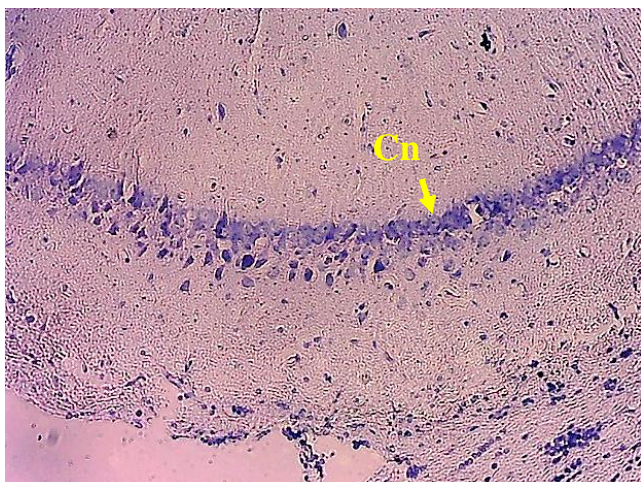
Après coloration au crésyl violet, l'analyse des microphotographies de la figure 29 montre comparée au témoin normal (Sham Nor) que l'injection de Scopolamine *i.p.* chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a induit l'apoptose et la désorganisation des cellules CA1 de l'hippocampe. Tout comme le piracetam à la dose de 300 mg/kg, le « tenghõ » à la dose de 400 mg/kg a réduit le nombre de cellules en apoptose comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO).

**• Effets de la boisson « tenghõ » sur l'architecture du cortex cérébral après coloration au crésyl violet**

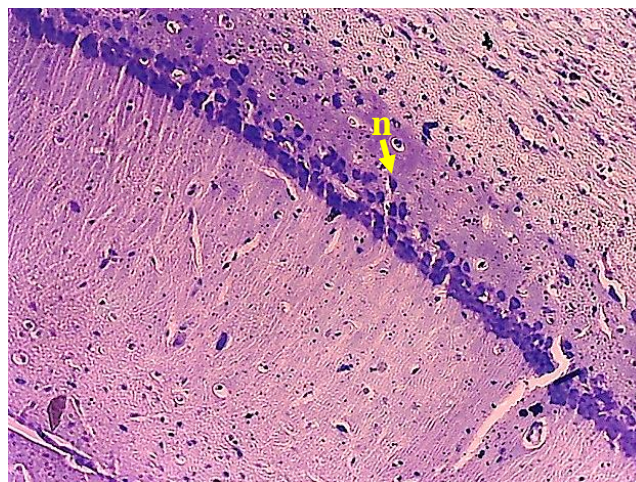
L'analyse des microphotographies du cortex cérébral des animaux après coloration au crésyl violet (Figure 30) montre comparée au témoin normal (Sham Nor) que l'injection de Scopolamine *i.p.* chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a induit une neuroinflammation caractérisée par une activation des cellules du cortex cérébral. Tout comme le piracetam à la dose de 300 mg/kg, le « tenghõ » à la dose de 400 mg/kg a inhibé l'activation de ces cellules.

## Hippocampe (CA1) X 100

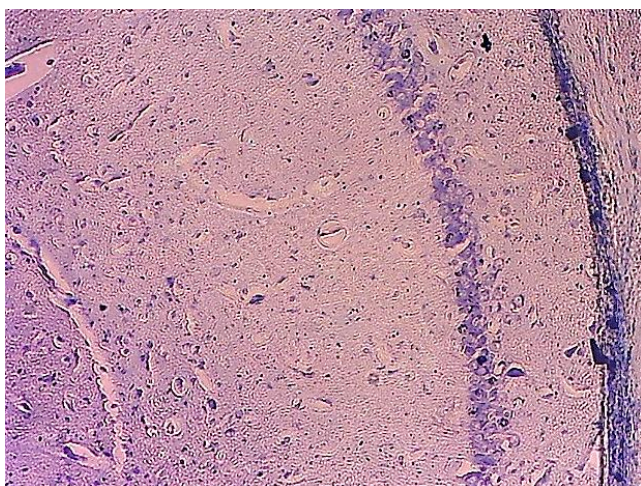
### SHAM NOR



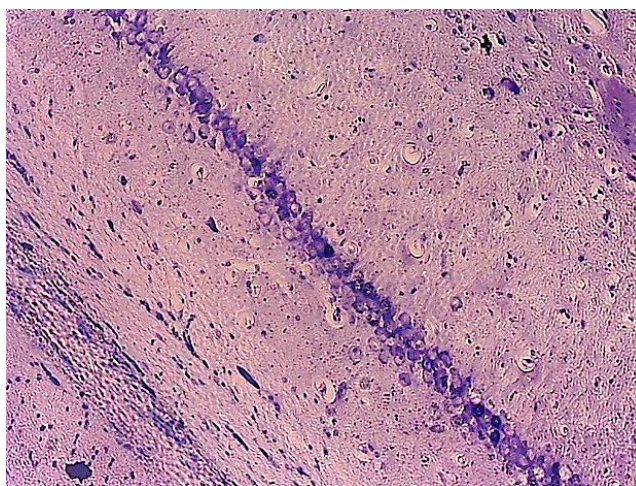
### OVX SCOPO



### PIRA + SCOPO



### TEN 400 + SCOPO



**Figure 29** : Microphotographies 100X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghō » sur la cornue d'Amont (CA1) des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection i.p. de scopolamine lors de la coloration au cresyl violet.

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée p.o.;

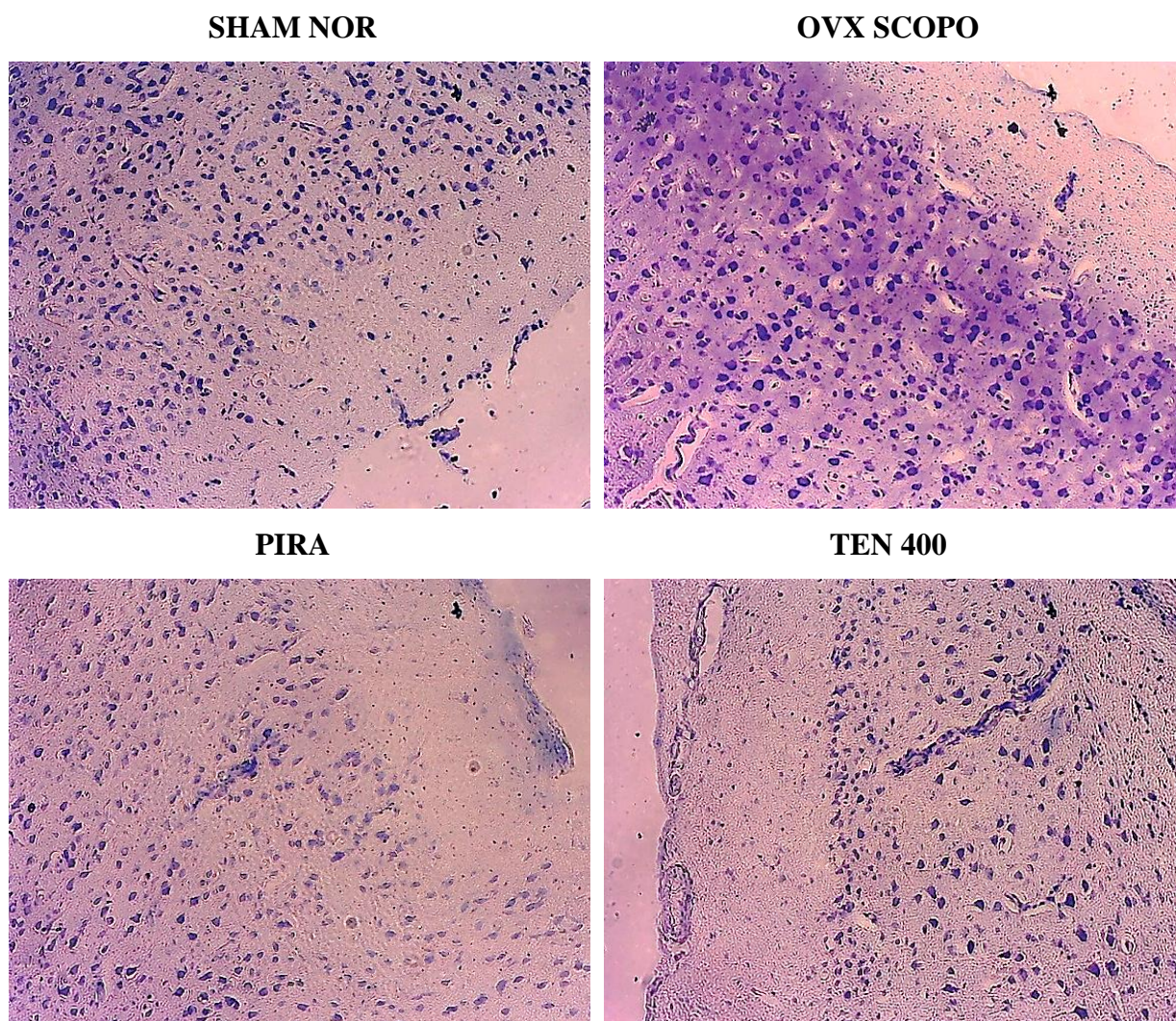
**OVX Scopo** : Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traité à l'eau distillée p.o. ;

**PIRA** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ;

**Ten 400** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghō » à la dose de 400 mg/kg . **Cn** = Cellule normale ; **n** = nécrose.



## Cresyl violet Hippocampe (Cortex) X 100



**Figure 30 :** Microphotographies 100X, montrant les effets de l'administration de la boisson « *tenghõ* » sur le cortex cérébral des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection *i.p.* de scopolamine lors de la coloration au crésyl violet.

*Sham Nor :* Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.* ;  
*OVX Scopo :* Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.* ; *PIRA :* animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.* ; *Ten 400 :* animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.* et traités à la boisson « *tenghõ* » à la dose de 400 mg/kg.

### III-1.3.1.11- Effets de la boisson « *tenghõ* » sur l'analyse immunohistochimique des cellules gliales

#### a. Effets de la boisson « *tenghõ* » sur l'analyse immunohistochimique du cortex cérébral après marquage aux anticorps « Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1 » (IBA-1)

L'analyse des microphotographies du cortex cérébral des rates après action des anticorps « Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1 » (IBA-1)(figure 31) a montré que

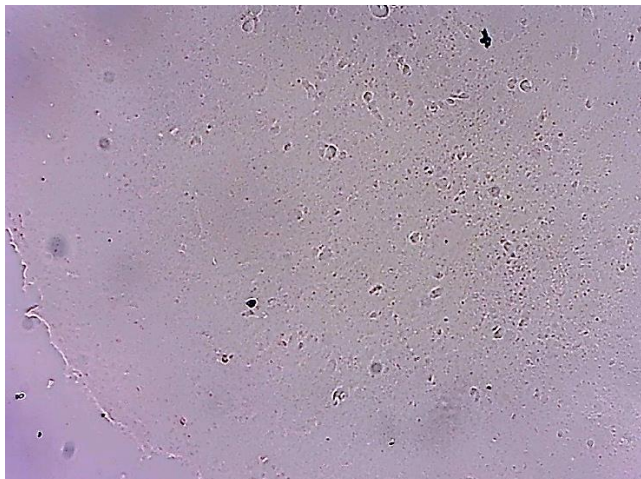
comparé au témoin normal (Sham Nor). L'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (52 jours post-ovariectomie) a induit une neuroinflammation, caractérisée par une activation des microglies. Tout comme le piracetam à la dose de 300 mg/kg le « tenguõ » à la dose de 400 mg/kg a inhibé l'activation de ces microglies.

**b. Effets de la boisson « tenguõ » sur l'analyse immunohistochimique du cortex cérébral après marquage aux anticorps « Glial Fibrillary Acidic Protein » (GFAP)**

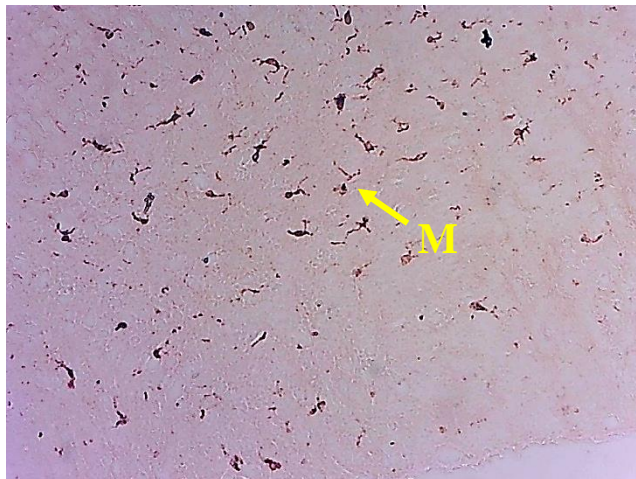
L'analyse des microphotographies du cortex cérébral des rates après action des anticorps « Glial Fibrillary Acidic Protein » (GFAP)(figure 32) a montré comparé au témoin normal (Sham Nor) que l'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a induit une neuroinflammation, caractérisée par une activation des astrocytes. Tout comme le piracetam à la dose de 300 mg/kg le « tenguõ » à la dose de 400 mg/kg a inhibé l'activation de ces astrocytes.

## IBA-1 Cortex X 100

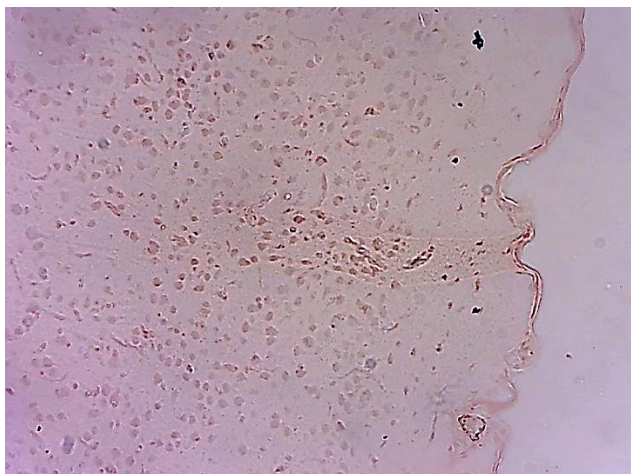
### SHAM NOR



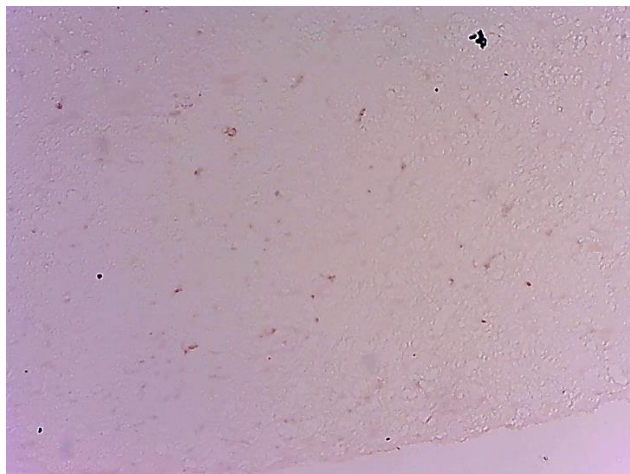
### OVX SCOPO



### PIRA + SCOPO



### TEN 400 + SCOPO



**Figure 31 :** Microphotographies 100X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur l'analyse immunohistochimique du cortex cérébral après marquage aux anticorps « Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1 » (IBA-1) pour la détection des microglies activés dans le cortex cérébral des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection *i.p.* de scopolamine.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.*;

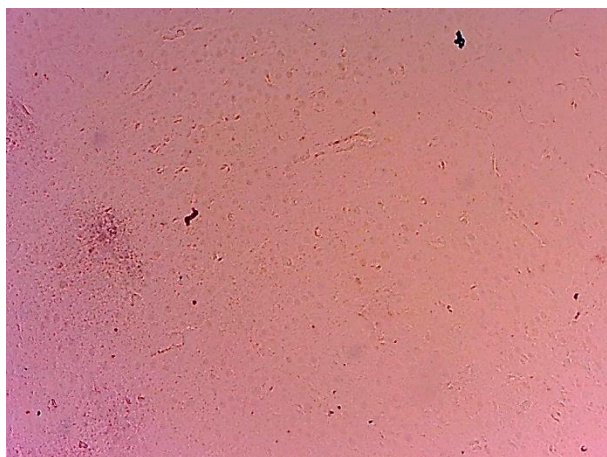
**OVX Scopo :** Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.* ;

**PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.* ;

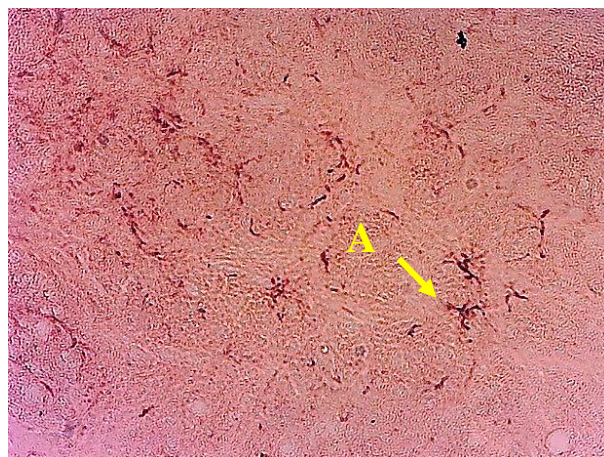
**Ten 400 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.* et traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 400 mg/kg. **M** = Microglies activés.

## GFAP Cortex X 100

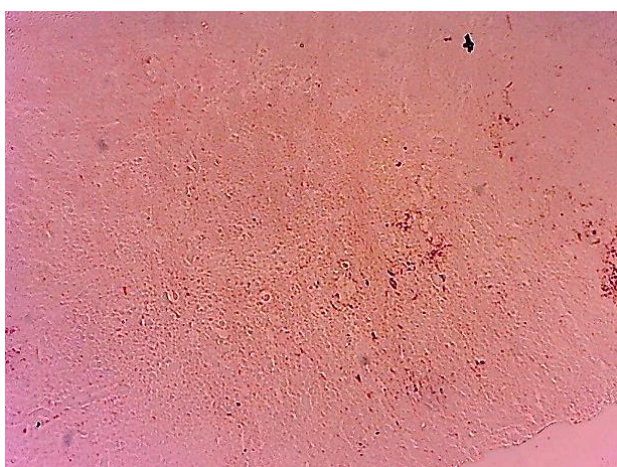
SHAM NOR



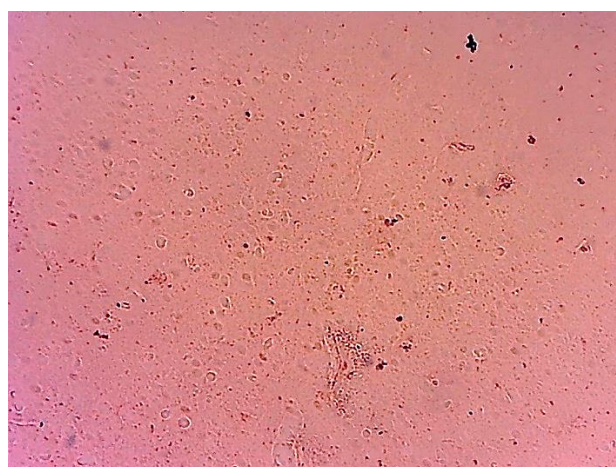
OVX SCOPO



PIRA



TEN 400



**Figure 32** : Microphotographies 100X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghō » sur l'analyse immunohistochimique du cortex cérébral après marquage aux anticorps « Glial Fibrillary Acidic Protein » (GFAP) pour la détection des astrocytes activés dans le cortex cérébral des animaux ovariectomisés ayant reçu une injection *i.p.* de scopolamine.

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée *p.o.* ; *OVX Scopo* : Animaux ovariectomisés, ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traité à l'eau distillée *p.o.* ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6mg/kg *i.p.* et traité au Piracetam 300 mg/kg *p.o.* ; *Ten 400* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 mg/kg *ip.* et traités à la boisson « tenghō » à la dose de 400 mg/kg. A= Astrocytes activés.

### **III-1.3.2- Effets neuroprotecteurs de la boisson « tenghõ » sur un modèle de troubles neurologiques induit à la scopolamine 1 mg/kg chez des rates ovariectomisées**

L'injection de scopolamine à la dose de 1 mg/kg *i.p* chez des rates ovariectomisées, a permis d'induire des troubles neurologiques plus prononcés qu'à la dose de 0,6 mg/kg, de confirmer les effets anxiolytiques observés précédemment et de compléter l'élucidation du mécanisme d'action des effets neuroprotecteurs de la boisson « tenghõ » via le dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires. En effet, lors de cette expérimentation les troubles anxieux ont été évalués avant l'injection de scopolamine 1 mg/kg grâce aux tests de l'EZM (Jour 14 post-ovariectomie), de l'OF (Jour 16 post-ovariectomie) et de l'EPM (Jour 17 post-ovariectomie). Les troubles de la mémoire spatiale à court terme ont été évalués grâce au test du labyrinthe en Y (Jour 40 post-ovariectomie), de même que les troubles de la mémoire spatiale à long terme ont été réalisés grâce au dispositif de la piscine de Morris (Jour 28 post-ovariectomie). L'injection de la scopolamine 1mg/kg *i.p* a débuté le jour 28 post-ovariectomie et a duré 17 jours (soit du jour 28 au jour 45 post-ovariectomie).

#### **a. Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres de l'anxiété chez des rates ovariectomisées évalué par le test du labyrinthe circulaire surélevé « Elevated Zero Maze »**

L'évaluation des effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test du labyrinthe circulaire (« Elevated Zero Maze » : EZM) après 14 jours post-ovariectomie, a permis de constater après analyse des résultats que, l'ovariectomie a induit un état anxieux des animaux, caractérisé par une réduction du temps passé dans les bras ouverts de l'EZM (Tableau XXXIII), une réduction non significative du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts, ainsi qu'une réduction du nombre de « head dipping » comparé au témoin normal (SHAM Nor).

Le diazépam 1mg/kg a induit des effets anxiolytiques caractérisés par une augmentation bien que non significative du temps passé dans les bras ouverts de l'EZM, une augmentation du nombre d'entrée dans les bras ouverts de ce dispositif, ainsi qu'une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du nombre de « head dipping » comparé au témoin ovariectomisé (OVX) ayant subi 14 jours de déplétion oestrogénique endogène recevant de l'eau distillée. Le « tenghõ » aux doses de 200 et 600 mg/kg ont montré des effets anxiolytiques caractérisés par une augmentation du temps passé dans les bras ouverts du dispositif de l'EZM, une augmentation du nombre d'entrée dans les bras ouverts du dispositif, ainsi qu'une augmentation du nombre de « head dipping » comparé au témoin OVX. Les meilleurs effets étant observés à la dose de 600 mg/kg.

**Tableau XXXIII :** Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'EZM chez des rates ovariectomisées

Groupes de traitement	Temps passé bras ouvert (s)	Nombre entrée bras ouverts	Nombre de « head dipping »	Pourcentage de temps passé bras ouvert (%)
<b>Sham Nor</b>	67,75 ± 16,12	4,28 ± 0,89	7,00 ± 1,04	22,58 ± 5,37
<b>OVX</b>	51,00 ± 3,40	4,33 ± 0,91	5,60 ± 0,83	19,25 ± 1,65
<b>E2V</b>	56,50 ± 8,23	4,40 ± 0,88	5,20 ± 0,70	18,83 ± 2,74
<b>DZP</b>	63,00 ± 9,03	5,66 ± 0,70	9,25 ± 0,82 *	21,00 ± 3,01
<b>PIRA</b>	55,50 ± 6,65	2,60 ± 0,27	5,80 ± 1,27	21,33 ± 1,61
<b>TEN 200</b>	77,00 ± 5,64	6,00 ± 0,21	5,50 ± 0,34	25,66 ± 1,88
<b>TEN 400</b>	75,50 ± 1,63	3,21 ± 0,33	6,00 ± 0,78	32,00 ± 2,63 *
<b>TEN 600</b>	89,40 ± 5,17 **	6,00 ± 0,30	8,20 ± 0,45	29,80 ± 1,72

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . (\*) :  $p < 0,05$  ; (\*\*) :  $p < 0,01$  par rapport à OVX.

**b. Effets de la boisson « tenghõ » chez des rates ovariectomisées évalué par le test de l'arène ouverte « Open Field »**

L'évaluation des effets de la boisson « tenghõ » sur les paramètres anxieux lors du test de l'arène ouverte (« Open field ») après 16 jours d'ovariectomie, a permis de constater après analyse des résultats que l'ovariectomie a induit une réduction non significative du nombre de « crossing », du nombre de « rearing » et une augmentation du nombre de « grooming », comparé au témoin normal ayant subi une chirurgie blanche (SHAM NOR). L'injection de Diazepam 1mg/kg (molécule de référence des troubles anxieux) a augmenté le nombre de « crossing » et de « rearing » comparé au témoin négatif ovariectomisé (OVX) (Tableau XXXIV). L'œstradiol valérate 1mg/kg (substance à activité oestrogénique) a induit une augmentation non significative du temps passé au centre du dispositif de l'« Open field », une augmentation du nombre de « rearing », de même qu'une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du nombre de « crossing ». Le « tenghõ » aux doses de 200 et 600 mg/kg a augmenté de manière non significative le nombre de « rearing », le nombre « crossing » ainsi que le temps passé au centre du dispositif de l'« Open field ».

**Tableau XXXIV** : Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l'OF chez des rates ovariectomisées

Groupes de traitement	Temps passé centre (s)	Nombre « crossing »	Nombre de « grooming »	Nombre de « rearing »
<b>Sham nor</b>	6,28 ± 1,04	63,20 ± 8,35	2,57 ± 0,20	15,00 ± 2,32
<b>OVX</b>	6,52 ± 0,68	47,66 ± 7,23	3,42 ± 0,64	12,16 ± 1,16
<b>E2V</b>	8,42 ± 1,17	75,50 ± 4,60 *	3,71 ± 0,47	14,33 ± 0,54
<b>DZP</b>	4,85 ± 0,34	69,75 ± 3,94	3,57 ± 0,36	15,00 ± 0,78
<b>PIRA</b>	6,71 ± 0,52	70,80 ± 7,20 *	2,57 ± 0,20	12,60 ± 0,74
<b>TEN 200</b>	7,42 ± 0,89	62,60 ± 4,37	5,00 ± 0,48	14,75 ± 0,90
<b>TEN 400</b>	8,57 ± 1,34	56,60 ± 5,61	3,14 ± 0,40	11,25 ± 1,05
<b>TEN 600</b>	8,28 ± 0,64	60,66 ± 5,25	3,57 ± 0,78	14,40 ± 1,12

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX** : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . **E2V** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. (\*) :  $p < 0,05$  par rapport à OVX.

**c. Effets de la boisson « tenghõ » chez des rates ovariectomisées évalué par le test du labyrinthe en croix surélevé « Elevated Plus Maze »**

L'analyse des résultats du test de l'EPM (Tableau XXXV) effectué 17 jours après l'opération d'ovariectomie, nous a permis de constater que l'ovariectomie seul à induit des effets anxiogéniques, caractérisé dans le dispositif de l'EPM par une augmentation du temps passé dans les bras fermés du dispositif , une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts du dispositif du labyrinthe en croix surélevé (EPM) ; une réduction du nombre de « rearing », une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du nombre de « head dipping », une augmentation du nombre de « grooming » , une réduction du pourcentage du nombre d'entrée dans les bras ouverts, une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts, ainsi qu'une augmentation du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts comparé au témoin normal (SHAM NOR).

Les effets anxiolytiques du diazepam 1mg/kg (molécule de référence) étaient caractérisé par une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du temps passé dans les bras fermés de l'EPM ; une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du nombre d'entrée dans les bras ouverts ; une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du nombre de « rearing », ( $p < 0,01$ ) du nombre de «

head dipping » et ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrée dans les bras ouverts du dispositif, ainsi qu'une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrée dans les bras fermés du dispositif et du pourcentage de temps passé dans les bras fermés de l'EPM, comparé au témoin négatif ovariectomisé OVX.

Pareillement au diazépam 1mg/kg, les effets anxiolytiques de la boisson « *tenghõ* » étaient caractérisés par une réduction significative ( $p < 0,05$ ) du temps passé dans les bras fermés (doses de 200 et 600 mg/kg), une augmentation non significative du temps passé dans les bras ouverts (dose de 200 mg/kg), une augmentation non significative du nombre de « rearing » (dose de 600 mg/kg), une augmentation non significative du nombre de « head dipping » (dose de 200 mg/kg), une augmentation significative ( $p < 0,001$  à la dose de 200 mg/kg,  $p < 0,05$  à la dose de 600 mg/kg) et du nombre d'entrée dans les bras ouverts ; une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrée dans les bras fermés (dose de 200 mg/kg) ; une augmentation non significative du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts (doses de 200 et 600 mg/kg), et enfin une réduction non significative du pourcentage de temps passé dans les bras fermés.



**Tableau XXXV :** Effets de la boisson « tenghō » sur l'anxiété chez des rates ovariectomisées dans le test de l'EPM

Paramètres	SHAM NOR	OVX	E2V	DZP	PIRA	TEN 200	TEN 400	TEN 600
<b>Temps passé bras fermés</b>	256,00 ± 7,88	279,00 ± 4,50	248,75 ± 2,32	230,40 ± 15,02 **	269,29 ± 10,30	236,00 ± 8,16 *	282,00 ± 8,00	238,80 ± 16,20 *
<b>Temps passé bras ouverts</b>	44,00 ± 1,86	17,75 ± 0,55 ###	6,33 ± 0,45	42,66 ± 8,43 **	35,55 ± 7,55 *	28,75 ± 3,72	20,50 ± 2,29	9,33 ± 1,07
<b>Nombre de « rearing »</b>	8,25 ± 0,88	5,66 ± 0,83	9,00 ± 0,92	11,33 ± 2,11 **	8,16 ± 0,56	4,40 ± 1,03	6,25 ± 0,55	7,16 ± 1,03
<b>Nombre de « head dipping »</b>	7,66 ± 1,03	3,00 ± 0,30 ##	2,75 ± 0,55	7,33 ± 1,75 **	4,00 ± 0,21	5,75 ± 1,03	1,28 ± 0,83	0,71 ± 0,35
<b>Nombre de « grooming »</b>	2,00 ± 0,30	3,00 ± 0,53	2,50 ± 0,18	1,66 ± 0,35	2,66 ± 0,70	2,80 ± 0,25	1,83 ± 0,33	2,40 ± 0,60
<b>Nombre d'entrée bras fermés</b>	3,50 ± 0,89	3,28 ± 0,74	3,00 ± 0,69	4,60 ± 0,71	3,00 ± 0,89	2,33 ± 0,51	1,42 ± 0,29	3,57 ± 0,64
<b>Pourcentage du nombre d'entrée bras ouverts (%)</b>	23,61 ± 11,51	12,41 ± 5,92	6,66 ± 3,90	50,94 ± 6,46 ***	35,27 ± 1,68 *	47,77 ± 2,60 **	3,57 ± 3,57	37,02 ± 3,55 *
<b>Pourcentage du nombre d'entrée bras fermés (%)</b>	76,38 ± 10,51	91,07 ± 4,78	93,33 ± 3,56	49,05 ± 6,46 ***	79,84 ± 7,32	52,22 ± 2,60 ***	96,42 ± 3,57	78,84 ± 8,28
<b>Pourcentage de temps passé bras ouverts (%)</b>	17,68 ± 1,28	5,64 ± 0,53 ##	2,48 ± 0,17	9,99 ± 4,46	10,77 ± 2,10	8,69 ± 2,03	5,36 ± 1,20	12,43 ± 4,88
<b>Pourcentage de temps passé bras fermés (%)</b>	86,31 ± 2,49	95,87 ± 1,11	98,75 ± 0,50	90,00 ± 4,46	91,30 ± 2,56	91,30 ± 2,03	97,31 ± 1,57	89,91 ± 5,14

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . (##) :  $p < 0,01$  ; (###) :  $p < 0,001$  par rapport à SHAM Nor ; (\*) :  $p < 0,05$  (\*\*) :  $p < 0,01$  par rapport à OVX.

**d. Effets anxiolytiques de la boisson « tenghõ » dans le test de l'arène ouverte « Open Field »**

Dans le but de confirmer l'hyperactivité cérébrale induite par la scopolamine 0,6 mg/kg lors de l'expérimentation précédente, le test suivant (modèle d'induction des troubles anxieux à la scopolamine 1 mg/kg) a été réalisé. Ainsi, l'analyse des données du test de l' « Open field » (tableau XXXVI) a montré que 17 jours d'injection de scopolamine 1mg/kg *i.p* chez des rates ovariectomisées (49 jours post-ovariectomie) a induit une réduction du nombre de « crossing », une réduction significative du nombre de « rearing » ( $p<0,01$ ), du nombre de « grooming » ( $p<0,05$ ) et du temps passé au centre du dispositif ( $p<0,01$ ).

Par contre, comparé au témoin ovariectomisé ayant reçu de l'eau distillée après l'injection de scopolamine 1mg/kg *i.p* pendant 17 jours (OVX + SCOPO), le diazépam (molécule de référence des tests d'anxiété) a induit une augmentation du temps passé au centre du dispositif, du nombre de « crossing », du nombre de « rearing » ainsi que du nombre de « grooming » .

Pareillement, le « tenghõ » à la dose de 200 mg/kg a induit une augmentation significative du temps passé au centre du dispositif de l' « Open field » ( $p<0,001$ ), du nombre de « crossing » ( $p<0,001$ ), du nombre de « rearing » ( $p<0,05$ ) comparé au témoin ovariectomisé ayant reçu de l'eau distillée. Ce résultat suggère un meilleur effet anxiolytique de la boisson « tenghõ » à la dose de 200 mg/kg, un effet similaire a été obtenu par la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg.

**Tableau XXXVI :** Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'anxiété lors du test de l' « Open field » (OF)

Groupes de traitement	Temps passé centre (s)	Nombre « crossing »	Nombre de « grooming »	Nombre de « rearing »
<b>Sham nor</b>	5,57 ± 0,48	64,57 ± 8,28	4,71 ± 0,60	11,26 ± 0,64
<b>OVX + SCOPO</b>	3,00 ± 0,37 ##	24,00 ± 5,04 ##	2,85 ± 0,26 #	5,28 ± 0,83 ##
<b>E2V + SCOPO</b>	4,71 ± 0,80	51,28 ± 3,36	3,28 ± 0,42	9,42 ± 0,99
<b>DZP + SCOPO</b>	5,85 ± 1,12	51,42 ± 10,42	3,57 ± 0,36	10,57 ± 2,37
<b>PIRA + SCOPO</b>	5,14 ± 1,72	71,28 ± 13,60 **	4,85 ± 0,79 *	15,42 ± 1,77 ***
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	8,28 ± 1,08 ***	68,14 ± 6,26 ***	3,71 ± 0,47	11,42 ± 0,78 *
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	3,00 ± 0,30	38,42 ± 1,83	3,71 ± 0,56	7,85 ± 0,96
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	2,57 ± 0,29	48,28 ± 6,34	3,85 ± 0,40	12,00 ± 1,70 **

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. (\*) :  $p < 0,05$  ; (\*\*) :  $p < 0,01$  ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *OVX* ; (#) :  $p < 0,05$  ; (##) :  $p < 0,01$  ; (###) :  $p < 0,001$  par rapport à *SHAM Nor*.

**e. Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à court terme dans le dispositif du labyrinthe en Y « Y Maze »**

L'analyse des données obtenues lors du test du labyrinthe en Y après 12 jours d'injection de scopolamine 1 mg/kg i.p chez des rates ovariectomisées (40 jours post-ovariectomie) (Tableau XXXVII), a montré que les animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p et traité à l'eau distillée ont passé moins de temps à visiter les bras du labyrinthe comparé au témoin normal (*SHAM Nor*).

Cependant, le piracetam à la dose de 300mg/kg a augmenté de façon significative ( $p < 0,05$ ) le nombre de bras visité comparé au témoin *OVX*. Pareillement, l'œstradiol à la dose de 1mg/kg ainsi que le « tenghõ » aux doses de 200 et 400 mg/kg ont entraîné une augmentation non significative de ce nombre ainsi qu'une augmentation du pourcentage d'alternation spontanée comparé au témoin *OVX*. Également, le « tenghõ » à toutes les doses testées a entraîné une augmentation du pourcentage d'alternation dans ce dispositif, le meilleur effet étant obtenu à la dose de 400 mg/kg. Ce résultat suggère un effet neuroprotecteur de cette boisson à la dose de 400 mg/kg.

**Tableau XXXVII** : Effets de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à court terme lors du test du labyrinthe en Y (Y maze)

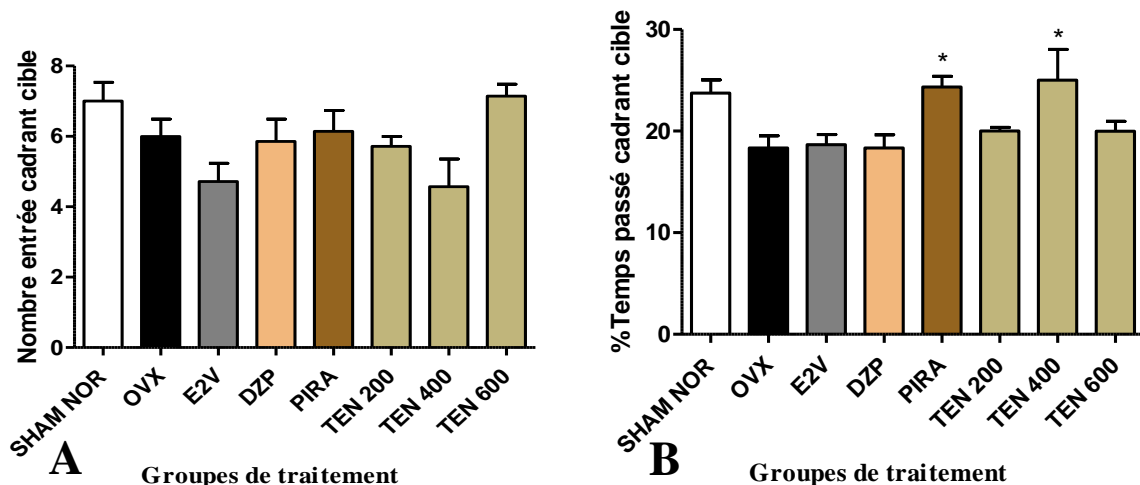
Groupes de traitement	Nombre de bras visité	Pourcentage d'alternation (%)
<b>Sham nor</b>	12,00 ± 1,66	71,66 ± 0,36
<b>OVX</b>	9,14 ± 1,14	71,87 ± 2,23
<b>E2V</b>	13,28 ± 1,28	84,97 ± 4,11 *
<b>DZP</b>	11,00 ± 1,26	76,74 ± 3,63
<b>PIRA</b>	14,28 ± 1,35 *	74,92 ± 1,92
<b>TEN 200</b>	13,00 ± 0,75	78,98 ± 4,32
<b>TEN 400</b>	11,14 ± 0,26	85,00 ± 2,88 *
<b>TEN 600</b>	10,00 ± 1,27	77,85 ± 4,51

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX** : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . **E2V** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . (\*) :  $p < 0,05$  par rapport à OVX.

**f. Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à long terme via le test de la piscine de Morris (« Morris Water Maze » test)**

L'analyse des résultats du test de la piscine de Morris (Figure 33) effectué pour évaluer les effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire spatiale à long terme, nous a permis de constater que 30 jours d'ovariectomie additionné à 5 jour d'injection de scopolamine 1mg/kg i.p a induit des troubles mnésiques chez les animaux ovariectomisés (OVX) comparé au témoin normal (SHAM Nor), ces troubles étaient caractérisés par une réduction du nombre d'entrée et du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible.

Parmi toutes les substances testées, seul le piracetam à la dose 300 mg/kg et le « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg ont pu augmenter de façon significative ( $p < 0,05$ ), le pourcentage de temps passé dans le quadrant cible du dispositif de la piscine de Morris le jour du test, comparé au témoin négatif OVX.



**Figure 33 :** Effet de la boisson « tenghõ » sur la mémoire à long terme au cours du test de la piscine de Morris (MWM) : (A) Nombre d'entrée dans le cadran cible ; (B) pourcentage de temps passé dans le cadran cible.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. (\*) :  $p < 0,05$  par rapport à OVX.

#### g. Effets de la boisson « tenghõ » sur la mémoire à court terme via le test de reconnaissance de l'Objet

L'analyse des résultats sur l'évaluation de la mémoire à court terme lors du test de reconnaissance de l'objet (tableau XXXVIII) a montré que l'injection de scopolamine 1mg/kg *i.p* pendant 17 jours chez des rates ovariectomisés (49 jours post-ovariectomie) n'a pas induit une altération significative de la mémoire à court terme, car la réduction de la préférence à la nouveauté et du score de biais d'objet n'était pas significative comparé au témoin normal (Sham Nor).

Cependant, le piracetam à la dose de 300 mg/kg a induit une augmentation de la préférence à la nouveauté, une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du score de biais d'objet et une augmentation significative de l'indice de discrimination comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillé (OVX + SCOPO).

Pareillement, le « tenghõ » a induit une augmentation de la préférence à la nouveauté (toutes les doses testées), une réduction significative ( $p < 0,001$ ) du score de biais d'objet

(doses de 400 et 600 mg/kg) et une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) de l'indice de discrimination (doses de 400 et 600 mg/kg) comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillé (OVX + SCOPO).

**Tableau XXXVIII :** Effet de la boisson « tenghō » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à court terme lors du test de reconnaissance de l'objet (OR test)

Groupes de traitement	Préférence à la nouveauté (%)	Score d'objet biaisé (%)	Indice de discrimination
Sham Nor	62,26 ± 1,89	39,93 ± 2,42	29,46 ± 2,70
OVX + SCOPO	60,88 ± 2,57	39,11 ± 2,57	29,02 ± 3,38
E2V + SCOPO	65,16 ± 2,93	34,83 ± 2,93	30,33 ± 4,52
DZP + SCOPO	70,71 ± 5,41	37,83 ± 2,79	50,59 ± 7,56 **
PIRA + SCOPO	77,03 ± 5,76	20,27 ± 2,59 ***	67,58 ± 6,77 ***
TEN 200 + SCOPO	68,73 ± 2,14	31,26 ± 2,14	42,77 ± 2,22
TEN 400 + SCOPO	83,93 ± 1,36	16,60 ± 1,36 ***	67,86 ± 2,72 **
TEN 600 + SCOPO	84,46 ± 1,21	15,53 ± 1,21 ***	68,92 ± 2,42 **

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée. *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. (\*\*) :  $p < 0,01$  ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à OVX.

#### **h. Effets de la boisson « tenghō » sur la mémoire à court terme lors du test de reconnaissance de l'Objet**

Lors de l'évaluation de la mémoire à long terme au cours du test de reconnaissance de l'objet après 17 jours d'injection de scopolamine 1 mg/kg i.p. chez des rates ovariectomisées (50 jours post-ovariectomie), aucune différence significative n'a été observé chez le témoin négatif (OVX) comparé au témoin normal en ce qui concerne la préférence à la nouveauté (tableau XXXVIII) ; le score d'objet biaisé et l'index de discrimination. Cependant, le piracetam à la dose de 300 mg/kg ainsi que le « tenghō » à la dose de 400 mg/kg ont induit une augmentation bien que non significative du pourcentage de préférence à la nouveauté, ainsi qu'une réduction non significative du score d'objet biaisé, de même qu'une augmentation non significative de l'index de discrimination comparé au témoin ovariectomisé ayant reçu de l'eau distillé comme traitement après une injection de scopolamine 1mg/kg i.p pendant 17 jour à partir du 30<sup>e</sup> jour post ovariectomie.

**Tableau XXXVIX :** Effet de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres d'évaluation de la mémoire à long terme lors du test de reconnaissance de l'objet (OR test)

Groupes de traitement	Préférence à la nouveauté (%)	Score d'objet biaisé (%)	Index de discrimination
<b>Sham Nor</b>	62,53 ± 4,21	42,87 ± 5,63	14,25 ± 11,26
<b>OVX + SCOPO</b>	60,53 ± 4,95	44,87 ± 3,77	34,50 ± 13,56
<b>E2V + SCOPO</b>	60,00 ± 4,60	39,99 ± 4,60	20,01 ± 9,21
<b>DZP + SCOPO</b>	48,69 ± 7,20	46,56 ± 5,99	6,87 ± 11,92
<b>PIRA + SCOPO</b>	73,37 ± 8,70	37,27 ± 5,33	60,37 ± 10,83
<b>TEN 200 + SCOPO</b>	72,33 ± 5,12	34,57 ± 1,86	44,67 ± 10,24
<b>TEN 400 + SCOPO</b>	81,37 ± 5,81	37,25 ± 0,85	62,74 ± 11,62
<b>TEN 600 + SCOPO</b>	69,71 ± 7,55	40,38 ± 5,28	39,42 ± 15,11

*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée. *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg.

#### **i. Effets de la boisson « tenghõ » sur la concentration de GABA et de sérotonine**

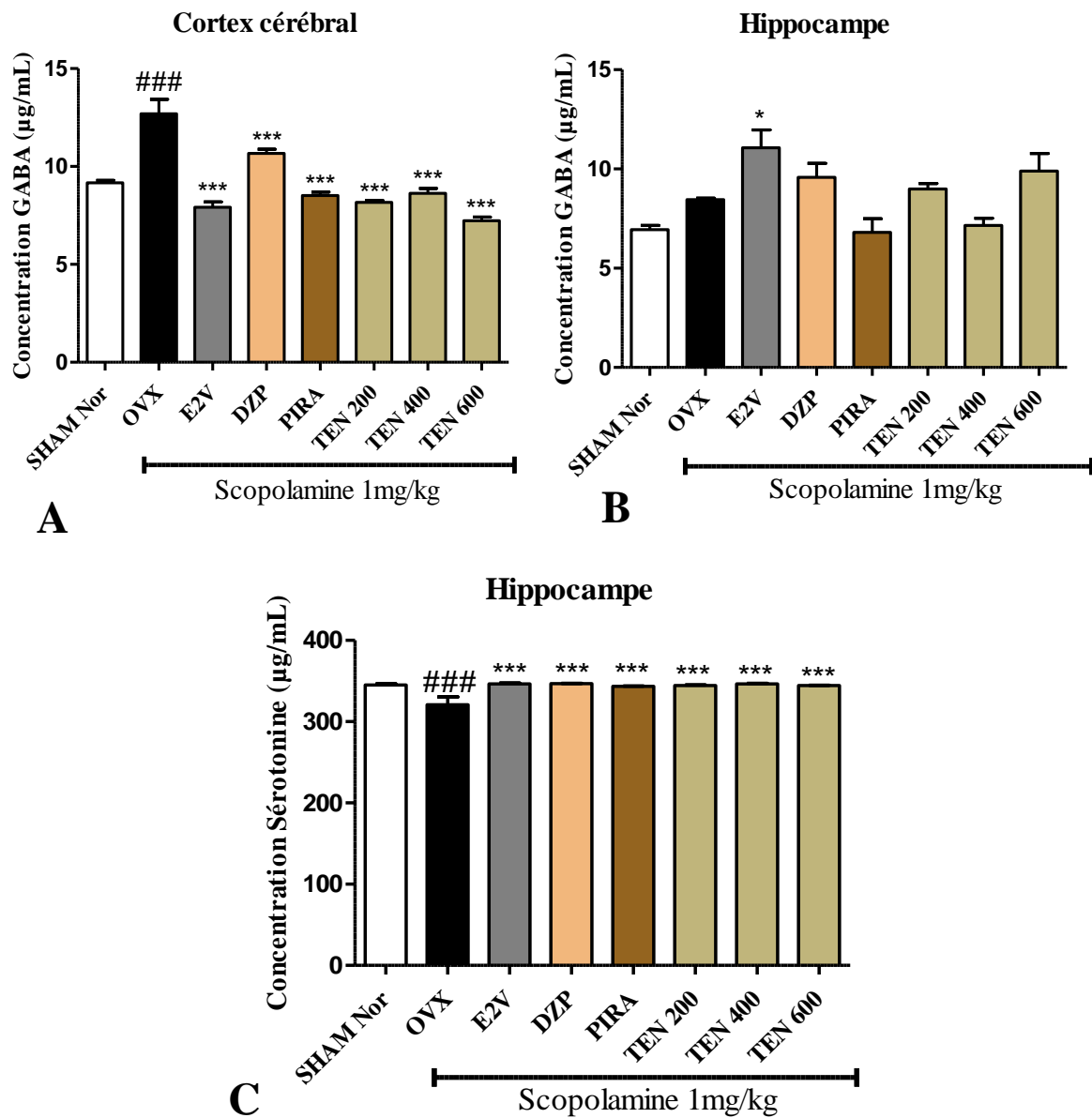
##### **• Evaluation des effets de la boisson « tenghõ » sur la concentration GABA**

L'analyse des résultats de la figure 34 A montre que l'injection de scopolamine 1mg/kg pendant 17 jours chez des rates ovariectomisées (64 jours post-ovariectomie) a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration de GABA dans le cortex cérébral comparé au témoin normal (SHAM Nor). Cependant l'augmentation n'était pas significative dans l'hippocampe (figure 34 B). Par contre tous les autres traitements (Piracetam, Diazépam, Œstradiol valérate et « tenghõ » aux doses testées) ont induit une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration de GABA comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX + SCOPO) dans le cortex cérébral. Mais aucune autre substance n'a induit une réduction significative de cette concentration dans l'hippocampe.

##### **• Evaluation des effets de la boisson « tenghõ » sur la concentration de la sérotonine**

L'analyse des résultats de la figure 34 C montre que l'injection de scopolamine 1mg/kg pendant 17 jours chez des rates ovariectomisées (64 jours post-ovariectomie) a induit une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration de sérotonine dans l'hippocampe comparé au témoin normal (SHAM Nor). Par contre tous les autres traitements (Piracetam,

Diazépam, (Estradiol valérate et « tenghõ » aux doses testées) ont induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration de sérotonine comparé au témoin ovariectomisé recevant de l'eau distillée (OVX + SCOPO) dans l'hippocampe.



**Figure 34 :** Effets de la boisson « tenghõ » sur la concentration du GABA et de la sérotonine  
*Sham Nor* : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, *OVX* : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traité à l'eau distillée . *E2V* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. *DZP* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; *PIRA* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . (\*) :  $p < 0,05$  ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à OVX ; (###) :  $p < 0,001$  par rapport à SHAM Nor.



**j. Effets de la boisson « tenghõ » sur la production des cytokines pro et anti-inflammatoires dans l'hippocampe et le cortex cérébrale.**

L'analyse du dosage des cytokines pro et anti inflammatoires (Tableau XL et Tableau XLI) a montré que l'injection de scopolamine 1 mg/kg *i.p.* pendant 17 jours chez des rats ovariectomisés (OVX), a induit d'une part une augmentation de la concentration des cytokines pro-inflammatoires dans l'hippocampe [augmentation significative de la concentration de TNF $\alpha$  (p<0,001), de la concentration d'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (p<0,001) et de la concentration d'interleukine 6 (IL-6) (p<0,001)] et dans le cortex cérébrale [augmentation significative de la concentration d'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (p<0,001)]; d'autre part une réduction de la concentration de cytokines anti-inflammatoires dans l'hippocampe [réduction significative de la concentration d'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) (p<0,001), de la concentration d'interleukine 4 (IL-4) (p<0,001), de la concentration d'interleukine 10 (IL-10) (p<0,001)], ainsi que dans le cortex (réduction significative de la concentration d'interleukine 10 (IL-10) (p<0,001)].

Par contre, le traitement au piracetam à la dose de 300 mg/kg ; à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg et au « tenghõ » aux doses de 400 et 600 mg/kg ont induit d'une part une réduction significative de la concentration de cytokines anti-inflammatoires dans l'hippocampe [réduction significative de la concentration de TNF $\alpha$  (p<0,001), de la concentration d'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), (p<0,001) de la concentration d'interleukine 6 (IL-6)] et dans le cortex cérébrale [réduction significative de la concentration d'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (p<0,001)], d'autre part une augmentation de la concentration de cytokines anti-inflammatoires dans l'hippocampe [augmentation significative de la concentration d'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) (p<0,001), de la concentration d'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) (p<0,001), de la concentration d'interleukine 4 (IL-4) (p<0,001), de la concentration d'interleukine 10 (IL-10) (p<0,001)] ainsi que dans le cortex [augmentation significative de la concentration d'interleukine 10 (IL-10) (p<0,001)].

**Tableau XL : Concentration des cytokines pro-inflammatoire dans l'hippocampe et le cortex cérébral**

Groupes de traitement	Concentration des cytokines pro-inflammatoire (pg/mL)				
	Hippocampe				Cortex
	TNF $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6	IFN- $\gamma$	IL-1 $\beta$
<b>SHAM</b>	75,66 $\pm$ 5,86	106,50 $\pm$ 6,62	285,12 $\pm$ 4,72	188,74 $\pm$ 8,49	204,39 $\pm$ 11,32
<b>OVX</b>	267,12 $\pm$ 2,74 ###	228,68 $\pm$ 14,71 ###	499,42 $\pm$ 23,13 ###	129,56 $\pm$ 5,96 ###	305,71 $\pm$ 19,66 ###
<b>E2V</b>	136,38 $\pm$ 6,38 ***	100,39 $\pm$ 3,66 ***	286,74 $\pm$ 9,11 ***	226,50 $\pm$ 11,97 ***	212,24 $\pm$ 9,58 ***
<b>PIRA</b>	161,23 $\pm$ 11,84 ***	175,50 $\pm$ 3,64 **	329,34 $\pm$ 3,96 ***	186,31 $\pm$ 5,23 ***	234,65 $\pm$ 4,87 **
<b>DZP</b>	246,25 $\pm$ 8,05	281,94 $\pm$ 12,92	445,77 $\pm$ 10,73 *	170,44 $\pm$ 6,08 **	326,92 $\pm$ 6,39
<b>TEN 200</b>	227,87 $\pm$ 9,34 **	238,43 $\pm$ 15,32 *	475,35 $\pm$ 1,75	157,93 $\pm$ 5,26	278,74 $\pm$ 11,42
<b>TEN 400</b>	134,99 $\pm$ 4,06 ***	177,95 $\pm$ 12,16 **	392,93 $\pm$ 5,21 ***	181,13 $\pm$ 12,32 ***	250,92 $\pm$ 16,28 **
<b>TEN 600</b>	182,97 $\pm$ 9,31 ***	143,45 $\pm$ 4,75 ***	419,48 $\pm$ 19,92 ***	179,72 $\pm$ 7,40 **	191,76 $\pm$ 6,35 ***

**Tableau XL : Concentration des cytokines anti-inflammatoire dans l'hippocampe et le cortex cérébral**

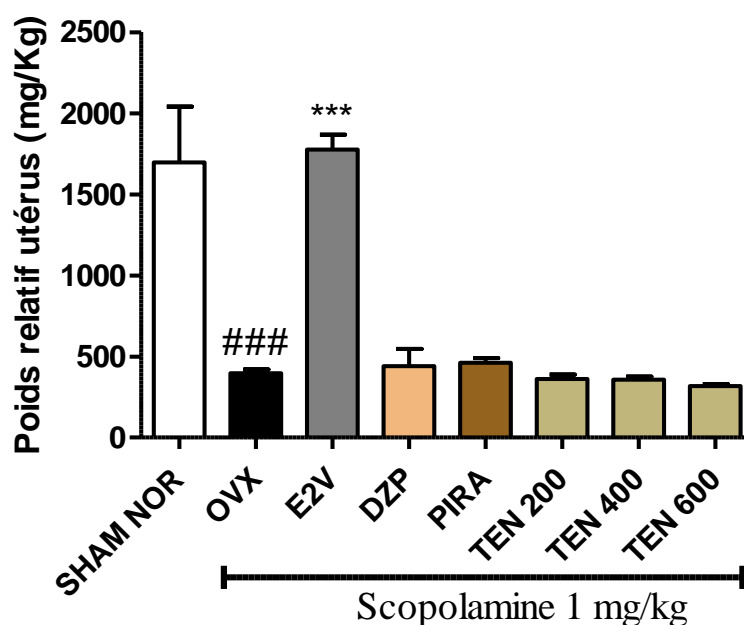
Groupes de traitement	Concentration des cytokines anti-inflammatoire (pg/mL)		
	Hippocampe		Cortex
	IL-4	IL-10	IL-10
<b>SHAM</b>	80,16 $\pm$ 3,19	350,67 $\pm$ 10,15	399,54 $\pm$ 10,15
<b>OVX</b>	40,51 $\pm$ 1,81 ###	214,02 $\pm$ 8,57 ###	342,90 $\pm$ 3,16 ###
<b>E2V</b>	77,28 $\pm$ 3,73 ***	380,65 $\pm$ 4,22 ***	429,51 $\pm$ 4,22 ***
<b>PIRA</b>	64,82 $\pm$ 2,83 **	273,47 $\pm$ 6,32 ***	411,29 $\pm$ 15,32 ***
<b>DZP</b>	53,84 $\pm$ 5,75 *	269,93 $\pm$ 6,23 **	388,28 $\pm$ 3,59 ***
<b>TEN 200</b>	59,74 $\pm$ 2,80 **	341,91 $\pm$ 15,10 ***	318,80 $\pm$ 6,23
<b>TEN 400</b>	58,78 $\pm$ 2,79 **	362,40 $\pm$ 15,32 ***	322,35 $\pm$ 6,32
<b>TEN 600</b>	63,39 $\pm$ 1,22 ***	367,40 $\pm$ 4,75 ***	390,79 $\pm$ 15,10 ***

**Sham Nor** : Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX** : Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip, et traité à l'eau distillée, **E2V** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i,p, et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg, **DZP** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i,p, et traité au Diazepam 1 mg/kg i,p, ; **PIRA** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i,p, et traité au Piracetam 300 mg/kg p,o, ; **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip, et traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg, (###) :  $p < 0,001$  par rapport à SHAM Nor ; (\*) :  $p < 0,05$  ; (\*\*) :  $p < 0,01$  ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à OVX.

### k. Effets de la boisson « tenghõ » sur les cibles primaires des œstrogènes

#### • Effets de la boisson « tenghõ » sur la masse relative de l'utérus frais

L'analyse de la figure 35 montre que l'ovariectomie a entraîné une réduction significative ( $p < 0,001$ ) de la masse relative de l'utérus frais comparé au témoin normal (SHAM Nor). Cependant l'œstradiol valérate à la dose de 1mg/kg a induit une augmentation du poids relatif de cet organe comparé au témoin négatif ovariectomisé (OVX). Contrairement à l'E2V, aucune autre substance testée (Diazépam 1mg/kg, Piracetam 300 mg/kg et « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg ) n'a pu augmenter la masse relative de l'utérus frais (cible primaire des œstrogènes).



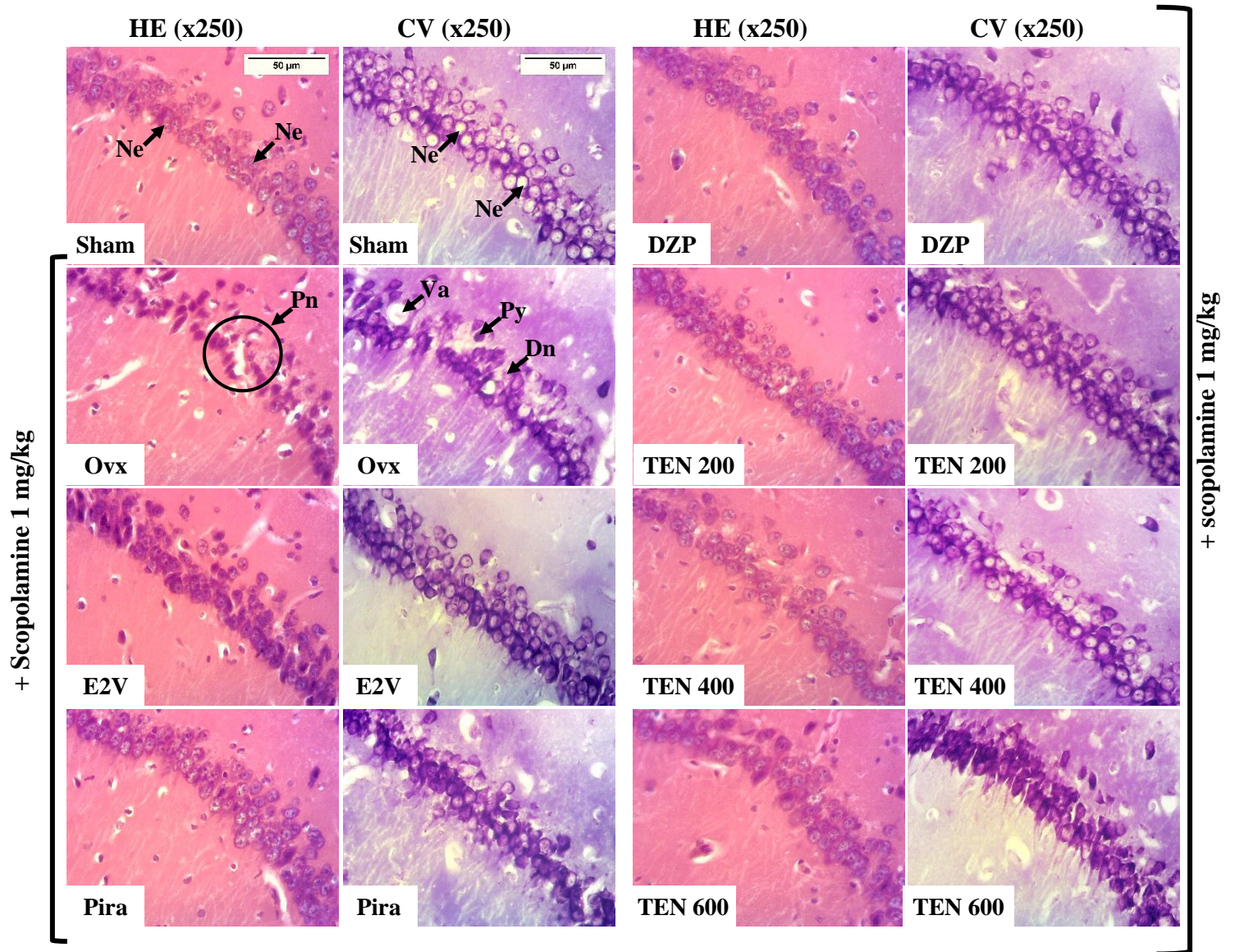
**Figure 35 :** Effets de la boisson « tenghõ » sur la masse relative de l'utérus frais au cours du second test d'évaluation des effets anti-mnésique.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazépam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . (###) :  $p < 0,001$  par rapport à SHAM Nor ; (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à OVX.

## **I. Effets de la boisson « tenguõ » sur l'architecture cérébrale**

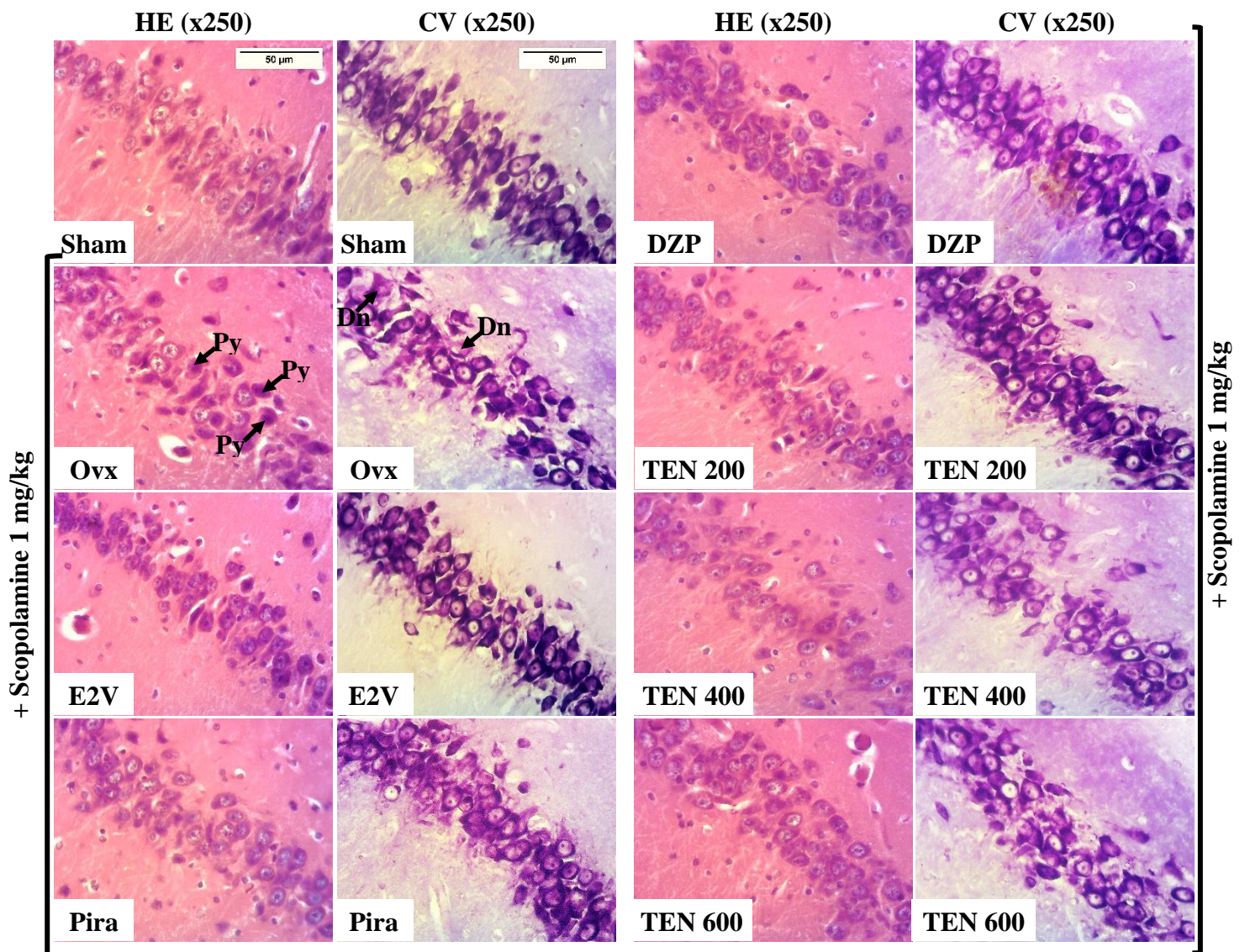
L'analyse des microphotographies des coupes du cerveau des rats montre que comparé au témoin normal (Sham Nor), l'injection de Scopolamine *i.p.* 1 mg/kg pendant 17 jours chez des rates ovariectomisées a induit une vacuolisation neuronale, des pycnoses, des dégénérescences et des pertes neuronales des cellules CA 1 (figure 36), des cellules CA 2 (figure 37), des cellules CA 3 (figure 38) et des cellules du cortex cérébral (figure 39). Cependant l'altération neuronale est plus accentuée chez les animaux ayant reçu la scopolamine 1 mg/kg, que chez les animaux ayant reçu la scopolamine 0,6mg/kg (expérimentation précédente).

Par contre l'administration du piracetam à la dose de 300 mg/kg et du « tenguõ » à toutes les doses testées (200, 400 et 600 mg/kg) a induit une neuroprotection caractérisée par une abondance des neurones sains dans les régions CA1, CA2 et CA3 de l'hippocampe ainsi que dans le cortex cérébral comparé aux animaux du groupe OVX qui recevait de l'eau distillée.



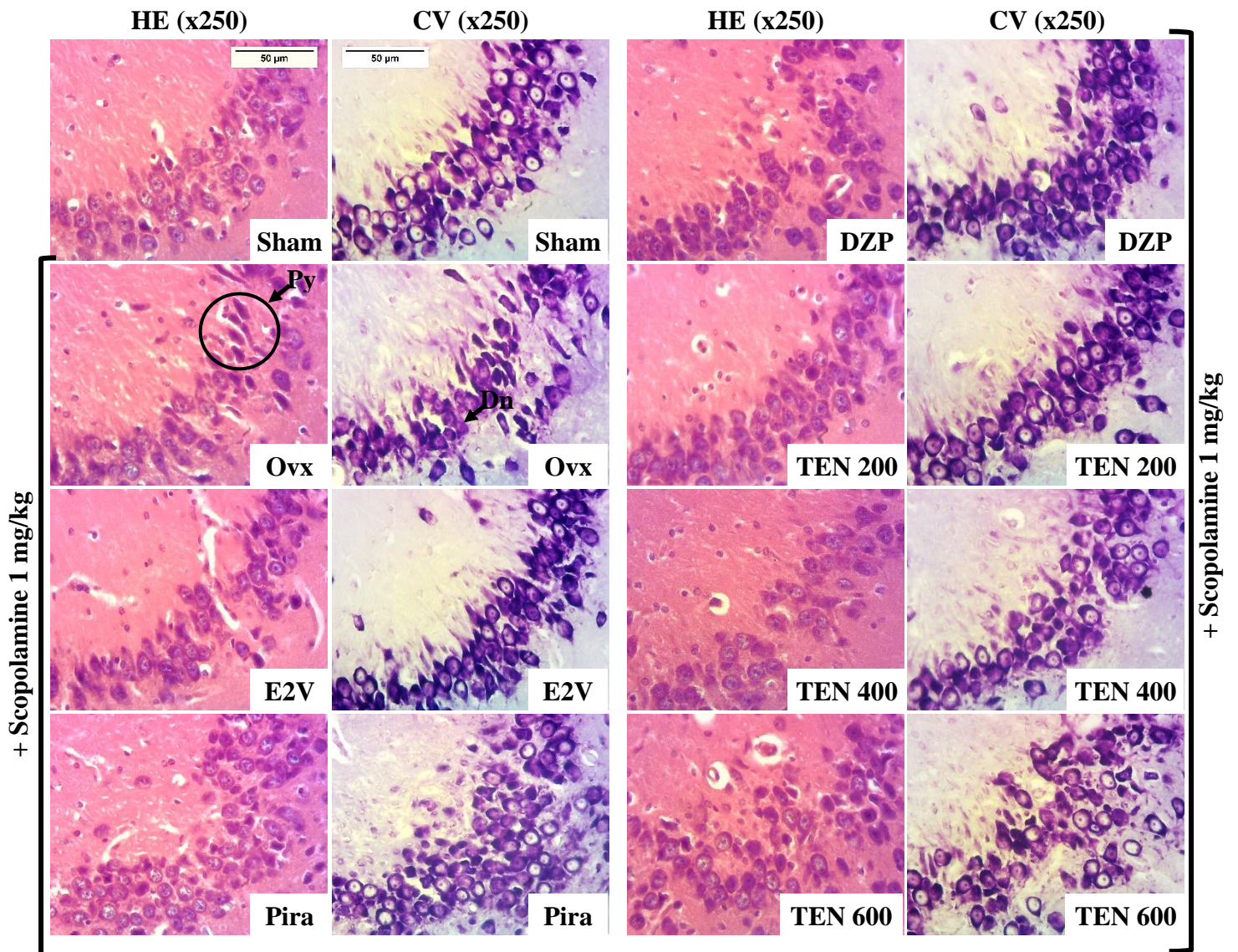
**Figure 36 :** Microphotographies 250X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 1 (CA1) de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. **Ne =** Neurone sain ; **Pn =** Perte neuronale ; **Va =** Vacuolisation neuronale ; **Py =** Pycnose ; **Dn =** Dégénérescence neuronale.



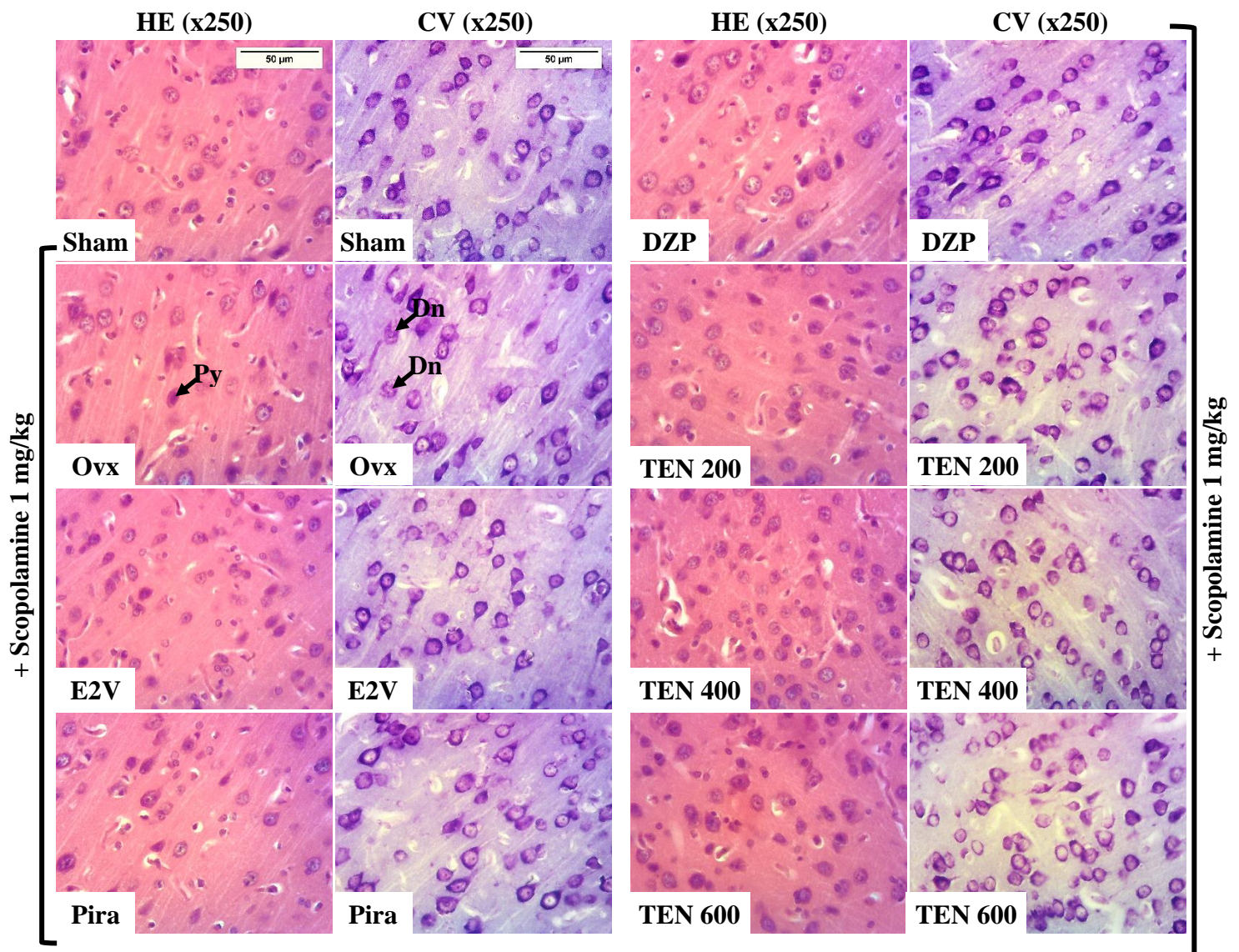
**Figure 37 :** Microphotographies 250X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 2 (CA2) de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. **Py = Pycnose ; Dn = Dégénérescence neuronale.**



**Figure 38 :** Microphotographies 250X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules de la corne d'Ammon 3 (CA3) de l'hippocampe des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. **Py = Pycnose ; Dn = Dégénérescence neuronale.**



**Figure 39 :** Microphotographies 250X, montrant les effets de l'administration de la boisson « tenghõ » sur les cellules du cortex cérébral des rats.

**Sham Nor :** Animaux ayant subi une chirurgie blanche et ayant reçu de l'eau distillée, **OVX :** Animaux ovariectomisés et ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité à l'eau distillée. **E2V :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au l'œstradiol valérate 1 mg/kg. **DZP :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Diazepam 1 mg/kg i.p. ; **PIRA :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg i.p. et traité au Piracetam 300 mg/kg p.o. ; **Ten 200 ; Ten 400 ; Ten 600 :** animaux ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 1mg/kg ip. et traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. **Pn =** Perte neuronale ; **Dn =** Dégénérescence neuronale.



### III-1.4- Etude de la capacité antioxydante de la boisson « tenghõ »

L'analyse du tableau XLII montre que la boisson « tenghõ » possède une capacité à réduire les radicaux libres ferreux par la méthode de phosphomolybdates (teneur de  $10,74 \pm 0,95$  Eq d'acide ascorbique d'extrait sec, par la méthode FRAP ( $3,30 \pm 0,3$  mg Eq d'acide ascorbique/g d'extrait sec (les teneurs de 1,37, 1,37, 1,37 et 1,83 mg Eq trolox/g matières sèches respectivement après 15 ; 30 ; 45 et 60 minutes). La méthode DPPH a révélé des concentrations inhibitrices 50 (CI 50) de 1,93, 1,89, 1,93, 1,93 respectivement après 15 ; 30 ; 45 et 60 minutes.

**Tableau XLII :** Capacité antioxydante du « tenghõ »

Capacité anti-oxydante totale (CAT)	FRAP	ABTS	DPPH (CI 50)
$10,74 \pm 0,95$ mg eq acide ascorbique/g d'extrait sec.	$3,30 \pm 0,3$ µg eq acide ascorbique/g d'extrait sec	<b>1,37 ; 1,73 ; 1,73 et 1,83</b> mg eq trolox/matières sèches respectivement après 15 ; 30 ; 45 et 60 minutes	<b>1,93 ; 1,89 ; 1,93 et 1,93</b> respectivement après 15 ; 30 ; 45 et 60 minutes

### III-1.5-Etudes phytochimiques de la boisson « tenghõ »

#### a. Dosage quantitatif des métabolites secondaires présent dans la boisson « tenghõ »

L'analyse du tableau XLIII montre que l'estimation quantitative de quelques classes de métabolites secondaires de la boisson « tenghõ » a montré des teneurs variées en polyphénols totaux, flavanols flavonoïdes et tanins. Ainsi, la teneur en polyphénols est la plus élevée, avec  $340,57 \pm 37,21$  mEq d'acide caféique/g de matière sèche, suivie de la teneur en flavanols ( $101 \pm 6$  /mg Eq d'acide ascorbique /g d'extrait sec). La plus petite teneur était la teneur en tanins ( $17,82 \pm 2,29$  mg eq d'acide tanique /g d'extrait sec) précédée de la teneur en flavonoïde ( $21,29 \pm 5,7$  mg Eq d'acide ascorbique /g d'extrait sec).

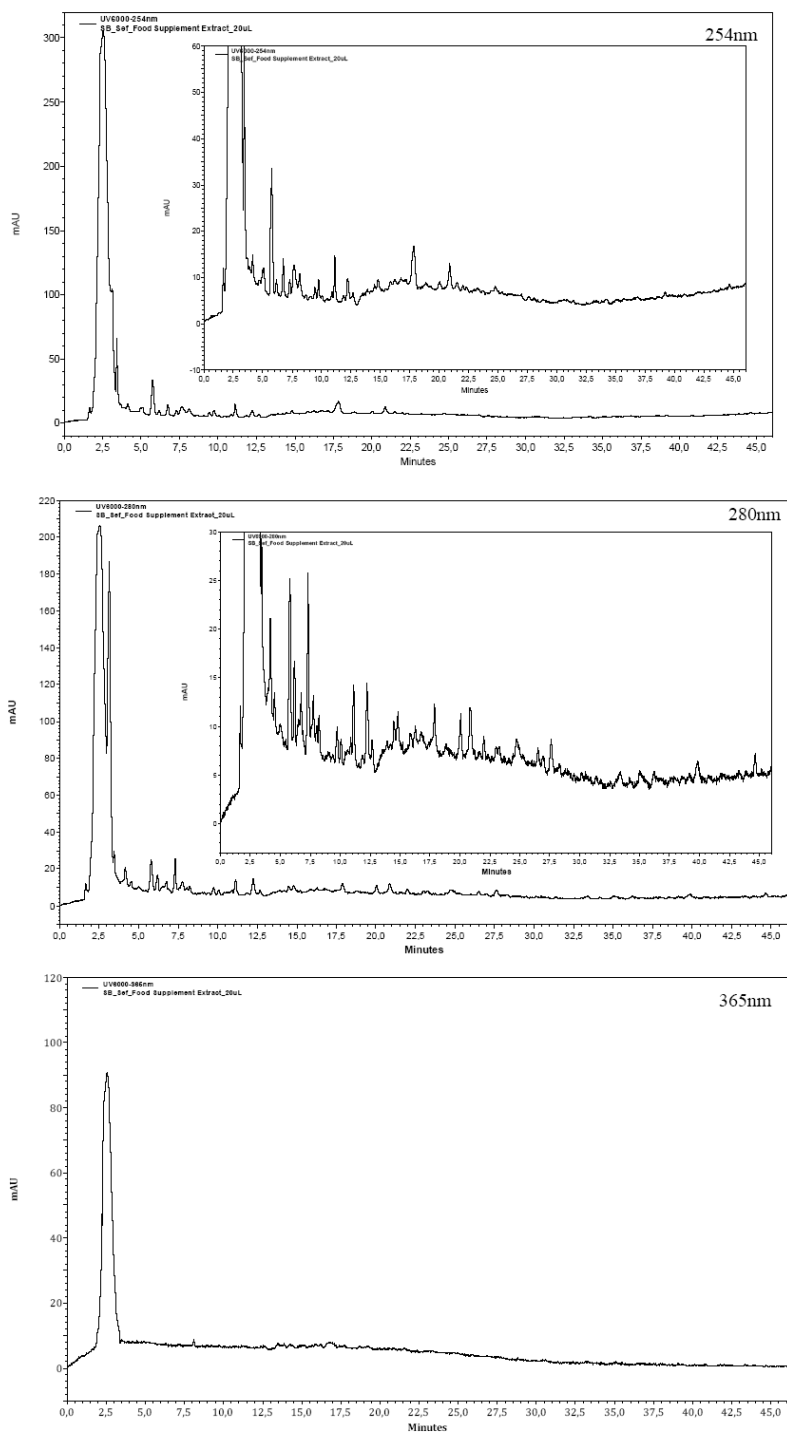
**Tableau XLIII :** Composition phytochimique quantitative de la boisson « tenghõ »

Teneur en polyphénols (mEq Acide caféique /g de matière sèche)	Teneur en flavanols (mg eq acide ascorbique/g d'extrait sec)	Teneur en flavonoïdes (mg eq /g acide ascorbique d'extrait sec)	Teneur en tanins (mg eq acide tanique/g d'extrait sec)
<b><math>340,57 \pm 37,21</math></b>	<b><math>101 \pm 6</math></b>	<b><math>21,29 \pm 5,7</math></b>	<b><math>17,82 \pm 2,29</math></b>

## b. Profil HPLC de la boisson « tenguõ »

L'analyse du profil HPLC (Figure 40), couplé à une spectrométrie de masse (Figure 41), réalisé sur la boisson « tenguõ », révèle la présence de quelques composé majoritaire représenté par des pics.

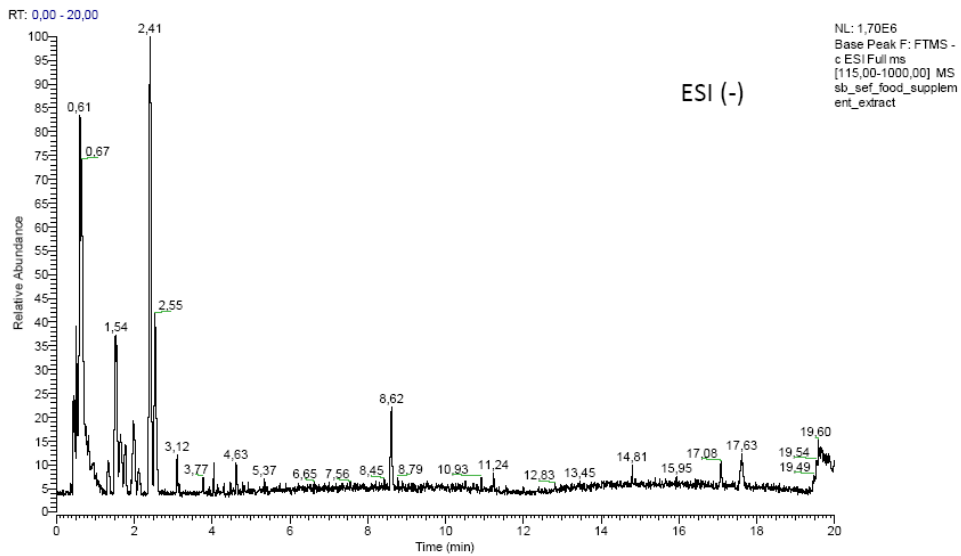
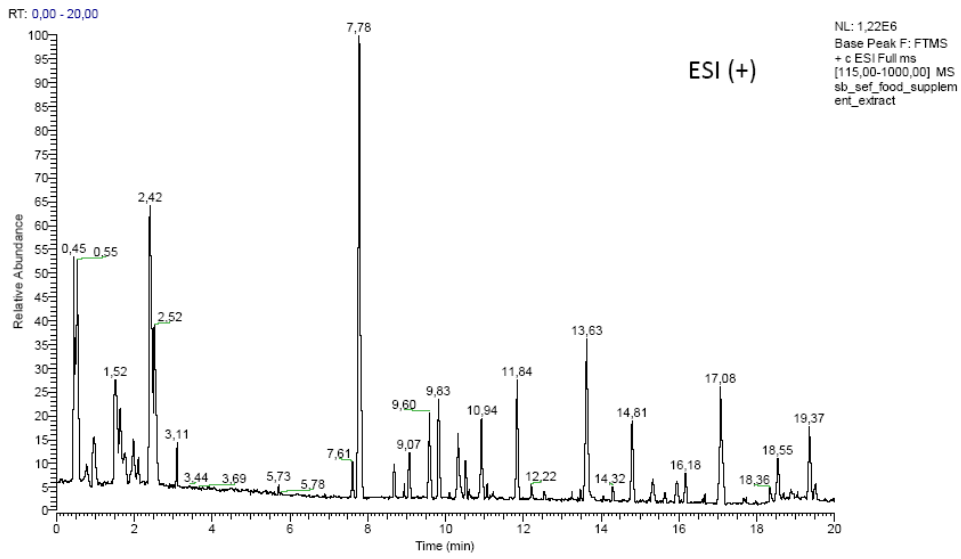
### Local food supplement extract:



8

**Figure 39 :** Profil HPLC de la boisson « tenguõ »

**Local food supplement extract:**



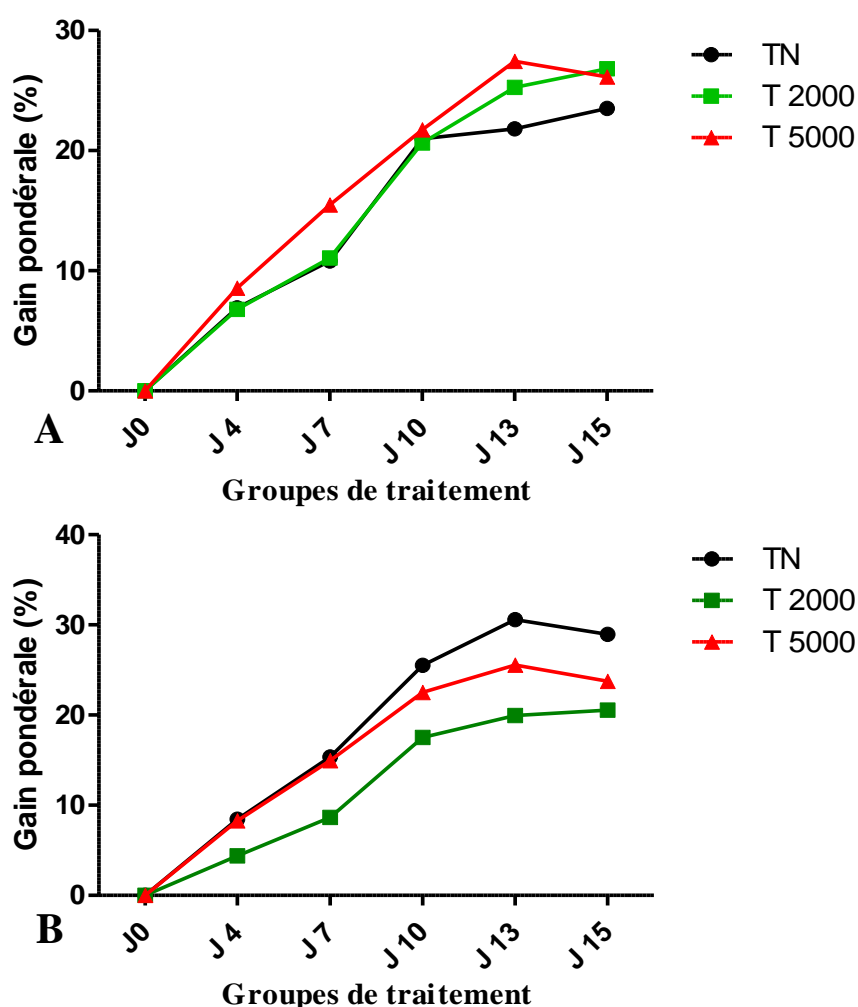
**Figure 41 : Spectrométrie de masse de la boisson « tenghõ »**

### III-1.6- Toxicité

#### III-1.6.1- Toxicité aiguë

##### a. Effets de l'administration aiguë de la boisson « *tenghõ* » sur l'évolution pondérale des animaux

L'analyse des résultats présentés sur la figure 42 montrent une évolution croissante du gain pondérale des animaux traités à la boisson « *tenghõ* » aux doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg lors du premier (A) et du second essai (B) comparés aux animaux recevant de l'eau distillée durant les 14 jours d'observation.



**Figure 42 :** Effets de l'administration aiguë de la boisson « *tenghõ* » sur l'évolution du gain pondérale des animaux lors du premier (A) et du second test (B).

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 2000* : animaux traités à la boisson « *tenghõ* » à la dose de 2000 mg / kg ; *Ten 5000* : animaux traités à la boisson « *tenghõ* » à la dose de 5000 mg / kg.

**b. Effets de l'administration aiguë de la boisson « tenguõ » sur quelques paramètres comportementaux**

L'analyse des résultats obtenues dans le tableau XLIV montrent que les animaux recevant la boisson « tenguõ » aux doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg comparés aux animaux recevant de l'eau distillée ne présenteraient aucun effet négatif concernant les paramètres de toxicité aiguë évalués tel que l'aspect du pelage, la salivation, la locomotion, les tremblements ainsi que l'aspect des fèces. Également, aucun cas de décès des animaux n'est reporté.

**Tableau XLIV :** Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres comportementaux

Paramètres évalués	Notes	T Nor														Ten 2000					Ten 5000				
		30 min	2h	4h	6h	7jours	14 jours	30 min	2h	4h	6h	7jours	14 jours	30 min	2h	4h	6h	7jours	14 jours						
<b>Regroupement des animaux</b>	0 : non 1 : oui	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0					
<b>Aspect du Pelage</b>	0 : Normal 1 : légèrement hérissé 2 : hérissé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
<b>Salivation</b>	0 : Normal 1 : légèrement hérissé 2 : hérissé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
<b>Locomotion</b>	0 : Normal 1 : légèrement hérissé 2 : hérissé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
<b>Tremblement</b>	0 : Normal 1 : légèrement hérissé 2 : hérissé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
<b>Aspect des fèces</b>	0 : Normal 1 : pâteux 2 : liquide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
<b>Nombre de mort</b>	/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 2000* : animaux traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 2000 mg / kg ; *Ten 5000* : animaux traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 5000 mg / kg .

**c. Effets de l'administration aiguë de la boisson « tenthõ » sur la masse relative des organes**

L'analyse des résultats du tableau XLV montrent que les poids relatifs des organes de toxicité tel que le foie, les poumons, les reins, la rate, le cerveau, L'estomac, les glandes surrénales, des animaux recevant la boisson « tenthõ » aux doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg ne présenteraient pas de différence significative comparés aux poids relatifs des organes des animaux recevant de l'eau distillée.

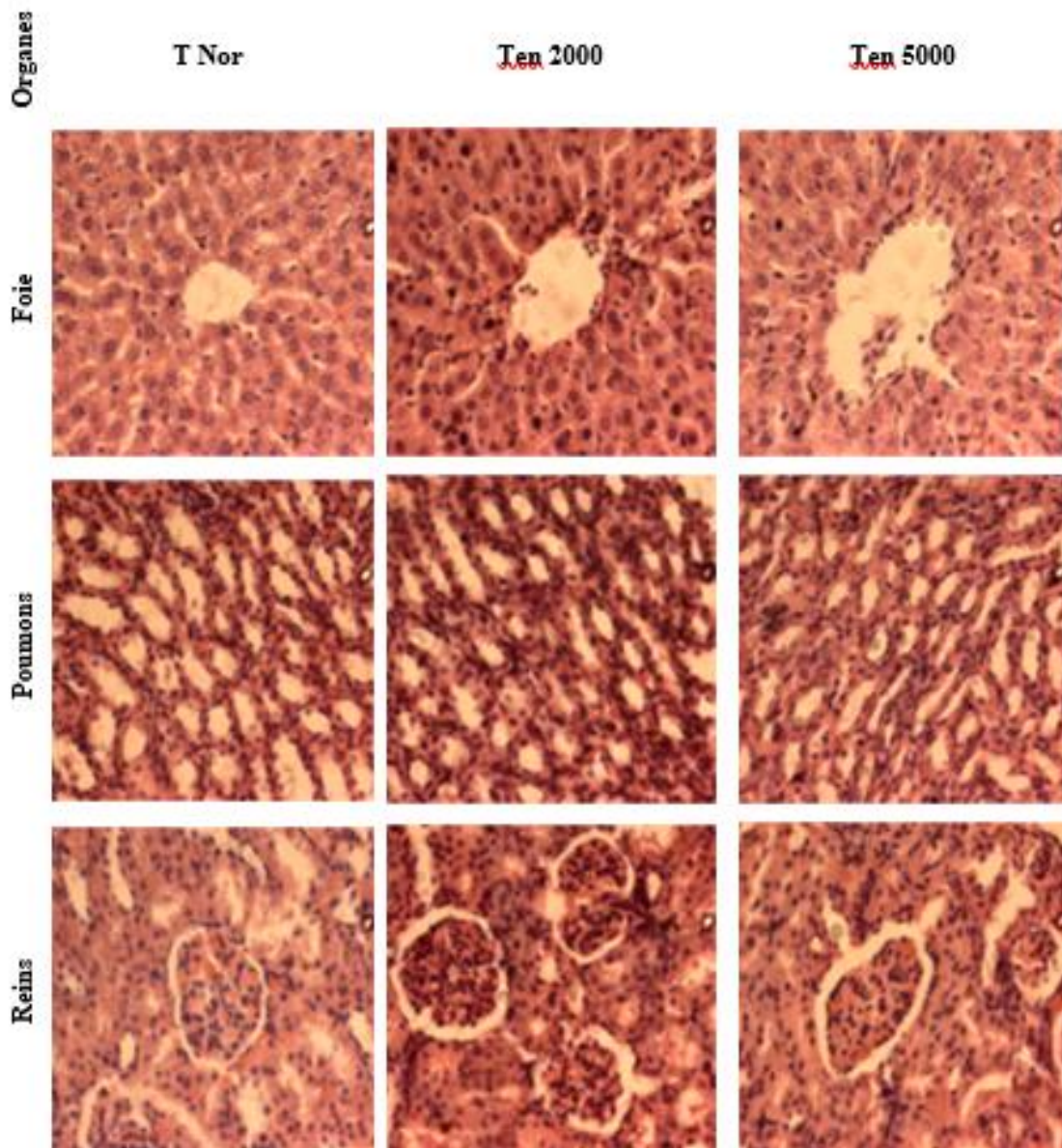
**Tableau XLV :** Effets de l'administration aiguë de la boisson « tenthõ » sur la masse relative des organes.

Organes	Poids relatifs (mg/kg)		
	T Nor	Ten 2000	Ten 5000
<b>Foie</b>	34500,27 ± 413,86	41591,16 ± 469,17	45059,47 ± 407,45
<b>Poumons</b>	6664 ± 92,84	6015,30 ± 564,64	6783,43 ± 317,48
<b>Reins</b>	6244,86 ± 38,81	6115,47 ± 243,31	6757,54 ± 119,23
<b>Rate</b>	5135,85 ± 47,64	5270,96 ± 257,18	3627,80 ± 148,12
<b>Cerveau</b>	7566,79 ± 99,33	7363,69 ± 35,61	8074,25 ± 153,5
<b>Estomac</b>	8729,37 ± 585,45	7946,13 ± 565,82	9360,98 ± 7,59
<b>Glandes surrénales</b>	368,92 ± 0,29	331,64 ± 15,33	267,25 ± 1,2

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 2000* : animaux traités à la boisson « tenthõ » à la dose de 2000 mg / kg ; *Ten 5000* : animaux traités à la boisson « tenthõ » à la dose de 5000 mg/kg.

**d. Effets de l'administration aiguë de la boisson « tenthõ » sur l'architecture des organes**

L'analyse des résultats de la figure 43 montre que la boisson « tenthõ » aux doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg n'ont pas induit de différence significative de l'architecture du foie, des poumons et des reins comparés aux animaux recevant de l'eau distillée.



**Figure 43 :** Microphotographies (HE 100X), montrant les effets de l'administration aiguë de la boisson « tenthõ » sur le foie, les poumons et les reins.

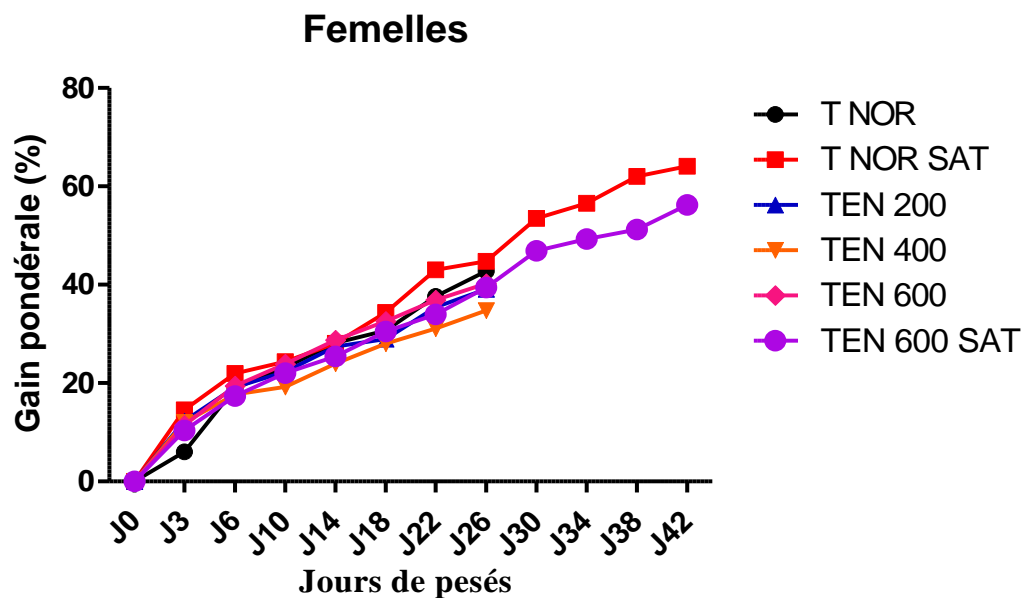
*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 2000* : animaux traités à la boisson « tenthõ » à la dose de 2000 mg / kg ; *Ten 5000* : animaux traités à la boisson « tenthõ » à la dose de 5000 mg / kg .



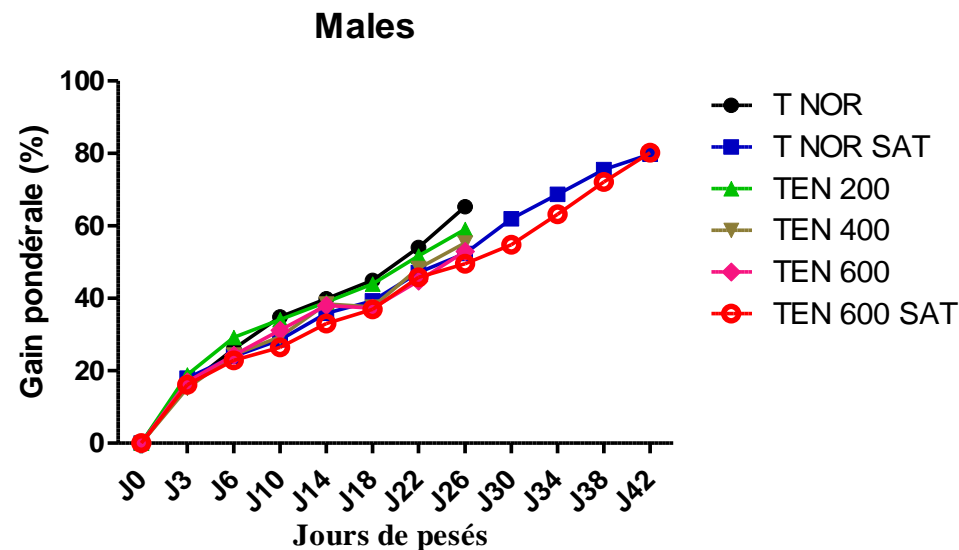
### **III-1.6.2- Toxicité subchronique**

#### **a. Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenguã » sur l'évolution pondérale des animaux**

La figure 44 après analyse montre que l'évolution du gain pondérale des animaux des groupes traités à la boisson « tenguã » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg est croissante aussi bien chez les rats femelles (Figure 75A) que chez les rats mâles (Figure 75B) comparé à l'évolution du gain pondérale des animaux recevant de l'eau distillée (T neg) durant les 28 jours de traitement. Également, l'évolution du gain pondérale des animaux du groupe satellite (Ten 600 Sat) est croissante après les 14 jours d'observation qui ont suivi les 28 jours d'administration des différentes substances.



**A**



**B**

**Figure 44 :** Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghō » sur l'évolution du gain pondérale des rats femelles (A) et des rats mâles (B)

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg .*T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; **Ten 600 sat** : animaux satellites traités à la boisson « tenghō » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires

## **b. Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenthõ » sur la masse relative des organes**

Après 28 jours d'administration de la boisson « tenthõ » chez des rats mâles, le calcul de la masse relative des organes (Tableau XLVII) a montré comparé au lot témoin normal recevant de l'eau distillée que le « tenthõ » a réduit de façon significative la masse relative du foie à la dose de 200 mg/kg ( $p < 0,001$ ) et aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p < 0,01$ ) ; des poumons à la dose de 600 mg/kg ( $p < 0,01$ ) ; des reins à la dose de 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ) ; des glandes surrénales à la dose de 600 mg/kg ( $p < 0,05$ ) et du fémur aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p < 0,001$ ). Le « tenthõ » a augmenté de façon significative la masse relative de l'estomac à la dose de 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ) et aux doses de 200 et 600 mg/kg ( $p < 0,001$ ) ; des poumons à la dose de 200 mg/kg et aucune variation significative concernant la masse relative de la rate, du cœur, du cerveau, des testicules, de l'épididyme et des vésicules séminales. L'analyse des résultats concernant les animaux satellites mâles (Tableau XLVII) a montré que, 14 jours après l'arrêt des traitements, les animaux ayant reçu la boisson « tenthõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé au lot témoin normal satellite (Ten 600 sat) présentaient une masse relative significativement faible des poumons ( $p < 0,05$ ) ; une masse relative significativement élevée des reins ( $p < 0,05$ ) ; de la rate ( $p < 0,05$ ) ; de l'épididyme ( $p < 0,01$ ) et pas de variation significative concernant la masse relative du foie, du cœur, de l'estomac, des glandes surrénales, du cerveau, du fémur, des testicules.

Chez les rats femelles (Tableau XLVI), le « tenthõ » a réduit de façon significative la masse relative du foie aux doses de 400, 600 mg/kg ( $p < 0,001$ ) ; des poumons aux doses de 400, 600 mg/kg ( $p < 0,01$ ) ; des reins à la dose de 600 mg/kg ( $p < 0,001$ ) ; de la rate à la dose de 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ). Le « tenthõ » a augmenté de façon significative la masse relative du cœur à la dose de 200 mg/kg ( $p < 0,05$ ) ; des glandes surrénales à la dose de 200 mg/kg ( $p < 0,05$ ) ; du fémur à la dose de 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ) ; des ovaires à la dose de 200 mg/kg ( $p < 0,05$ ) ; et pas de variation significative concernant la masse relative de l'estomac et de l'utérus. De même, l'analyse des résultats concernant le calcul de la masse relative des organes des animaux satellites femelles (Tableau XLVI) a montré que 14 jours après l'arrêt des traitements, les rats femelles ayant reçu la boisson « tenthõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé au lot témoin normal satellite (T nor sat) présentaient une masse relative significativement faible du foie ( $p < 0,01$ ) ; des glandes surrénales ( $p < 0,01$ ) et une masse relative significativement élevée de la rate ( $p < 0,01$ ) ; du fémur ( $p < 0,01$ ) ; des ovaires ( $p < 0,01$ ) et pas de variation significative concernant la masse relative des poumons, des reins, du cœur, de l'estomac, du cerveau et de l'utérus.

**Tableau XLVI** : Effets de l'administration aiguë de la boisson « *tenghõ* » sur la masse relative des organes chez les rats femelles

	Organes	Groupes de rats femelles					
		T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
Masse relative (mg/kg)	<b>Foie</b>	39195 ± 789,62	42301 ± 322,96	36035 ± 420,83 ***	35374 ± 144,9 ***	32346 ± 465,76	30096 ± 190,32 ##
	<b>Poumons</b>	7428 ± 131,9	7535 ± 85,25	6727 ± 78,78 **	6721 ± 172,9 **	7470 ± 284,5	7295 ± 125
	<b>Reins</b>	6046 ± 39,84	6147 ± 120	5975 ± 80,5	5087 ± 80,44 ***	5685 ± 78,91	5557 ± 56,5
	<b>Rate</b>	5547 ± 347,4	4462 ± 488	3703 ± 71,36 **	4606 ± 236,8	3238 ± 166,8	4277 ± 103,4 ##
	<b>Cœur</b>	3393 ± 105	3671 ± 14,73 *	3563 ± 52,34	3496 ± 63,45	3500 ± 35,11	3303 ± 98,27
	<b>Estomac</b>	7867 ± 333,8	7794 ± 201,4	7019 ± 214,6	8313 ± 209	9091 ± 340	8943 ± 234,6
	<b>Glandes surrénales</b>	344 ± 17,2	441 ± 31,9 *	324 ± 21,6	366 ± 8,9	404 ± 6,11	299 ± 19,9 ##
	<b>Cerveau</b>	9496 ± 166,5	9447 ± 90,52	9427 ± 170,6	9469 ± 134,4	9314 ± 231,3	8788 ± 132,8
	<b>Fémur</b>	2971 ± 115,3	2509 ± 68	3815 ± 224,6 **	3528 ± 170,8	2874 ± 180,3	3606 ± 157,6 ##
	<b>Ovaires</b>	577 ± 23,3	718 ± 23 *	523 ± 53,1	615 ± 62,2	592 ± 25	718 ± 24,9 ##
	<b>Utérus</b>	2448 ± 104,9	2517 ± 179	2275 ± 98,25	2296 ± 30,28	2152 ± 154,2	2514 ± 135,1

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux traités à la boisson « *tenghõ* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; *Ten 600 sat* : animaux satellites traités à la boisson « *tenghõ* » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *T neg.* (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *T Nor sat.*

**Tableau XLVII :** Effets de l'administration aigue de la boisson « tenghõ » sur la masse relative des organes chez les rats mâles.

	Organes	Groupes de rats mâles					
		T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
Masse relative (mg/kg)	<b>Foie</b>	35310 ± 296,03	32420 ± 215,32 **	33126 ± 716,16 *	33061 ± 621,72 *	24874 ± 398,20	26131 ± 613,74
	<b>Poumons</b>	6185 ± 164,70	7539 ± 221,80 ***	6506 ± 132,10	5370 ± 77,20 **	7010 ± 93,66	6786 ± 63,78 #
	<b>Reins</b>	5759 ± 70,98	5740 ± 75,40	5399 ± 76,80 **	5603 ± 15,44	5199 ± 31,97	5855 ± 71,80 #
	<b>Rate</b>	4037 ± 146,50	4082 ± 205,80	3703 ± 71,36	4109 ± 156,70	3598 ± 20,35	4281 ± 9,03 #
	<b>Cœur</b>	3293 ± 55,04	3335 ± 17,71	3181 ± 32,45	3234 ± 17,38	3293 ± 91,39	3051 ± 9,48
	<b>Estomac</b>	6783 ± 211,20	8521 ± 96,02 ***	7453 ± 38,77 **	7663 ± 81,10 ***	6983 ± 230,80	6534 ± 90
	<b>Glandes surrénales</b>	256 ± 26,20	237 ± 25,80	220 ± 24,50	169 ± 8,57 *	216 ± 16,30	224 ± 19,40
	<b>Cerveau</b>	7910 ± 182,40	7460 ± 137,50	8071 ± 101,40	7818 ± 102,30	7029 ± 119,50	7746 ± 29,57
	<b>Fémur</b>	3261 ± 81,84	2998 ± 47,80	2476 ± 144 ***	2366 ± 89,37 ***	3486 ± 49,30	3698 ± 80,07
	<b>Testicules</b>	11549 ± 430,80	11723 ± 547	11584 ± 543,600	11458 ± 415,30	11371 ± 533,20	12516 ± 296,70
	<b>Épididyme</b>	3776 ± 90	3526 ± 65,40	3826 ± 119,30	3608 ± 80	3687 ± 106	4186 ± 57,10 ##
	<b>Vésicules séminales</b>	2906 ± 130,60	2870 ± 672,80	3662 ± 262,60	3379 ± 233	3967 ± 79,70	4160 ± 195,40

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . **T Nor sat** : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; **Ten 600 sat** : animaux satellites traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à T neg. (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à T Nor sat.

**c. Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur la numération formule sanguine (NFS)**

Après 28 jours d'administration de la boisson « tenghõ » chez des rats mâles, la numération formule sanguine (NFS) (Tableau XLIX) a montré comparé au lot témoin normal recevant de l'eau distillée que le « tenghõ » a augmenté de façon significative le taux de globules blancs à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux de lymphocytes à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,05$ ) et à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux de monocytes à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,01$ ) et à la dose de 400 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; la concentration d'hémoglobine à la dose de 400 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux de MCV aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p<0,01$ ) et à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux de MCH à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,01$ ) ; réduit de façon significative le taux de neutrophiles à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux d'hématocrite aux doses de 200 et 600 mg/kg ( $p<0,01$ ) et à la dose de 400 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; pas de variation significative concernant la concentration de globules rouge et de plaquettes.

De même, chez les animaux satellites mâles (Tableau XLIX) 14 jours après l'arrêt des traitements, la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé au lot témoin normal satellite (Ten 600 sat) a présenté des concentrations significativement élevées en globules blanc ( $p<0,05$ ) ; en MCV ( $p<0,05$ ) ; en MCHC ( $p<0,05$ ) ; en plaquettes ( $p<0,01$ ) ; en hématocrite ( $p<0,01$ ) ; des taux significativement faible en monocytes ( $p<0,01$ ) et pas de variation significative concernant le taux de lymphocytes, de neutrophiles et la concentration de globules rouges et de MCH.

Cependant, l'administration de la boisson « tenghõ » chez des rats femelles pendant 28 jours a montré d'après l'analyse du (Tableau XLVIII) concernant la numération formule sanguine (NFS) que, comparé au lot témoin normal recevant de l'eau distillée (T Nor), La boisson « tenghõ » a augmenté de façon significative le taux de globules blancs à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,05$ ) ; le taux de lymphocytes à la dose de 400 mg/kg ( $p<0,01$ ) ; le taux de neutrophiles à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; le taux d'hématocrite à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,05$ ) ; la concentration de MCHC à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,05$ ) et réduit de façon significative le taux de MCV à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,05$ ) et la concentration des plaquettes aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg ( $p<0,001$ ). Cependant, aucune variation significative concernant le taux de monocytes, de globules rouges, d'hémoglobine et de MCH n'a été observée.

L'analyse des résultats concernant la numération formule sanguine (NFS) des animaux satellites femelles (Tableau XLVIII) a montré que 14 jours après l'arrêt des traitements, les rats femelles ayant reçu la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé

au lot témoin normal satellite (T nor sat) présentait une concentration significativement élevée en globules blancs ( $p < 0,05$ ); en globules rouges ( $p < 0,05$ ); en hémoglobine ( $p < 0,01$ ) et un taux significativement élevé de monocytes ( $p < 0,05$ ); de neutrophiles ( $p < 0,01$ ) et d'hématocrite ( $p < 0,01$ ). Cependant, pas de variation significative concernant le taux de lymphocytes, de MCV, de MCH, la concentration de MCHC et plaquettes n'a été observé.

**Tableau XLVIII :** Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur la numération formule sanguine (NFS) chez les rats femelles.

Numération formule sanguine	Intervalle	Groupes de rats femelles					
		T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
Globules blancs (10 <sup>3</sup> /µL)	5 - 16	4,92 ± 0,34	3,92 ± 0,24	4,95 ± 0,54	6,27 ± 0,28 *	2,92 ± 0,12	5,4 ± 0,31 #
Lymphocytes (%)	65 - 85	74,95 ± 0,69	77,72 ± 1,48	81,06 ± 1,31 **	74,36 ± 1,20	73,9 ± 1,69	72,33 ± 0,30
Monocytes (%)	0 - 20	4,7 ± 0,12	4,88 ± 0,32	5,04 ± 0,28	5,02 ± 0,17	4,52 ± 0,18	6,87 ± 0,04 #
Neutrophiles (%)	0 - 27	18,07 ± 0,66	18,57 ± 0,48	15,6 ± 1,06	28,65 ± 0,90 ***	19,26 ± 2,46	21,3 ± 0,27 ##
Globules rouges (10 <sup>3</sup> /µL)	5 - 10	7,16 ± 0,08	7,17 ± 0,19	7,21 ± 0,14	7,45 ± 0,09	6,88 ± 0,3	7,7 ± 0,20 #
Hémoglobine (g/dL)	12 - 18	13,8 ± 0,25	13,88 ± 0,23	13,9 ± 0,19	14,06 ± 0,37	13,11 ± 0,12	14,47 ± 0,35 ##
Hématocrite (%)	32 - 53	44,15 ± 0,88	44,92 ± 0,52	44,2 ± 0,42	46,31 ± 0,29 *	41,85 ± 0,38	45,26 ± 0,67 ##
MCV (fL)	52 - 60	62,2 ± 0,75	60,12 ± 0,53 *	60,85 ± 0,17	61,65 ± 0,65	59,26 ± 0,44	59,32 ± 0,23
MCH (pg)	17 - 29	18,82 ± 0,48	18,16 ± 0,19	18,65 ± 0,15	19,55 ± 0,22	18,46 ± 0,14	18,88 ± 0,17
MCHC (g/dL)	32 - 45	30,72 ± 0,40	30,75 ± 0,37	30,84 ± 0,21	31,72 ± 0,18 *	31,26 ± 0,04	31,46 ± 0,13
Plaquettes (10 <sup>3</sup> /µL)	200 - 1100	401,5 ± 2,04	384,2 ± 7,94***	347,25 ± 6,87 ***	344,2 ± 12,66 ***	336,25 ± 13,23	321 ± 3,7

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . **T Nor sat** : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; **Ten 600 sat** : animaux satellites traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *T neg.* (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *T Nor sat*.



**Tableau XLIX :** Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur la numération formule sanguine (NFS) chez les rats mâles.

Numération formule sanguine	Intervalle	Groupes de rats mâles					
		T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
<b>Globules blancs (10<sup>3</sup>/µL)</b>	5 - 16	4,17 ± 0,17	4,42 ± 0,39	5,44 ± 0,46	8,14 ± 0,26 ***	3,86 ± 0,26	6,2 ± 0,37 #
<b>Lymphocytes (%)</b>	65 - 85	64,83 ± 1,38	70,52 ± 1,54 *	66,85 ± 1,16	75,42 ± 1,41 ***	70,13 ± 0,77	70,78 ± 1,93
<b>Monocytes (%)</b>	0 - 20	4,6 ± 0,12	5,85 ± 0,09 **	5,99 ± 0,23 ***	5,18 ± 0,37	8 ± 0,19	6,28 ± 0,14 ##
<b>Neutrophiles (%)</b>	0 - 27	31,74 ± 1,52	31,22 ± 0,81	27,65 ± 1,71	18,3 ± 1,47 ***	22,37 ± 0,53	23,45 ± 0,58
<b>Globules rouges (10<sup>3</sup>/µL)</b>	5 - 10	7,53 ± 0,12	7,66 ± 0,04	7,66 ± 0,03	7,2 ± 0,13	7,58 ± 0,06	7,6 ± 0,1
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	12 - 18	14,3 ± 0,12	14,2 ± 0,06	14,68 ± 0,17 ***	13,25 ± 0,16	14,95 ± 0,14	14,72 ± 0,31
<b>Hématocrite (%)</b>	32 - 53	48,72 ± 0,61	46,42 ± 0,16 **	43,1 ± 0,43 ***	46,63 ± 0,3 **	45,92 ± 0,12	48,08 ± 0,51 ##
<b>MCV (fL)</b>	52 - 60	63,1 ± 0,54	60,52 ± 0,12 ***	61,2 ± 0,3 **	61,4 ± 0,16 **	59,86 ± 0,46	63,57 ± 0,05 #
<b>MCH (pg)</b>	17 - 29	18,75 ± 0,18	18,92 ± 0,06	18,45 ± 0,16	19,56 ± 0,05 **	18,5 ± 0,15	19,37 ± 0,25
<b>MCHC (g/dL)</b>	32 - 45	30,16 ± 0,6	31,38 ± 0,1 *	30,15 ± 0,15	31,84 ± 0,12 ***	30,86 ± 0,05	31,84 ± 0,14 #
<b>Plaquettes (10<sup>3</sup>/µL)</b>	200 - 1100	327,6 ± 3,75	338 ± 10,06	344,4 ± 14,44	342,5 ± 7,77	248,6 ± 7,42	337,6 ± 3,04 ##

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; **Ten 600 sat** : animaux satellites traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *T neg.* (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *T Nor sat.*

**d. Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur quelques paramètres biochimiques**

Après 28 jours d'administration de la boisson « tenghõ » chez des rats mâles, les dosages sériques (Tableau L) ont montré comparés au lot témoin normal recevant de l'eau distillée que le « tenghõ » a augmenté de façon significative la concentration de créatinine à la dose de 200 ( $p<0,001$ ) et à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de bilirubine directe aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de bilirubine totale aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; d'ASAT à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,01$ ) et à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; réduit de façon significative le taux d'ALAT à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,05$ ) et aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de cholestérol totale à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de HDL-Cholestérol aux doses de 400 et 600 mg/kg ; de triglycérides aux doses de 400 et 600 mg/kg ( $p<0,05$ ) ; de protéines totales de façon significative à la dose de 400 mg/kg ( $p<0,001$ ) et à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,05$ ).

L'analyse des résultats des dosages sériques des animaux satellites mâles (Tableau L) a montré que 14 jours après l'arrêt des traitements, les animaux ayant reçu la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé au lot témoin normal satellite (Ten 600 sat) présentaient un taux significativement faible de créatinine ( $p<0,05$ ) ; de bilirubine directe ( $p<0,05$ ) ; de bilirubine totale ( $p<0,05$ ) ; d'ALAT ( $p<0,01$ ) ; d'ASAT ( $p<0,05$ ) ; un taux significativement élevé de cholestérol totale ( $p<0,05$ ) ; de triglycérides ( $p<0,01$ ) ; de LDL-Cholestérol ( $p<0,01$ ) ; pas de variation significative concernant le taux protéines totales et le taux de HDL-Cholestérol.

Cependant, l'administration de la boisson « tenghõ » chez des rats femelles pendant 28 jours a montré d'après l'analyse du Tableau LI concernant les dosages sériques que, comparé au lot témoin normal recevant de l'eau distillée, la boisson « tenghõ » a significativement augmenté le taux de bilirubine directe à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,01$ ) et à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de bilirubine totale à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; d'ALAT à la dose de 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; d'ASAT aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de triglycérides à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,001$ ). La boisson « tenghõ » a significativement réduit le taux d'ALAT aux doses de 200, 400 mg/kg ( $p<0,001$ ) ; de triglycérides aux doses de 400 et 600 mg/kg ; de cholestérol total à la dose de 200 mg/kg ( $p<0,01$ ) ; de HDL-Cholestérol à la dose de 600 mg/kg ; pas de variation significative concernant le taux de protéines totales, de LDL-Cholestérol et de créatinine.

L'analyse des résultats des dosages sériques des animaux satellites femelles (Tableau LI) a montré que 14 jours après l'arrêt des traitements, les rats femelles ayant reçu la

boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg (Ten 600 sat) comparé au lot témoin normal satellite (T nor sat) présentaient un taux de créatinine significativement élevé ( $p < 0,05$ ) ; un taux de bilirubine directe significativement élevé ( $p < 0,05$ ) ; un taux de bilirubine totale significativement faible ( $p < 0,05$ ) ; un taux d'ALAT significativement faible ( $p < 0,05$ ) ; un taux d'ASAT significativement faible ( $p < 0,05$ ) ; Pas de variation significative du taux de cholestérol totale du taux de HDL-Cholestérol ; du taux de triglycérides ; un taux de LDL-Cholestérol significativement élevé ( $p < 0,05$ ) ; du taux protéines totales.

**e. Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur l'histologie de quelques organes**

L'analyse des microphotographies du foie, des poumons, des reins et du cœur, n'a montré aucune différence significative de la microarchitecture de ces organes comparé au témoin normal (Figure 45 et 46).

**Tableau L :** Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les quelques paramètres biochimiques chez les rats mâles.

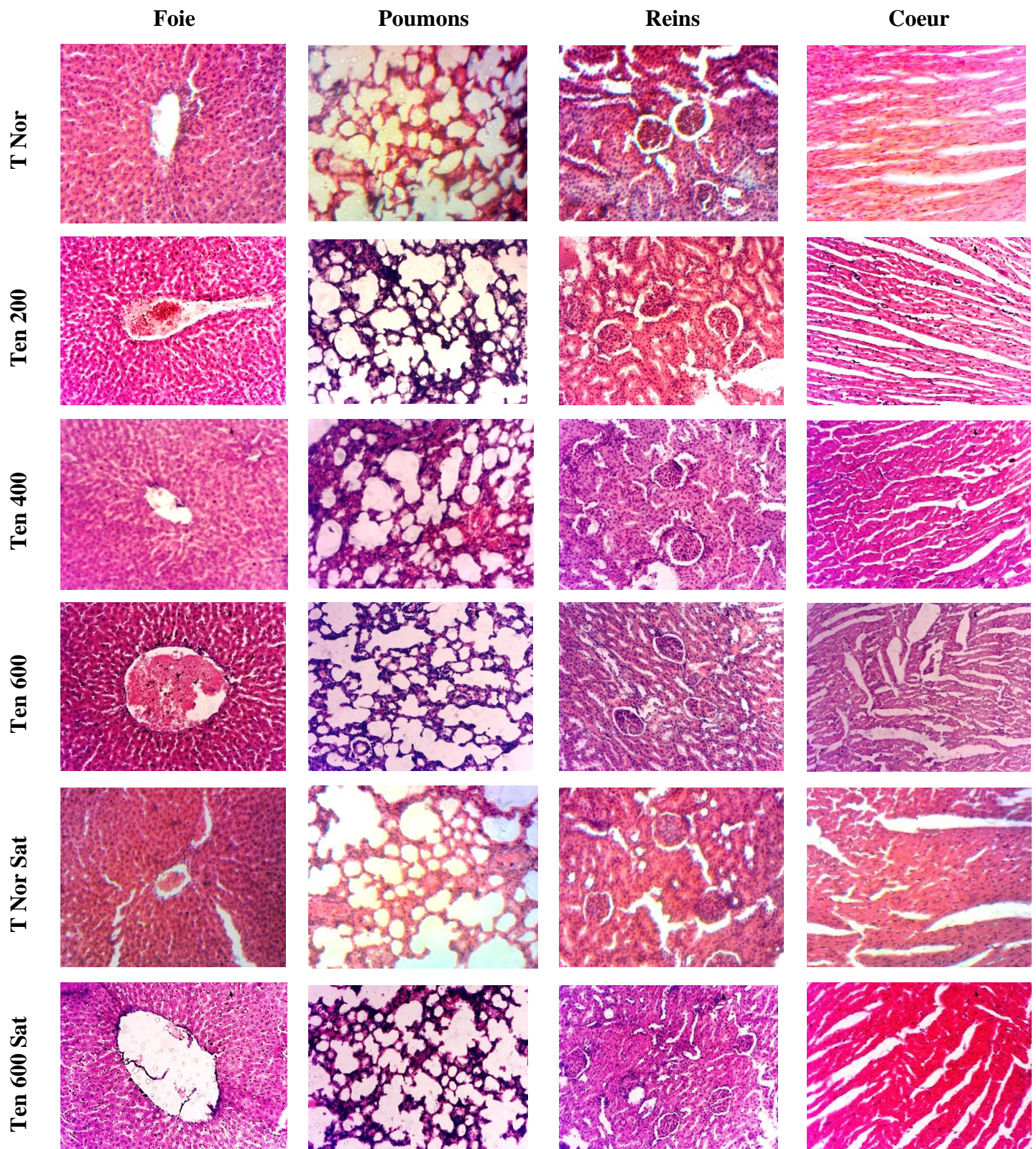
Paramètres biochimiques	Groupes de rats mâles					
	T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
Créatinine (mg/dL)	2,04 ± 0,11	3,6 ± 0,32 **	2,54 ± 0,26	6,18 ± 0,28 ***	5,76 ± 0,17	2,09 ± 0,05 #
Bilirubine totale (mg/dL)	6,03 ± 0,43	7,45 ± 0,43	11,16 ± 0,43 ***	3,06 ± 0,38 ***	2,39 ± 0,13	1,47 ± 0,18 #
Bilirubine directe (mg/dL)	6,7 ± 0,13	11,6 ± 0,12 ***	12,11 ± 0,95 ***	2,86 ± 0,1 ***	29,8 ± 0,58	1,69 ± 0,07 #
ALAT (U/L)	137,5 ± 3,82	116 ± 5,87 *	101,1 ± 3,24 ***	91 ± 6,08 ***	114,48 ± 1,55	167,38 ± 1,39 ##
ASAT (U/L)	72,61 ± 5,81	101,5 ± 1,66 **	69,1 ± 7,47	169,8 ± 4,42 ***	96,4 ± 4,55	77,8 ± 1,94 #
Cholestérol total (mg/dL)	73,51 ± 0,767	74,11 ± 1,105	73,16 ± 1,53	64,72 ± 0,75 ***	73,92 ± 0,74	92,39 ± 0,63 #
Triglycérides (mg/dL)	61,86 ± 5,86	61,21 ± 3,13	47,12 ± 2,96 *	43,99 ± 2,60 *	78,21 ± 1,03	92,16 ± 1,49 ##
HDL-Cholestérol (mg/dL)	54,36 ± 1,34	54,52 ± 1,05	49,31 ± 1,33 *	49,62 ± 1,33 *	51,1 ± 0,62	53,06 ± 0,6
LDL-Cholestérol (mg/dL)	6,78 ± 0,68	7,34 ± 0,88	14,42 ± 0,812 ***	6,34 ± 0,63	7,16 ± 1,02	20,9 ± 1,04 ##
Protéines totales (g/dL)	4,26 ± 0,08	4,09 ± 0,09	3,6 ± 0,08 ***	3,94 ± 0,03 *	4,34 ± 0,07	4,3 ± 0,02

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg . *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; *Ten 600 sat* : animaux satellites traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à *T neg.* (#) :  $p < 0,05$ , (##) :  $p < 0,01$  par rapport à *T Nor sat.*

**Tableau LI :** Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghõ » sur les quelques paramètres biochimiques chez les rats femelles.

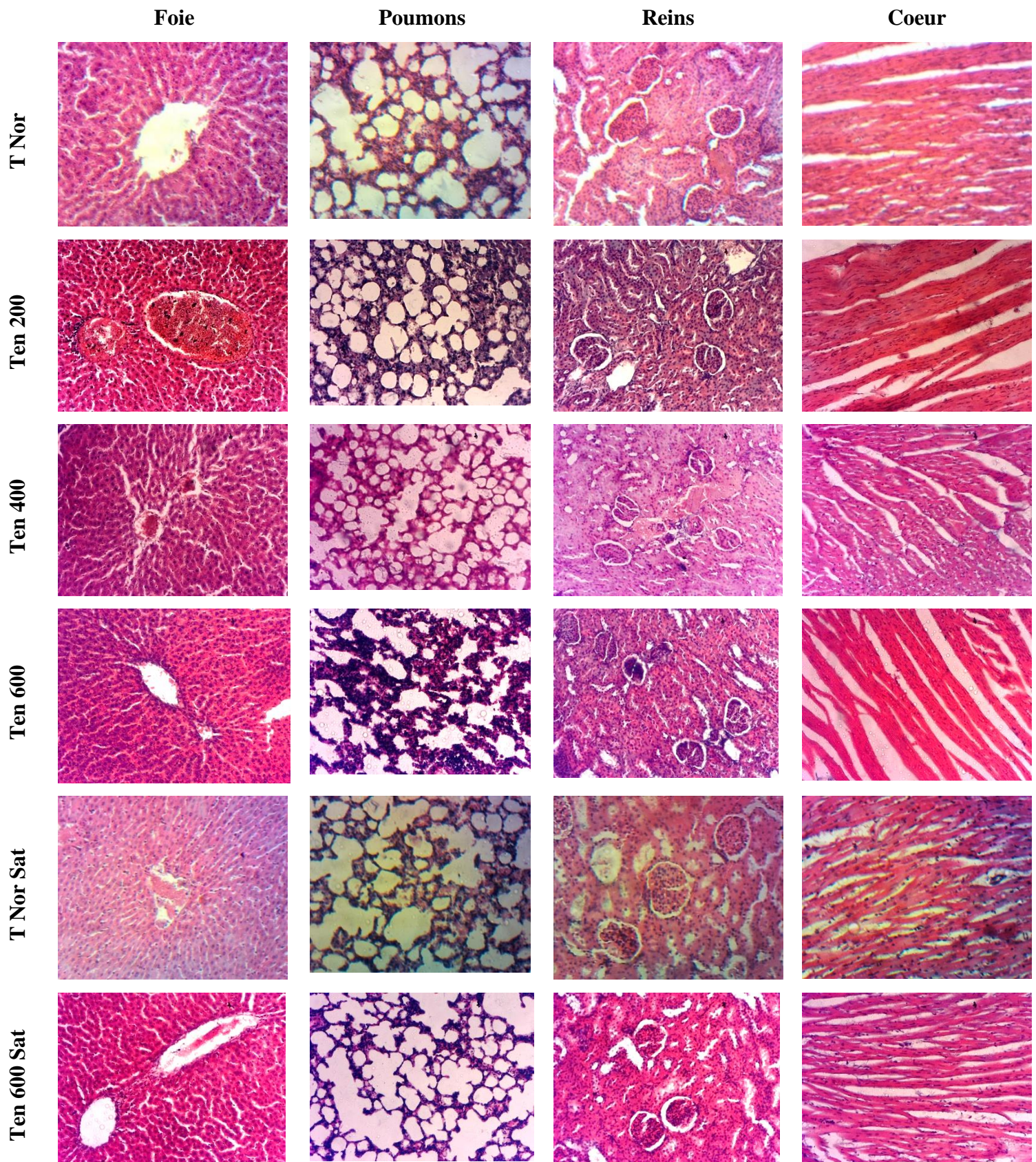
Paramètres biochimiques	Groupes de rats femelles					
	T Nor	Ten 200	Ten 400	Ten 600	T Nor Sat	Ten 600 Sat
<b>Créatinine (mg/dL)</b>	1,65 ± 0,07	1,66 ± 0,04	1,54 ± 0,1	1,64 ± 0,07	1,40 ± 0,09	2,42 ± 0,07 #
<b>Bilirubine totale (mg/dL)</b>	7,81 ± 0,32	15,13 ± 0,61 ***	15,62 ± 0,33	7,18 ± 0,10	5,63 ± 0,39	3,07 ± 0,22 #
<b>Bilirubine directe (mg/dL)</b>	5,14 ± 0,13	8,53 ± 1,33 **	4,60 ± 0,03	11,67 ± 0,38 ***	2,73 ± 0,08	7,42 ± 0,68 #
<b>ALAT (U/L)</b>	98,86 ± 5,11	57,2 ± 4,61 ***	61,82 ± 4,23 ***	145,67 ± 5,99 ***	251,45 ± 8,70	171,5 ± 7,23 #
<b>ASAT (U/L)</b>	40,75 ± 0,34	131 ± 1,98 ***	73,5 ± 1,11***	68,25 ± 1,56 ***	70,85 ± 0,27	42 ± 0,32 #
<b>Cholestérol total (mg/dL)</b>	71,03 ± 0,42	71,32 ± 2,69	66,45 ± 1,19	63,37 ± 0,63 **	69,78 ± 1,35	72,02 ± 0,69
<b>Triglycérides (mg/dL)</b>	47,85 ± 2,66	61,51 ± 1,62 ***	36,17 ± 1,82 **	39,4 ± 1,38 *	60,13 ± 2,77	55,86 ± 2,44
<b>HDL-Cholestérol (mg/dL)</b>	52,62 ± 0,51	51,42 ± 2,32	48,84 ± 0,29	46,72 ± 0,98 *	51,63 ± 1,11	49,57 ± 0,83
<b>LDL-Cholestérol (mg/dL)</b>	8,84 ± 0,68	7,6 ± 0,75	10,38 ± 1,30	8,77 ± 0,91	6,12 ± 0,90	11,28 ± 1,18 #
<b>Protéines totales (g/dL)</b>	3,89 ± 0,04	4,13 ± 0,11	3,66 ± 0,05	4,1 ± 0,09	4,22 ± 0,04	4,32 ± 0,10

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, **Ten 200** ; **Ten 400** ; **Ten 600** : animaux traités à la boisson « tenghõ » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; **Ten 600 sat** : animaux satellites traités à la boisson « tenghõ » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires. (\*) :  $p < 0,05$ , (\*\*) :  $p < 0,01$ , (\*\*\*) :  $p < 0,001$  par rapport à T neg. (#) :  $p < 0,05$  par rapport à T Nor sat.



**Figure 45** : Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghō » sur les coupes histologiques du foie, des poumons, des reins et du cœur chez les rats femelles

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; *Ten 600 sat* : animaux satellites traités à la boisson « tenghō » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires.



**Figure 46** : Effets de l'administration subchronique de la boisson « tenghō » sur les coupes histologiques du foie, des poumons, des reins et du cœur chez les rats males

*T Nor* : animaux ayant reçu de l'eau distillée, *Ten 200* ; *Ten 400* ; *Ten 600* : animaux traités à la boisson « tenghō » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg. *T Nor sat* : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires ; *Ten 600 sat* : animaux satellites traités à la boisson « tenghō » à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours et observés pendant 14 jours supplémentaires.

### III.2-Discussion

La présente étude visait à évaluer les activités anti-inflammatoires, analgésiques et neuroprotectrices de la boisson « tenghõ », une boisson traditionnelle camerounaise faite d'un mélange de quelques ingrédients. Les ingrédients de la boisson « tenghõ » pris séparément ont scientifiquement prouvés des effets contre l'inflammation, la douleur et les troubles anxieux. A cet effet, des modèles standard d'inflammation, de douleur et de troubles neurologiques induit chez les animaux ont été utilisés.

L'œdème de la patte induit par la carragénine est un modèle d'inflammation aiguë largement utilisé pour évaluer les substances anti-inflammatoires. Dans cette étude, l'injection de la carragénine 1% au niveau de la patte postérieure gauche du rat a provoqué une augmentation progressive du volume de l'œdème avec une intensité maximale au bout de quatre heures. Le modèle d'inflammation aiguë à la carragénine est connu pour être un processus biphasique (Karim *et al.*, 2019). Selon Posadas et collaborateurs en 2004, l'injection de la carragénine induit une augmentation de synthèse de l'ARNm de la cyclooxygénase 2 (cox-2) d'où une élévation de la concentration de cet enzyme avec un pic à 1h. Dans le processus de l'inflammation aigue provoqué par l'injection de la carragénine, il est connu que l'histamine, la sérotonine, la 5-hydroxytryptamine et les bradykinines sont libérées au cours de la première phase (0-2 h après injection de carragénine). La phase ultérieure (3-6 h) est attribuée à l'infiltration des leucocytes neutrophiles, à la libération de prostaglandines (Essentiellement la prostaglandine G2 et à diverses cytokines inflammatoires telles que les interleukines IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 et le TNF- $\alpha$  (Karim *et al.*, 2019 ; Adedapo *et al.*, 2009). L'infiltration de neutrophiles locaux dans la zone enflammée développe l'inflammation en produisant des espèces réactives de l'oxygène et surtout les radicaux superoxydes et hydroxyle (Karim *et al.*, 2019). Parmi ces radicaux, l'oxyde nitrique (NO) produit par l'iNOS (l'isoforme inductible par les cytokines) augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin vers le site enflammé (Karim *et al.*, 2019). La survenue simultanée des voies NOS et COX va exagérer la réponse inflammatoire d'où l'augmentation du volume de l'œdème. Le traitement par la boisson « tenghõ » à toutes les doses testées, tout comme le diclofénac à la dose de 5 mg/kg, a significativement inhibé l'œdème de la patte induit par la carragénine tout au long des deux phases, suggérant une action inhibitrice sur la libération d'histamine, de la sérotonine et des prostaglandines. L'activité du « tenghõ » à toutes les doses était plus prononcée (43,3-52,3% d'inhibition) au cours de la deuxième phase. La faible activité de la boisson « tenghõ » observée au cours de la première phase a été confirmée dans les tests d'œdème de la patte induite par l'histamine et par la sérotonine. Les résultats dans ces deux tests



ont montré que le « *tenghõ* » était plus actif sur l'œdème de la patte induit à l'histamine. En effet, l'histamine et la sérotonine induisent une inflammation en initiant la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'attraction des neutrophiles sur le site cible (Singh *et al.*, 2003). Dans l'ensemble, les résultats de cette partie de l'étude ont indiqué que la boisson « *tenghõ* » exercerait son activité anti-inflammatoire en inhibant l'action ou la libération de médiateurs inflammatoires, notamment l'histamine, la sérotonine et les prostaglandines par blocages des enzymes spécifiques des cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2) impliqués dans la réaction inflammatoire et probablement dans la genèse de la nociception. Étant donné que le modèle d'inflammation induit par la carragénine est un test prédictif important pour les agents anti-inflammatoires agissant par les médiateurs de l'inflammation aiguë (Sawadogo *et al.*, 2006), les résultats de cette étude indiquent que la boisson de « *tenghõ* » peut être efficace dans les troubles inflammatoires aigus.

Outre l'œdème, la douleur est une caractéristique cardinale de l'inflammation. Qu'elle soit aiguë ou chronique, la modulation de la douleur implique à la fois des mécanismes du système nerveux périphérique et central. En conséquence, une nouvelle stratégie de soulagement de la douleur impliquant de multiples combinaisons d'analgésiques qui pointent à la fois les voies nociceptives centrales et périphériques offrent une meilleure opportunité pour une analgésie efficace à des doses réduites des agents individuels (Varrassi *et al.*, 2017). Dans le but d'induire des effets plus importants à des doses réduites et plus tolérables que les plantes individuelles, les effets de la boisson « *tenghõ* » ont été évalués sur la douleur périphérique (test à l'acide acétique) et la douleur centrale (test d'immersion de la queue) chez les souris et les rats respectivement.

Le test de contorsion induite par l'acide acétique est un modèle sensible, fiable et simple, d'induction de douleur périphérique. Il est particulièrement adapté pour évaluer des substances à très faibles activités analgésiques (Le Bars *et al.*, 2001 ; Koster, 1959). Dans la présente étude, l'injection d'acide acétique 1% *i.p* chez la souris a provoqué une douleur caractérisée par des torsions de la musculature abdominale. En effet, l'acide acétique active directement les nocicepteurs viscéraux et somatiques qui innervent le péritoine et favorise la libération locale de substances endogènes productrices de nociception (douleur inflammatoire) tel que les prostaglandines, les prostacyclines, les thromboxanes, la bradykinine, le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  et l'IL-8 (Cook *et al.*, 2018 ; Leelaprakash et Dass, 2011 ; Delgado *et al.*, 2003 ; Ribeiro *et al.*, 2000). Le traitement par la boisson « *tenghõ* » à toutes les doses testées a significativement réduit et de manière dose-dépendante le nombre de contorsions abdominales induites par l'acide acétique (pourcentage d'inhibition de 33,8 % ; 57,94 % et 63,55 % respectivement pour les doses de 200,

400 et 600 mg/kg). Ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » possède des propriétés analgésiques périphérique. Cette boisson agirait par blocage au moins partiellement des nocicepteurs et/ou la stimulation de la production et de la libération des cytokines pro-inflammatoires. De même, l'aspirine à la dose de 200 mg/kg a inhibé les crampes abdominales avec un pourcentage d'inhibition de 48,41%. En effet, l'aspirine est un inhibiteur de la COX (COX-1 et COX-2) et est utilisé pour soulager la douleur avec une composante inflammatoire (Seifert, 2019). Le « *tenghõ* » aux doses de 400 et 600 mg/kg étaient plus actifs que l'aspirine à la dose de 200 mg/kg.

Les voies nociceptives centrales et périphériques étant connues pour être impliquées dans la douleur inflammatoire, les effets anti-nociceptif de la boisson « *tenghõ* » ont été évalué sur un modèle de douleur centrale induite par l'eau chaude chez les rats (test d'immersion de la queue).

Les résultats obtenus dans cette étude, ont montré que l'immersion de la queue du rat dans l'eau chaude a entraîné un retrait rapide de ladite queue. En effet, l'immersion de la queue dans l'eau chaude (stimuli thermique) provoque une douleur centrale à la fois au niveau rachidien et supra-rachidien (Vogel, 2002). L'analgésie centrale est principalement médiée par les opioïdes, en particulier les agonistes des récepteurs Mu-opioïde (Le bars et *et al.*, 2001). L'administration orale de « *tenghõ* » à toutes les doses testées a augmenté de manière significative le temps de latence de retrait de la queue suggérant une analgésie centrale. Aux doses de 400 et 600 mg/kg, les pourcentages d'inhibition étaient supérieurs à celui du Tramadol 20 mg/kg (Substance de référence) qui est un agoniste faible des récepteurs Mu-opioïde. Entre l'activation des récepteurs opioïdes et les différents mécanismes de co-analgésie, les sous-mécanismes de la boisson « *tenghõ* » dans l'analgésie centrale doivent encore être élucidée.

L'inflammation est de plus en plus reconnue comme un facteur causal dans la pathologie et la nature chronique des maladies du système nerveux central (SNC) (Block *et al.*, 2007). De nombreuses preuves suggèrent un lien entre l'inflammation des neurones (neuroinflammation) et la dysfonction neuronale dans la maladie d'Alzheimer (MA), faisant de cette dernière un trouble inflammatoire chronique du système nerveux central (SNC) (Tuppo et Arias., 2005). Plusieurs facteurs de risque peuvent également accentuer la survenue des maladies neurodégénératives notamment la ménopause. La privation en œstrogènes résultant de la ménopause, en association avec des facteurs liés à l'âge augmente ainsi de manière disproportionnée le risque de nombreuses maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer (Yaffe *et al.*, 1998).

Les atteintes du système nerveux dues au manque d'œstrogènes évoluent avec le temps. Elles commencent par l'anxiété, la dépression et les pertes de mémoire et conduisent enfin à la

maladie d'Alzheimer (Genazzani *et al.*, 1999). Dans cette étude, deux modèles d'induction des troubles cognitifs et des altérations de l'humeur ont été utilisés. Un modèle standard utilisant des rats uniquement ovariectomisés (sans autres substances d'induction) et testés après 14 jours post ovariectomie et un modèle utilisant des rats ovariectomisés ayant reçu une injection de scopolamine 0,6 et 1 mg/kg *i.p.* pendant 14 et 17 jours respectivement. Le comportement anxieux des animaux a été évalué grâce aux tests de l'Elevated Plus Maze (EPM), de l'« Elevated Zero Maze » (EZM) et de l' « Open field » (OF). Les résultats obtenus dans le test de l'EPM ont montré que l'ovariectomie a entraîné une réduction du temps passé dans les bras ouverts, du nombre de « rearing », du nombre d'entrée dans les bras fermés, une réduction significative ( $p < 0,01$ ) du nombre de « head dipping » ainsi qu'une augmentation du temps passé dans les bras fermés comparé au témoin normal suggérant une réponse anxiogénique. Ces effets étaient également observables dans le dispositif de l'EZM (réduction du temps passé dans les bras ouverts et du nombre de « head dipping » comparé au témoin normal).

Le système nerveux central est une cible importante des hormones stéroïdes sexuelles. Les effets positifs des œstrogènes sur l'humeur sont probablement liés à leur action stimulante sur le tonus adrénergique et sérotoninergique (Genazzani *et al.*, 1999). Tout comme le Diazépam (DZP), l'administration de la boisson « tenghõ » aux doses de 200 et 600 mg/kg a entraîné une augmentation du temps passé dans les bras ouverts dans le dispositif de l'EPM ainsi qu'une augmentation du temps passé dans les bras ouverts, augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du nombre de « head dipping » dans le dispositif de l'EZM, suggérant un effet anxiolytique de cette boisson. La boisson « tenghõ » contiendrait des composés actifs capables d'agir sur la neurotransmission monoaminergique affectant la production et la libération de l'adrénaline (norépinephrine), de la dopamine et de la sérotonine (antagonisme de la 5HT sur les récepteurs 5-HT de type 2 et 5-HT de type 3) dans le cerveau (Pandaranandaka *et al.*, 2009). Elle agirait également par activation des récepteurs du glutamate (Jin *et al.*, 2005). Les effets de la boisson « tenghõ » étaient similaires à ceux du Diazépam (DZP), ceci suggère que les composés présents dans cette boisson agiraient comme le DZP en se fixant sur les sites des benzodiazépines du complexe récepteur GABA et/ou par l'antagonisme de la 5HT sur les récepteurs 5-HT de type 2 et 5-HT de type 3 (Olivier *et al.*, 2003).

Outre le modèle d'induction des troubles anxieux par ovariectomie, les effets anxiolytiques de la boisson « tenghõ » ont été évalués dans un modèle d'ovariectomie combiné à une injection de scopolamine. Les résultats obtenus ont révélé que l'injection de Scopolamine *i.p.* 0,6 mg/kg pendant 14 jours à partir du 28<sup>ème</sup> jour post-ovariectomie a entraîné une augmentation

non significative du nombre d'entrée dans les bras ouverts, la réduction significative ( $p < 0,01$ ) du temps passé dans les bras fermés, l'augmentation non significative du nombre de « rearing » et du nombre de « head dipping » dans le dispositif de l'EPM (49<sup>ème</sup> jours post-ovariectomie). Dans le dispositif de l'OF l'injection de scopolamine 0,6 mg/kg *i.p* chez des rates ovariectomisées (35<sup>ème</sup> jours post-ovariectomie) a entraîné une réduction du nombre de « crossing », du nombre de « rearing » et une augmentation du nombre de « grooming » comparé au témoin normal. Contrairement aux résultats attendus, ces résultats suggèrent des effets anxiolytiques et non anxiogéniques de la combinaison ovariectomie et scopolamine. Au niveau central, la scopolamine provoque principalement la sédation, mais une surexcitation et une agitation peuvent survenir à des doses plus élevées (Pergolizzi *et al.*, 2012). Les résultats similaires ont été obtenus dans les études antérieures où la scopolamine a entraîné une augmentation de l'activité locomotrice et cette activité a été considéré comme un effet non spécifique de la scopolamine (Chintoh *et al.*, 2003 ; Poorheidari *et al.*, 2002). Le traitement avec la boisson « tenghõ » a entraîné une augmentation non significative du temps passé dans les bras ouverts de l'EPM à la dose de 200 mg/kg et l'augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du temps passé dans les bras fermés à la dose de 600 mg/kg dans le test de l'EPM. Le Diazépam (molécule de référence) et le « tenghõ » ont induit une augmentation du nombre de « crossing », du temps passé au centre du dispositif de l'OF comparé au témoin ovariectomisé (OVX), suggérant des effets anxiolytiques de cette boisson et confirmant ainsi les effets anxiolytiques obtenus dans le modèle utilisant uniquement les rates ovariectomisées. Ces résultats suggèrent également que le modèle d'induction des troubles mnésiques à la scopolamine 0,6 mg/kg chez des rates ovariectomisés n'est pas un bon modèle d'induction et d'évaluation des troubles anxieux chez les rats.

Dans le but d'induire des troubles neurologiques plus prononcés, une étude a été réalisée avec la scopolamine à la dose de 1 mg/kg. Les résultats obtenus après injection de scopolamine 1mg/kg *i.p* pendant 17 jours à partir du 28<sup>ème</sup> jour post-ovariectomie ont montré des effets similaires au test précédent (test à scopolamine 0,6 mg/kg). Ceci confirme que l'injection de la scopolamine chez les rates ovariectomisées induit des effets anxiolytiques.

Les troubles de la mémoire spatiale à court et à long terme sont les symptômes majeurs de la maladie d'Alzheimer. Dans cette étude, les effets neuroprotecteurs de la boisson « tenghõ » (sur la mémoire spatiale, à court et à long terme) ont été évalué sur des modèles de trouble mnésique induis à la scopolamine (0,6 et 1mg/kg) chez des rates ovariectomisées.

Les résultats obtenus ont montré que l'injection de la Scopolamine (0,6 mg/kg) *i.p.* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées a induit un léger trouble de la mémoire spatiale à

court terme comparé au témoin normal (révélée par une réduction non significative du temps passé dans le nouveau bras, l'augmentation bien que non significative du temps passé dans l'ancien bras et la réduction non significative du pourcentage de visite du nouveau bras en premier comparé au témoin normal dans le test du Y maze). Les rongeurs sont naturellement curieux et en présence d'un nouveau et d'un ancien environnement, ils se rappellent de l'ancien et passent par conséquent plus de temps à explorer l'environnement nouveau (Dellu *et al.*, 1997). Des résultats similaires ont été observés après injection de la scopolamine à la dose de 1mg/kg chez des rates ovariectomisées dans le même test (réduction non significative du nombre de bras visité dans le dispositif). En effet, il a été rapporté d'une part que la privation en œstrogènes résultant d'une ovariectomie est à l'origine des altérations de mémoire spatiale et non spatiale (Djiogue *et al.*, 2018 ; Patki *et al.*, 2013) et d'autre part que la scopolamine en perturbant le système cholinergique altère les processus d'apprentissage et de mémoire (Kim *et al.*, 2015). Il est connu que la scopolamine inhibe de manière compétitive les récepteurs muscariniques post-ganglionnaires de l'acétylcholine couplée à la protéine G et agit comme un antagoniste muscarinique non sélectif, produisant à la fois des propriétés anti-muscariniques périphériques et sédative centrales, antiémétique et amnésiques (Zhang *et al.*, 2017). Tout comme le Piracetam (300 mg/kg) administré de façon concomitante à l'injection de Scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.*, la boisson « tenghõ » aux doses de 200 et 600 mg/kg a amélioré la mémoire spatiale à court terme des animaux dans le dispositif du Y maze [augmentation non significative du temps passé dans le nouveau bras à la dose de 600 mg/kg, augmentation non significative du pourcentage de visite du nouveau bras en premier aux doses de 200 et de 600 mg/kg comparé au témoin ovariectomisé recevant la Scopolamine (OVX SCOPO)]. Ces résultats suggèrent que la boisson « tenghõ » contiendrait des métabolites secondaires capable de se fixer sur les dendrites des neurones et assurer leur protection. La boisson « tenghõ » agirait également comme le piracetam. En raison de sa capacité à moduler la neurotransmission cholinergique, sérotoninergique, noradrénergique et glutamatergique, le piracétam est capable de favoriser la neuroplasticité lorsque des circuits neuronaux récupérables sont présents (Winblad, 2005), d'améliorer l'apprentissage, la mémoire et le métabolisme cérébral (Katarzyna *et al.*, 2005). Il a été révélé que les membranes hippocampiques des patients atteints de la maladie d'Alzheimer présentent une fluidité réduite qui diffère des altérations membranaires spécifiques liés à l'âge (Muller *et al.*, 1999). De ce fait, le mécanisme de restauration de la fluidité des membranes par le piracetam peut expliquer l'amélioration des troubles de mémoire observés (Muller *et al.*, 1999). Bien que ce médicament ne présente pas une affinité élevée avec les récepteurs associés, le piracetam augmente la densité

des récepteurs postsynaptiques et /ou rétablit la fonction de ces récepteurs en stabilisant la fluidité de la membrane (Winblad, 2005).

En outre, les résultats obtenus après injection de Scopolamine à la dose 1 mg/kg *i.p.* chez des rates ovariectomisées ont montré que la boisson « *tenghõ* » (400 mg/kg) tout comme l'Œstradiol valérate (1 mg/kg) a induit des effets neuroprotecteurs révélés par une augmentation non significative du nombre de bras visité et une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du pourcentage d'alternation spontanée. Ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » mimerait les effets de l'E2V en augmentant le flux sanguin cérébral et en améliorant le tonus de l'acétylcholine, un neurotransmetteur clé dans l'apprentissage et la mémoire (Genazzani *et al.*, 1999). En effet, il est connu que les œstrogènes (Œstradiol) favorisent la survie neuronale et exercent un effet neuroprotecteur sur les maladies dégénératives et les lésions cérébrales (Cho *et al.*, 2003).

Sur la mémoire spatiale à long terme évaluée dans le test de labyrinthe aquatique de Morris, les résultats ont montré que l'injection de Scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a entraîné une altération de la mémoire spatiale à long terme. Ceci était observable par la réduction du temps et du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible (jour 5) comparée au témoin normal (SHAM Nor). Ces résultats sont en accord avec des études qui ont montré que l'ovariectomie est associée à une perte de la mémoire spatiale (Ping *et al.*, 2008) et celle selon laquelle l'administration de la Scopolamine à la dose 0,6 mg/kg *i.p.* affecte la cognition en particulier l'apprentissage spatial et l'acquisition en réduisant la signalisation cholinergique cérébrale (Djiogue *et al.*, 2022). Par ailleurs, il a été signalé que la privation en œstrogène est susceptible d'initier ou d'aggraver les changements dégénératifs causés par le stress oxydant et de réduire la capacité du cerveau à maintenir la connectivité synaptique et l'intégrité cholinergique, conduisant à la dégénérescence neuronale (Gandy, 2003). Tout comme le piracetam (300 mg/kg), la boisson « *tenghõ* » a significativement amélioré la mémoire spatiale dans le test de la piscine de Morris (réduction du temps de latence pour retrouver la plateforme et augmentation significative du pourcentage de temps passé dans le quadrant cible ( $p < 0,05$ ), augmentation du nombre d'entrée dans le quadrant cible). Ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » serait doté de propriétés de protection de la mémoire, éventuellement en contrant les effets de la scopolamine sur la neurotransmission cholinergique. Ces effets neuroprotecteurs pourraient être dus aux constituants de la boisson telle que l'ail (*Allium sativum*) qui a été récemment identifié comme ayant des effets bénéfiques sur les cellules endothéliales et présente des propriétés neuromodulatrices en facilitant la potentialisation à long terme dans les cellules

hippocampiques via l'activation de récepteurs de N- méthyl-d-aspartate (Kimura, 2013), du gingembre dont l'activité neuroprotectrice a démontré *in vitro* (Mathew et Subramanian, 2014),

Sur la mémoire non spatiale à court et à long terme évaluée dans le test de reconnaissance du nouvel objet, les résultats ont montré que l'injection de Scopolamine (1 mg/kg *i.p.*) pendant 17 jours chez des rates ovariectomisées a entraîné une diminution non significative de la préférence à la nouveauté et de l'index de discrimination à court terme et aucune différence sur ces paramètres à long terme. Ce résultat est similaire à celui de Djiogue et collaborateurs en 2018 qui ont montré que la réduction de ces paramètres traduit la perte de mémoire non spatiale. Les déficits de mémoire observés dans cette étude étaient associés à une réduction de la densité des épines dendritiques des neurones pyramidaux de la région CA1 de l'hippocampe, suggérant une altération morphologique dans le déficit mnésique observé (Wallace *et al.*, 2006). Les altérations de la mémoire à court terme induites par la scopolamine ont été signalé dans les études antérieures (zingue *et al.*, 2018). Les résultats obtenus suggèrent que la scopolamine et l'ovariectomie agiraient en synergie pour induire les altérations cognitives. Tout comme le piracetam (300 mg/kg), l'administration de la boisson « tenghō » aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg a amélioré la mémoire à court et à long terme des animaux comparé au témoin normal (augmentation de la préférence à la nouveauté, de l'index de discrimination et réduction du score de biais d'objet). Ces effets seraient probablement dus à la présence dans les constituants de la boisson « tenghō » des composés bioactifs tels que les polyphénols et tanins capables de se fixer sur les épines dendritiques et de faciliter la plasticité synaptique (Shmuelof et Krakauer, 2011)

Le cerveau représente 2% du poids corporel de l'organisme et il utilise 20% de l'oxygène (O<sub>2</sub>) de l'organisme. Sa richesse en métaux de transition et en acide gras polyinsaturés potentiellement peroxydables et sa concentration relativement faible en enzymes antioxydantes en comparaison avec d'autres tissus le rend particulièrement exposé au stress oxydant. La production excessive et l'accumulation non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) peuvent entrainer la destruction des composants cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN, et finalement, la mort par apoptose ou nécrose cellulaire (Kannan et Jain, 2000). C'est bien établi que la scopolamine de même que l'ovariectomie induit un stress oxydant marqué dans le cerveau par une augmentation des niveaux cérébraux de peroxydation lipidique et de radicaux libres, agents de production de malondialdéhyde, et une diminution des activités des enzymes antioxydantes comme la SOD et le glutathion (Djiogue *et al.*, 2022, Dzeufiet *et al.*, 2015). Dans la présente étude, l'injection de Scopolamine *i.p.* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a induit une augmentation du stress oxydant

(baisse significative ( $P < 0,05$ ) de l'activité de la SOD, pas de variation significative du taux de MDA, réduction non significative de la concentration de glutathion réduit, réduction significative ( $P < 0,05$ ) de l'activité de la catalase et réduction significative ( $p < 0,01$ ) de la concentration de nitrites comparée au témoin normal (SHAM NOR). Ces résultats concordent avec ceux des études antérieures (Djiogue *et al.*, 2022, Dzeufiet *et al.*, 2015). Le Piracetam (300 mg/kg) tout comme l'administration de la boisson « tenghõ » a montré des propriétés antioxydantes (augmentation significative de l'activité de la SOD à la dose de 600 mg/kg, baisse significative de la concentration de MDA à la dose de 400 mg/kg, augmentation non significative du taux de glutathion réduit à la dose de 400 mg/kg, une augmentation significative de l'activité de la catalase à la dose de 400 mg/kg, ainsi qu'une augmentation significative du taux de nitrites à toutes les doses testées) comparée au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO). La meilleure activité a été observée à la dose de 400 mg/kg. De nombreuses plantes, y compris les légumes et les fruits, sont des bases d'antioxydants naturels qui peuvent lutter contre le stress oxydant et jouer un rôle clé dans la chimioprévention des maladies qui ont leur étiologie et leur physiopathologie en (ROS) (Chattopadhyaya, 2002). L'activité antioxydante de certains ingrédients contenus dans la boisson « tenghõ », comme l'ail (*allium sativum*) a été rapporté dans les études antérieures (Chen *et al.*, 2014). L'ail exerce son effet antioxydant en piégeant les espèces réactives de l'oxygène, en renforçant l'activité des enzymes antioxydantes, et en augmentant les taux de glutathion dans les cellules (Santhosha *et al.*, 2013). L'ail exerce également un effet anti inflammatoire en inhibant le stress oxydatif produit par l'activation du NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B), facteur impliqué dans la production de médiateurs pro-inflammatoires (Santhosha *et al.*, 2013). Ces effets positifs peuvent aussi être attribués aux antioxydants comme les flavonoïdes contenus dans la boisson.

Chez les humains et les animaux, le cortex préfrontal et l'hippocampe ainsi que leur communication jouent un rôle essentiel dans l'encodage et la récupération de divers processus de mémoire (Preston and Eichenbaum, 2013). Les dommages dans ces zones sont associés à de graves troubles cognitifs (Preston and Eichenbaum, 2013). Dans ce travail, l'analyse des coupes histologiques de cerveau des rates ovariectomisées traitées à la scopolamine (0,6 mg/kg *i.p*) pendant 14 jours après coloration à l'hématoxiline-eosine (CA1, CA2, CA3 et Gyrus denté) et au crésyl violet (CA1) a montré une désorganisation neuronale des zones CA1, CA2, CA3 et du Gyrus denté de l'hippocampe par rapport au control normal SHAM. Les mêmes tendances dans le cortex préfrontal ont été observés. Ces résultats suggèrent des dommages dans les deux régions et concordent avec ceux obtenus dans des études antérieures (Preston and Eichenbaum, 2013). La perte des œstrogènes suite à l'ovariectomie est susceptible de diminuer le niveau d'expression du



facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF), la densité des épines dendritiques des neurones pyramidaux et la neurogenèse hippocampique suggérant une altération morphologique à l'origine de la perte neuronale. Il est connu que la scopolamine induit l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules nerveuses (Jahanshahi *et al.*, 2013). Tout comme le Piracetam, l'administration du « tenghõ » à toutes les doses testées a contrecarré la désorganisation neuronale dans l'hippocampe (région CA1, CA2, CA3 et Gyrus denté) et le cortex. L'hippocampe et le cortex préfrontal sont impliqués dans le processus d'apprentissage et de mémoire (Daumas *et al.*, 2005). Les résultats obtenus sont cohérents avec l'effet neuroprotecteur de cette boisson. La neuroprotection induite par la boisson « tenghõ » est susceptible d'être médié par une activité antioxydante, anti-inflammatoire et anti-apoptotique. En effet, plusieurs études ont rapporté que le stress oxydant, l'inflammation, et l'apoptose sont tous impliqués dans des altérations neuronales (Demerci *et al.*, 2017).

Il est connu que la neuroinflammation contribue à augmenter la sévérité de la MA par exacerbation de l'A $\beta$  (protéine  $\beta$  amyloïde) et la phosphorylation de la protéine Tau. Dans la MA, on émet l'hypothèse que le principal moteur d'activation des astrocytes et des microglies est la présence de l'A $\beta$ . La microglie activée réagit à l'A $\beta$  entraînant sa migration vers les plaques et donc leurs phagocytoses (Rogers *et al.*, 2002). Dans ce travail, l'analyse immunohistochimique du cortex cérébral des rates après action des anticorps IBA-1 et GFAP (respectivement pour les microglies et les astrocytes) a montré que comparé au témoin normal (Sham Nor), l'injection de Scopolamine 0,6 mg/kg *i.p.* pendant 14 jours chez des rates ovariectomisées (OVX SCOPO) a induit une neuroinflammation, caractérisée par une activation des astrocytes et des microglies. Les microglies activées chroniquement libèrent une variété de cytokines pro-inflammatoires y compris le « Tumor necrosis factor » (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine (IL) -6 et l'oxyde nitrique (NO, qui confèrent le début et/ou la progression de la MA (Cai *et al.*, 2014). Le dosage des cytokines dans la présente étude a montré que l'injection de scopolamine (1 mg/kg *i.p.*) pendant 17 jours chez des rats ovariectomisés (OVX) a induit d'une part une augmentation significative de la concentration des cytokines pro-inflammatoires dans l'hippocampe (TNF $\alpha$  ; IL-1 $\beta$  et IL-6) et dans le cortex cérébrale (IL-1 $\beta$ ) ( $p < 0,001$ ). D'autre part une réduction significative de la concentration de cytokines anti-inflammatoires dans l'hippocampe (IFN- $\gamma$  ; IL-4 ; IL-10) et dans le cortex (IL-10) ( $p < 0,001$ ). Il a été signalé que suite à l'injection de scopolamine *i.p.*, il se produit une réponse inflammatoire principalement dans le système limbique. Cette réponse inflammatoire se caractérise par la production des cytokines pro-inflammatoires et l'activation des cellules gliales (Iqbal *et al.*, 2020). Les cellules gliales activées et la surexpression des cytokines pro-

inflammatoires ont été corrélées à la lésion de l'hippocampe et souvent du cortex préfrontal (Iqbal *et al.*, 2020). Les résultats obtenus corroborent ceux de Djeuzong et collaborateurs en 2021 qui ont montré que l'injection de scopolamine a entraîné une augmentation des cytokines pro-inflammatoires dans l'hippocampe et le cortex préfrontal. Tout comme le piracetam (300 mg/kg), la boisson « tenghõ » a inhibé l'activation des cellules gliales (astrocytes et microglies) à la dose de 400 mg/kg. La boisson a entraîné une réduction significative des cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) dans l'hippocampe et une augmentation des cytokines anti-inflammatoires (l'IL-4, IL-10 et IFN- $\gamma$ ) aux doses de 400 et 600 mg/kg suggérant une inhibition de la neuroinflammation et une action neuroprotectrice de cette boisson. Les médicaments ayant des activités anti-inflammatoires sont connus pour réduire ou prévenir les dommages induits par la neuroinflammation (Rathee *et al.*, 2009). Les composés chimiques identifiés dans cette boisson tels que les polyphénols et les tanins pourraient sous-tendre une activité anti-inflammatoire puisqu'il a été démontré que ces composés possèdent des activités anti-inflammatoires dans quelques modèles expérimentaux de maladies du cerveau (Al-Reza *et al.*, 2010). L'un des ingrédients de la boisson « tenghõ » (l'ail) renferme un composé appelé allicine qui a montré un effet anti-inflammatoire sur 2 lignées de cellules épithéliales intestinales, en inhibant la sécrétion spontanée et induite par ajout de TNF- $\alpha$ , de la cytokine (IL-1 $\beta$ ) et des chimiokines pro-inflammatoires (IL-8, MIG, IP-10). Au vu des résultats obtenus, la boisson « tenghõ » pourrait avoir une valeur thérapeutique dans le traitement de l'apprentissage, des déficits de mémoire et diverses maladies du cerveau associées à la neuroinflammation.

Les récepteurs des œstrogènes sont exprimés dans de nombreuses régions du cerveau, dont l'hypothalamus, l'hippocampe, le striatum, le cortex cérébral ou encore le cervelet, ce qui suggère un rôle des œstrogènes dans les fonctions cérébrales (Greendale *et al.*, 2011). Il est donc évident de concevoir que les œstrogènes puissent affecter les fonctions cognitives. Dans le but de vérifier si la boisson « tenghõ » agirait via les récepteurs aux œstrogènes pour induire des effets neuroprotecteurs, les effets de la boisson « tenghõ » ont été évalués sur les cibles primaires des œstrogènes (utérus, vagin, glandes mammaires). Les résultats obtenus ont montré que l'ovariectomie a entraîné une réduction du poids relatif de l'utérus frais, de la taille de l'épithélium utérin et du taux de protéines utérins. Ces résultats sont similaires à ceux des études antérieures qui ont montré une diminution du poids et de la taille de l'épithélium utérin suite à l'ovariectomie (Zingue *et al.*, 2013, Khayum *et al.*, 2020). Au niveau du vagin, on observe une réduction significative de la taille de l'épithélium vaginal avec diminution de la stratification et de la cornification de cet épithélium chez les rates ovariectomisées par rapport au contrôle normal

SHAM. En effet, le vagin possède une activité cyclique contrôlée par les hormones stéroïdes sexuels, en particulier les œstrogènes (westwood, 2008). La perte d'œstrogènes gonadiques subséquente à l'ovariectomie entraîne une diminution significative de la taille de l'épithélium vaginal, constitué d'une seule couche cellulaire formant la couche germinative comparé au témoin SHAM tel que décrit par Westwood (2008). Quant aux glandes mammaires, l'ovariectomie a induit un développement proéminent du tissu adipeux dans les glandes mammaires, une atrophie des glandes mammaires, une absence des sécrétions éosinophiles, un épithélium acinaire indifférencié ainsi qu'une réduction de la lumière, du nombre et du diamètre des acini comparé au témoin normal consécutif au déclin hormonal tel que décrit par Santell et collaborateur en 1997. La boisson « tenghõ » n'a entraîné aucune variation significative de ces paramètres. Compte tenu du fait que les paramètres comme le poids de l'utérus frais, le taux de protéine utérin, la taille de l'épithélium utérin et vaginal et la présence des sécrétions éosinophiles sont des indicateurs de l'oestrogénicité, il apparaît que l'opération d'ovariectomie fut un succès et que le « tenghõ » n'aurait pas d'effets significatifs sur les cibles primaires des œstrogènes donc ne passerait pas par cette voie pour l'amélioration de la mémoire lors des tests de neurodégénérescences.

Sur l'évolution pondérale lors des tests de neurodégénérescence, l'injection de scopolamine chez des rates ovariectomisées a induit une baisse de la masse corporelle des animaux comparé au témoin normal (SHAM NOR). Tandis que le Piracetam à la dose de 300 mg/kg (substance de référence) administré après une injection de Scopolamine a maintenu constant la masse corporelle des animaux comparée au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO) recevant la Scopolamine *i.p* et l'eau distillée *p.o*. Le « tenghõ » à toutes les doses testées (200, 400 et 600 mg/kg) a induit une augmentation de la masse corporelle des animaux comparé au témoin ovariectomisé (OVX SCOPO) recevant la Scopolamine *i.p* et l'eau distillée *p.o*. Ce résultat suggère que le « tenghõ » aurait des propriétés nutritives aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg malgré la perte de poids induite par la scopolamine. En effet la boisson « tenghõ » contiendrait des substances nutritives permettant ainsi un gain pondéral chez les animaux.

L'usage clinique d'une drogue est toujours précédé d'un test de toxicité afin d'établir le risque encouru par l'homme lors de l'administration du produit. L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50 % des animaux d'expérience (DL50) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin (Traoré, 1999). Les résultats obtenus lors de l'étude de toxicité aiguë ont montré que les doses uniques respectives de 2000 et 5000 mg/kg de la

boisson « *tenghõ* » en administration aigue, n'ont induit aucun signe de mortalité, symptômes toxicologiques, de toxicité (poids relatif et histologie des organes). L'évolution pondérale observé n'était pas différente du témoin normal, suggérant que la boisson serait pratiquement non toxique. En effet, selon l'OCDE (2001a) la boisson « *tenghõ* » serait classée dans la catégorie 5 ou ne serait pas classé dans le système de classification globale harmonisé (GHS) comme adopté par l'OCDE (2001b) et sa DL50 est estimé supérieur à 5000 mg/kg. De tel valeur de DL50 sont souvent obtenu avec des plantes largement utilisée comme aliment et ou herbes (Awounfack *et al.*, 2016 ; Ateba *et al.*, 2014 ; Tchoumtchoua *et al.*, 2014).

La toxicité subchronique tout comme la toxicité aiguë, a été effectuée pour s'assurer de l'innocuité de la boisson « *tenghõ* ». Lors de cette étude d'une période assez longue (42 jours), les résultats ont montré comparé au témoin normal que le « *tenghõ* » n'a induit aucune variation significative de la prise hydrique des rats mâles et femelles à toutes les doses testées (200, 400 et 600 mg/kg), de l'histomorphométrie du foie, du cœur, des poumons et des reins. La boisson « *tenghõ* » a réduit l'activité de l'ALAT, mais augmenté l'activité de l'ASAT aux doses de 200 et 600 mg/kg chez les rats males. L'activité de l'ALAT et de l'ASAT sérique est largement utilisé comme un marqueur sensible à un possible dommage tissulaire, particulièrement la toxicité du foie (Ramaiah, 2007). L'ALAT est exclusivement présente dans le cytoplasme des hépatocytes et l'ASAT principalement trouvé dans le foie, le cœur et les reins (Han *et al.*, 2011). Par conséquent les hépatocytes endommagés vont libérer l'ALAT et l'ASAT dans l'espace extracellulaire d'où des lésions chronique du foie vont causer une élévation de l'activité de l'ALAT et de l'ASAT dans le sang (Han *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » aux doses testées n'aurait pas d'effets néfastes sur le cœur, le foie et les reins. La boisson « *tenghõ* » a augmenté le taux de bilirubine directe aux doses de 200 et 600 mg/kg chez les rats femelles mais cette augmentation reste dans l'intervalle des valeurs physiologiques normales. La bilirubine sérique est un facteur pronostique dans la cirrhose biliaire primaire (Shapiro *et al.*, 1979) et dans les maladies hépatiques veno-occlusives (Bearman, 1995) qui conduirait aux nécroses hépatocellulaires massive. Ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » aux doses testées aurait des effets protecteurs sur le foie. La boisson « *tenghõ* » a induit une réduction du taux de bilirubine totale à la dose de 600 mg/Kg. La bilirubine totale, un produit de la dégradation de l'hémoglobine, est un marqueur des lésions hépato-biliaire (Mc Donald, 1993). L'augmentation de la bilirubine sérique est généralement liée à une augmentation de l'hémolyse (Orisakwe *et al.*, 2003), aux lésions du foie ou aux cholestases (Bearman, 1995). Le taux de créatinine sérique est un bon indicateur de la fonction rénale, car une élévation du taux sérique est associée à une lésion

marquée de la fonction des néphrons. Le « *tenghõ* » présente une augmentation significative du taux de créatine à la dose de 600 mg/kg suggérant une attaque rénale. Le HDL-C est connu pour être un prédicteur inverse des maladies cardio-vasculaires. L'augmentation du HDL-C est associée à une réduction des proportions des particules de LDL (Dobiasova, 2004) identifié comme un facteur clé des maladies cardiaques coronariennes (Koba *et al.*, 2006). Un taux de HDL-C faible est un prédicteur d'une augmentation des risques cardiovasculaires (Kastelein *et al.*, 2008). Une augmentation du ratio (TC/HDL-C) est corrélée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires. L'augmentation du Cholestérol total, du LDL cholestérol et des triglycérides ainsi que la baisse du HDL-cholestérol indique une augmentation du risque des MCV (maladies cardiovasculaires). Pris ensemble, ces résultats suggèrent que la boisson « *tenghõ* » aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/kg aurait des effets protecteurs sur le cœur, le foie, les poumons ainsi que les reins, chez les rats males.

Le système hématopoïétique est l'une des plus grandes cibles sensibles des substances toxiques. Les plantes immunostimulantes induisent généralement la transformation des lymphocytes B et la prolifération des lymphocytes T (Hassan *et al.*, 2021). Les plaquettes sanguines jouent un rôle important dans l'hémostase à travers la construction des bouchons plaquettaires (Clous plaquettaires). La boisson « *tenghõ* » a induit une variation significative de ces paramètres, mais les valeurs restaient contenues dans les limites physiologiques normales et pour cela ne pouvaient pas être considérer comme effet toxique. Cette variation n'est pas observée chez les rats mâles suggérant une grande sensibilité des femelles au traitement.



**CONCLUSION,  
RECOMMANDATIONS ET  
PERSPECTIVES**

## Conclusion

Au regard de l'utilisation traditionnelle et des constituants contenus dans la boisson « tenghõ », l'hypothèse de recherche de ce travail a été que la boisson « tenghõ » possède des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et neuroprotectrices. Au terme de cette étude dont l'objectif a été d'évaluer les effets de la boisson « tenghõ » sur l'inflammation, la douleur et quelques troubles neurologiques induits chez les rongeurs, il ressort que :

- 1) La boisson « tenghõ » a un effet analgésique périphérique et central ;
- 2) La boisson « tenghõ » a un effet anti-inflammatoire, sur des modèles d'inflammation aigue (carragénine, histamine et sérotonine) ;
- 3) La boisson « tenghõ » a montré des effets neuroprotecteurs par amélioration de la mémoire spatiale à court et à long terme, par amélioration de l'activité antioxydante marqué par l'augmentation du taux de GSH, de l'activité de la SOD et de la catalase, ainsi que la réduction de la concentration de MDA dans les homogénats de cerveau. La boisson « tenghõ » inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$  ; IL6 ; TNF $\alpha$ ) et induit la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-4 et IL-10) dans le cortex cérébral et l'hippocampe. Des analyses histologiques et immunohistochimiques du cortex cérébral et de l'hippocampe ont confirmés les effets de la boisson « tenghõ » dans la réduction de la neuroinflammation induit via des modèles de troubles neurodégénératifs (modèle à la scopolamine 0,6 et 1 mg/kg). Cet effet neuroprotecteur était caractérisé par la réduction de la dispersion et de la nécrose des cellules des régions CA1 et CA3 de l'hippocampe, ainsi que l'inhibition de l'activation des cellules gliales (Astrocytes et microglies) dans le cortex cérébral. L'évaluation de l'activité anxiolytique a montré que la boisson « tenghõ » possède des propriétés anxiolytiques, la meilleure dose étant la dose de 200 mg/kg. La boisson « tenghõ » améliore la coordination motrice avec un meilleur effet à la dose de 400 mg/kg. L'ensemble des effets analgésiques, anti-inflammatoires et neuroprotectrices de la boisson « tenghõ » serait due aux métabolites secondaires (Flavonoïdes et polyphénols) donc les concentrations ont été déterminées lors de l'analyse phytochimique ;
- 4) Des études de toxicité orale aiguë (sur 14 jours) et subchronique sur 42 jours ont montré que la boisson « tenghõ » serait faiblement toxique. La DL50 en administration orale de la boisson « tenghõ » a été estimée supérieure à 5000 mg/kg PC. L'ensemble des résultats obtenus pourraient expliquer et soutenir l'utilisation traditionnelle de la boisson « tenghõ » dans la gestion de l'inflammation et de la douleur. Par ailleurs, ces résultats indiquent que la boisson pourrait être utilisé pour prévenir l'anxiété et la survenue des maladies neurodégénératives tels que la maladie d'Alzheimer.

## Recommandations

A l'issue de cette étude, il ressort que la dose thérapeutique (400 mg/kg) posséderait des effets bénéfiques sur la majorité des paramètres évalués. Cependant, la dose 200 mg/kg aurait plus d'effet sur les troubles anxieux. Ceci permet de recommander au tradithérapeute d'utiliser la dose de 400 mg/kg au cours de ses prescriptions, mais de réduire cette dose à 200 mg/kg pour la gestion des troubles anxieux.

## Perspectives

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

- ➔ Réaliser des études de stabilité et d'optimisation de la boisson « tenghõ » ;
- ➔ Réaliser une étude phytochimique complète de la boisson « tenghõ » afin de la standardiser ;
- ➔ Elucider les mécanismes d'actions de la boisson « tenghõ » via des test d'antagonisation *in vivo* et *in vitro* ;
- ➔ Evaluer les effets préventifs et curatifs de la boisson « tenghõ » sur d'autres modèles d'inflammation chronique tel que l'arthrose et les douleurs rhumatismales ;
- ➔ Evaluer les effets préventifs et curatifs de la boisson « tenghõ » sur d'autres pathologies tel que l'hypertension artérielle, le cancer et le diabète.



## REFERENCES

- Adedapo A, Mogbojuri O, Emikpe B (2009).** Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3 :586-591.
- Adil FW, Ahlam M, Muneeb UR, Seema A, Mubashir HM. (2016).** *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of propolis from Kashmir Himalaya region. *Free Radicals Antioxid*; 6:51-7.
- Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, et al. (2000).** Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*; 21:383–421.
- Aliev G, Ashraf GM, Tarasov VV, Chubarev VN, Leszek J, Gasiorowski K, Makhmutova A, Baesa SS, Avila-Rodriguez M, Ustyugov AA, et al. (2019).** Alzheimer's Disease–Future Therapy Based on Dendrimers. *Current. Neuropharmacology*; 1:288–294.
- Alireza K, Fatemeh A, Abdolrahman S, Siamak S, and Iraj S. (2014).** Interaction between Antagonist of Cannabinoid Receptor and Antagonist of Adrenergic Receptor on Anxiety in Male Rat, *Basic Clinical Neuroscience Summer*. 5: 218–224.
- Al-Reza M, Yoon J, Kim H, Kim J-S, Kang S (2010).** Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujube*. *Food and chemical toxicology*, 48(2):639-643.
- Alyson M, Grant R, Anja E, Harald H, Christopher G. (2007).** Effect of gender on NADPH-oxidase activity, expression, and function in the cerebral circulation role of estrogen. *Stroke*; 38: 2142-2149.
- Alzheimer's association (2022).** 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*.
- Amandusson A, Blomqvist A. (2013).** Estrogenic influences in pain processing. *Frontiers Neuroendocrinology*; 34: 329–349.
- Ana L, Daniel E, Maria-Angeles L, Ana C, Begoña L, Mariana N, Paloma M. (2019).** When Does Alzheimer's Disease Really Start? The Role of Biomarkers. *International Journal of Molecular Science*; 20:5536.
- Andrews N., File S. E. (1993).** Handling history rats modifies behavioural effects of drug in the elevated plus maze test of anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 235: 109 - 112.
- Ateba S, Simo R, Mbanya C, Krenn L, Njamen D, (2014).** Safetyprofile and gender specific differences of a methanol extract of *Eriosema laurentii* (Legu-minosae) inacute and

subchronic (28days) oral toxicity studies in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 65 :27-32.

**Avila-Muñoz E, Arias C. (2014).** When astrocytes become harmful: functional and inflammatory responses that contribute to Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*; 18:29–40.

**Awounfack C, Ateba S, Zingue S, Mouchili O, Njamen D (2016).** Safety evaluation (acuteandsub-acute studies) of the aqueous extract of the leaves of *Myrianthus arboreus* P.Beauv.(Cecropiaceae) in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 194(2016)169-178.

**Bagyinszky E, Van Giau V, Shim K, Suk K, An SSA, Kim S. (2017).** Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. *Journal of Neurological Science*; 376:242–54

**Bamberger ME, Harris ME, McDonald DR, Husemann J, Landreth GE. (2003).** A cell surface receptor complex for fibrillar b-amyloid mediates microglial activation. *Journal of Neuroscience*; 23:2665–74.

**Bankova V. (2005).** Recent trends and important developments in propolis research. *Journal Evidence Based Complementary Alternative Medicine*; 2:29-32.

**Bankova VS, De castro SL, Marcucci MC. (2000).** Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*; 2:3-15.

**Barbaric M, Miskovic K, Bojic M, Loncar MB, Smolcic-Bubalo A, Debeljak Z, et al. (2011).** Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *Journal Ethnopharmacology*; 135:772-8.

**Bayes OM. (1997).** Contribution à l'étude de l'activité antiinflammatoire de la pulpe de fruit de *Balanites aegyptiaca* L. (*Zygophyllaceae*). *Thèse pharmacie, Bamako* ; 67 P.

**Bearman S. (1995).** The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood*, 85 : 3005-3020.

**Belzung C. (1999).** Messuring rodent exploratory behaviour. In: Crusio W. E. and Gerlai R. T. (eds), Handbook of Molecular-Genetic techniques. *Brain Behavioral Research*. 11: 738 - 749.

**Benzie I, Strain J (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power : the FRAP assay'. *Analytical Biochemistry*, 239 :70-76.

**Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, Redston M, Solomon SD, Kim K, Tang J, Rosenstein RB, Wittes J, Corle D, Hess TM, Woloj GM, Boisserie F, Anderson WF, Viner JL, Bagheri D, Burn J, Chung DC, Dewar T, Foley TR, Hoffman N, Macrae F, Pruitt RE, Saltzman JR, Salzberg B, Sylwestrowicz T, Gordon GB, Hawk ET,**

- Investigators APC. (2006).** Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *New England Journal of Medicine*; 355: 873–884.
- Bertram L, McQueen M.B, Mullin K, Blacker D, Taanzi R.I. (2017).** Systematic meta-analyse of Alzheimer disease genetic association studies : The Alzgene database. *Nature genetic.* (2007), 39, 17-23.
- Blasko I, Stampfer-Kountchev M, Robatscher P, Veerhuis R, Eikelenboom P and Grubeck-Loebenstein B. (2004).** How chronic inflammation can affect the brain and support the development of Alzheimer’s disease in old age: the role of microglia and astrocytes. *Aging Cell*; 3: 169-176
- Block ML., Zecca L, Hong JS. (2007).** Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience* ; 8: 57–69.
- Bourin M, Dhonnchadha BAN, Colombel MC, Dib M, Hascoet M. (2001).** Cyamemazine as an anxiolytic drug on the elevated plus maze and light/dark paradigm I mice. *Behavioral Brain Research.* 124(1):87-95.
- Brand K, Al-Rais A. (2019).** Pain assessment in children. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*; 20(6):314- 317.
- Bronzuoli MR, Iacomino A, Steardo L, Scuderi C. (2016).** Targeting neuroinflammation in Alzheimer’s disease. *Journal Inflammation Research*; 9:199.
- Brooks SP, Dunnett SB, (2009).** Tests to assess motor phenotype in mice: a user’s guide. *Nature Reviews Neuroscience.* 10: 519-29.
- Brown R, Flanigan Thompson K, Thacker S, Schaefer T, Williams M (2004).** Neonatal quinirol treatment impairs Morris water task performance in early postweanling rats : relationship to increases in corticosterone and decreases in neutrophic factors. *Biological pshychiatry*, 56(3) :161-168.
- Cai Z, Hussain MD, Yan L-J. (2014).** Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer’s disease. *International Journal of Neuroscience*; 124:307–21.
- Calsolaro V, Edison P. (2016).** Neuroinflammation in Alzheimer’s disease: Current evidence and future directions. *Alzheimers Dement* ; 12:719–32.
- Capron F. (1998).** Formes anatomo-cliniques de l’inflammation, dans les troubles de la motricité et de la sensibilité digestive. *Revue du praticien*; 20:2273-2276.
- Carter M. and Shied, J.C. (2010).** Visualizing nervous system structure. *Guide to research technique in Neurosciences.* 147-168.

- Casarrubea M, Magnusson MS, Roy V, Arabo A, Sorbera F, Santangelo A, Crescimanno G, (2012).** Temporal Patterns of Rodent Behavior in the Elevated Plus Maze Test. *Eds. Spink. Grieco F, Krips OE, Loijens LWS, Noldus LPJJ, and Zimmerman PH.* p 350.
- Chattopadhyay S M. (2002).** Bacterial cryoprotectants. *Resonance*, 7:59-63.
- Chen S, Tang Y, Qian Y, Chen R, Zhang L, Wo L, et al., (2014).** Allicin prevents H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis of HUVECs by inhibiting an oxidative stress pathway. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 14: 321.
- Chevalley I (2000).** Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées : isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et d'un composé antifongique. Thèse de doctorat Université de Lausanne (Faculté des sciences).
- Chi H, Chang H.Y, Sang TK. (2018).** Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Science*; 19:3082.
- Chintoh A, Fulton J, Koziel N et al. (2003).** Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*; 76:53–61
- Cho J, Lannucci F, Fraile M, Franco J, Alesius T, Stefano G (2003).** The role of the estrogen in neuroprotection : implications for neurodegenerative diseases. *Neuroendocrinology letters*, 24(3-4) :141-147.
- Chrubasik J, Roufogalis B, Chrubasik S (2007).** Evidence of effectiveness of herbal antiinflammatory drugs in the treatment of painful osteoarthritis and chronic low back pain. *Phytotherapy research: an international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 21(7) :675-683.
- Collins T. (1999).** “Acute and chronic inflammation,” in Robbins Pathologic Basis of Disease, R. S. Cotran, V. Kumar, and T.Collins, Eds., pp. 50–88, W.B. Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 1999.
- Combest WL. (2007).** Herbal pharmacy. *Ginger natural medicine comprehensive*; 2007.
- Cook A, Christensen A, Tewari D, McMahan S, Hamilton J (2018).** Immune cytokines and their receptors in inflammatory pain. *Trends in Immunology*, 39(3):240-255.
- Cox KH., Pipingas A, Scholey AB. (2015).** Investigation of the effects of solid lipid curcumin on cognition and mood in a healthy older population. *Journal of Psychopharmacology*; 29 (5), 642–651.

- Cynthia L, Bethea, Arik W, Smith, Maria L, Arubala P. (2011).** Long-term ovariectomy decreases serotonin neuron number and gene expression in free ranging macaques. *Neuroscience*; 192: 675-688.
- D’Hooge R. et De Deyn P.P., (2001).** Applications of the Morris Water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Review*. 36 : 60-90.
- Daniel JM, Hulst JL, Berbling JL (2006)** Estradiol replacement enhances working memory in middle-aged rats when initiated immediately after ovariectomy but not after a long-term period of ovarian hormone deprivation. *Endocrinology* 147: 607–614.
- Darya VT, Gleb KS, Oyuna SK, Nataliya GK. (2019).** Mechanisms of Neuronal Death in the Cerebral Cortex during Aging and Development of Alzheimer’s Disease-Like Pathology in Rats. *International Journal of Molecular Sciences. International Journal of Molecular Science*; 20:5632.
- Daumas S, Hallet H, Francés B, Lassalle J-M (2005).** Encodin, consolidation, and retrieval of contextual memory : differential involvement of dorsal CA3 and CA3 hippocampal subregions. *Learning and memory*, 12(4) :375-382.
- Delgado A, McManus A, Chambers J (2003).** Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides*, 37(6):355-361.
- Dellu F, Fauchey V, Le Moal M, Simon H (1997).** Extension d'une nouvelle tâche de mémoire à deux essais chez le rat : influence du contexte environnemental sur les processus de reconnaissance. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67(2) : 112-120.
- Demerci K, Balaban H, Naziroglu M, Ovey S (2017).**The protective role of Selenium on scopolamine-induced memory impairment, oxidative stress, and apoptosis in aged rats : the involvement of TRPM2 and TRPV1 channels. *Molecular neurobiology*, 54 :2852-2868.
- Diouf A. (1991).** La réaction inflammatoire, étude des médiateurs et leurs rôles physiopathologiques. Thèse de pharmacie, Dakar, 44P
- Djeuzong E, Kandeda A, Djiogue S, Lewale S, Nguedia D, Nguenguim F, Djientcheu J, Kouamouo J, Dimo T. (2021).** Antiamnesic and neuroprotective effects of an aqueous extract of *Ziziphus jujuba* Mill. (Rhamnaceae) on Scopolamine-Induced Cognitive Impairments in Rats. *Hindawi*, 2021: 15-1.
- Djiogue S, Djeuda A, Etet P, Wanda G, Djikem R, Njamen D. (2018).** Memory and exploratory behavior impairment in ovariectomized Wistar rats. *Behavior and brain functions*, 14 :14.

- Djiogue S, Youmbi I, Seke F, Kandeda A, Zemo F, Motoum F, Djikem T.R.N, Njamen D. (2022).** Neuroprotective Effects of the Aqueous Extract of Leaves of *Moringa oleifera* (Moringaceae) in Scopolamine-Treated Rats. *Biology and Medicine* 14:486.
- Dobiasova M (2004).** Atherogenic index of plasma [log (triglycerides/HDL-cholesterol)] : theoretical and practical implications. *Clinical chemistry*, 50 :1113-1115.
- Dubal DB, Kashon LC, Pettigrew JM, Ren SP, Finklestein SW, Rau PM. (1998).** Wise, Estradiol protects against ischemic injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*; 18:1253–1258.
- Dulawa S, Grandy D, Low M, Paulus M, Meyer M (1999).** Dopamine D4 receptor-knock-out mice exhibit reduced exploration of novel stimuli. *The journal of neuroscience*, 19(21) :9550-9556.
- Dzeufiet P, Mengue S, Bilanda D, Kameni M, Aboubakar O, Dimo T, Kamtchouing P (2015).** *In vivo* estrogenic-like activities of *Gouania longipetala* hemsl. (Rhamnaceae) bark extract in a post-menopause-like model of ovariectomized Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 168:122-128.
- Elion Itou RDG, Sanogo R, Etou Ossibi AW, Nsonde Ntandou FG, Ondelé R, Pénemé BM, Okiémy AN, Diallo D, Ouamba JM, Abena AA. (2014).** Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of *Ceiba pentandra* Gaertn. *Pharmacology & Pharmacy*, 5: 1113-1118
- Ellman, G. (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82 : 7077.
- Engler-Chiurazzi EB, Singh M, Simpkins JW. (2016).** From the 90's to now: a brief historical perspective on more than two decades of estrogen neuroprotection. *Brain Research*; 633:96–100.
- Farooqui AA. (2017).** Neurochemical Aspects neurochimiques of Alzheimer's disease: Risk factors, pathogenesis, Biomarkers and potential treatments strategies, 1st edition. *Academic Press, New York* : 414pp.
- Femor B, Weinberg J, Pisetsky D, Misukonis M, Banes A, Guilak F (2001).** The effects of static and intermittent compression on nitric oxide production in articular cartilage explants. *Journal of Orthopaedic Research*, 19(4) :729-737.
- Fernandez M. (2003).** De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions. *Editions Aenigma*; 9.
- Fernandez S, Lewis M, Pechenio A, Harburger L, Orr P, Gresack J, Scafe G, Frick K (2008).** Estradiol-induced enhancement of object memory consolidation involves hippocampal

extracellular signal-regulated kinase activation and membrane-bound estrogen receptors. *The Journal of Neuroscience*, 28 (35) :8660-8667.

**Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. (2016).** Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current Neuropharmacology*; 14:101–115.

**Fialkow L, Wang Y, Downey GP. (2007).** “Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function.” *Free Radical Biology and Medicine*; 42(2):153–164.

**Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*; 18: 499-502.

**Frye CA, Duffy CK, Walf AA. (2007).** Estrogens and progestins enhance spatial learning of intact and ovariectomized rats in the object placement task. *Neurobiology Learning Memory*; 88:208–216.

**Gandy S. (2003).** Estrogen neurodegeneration. *Neurochemical Research*; 28: 1003–1008.

**Gaziano JM, Gibson CM. (2006).** Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *American Journal of Cardiology*; 97: 23-9.

**Genazzani AR, Spinetti A, Gallo R, Bernardi F. (1999).** Menopause and the central nervous system: intervention options. *Maturitas* 31:103–110.

**Gitler D, Dhillon P, Shorter J (2017).** Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Disease models mechanisms*, 10(5) :499-502.

**Gornall AG, Bardawill CJ, David MM, (1949).** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* 177 (2), 751-766.

**Goulliaev A, Senning A (1994).** Piracetam and other structurally related nootropics. *Brain research reviews*, 19(2) :180-222.

**Greendale G, Derby C, Maki P (2011).** Perimenopause and cognition. *Obstetrics and gynecology clinics of north america*, 38(3) :519-535.

**Haider S, Naz N, Khaliq S, Perveen T, Haleem DJ. (2008).** Repeated administration of fresh garlic increases memory retention in rats. *Journal of Medicinal Food*; 11 (4):675–679.

**Han Y, Song S, Lee D, Yoon H (2011).** Multi enzyme-modified biosensing surface for the electrochemical analysis of aspartate transaminase and alanine transaminase in human plasma. *Anal bional chem*, 400 :797-805.

- Harbone AJ. (1998).** Textbook of phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 5th edition, Chapman and hall Ltd, London, 21-72.
- HAS. (2011).** Rapport d'évaluation des médicaments de la maladie Alzheimer. 72.
- Haslett C. et al. (2000).** Médecine interne, principe et pratique. *Maloine, Paris* ; 1186.
- Hassan A, Asim N, Sadique A, Shahmaz S, Mohammed B, Hafiz M, Abdulkarim M, Waquar A, Syam M, Manal T, Asaad K (2021).** Medicinal plants and isolated molecules demonstrating immunomodulation activity as potential alternative therapies for viral diseases including COVID-19. *Frontiers in immunology*, 13 :637553.
- Hay SI, Abajobir AA, Abate KH, et al. (2016).** Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 333 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*; 390: 1260-344.
- Heneka MT, O'Banion MK, Terwel D and Kummer MP. (2010).** Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*; 117: 919-947.
- Iqbal H, Kim S-K, Cha K-S, Jeong M-S, Ghosh P, Rhee D-K (2020).** Korean Red Ginseng alleviates neuroinflammation and promotes cell survival in the intermittent heat stress-induced rat brain by suppressing oxidative stress via estrogen. *Journal of ginseng research*, 44(4):593-602.
- Jahanshahi M, Nickmahzar E, Babakordi F. (2013).** The effect of *Ginkgo biloba* extract on scopolamine-induced apoptosis in the hippocampus of rats. *Anatomical Science International*; 88(4):217-222.
- Javed H, Khan MM, Khan A, Vaibhav K, Ahmad A, Khuwaja G, et al. (2011).** S-allyl cysteine attenuates oxidative stress associated cognitive impairment and neurodegeneration in mouse model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Brain Research*; 1389:133-142.
- Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. (2014).** Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat. Rev. Drug Discovery* ;13 :533-548.
- Jin R, Clark S, Weeks A, Dudman J, Gouaux E, Partin K (2005).** Mechanism of positive allosteric modulators acting on AMPA receptors. *Journal of Neuroscience*, 25(39) :9027-9036.
- Johnston H, Boutin H, Allan SM. (2011).** Assessing the contribution of inflammation in models of Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions*; 886-890.
- Kannan K et Jain S (2000).** Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*, 7(3):153-163.



- Karim N, Khan I, Khan W, Khan I, Khan A, Halim A, Khan H, Hussain J, Al-Harrasi (2019).** Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of Asparacosin A involve selective cyclooxygenase 2 and inflammatory cytokines inhibition: an *in-vitro*, *in-vivo* and in-silico approach. *Frontiers in Immunology*.10:581.
- Kastelein J, Steeg A, Holme I, Gaffney M, Cater N, Bater P, Deedwania P, Olsson A, Boekholdt M, Demicco D, Szarek M, Larosa J, Pedersen T, Grundy S, TNT Study Group, IDEAL Study Group (2008).** Lipids, apolipoproteins, and their ratios in relation to cardiovascular events with statin treatment. *Circulation*, 117(23) :3002-9.
- Katarzyna W, Marian T. Anna B. (2005).** Piracetam -an old drug with novel properties? *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*; 62(5):405-409.
- Katzman R. and Kawas C., (1994).** Epidemiology of dementia of Alzheimer's disease. *New York: Raven Press*, 105-22.
- Khair-ul-Bariyah, Ahmed S, Ikram M. (2012).** Ocimum Basilicum: A Review on Phytochemical and Pharmacological Studies. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*; 2(2):78-85.
- Khayum M, Moraga-Amaro R, Buwalda B, Koole M, Boer J, Dierckx E, Doorduyn J, De Vries J (2020).** Ovariectomy-induced depressive-like behavior and brain glucose metabolism changes in female rats are not affected by chronic mild stress. *Psychoneuroendocrinology*, 115 :104610.
- Kim MS, Jeon WK, Lee KW, Park YH et Han JS. (2015).** Ameliorating effects of ethanol extract of *fructus mume* on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Evidence-Based Complement Alternative Medicine*; 1–8.
- Kimura H. (2013).** Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochemistry International*; 63 (5):492-497.
- Kitazawa M, Cheng D, Tsukamoto MR, Koike MA, Wes PD, Vasilevko V, et al. (2011).** Blocking IL-1 signaling rescues cognition, attenuates tau pathology, and restores neuronal b-catenin pathway function in an Alzheimer's disease model. *Journal of Immunology*; 187:6539–49.
- Knafo S, Venero C, Sa ´nchez-Puelles C, Pereda-Pere ´z I, Franco A, Sandi C, Sua ´rez LM, Solís JM, Alonso-Nanclares L, Martín ED, Merino-Serrais P, Borcel E, Li S, Chen Y, Gonzalez-Soriano J, Berezin V, Bock E, Defelipe J, Esteban JA. (2012).** Facilitation of AMPA receptor synaptic delivery as a molecular mechanism for cognitive enhancement. *PLoS Biologie* 10: 1001262.

- Koba S, Hirano T, Ito Y, Tsunoda F, Yokota Y, Ban Y, Suzuki H, Katagiri T (2006).** Significance of small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations in relation to the severity of coronary heart diseases. *Atherosclerosis*, 189(1) :206-214.
- Koster R (1959).** Acetic acid analgesic screen. *Federation of American Societies for Experimental Biology*; 18:418-420.
- Kraeuter A-K, Guest P, Sarnyai Z (2019).** The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. *Preclinical models*.1916 : 105-111.
- Kridawati A, Hardinsyah, Sulaeman A, Damanik R, Winarto A, Rahardjo TB, et al. (2016).** Tempereversed effects of ovariectomy on brain function in rats: effects of age and type of soy product. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*; 160:37–42.
- Kumaran A, Karunakaran R (2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extract of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food science and technology*, 40 :344-352.
- Laflamme D., (2000).** Les mécanismes moléculaires de la mémoire. *Neuromodulation*, 12 p.
- Lau D, Yan H, Dhillon B (2006).** Metabolic syndrome : a maker of patients at high cardiovascular risk. *The canadian journal of cardiology*, 22(suppl B) : 85B-90B.
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. (2001).** Animal models of nociception. *Pharmacology Review*; 53:597-652.
- Leelaprakash G et Dass S (2011).** In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(3):189-196.
- Li B, Zhong I, Yang X, Andersson T, huang M et al (2011).** WNT5A signaling contributes to A $\beta$ -induced neuroinflammation and neurotoxicity, *Plos one*, 6(8) :e22920.
- Li B, Zhong I, Yang X, Andersson T, huang M et al (2011).** WNT5A signaling contributes to A $\beta$ -induced neuroinflammation and neurotoxicity, *Plos one*, 6(8) :e22920.
- Li RW, Myers SP, Leach DN, Lin GD, Leach G. (2003).** A cross-cultural study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants. *Journal of Ethnopharmacology* ; 85: 25-32.
- Libé-Philippot B.,** La plasticité cérébrale au cœur de l'apprentissage *Mediapart* (2017).
- Lise L, Frédérique H, Arnaud N, Fabienne G. (2003).** La maladie d'Alzheimer : parcours du combattant. *Immersion en Communauté*. Faculté de Médecine de Genève.
- Lister RG. (1987).** The use of a Plus-Maze to measure anxiety in the mouse. *Pshychopharmacology* ; 92 (2):180-5.

- Liu Z, Zhang A, Sun H, Han Y, Kong L, Wang X (2017).** Two decades of new drug discovery and development for Alzheimer's disease. *RSC Advances*, 10.
- Lowe I, Robbins E, Eyerman G (1958).** The fluorimetric measurement of glutamic decarboxylase and its distribution in brain. *Journal of neurochemistry*, 3(1) :8-18.
- Lueptow LM. (2017).** Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of visualized experiments* (126), e55718.
- Mahdi M, Taufik M, Baharuldin H, Hura N (2019).** Chemicals used for the induction of Alzheimer's disease-like cognitive dysfunctions in rodents. *Biomedical research and therapy*, 6(11) :3460-3484.
- Maryvonne LS. (2007).** Etude des mécanismes d'action de l'œstradiol au cerveau de ratte ovariectionisées. *Thèse de doctorat en pharmacie, Université Laval Québec* ; 451.
- Mathew B, Biju R, (2008).** Neuroprotective effects of garlic a review. *Libyan Journal of Medecine* ; 3 (1) : 23–33.
- Mathew M et Subramanian S (2014).** *In vitro* screening for anticholinesterase and antioxydant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. *Plos one*, 9(1) :e86804.
- Maurissen, JP, Marable BR., Andrus AK., et Stebbins KE. (2003).** Factors affecting grip strength testing. *Neurotoxicology and Teratology*, 25(5), 543–553.
- Mc Gaugh JL. and Izquierdo I., (2000).** The contribution of the mechanisms of memory formation. *Trends Pharmacology Sciences*, 21 : 208-210.
- Mc Larnon JG. (2019).** Consideration of a Pharmacological Combinatorial Approach to Inhibit Chronic Inflammation in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*: 16,1-11.
- McDonald G, Hinds M, Fisher L, Schoch H, Wolford J, Banaji M, Hardin J, Shulman M, Clift R (1993).** Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation : a cohort study of 355 patients. *Annals of internal medicine*, 118(4) :255-67.
- McGettigan P, Henry D. (2013).** Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: an examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high-income countries. *PLoS Medecine*; 10(2).
- McNaull BB, Todd S, McGuinness B, Passmore AP. (2010).** Inflammation and anti-inflammatory strategies for Alzheimer's disease – a mini-review. *Gerontology*; 2010:3–14.
- Mecocci P, Tinarelli LC, Schulz RJ, Polidori MC. (2014).** Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*; 5, 147.

- Meng F, Wang Y, Liu R, Gao M, DU G. (2014).** Pinocembrin alleviates memory impairment in transient global cerebral ischemic rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*; 8 (4):1285–1290.
- Millington C, Sonogo S, Karunaweera N, Range A, Aldrich-Wright JR, Campbell IL, et al. (2014).** Chronic neuroinflammation in Alzheimer’s disease: new perspectives on animal models and promising candidate drugs. *BioMed Research International*; 309129.
- Mir Hilal A, Mahino F, Amal CM. (2018).** Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer’s disease: *Rational insights for the therapeutic approaches. Journal of Clinical Neuroscience.*
- Misra H. et Fridovish I., (1972).** Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven*, 101-109.
- Mohammad HF, Zahra A, Mohammad RSA, Roja R, Fatemeh F. (2013).** Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *Journal of traditional Chinese Medicine*; 33(6):815-826.
- Morales I, Guzmán-Martínez L, Cerda-Troncoso C, Farías GA, Maccioni RB. (2014).** Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer’s disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. *Frontiers Cell Neuroscience* ; 8:112.
- Moreau P.H.,** Modélisation des déficits cognitifs de la maladie d’Alzheimer par une approche lésionnelle chez les souris transgéniques hAPP/hApoE et non transgénique C57BL/6J. (2011). Thèse de doctorat. *Centre National de la Recherche Scientifique, Université de strasbourg*, 317 p.
- Moulin M. (1998).** Médicaments antiinflammatoires. In : *Abrégé de pharmacologie. Masson. Paris*; 332-336.
- Muhammad A. Idris SI. (2019).** Phytochemical Screening and Proximate Analysis of Garlic (*Allium Sativum*). *An archive of organic and inorganic chemical science*;4:1.
- Muller WE. Eckert GP, Eckert A. (1999).** Piracetam: Novelty in a unique mode of action. *Pharmacopsychiatry*, 32:2-9.
- Naghavi M, Abajobir AA, Abbafati C, et al. (2017).** Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*; 390: 1151–210.
- Nair AB, Jacob S. (2016).** A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic Clinical Pharmacy*; 7:27-31.

- Nour F.A, Junwei W, Amer E.A, Andrew B. R., Ruchika R, Euitaek Y and Amal K. (2022).** Glial Cell-Mediated Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*.
- OCDE. (2001).** Toxicité Orale aigue-Méthode par classe de toxicité aigue. In *Lignes directives 423 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques* ; 1(4):1-14.
- Okabe Y, Takahashi T, Mitsumasu C, Kosai K-I, Tanaka E, Matsuishi T. (2012).** Alterations of gene expression and glutamate clearance in astrocytes derived from an MeCP2-null mouse model of Rett syndrome. *PLoS One*; 7.
- Olivier J, Vinkers C, Olivier B (2003).** The role of the serotonergic and GABA system in translational approaches in drug discovery for anxiety disorders. *Frontiers in pharmacology*, 4 :74.
- OMS (2013).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2024. Genève (Suisse), 75p.
- Opeyemi A, Opeoluwa O, Pamela R, Benedicta N-C, Abola O. (2015).** *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules*; 20:7438-7453.
- Orisakwe O, Hussaini C, Orish N, Obi E, Udemezue O (2003).** Neurotoxic effects of Hibiscus sabdariffa calyx rats. *European Bulletin of Drug Research*, 11 :99-103.
- Oviedo VM, Mildred GG, Rincon J, Guerrero MF. (2006).** Effect of an extract of *Annonamuricata* on central nervous system. *PharmacologyOnline* 3: 34247.
- Pahwa R, Goyal A, Jialal I. (2023).** Chronic Inflammation. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*.
- Pandaranandaka J, Poonyachoti S, Thongsong-Kalandakanond S (2009).** Differential effects of exogenous and endogenous estrogen on anxiety as measured by elevated T-maze in relation to the serotonergic system. *Behavioural Brain Research*, 198(1) :142-148.
- Parle M, Bansal N. (2011).** Antiamnesic Activity of an Ayurvedic Formulation Chyawanprash in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 1-9.
- Patki G, Allam FH, Atrooz F, Dao AT, Solanki N, et al. (2013).** Grape powder intake prevents ovariectomy-induced anxiety-like behavior, memory impairment and high blood pressure in female Wistar rats. *PLoS One*; 8: e74522.
- Pergolizzi JV, Philip BK, Leslie JB, Taylor R, Raffa RB. (2012).** Perspectives on transdermal scopolamine for the treatment of postoperative nausea and vomiting. *Journal of Clinical Anesthesia*; 24(4):334-45.

- Perianayagam JB, Sharma SK, Pillai KK. (2006).** Antiinflammatory activity of *Trichodesma indicum* root extract in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*; 104: 410-414.
- Pieri F, Kirkiacharian S. (1992).** Pharmacologie et thérapeutique. *Ed. 2 Masson, Paris*; 463.
- Ping S, Trieu J, Wlodek M, Barrett G (2008).** Effects of estrogen on basal forebrain cholinergic neurons and spatial learning. *Journal of Neuroscience Research*, 86(7) :1588-1598.
- Poorheidari G, Pratt JA, Dehghani N. (2002).** Effects of low-dose scopolamine on locomotor activity: No dissociation between cognitive and non-effects. *Neuroscience Research Communications*; 31:165–174.
- Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, Cirino G (2004).** Differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British journal of Pharmacology*, 142(2) :331-338.
- Preston A, Eichenbaum H. (2013).** Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*. 23(17): R764-73
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : specific application to the determination to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2) :337-41.
- Puoliva IJ, Wang J, Heikkinen T, Heikkila M, Tapiola T, van Groen T, Tanila H. (2002).** Hippocampal A beta 42 levels correlate with spatial memory deficit in APP and PS1 double transgenic mice. *Neurobiology of Disease*; 9:339–347.
- Rajesh W, Subha G. (2018).** Phytochemistry and Pharmacological Properties of Ginger (*Zingiber officinale*). *Book: Molecular Biology and Pharmacognosy and Beneficial Plants*; 97-103.
- Ramaiah S. (2007).** A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of biochemical parameters. *Food and chemical toxicology*, 45 :1551-1557.
- Ramberg V, Tracy LM, Samuelsson M, Nilsson LNG, Iverfeldt K. (2011).** The CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP)  $\delta$  is differently regulated by fibrillar and oligomeric forms of the Alzheimer amyloid- $\beta$  peptide. *Journal of Neuroinflammation*; 8:34.
- Rathee P, Chaudray H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K (2009).** Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agent: a review. *Inflammation & allergy-drugs targets (formerly current drug targets-inflammation & allergy) (Discontinued)*, 8(3):229-235.

- Ray B, Chauhan NB, Lahiri DK. (2011).** The “aged garlic extract:” (AGE) and one of its active ingredients S-allyl-L-cysteine (SAC) as potential preventive and therapeutic agents for Alzheimer’s disease (AD). *Current Medecine Chemistry*; 18 (22):3306–3313.
- Ribeiro R, Vale M, Thomazzi S, Paschoalato A, Poole S, Ferreira S, Cunha F (2000).** Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology*, 387(1):111-118.
- Rocca WA, Bower JH, Maraganore DM, Ahlskog JE, Grossardt BR, de Andrade M, Melton LJ 3<sup>rd</sup>. (2007).** Increased risk of cognitive impairment or dementia in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology*; 69:1074–1083.
- Rogers J, Strohmeyer R, Kovelowski C, Li R (2002).** Microglia and inflammatory mechanisms in the clearance of amyloid  $\beta$  peptide. *Glia*, 40 :260-269.
- Rout GR, Das P, Goel S, Raina SN. (1998).** Determination of genetic stability of micropropagated plants of ginger using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Botanical Bulletin of Academia Sinicia*. 39:23-37.
- Ru-Rong J, Alexander C, Yu-Qiu Z. (2016).** Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. *Science*; 354:6312.
- Salloway S, Correia S (2009).** Alzheimer disease : time to improveits diagnosis and treatment. *Cleveland clinic journal of medecine*, 76(1) :49-58.
- Santell R, Chang Y, Nair M, Helfrerich (1997).** Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats. *Journal of nutrition*, 127(2) :263-269.
- Santhosha SG, Jamuna P, Prabhavathi SN. (2013).** Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience*; 3:59-74.
- Saravanaraman P, Chinnadurai RK, Rathanam B. (2020).** Verapamil attenuates scopolamine induced cognitive deficits by averting oxidative stress and mitochondrial injury – A potential therapeutic agent for Alzheimer’s Disease. *Metabolic Brain Disease*. 35:503–515.
- Sawadogo W, Boly R, Lompo M, Some N (2006).** Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Dicliptera verticillata*. *International Journal of Pharmacology*, 2 :435-438.
- Schorderet M. (1992).** Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications theurapeutiques. *Editions Slatkine Geneve, Edition Frison-Roche Paris* ; 33-34.
- Scofield P, Mbugua DM, Pell AN. (2001).** “Analysis of condensed tannins” a review. *Animal Feed Science and Technology*; 91: pp21.

- Scuderi C, Stecca C, Bronzuoli MR, Rotili D, Valente S, Mai A, et al. (2014).** Sirtuin modulators control reactive gliosis in an in vitro model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*; 5:89.
- Seifert R. (2019).** Pain Pharmacology. *In Basic Knowledge of Pharmacology. Springer, Cham.*
- Seillier A. (2003).** Livret des techniques IFR des Neurosciences de Strasbourg. Université Louis Pasteur, laboratoire de Neurosciences comportementales et cognitives. *Eds.Tournier B. et Revel F.*, 246: 52 - 89.
- Sesso HD, Buring JE, Christenetal WE. (2008).** “Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the physicians' health study II randomized controlled trial.” *The Journal of the American Medical Association*; 300(18):2123–2133.
- Shackleton CM, Timmermans HG, Nongwe N, Hamer N, Palmer NR. (2007).** Direct-use values of non-timber forest products from two areas on the Transkei Wild Coast. *Agrekon*; 46:113–134.
- Shalaby AM, Khattab YA, Abdel Rahman AM. (2006).** Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*; 12:172–201.
- Shapiro J, Smith H, Schaffner F (1979).** Serumbilirubin : a prognostic factor in primary biliary cirrhosis. *Gut* ,20 :137-140.
- Shastri A, Bonifati DM, Kishore U. (2013).** Innate immunity and neuroinflammation. *Mediators Inflammation*.
- Shmuelof L et Krakauer J (2011).** Are we ready for natural history of motor learning? *Neuron* 72(3) :469-76.
- Singh B, Bani S, Gupta D, Chandan B, Kaul A (2003).** Anti-inflammatory activity of “TAF” an active fraction from the plant *Barleria prionitis* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 85 :187-193.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and anti-oxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*; 299 : 152-178.
- Sinha K. (1972).** Colorimetric assay of catalase. *Analyze biochemistry*, 47, 389-394.
- Smith A. and Bruton J., (1997)** Color atlas of histological staining techniques, *Medical Publishers, Inc. Chicago* :192pp.

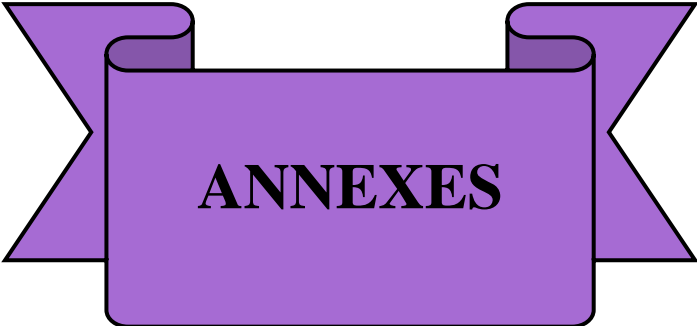


- Snowdon D., Greiner L., Mortimer J., Riley K., Greiner K., Markesbery W. (1997).** Brain infarction on the clinical expression of Alzheimer disease. *The Nun Study*, 277: 813-817.
- Sollvander S, Nikitidou E, Brolin R, Soderberg L, Sehlin D, Lannfelt L, et al. (2016).** Accumulation of amyloid-Ab by astrocytes result in enlarged endosomes and microvesicle-induced apoptosis of neurons. *Molecular Neurodegenerative*; 11:38.
- Sood 1A. (1999).** Principles of testing for acute toxic effect G. *Toxicology, Sarup Sons, New Delhi*, 111-113.
- Spooren A, Kolmus K, Laureys G, Clinckers R, De Keyser J, Haegeman G, et al. (2011).** Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain Res Rev*; 67:157–83.
- Squire Larry R (2009).** Memory and brain systems: 1969-2009. *The journal of neuroscience*, 29(41) :12711-12716.
- Subrata KB. (2016).** Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 9.
- Sutinen EM, Pirttila T, Anderson G, Salminen A, Ojala JO. (2012).** Pro-inflammatory interleukin-18 increases Alzheimer's disease-associated amyloid-b production in human neuron-like cells. *J Neuroinflammation*; 9:199.
- Tapsell LC, Hemphill, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M, et al. (2006).** Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Medecal Journal of Australia*; 185: S4–S24.
- Tchoumtchoua J, Mouchili O, Ateba B, Zingue S, Halabalaki M, Mbanya C, Skaltsounis A-L, Njamen D (2014).** Safety assessment of the methanol extract of the stem bark of *Amphimas pterocarpoides* harms: acute and subchronic oral toxicity studies in Wistar rats. *Toxicology Report*, 1 :877-884.
- Ter Horst GJ, Wichmann R, Gerrits M, Westenbroek C, Lin Y. (2009).** Sex differences in stress responses: focus on ovarian hormones. *Physiology and Behavior*; 97: 239–249.
- Terman GW, Bonica JJ. (2003).** Spinal mechanisms and their modulation. In: *Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk DC, eds. Bonica's Management of Pain. 3rd ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Lippincott Williams and Wilkins*;73.
- Thakur VD, Mengi SA, (2005).** Neuropharmacological profile of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk. *Journal of ethnopharmacology*. 102 (1):23-31.
- Tiraboschi P, Hansen L, Thal L, Corey-Bloom J. (2004).** The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. *Neurology*; 62(11):1984-1989.

- Topak R, Süeri S, Çalışır SC. (2005).** Investigation of the energy efficiency for raising crops under sprinkler irrigation in a semi-arid area. *Applied Engineering in Agriculture*, 21(5), 761-768.
- Traoré F (1999).** Evaluation de l'activité antimalarique de *Glinus oppositifolius* (L). A.D.C., *Nauclea latifolia* (SM)., *Mitragyna inermis* (Willd) O Kuntze, trois plantes utilisées en médecine traditionnelle au mali. Thèse de doctorat Univ. Médit. Aix Marseille 199pp.
- Tucker, L. B., and McCabe, J. T. (2017).** Behavior of Male and Female C57BL/6J Mice Is More Consistent with Repeated Trials in the Elevated Zero Maze than in the Elevated Plus Maze. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, pp11.
- Tuppo EE, Arias HR. (2005).** The role of inflammation in Alzheimer's disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*; 37: 289-305.
- Varrassi G, Hanna M, Macheras G, Montero A, Perez A, Meissner W, Perrot S, Scarpignato C (2017).** Multimodal analgesia in moderate-to-severe pain: a role for a new fixed combination of dexketoprofen and tramadol. *Current Medical Research and Opinion*, 33(6) : 1165-1173.
- Verkhratsky A, Olabarria M, Noristani HN, Yeh C-Y, Rodriguez JJ. (2010).** Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*; 7:399–412.
- Vinet J, van Weering HR, Heinrich A, Kälin RE, Wegner A, Brouwer N, et al. (2012).** Neuroprotective function for ramified microglia in hippocampal excitotoxicity. *Journal of Neuroinflammation*; 9:27.
- Vogel HG. (2002).** Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. 2nd edition, Berlin: Springer, p. 1014.
- Von Bernhardi R, Tichauer JE, Eugén J. (2010).** Aging-dependent changes of microglial cells and their relevance for neurodegenerative disorders. *Journal of Neurochemistry*; 112:1099–114.
- Vorhees CV & Williams MT. (2006).** Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848–858.
- Walf AA, Paris JJ, Frye CA (2009)** Chronic estradiol replacement to aged female rats reduces anxiety-like and depression-like behavior and enhances cognitive performance. *Psychoneuroendocrinology*;34: 909–916.
- Wallace M, Luine V, Arellanos A, Frankfurt M (2006).** Ovariectomized rats show decreased recognition memory and spine density in the hippocampus and prefrontal cortex. *Brain Research*, 1126(1) : 176-182.

- Wang H, Wang H, Cheng H, Che Z (2016).** Ameliorating effect of luteolin on memory impairment in an Alzheimer's disease model. *Mocular medicine repports*, 13(5) :4215-4220.
- Wang H-L, Morales M (2009).** Pedunculopontine and laterodosal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and GABAergic neurons in the rat. *The European journal of neuroscience*, 29(2) :10.1111/j.1460-9568.
- Westwood R (2008).** The female rat reproductive cycle : a practical histological guide to staging. *Toxicology pathology*, 36(3) :375-384.
- Whittington RA, Planel E, Terrando N. (2017).** Impaired resolution of inflammation in Alzheimer's disease: a review. *Frontiers in Immunology*; 8:1464.
- Wilbur, K., Bernhein, F., Shapiro, O. (1949).** Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 24, 3959-3964.
- Winblad B. (2005).** Piracetam: a review of pharmacological properties and clinical uses. *CNS Drug Review*; 11(2):169-82.
- Wu J, Bie B, Yang H, Xu JJ, Brown DL, Naguib M. (2013).** Suppression of central chemokine fractalkine receptor signaling alleviates amyloid-induced memory deficiency. *Neurobiology of Aging*; 34:2843–52.
- Wu WW, Damani NB, Daniel MD, John PA, James M. (2013).** Ovarian Hormone Loss Impairs Excitatory Synaptic Transmission at Hippocampal CA3–CA1 Synapses. *Neurobiology of Disease. The Journal of Neuroscience*; 33(41):16158–16169.
- Wu Y, Beiser A, Breteler M, Fratiglioni L, Helmer C, Hendrie H, Honda H, Ikram M, Langa K, Lobo A, Matthews F, Ohara T, Perse K, Qui C, Sshadri S, Sjolund B, Skoog I, Bryane C (2017).** The changing prevalence and incidence of dementia over time-current evidence. *Nature reviews neurology*, 13(6) :327-339.
- Xanthos DN, Sandkühler J. (2014).** Neurogenic neuroinflammation: inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nature Reviews of Neuroscience* ;15,43–53.
- Yaffe KG, Sawaya IL, Grady D. (1998).** Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia, *JAMA*; 279: 688–695.
- Yoshitake T, Kehr J, Yoshitake S, Fujino K, Nohta H, Yamaguchi M (2004).** Determination of serotonin, noradrenaline, dopamine and thier metabolites in rat brain extracts and microdialysis samples by column liquid chromatography with fluorescence detection following derivatization with fluorescence detection following derivatization with benzylamine and 1,2-diphenylethylnediamine. *Journal of chromatogr B: analytical technologies in the biomedical and life science*. 807(2) :117-83.

- Yun HM, Jin P, Park KR, Hwang JR, Jeong HS, Kim EC, Jung JK, Oh KW, Hwang BY, Han SB, Hong JT. (2016).** Thiacremonone potentiates anti-oxidant effects to improve memory dysfunction in an APP/PS1 transgenic mice model. *Molecular Neurobiology*; 53 (4): 2409–2420.
- Yusuf, Abayomi, Fagbuaro SS, Fajemilehin SOK. (2018).** Chemical composition, phytochemical and mineral profile of garlic (*Allium sativum*). *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*; 3(5): 105-109.
- Zachary Z, Kathryn F, Hanna Grol-Prokopczyk, Anna Z. (2022).** A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors. *Pain*.1;163(9):1740-1750.
- Zemo GF, Djiogue S, Ketcha WGJM, Seke EPF, Yonkeu TFG, Djikem TRN, Awounfack CF, et Njamen D. (2017).** Fourteen Days Post-Ovariectomy Estrogens Decline Is Associated with Anxiogenic Effects on Wistar Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5: 869-876.
- Zhang K, Grady C, Tsapakis E, Andersen S, Tarazi F, Baldessarini R (2004).** Regulation of working memory by dopamine D4 receptor in rats. *Neuropsychopharmacology*, 29 :1648-1655.
- Zhang S, Luo d, Li L, Tan R-R, Xu T-T, Zhang R, Yang L, Wang Q (2017).** Ethyl acetate extract components of *Bushen-yizhi* formula provides neuroprotection aagainst scopolamine-induced cognitive impairment. *Scientific report*, 7 :9824(2017).
- Zhao J, O'Connor T, Vassar R. (2011).** The contribution of activated astrocytes to Amyloid beta production: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neuroinflammation*; 8:150.
- Zingue S, Foyet S, Djiogue S, Ezo'o Y, Ngatanko H, Fochagbo P, Njamen D (2018).** Effects of *Ficus umbellata* (Moraceae) aqueous extract and 7-Methoxycoumarin on scopolamine-induced spatial memory impairment in ovariectomized Wistar rats. *Behavioural neurology*, 2018 :5751864.
- Zingue S, Njamen D, Tchoumtchoua J, Halabalaki M, Simpson E, Clyne C (2013).** Effects of *Millettia macrophylla* (Fabaceae) extracts on estrogen target organs of female Wistar rat. *Journal of Pharmacological Sciences*, 13094FP ; 123: 120-131.



## **Annexe-1-Préparation des solutions et tampons**

### **Annexe-1.1-Substances de références**

Les substances de références utilisées ont été préparés de la manière suivante :

- La solution de diazépam 1 mg/mL a été préparée en introduisant 1 ampoule de diazépam (10 mg/2 mL) dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 10 mL ;
- La solution piracetam 30mg/mL a été préparé en introduisant un comprimé de 800mg de piracetam (Nootropyl<sup>®</sup>) dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 26,66 mL ;
- La solution de Prométhazine 0,1mg/mL a été préparé en introduisant un comprimé de 25mg de Prométhazine (Phénergan<sup>®</sup>) dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 25mL ;
- La solution de cyproheptadine 0,2 mg/mL a été préparé en introduisant un comprimé de 4mg de cyproheptadine (NURABOL<sup>®</sup>) dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 20mL ;
- La solution de Tramadol 2 mg/mL a été préparé en introduisant un comprimé de 50 mg dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 25mL ;
- La solution d'œstradiol valérate 0,1 mg/mL a été préparé en introduisant un comprimé de 2mg d'œstradiol valérate dans une fiole jaugée et de l'eau distillée a été utilisé pour compléter le volume final à 20mL.

### **Annexe-1.2. Tampons utilisés pour la préparation des homogénats**

Le tampon utilisé pour la réalisation des homogénats du cerveau a été le tampon Tris 50 mM ; pH = 7,4 ; tandis que le Mc Even a été utilisé pour l'utérus.

S'agissant de la préparation du tampon Tris, 1,21 g de tris base (NaHPO<sub>4</sub>) et 2,79 g de chlorure de potassium (KCl) ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume total de 250 mL. Le pH a été ajusté à 7,4 par ajout d'acide chlorhydrique (HCl) 11,8 N et le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

En ce qui concerne la solution de Mc-Even, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g de CO<sub>3</sub>NaH, 0,03 g de MgCl<sub>2</sub> et 2 g de C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume de 500 mL (solution A). Ensuite, 0,28 g de CaCl<sub>2</sub> ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume de 50 mL (solution B). Les solutions A et B ont été mélangées et le volume complété à 1000 mL par ajout d'eau distillée.

### **Annexe-1.3. Solutions et tampons utilisés pour le dosage de quelques marqueurs du statut oxydant *in vivo***

Les solutions et tampons utilisés pour le dosage des marqueurs du statut oxydant étaient :

- **Tampon carbonate (0,05 M ; pH = 10,2)**

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

- **Solution d'adrénaline 0,06 mg/mL**

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

- **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

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

- **Solution de dichromate de potassium 5 %/acide acétique glacial**

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

- **Tampon phosphate (0,1 M ; pH = 6,5)**

Le tampon phosphate a été préparé en faisant dissoudre 8,9 g de phosphate disodique hydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ;  $\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL (solution A). 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ;  $\text{H}_2\text{O}$ ) ont été dissous dans 250 mL d'eau distillée, puis le volume a été complété à 500 avec de l'eau distillée (solution B). Le pH de la solution B a été ajusté à 6,5 avec la solution A.

- **Réactif de Ellman**

Pour la préparation du réactif de Ellman, 5 mg d'acide 2-dithio bis-nitrobenzène (DTNB) ont été dissous dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH = 6,5) pour un volume final de 250 mL.

- **Solution d'acide trichloroacétique 20 %**

La solution d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % a été obtenue en dissolvant 20 g de TCA dans de l'eau distillée pour un volume total de 100 mL.

- **Solution d'acide thiobarbiturique 0,67 %**

La solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % a été obtenue en dissolvant 0,67 g de TBA dans 50 mL d'eau distillée. Le volume a ensuite été complété à 100 mL par ajout d'eau distillée.

- **Solution de sulfanilamide 1 %**

La solution de sulfanilamide a été obtenue en dissolvant 1 g de sulfanilamide anhydre dans de l'acide phosphorique 2,5 %, pour un volume final de 100 mL.

- **Solution de naphthyléthylènediamine 0,1 %**

La solution de naphthyléthylènediamine 0,1 % (NED 0,1 %) a été obtenue par dissolution de 0,1g de NED dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 mL.

- **Solution standard de nitrite de sodium 1 mM**

Pour la préparation de la solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) 1 mM, 0,69 g de  $\text{NaNO}_2$  anhydre ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume total de 10 mL.

- **Solution standard de nitrite de sodium 1  $\mu\text{M}$**

La solution de nitrite de sodium 1  $\mu\text{M}$  a été obtenue par dilution de la solution de  $\text{NaNO}_2$  1 mM au 1/1000<sup>e</sup>, avec de l'eau distillée.

- **Réactif de Griess**

Le réactif de Griess a été obtenu en mélangeant, à l'abri de la lumière, les solutions de NED 0,1 % et de sulfanilamide 1 % dans des proportions égales (v/v).

### **Annexe-1.3. Solutions utilisées pour le dosage des protéines**

Les solutions utilisées ont été : la solution de Biuret et la solution de sérum albumine bovin.

- **Solution de sérum albumine bovin (3 mg/mL)**

La solution de sérum albumine bovin (SAB) à la concentration de 3 mg/mL, a été obtenue en dissolvant 150 mg de SAB dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL.

- **Réactif de Biuret**

Le réactif de Biuret a été préparé en dissolvant 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium dans de l'eau distillée pour un volume total de 100 mL (solution A). Ensuite, 15 g d'hydroxyde de sodium ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume total de 100 mL (solution B). Les solutions A et B ainsi obtenues ont été mélangées et le volume final a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée.

### **Annexe-1.4. Solutions utilisées pour le nettoyage des dispositifs et la conservation des organes**

La solution utilisée pour le nettoyage des dispositifs était l'éthanol 70% tandis que le Formol 10% a été utilisé pour la conservation des organes. Ces solutions étaient préparées comme suite :



• **Ethanol 70%** : la préparation s'est faite par dilution de l'éthanol 95% (BDH Laboratory Reagents) grâce à la table de dilution d'alcool de Gay-Lussac (voir annexe) ;

• **Formol 10%** : la préparation s'est faite à partir du formol commercial (formol 37%). Pour un volume final (Vf) de 1000 mL, un volume initial (Vi) de 270,27 mL a été introduit dans une éprouvette graduée et le Vf a été atteint par ajout d'eau distillée. La formule est la suivante :

**Ci. Vi = Cf. Vf** : Ci = concentration initiale de formol (37%) ;

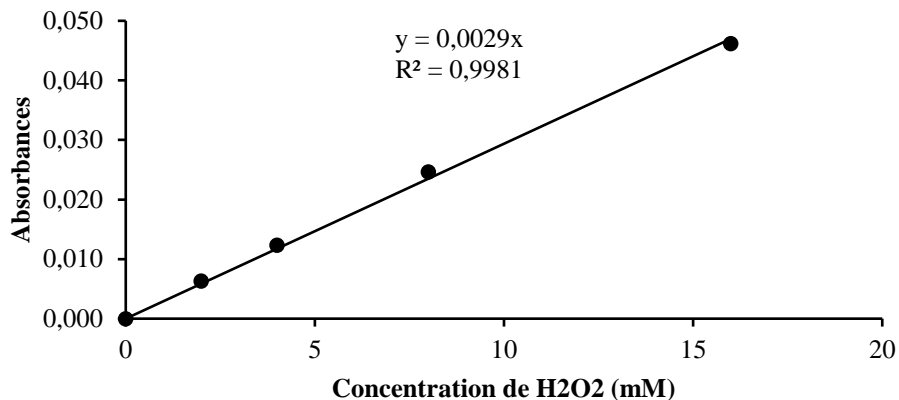
Vi = volume de formol 37% à introduire dans l'éprouvette ;

Cf = concentration désirée (10%) ;

Vf = volume de formol dilué désiré (1000 mL)

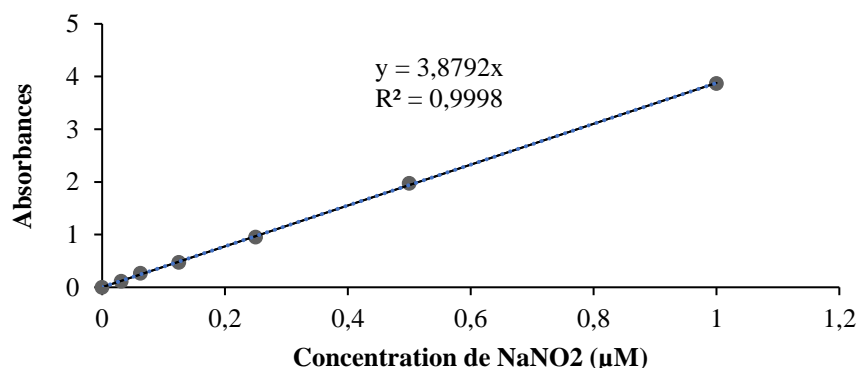
### Annexe-1.5- Courbes d'étalonnage du dosage de quelques paramètres biochimiques

- **Courbes d'étalonnage du dosage des paramètres du stress oxydants**



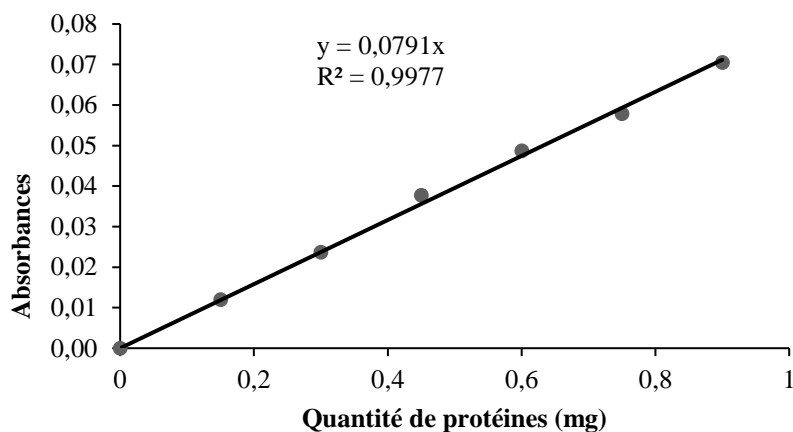
#### Annexe-1.5.1 : Courbe d'étalonnage du dosage de la Catalase

**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**=concentration de **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** (en **μM**) ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation



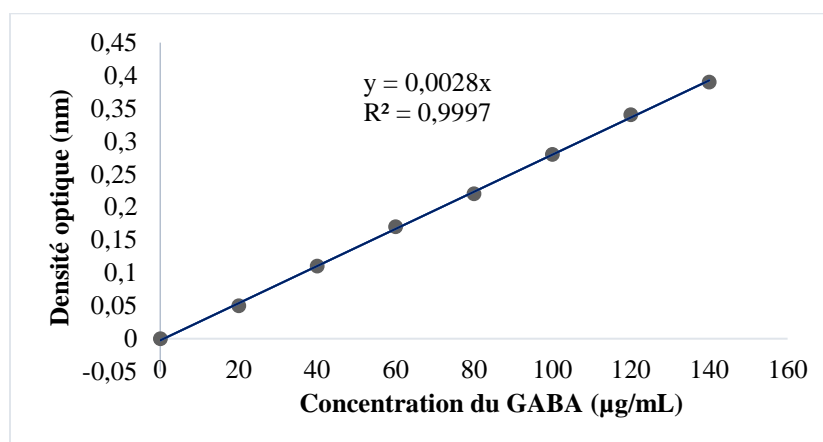
#### Annexe-1.5.2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des nitrites

**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**=concentration de NaNO<sub>2</sub> (en **μM**) ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation



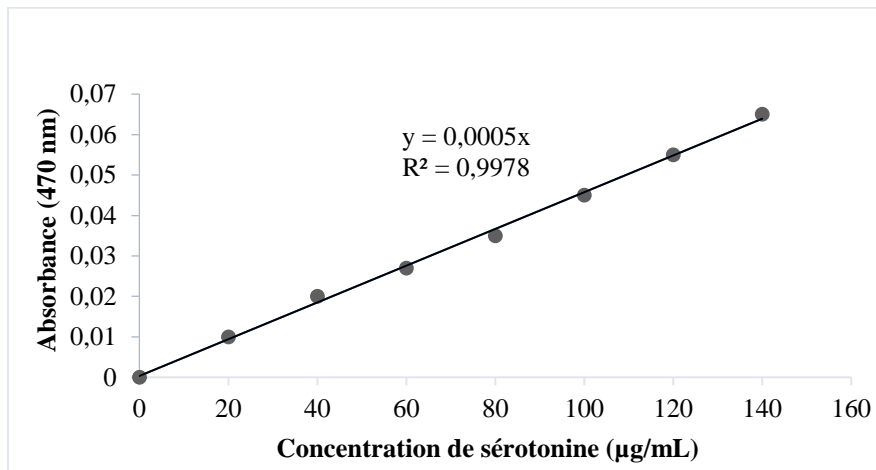
**Annexe-1.5.3 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**=Quantité de protéines (en mg) ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation



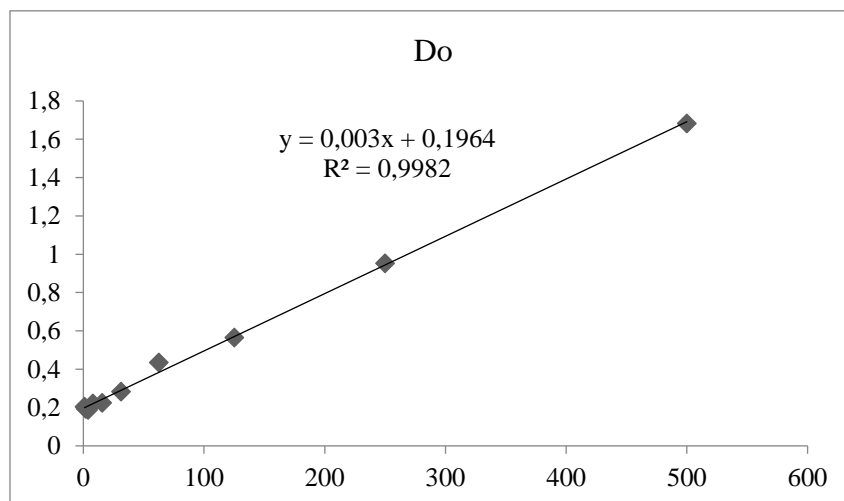
**Annexe-1.5.4 :** Courbe d'étalonnage du dosage de l'acide gamma aminobutyrique

**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**=concentration de GABA (en µg/mL) ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation



**Annexe-1.5.5** : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la sérotonine

**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**=concentration de sérotonine (en µg/mL) ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation

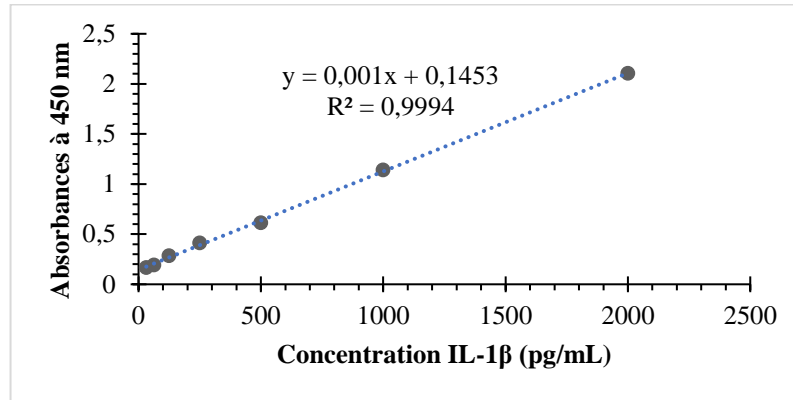


**Annexe-1.5.6** : courbe d'étalonnage de la teneur en polyphénols

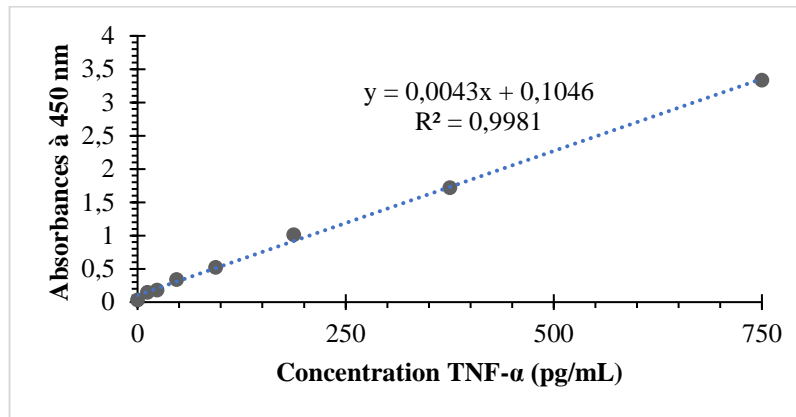
**Y**=absorbance (densité optique) ; **X**= teneur en polyphénols ; **R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation

- **Courbes de dosage des cytokines pro et anti-inflammatoires**

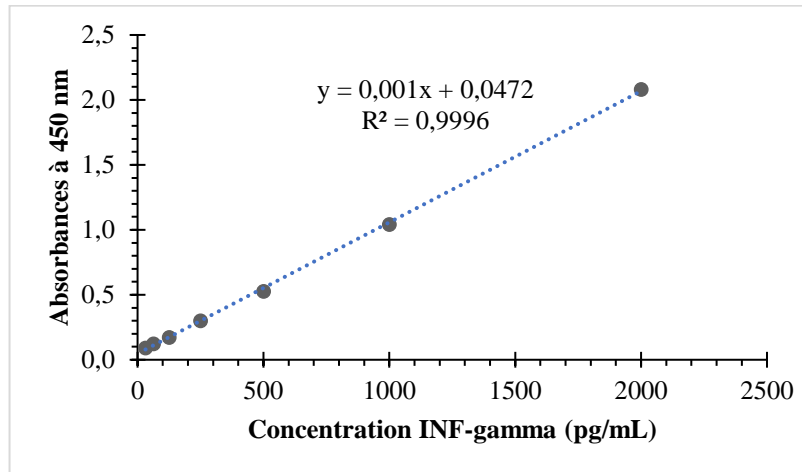
Les courbes d'étalonnage ont été tracées en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations des différentes cytokines (TNFα ; IFN-γ, IL-1 β, IL-4, IL-6 ou IL-10) :



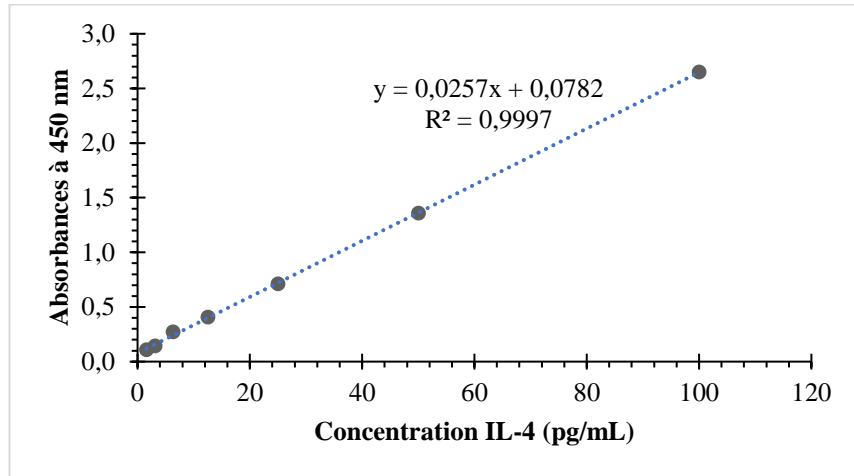
**Annexe-1.5.7 :** Courbe d'étalonnage de l'IL-1 $\beta$



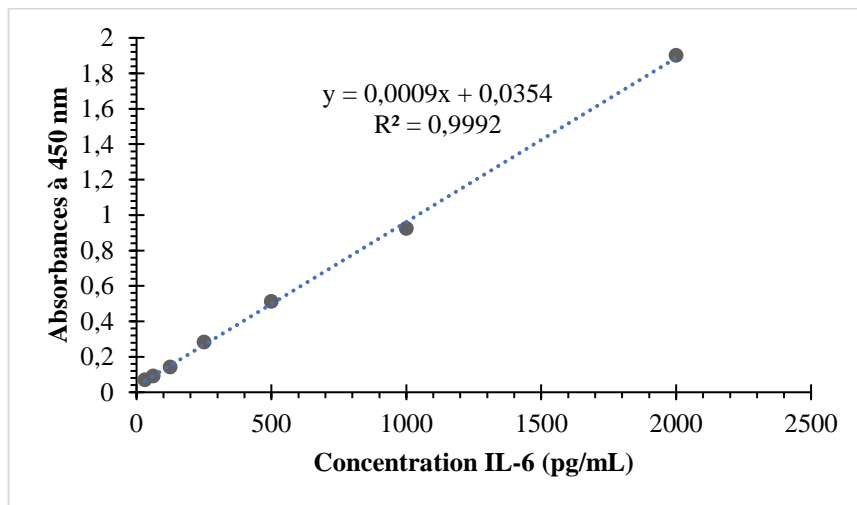
**Annexe-1.5.8 :** Courbe d'étalonnage de TNF- $\alpha$



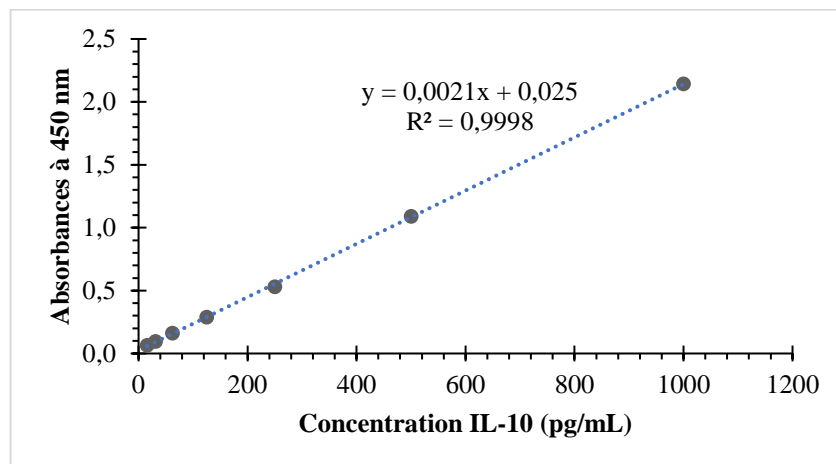
**Annexe-1.5.9 :** Courbe d'étalonnage de l'INF- $\gamma$



**Annexe-1.5.10 : Courbe d'étalonnage de l'IL-4**



**Annexe-1.5.11 : Courbe d'étalonnage de l'IL-6**



**Annexe-1.5.12 : Courbe d'étalonnage de l'IL-10**

## Annexe-2- Table de dilution d'alcool (table de Gay-Lussac)

La dilution de l'alcool a été réalisé grâce à la table de Gay-Lussac encore appelé table de mouillage de l'alcool.

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	<b>105,34</b>	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Les chiffres en noir indiquent la quantité d'eau en mL à ajouter à 100mL d'alcool de concentration initiale X (en bleu) pour obtenir la concentration désirée.

Exemple : la table indique qu'il faut ajouter **105,34 mL** d'eau à 100mL d'alcool à 90° pour obtenir de l'alcool à 45°.

Attention : Le volume final est inférieur à la somme des volumes mis en jeu ! C'est le phénomène dit de « contraction de volume », variable en fonction du titre de l'alcool initial.

A purple ribbon graphic with a central rectangular section and two flared ends. The central section contains the text "LISTE DES PUBLICATIONS" in a bold, black, serif font.

**LISTE DES  
PUBLICATIONS**

## LISTE DES PUBLICATIONS

**Djikem Tadah Rudig Nikanor**, Djiogue Sefirin, Zemo Gamo Franklin, Nguefack Julienne, Ebanga Ebanga Benoit Didy, Oluwabusayo Rachael Folarin, James Olukayode Olopade and Njamen Dieudonné. (2022). Neuroprotective Effects of a Cameroonian Drink, « tenghõ », on Memory Impairment and Neuroinflammation Induced by Scopolamine on Ovariectomized Wistar Rat. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*. 41(3).

**Djikem Tadah Rudig Nikanor**, Bogning Zangeu Calvin, Ateba Sylvain Benjamin, Zemo Gamo Franklin, Nguefack Julienne, Djiogue Sefirin, Dongmo Alain Bertrand, Njamen Dieudonne. (2022). Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of « tenghõ »: A Drink Made from Some Cameroon Spices. *Biology and Medicine*.14:476.



# Neuroprotective Effects of a Cameroonian Drink, *Tenghõ*, on Memory Impairment and Neuroinflammation Induced by Scopolamine on Ovariectomized Wistar Rat

Djikem Tadah Rudig Nikanor<sup>1</sup>, Djiogue Sefirin<sup>1\*</sup>, Zemo Gamo Franklin<sup>1-3</sup>, Nguefack Julienne<sup>4</sup>, Ebanga Ebanga Benoit Didy<sup>1</sup>, Oluwabusayo Rachael Folarin<sup>5</sup>, James Olukayode Olopade<sup>6</sup> and Njamen Dieudonné<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

<sup>2</sup>Department of Psychology, Faculty of Arts, Letters and Social Science, University of Yaounde I, Cameroon

<sup>3</sup>Department of health, Private Bilingual Higher Institute les Armandins, University of Ngaoundere, Cameroon

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, Cameroon

<sup>5</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Faculty of Basic Medical Sciences, College of Medicine, University of Ibadan, Nigeria

<sup>6</sup>Comparative Anatomy, Environmental Toxicology and Neuroscience Unit, Department of veterinary Anatomy, University of University of Ibadan, Nigeria

\*Corresponding author: Djiogue Sefirin, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O. Box. 812, Yaounde, Cameroon

## ARTICLE INFO

**Received:**  January 18, 2022

**Published:**  January 31, 2022

**Citation:** Djikem Tadah Rudig Nikanor, Djiogue Sefirin, Zemo Gamo Franklin, Nguefack Julienne, Ebanga Ebanga Benoit Didy, et al., Neuroprotective Effects of a Cameroonian Drink, *Tenghõ*, on Memory Impairment and Neuroinflammation Induced by Scopolamine on Ovariectomized Wistar Rat. Biomed J Sci & Tech Res 41(3)-2022. BJSTR. MS.ID.006611.

**Keywords:** "*Tenghõ*"; Neuroprotection; Memory; Ovariectomy; Scopolamine; Neuroinflammation

**Abbreviations:** OVX: Negative Control; PIRA: Positive Control; CNS: Central Nervous System; AD: Alzheimer's Disease; MWM: Morris Water Maze; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide Dismutase; DPX: Dibutyl Phthalate Xylene; SEM: Standard Error of the Mean

## ABSTRACT

**Background:** *Tenghõ* is a drink made by several Cameroonian spices including *Zingiber officinale*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Petroselinum crispum*, and Bee propolis. In Cameroon, the drink is empirically used for the treatment of inflammation, pain and anxiety. In our previous studies, *Tenghõ* shows an anti-inflammatory and analgesic activity. Knowing the link between inflammation, oxidative stress and neurodegenerative disorders, the present study aimed to assess neuroprotective effects of *Tenghõ* on memory impairment and neuroinflammation induced by Scopolamine on ovariectomized Wistar rat.

**Material and Methods:** Twenty-five females Wistar rat were ovariectomized and divided in 5 groups of 5 animal each: Negative control (OVX), Positive control (PIRA), tests groups (TEN 200, TEN 400 and TEN 600). Five others animals were used as Sham. After 28 days of estrogen decline, all animal received Scopolamine (0.6 mg/kg, i.p.) during 14 days, excepted the sham group. The drink was administered orally from day 28 post ovariectomy to day 51 at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg. At the days 38 and 46 post ovariectomy, animals were suggested to the Y maze and Morris water maze tests respectively. Animals were sacrificed after 52 days post ovariectomy and brains were harvested. Pathologies were assessed using biochemical essay, H&E and cresyl violet staining as well as immunohistochemistry (Iba-1 and GFAP).

**Results:** As results, compare to the Negative control group, the treatment with *Tenghõ* induced a decrease of the latency time of first entry in the target quadrant and an increased ( $p < 0.01$ ) of the percentage of time spent in the target quadrant at the dose of 200 mg/kg in Morris water maze test. The *Tenghõ* drink at the dose of 600 mg/kg induced an increase of time spend in the novel arm of Y maze device in comparison to

the Negative control group. Compared to the Negative control group, *Tenghō* treatment induced a significant ( $p < 0.05$ ) decrease of MDA level at the dose of 400 mg/kg and a significant ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ;  $p < 0.001$ ) increase of SOD (at the dose of 600 mg/kg) and Nitrite (at all tested doses) levels as well as catalase (at the dose of 200 mg/kg) activity. The analysis of H&E and cresyl violet staining section showed that treatment with the drink resulted in the preservation of cellular integrity of the hippocampus and cingulate cortex. The treatment with *Tenghō* also induced a reduction of microglial and astroglial activation in the cingulate cortex.

**Conclusion:** Taken altogether, these results showed that *Tenghō* could improve spatial, short- and long-term memory and prevent neuroinflammation.

## Introduction

Neurodegenerative diseases are defined as hereditary and sporadic conditions, which are characterized by progressive nervous system dysfunction. They include diseases such as Alzheimer's Disease (AD) and other dementias, Brain Cancer, Epilepsy, Stroke, Parkinson's Disease, Multiple Sclerosis, Huntington's Disease, and others. Alzheimer's disease is the most common form of dementia and is characterized by a progressive decline in cognitive function Farooqui [1]. Alzheimer's Disease damages the cerebral cortex, a vulnerable brain region implicated in memory, emotion, cognition, and decision-making behavior and is characterized by progressive neuronal loss, but the mechanisms of cell death at different stages of the disease remain unknown Darya, et al. [2]. Care and support of patients with dementia has wide-ranging consequences for families, health-care systems, and society as a whole Etters, et al. [3]. The vast majority of women experience spontaneous cessation of menstruation between the ages of 47 and 55 and the physiological changes associated with menopause cause uncomfortable symptoms in some women. Most importantly, estrogen deprivation resulting from menopause, in combination with age-related factors, disproportionately increases the risk of many neurodegenerative diseases, such as AD Yaffe, et al. [4].

In women, circulating ovarian hormones not only play a main role in reproductive behavior and sexual differentiation, they also contribute to emotion, memory, neuronal survival and the perception of somatosensory stimuli Gasbarri, et al. [5,6]. Ovarian hormones have also been suggested to regulate affective disorders and learning memory beyond their role in pain modulation Gasbarri, et al. [5]. In experimental animals, ovariectomized is a common method to deplete animals of their gonadal hormones. In females, the absence of the ovaries induces a drastic decrease of circulating estrogens Zhao, et al. [7]. Inflammation is increasingly recognized as a causal factor in the pathology and chronic nature of central nervous system (CNS) disease Block, et al. [8]; while diverse environmental factors have been implicated in neuroinflammation

leading to CNS pathology Craig, et al. [9]. For that, a combinatorial cocktail approach is suggested as a rationale intervention to attenuate chronic inflammation and confer neuroprotection in Alzheimer's disease (AD) Mc Larnon [10]. The requirement for an assemblage of pharmacological compounds follows from the host of pro-inflammatory pathways and mechanisms present in activated microglia in the disease process Mc Larnon [10]. In this study, we used the *Tenghō's* drink as a combinatorial approach to relieve memory disorders.

*Tenghō* is a drink made by several Cameroonian spices including Zingiber officinale, Allium sativum, Cymbopogon citratus, Ocimum basilicum, Petroselinum crispum, and Bee propolis. In Cameroon, the drink is empirically used for the treatment of inflammation, pain and anxiety. In our previous studies (not yet published), *Tenghō* shows an anti-inflammatory and analgesic activities. Knowing the link between inflammation, oxidative stress and neurodegenerative disorders, the present study aimed to assess neuroprotective effects of *Tenghō* on memory impairment and neuroinflammation induce by scopolamine on ovariectomized Wistar rat.

## Material and Methods

### Plant Collection and Preparation of *Tenghō's* Drink

The ingredients used for the preparation of *Tenghō* were collected in Dschang (West Region of Cameroon), and consist of garlic (*Allium sarivum*), basil (*Ocimum basilicum*), parsley (*Petroselinum crispum*), lemon grass (*Cymbopogon citratus*) and propolis. The mixture of these ingredients was macerated in 40% ethanol. The filtrate obtained after filtration with a Wattman paper No4 was lyophilized to obtain a crude dry extract. The therapeutic dose of 400 mg/kg was extrapolated from the traditional used in humans and surrounded by the doses of 200 and 600 mg/kg.

### Experimental Animals

Adult female Wistar rats (7-8 weeks old, 115-150 g) were used for the test. Healthy animals were bred in the animal house of the Department of Animal Biology and Physiology, University

of Yaounde I. They were maintained under normal laboratory condition of temperature ( $25 \pm 2$  °C) with a natural ~12 h light/dark cycle. Animals had free access to tap water and soy free rat chow ad libitum. Animal handling and experiments were carried out in conformity with the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609; Reg.no.FWA-IRD0001954) guidelines adopted by the Institutional Ethics Committee of the Cameroon Ministry of Scientific Research and Technology Innovation.

## Chemicals

Scopolamin (SCOPO) were obtained from Jiangsu Huayang pharmaceutical Co. Ltd Zhiongxing (China) and was used to induce neuroinflammation. Piracetam (Nootropyl®, PIR) was purchased from UCB SA, Braine-l'Alleud-(Belgium) and was used as reference drug.

## Behavioral Assessments

**Y Maze Task Test:** The Y-maze test is a recognition memory test used to assess short-term spatial working memory. It is a test sensitive to hippocampal damage, genetic manipulation and amnesic drugs. The Y-maze test is particularly useful as an initial test of memory function in rodents Krauter, et al. [11]. The device used was made of wood, and consisted of three arms (11 x 50 x 32 cm each) separated between them by an angle of 120°. The block allowing to close one arm of the device, was placed at 5 cm from the center of the device. In this study, the protocol described by Krauter, et al. [11] was used. All arm entries were noted sequentially so that the total number of arm entries, as well as the sequence of entries, was recorded. The time spend in the novel arm was recorded and percentage of good First arm entered was calculated according to de formula:

$$\% \text{ Good first arm entered} = \frac{\text{Number of good first arm choice}}{\text{Total number of animal per groupe}} * 100$$

**Morris Water Maze Test:** The Morris Water Maze (MWM) test is widely used to study spatial and long-term memory Morris [12,13]. The water maze used in this study was consists of a black round tank, which has a diameter of 150 cm and height of 54 cm and is filled with water to a depth of 38 cm. The submerged platform (9.0 cm in diameter; 1.0 cm below the water surface) is invisible in the target quadrant. Fixed, extra-maze visual cues were present at various locations around the maze (posters) in the room with constant brightness (25 lux). In this study, the protocol described by Vorhees and Williams was used Vorhees [14]. In the training session days, the latency time of entry in the target quadrant was recorded and at the day of test session (day 5), the latency time of entry, the number entry and the time spent in the target quadrant were recorded. All parameters were recorded by a video tracking system connected to a computer directly above the water tank. The

percentage of Time spent in the target quadrant was calculated according to the formula:

$$\% \text{ Time spent in target quadrant} = \frac{\text{Time spent in the target quadrant}}{\text{Total time spent in the device}} * 100$$

**Experimental Design:** Twenty-five females Wistar rat were ovariectomized and divided in 5 groups of 5 animal each: Negative control (OVX) and Positive control (PIRA) receiving distilled water, three tests groups (TEN 200, TEN 400 and TEN 600) receiving the *Tengho's* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Five others animals were used as Sham (Control group) and treated with distilled water. After 28 days of estrogen decline, all animal received an injection of Scopolamine (0.6 mg/kg, i.p.) during 14 days, excepted the sham group. The drink was administered orally from day 28 post ovariectomy to day 51. At the days 38 and 46 post ovariectomized, animals were suggested to the Y maze and Morris water maze tests respectively. Animals were sacrificed after 52 days post ovariectomy and brains were harvested. The right cerebral hemisphere was ground in Tris buffer for evaluation of oxidative stress parameters (MDA, SOD and nitrites levels and Catalase activity) in homogenate, while the right cerebral hemisphere was fixed in 10% formalin for H&E and cresyl violet staining as well as immunohistochemistry (Iba-1 and GFAP for microglia and astrocytes expression respectively).

## Biochemical Assay

The levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and Nitrites as well as Catalase activity were evaluated according to the protocols described by Wilbur, et al. [15-17] respectively

## Sectioning for Histology and Immuno-Histochemistry

Sections of 5-µm thickness were obtained from brain tissues embedded in paraffin wax using a standard microtome.

**Haematoxylin & Eosin and Cresyl Violet Staining:** Brain tissue sections were processed for and Hematoxylin & Eosin and cresyl violet staining based on the work of Dawson, et al. [18,19]. Sections were deparaffinized in 2 changes of xylene and thoroughly dehydrated in solutions of graded alcohol concentration (i.e. 100%, 90%, 80% and 70%). Sections were thoroughly rinsed in 2 changes of distilled water and stained. Immediately after staining, sections were dehydrated through descending alcohol grades (80%, 90%, and 100%), cleared in 2 changes of xylene, and subsequently mounted wet in dibutyl phthalate xylene (DPX) a synthetic mountant, with the use of coverslips. The slides were allowed to dry and prepared ready for microscopy.

**Immunohistochemically Labeling with Antibodies:** Immunostaining was done in accordance with the standard protocol described by Folarin, et al. [19]. Paraffin sections were dewaxed,

rehydrated and immersed in distilled water. Antigen retrieval was done in 10 mM citrate buffer (pH = 6.0) for 25 min, with subsequent peroxidase quenching in 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/methanol. All sections were blocked in 2% milk for 1 h to avoid non-specific background staining. Brain sections were immuno-labelled with the following antibodies: anti-Iba-1 (1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA) and anti-GFAP (1:1000; Dako, Denmark). Each antibody was diluted in 1% PBS milk and 0.1% Triton X detergent (to facilitate quick penetration of antibody) and incubated over night at 4°C. HRP-conjugated secondary antibodies in VECTA-STAIN kit (Vector Labs, Burlingame, USA) was subsequently used to detect the bound antibody based on the manufacturer's protocol. The end product of reaction was improved using 3, 3'-diaminobenzidine as a chromogen (DAB) (1:25 dilution) for 5 min. Sections were thoroughly dehydrated in solutions of graded alcohol concentrations, then passed through xylene, and mounted wet in DPX, cover slipped and allowed to dry. With identical light intensity and exposure settings, images were taken with a bright field microscope (Biomicroscope, YJ-2005 series) equipped with  $\times 4 \times 10$  and  $\times 40$  dry and  $\times 100$  oil objectives and a camera Inspiration Marvotek (MYCH-10 L) and AmScope TouView 3.2 software's connected to a monitor screen of a laptop computer.

### Statistical Analysis

All data were expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M) and analysed with one-way ANOVA followed by the

Dunnett post-test (GraphPad Prism® Software, version 5.03, San Diego, CA, USA). The p values < 0.05 were considered significant.

## Results

### Neuroprotective Effects of *Tenghō's* Drink on Memory Impairment Induced by Scopolamine on Ovariectomized Wistar Rat

**Effects of *Tenghō's* Drink on Spatial and Short-Term Memory Evaluate by the Y-Maze Test:** The analysis of results presented on (Figure 1) showed that compared to the Sham group, Scopolamine injection induced a non-significant decrease of the time spent in the novel arm (Figure 1A) and the percentage of good first arm entry (Figure 1B). In comparison to the negative control group, the treatment with the *Tenghō's* drink at the dose of 600 mg/kg as well as Piracetam induced a non-significant increase of the time spent in the novel arm (Figure 1A), while the *Tenghō's* drink at the dose of 200 and 600 mg/kg induced a non-significant increase of the percentage of good first arm entry (Figure 1B). Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M., n = 5 per group. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals, which received Scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals, which received Scopolamine and Piracetam 300 mg/kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received Scopolamine and *Tenghō's* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively.

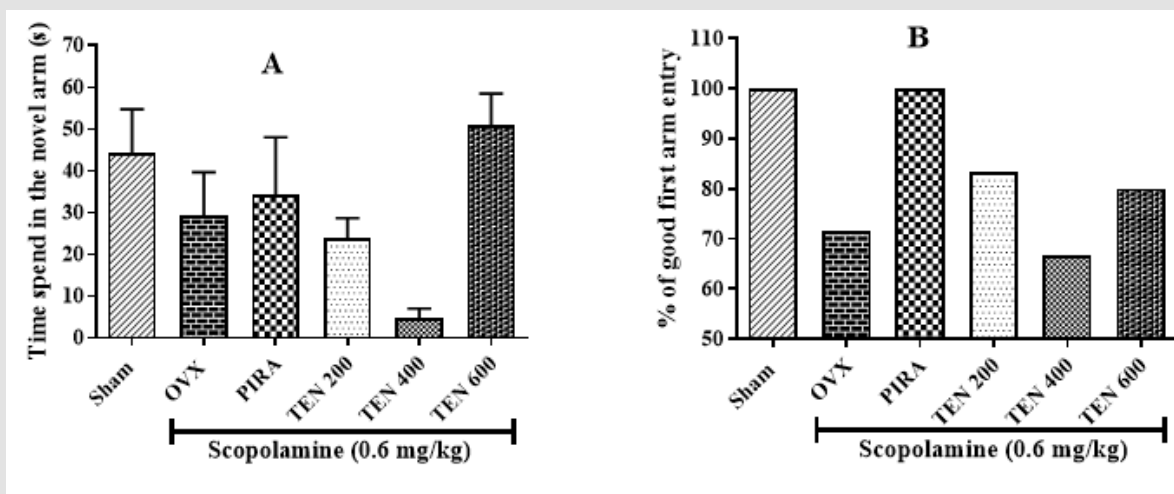


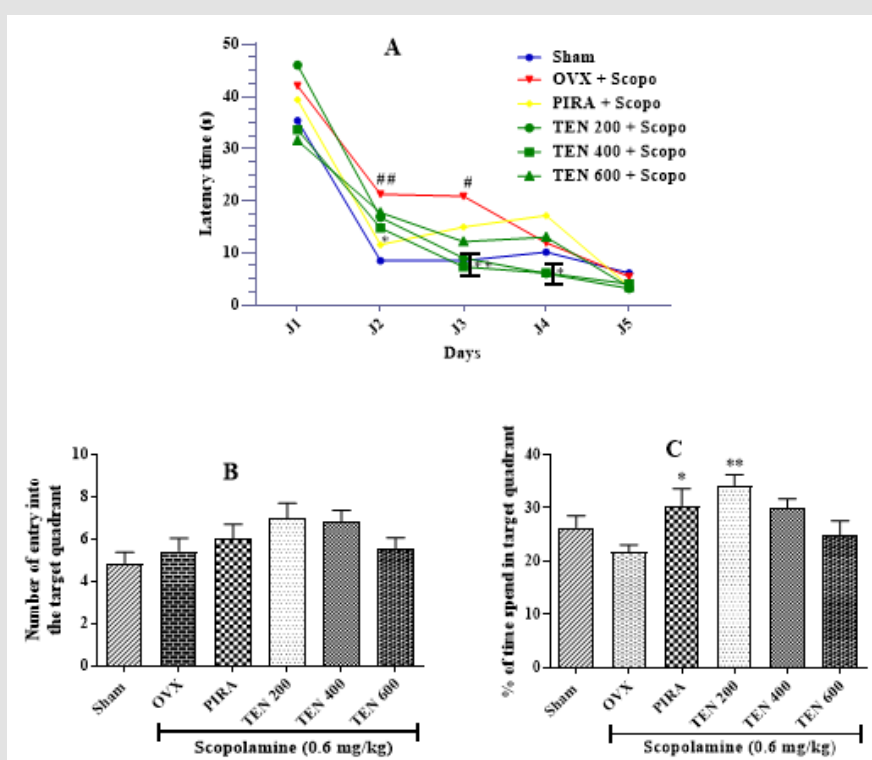
Figure 1:

- A. Effects of *Tenghō's* drink on the time spent in the novel arm and  
 B. The percentage of good first arm entry in the Y maze.

**Effects of *Tenghō's* Drink on Spatial and Long-Term Memory Evaluate by the Morris Water Maze Test:** The analysis of the latency time of entry into the target quadrant in the training session of the MWM test shows that compared to the Sham group, ovariectomized animal that received only Scopolamine showed an increase of this parameter (Figure 2A). This increase was significant ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ) in day 2 and 3. Animals treated with *Tenghō*, as well as Piracetam, showed a decreased latency time of entry into target quadrant compared to negative control group (Figure 2A). This effect was significant in day 3 ( $p < 0.01$ ) and day 4 ( $p < 0.05$ ) with the drink at the doses of 200 and 400 mg/kg (Figure 2A). In the day of test session (day 5), compared to the negative control group, the treatment with *Tenghō* drink induced a non-significant decrease of the latency time of entry into the target quadrant. (Figure 2B) presented the effect of *Tenghō* drink in the number of entry into the target quadrant at the day of test session (day 5). No significant difference was observed between Sham and OVX groups. Compared to the negative control group, *Tenghō* at doses of 200 and 400 mg/kg as well as Piracetam, induced a non-significant

increase in the number of entry into the target quadrant. At the day of test session (day 5), compared to the negative control group, ovariectomized animal treated with Scopolamine only induced a non-significant reduction of the percentage of time spent in the target quadrant (Figure 2C).

The administration of *Tenghō* at doses of 200 and 400 mg/kg as well as Piracetam, induced an increase of the percentage of time spent in the target quadrant in comparison to the negative control group. The effect was significant ( $p < 0.01$ ) with the drink at the dose of 200 mg/kg (Figure 2C). Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M.,  $n = 5$  per group. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals, which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals, which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  vs. Sham; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. OVX (one-way Anova followed by Dunnett's post test).



**Figure 2:** Effects of *Tenghō's* drink on latency time of entry into (A), the number of entry into (B) and the percentage of time spent (C) in the target quadrant of the Morris water maze.

**Effect of the *Tenghō's* Drink on Some Oxidative Stress Parameters:** The analysis of (Figure 3) shows that compared to Sham group, animals of negative control group presented a non-significant change in the MDA level (Figure 3A) and a significant ( $p < 0.01$ ;  $p < 0.05$ ) decrease of the of SOD and Nitrite levels and

the Catalase activity (Figure 3A, B and C respectively). The treatment of ovariectomized rat with *Tenghō's* drink induced a significant ( $p < 0.05$ ) decrease of the MDA level (dose 400 mg/kg, (Figure 3A), and a significant ( $p < 0.01$ ) increase of the of SOD (dose 600 mg/kg, (Figure 3B) and Nitrite (all tested dose, (Figure 3C) levels

and the Catalase activity (dose 200 mg/kg, (Figure 3D). Data are expressed as mean ± S.E.M., n = 5 per group. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals, which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals, which received scopolamine

and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. #p < 0.05, ##p < 0.01 vs. Sham; \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. OVX (one-way Anova followed by Dunnett's test).

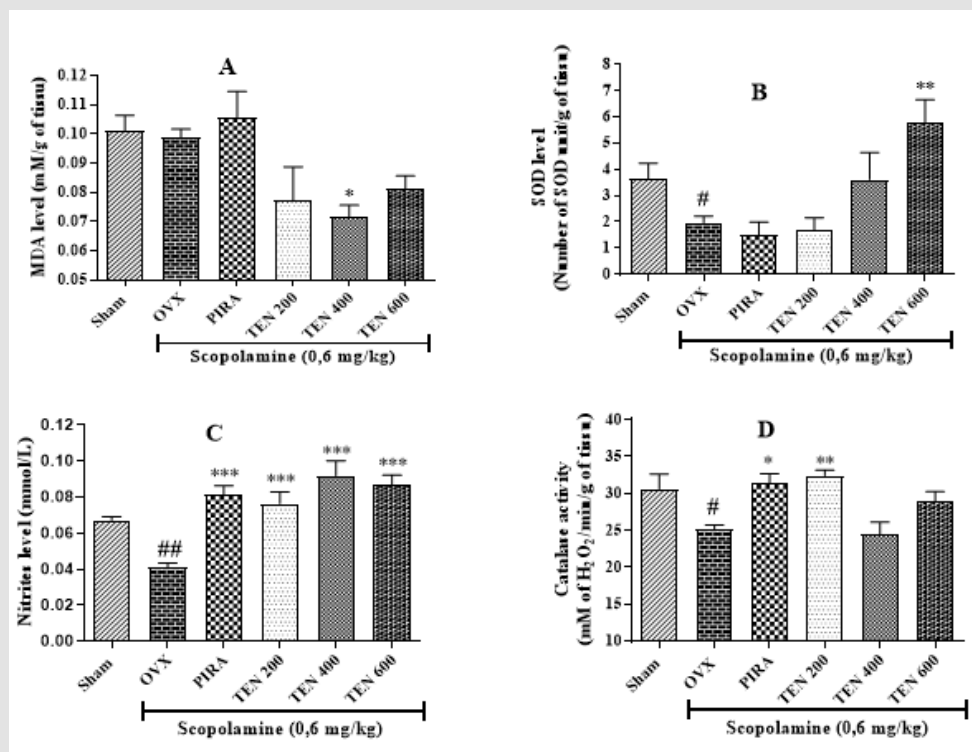


Figure 3: Effects of Tenghō's drink on the MDA (A), SOD (B) and Nitrite (C) levels and the Catalase activity (D).

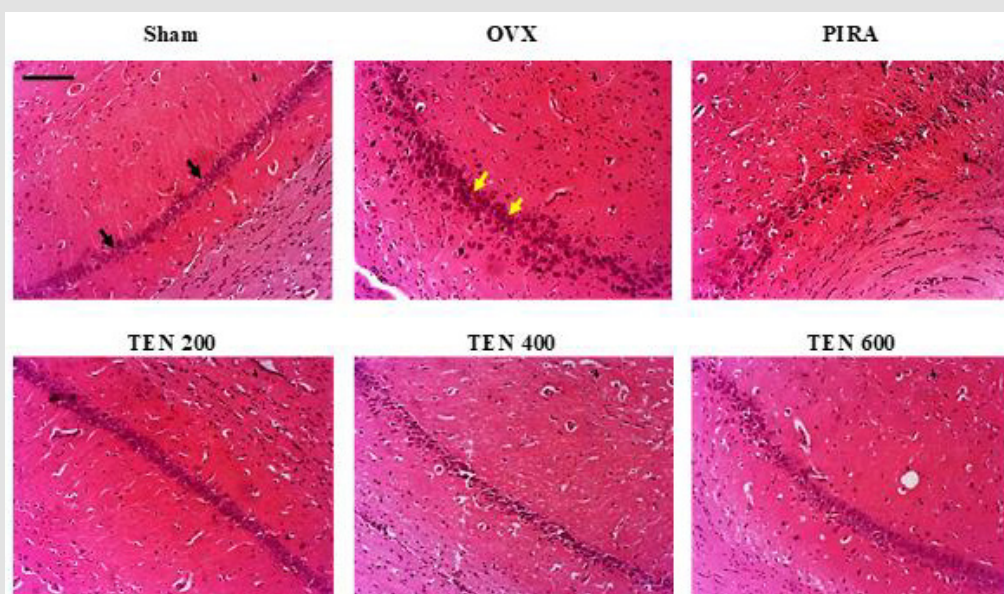
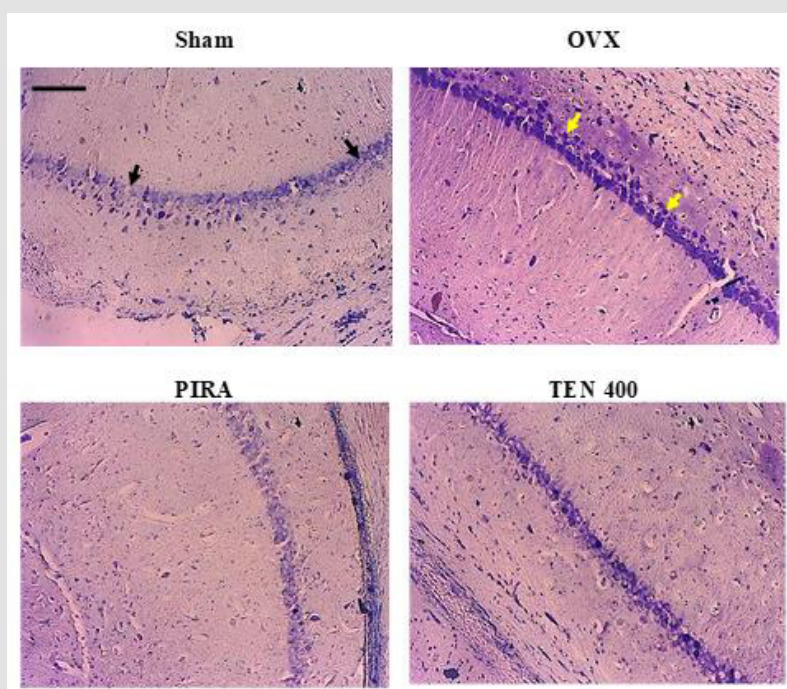


Figure 4: Effects of Tenghō's drink on microarchitecture (H&E staining) of CA1 region of the hippocampus.

**Effects of *Tenghō's* Drink on the Microarchitecture of the Hippocampus:** (Figures 4 & 5) shows the H&E and cresyl violet stain respectively of the hippocampal cells (CA1 region). Compared to Sham group, Scopolamine induced neurodegeneration in animals of negative control group. We noted an increase in the necrotic cells (yellow arrow) in the CA1 regions of the hippocampus of OVX group (Figures 4 & 5). The treatment with *Tenghō's* drink, as well as Piracetam reversed the neurodegenerative effect of Scopolamine in the CA1 region of the hippocampus. OVX group presented more necrotic cells (yellow arrow) than TEN 200, TEN 400 and

TEN 600 groups (Figures 4 & 5). Photomicrographs of H&E stain of CA1 region of the hippocampus, X200, scale bar, 20  $\mu$ m. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals, which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Black arrow = normal cells and yellow arrow = necrotic cells.



**Figure 5:** Effects of *Tenghō's* drink on microarchitecture (cresyl violet staining) of CA1 region of the hippocampus.

Photomicrographs of cresyl violet stain of CA1 region of the hippocampus, X100, scale bar, 20  $\mu$ m. Sham: Animals having undergone white surgery which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Black arrow = normal cells and yellow arrow = necrotic cells.

**Effects of *Tenghō's* Drink on the Microarchitecture of the Cingulate Cortex:** As shown on (Figure 6), Scopolamine induced neurodegeneration in animals of OVX group in comparison to Sham group. We noted an increase in the necrotic cells (yellow arrow) in

the cingulate cortex of OVX group (Figure 6). The treatment with *Tenghō's* drink, as well as PIRA reversed the neurodegenerative effect of Scopolamine in the cingulate cortex. Animals of OVX group presented more necrotic cells (yellow arrow) than those treated with *Tenghō's* drink (Figure 6). Photomicrographs of cresyl violet stain of cingulate cortex, X100, scale bar, 20  $\mu$ m. Sham: Animals having undergone white surgery which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Black arrow = normal cells and yellow arrow = necrotic cells.

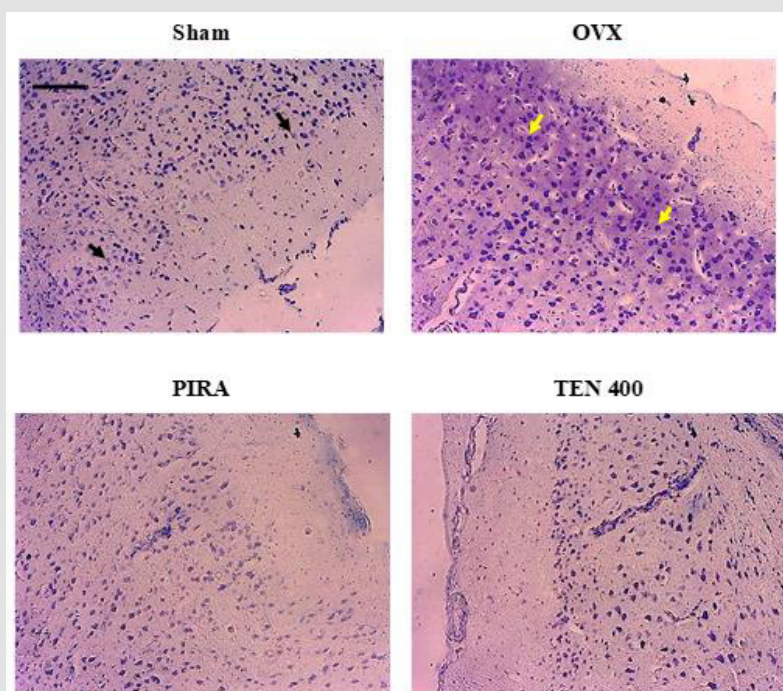


Figure 6: Effects of *Tenghō's* drink on microarchitecture (cresyl violet staining) of cingulate cortex.

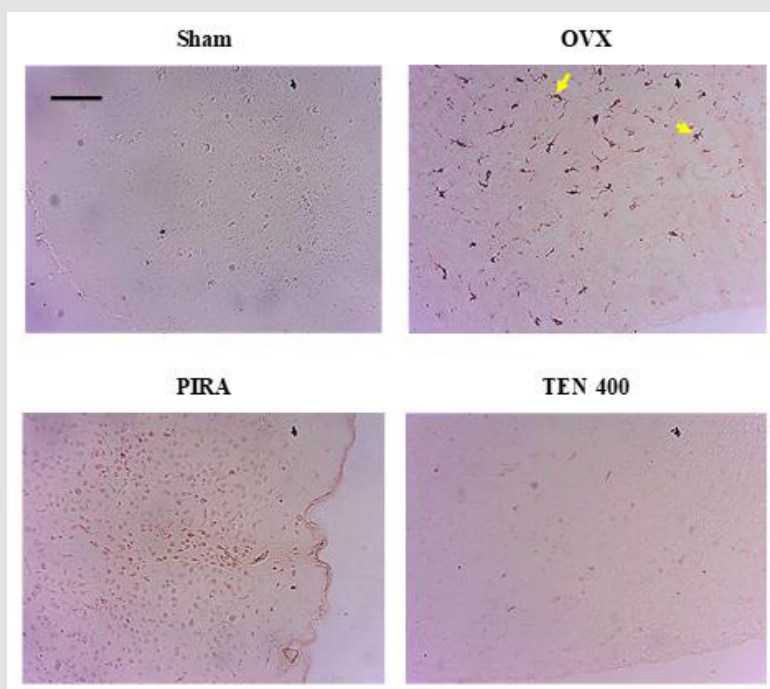


Figure 7: Effects of *Tenghō's* drink on Iba-1 expression in the cingulate cortex.

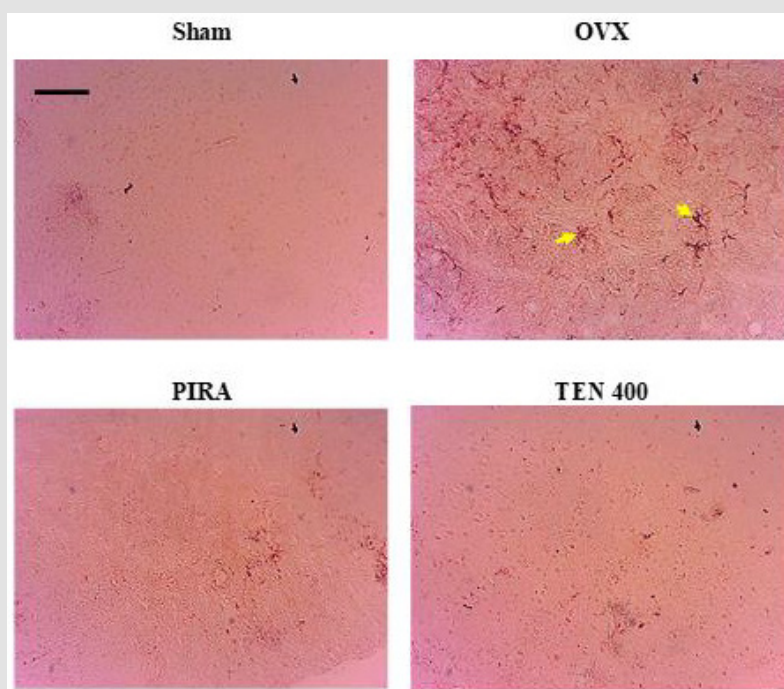
**Effects of *Tenghō's* Drink on Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1 And Glial Fibrillary Acidic Protein Expression in the Cingulate Cortex:** Compared to Sham group, the administration of Scopolamine in ovariectomized rat resulted in an increase in Iba-1 and GFAP-positive microglia and astrocytes

respectively (yellow arrow) in the cingulate cortex (Figures 7 & 8). The animals treated with *Tenghō's* drink showed less Iba-1 and GFAP expression of activated microglia and astrocytes in the cingulate cortex (Figures 7 & 8). Microglia activation (yellow arrow) as shown by amoebic isoforms was more in OVX group than groups



of animals treated with the *Tenghō's* drink (Figure 7). Astrogliosis (yellow arrow) was greater in OVX group than groups of animals treated with the *Tenghō's* drink (Figure 8). Photomicrographs of Iba-1-immunolabelled microglia in cingulate cortex, X100, scale bar, 20  $\mu$ m. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals which

received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Yellow arrow = activated microglia.



**Figure 8:** Effects of *Tenghō's* drink on GFAP expression in the cingulate cortex.

Photomicrographs of GFAP-immunolabelled astrocyte in cingulate cortex, X100, scale bar, 20  $\mu$ m. Sham: Animals having undergone white surgery, which received distilled water; OVX: Ovariectomized animals which received scopolamine and distilled water; PIRA: Ovariectomized animals which received scopolamine and Piracetam 300 mg / kg; TEN 200, TEN 400 and TEN 600: Ovariectomized animals, which received scopolamine and *Tenghō'* drink at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg respectively. Yellow arrow = activated astrocytes.

## Discussion

The hypothesis of specific neuroanatomical and neurophysiological effects of estrogen on the brain may explain the correlation between estrogen deficiency and cognitive disorders such as dementia of the Alzheimer's Disease (AD) Genazzani, et al. [20]. To accentuate the effects of this model of neurocognitive disorders, the administration of Scopolamine was associated to ovariectomy. Thus, the present study aimed to assess neuroprotective effects of *Tenghō's* drink on memory impairment and neuroinflammation induce by Scopolamine on ovariectomized Wistar rat. Neuroprotective effects of the *Tenghō's* drink on spatial,

short-term and long-term memory were evaluated using Y-Maze and the Morris Water Maze test respectively. The obtained results on the assessment of short-term memory showed that the injection of Scopolamine at the dose of 0.6 mg/kg for 14 days in ovariectomized rats induced a decrease of the time spent in the novel arm and the percentage of good first arm entry compared to the normal control. These effects marked a slight impairment of spatial and short-term memory compared to the normal control (Sham). Indeed, estrogen deprivation resulting from menopause or ovariectomy causes neurocognitive impairment as early as 2 weeks post-ovariectomy Djiogue, et al. [21]. In addition, Scopolamine creates an animal model for AD by disrupting the cholinergic system and altering learning and memory processes Kim, et al. [22]. Scopolamine would increase acetylcholine activity and decrease performance in all memory tasks, confirming the occurrence of cognitive impairment in the animals Xiao, et al. [23].

However, the treatment of ovariectomized rat, receiving Scopolamine, with the *Tenghō's* drink as well as Piracetam induced an increase of the time spent in the novel arm at the dose of 600 mg/kg. The drink also induced an increase of the percentage of good

first arm entry at the dose of 200 and 600 mg/kg. This suggests that *Tenghō's* drink would improve the spatial and short-term memory of animals and could be endowed with secondary metabolite able to reversed the adverse effects induced by estrogen depletion and Scopolamine on memory. These secondary metabolites could act as Piracetam on the central nervous system to improving learning, memory and brain metabolism Katarzyna, et al. [24] by facilitating cholinergic and excitatory amine neurotransmission Vernon [25]. The Morris Water Maze is a commonly used experimental method to assess spatial learning and memory in animal models Hosseini, et al. [26]. Using the Morris water maze test, we found that injection of Scopolamine (0.6 mg/kg) in ovariectomized rats impaired spatial and long-term memory. Scopolamine induce a significant increase of latency time of entry into the target quadrant in the training session (day 1 to 4) as well as a reduction of the percentage of time spent in the target quadrant (day 5) compared to the normal control. Indeed, an earlier study by Markowska [27] reported that after ovariectomy, cognitive impairment was progressive.

Estrogen deprivation is likely to initiate or worsen degenerative changes caused by oxidative stress and reduce the brain's ability to maintain synaptic connectivity and cholinergic integrity, leading to cognitive decline in the elderly and in people with diseases Gandy, et al. [28]. In addition, Scopolamine causes inhibition of cholinergic signaling Vogel [29]. In contrast, compared to OVX group, the treatment with *Tenghō's* drink improved spatial memory in the Morris water maze. This was marked by a significant reduction of latency time of entry into the target quadrant at the doses of 200 and 400 mg/kg, and a significant increase of the percentage of time spent in the target quadrant at the dose of 200 mg/kg. Several plant-derived compounds show anticholinesterase activity in preclinical studies Konrath, et al. [30] and may thereby improve cognitive decline. Indeed, these neuroprotective effects could be due to the compounds contained in the drink. For example, Garlic found *Allium sativum*, has been studied in the prevention of AD. Its administration in laboratory animals appeared to be able to improve memory and cognitive functions and increase serotonin activity Mathew [31,32]. Similarly, luteolin (flavonoid) and Apigenin (flavone) found in parsley (*Petroselinum crispum*) has shown a clear neuroprotective effect by inducing preventive activity on neuroinflammation and improved memory and learning abilities Mecocci, et al. [33-35].

Oxidative stress is one of the main factors involved in the pathogenesis of neurodegenerative disorders, including AD Liu, et al. [36]. Compared to Sham group, injection of Scopolamine 0.6 mg/kg for 14 days in ovariectomized rats induce a significant decrease of the SOD and Nitrite levels and the Catalase activity. No significant change in MDA level was observed. Scopolamine treatment has been associated with elevated oxidative stress Jang,

et al. [37]; it induces a decrease of the brain activity of antioxidant enzymes Abhinav, et al. [38]. In addition, excessive oxidative stress can lead to cell death (apoptosis) Floyd, et al. [39]. The treatment of ovariectomized rat with *Tenghō's* drink as well as Piracetam induced a significant decrease of the MDA level at the dose of 400 mg/kg, and a significant increase of the of SOD level at the dose of 600 mg/kg, a significant increase of Nitrite level at all tested dose and a significant increase of the Catalase activity in comparison to OVX group. These effects suggested that the drink is endowed with antioxidant properties. Indeed, many plants, including vegetables and fruits, are natural antioxidant bases that can protected again oxidative stress and play a key role in chemoprevention of diseases that have their etiology and pathophysiology in reactive oxygen species (ROS) Kavya, et al. [40]. Some compounds contained in the *Tenghō* drink, such as garlic (*allium sativum*) are believed to have antioxidant effects.

Garlic exerts its antioxidant effect by scavenging ROS, enhancing activity of antioxidant enzymes and increasing glutathione levels in cells Santhosha, et al. [41]. These positive effects can also be attributed to antioxidants such as flavonoids Rohini, et al. [42] contained in the drink. Brain histology, using H&E and cresyl violet stain, was performed to observe changes in the microarchitecture of hippocampus and cerebral cortex. Compared to Sham group, Scopolamine induced neurodegeneration in animals of negative control group (OVX). This was marked by increase of the necrotic cells in the CA1 regions of the hippocampus and cingulate cortex of the animals of OVX group. It is known that scopolamine induces apoptosis of nerve cells Jahanshahi, et al. [43]. Thus, changes in the rat hippocampus as well as cortex would induce changes in synaptic transmission, resulting in relevant changes in cognitive functions Knafo, et al. [44]. Compared to OVX group, the treatment with *Tenghō's* drink, as well as Piracetam reversed the neurodegenerative effect induced by Scopolamine in the CA1 region of the hippocampus and cingulate cortex. These results suggested that the drink could has neuroprotective effect in hippocampus and cerebral cortex.

The neurodegeneration observed with histological analysis was confirm by immunohistochemistry analysis of Iba-1 and GFAP for microglia and astrocytes expression respectively. It is well known that microglia activation and astrogliosis are characteristic features of CNS lesions and recruitment of microglia is reportedly regulated by astrocytes Gudi, et al. [45]. Compared to Sham group, the administration of Scopolamine in ovariectomized rat resulted in an increase in Iba-1 and GFAP-positive microglia and astrocytes respectively in the cingulate cortex. These results suggested that the administration of Scopolamine for 14 days in ovariectomized rats induced neuroinflammation. Microglial activation is one of the earliest events in AD pathology resulting in an increased of

pro-inflammatory effects and the main cause of neurotoxicity Heneka, et al. [46]. Alzheimer's Disease is associated with specific damage due to astrocytes, which may occur in the early stages of the disease and contribute to cognitive abnormalities Verkhatsky, et al. [47]. The animals treated with *Tenghō's* drink showed less Iba-1 and GFAP expression of activated microglia and astrocytes in the cingulate cortex. Microglia activation as shown by amoebic isoforms was more expressed in OVX group than groups of animals treated with the *Tenghō's* drink. Astroglialosis was greater in OVX group than groups of animals treated with the *Tenghō's* drink.

These results suggested that the drink could induce an inhibition of neuroinflammation causing by estrogen depletion and Scopolamine administration. The effects of the drink could be due to flavonoids compound found in some plant in the drink. Indeed, flavonoids could modulate neuroplasticity in terms of neurogenesis and synaptogenesis Spencer, et al. [48-49]. Flavonoids could also interact with neuronal and glial cell signaling pathways Moosavi, et al. [50] to perform several functions: promoting peripheral and loco regional vasodilation modulating cerebral blood flow Spencer, et al. [48-49], exert antioxidant and anti-inflammatory activity in biological systems that mitigate neuronal and endothelial damage González, et al. [51,52], act as hormonal mimetic that induce possible beneficial neurodegenerative changes (Kridawati et al., 2016).

## Conclusion

The aim of the present study was to assess neuroprotective effects of *Tenghō* on memory impairment and neuroinflammation induce by Scopolamine on ovariectomized Wistar rat. The results obtained showed that the *Tenghō'* drink improve short-term and long-term memory evaluate by Y maze and Morris water Maze tests respectively. The drink protected the brain against oxidative stress, microglia activation and astroglialosis in the hippocampus and cerebral cortex. Taken altogether, these results could justify the empirical use of *Tenghō'* drink for the treatment of inflammation. This drink could be considered as a functional food.

## Acknowledgment

The authors are thankful to Amany Digal Ladagu, Taidinda Gilbert Tashara, Lijoka Ayodeji David and Adekoya Adenike, Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ibadan, Nigeria, for technical assistance during the cresyl violet staining and the immunohistochemically labeling with antibodies.

## References

1. Farooqui AA (2017) Aspects neurochimiques de la maladie d'Alzheimer: Facteurs de risque, pathogenèse, biomarqueurs et stratégies de traitement potentielles (1<sup>st</sup> Edn.), Academic Press, New York.

2. Darya V Telegina, Gleb K Suvorov, Oyuna S Kozhevnikova, Nataliya G Kolosova (2019) Mechanisms of Neuronal Death in the Cerebral Cortex during Aging and Development of Alzheimer's Disease-Like Pathology in Rats. International Journal of Molecular Sciences 20(22): 5632.
3. Eppers L, Goodall D, Harrison BE (2008) Caregiver burden among dementia patient caregivers: A review of the literature. Journal of the American Association of Nurse Practitioners 20: 423-428.
4. Yaffe K, Sawaya G, Lieberburg I, Grady D (1998) Estrogen Therapy in Postmenopausal Women. Journal of the American Medical Association 279(9): 688.
5. Gasbarri A, Tavares MC, Rodrigues RC, Tomaz C, Pom pili A (2012) Estrogen, cognitive functions and emotion: An overview on humans, non-human primates and rodents in reproductive years. Reviews in the Neurosciences 23(5-6): 587-606.
6. Amandusson A, Blomqvist A (2013) Estrogenic influences in pain processing. Frontiers in neuroendocrinology 34(4): 329-349.
7. Zhao H, Tian Z, Feng Y, Chen B (2005) Circulating estradiol and hypothalamic corticotrophin releasing hormone enhances along with time after ovariectomized in rats: effects of electro acupuncture. Neuropeptides 39: 433-438.
8. Block ML (2007) Microglia-mediated neurotoxicity: Uncovering the molecular mechanisms. Nature Reviews Neuroscience 8(1): 57-69.
9. Craig L, Jeffrey R Brook, Quentin Chiotti, Bart Croes, Stephanie Gower, et al. (2008) Air pollution and public health: A guidance document for risk managers. Journal of Toxicology and Environmental Health Part A 71(9-10): 588.
10. Mc Larnon JG (2019) Consideration of a Pharmacological Combinatorial Approach to Inhibit Chronic Inflammation in Alzheimer's Disease. Current Alzheimer Research 16(11): 1007-1017.
11. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z (2018) The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. Pre-Clinical Models, pp. 105-111.
12. Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. Journal of Neuroscience Methods 11: 47-60.
13. Sharma S, Rakoczy S, Brown-Borg H (2010) Assessment of spatial memory in mice. Life Sciences 87(17-18): 521-536.
14. Vorhees CV, Williams MT (2006) Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nature Protocols 1(2): 848-858.
15. Wilbur K, Bernhein F, Shapiro O (1949) Determination of lipid peroxydation. Archives of Biochemistry and Biophysics 24: 3959-3964.
16. Misra H, Fridovich I (1972) Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. Yale University Press New Haven pp. 101-109.
17. Sinha K (1972) Colorimetric assay of catalase. Analyze biochemistry 47: 389-394.
18. Dawson TP, Neal JW, Llewellyn L, Thomas C (2003) Neuropathology Techniques. Hodder Arnold, London UK, pp. 278.
19. Folarin OR, Snyder AM, Peters DG, Olopade, F, Connor JR, et al. (2017) Brain metal distribution and neuro-inflammatory profiles after chronic vanadium administration and withdrawal in mice. Frontiers in Neuroanatomy 11: 58.
20. Genazzani AR, Spinetti A, Gallo R, Bernardi F (1999) Menopause and the central nervous system: Intervention options. Maturitas 31: 103-110.
21. Djiogue S, Djiyou BA, Etet FP, Wanda JM, Djikem NR, et al. (2018) Memory and exploratory behavior impairment in ovariectomized Wistar rats. Behavioral and Brain Functions 14(1): 14.

22. Kim MS, Jeon WK, Lee KW, Yu Hwa Park, Yu Hwa Park, et al. (2015) Ameliorating effects of ethanol extract of fructus mume on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, p. 1-8.
23. Xiao J, Li S, Sui Y, Qian Wu, Xiaopeng Li, et al. (2014) Lactobacillus casei-01 facilitates the ameliorative effects of proanthocyanidins extracted from lotus seed-pod on learning and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice. *PLoS One* 9: e112773.
24. Katarzyna Winnicka, Marian Tomasiak et Anna Bielawska (2005) Piracetam -an old drug with novel properties? *acta poloniae Pharmaceutica - Drug Research* 62(5): 405-409.
25. Vernon MW, Sorokin EM (1991) *Drugs Aging* 1: 17.
26. Hosseini M, Headari R, Oryan S, Hadjzadeh MA, Saffarzadeh F, et al. (2010) The effect of chronic administration of L-arginine on the learning and memory of estradiol-treated ovariectomized rats tested in the morris water maze. *Clinics (Sao Paulo)* 65(8): 803-807.
27. Markowska AL, Savonenko AV (2002) Effectiveness of estrogen replacement in restoration of cognitive function after long-term estrogen withdrawal in aging rats. *Journal of Neuroscience* 22: 10985-10995.
28. Gandy S (2005) The role of cerebral amyloid  $\beta$  accumulation in common forms of Alzheimer disease. *Journal of Clinical Investigation* 115(5): 1121-1129.
29. Vogel H (1998) *Drug Discovery and Evaluation. Biomedicine & Pharmacotherapy* 52(1): 47.
30. Konrath EL, Passos C, dos S, Klein Jr LC, Henriques AT (2013) Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 65(12): 1701-1725.
31. Mathew B, Biju R (2008) Neuroprotective effects of garlic a review. *Libyan Journal of Medicine* 3(1): 23-33.
32. Haider S, Naz N, Khaliq S, Perveen T, Haleem DJ (2008) Repeated administration of fresh garlic increases memory retention in rats. *Journal of Medicinal Food* 11(4): 675-679.
33. Mecocci P, Tinarelli C, Schulz RJ, Polidori MC (2014) Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology* 5: 147.
34. Millington C, Sonogo S, Karunaweera N, Range A, Aldrich-Wright JR, et al. (2014) Chronic neuroinflammation in Alzheimer's disease: New perspectives on animal models and promising candidate drugs. *BioMed Research International* 2014: 309129.
35. Wang H, Wang H, Cheng H, Che Z (2016) Ameliorating effect of luteolin on memory impairment in an Alzheimer's disease model. *Molecular Medicine Reports* 13(5): 4215-4220.
36. Liu Z, Zhou T, Ziegler AC, Alexander C Ziegler, Peter Dimitrion, et al. (2017) Oxidative stress in neurodegenerative diseases: From molecular mechanisms to clinical applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017: 2525967.
37. Jang Y, Kim J, Shim J, Kim C, Jang J, et al. (2013) Decaffeinated coffee prevents scopolamine-induced memory impairment in rats. *Behavioral Brain Research* 245: 113-119.
38. Abhinav K, Jogender M, Madhusudana K, Vegi GMN, Yogendra KG, et al. (2010) Anti-Amnesic Activity of Vitex Negundo in Scopolamine Induced Amnesia in Rats. *Pharmacology & Pharmacy* 1: 1-8.
39. Floyd R, Hensley K (2002) Oxidative stress in brain aging Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Aging* 23(5): 795-807.
40. Kavya Sangu, P Vasanth Raj, Neeraj Paliwal, K Venkateskumar, Rohini Karunakaran (2016) Phylogenetic Analysis of Cold Shock Proteins in Pseudomonas Species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 8(8): 397-398.
41. Santhosha SG, Jamuna P, Prabhavathi SN (2013) Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience* 3: 59-74.
42. Rohini K, Srikumar PS, Mahesh Kumar A (2015) A study on the relationship between calcium, oxidative stress and immune response. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences* 5(1): 378-383.
43. Jahanshahi M, Nickmahzar E, Babakordi F (2013) The effect of Ginkgo biloba extract on scopolamine-induced apoptosis in the hippocampus of rats. *Anatomical Science International* 88(4): 217-222.
44. Knafo S, Venero C, Sa'nchez-Puelles C, Pereda-Pere'z I, Franco AS, et al. (2012) Facilitation of AMPA receptor synaptic delivery as a molecular mechanism for cognitive enhancement. *PLOS Biology* 10: e1001262.
45. Gudi V, Gingele S, Skripuletz T, Stangel M (2014) Glial response during cuprizone induced de- and remyelination in the CNS: Lessons learned. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8: 73.
46. Heneka MT, Kummer MP, Latz E (2014) Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Immunology* 14(7): 463-477.
47. Verkhatsky A, Olabarria M, Noristani HN, Yeh CY, Rodriguez JJ (2010) Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 7(4): 399-412.
48. Spencer JP, Vauzour D, Rendeiro C (2009) Flavonoids and cognition: The molecular mechanisms underlying their behavioural effects. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 492(1-2): 1-9.
49. Rendeiro C, Rhodes JS, Spencer JP (2015) The mechanisms of action of flavonoids in the brain: Direct versus indirect effects. *Neurochemistry International* 89: 126-139.
50. Moosavi F, Hosseini R, Saso L, Firuzi O (2015) Modulation of neurotrophic signaling pathways by polyphenols. *Drug Design, Development and Therapy* 10: 23-42.
51. González R, Ballester I, López-Posadas R, Suárez MD, Zarzuelo A, et al. (2011) Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51(4): 331-362.
52. Gornall A, Bradwill C, David M (1949) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biology and chemistry* 77(2): 751-766.

ISSN: 2574-1241

DOI: 10.26717/BJSTR.2022.41.006611

Djiogue Sefirin. Biomed J Sci & Tech Res



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License

Submission Link: <https://biomedres.us/submit-manuscript.php>



#### Assets of Publishing with us

- Global archiving of articles
- Immediate, unrestricted online access
- Rigorous Peer Review Process
- Authors Retain Copyrights
- Unique DOI for all articles

<https://biomedres.us/>



# Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Tengho: A Drink Made from Some Cameroon Spices

Djikem Tadah Rudig N<sup>1</sup>, Bogning Zangeu Calvin<sup>2</sup>, Ateba Sylvain Benjamin<sup>2</sup>, Zemo Gamo Franklin<sup>1</sup>, Nguefack Julienne<sup>3</sup>, Djiogue Sefirin<sup>\*</sup>, Dongmo Alain Bertrand<sup>2</sup>, Njamen Dieudonne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon; <sup>2</sup>Department of Animal Biology, University of Douala, Douala, Cameroon; <sup>3</sup>Department of Biochemistry, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

## ABSTRACT

**Background:** “Tengho” is a Cameroonian drink traditionally used for the treatment of inflammation, pain, hypertension, arthritis, diabetes and anxiety. Accordingly, the aim of this study is to evaluate its anti-inflammatory activity using carrageenan-, histamine and serotonin-induced paw oedema models and its analgesic activity using peripheral (acetic acid-induced writhing) and central (tail immersion in hot water) pain models.

**Methodology:** Tengho was daily orally administered to rodent at the dose of 200, 400 and 600 mg/kg BW, 1 hour before the induction of inflammation or pain.

**Results:** All tested doses significantly reduced oedema in carrageenan ( $p < 0.001$  after 3, 4, 5 and 6 hours), histamine ( $p < 0.01$  after 2 hours) and serotonin ( $p < 0.01$  after 1 h at the dose of 600 mg/kg) induced paw oedema models. We noticed as well a significant decrease ( $p < 0.001$ ) in the number of writhing provoked by the acetic acid and an increased ( $p < 0.001$ ) the tail flick latency in time-dependent manner.

**Conclusion:** Taken altogether, these results indicate the analgesic and anti-inflammatory properties of Tengho, supporting its local use as drink to relief inflammatory and painful conditions.

**Keywords:** Tengho; Spices; Anti-inflammatory; Analgesic

## INTRODUCTION

Pain, especially chronic pain, is a very significant medical problem with a high social cost [1]. It is a major source of suffering and one of the most frequent causes for patients seek medical care [2]. This unpleasant experience is often associated with discomforts and long-term detrimental effects if not appropriately managed. Most of systems, especially the cardiovascular and respiratory systems, can be affected [3]. In contrast to chronic pain that has no beneficial biological significance, acute pain aims to avoid harmful stimuli and promote healing of wounded tissue [4]. The same goes for inflammation. Under normal conditions, this healthy and adaptive process both counters harmful stimuli and is involved in repairing damage to tissues [5]. When prolonged, severe, and/or inappropriate, it is often detrimental, leading to a host of diseases such as periodontitis, atherosclerosis, rheumatoid arthritis, and even cancer [6]. After injury, enhanced responses to noxious stimuli (through the direct activation or sensitization of nociceptors) promote recovery by fomenting protection and rest of the afflicted body part [7]. The evoked nociceptive (acute) pain along with redness, swelling, heat

and *functio laesa* (loss of function) constitutes the cardinal features of the inflammation [8]. Globally, it is of paramount importance to correctly manage inflammation and pain to avoid the chronic phase and minimize the detrimental associated effects.

Whether acute or chronic, pain modulation involves both peripheral and central nervous system mechanisms. Analgesia can be accomplished by analgesics (Mu-opioid receptor (MOR) agonists and non-MOR agonists) and co-analgesics depending on the specific cause and the severity of the pain [9]. Besides the severe adverse events associated with the usage of these drugs, they are very often expensive and not accessible for a huge part of the population in low-income countries like Cameroon. Cyclooxygenase (COX) inhibitors (e.g., ibuprofen, indomethacin, diclofenac and aspirin) belong to the non-MOR agonists and display analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities. They can cause gastrointestinal haemorrhage, myocardial infarction, analgesic asthma, hypertension, renal failure, peptic ulcer disease sodium and water retention [9-11]. MOR agonists can induce respiratory depression, hypothermia, bradycardia, constipation, miosis and urinary retention. Moreover, they are used reluctantly in many

**Correspondence to:** Sefirin Djiogue, Department of Animal Biology and Physiology, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon, Tel: +237 678585770; E-mail: sefirin.djiogue@gmail.com

**Received:** 22-Feb-2022, Manuscript No. BLM-22-15421; **Editor assigned:** 25-Feb-2022, Pre QC No. BLM-22-15421(PQ); **Reviewed:** 15-Mar-2022, QC No: BLM-22-15421; **Revised:** 23-Mar-2022, Manuscript No. BLM-22-15421(R); **Published:** 30-Mar-2022, DOI: 10.35248/0974-8369.22.14.476.

**Citation:** Rudig DTN, Calvin BZ, Benjamin AS, Franklin ZG, Julienne N, Sefirin D, et al. (2022) Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Tengho: A Drink Made from Some Cameroon Spices. *Bio Med.* 14:476.

**Copyright:** © 2022 Rudig DTN, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

countries due to the perceived risk of addiction, especially when injected i.v. [9]. In developing countries, 80% of the population still resorts to traditional medicine for their primary health care. This is mainly due to the accessibility of traditional medicines, the high cost, increase in drug resistance and the undesirable side effects of synthetic drugs. In this context several plant extracts and preparations claimed to possess analgesic and anti-inflammatory properties are widely used.

Tengho is a Cameroonian drink mainly made from *Zingiber officinale*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Petroselinum crispum* and *Bee propolis*. It is traditionally used against inflammation, pain, hypertension, diabetes, cancer and Alzheimer disease. A large and growing body of literature indicates the traditional uses and scientific evidences of some of these plants, including *Zingiber officinale*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* and *Bee propolis*, against in various types/models of pain and inflammation. However, investigation has not been reported till now with Tengho. Accordingly, the present study was designed to evaluate the analgesic and anti-inflammatory properties of Tengho and therefore provide a substantial scientific background to its traditional use.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant collection and preparation of the extract

The ingredients used for the preparation of Tengho were collected in July 2018, at Dschang in West Region of Cameroon. The preparation process as well as the parts and amount of each plant are being protected. The mixture of these ingredients was macerated in 4:6 (v/v) ethanol/water. The filtrate was therefore lyophilized to obtain the crude extract. The therapeutic dose of 400 mg/kg was extrapolated from the traditional dose used in humans and surrounded by the doses of 200 and 600 mg/kg.

### Experimental animals

Adult Wistar rats (7-8 weeks old, 115-150 grams) were used for the anti-inflammatory tests and the tail withdrawal test while, adult swiss albino mice (8-9 weeks old; 20-25 grams) were used in the acetic acid-induced writhing test. Healthy animals were bred in the animal house of the Department of Biology of Animal Organisms, University of Douala, and segregated according to gender. They were maintained under normal laboratory condition of temperature ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) with a natural  $\sim 12$  hours light/dark cycle. Animal had free access to diet and tap water ad libitum. Prior each experiment, animals were fasted overnight (10-12 hours).

### Chemicals

Acetic acid, histamine and serotonin were obtained from Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Germany). Carrageenan was purchased from SIGMA-Aldrich (Germany), Diclofenac (Voltaren<sup>®</sup> 50) was obtained from Novartis PHARMA SAS (France), Tramadol (TrabarTM-50) was purchased from Merckle GmbH (Blaubeuren-Weiler, Germany), Promethazine (Phénergan<sup>®</sup>) was manufactured by Sophartex Laboratory (Vernouillet, France), Cyproheptadin (NURABOL<sup>®</sup>) was manufactured by PHARMA 5 (Bouskoura, Morocco).

### Antinociceptive activity tests

**Acetic acid-induced writhing test:** The antinociceptive effect tengho was investigated using the method described by Koster et al. [12]. Mice were randomly assigned to 5 different groups (n=6) and treated. The first group or control received distilled water (10 mL/kg), the second received aspirin (200 mg/kg, p.o.) and the three-remaining received tengho at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg BW, p.o. groups.

One hour after, animals received acetic acid (1% w/v, 10 mL/kg, i.p.) to induce the writhing movements (pain). Each animal was then immediately placed in a separate plastic observation chamber and the writhes (arching of the back, body stretching, and extension of the forelimbs) was counted for 30 min after acetic acid challenge. The percentage of analgesic activity was expressed as percentage reduction of the number of nociceptive movements in treated animals with respect to the control according to the following formula [13].

**Tail withdrawal test:** The test procedure was previously used by Aydin et al. [14]. Rats randomly distributed in five groups of 6 animals each and orally treated with vehicle (distilled water 10 mL/kg), tramadol (20 mg/kg) and tengho (200, 400 and 600 mg/kg), respectively. Prior treatment (initial reaction time) and 30, 45, 60, 120 and 180 min after, each rat was gently restrained in a cloth and the lower 3 cm of the tail immersed into a thermostatically-controlled warm water bath ( $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ). The reaction time or tail flick latency (in seconds) was recorded using a stopwatch. To avoid tissue damage, a cut-off time of 15 hours was set for withdrawal. Difference in tail flick latencies between treated and control groups were used to determine the anti-nociceptive effects of extract and standard drug.

### Anti-inflammatory activities

**Carrageenan-induced rat paw oedema:** The method used was previously described by Winter et al. [15]. Adult Wistar rats were subdivided into 5 groups of 5 animals each and orally treated one hour before a subcutaneous injection of 0.1 mL of carrageenan 1% (w/v in saline) into the plantar surface. The first group served as control and received distilled water (10 mL/kg, p.o), the second group received the reference drug Diclofenac (5 mg/kg i.p.); the three remained groups received tengho at the doses of 200, 400 and 600 mg/kg (p.o), respectively. The paw oedema (volume) was measured before and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours after injection of carrageenan using a traditional water displacement Ugo Basile 7510 plethysmometer. The anti-inflammatory activity was expressed as the percentage of reduction in oedema and calculated.

**Histamine and serotonin-induced rat paw oedema:** In these experiments, animals were handled in the same manner as described above in the carrageenan-induced rat paw oedema. The main differences were the phlogistic agents (0.1 mL of histamine or serotonin at 1% (w/v in saline)), the time-period for the oedema measurement (before and 0.5, 1, 2 hours after the injection of the phlogistic agent) and the reference drugs used (1 mg/kg promethazine p.o and 2 mg/kg cyproheptadine p.o, respectively).

### Statistical analysis

All data were expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M). The GraphPad Prism<sup>®</sup> program version 5.03 (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA) allowed the analysis of data using Analysis of Variance (ANOVA) one-way followed by the Dunnett test. Values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

## RESULTS

### Analgesic effect of tengho on acetic acid-induced writhing

The administration of tengho significantly ( $p < 0.05$ ) reduced writhes in dose-dependent manner (Table 1). Percentages of inhibition at the tested doses of 200, 400 and 600 mg/kg were 33.83, 57.94 and 63.55%, respectively. The doses of 400 and 600 mg/kg were more active than 200 mg/kg aspirin used as the standard drug (48.41% inhibition).

### Analgesic effect of tengho on the tail withdrawal test

Compared to the control group, tengho significantly ( $p < 0.05$ ) prolonged tail withdrawal reflex time (Table 2) from 45 min (200 and 400 mg/kg) and 30 min (600 mg/kg) after treatment. At the doses of 400 and 600 mg/kg, the percentages of inhibition are globally higher than that exhibited by 20 mg/kg tramadol.

### Effect of tengho on carrageenan-induced paw oedema

The results in Table 3 shows that tengho significantly reduced carrageenan-induced paw oedema volume from 0.5 hours for 400 and 600 mg/kg, and 1 hour for 200 mg/kg. At 5-6 h the activity was close to that of diclofenac (5 mg/kg).

### Anti-inflammatory effect of tengho on histamine-induced paw oedema

By contrast to promethazine (1 mg/kg) that significantly decreased the paw oedema volume at 0.5 hours (58.68% inhibition), 1 hour (56.63%) and 2 hours (58.44%), a significant anti-oedema effect of Tengho at all tested doses was only observed at 2 hours (41.09%-47.48%) (Table 4).

### Anti-inflammatory effect of tengho on serotonin-induced paw oedema in rats

Table 5 shows that tengho decreased the volume of serotonin-induced paw oedema compared to the control group. Significant reductions of 44.04 and 39.53% were observed with the highest tested dose of 600 mg/kg 1 hour and 2 hours after treatment, respectively.

**Table 1:** Effect of Tenghō on acetic acid-induced writhing.

	Dose	Number of writhes	% of protection
Control (water)	10 mL/kg	106.8 ± 8.61	-
Aspirine	200 mg/kg	55.20 ± 3.73 ***	48.41%
Tenghō	200 mg/kg	70.80 ± 6.43 *	33.83%
Tenghō	400 mg/kg	45.00 ± 9.26 ***	57.94%
Tenghō	600 mg/kg	39.00 ± 4.71 ***	63.55%

**Note:** Values are the mean ± SEM from 5 animals in each group. Significance against control group: \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

**Table 2:** Effect of Tenghō on pain induced by tail immersion in warm water.

Dose	Tail withdrawal latency (seconds) at various time intervals (before and after treatment)						
	Before treatment	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	
Control (water)	10 mL/kg	1.62 ± 0.12	1.50 ± 0.18	2.25 ± 0.1	2.33 ± 0.21	1.66 ± 0.10	1.50 ± 0.18
Tramadol	20 mg/kg	2.29 ± 0.1 *	4.33 ± 0.51 ***	4.83 ± 0.42 ***	4.50 ± 0.34 ***	2.58 ± 0.39 *	2.58 ± 0.39
			(47.11 %)	(52.58 %)	(49.07 %)	(11.29 %)	(11.29 %)
Tenghō	200 mg/kg	2.20 ± 0.26 *	2.91 ± 0.32 *	4.96 ± 0.30 ***	3.91 ± 0.45 **	2.20 ± 0.10	2.33 ± 0.24
			(24.3 %)	(55.54 %)	(43.62 %)	0%	(5.35 %)
Tenghō	400 mg/kg	1.58 ± 0.08	2.41 ± 0.20	3.91 ± 0.08 ***	4.16 ± 0.16 ***	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.10
			(34.48 %)	(59.57 %)	(62 %)	-20.83%	(13.63 %)
Tenghō	600 mg/kg	1.62 ± 0.05	3.33 ± 0.16 **	4.58 ± 0.30 ***	3.5 ± 0.18 *	2.41 ± 0.23 *	1.83 ± 0.42
			(51.25 %)	(64.54 %)	(53.57 %)	(37.5 %)	(11.36 %)

**Note:** Values are the mean ± SEM (n=6). The values in brackets represent the percentage of protection or inhibition following treatment. Significance against the control group: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

**Table 3:** Anti-inflammatory effect of Tenghō on carrageenan-induced paw oedema in Wistar rats.

Dose	Paw oedema volume (mL) at various periods of time							
	0.5 hours	1 hour	2 hours	3 hours	4 hours	5 hours	6 hours	
Control (water)	10 mL/kg	0.20 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.39 ± 0.018	0.43 ± 0.028	0.47 ± 0.004	0.45 ± 0.014	0.41 ± 0.017
Diclofenac	5 mg/kg	0.12 ± 0.004 ***	0.10 ± 0.005 ***	0.06 ± 0.009 ***	0.16 ± 0.008 ***	0.17 ± 0.007 ***	0.23 ± 0.014 ***	0.19 ± 0.022 ***
		-40.20%	-61.30%	-85.40%	-64.10%	-64.90%	-48.90%	-54.30%



Tenghō	200 mg/kg	0.16 ± 0.01	0.18 ± 0.018 ***	0.32 ± 0.02 **	0.17 ± 0.007 ***	0.31 ± 0.031 ***	0.24 ± 0.009 ***	0.1 ± 0.004 ***
		-20.50%	-34.40%	-17.60%	-20.80%	-33.30%	-45.90%	-52.30%
Tenghō	400 mg/kg	0.14 ± 0.008 *	0.2 ± 0.012 *	0.32 ± 0.016 *	0.23 ± 0.014 ***	0.32 ± 0.02 ***	0.26 ± 0.005 ***	0.22 ± 0.016 ***
		-32%	-25%	-16.70%	-22.40%	-31.90%	-43.30%	-46.90%
Tenghō	600 mg/kg	0.13 ± 0.005 **	0.26 ± 0.006 ***	0.26 ± 0.006 ***	0.19 ± 0.022 ***	0.28 ± 0.016 ***	0.23 ± 0.013 ***	0.22 ± 0.019 ***
		-34.40%	-38.10%	-33.90%	-25.90%	-40.40%	-48.90%	-45.70%

Note: Values are the mean ± SEM (n=6). The values in brackets represent the percentage of protection or inhibition following treatment. Significance against the control group: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

Table 4: Anti-inflammatory effect of Tenghō on histamine-induced paw oedema.

	Dose	Paw oedema volume (mL) at various periods of time		
		0.5 hours	1 hour	2 hours
Control (water)	10 mL/kg	0.426 ± 0.06	0.392 ± 0.08	0.438 ± 0.07
Promethazine	1 mg/kg	0.176 ± 0.02 ***	0.170 ± 0.02 **	0.182 ± 0.01***
		-58.68%	-56.63%	-58.44%
Tenghō	200 mg/kg	0.316 ± 0.04	1.302 ± 0.03	0.258 ± 0.02**
		-25.82%	#####	-41.09%
Tenghō	400 mg/kg	0.328 ± 0.01	0.314 ± 0.01	0.258 ± 0.01**
		-23.00%	-19.89%	-41.09%
Tenghō	600 mg/kg	0.300 ± 0.04	0.254 ± 0.01	0.230 ± 0.02***
		-29.57%	-35.20%	-47.48%

Note: Values are the mean ± SEM (n=5). The values in brackets represent the percentage of protection or inhibition Significance against the control group: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

Table 5: Anti-inflammatory effect of Tenghō on serotonin-induced paw oedema.

	Dose	Paw oedema volume (mL) at various periods of time		
		0.5 hours	1 hour	2 hours
Control (water)	10 mL/kg	0.380 ± 0.05	0.504 ± 0.05	0.344 ± 0.03
Cyproheptadin	2 mg/kg	0.312 ± 0.03	0.348 ± 0.05 * (37.30 %)	0.126 ± 63.37 ***
		-16.84%		-63.37%
Tenghō	200 mg/kg	0.366 ± 0.02	0.380 ± 0.01	0.272 ± 0.01 (20.93 %)
		-3.68%	-24.60%	
Tenghō	400 mg/kg	0.360 ± 0.02 (5.26 %)	0.370 ± 0.05 (26.58 %)	0.326 ± 0.04
				-5.23%
Tenghō	600 mg/kg	0.358 ± 0.05	0.282 ± 0.05 **	0.208 ± 0.04 *
		-5.78%	-44.04%	-39.53%

Note: Values are the mean ± SEM (n=5). The values in brackets represent the percentage of protection or inhibition Significance against the control group: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

## DISCUSSION

The present study aimed at evaluating the analgesic and anti-inflammatory activities of tengho, a Cameroonian traditional drink made by a mixture of some traditionally used and scientifically evidenced plants against pain and inflammation. For this purpose, standard animal models of pain and inflammation were applied. Whether acute or chronic, pain modulation involves both peripheral and central nervous system mechanisms. Accordingly, new pain relief strategies involving multiple combinations of analgesics that point both central and peripheral nociceptive pathways provide a better opportunity for effective analgesia at reduced doses of individual agents [16,17]. In line of this, various plant mixtures such as tengho are used in Traditional Medicine over the World aiming at inducing greater effect at reduced and more tolerable doses of individual plants.

Acetic acid induced-writhing test is a well-known and widely used, reliable, simple, sensitive and particularly suitable model for evaluating even weaker analgesics [12,18]. Injected i.p., acetic acid induces peritoneal acute inflammation (tissue damage). It directly activates the visceral and somatic nociceptors that innervate the peritoneum, and promotes the local release of endogenous nociception-producing substances (inflammatory pain) such as prostaglandins, prostacyclins, thromboxanes, bradykinin, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 [19-23]. Our results showed that Tengho significantly reduced writhes in dose-dependent manner suggesting a peripheral analgesia by, at least partly, blocking nociceptors and/or the production and release of pro-inflammatory cytokines (COX inhibition). In addition to pain with an inflammatory component (e.g., sport injuries, arthrosis, and rheumatic diseases), COX inhibitors such as aspirin are suitable for the therapy of acute and transient pain including tension headache, lower back pain, migraine, acute gout, toothache, menstrual, and postsurgical pain [9]. Interestingly, Tengho at the doses of 400 and 600 mg/kg was more active than 200 mg/kg aspirin (48.41% inhibition) suggesting that this traditional drink could be used in these types of pain. Both central and peripheral nociceptive pathways are known to be implicated in inflammatory pain. Therefore, to further investigate the involvement of central pain pathways in the anti-nociceptive effect of Tengho, tail immersion test was used.

Tail-immersion test causes centrally mediated pain at both spinal and supra-spinal levels [24-26]. As the tail withdrawal following immersion in warm water is a reflex response to heat stimuli, it obviously involves central mechanisms. Central analgesia is mainly mediated by opioids especially MOR agonists, the most efficient available painkillers [18,27]. It can also be accomplished by co-analgesics, including neuron inhibitors with pleotropic effects, ketamine,  $\alpha$ 2AR agonists, benzodiazepines, nonselective monoamine reuptake inhibitors, selective serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors, muscle relaxants, and anti-osteoporotic drugs [9]. In our study, oral administration of Tengho at all tested doses significantly increased the response time in tail withdrawal suggesting spinal and/or supra-spinal analgesia. At the doses of 400 and 600 mg/kg, the percentages of inhibition are higher than that of the low-potency MOR agonist tramadol (20 mg/kg). However, between the activation of opioid receptors and the different mechanisms of co-analgesics, the under mechanisms of tengho in central analgesia need to be elucidated.

Along with pain, oedema is a cardinal feature of the inflammation. In other words, analgesia on pain inflammatory assumes an anti-inflammatory activity. Carrageenan-induced paw oedema is an acute inflammation model extensively used for assessing anti-inflammatory components. It is known to be a biphasic process [28,29]. Histamine,

serotonin and bradykinins were released during the first phase (0-2 h after carrageenan injection) while, the later phase (3-6 hours) is attributed to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) leukocyte infiltration, generation of prostaglandins and various pro-inflammatory cytokines such as nitric oxide, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, and TNF- $\alpha$  [29-32]. According to our results, tengho at all tested doses significantly inhibited carrageenan-induced paw oedema throughout the two phases like diclofenac (5 mg/kg), suggesting an inhibiting action on the histamine and serotonin as well as prostaglandins release. However, the activity of tengho was more pronounced (43.3%-52.3% inhibition) during the second phase. At 5-6 hours, the inhibition value is close to that of 5 mg/kg diclofenac, a COX inhibitor. This lower activity of tengho observed during the first phase was further confirmed in histamine and serotonin-induced paw oedema tests. However, results from these two tests showed that tengho was more active on histamine-induced paw oedema. Histamine and serotonin induce inflammation by initiating vasodilation, increasing vascular permeability and attracting neutrophils at the target site [33,34]. Taken altogether, results indicate that tengho exerts its anti-inflammatory activity by inhibiting the action or release of inflammatory mediators including histamine, serotonin and prostaglandins.

## CONCLUSION

In conclusion, this study showed the anti-nociceptive and anti-inflammatory properties of tengho using standard murine models. Tengho is endowed with peripheral and central analgesia, associated with anti-inflammatory effects on acute inflammatory processes. These effects could explain and support the traditionally use of this drink as a pain and inflammatory remedy in Cameroon. However, further studies are needed to elucidate the exact mechanism by which tengho inhibits inflammation and pain.

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Professor Alain DONGMO research unit's (Department of Animal Biology, University of Douala) for their technical support during the course of this study.

## FUNDING

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial or non-profit sectors.

## REFERENCES

1. Van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *Br J Anaesth*. 2013;111(1):13-8.
2. Mäntyselkä P, Kumpusalo E, Aho R, Kumpusalo A, Kauhanen J, Viinamäki H, et al. Pain as a reason to visit the doctor: A study in Finnish primary health care. *Pain*. 2001;89(3):175-180.
3. Brand K, Al-Rais A. Pain assessment in children. *Anaesth. Intensive Care*. 2019;20(6):314-317.
4. Matsuda M, Huh Y, Ji RR. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. *J Anesth*. 2019;33(1):131-139.
5. Villeneuve DL, Landesmann B, Allavena P, Ashley N, Bal-Price A, Corsini E, et al. Representing the process of inflammation as key events in adverse outcome pathways. *Toxicol Sci*. 2018;163(2):346-352.

6. Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(7):533-548.
7. Botz B, Bölcskei K, Helyes Z. Challenges to develop novel anti-inflammatory and analgesic drugs. *Wiley Interdiscip Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2017;9(3):e1427.
8. Ji RR, Chamesian A, Zhang YQ. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. *Science.* 2016;354(6312):572-577.
9. Seifert R. *Basic knowledge of pharmacology.* Basel: Springer International Publishing. 2019.
10. McGettigan P, Henry D. Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: An examination of sales and essential medicines lists in low, middle, and high-income countries. *PLoS Med.* 2013;10(2):e1001388.
11. Bhala N, Emberson J, Merhi A, Abramson S, Arber N, Baron JA, et al. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *Lancet.* 2013;382(9894):769-779.
12. Koster R. Acetic acid analgesic screen. *In Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol.* 1959;18:418-420.
13. Nguemfo EL, Dimo T, Azebaze AG, Asongalem EA, Alaoui K, Dongmo AB, et al. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* stener lc (Guttiferae). *J Ethnopharmacol.* 2007;114(3):417-424.
14. Aydin S, Demir T, Öztürk Y, Başer KH. Analgesic activity of *Nepeta italica* L. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.* 1999;13(1):20-23.
15. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1962;111(3):544-547.
16. Naghizadeh B, Mansouri MT, Ghorbanzadeh B. Ellagic acid enhances the antinociceptive action of carbamazepine in the acetic acid writhing test with mice. *Pharm Biol.* 2016;54(1):157-161.
17. Varrassi G, Hanna M, Macheras G, Montero A, Montes Perez A, Meissner W, et al. Multimodal analgesia in moderate-to-severe pain: A role for a new fixed combination of dexametopfen and tramadol. *Curr Med Res Opin.* 2017;33(6):1165-1173.
18. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53(4):597-652.
19. Chen YF, Tsai HY, Wu TS. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. *Planta Med.* 1995;61(01):2-8.
20. Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato AB, Poole S, Ferreira SH, Cunha FQ. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol.* 2000;387(1):111-118.
21. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance. *P Neuropeptides.* 2003;37(6):355-361.
22. Leelaprakash G, Dass SM. In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Encostemma axillare*. *Int j drug dev.* 2011;3(3):189-196.
23. Cook AD, Christensen AD, Tewari D, McMahon SB, Hamilton JA. Immune cytokines and their receptors in inflammatory pain. *Trends Immunol.* 2018;39(3):240-255.
24. Vogel HG, Müller G, Sandow J, Schölkens BA. *Drug discovery and evaluation: pharmacological assays.* Berlin: Springer. 1997.
25. Muhammad N. In-vivo models for management of pain *Pharmacol Pharm.* 2014.
26. Gupta AK, Parasar D, Sagar A, Choudhary V, Chopra BS, Garg R, et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of gelsolin in acetic acid induced writhing, tail immersion and carrageenan induced paw edema in mice. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135558.
27. Ehrlich AT, Kieffer BL, Darcq E. Current strategies toward safer mu opioid receptor drugs for pain management. *Expert Opin Ther Targets.* 2019;23(4):315-326.
28. Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1969;166(1):96-103.
29. Karim N, Khan I, Khan W, Khan I, Khan A, Halim SA, et al. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of asparacosin involve selective cyclooxygenase 2 and inflammatory cytokines inhibition: An in-vitro, in-vivo, and in-silico approach. *Front Immunol.* 2019;10:581.
30. Crunkhorn P, Meacock SC. Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin. *Br J Pharmacol.* 1971;42(3):392-402.
31. Vinegar RA, Truax JF, Selph JL, Johnston PR, Venable AL, McKenzie KK. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. *In Federation proceedings.* 1987;46(1):118-126.
32. Adedapo AA, Sofidiya MO, Afolayan AJ. Anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extracts of *Margaritaria discoidea* (Euphorbiaceae) stem bark in experimental animal models. *Rev Biol Trop.* 2009;57(4):1193-200.
33. Chattopadhyay D, Arunachalam G, Mandal AB, Sur TK, Mandal SC, Bhattacharya SK. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: *Mallotus peltatus* leaf extract. *J Ethnopharmacol.* 2002;82(3):229-237.
34. Damre AA, Damre AS, Saraf MN. Evaluation of sesquiterpene lactone fraction of *Saussurea lappa* on transudative, exudative and proliferative phases of inflammation. *Phytother Res.* 2003;17(7):722-725.