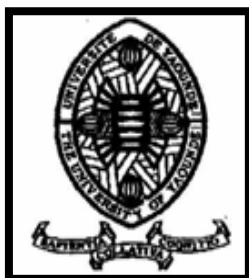


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE EN
SCIENCES DE LA VIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

POST GRADUATE SCHOOL FOR
LIFE SCIENCES, HEALTH AND
ENVIRONMENT

DOCTORAL RESEARCH UNIT FOR
LIFE SCIENCES

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

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

**Effets des graines de quelques espèces de courges sur
des tumeurs bénignes et malignes de la prostate :
études *in vitro* et *in vivo***

THESE

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

Par

BAKAM YENGWA Berlise

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

Option : **Physiologie Animale**

Matricule : **08Q0097**



Défendue publiquement le 21 novembre 2024, devant un jury composé ainsi
qu'il suit :

Président : M. DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré, Professeur, Université de Yaoundé I ;
Rapporteurs : M. NJAMEN Dieudonné, Professeur, Université de Yaoundé I ;
M. ZINGUE Stéphane, Maitre de Conférences, Université de Yaoundé I ;
Membres : M. MASSOMA LEMBE Dieudonné, Professeur, Université de Douala ;
M. MEGNEKOU Rosette, Maitre de Conférences, Université de Yaoundé I ;
M. DJIOGUE Séfirin, Maitre de Conférences, Université de Yaoundé I.

Année 2024

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

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

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous, soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D. en **Biologie des Organismes Animaux**, option : **Physiologie Animale**, de Madame **BAKAM YENGWA Berlise**, matricule **08Q0097**, dont la soutenance a été autorisée par la correspondance n° 2024-265/UYI/VR-EPDTIC/DAAC/DA-AAC/DRD/SR/Alc émise par Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 25 octobre 2024, sur le sujet intitulé : « Effets des graines de quelques espèces de courges sur des tumeurs bénignes et malignes de la prostate : études *in vitro* et *in vivo* », attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation, qui a eu lieu le jeudi 21 novembre 2024 dans la salle S01/S02 de la Faculté des Sciences, ont effectivement été effectuées.

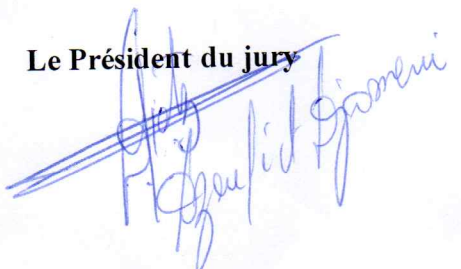
En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **13 JAN 2025**

L'Examineur



Sefirin DJIOGUE, PhD
Associate Professor
University of Yaounde I

Le Président du jury



Le Chef de Département


Pr. Sévillor KEKEUNOU
Faculté des Sciences
Université de Yaoundé I


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

ANNÉE ACADEMIQUE 2024/2025
(Par Département et par Grade)
DATE D'ACTUALISATION 30 septembre 2024

ADMINISTRATION

1. **DOYEN** : OWONO OWONO Luc Calvin, *Professeur*
2. **VICE-DOYEN / DPSAA**: NDJIGUI Paul-Désiré, *Professeur*
3. **VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension,
Professeur
4. **VICE-DOYEN / DRC** : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*
5. **Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine
Marie Chantal, *Maître de Conférences*
6. **Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la
Scolarité DAARS** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (44)

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.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
11.	ATOUGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
12.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
13.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
14.	DAKOLE DABOY Charles	Maître de Conférences	En poste
15.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître de Conférences	En poste
16.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
17.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
18.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
19.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
20.	KENGNE NOUEMSI Anne Pascale	Maître de Conférences	En poste
21.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
22.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
23.	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître de Conférences	En poste
24.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
25.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
26.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
27.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
28.	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître de Conférences	En poste
29.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Maître de Conférences	En poste
30.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

31.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
32.	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Chargé de Cours	En poste
33.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
34.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
35.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
36.	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours	En poste
37.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
38.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

39.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
40.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
41.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
42.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
43.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
44.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (50)

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

12.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
13.	ATSAMO Albert Donatien	Maître de Conférences	En poste
14.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
17.	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
18.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître de Conférences	En poste
19.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
24.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
25.	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
26.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	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.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	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.	FOSSI TANKOUA Olivia Epse DJEUTCHOUANG SAYANG	Chargé de Cours	En poste (transfert Uté de Dla)
37.	GONWOUO NONO Legrand	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 NSANGO Indou	Chargé de Cours	En poste
41.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
43.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
44.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
45.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
46.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
47.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

48.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
49.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
50.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

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.	NDONGO BEKOLO	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.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste

13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
14.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
15.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

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

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

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.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
6.	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Professeur	En poste
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUBI 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 NDO SIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
17	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
18	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
19	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
20	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
21	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

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

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (33)

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>DEPE/Univ. Bertoua</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>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
5.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
6.	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste

7.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
8.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste
9.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
10.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
11.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
12.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
13.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
14.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
15.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
16.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
17.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

18.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
19.	NGUEMDJO CHIMEZE Valery Wilfried	Assistant	En poste

6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)			
	BODO Bertrand	Professeur	<i>Chef de Département</i>

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)
--

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/ 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.	AMINO 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.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Chargé de Cours	En poste
11.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
12.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
13.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
14.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
15.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
16.	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
17.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste

18.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET Ebolowa</i>
19.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

20.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (34)

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	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/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	BITYE MVONDO Esther	Chargé de Cours	En poste
13	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	KOKOMO AYISSI Eric Brice	Chargé de Cours	En poste(transfert de l'université de Douala)
18	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
19	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
20	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
21	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
22	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
23	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
24	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
25	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
26	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
27	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
28	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste

29	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste
----	-------------------------------	-----------------	----------

30	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
31	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
32	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
33	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
34	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
9- 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.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7.	MUNE MUNE Martin Alain	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
10	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

11	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
13	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
14	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
15	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
16	NKOUÉ TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
17	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
18	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
19	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20	EZO'O MENGO Fabrice Téléstor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PHY) (42)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
3.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
4.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
5.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
6.	EYEBE FOU DA Jean sire	Professeur	En poste
7.	HONA Jacques	Professeur	En poste
8.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
9.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
10.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
11.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
12.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
13.	SIMO Elie	Professeur	En poste
14.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
15.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
16.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
17.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	<i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i>
19.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20.	FOUEJIO David	Maître de Conférences	<i>Chef Cell/ MINADER</i>
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 Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
28.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>

29.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
30.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
32.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
33.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
34.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
35.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
36.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
37.	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
38.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
39.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
40.	TOGUEU MOTCHEYO Alain Bertrand	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (34)

1.	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
2.	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Vice-Doyen /DPSAA</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
7.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>
8.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
9.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
10.	EYONG John TAKEM	Maître de Conférences	En poste
11.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT(ai)</i>
12.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
13.	MBESSE Cécile Olive	Maitre de Conférences	En poste
14.	METANG Victor	Maître de Conférences	En poste
15.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
16.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
17.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste

18.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
19.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
21.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

22.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
23.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
24.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
25.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
26.	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
27.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
28.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
29.	TCHAPCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
30.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
31.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
32.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
33.	KOAH NA LBOGO Serge P.	Assistant	En poste
34.	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	08 (01)	22 (13)	08 (03)	06 (04)	44 (20)	
BPA	11 (01)	19 (09)	16 (05)	03 (01)	49 (16)	
BPV	06 (01)	10 (02)	14 (07)	02 (00)	32 (10)	
CI	07 (01)	14 (03)	05 (01)	01 (00)	27 (05)	
CO	06 (01)	14 (05)	11 (03)	02 (00)	33 (09)	
ER	01 (00)		/	/	01 (0)	
IN	02 (00)	02 (00)	15 (01)	03 (00)	22 (01)	
MAT	01 (00)	08 (00)	20 (01)	05 (01)	34 (02)	
MIB	03 (01)	07 (03)	09 (05)	05 (02)	24 (11)	
PHY	17 (01)	12 (04)	12 (01)	01 (00)	42 (06)	
ST	07 (00)	14 (03)	11 (03)	02 (01)	34 (07)	
Total	69 (07)	122 (42)	121 (30)	30 (09)	342 (88)	

Soit un total de **342 (88)** dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **123 (41)**
- Chargés de Cours **120 (30)**
- Assistants **30 (09)**

() = Nombre de Femmes

88

DEDICACE

À

*Mon époux M. FOTSO TOKAM Padrine pour l'amour et
le soutien qu'il n'a cessé de m'apporter lors de la
réalisation de cette thèse.*

REMERCIEMENTS

Je rends grâce à **Dieu tout puissant** qui a ouvert toutes les portes qui ont conduit à la réalisation de ce travail. Seigneur je ne suis rien sans Toi.

Le présent travail ne saurait être l'œuvre d'une seule personne, mais le fruit de la contribution de plusieurs à qui il convient d'exprimer notre gratitude. Mes sincères remerciements vont :

- Au **Professeur NJAMEN Dieudonné**, enseignant au Département de Biologie et Physiologie Animales, Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I qui, sans hésiter m'a ouvert les portes de son laboratoire il y a une décennie, et a renouvelé sa confiance en ma modeste personne en acceptant de diriger ce travail, pour sa rigueur scientifique, sa patience, sa disponibilité et surtout ses conseils avisés ;
- Au **Professeur ZINGUÉ Stéphane**, enseignant au Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I, qui a accepté de diriger ce travail et qui m'a initié dans le monde de la recherche, pour son aide pratique, son soutien moral, ses encouragements et ses critiques ;
- Au **Professeur TCHOUANKEU Jean-Claude**, Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour son accueil, sa patience et sa disponibilité à viser les documents relatifs à l'avancée de ce travail ;
- Aux **Professeurs BILONG BILONG Charles Félix** de regretté mémoire, **DZEUFIEU DJOMENI Paul Désiré**, **JATSA BOUKENG Hermine Epse MEGAPTCHE**, **MEGNEKOU Rosette**, enseignants au Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I pour leur encadrement et pour avoir acceptés de produire des lettres de recommandation ainsi que des documents personnels toutes les fois qu'ils ont été sollicités ;
- **A tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales** (Université de Yaoundé I, Cameroun), pour leur encadrement et les connaissances transmises tout au long de ce parcours universitaire ;
- Au **Professeur DJIOGUE Sefirin**, enseignant au Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I pour son assistance, ses critiques lors des présentations et ses conseils avisés ;
- Au **Professeur MVONDO Marie Alfrede**, enseignante au Département de Biologie Animale de l'Université de Dschang, pour ses conseils, ses critiques et ses encouragements ;
- Au **Professeur FOKOU Élie**, enseignant au Département de Biochimie, Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour avoir mis à notre disposition le matériel et les substances utilisées pour l'évaluation des propriétés qualitatives des huiles dans le cadre de ce travail ;

- Au **Dr NGO PAMBE Judith Christiane**, enseignante au Département des Sciences Morphologiques et Anatomo-Pathologiques à Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Garoua pour l'aide apportée dans la caractérisation histologique des tumeurs obtenues dans le cadre de ce travail ;
- Au **Dr ATEBA Sylvain Benjamin**, enseignant au Département de Biologie des Animaux de l'Université de Douala qui a accepté de corriger cette thèse, pour ses critiques, ses conseils et encouragements ;
- Au **Dr AWOUNFACK Charline Florence** qui m'a initié dans les bonnes pratiques et techniques de laboratoire ;
- A **M. TAKALA Jean Pierre**, Technicien au Laboratoire d'Histologie et d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, pour son aide apportée dans la réalisation de la partie histologique de ce travail ;
- Au **Dr NANA Christine Benderli** pour l'aide apportée lors du dosage des marqueurs de la prolifération cellulaire ;
- A mes aînés de laboratoire : **Dr ZEMO Franklin, Dr NANBO Téléphore, Dr DJIKEM Rudig, Dr SILIHE KAMGA Kevine** et **Dr SIPPING Marius** pour leur assistance lors des manipulations ainsi que leurs critiques et leurs encouragements ;
- A **Mme MOTOUM TEDJO Florette** que j'ai nommé affectueusement « ma collaboratrice » pour son soutien multiforme dans la réalisation de ce travail ;
- A mes chers cadets de laboratoire : **M. FOSSO Ulrich Roméo, M. FOMAT Boris, Mme ADJOFFOIN Chiara Nange, Mme ATSAMA MBEDE Perpetue, Mme MASSOP Christelle, Mme NDJENGUE MINDANG Élisabeth, Mme FOTSING Sorelle, Mme NKUIMI Ornella, Mme TEFFO Hornella** pour leur assistance lors des différentes manipulations ;
- A **M. NGAPOUT FIFEN Joseph Rodrigue** et **Dr BIDINGHA Ronald** pour l'aide apportée dans les dosages des paramètres du stress oxydatif ;
- A ma belle mère **Mme GUIZE Anne Epse FOTSO** pour l'aide apportée dans la récolte des graines de courge utilisées dans le cadre de ce travail ;
- A Mes frères **M. FOTSO KONGNE Bébert, M. FOTSO YENGWA Marius** et Mes sœurs **Mme GUEMGNE YENGWA Silvanie, Mme KENGNE YENGWA Herline** et **Mme FOTSO MEKOUT Lipopine Nesselie** pour leurs encouragements ;
- A mes amis **M. MPECKTOUCK Martin** et **Mme KENGNE Pascaline** pour les encouragements ;
- A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail et dont les noms ne figurent pas sur ces pages.

SOMMAIRE

DEDICACE	xiii
REMERCIEMENTS	xiv
LISTE DES FIGURES	xx
LISTE DES TABLEAUX	xxii
LISTE DES ABREVIATIONS	xxiv
RESUME	xxv
ABSTRACT	xxvii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	5
I-1- Généralités sur la prostate.....	6
I.1.1- Localisation anatomique.....	6
I.1.2- Anatomie zonale.....	6
I.1.3- Anatomie descriptive.....	7
I.1.4- Histologie de la glande prostatique.....	7
I.1.5- Physiologie de la glande prostatique.....	9
I.1.6- Contrôle hormonal de la prostate.....	9
I.2- Les tumeurs bénignes de la prostate.....	12
I.2.1- Définition.....	12
I.2.2- Epidémiologie de de l’HBP.....	13
I.2.3- Facteurs de risque.....	13
I.2.4- Etiologie de l’HBP.....	13
I.2.5- Symptomatologie de l’HBP.....	15
I.2.6- Diagnostic de l’HBP.....	15
I.2.7- Traitements de l’HBP.....	16
I.3- Tumeurs malignes de la prostate.....	17
I.3.1- Définition.....	17
I.3.2- Epidémiologie.....	18
I.3.3- Cancérogénèse.....	18
I.3.4- Mécanisme physiopathologique.....	20
I.3.5- Gènes impliqués dans la cancérogénèse.....	20
I.3.6- Types histologiques des carcinomes prostatiques.....	21
I.3.7- Pathogénèse du cancer de la prostate.....	22
I.3.8- Facteurs de risque.....	24
I.3.9- Dépistage.....	27

I.3.10- Symptomatologie.....	28
I.3.11- Traitements.....	28
I.4- Alicaments.....	30
I.4.1- Définition.....	30
I.4.2- Alicaments et tumeurs.....	30
I.5- Cucurbitacées.....	31
I.5.1- Description morphologique.....	31
I.5.2- Répartition géographique.....	34
I.5.3- Systématique.....	34
I.5.4- Actions thérapeutiques.....	34
I.5.5- Usage traditionnel.....	34
I.5.6- Composition chimique et nutritionnelle.....	34
I.5.7- Travaux antérieurs.....	35
I.6. Modèles du cancer de la prostate.....	37
I.6.1. Modèles animaux.....	38
I.6.2. Modèles <i>in vitro</i>	39
I.7. Etude de la toxicité de l'extrait.....	39
I.7.1- Toxicité aiguë.....	39
I.7.3. Toxicité chronique.....	39
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	40
II.1- Matériel biologique.....	41
II.1.1- Matériel végétal.....	41
II.1.2- Matériel animal.....	41
II.1.3- Substances.....	42
II.2- Méthodes.....	42
II.2.1- Préparation des extraits.....	42
II.2.2- Tests pharmacologiques.....	43
II.2.3- Evaluation des propriétés qualitatives de l'huile des graines de <i>Cucumis sativus</i>	48
II.2.4- Evaluation des effets antiprolifératifs des graines de courges.....	51
II.2.5- Evaluation des effets antiprolifératifs de l'huile et du tourteau issus des graines <i>C. sativus</i>	54
II.2.6- Evaluation des mécanismes d'action cellulaires des graines de <i>C. sativus</i>	58
II.2.7- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	62

II.2.8- Évaluation de la toxicité aiguë et du profil toxicologique de l'huile et des graines de <i>C. sativus</i>	64
II.2.9- Analyse histologique.....	66
II.2.10- Evaluation de quelques paramètres biochimiques.....	68
II.2.11- Analyse statistique.....	79
CHAPITRE III : RESULTATS	80
III.1- Effet antiprolifératif des graines des six espèces de cucurbitacées sur la prostate..	81
III.1.1- Effets des graines sélectionnées sur la croissance des cellules cancéreuses de la prostate.....	81
III.1.2- Effets des graines sélectionnées sur un modèle d'HBP chez le rat.....	83
III.1.3- Effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de <i>C. sativus</i>	87
III.1.4- Effet de la fréquence de consommation des graines de <i>C. sativus</i> sur les paramètres prostatiques chez les rats.....	89
III.1.5- Effet de l'huile et du tourteau des graines de <i>C. sativus</i> sur les paramètres prostatiques des rats présentant une HBP.....	90
III.2- Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur le cancer de la prostate induit chez le rat.....	96
III.2.1- Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur l'évolution pondérale.....	96
III.2.2- Effet de l'huile de <i>C. sativus</i> sur quelques paramètres prostatiques chez les rats cancéreux.....	97
III.2.3- Effet de l'huile de <i>C. sativus</i> sur la masse relative de quelques organes chez les rats.....	103
III.2.4- Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur quelques marqueurs des fonctions hépatique et rénale chez des rats.....	105
III.2.5- Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur le profil lipidique chez des rats cancéreux.....	105
III.2.6- Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur quelques paramètres hématologiques chez les rats cancéreux.....	106
III.3.1- Effet anti-androgénique.....	109
III.3- Evaluation des modes d'action de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	109
III.3.2- Effet oestrogénique.....	110
III.3.3- Activités antioxydantes in vitro des graines de <i>C. sativus</i>	111
III.4- Elucidation de quelques mécanismes d'action de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	111
III.5- Etudes toxicologiques.....	116
III.5.1- Evaluation de la toxicité aiguë.....	116

III.5.2- Aperçu toxicologique durant le traitement pharmacologique.....	118
III.6- Propriétés qualitatives de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	122
III.7- Analyse chimique par GC-MS de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	122
CHAPITRE IV : DISCUSSION	124
CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATION	139
REFERENCES	142
ANNEXES	I
LISTE DES PUBLICATIONS	VI

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Prostate normale et ses rapports avec les autres structures pelviennes.....	6
Figure 2: Anatomie zonale de la prostate.....	7
Figure 3: Prostate des rongeurs montrant les différents lobes.....	7
Figure 4: Histologie générale d'une glande prostatique humaine.....	8
Figure 5: Epithélium prostatique humaine.....	8
Figure 6: Biosynthèse des androgènes.....	10
Figure 7: Voies de signalisation génomique et non-génomique du récepteur des androgènes....	11
Figure 8: Etapes de la cancérogénèse.....	18
Figure 9: Protocole d'évaluation des effets antiprolifératifs des graines des six espèces de courge.....	52
Figure 10: Protocole d'évaluation de l'effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de <i>C. sativus</i>	53
Figure 11: Protocole d'évaluation de l'effet de la fréquence d'administration sur l'activité pharmacologique des graines de <i>C. sativus</i>	54
Figure 12: Protocole d'évaluation des effets de l'huile et du tourteau des graines de <i>C. sativus</i> sur l'activité pharmacologique.....	55
Figure 13: Représentation schématique du protocole d'induction du cancer de la prostate chez le rat.....	56
Figure 14: Représentation schématique du protocole d'évaluation de la toxicité aiguë de <i>C. sativus</i>	64
Figure 15: Représentation schématique du protocole d'évaluation de la toxicité des doses répétées de <i>C. sativus</i>	65
Figure 16: Effets des graines de <i>L. siceraria</i> , <i>C. manii</i> et <i>C. maxima</i> sur la croissance cellulaire.....	81
Figure 16': Effets des graines de <i>C. moschata</i> , <i>C. mélo</i> et <i>C. sativus</i> sur la croissance cellulaire.....	82
Figure 17: Microphotographies de la prostate.....	85
Figure 18: Représentation schématique des effets des graines des six espèces de courge sur la taille de l'épithélium et le diamètre glandulaire.....	86
Figure 19: Représentation schématique des effets de <i>C. sativus</i> sur la masse relative, le volume et la taille de l'épithélium prostatique.....	90
Figure 20: Effets de l'huile et du tourteau des graines de <i>C. sativus</i> sur la croissance des cellules cancéreuses non sensibles et sensibles aux androgènes.....	91

Figure 21: Effets de l'huile et du tourteau des graines de <i>C. sativus</i> sur la morphologie de la prostate après 28 jours de traitement chez les rats.....	92
Figure 22: Représentation schématique de l'effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la masse relative, le volume et la taille de l'épithélium de la prostate présentant une HBP.....	93
Figure 23: Microphotographies des coupes de la prostate et la taille de l'épithélium prostatique des rats traités avec l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	95
Figure 23': Représentation schématique de l'effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la taille de l'épithélium prostatique.....	96
Figure 24: Évolution pondérale des animaux suivis pendant sept mois de traitement suite à l'induction du cancer de la prostate.....	97
Figure 25: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la morphologie de la prostate après 28 jours de traitement.....	98
Figure 26: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la masse relative, le volume et le taux de protéines totales.....	99
Figure 27: Microphotographies des coupes histologiques des prostates des rats soumis à un traitement de 28 semaines.....	102
Figure 28: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur les masses relatives de quelques organes androgénodépendants	109
Figure 29: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la formation des clones et la taille des clones.....	112
Figure 30: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur le mécanisme de mort des cellules cancéreuses.....	113
Figure 31: Représentation graphique des effets de l'huile et du total des graines de <i>C. sativus</i> sur la migration tumorale et le pourcentage des cellules ayant migrées.....	114
Figure 32: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la matrice extracellulaire.....	114
Figure 33: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la membrane de l'insert.....	115
Figure 34: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur l'expression des intégrines.....	116
Figure 35: Évolution pondérale des rats en essai de toxicité aiguë.....	117
Figure 36: Microphotographies des coupes histologiques des organes obtenus après 90 jours de traitement avec l'huile et les graines totales de <i>C. sativus</i>	121
Figure 37: Chromatogramme GC-MS de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	123

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Description morphologique des six espèces de courge.....	32
Tableau II : Récapitulatif des travaux antérieurs menés sur les six espèces de cucurbitacées.....	35
Tableau III: Espèces de cucurbitacées utilisées.....	41
Tableau IV: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés dans le test de chimioprévention contre le CaP	57
Tableau V: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés lors de l'évaluation des effets antiandrogéniques de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	60
Tableau VI: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés lors de l'évaluation des effets oestrogéniques de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	61
Tableau VII: Étapes de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine.....	68
Tableau VIII: Protocole de dosage des protéines totales prostatiques par la méthode de Bradford	69
Tableau IX: Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase.....	71
Tableau X: Protocole de dosage des nitrites.....	73
Tableau XI: Protocole de dosage de la bilirubine totale.....	75
Tableau XII: Protocole de dosage de l'urée sérique.....	75
Tableau XIII: Protocole de dosage du cholestérol total.....	76
Tableau XIV: Protocole de dosage des triglycérides.....	77
Tableau XV: Effets protecteurs des six graines de courge sur l'index prostatique, le pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique, le volume et le taux de protéines totales..	83
Tableau XVI: Effet de la cuisson sur les paramètres prostatiques chez les rats présentant l'HBP	87
Tableau XVII: Effet de la cuisson des graines de <i>C. sativus</i> du statut oxydatif dans la prostate des rats présentant une HBP.....	89
Tableau XVIII: Effet d'un traitement de 28 jours avec l'huile de <i>C. sativus</i> sur le taux sérique de certaines cytokines pro-inflammatoires chez les rats présentant une HBP.....	94
Tableau XIX: Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur l'incidence tumorale, la charge tumorale et le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale.....	98
Tableau XX: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur quelques marqueurs du stress oxydatif dans la prostate.....	100
Tableau XXI: Effet de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur quelques marqueurs de l'inflammation.....	101
Tableau XXII: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la masse relative de quelques organes chez les rats	104

Tableau XXIII: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur les fonctions hépatiques (ASAT et ALAT) et rénales (créatinine et urée).....	105
Tableau XXIV: Effets de l'huile des graines <i>C. sativus</i> sur la lipidémie chez les rats avec le cancer de la prostate.....	106
Tableau XXV: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> quelques paramètres hématologiques chez les rats.....	108
Tableau XXVI: Effets potentialisateurs des œstrogènes de <i>C. sativus</i> sur les masses de quelques organes androgéno-dépendants.....	110
Tableau XXVII: Capacité antioxydante de l'huile et du <i>totum</i> des graines de <i>C. sativus</i>	111
Tableau XXVIII: Effets de l'administration aiguë de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la masse relative des organes.....	117
Tableau XXIX: Effets de l'huile des graines de <i>C. sativus</i> sur la masse relative des organes chez les rats après 90 jours de traitement.....	118
Tableau XXX : Effets de de l'huile et du total des graines de <i>C. sativus</i> sur quelques paramètres hématologiques.....	119
Tableau XXXI : Effets de l'huile et du total des graines sur quelques marqueurs des fonctions hépatique et rénale.....	120
Tableau XXXII: Effets de l'huile et du total des graines sur quelques paramètres biochimiques...	120
Tableau XXXIII: Paramètres de la qualité de l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	122
Tableau XXXIV: Composés bioactifs identifiés dans l'huile des graines de <i>C. sativus</i>	123

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique	HSP : " Heat shock proteins "
ALAT : Alanine-aminotransférase	IFNγ : Interféron gamma
AR : " Androgen receptor "	IGF : " Insulin-like growth factor "
ARE : "Androgen Responses Element"	IL : Interleukine
ASAT : Aspartate-aminotransférase	MYC : " Myelocytomatosis "
Bax : " Protein Bcl-2-associated X "	NOS : " Nitric oxide synthase "
Bcl : " B-cell lymphoma-extra-large "	LH : " Luteinizing hormone "
CaP : Cancer de la prostate	MAPK : " Mitogen-activated protein kinase "
CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	NF-κB : " Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in β -Cells "
COX : Cyclooxygénase	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
CYP : " Cytochrome P450 family "	PAP : Phosphatase acide prostatique
DHEA : Dehydroépiandrostérone	PI₃K : PhosphoInositide 3-kinase
DHT : Dihydrotestostérone	PSA : " Prostate specific antigen "
EGF : " Epidermal Growth Factor "	PCa : Cancer de la prostate
FGF : " Fibroblast growth factor "	PCA3 : " Prostate cancer antigen 3 "
ERO : Espèces réactives de l'oxygène	PIA : " Prostatic intraepithelial atrophy "
E₂V : Œstradiol valérate	PIN : " Prostatic intraepithelial neoplasia "
ER : " Estrogen receptor "	SHBG : " Sex hormone binding globulin "
ERE : "Estrogen response element "	SGTA : " Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein alpha "
ERK : " Extracellular signal-regulated kinase "	STAT1 : Transducteur de signal et de l'activateur de transcription 1
FKBP : « FK506-binding »	T : Testostérone
FSH : " Follicle-stimulating hormone "	TMPRSS : " Transmembrane protease serine subfamily "
GMPc : Guanosine monophosphate cyclique	TGF : " Transforming growth factor "
GnRH : " Gonadotropin releasing hormone "	VEGF : " Vascular endothelial growth factor"
GSTP1 : Glutathionne S-transférase 1	
HCM : Hémoglobine corpusculaire moyenne	
HBP : Hyperplasie bénigne de la prostate	
HDL : " High density lipoprotein "	

RESUME

Le cancer et l'hyperplasie de la prostate sont deux pathologies de l'appareil urogénital mâle qui demeurent des problèmes majeurs de santé publique. Face aux limites de la médecine moderne, la communauté scientifique s'est tournée vers l'étude des plantes médicinales. Les cucurbitacées constituent une famille de plantes comprenant environ 130 genres repartis en 960 espèces utilisées en médecine traditionnelle dans la lutte contre plusieurs pathologies y compris les maladies prostatiques. Par contre, aucune étude n'a encore été réalisée dans le but vérifier scientifiquement ces effets bénéfiques. L'objectif du présent travail était d'évaluer les effets protecteurs des graines de quelques cucurbitacées camerounaises sur des modèles de tumeurs bénignes et malignes de la prostate chez le rat. Pour atteindre cet objectif, une étude comparative du "totum" des graines de six espèces de courge les plus consommées au Cameroun a été réalisée sur les lignées cancéreuses de la prostate humaine et sur un modèle d'HBP induit chez le rat Wistar. *In vitro*, la cytotoxicité des extraits des graines de courge a été évaluée sur les lignées cancéreuses grâce au test de MTT (bromure de 3 [4,5-diméthylthiazol-2-yl] diphényltétrazolium). *In vivo*, 75 rats âgés de 10 semaines ont été traités simultanément avec le "totum" des graines de courge aux doses de 500 et 1000 mg/kg et la testostérone pendant 28 jours. Les paramètres évalués ont été la masse relative, le volume, le taux de protéines totale, la taille de l'épithélium, le diamètre glandulaire prostatique ainsi que le pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique. A la suite de cette étude, les effets de la cuisson, de la fréquence de prise des graines totales ainsi que ceux de l'huile et du tourteau des graines de *C. sativus* ont été également évalués suivant les modèles *in vitro* et *in vivo* sus-décrits. Dans la seconde partie de ce travail, les effets protecteurs de l'huile des graines de *C. sativus* (aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg) et du "totum" à la dose de 500 mg/kg ont été évalués sur un modèle de cancer de la prostate induit par le benzo(a)pyrène (B(a)P) chez le rat. Pour ce faire, les rats âgés de 6 semaines ont reçu seul ou en association de l'acétate de cyprotérone (50 mg/kg), du B(a)P (50 mg/kg), de la testostérone (10 et 100 mg/kg) et les extraits pendant 210 jours. Les paramètres évalués étaient la charge tumorale, la masse relative, le volume, les taux de protéines totales et de PSA ("Prostate Specific Antigen") dans la prostate. Le statut oxydatif, les marqueurs de l'inflammation, les fonctions rénales et hépatiques, ainsi que les paramètres hématologiques ont été également évalués. Dans la troisième partie de ce travail, les possibles mécanismes d'action cytotoxique, anti-androgénique, oestrogénique, ainsi que les mécanismes d'action cellulaires ont été évalués sur les lignées cellulaires prostatiques humaines par : détermination du mécanisme de mort cellulaire (nécrose ou apoptose), formation des clones, capacité anti-invasion et adhésion ainsi que l'expression des intégrines. Les essais de toxicité aigüe et aperçu toxicologique durant le traitement pharmacologique ont été évalués. Les résultats obtenus à l'issue de la première partie de ce travail ont révélé que deux des six espèces de courge testées possèdent une activité inhibitrice *in*

in vitro sur les cellules prostatiques humaines non androgéno-sensibles (DU145 et PC 3). *In vivo*, l'huile des graines de *C. sativus* a entraînée une baisse significative de la masse relative ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$), du volume ($p < 0,05$) et du taux de PSA ($p < 0,05$) dans la prostate. Il a été également observé une diminution significative des marqueurs du stress oxydant ($p < 0,001$) et inflammatoires ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) surtout à la dose de 170 mg/kg. Après 210 jours de co-administration du B(a)P et de la testostérone, les rats ont présenté un adénocarcinome prostatique de Gleason 8 (4+4) avec une gaine péri-nerveuse caractérisée par une architecture cellulaire altérée, une hypertrophie cellulaire et une dysplasie. L'huile et le "totum" ont montré les effets protecteurs contre le cancer marqués par une hyperplasie glandulaire floride, une inhibition de la charge, de l'incidence et du volume des tumeurs avec un effet plus marqué à la dose de 170 mg/kg PC. L'huile extraite des graines de *C. sativus* tout comme le flutamide ont présenté une activité anti-androgénique marquée par une réduction significative des masses relatives de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$), des vésicules séminales ($p < 0,01$; $p < 0,001$), du gland ($p < 0,05$) et de la glande de tyson ($p < 0,001$). De plus, l'huile et le "totum" administrés concomitamment avec l'E₂V et le letrozole ont présenté des activités oestrogéniques plus marqués par une diminution significative des masses relatives des testicules ($p < 0,05$), de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$), du canal déférent ($p < 0,05$; $p < 0,01$) et du pénis ($p < 0,05$). Les graines sont peu toxiques en témoignent l'absence de signe de morbidité, de décès ; ce qui a permis de déduire une DL 50 > 5000 mg/kg PC. Une augmentation significative de la masse relative du foie associée à une augmentation significative l'activité de l'ALAT et du taux de bilirubine sans atteinte histopathologique ont été observées. Pris dans l'ensemble, ces résultats montrent que l'huile des graines de *C. sativus* possède des effets antiprolifératifs sur l'hyperplasie bénigne et le CaP surtout à la dose de 170 mg/kg. Elle exercerait ses effets cytotoxiques en inhibant la croissance des cellules tumorales, en induisant l'apoptose, en inhibant la formation des clones, la migration et l'invasion cellulaire mais aussi en favorisant l'adhésion de ces cellules. Ces effets seraient attribués à l'acide linoléique et au squalène, composés connus pour leurs propriétés anti-androgéniques, anti-inflammatoires, anti-oxydants et anti-hyperlipidémiques. Ces résultats apporteraient des bases scientifiques aux considérations largement répandues selon lesquelles les graines de courge possèdent des effets bénéfiques sur la prostate.

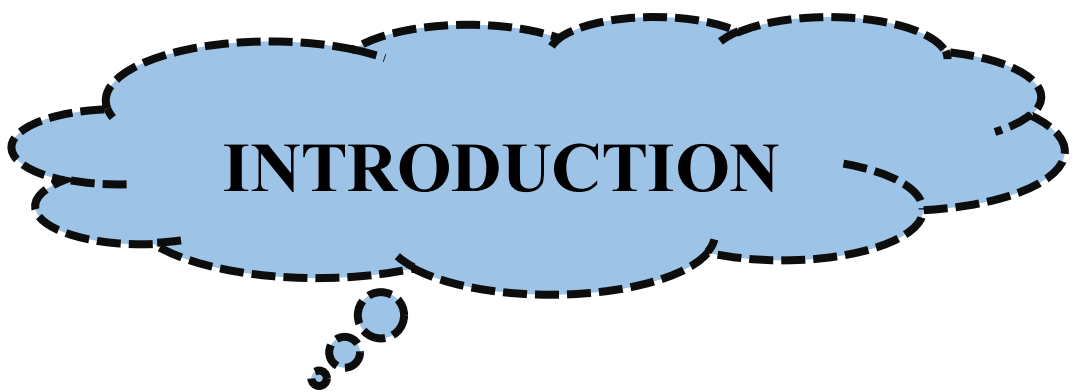
Mots clés : Anti-androgénique, Anti-inflammatoire, *Cucumis sativus*, Cytotoxicité, Stress oxydant, Hyperplasie bénigne de la prostate, Cancer de la prostate.

ABSTRACT

Cancer and prostate hyperplasia are two pathologies of the male urogenital tract that are major public health problems. In light of the limitations of modern medicine, the scientific community has turned to the study of medicinal plants. Cucurbits are a family of plants comprising some 130 genera divided into 960 species, used in traditional medicine to combat a number of pathologies, including prostate diseases. Cucurbits are a family of plants comprising some 130 genera divided into 960 species. They are used in traditional medicine to combat a number of pathologies, including prostate diseases. However, no study has been conducted to scientifically verify these beneficial effects. The aim of the present work was to evaluate the protective effects of the seeds of some Cameroonian cucurbits on benign and malignant prostate tumor models in rats. To achieve this objective, a comparative study of the seed "totum" of six of the most widely consumed squash species in Cameroon was carried out on human prostate cancer lines and on a Wistar rat model of induced BPH. *In vitro*, the cytotoxicity of pumpkin seed extracts was assessed on cancer lines using the MTT (3 [4,5-dimethylthiazol-2-yl] diphenyltetrazolium bromide) assay. *In vivo*, 75 rats aged 10 weeks were treated simultaneously with pumpkin seed "totum" at doses of 500 and 1000 mg/kg and testosterone for 28 days. The parameters assessed were relative mass, volume, total protein content, epithelial size, prostatic glandular diameter, and percentage inhibition of prostatic growth. Following this study, the effects of cooking, the frequency of total seed intake, and *C. sativus* seed oil and meal were also evaluated using the aforementioned *in vitro* and *in vivo* models. In the second part of this work, the protective effects of *C. sativus* seed oil (at doses of 42.5, 85, and 170 mg/kg) and "totum" at 500 mg/kg were assessed in a rat model of benzo(a)pyrene (B(a)P)-induced prostate cancer. Six-week-old rats were given cyproterone acetate (50 mg/kg), B(a)P (50 mg/kg), testosterone (10 and 100 mg/kg), and extracts, alone or in combination, for 210 days. The parameters evaluated were tumor burden, relative mass, volume, total protein, and PSA ("Prostate Specific Antigen") levels in the prostate. Oxidative status, markers of inflammation, kidney and liver function, and hematological parameters were also assessed. In the third part of this work, possible cytotoxic, anti-androgenic, estrogenic, and cellular mechanisms of action were evaluated on human prostate cell lines. This was done by determining the mechanism of cell death (necrosis or apoptosis), clone formation, anti-invasion and adhesion capacity, and integrin expression. Acute toxicity tests and a toxicological overview during pharmacological treatment were evaluated. The results obtained from the first part of this work revealed that two out of the six pumpkin species tested possess inhibitory activity *in vitro* on non-androgen-sensitive human prostate cells (DU145 and PC 3). *In vivo*, there was a significant decrease in relative mass ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$), volume ($p < 0.05$) and prostate PSA levels ($p < 0.05$). There was also a significant decrease in oxidative markers levels ($p < 0.001$) and inflammatory markers ($p < 0.05$; p

< 0.01; $p < 0.001$), especially at the 170 mg/kg dose. After 210 days of co-administration of B(a)P and testosterone, the rats developed Gleason 8 (4+4) prostatic adenocarcinoma with peri-nerve sheath characterized by altered cellular architecture, cellular hypertrophy, and dysplasia. Both oil and "totum" showed protective effects against cancer, characterized by florid glandular hyperplasia, inhibition of tumor burden, incidence, and volume. The effect was more pronounced at a dose of 170 mg/kg PC. Both *C. sativus* seed oil and flutamide exhibited anti-androgenic activity, resulting in a significant reduction in the relative masses of the prostate ($p < 0.05$; $p < 0.01$), seminal vesicles ($p < 0.01$; $p < 0.001$), glans ($p < 0.05$), and Tyson gland ($p < 0.001$). Additionally, the oil and "totum" administered concomitantly with E₂V and letrozole showed more pronounced estrogenic activities, leading to a significant decrease in the relative masses of the testes ($p < 0.05$), prostate ($p < 0.05$; $p < 0.01$), vas deferens ($p < 0.05$; $p < 0.01$), and penis ($p < 0.05$). The seeds showed low toxicity, as evidenced by the absence of any signs of morbidity or death, resulting in an LD₅₀ > 5000 mg/kg PC. There was a significant increase in the relative liver mass, along with a significant increase in ALAT activity and bilirubin levels, without histopathological damage. In conclusion, these results demonstrate that *C. sativus* seed oil has antiproliferative effects on benign hyperplasia and CaP, particularly at a dose of 170 mg/kg. Its cytotoxic effects include inhibiting tumor cell growth, inducing apoptosis, inhibiting clone formation, cell migration, and invasion, and promoting cell adhesion. These effects are attributed to linoleic acid and squalene, compounds known for their anti-androgenic, anti-inflammatory, antioxidant, and anti-hyperlipidemic properties. These results provide a scientific basis for claims that pumpkin seeds have beneficial effects on the prostate in Cameroon.

Keywords: Anti-androgenic, anti-inflammatory, *Cucumis sativus*, cytotoxicity, oxidative stress, Benign prostatic hyperplasia, Prostate cancer.



INTRODUCTION

Le cancer de la prostate (CaP) et l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) sont deux pathologies urologiques les plus courantes chez les hommes âgés et caractérisées par la prolifération des cellules prostatiques (Glaser *et al.*, 2022). L'incidence de l'HBP augmente avec l'âge pour atteindre environ 90% chez les hommes de 80 ans (Nyamai *et al.*, 2016). Le CaP est un problème majeur de santé publique en raison de son incidence et de sa mortalité élevée. Il s'agit du premier cancer urogénital et du deuxième néoplasme le plus fréquent chez les hommes dans le monde, représentant 13,5% de tous les cancers diagnostiqués (Barsouk *et al.*, 2020). Il représente la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme après le cancer broncho-pulmonaire (Sung *et al.*, 2021). L'incidence du cancer de la prostate ne cesse d'augmenter dans le monde et pourra atteindre 2293818 nouveaux cas en 2040 avec 379005 cas de décès (Ferlay *et al.*, 2019 ; Rawla, 2020). L'Afrique enregistrera le plus grand taux de mortalité estimé à plus de 1,24 du taux actuel d'ici 2040 si rien n'est fait (Ferlay, 2019) soit environ 1 million de morts si les mesures adéquates ne sont pas prises. Au Cameroun, peu de données existent sur la prévalence. Cependant, une étude réalisée à l'Hopital Général de Ngaoundéré a montré que cette pathologie touche environ 7,3% de la population masculine et représente 33,3% de tous les cancers diagnostiqués chez l'homme (Ngaroua *et al.*, 2019). Plus de 1000 cas de CaP ont été répertoriés de 2004 à 2015 aux départements d'Urologie et d'Oncologie de certaines villes du Cameroun (Yaoundé, Douala, Bafoussam, Bamenda et Buéa) (Engbang *et al.*, 2017).

Les mécanismes responsables de l'initiation et de la progression de ces deux pathologies sont partiellement connus. Différents facteurs environnementaux et génétiques y sont associés comme l'âge, l'hérédité, l'obésité, le tabagisme, l'alimentation, les médiateurs inflammatoires, le stress oxydatif et les hormones endogènes (Habib *et al.*, 2021). Cependant, le mécanisme par lequel chaque facteur exerce ses activités n'a pas encore été clairement élucidé. Le stress oxydatif et les médiateurs inflammatoires sont impliqués dans l'initiation. En effet, dans des conditions normales, les antioxydants surpassent les pro-oxydants, mais dans des conditions oxydatives, les pro-oxydants l'emportent sur les antioxydants, ce qui peut conduire à de nombreuses maladies inflammatoires, dont l'HBP et le cancer de la prostate (Devlin, 2021). Les travaux scientifiques disponibles suggèrent que les androgènes, principalement la testostérone, la dihydrotestostérone (DHT) agissant via les récepteurs des androgènes (RA), sont les principaux promoteurs de la croissance et de la progression du cancer de la prostate. La régulation à la hausse ou la perturbation de cette voie entraîne une activation anormale du RA et la production d'oncogènes pouvant initier le CaP (Brand et Dehm, 2013 ; Messner *et al.*, 2020). Les œstrogènes sont également impliqués dans la pathogénèse de la maladie par de nombreuses voies parmi lesquelles la génotoxicité directe, l'épigéno-toxicité, l'hyperprolactinémie et l'inflammation chronique (Nelles *et al.*, 2011).

Le diagnostic de ces deux pathologies passe par le toucher rectal, le dosage de la PSA et les biopsies (Rozet *et al.*, 2016). La plupart des patients souffrants d’HBP et du CaP présentent des symptômes du bas appareil urinaire, notamment un faible débit, une urgenterie, la pollakiurie, l’effort à uriner, la nycturie, une intermittence, une vidange incomplète et l’incontinence qui affectent considérablement la qualité de vie du patient (Dun et Kazer, 2011). En fonction du stade de la maladie, plusieurs méthodes de traitement ont été développées parmi lesquelles la prostatectomie, la radiothérapie, l’hormonothérapie et le suivi thérapeutique (Rozet *et al.*, 2020). Lorsque le CaP est localisé, la monothérapie active, la chirurgie et la radiothérapie sont les traitements curatifs. Cependant, certaines études ont montré que la prostatectomie est associée au risque de saignement et de dysfonctionnement érectile, la radiothérapie est associée à des difficultés urinaires et des douleurs pelviennes (Litwin et Tan, 2017). Les données épidémiologiques montrent que l’HBP et le CaP affectent encore la vie des milliers des patients, malgré les énormes progrès de la médecine moderne, mais elle reste incapable de trouver un traitement efficace pour lutter contre cette maladie (Njamen *et al.*, 2020).

En raison des divers effets secondaires indésirables des médicaments, de leur coût élevé et de la résistance qu’ils entraînent, l’industrie nutraceutique et alimentaire s’est tournée vers des ingrédients d’origine végétale écologiques et durables (Ho *et al.*, 2022 ; Singh et Kumar, 2023), car ils présentent peu d’effets secondaires (Bounda, 2018). L’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 170 des 194 états membres de l’OMS font recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaire (OMS, 2023). C’est ainsi que les plantes médicinales telles que *Bidens pilosa*, *Hypoxis hemerocallida*, *Pygeum africanum* et *Nigella sativa* sont connues pour soigner les troubles/symptômes de l’HBP et du cancer de la prostate (Ly, 2018). Ces traitements naturels ne sont pas toujours efficaces car ils nécessitent une longue période de consommation et beaucoup de patients se découragent au cours du traitement. Le style de vie et les habitudes alimentaires ont été identifiés comme des facteurs de risque majeurs dans la croissance et la progression de ces deux pathologies. Les données épidémiologiques militent en faveur des effets protecteurs des aliments contre divers types de cancers y compris celui de la prostate. Par conséquent, le développement des aliments fonctionnels avec une certaine sécurité est nécessaire. Les graines de courge peuvent être considérées comme un aliment fonctionnel naturel en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Pour contribuer à la caractérisation de nouveaux aliments dans la lutte contre le cancer, nous nous sommes intéressés aux graines de quelques de cucurbitacées les plus consommées au Cameroun. Il s’agit des genres *Cucumeropsis*, *Cucumis*, *Cucurbita* et *Lagenaria* (Aubaile-Sallenave, 2001).

Les cucurbitacées représentent une famille de plantes comprenant 130 genres et 960 espèces (Sahayi et Shirali, 2018 ; Mukherjee *et al.*, 2022). Elles sont retrouvées principalement dans les

zones tropicales et subtropicales dans le monde (Rubatzky et Yamaguchi-Mas, 1997). Plusieurs études ont montré que la courge présente de nombreuses propriétés biologiques : antidiabétique, antioxydante, antihypertensive, antitumorale, immuno-modulatrice, antibactérienne, antihypercholestérolémiante et antiparasitaire (Rolnik et Olas, 2020). Les graines de courge sont consommées fraîches ou rôties pour le soulagement des crampes abdominales et distensions dues aux vers intestinaux et l'huile extraite de ces dernières est utilisée pour soulager les troubles bénins de la prostate (Xanthopoulou *et al.*, 2009). Certaines études suggèrent que les graines de courge sont dotées de propriétés anticancéreuses *in vitro* sur les lignées cancéreuses mammaires et utérines (Tuama et Mohammed, 2019). Les informations recueillies pendant les entretiens avec des femmes âgées à Bafoussam II dans la région de l'Ouest du Cameroun ont révélé qu'elles cuisinaient régulièrement des graines de courge à leur époux afin de prévenir les maladies de la prostate. Au meilleur de notre connaissance, aucune étude scientifique n'a été réalisée dans le but de vérifier scientifiquement les supposés effets bénéfiques des graines de courge camerounaises sur les troubles bénins et malins de la prostate. C'est ce qui justifie le présent travail qui avait pour objectif d'évaluer les éventuels effets bénéfiques des graines de quelques cucurbitacées camerounaises sur les modèles de tumeurs bénignes et malignes de la prostate *in vitro* sur les lignées cancéreuses prostatiques et *in vivo* chez le rat Wistar. Partant des données de la littérature et des résultats des enquêtes menées auprès des ménages à l'Ouest, la question de recherche est la suivante : les graines de courge consommées au Cameroun possèdent-elles des effets antiprolifératifs sur la prostate ? De cette question découle l'hypothèse selon laquelle les graines de courge possèderaient des propriétés antiprolifératives capables d'inhiber et/ou empêcher l'installation de l'HBP et du CaP. Plusieurs objectifs spécifiques découlent de l'objectif général de ce travail :

- ❖ étudier les effets des graines de six espèces de cucurbitacées les plus consommées *in vitro* sur les lignées cancéreuses et *in vivo* sur un modèle d'hyperplasie bénigne de la prostate ;
- ❖ déterminer les effets de la fraction huileuse de *C. sativus* sur un modèle de cancer de prostate ;
- ❖ déterminer les modes d'action de *C. sativus* et contribuer à l'élucidation du mécanisme cellulaire ;
- ❖ établir l'aperçu toxicologique et la toxicité aiguë des graines de *C. sativus* ainsi que de l'huile extraite de ces graines.



**CHAPITRE I :
REVUE DE LA
LITTERATURE**

I-1- Généralités sur la prostate

La prostate est une glande exocrine de l'appareil génital masculin de la taille d'une châtaigne et pesant 15 à 20 grammes chez l'adulte jeune (Corti *et al.*, 2022).

I.1.1- Localisation anatomique

La prostate est un organe situé dans l'espace sous péritonéal, en dessous de la vessie, au-dessus du plancher périnéal, en avant du rectum entre les muscles élévateurs de l'anus de chaque côté et en arrière de la symphyse pubienne (Roberts *et al.*, 2018). Elle entoure l'urètre, canal par lequel les urines sont évacuées de la vessie, sur 3 à 4 cm (Figure 1). Elle mesure environ 3 cm de haut, 4 cm de large et 2 cm de profondeur chez un adulte jeune.

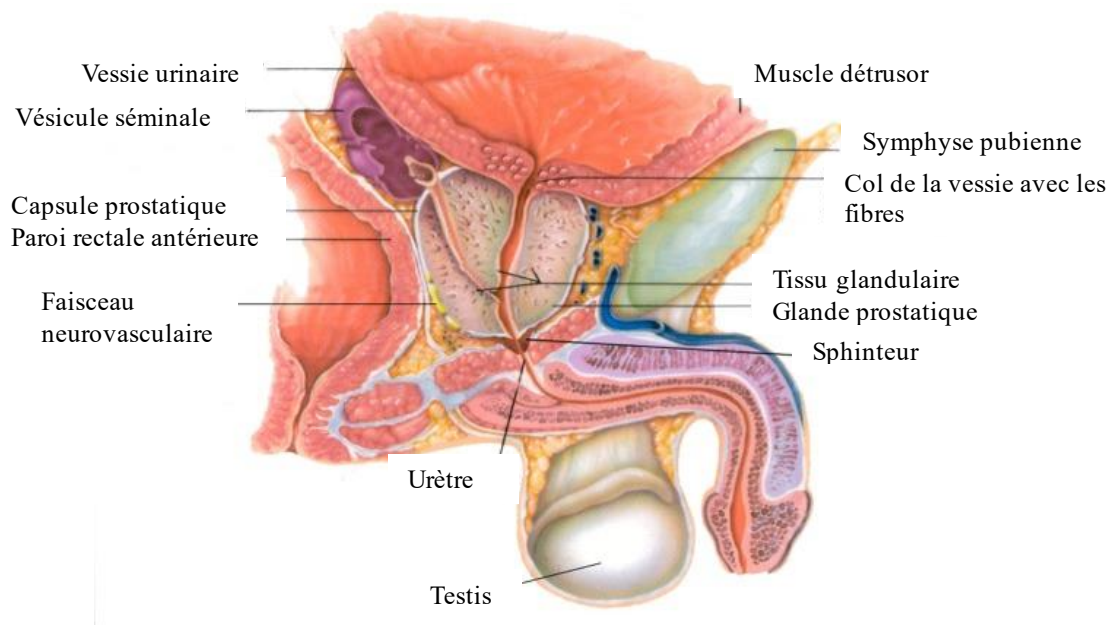
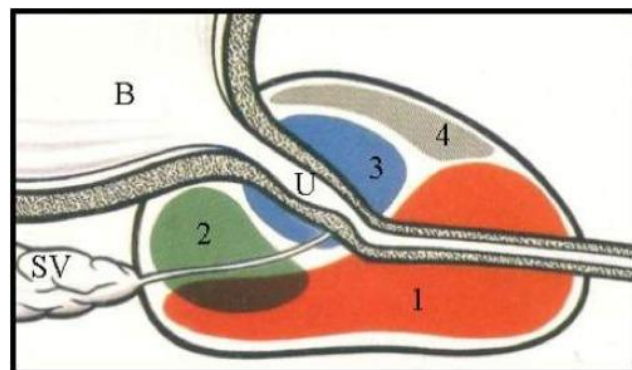


Figure 1: Prostate normale et ses rapports avec les autres structures pelviennes (Roberts *et al.*, 2018).

I.1.2- Anatomie zonale

Selon le modèle anatomique microscopique de Mc Neal (1968), la prostate de l'homme est constituée de quatre zones principales. La zone de transition entoure l'urètre prostatique proximal. La zone centrale située en arrière de la zone de transition entoure les canaux éjaculateurs et forme la majeure partie de la base prostatique. Elle constitue 25% de la masse glandulaire prostatique, dont les canaux s'abouchent dans l'urètre prostatique distal à proximité du veru montanum (Figure 2). Elle est le siège de l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP). La zone périphérique entoure la zone centrale et l'urètre prostatique distal. Elle forme 70% de la masse glandulaire prostatique dont les canaux s'abouchent dans l'urètre prostatique distal à proximité du *veru motanum*. C'est le siège du développement de 70% des cancers de la prostate (CaP). Le stroma fibromusculaire antérieur est complètement dépourvu de tissu glandulaire (Seisen *et al.*, 2012).



- 1 = zone périphérique
- 2 = zone centrale
- 3 = zone de transition
- 4 = zone antérieure
- B = vessie
- U = urètre
- SV : Vésicule séminale

Figure 2: Anatomie zonale de la prostate (représentation sagittale) (Roberts *et al.*, 2018).

L'anatomie comparée de la prostate du rat à celle de l'homme montre qu'elle est constituée de quatre lobes distincts à savoir (Figure 3) : la prostate dorsale, la prostate latérale, la prostate ventrale et la prostate antérieure ou glande coagulante (Knoblauch *et al.*, 2018). La glande prostatique du rat comme tous les rongeurs est composée de canalicules ne possédant pas d'acini à la différence de l'Homme. Il n'existe pas une analogie claire entre la structure lobulaire de la prostate des rongeurs et l'architecture zonale de la prostate humaine. On considère que les lobes dorsolatéraux correspondent à la zone périphérique humaine, tandis que les lobes ventraux correspondent à la zone centrale (Zabaiou, 2017).

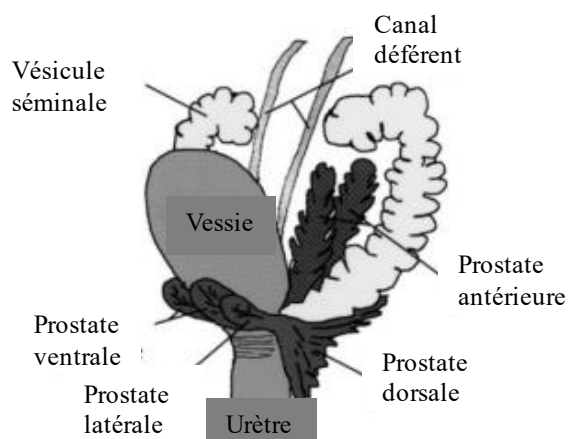


Figure 3: Prostate des rongeurs montrant les différents lobes (Knoblauch *et al.*, 2018).

I.1.3- Anatomie descriptive

La prostate est entourée d'une capsule composée d'une couche interne musculaire lisse et d'une couche externe de collagène. La prostate se laisse traverser par l'urètre prostatique et par les canaux éjaculatoires. L'urètre prostatique proximal est entouré des fibres musculaires lisses constituant le sphincter lisse urétral qui, en se contractant lors de l'éjaculation, permet d'éviter l'éjaculation rétrograde (Seisen *et al.*, 2012).

I.1.4- Histologie de la glande prostatique

La prostate humaine adulte est une glande tubulo-alvéolaire composée de canaux tapissés d'un épithélium colonnaire pseudo-stratifié. Les cellules qui tapissent les canaux sont cylindriques

et sécrétoires, avec des noyaux basaux (Figure 4). Une couche presque continue de cellules épithéliales basales forme la membrane basale. L'épithélium prostatique est, quant à lui, entouré d'un stroma fibromusculaire dense.

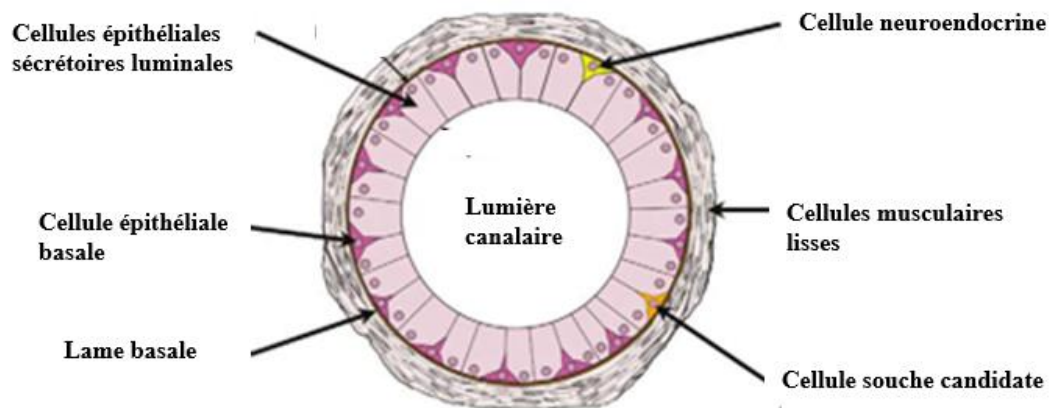


Figure 4: Histologie générale d'une glande prostatique humaine (Marker *et al.*, 2003).

L'épithélium glandulaire de la prostate humaine est composé d'acini et de canaux tapissés par trois types de cellules : lumineales, basales et neuroendocrines (Figure 5). Les acini ont un aspect ondulé à papillaire dans la plupart des cas (Paner, 2010). Les cellules lumineales sont cylindriques, avec un cytoplasme éosinophile pâle et des noyaux ronds près de la base de la cellule. Ce sont les cellules androgéno-sensibles sécrétrices des protéines notamment l'antigène spécifique de la prostate (PSA), la phosphatase acide prostatique (PAP), les polyamines et les prostaglandines.

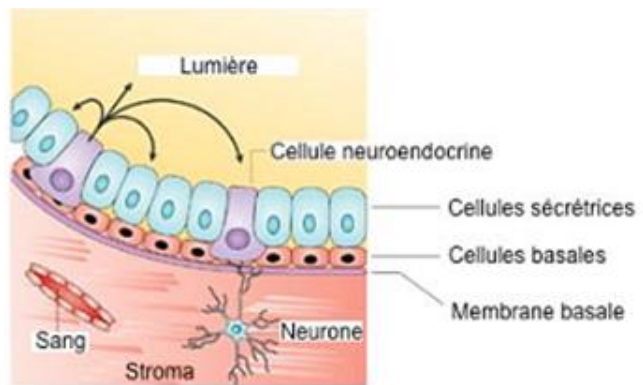


Figure 5: Epithélium prostatique humaine (Bok et Small, 2002).

Les cellules basales sont adjacentes à la membrane basale et ont des noyaux ovoïdes et un cytoplasme peu visible. Ce sont des cellules non sécrétrices caractérisées par une faible expression des androgènes. Les cellules neuroendocrines sont des cellules non androgéno-sensibles exprimant la chromogranine, la sérotonine et d'autres neuropeptides impliqués dans la régulation de la croissance, de la différenciation et de l'activité sécrétrice de l'épithélium prostatique. Des corps éosinophiles laminés arrondis sont fréquemment observés dans les lumières des acini (Ittmann, 2018).

I.1.5- Physiologie de la glande prostatique

La prostate, principale glande accessoire du système reproducteur masculin, joue un rôle essentiel dans la reproduction masculine en raison de sa localisation au carrefour des voies spermatiques et urinaires. Elle est donc impliquée dans la miction, la fertilité et l'éjaculation (Marieb, 2010).

La fonction principale de la prostate est de fournir les protéines et les électrolytes qui constituent l'essentiel du liquide séminal (Nehikhare *et al.*, 2018). Le PSA est une enzyme protéolytique appartenant à la famille des kallikréines des sérines protéases. Il est produit principalement par les cellules épithéliales prostatiques au niveau apical dans la lumière. Normalement sécrétée à des concentrations élevées dans le liquide séminal, le PSA joue un rôle dans la liquéfaction du liquide séminal en hydrolysant la séménogéline et la fibronectine, toutes deux responsables de la coagulation du sperme ; ce qui provoque une liquéfaction et facilite la fécondation (Mumbere *et al.*, 2021). Les autres sécrétions spécifiques de la prostate protègent les spermatozoïdes contre divers types d'agression (germes, radicaux libres, anticorps) et elles régulent aussi l'expression de leurs fonctions principales : mobilité, capacitation, décondensation de la chromatine (Rollet, 1999).

I.1.6- Contrôle hormonal de la prostate

La croissance de la prostate commence lorsque l'homme atteint la puberté et se poursuit sous l'influence des androgènes (et dans une moindre mesure des œstrogènes) qui modulent la différenciation, l'activité cellulaire et l'apoptose, ainsi que l'action des facteurs de croissance et des vitamines (Martin *et al.*, 2008).

I.1.6.1- Les androgènes

Les androgènes, en particulier ceux dérivés de la testostérone, jouent un rôle central dans le développement physiologique de la prostate. Les androgènes exercent leur action en se fixant sur les RA, qui sont majoritairement situés dans les cellules épithéliales lumineuses et en faible densité dans les cellules stromales de la prostate (Devlin, 2021).

❖ Biosynthèse des androgènes

La biosynthèse des androgènes (Figure 6) comme celle de toutes les autres hormones stéroïdiennes est réalisée à partir d'un seul et unique précurseur : le cholestérol. Les androgènes ont une double origine : environ 95% sont produit par les cellules de Leydig au niveau des testicules, sous forme de testostérone et 5% d'androgènes restants sont sécrétés par la glande surrénale sous forme de précurseurs qui seront ensuite convertis en T au niveau des tissus cibles (Tostain *et al.*, 2004).

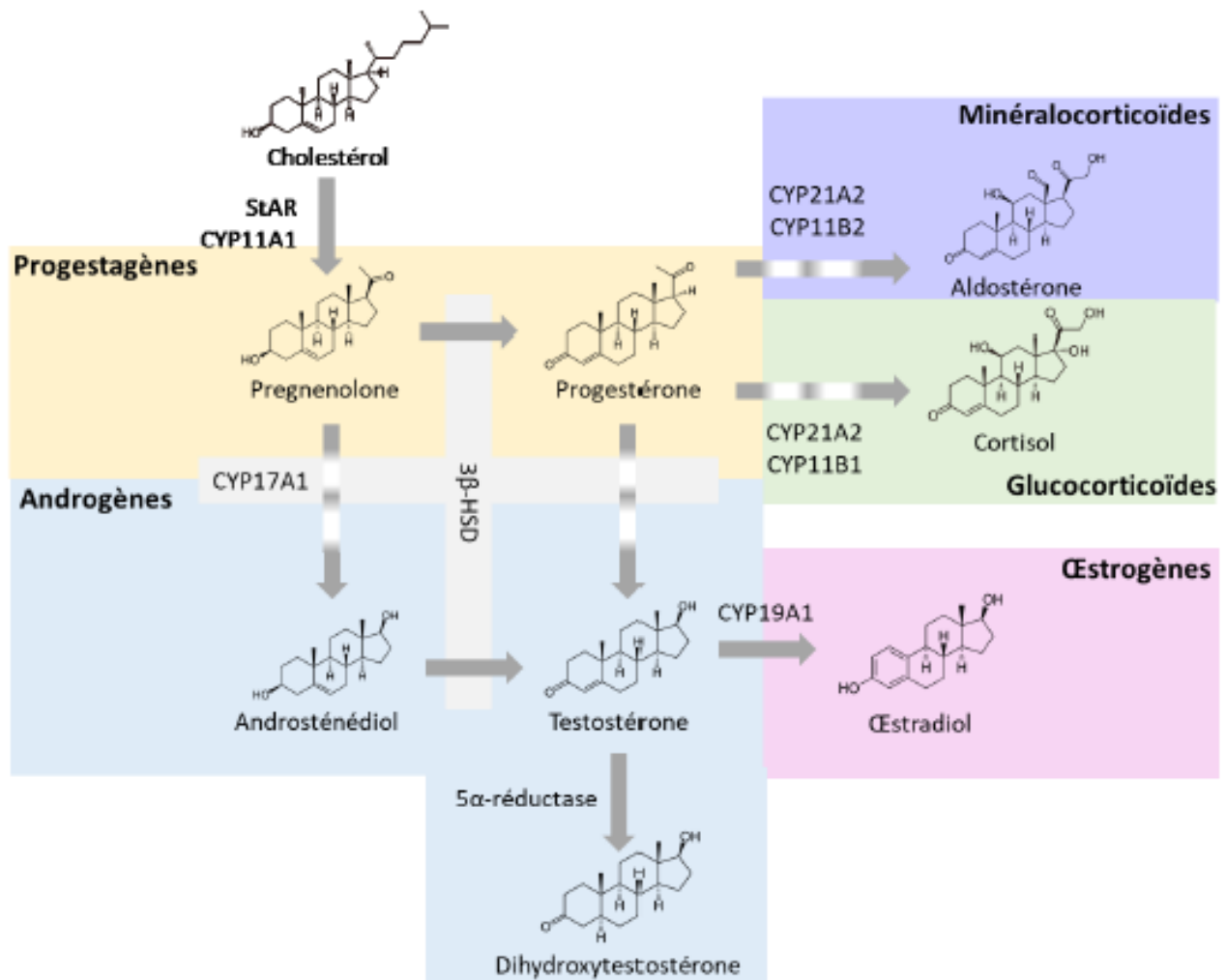


Figure 6: Biosynthèse des stéroïdes (Boron *et al.*, 2003).

CYP : “Cytochrome P450 family” ; HSD : Hydroxystéroïde déhydrogénase ; StAR: “*Steroidogenic Acute Regulatory Protein*”

❖ Mécanisme d’action des androgènes

Le récepteur des androgènes est composé de quatre domaines fonctionnels : le domaine N-terminal, le domaine de liaison à l’ADN, le domaine C-terminal et le domaine de liaison au ligand (Estebanez-Perpina *et al.*, 2021). Les androgènes exercent leur action suivant deux mécanismes : la voie génomique et la voie non génomique (Figure 7).

• Voie génomique ou classique

En l’absence de ligand, la stabilité du RA dans le cytoplasme est assurée par un complexe de protéines chaperonnes incluant les protéines de réponse au choc thermique (“*Heat Shock Proteins*”, HSP27, HSP40, HSP70 et HSP90) ainsi que les protéines co-chaperonnes p23, FKBP-4 (“*FK506 binding protein 4*”) et SGTA (“*small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein alpha*”). Une fois libérée de sa protéine porteuse plasmatique, la testostérone pénètre dans la cellule prostatique par diffusion simple et est métabolisée en majorité en DHT par la 5α-réductase

de type 2 (Figure 7). La fixation de la DHT sur son récepteur au niveau du domaine de liaison au ligand favorise la translocation nucléaire du RA, puis sa fixation aux éléments de réponse aux androgènes (ERA) présents au niveau du promoteur et des régions activatrices en amont des gènes cibles (Rangel *et al.*, 2021). Une fois lié à la chromatine, les RA recrutent de nombreuses protéines corégulatrices pour moduler la transcription du complexe RA-transcriptionnel, ce qui entraîne des réponses de croissance et de survie cellulaires (Corti *et al.*, 2022).

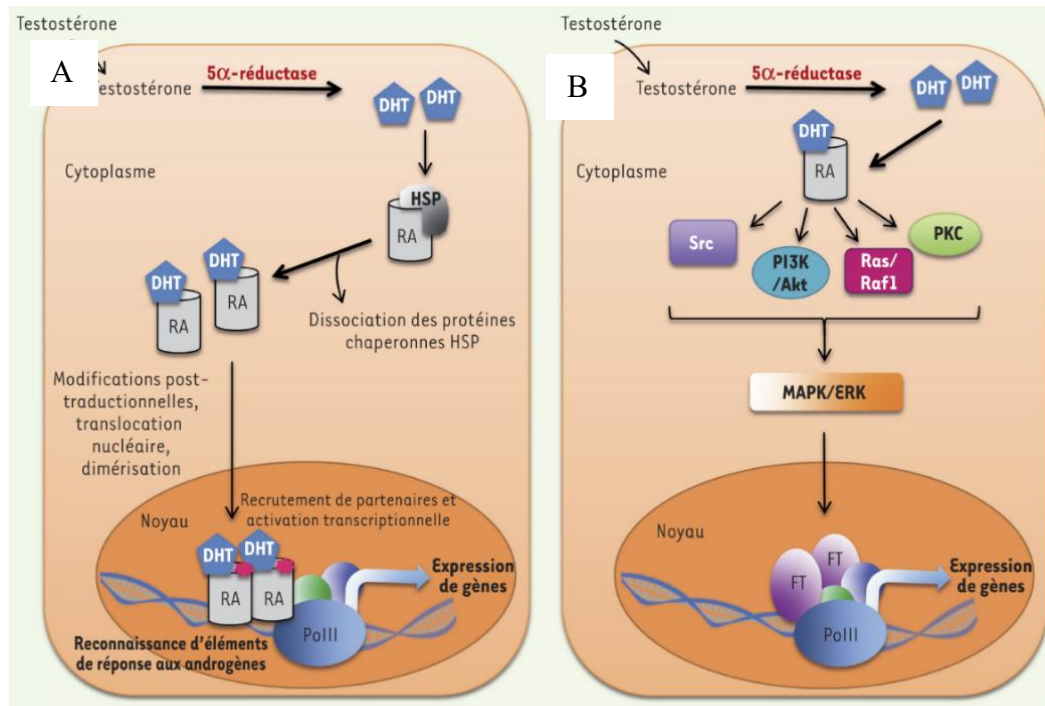


Figure 7: Voies de signalisation génomique (A) et non-génomique (B) du récepteur des androgènes (Schreyer *et al.*, 2017).

- **Voie non génomique**

Comme d'autres hormones stéroïdes, le RA présente également une signalisation/action non génomique, avec une réponse rapide de quelques secondes à quelques minutes. Le RA demeure dans le cytoplasme après la stimulation androgénique et active d'autres voies de signalisation intracellulaires convergeant vers la voie ERK ("*Extracellular signal-Regulated Kinase*") par activation de la voie phosphatidyl-inositol 3-kinase (PI3K) / Akt ainsi que la voie de la protéine kinase C (Zamagni *et al.*, 2019 ; Corti *et al.*, 2022) puis, en aval, à l'activation de facteurs de transcription (Schreyer *et al.*, 2017).

- ❖ **Actions physiologiques des androgènes**

La testostérone provoque le développement des conduits du système reproducteur et la descente des testicules chez le fœtus alors que la DHT entraîne la formation des organes génitaux externes. Lors de la puberté, ces hormones favorisent la croissance des organes reproducteurs et le développement des caractères sexuels secondaires masculins. Les androgènes jouent également un

rôle important dans le comportement sexuel et la spermatogénèse. Par ailleurs, puisqu'il s'agit d'hormones anaboliques, elles stimulent la synthèse des protéines, ce qui augmente la masse musculaire et osseuse (Tortora et Grabowski, 2001 ; Marieb, 2010).

I.1.6.2- Les œstrogènes

La croissance et le fonctionnement de la prostate sont principalement contrôlés par les androgènes. Toutefois, les œstrogènes régulent également le développement et les fonctions de la prostate à plusieurs stades de la vie de l'homme. Ils proviennent essentiellement de l'aromatase locale par la glande prostatique et de façon périphérique par le tissu adipeux via la cytochrome P450 aromatasase (Risbridger *et al.*, 2003).

❖ Mécanisme d'action des œstrogènes dans la prostate

Pour agir, les œstrogènes se fixent sur leurs récepteurs qui sont de deux types : les récepteurs alpha ($RE\alpha$) et les récepteurs bêta ($RE\beta$). Il a été démontré que le $RE\alpha$ est principalement situé dans le tissu stromal prostatique, tandis que le $RE\beta$ est principalement situé dans les cellules épithéliales basales prostatiques (Royuela *et al.*, 2001). Contrairement au RA, le RE est composé de cinq domaines fonctionnels : le domaine N-terminal, le domaine de liaison à l'ADN, la zone charnière, le domaine de liaison au ligand et le domaine C-terminal (Chimento *et al.*, 2022). Les oestrogènes peuvent agir suivant les voies dépendantes et indépendantes du ligand (Lefstin et Yamamoto, 1998 ; Coleman *et al.*, 2001).

❖ Actions physiologiques des œstrogènes

La liaison des œstrogènes sur leurs récepteurs $RE\alpha$ peut non seulement provoquer la prolifération des cellules stromales, mais aussi avoir une influence paracrine sur les cellules épithéliales adjacentes. Par contre, l'activation du $RE\beta$ est associée à des effets antiprolifératifs dans la prostate et constitue un frein à la croissance médiée par les androgènes. Ce récepteur possède également les propriétés antiinflammatoires et antioxydantes (Weihua *et al.*, 2001). Les actions des $RE\alpha$ dominent sur celles des $RE\beta$ à cause d'une surexpression de l'aromatase par les cellules stromales. La liaison des œstrogènes sur les $RE\alpha$ contribue à la mise en place des pathologies prostatiques à l'instar de la prostatite chronique, l'HBP et l'initiation ainsi que la progression du cancer de la prostate (Prins et Koarch, 2008).

I.2- Les tumeurs bénignes de la prostate

I.2.1- Définition

Les tumeurs bénignes sont des tumeurs non cancéreuses caractérisées par un développement local les confinant au tissu dans lequel elles ont pris naissance. Elles se développent lentement, localement, sans produire de métastases, et ne récidivent pas si elles sont enlevées complètement.

Il s'agit des tumeurs circonscrites, bien limitées, nettement séparées des tissus avoisinants, parfois même entourées par une capsule. Le tissu tumoral reproduit de très près la structure du tissu initial. C'est le cas de l'HBP qui est la tumeur bénigne la plus fréquente chez les hommes âgés (Langan, 2019).

Les tumeurs bénignes ou adénome de la prostate encore appelés hypertrophie ou hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) se définissent histologiquement par la prolifération des cellules musculaires lisses et épithéliales dans la zone de transition prostatique, une sclérose des glandes péri-urétrales de la prostate auxquelles s'associent des lésions épithéliales glandulaires (Lerner *et al.*, 2021). Au cours du développement embryologique, il y a formation de nouvelles glandes prostatiques. Cependant, le développement de nouvelles glandes dans la prostate adulte a donné lieu à l'hypothèse d'un "réveil" des cellules en prolifération. Cette augmentation du nombre de cellules pourrait être due à la prolifération des cellules stromales et épithéliales, ainsi qu'à l'altération de la mort cellulaire programmée.

I.2.2- Epidémiologie de l'HBP

Les tumeurs bénignes de la prostate sont dominées par l'adénomyome de la prostate qui constitue la première pathologie urologique dans le monde. Les résultats des recherches récentes menées montrent que la fréquence de l'HBP dans toutes les tranches d'âge a augmenté et on assiste à un rajeunissement dès l'âge de 25 ans (Shadmanov *et al.*, 2021). Son incidence augmente pour atteindre environ 90% chez les hommes de 80 ans (Nyamai *et al.*, 2016). En Afrique, on estime que plus de 40% des hommes âgés de 50 ans et plus présentent des troubles urinaires liés à une HBP. Au Cameroun, elle représente la tumeur bénigne la plus fréquente de l'appareil urogénital masculin (Sow *et al.*, 2006).

I.2.3- Facteurs de risque

Les principaux facteurs de risque de l'HBP seraient l'âge, l'hérédité et l'imprégnation hormonale. En outre, de nombreux facteurs liés au mode de vie tels que l'obésité, l'inactivité physique et le régime alimentaire ont été associés à la pathogénèse de l'HBP (McCormick et Raynor, 2020).

I.2.4- Etiologie de l'HBP

L'HBP est un processus pathologique lié à une interaction complexe entre les androgènes, les œstrogènes et les facteurs de croissance cellulaire entraînant une dérégulation des mécanismes d'inhibition de la croissance cellulaire (McCormick et Raynor, 2020). De nos jours, l'étiologie exacte reste mal connue mais plutôt plusieurs hypothèses ont été postulées.

I.2.4.1- Hypothèse des androgènes

Pour exercer ses effets, la testostérone produite par le testicule diffuse dans les cellules épithéliales et stromales de la prostate et est convertie en dihydrotestostérone (ayant affinité 10 fois supérieure à la testostérone) qui peut agir de manière autocrine dans les cellules stromales ou paracrine dans les cellules voisines (Carson et Rittmaster 2003). Après fixation sur son récepteur, la DHT induit la croissance et la différenciation des cellules de la prostate ce qui est à l'origine de l'hyperplasie des cellules stromales et épithéliales (Seo *et al.*, 2021).

I.2.4.2- Effets des œstrogènes

Les œstrogènes jouent un rôle important dans le développement de la prostate. En se fixant sur les RE α , les œstrogènes favorisent l'inflammation et l'hyperplasie tandis que la liaison au RE β induit des effets antiprolifératifs et pro-apoptotiques dans la prostate (Ajayi et Abraham, 2018). Avec l'âge, les hommes présentent un volume de tissu adipeux (source d'aromatase) plus important combiné à la diminution de la sécrétion de testostérone et à la sécrétion des œstrogènes par les cellules de Leydig (Muraleedharan *et al.*, 2010) modifiant l'équilibre entre les deux hormones sexuelles. Ce déséquilibre entre les œstrogènes et les androgènes chez les hommes âgés est le facteur le plus important dans l'initiation et la progression de l'HBP.

I.2.4.3- Effets des facteurs pro-inflammatoires

La prostate est un organe ayant un système immunitaire interne complexe. Les cellules immunitaires sont représentées en majorité par les lymphocytes T $_8$ qui sont localisés dans la zone péri-glandulaire, à l'intérieur et autour des cellules épithéliales prostatiques. Les agrégats lymphoïdes minoritaires composés de lymphocytes B et T sont localisés dans le stroma fibromusculaire (Cao *et al.*, 2022). Les modifications immunitaires peuvent apparaître suite à des facteurs stimulants qui induisent des lésions des cellules de la prostate conduisant à une inflammation chronique. Au cours de la réaction inflammatoire, un grand nombre de lymphocytes infiltrent la glande et libèrent les cytokines et facteurs de croissance à l'origine d'un remodelage anormal, des dommages tissulaires, d'une réponse inflammatoire chronique et d'une croissance fibromusculaire (Chughtai *et al.*, 2011). Dans le tissu prostatique enflammé, les lymphocytes B et T, les macrophages, les mastocytes, les neutrophiles, les cellules dendritiques et les monocytes ont été détectés. Ces cellules activées produisent des cytokines parmi lesquels les interleukines (IL-1, l'IL-6, l'IFN γ (interféron gamma) et les facteurs de croissance comme le TGF β ("Transforming growth factor") qui assurent la croissance fibromusculaire de la prostate via la voie de signalisation STAT-1/NF- κ B (Transducteur de signal et de l'activateur de transcription/ "Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in β -Cells"). La persistance prolongée des cytokines dans le tissu prostatique affecté détermine une inflammation chronique, médiée par la voie de MAPK

("Mitogen-activated protein kinases") et PI₃/Akt (Phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B) (Ene *et al.*, 2022). Ces facteurs inflammatoires induisent l'expression de COX-2 (Cyclooxygénase 2) et de iNOS ("Inducible Nitric Oxide Synthase"), ce qui entraîne une augmentation du taux de prolifération des cellules prostatiques (Mitsunari *et al.*, 2021).

I.2.4.4- Effets du stress oxydatif

La prostate est un organe vulnérable aux dommages oxydatifs de l'ADN en raison du renouvellement cellulaire plus rapide et la présence de moins d'enzymes de réparation de l'ADN (Hamid *et al.*, 2011). Les inflammations chroniques et aiguës peuvent entraîner des événements susceptibles de provoquer une prolifération du tissu prostatique par le biais de divers mécanismes, notamment le stress oxydatif (Devlin, 2021). Les cellules inflammatoires telles que les macrophages et les neutrophiles libèrent les radicaux libres parmi lesquels l'oxyde nitrique (NO) et diverses espèces dérivées de l'oxygène. Ces radicaux libres induisent des lésions de l'ADN et l'expression des cyclo-oxygénases qui entretiennent une inflammation chronique (Jomova *et al.*, 2023). Les lésions tissulaires et le stress oxydatif peuvent conduire à une prolifération cellulaire compensatoire et à une croissance hyperplasique (Udensi et Tchounwou, 2016).

I.2.4.5- Effets de l'alimentation

Des apports excessifs de calories, un régime riche en cholestérol et en acides gras saturés, la prise excessive d'alcool, de produits laitiers, de tabac, des céréales en particulier le pain, la volaille et les œufs augmenteraient le risque d'HBP. Par contre la consommation des oligoéléments tels que la vitamine E, le sélénium, le lycopène et le carotène contenus dans les fruits et légumes réduirait ce risque (Rohrman *et al.*, 2007 ; Das et Buchholz, 2019).

I.2.5- Symptomatologie de l'HBP

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

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

I.2.6- Diagnostic de l'HBP

Le diagnostic de l'HBP débute par l'interrogatoire de façon à préciser l'importance de la gêne fonctionnelle suivi du toucher rectal, de l'examen cyto bactériologique des urines et des

examens complémentaires tels que l'échographie vésico-prostatique ainsi qu'une prise de sang pour doser le PSA (Bonnaure-Sorbier, 2020).

I.2.7- Traitements de l'HBP

Le choix de la stratégie thérapeutique à utiliser pour traiter l'HBP dépend d'un certain nombre de facteurs tels que l'âge, la taille de la prostate, le poids corporel, le taux de "PSA" ainsi que la gravité des symptômes.

I.2.7.1- Traitements médicamenteux

Cinq grands groupes de médicaments sont couramment prescrits pour faire face à l'HBP seuls ou en association. Il s'agit des α -bloquants, des inhibiteurs de la 5- α -réductase, des inhibiteurs de la phosphodiésterase, des anticholinergiques et des agonistes des récepteurs β -adrénergiques.

❖ Les α -bloquants

Les α -1-bloquants aussi appelés α -1 adrénergiques comme le tamsulosine sont des molécules qui agissent en se fixant sur les récepteurs α -1 adrénergiques bloquant la contraction des cellules musculaires lisses qui entourent l'urètre prostatique ; ils réduisent ainsi le tonus musculaire et diminuent l'obstruction prostatique (Roehrborn *et al.*, 2013).

❖ Les inhibiteurs de la 5- α réductase

Les inhibiteurs spécifiques de la 5 α -réductase tels que le Finastéride et le Dutastéride diminuent la concentration de la DHT prostatique et circulante et peuvent par ce biais, entraîner une involution du tissu hyperplasique et une réduction de la symptomatologie clinique (Evans *et al.*, 2005).

❖ Les inhibiteurs de la phosphodiésterase

Les inhibiteurs de la phosphodiésterase comme le Sildenafil et Tadilafil sont connus pour inhiber la phosphodiésterase entraînant une augmentation du taux de guanylate cyclase (GMPc) qui est le second messager dans les voies de dilatation des cellules musculaires lisses prostatique (Matsumoto *et al.*, 2010 ; Kishorebabu *et al.*, 2019).

❖ Les anticholinergiques et les antimuscariniques

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

❖ Les agonistes des récepteurs beta-3

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

I.2.7.2- Traitement chirurgical

La chirurgie est recommandée d'emblée en cas de rétention urinaire aiguë, d'insuffisance rénale secondaire à une obstruction de la sortie de la vessie, des calculs vésicaux et d'hématurie (Pinheiro *et al.*, 2012).

I.2.7.3- La phytothérapie

Les deux médicaments traditionnels améliorés commercialisés dans la plupart des pays sont l'extrait des écorces du prunier africain (*Pygeum africanum*, TADENAN®) et l'extrait hexanoïque du fruit de palmier nain de Floride (*Serenoa repens*, PERMIXON®). Les composés bioactifs présents dans l'extrait de *Pygeum africanum*, inactivent les RA, inhibent les facteurs de croissance cellulaire et sont dotés de propriétés anti-inflammatoires. *Serenoa repens* quant à lui, est riche en acides gras libres qui inhibent la croissance de la prostate en inhibant des iso-enzymes de type 1 et de type 2 de la 5- α -réductase. Il réduit ainsi l'inflammation par inhibition des COX et en favorisant l'apoptose et la relaxation des muscles lisses par blocage des canaux calciques (Keehn *et al.*, 2016).

I.3- Tumeurs malignes de la prostate

I.3.1- Définition

Les tumeurs malignes encore appelés cancer ou néoplasme désignent un groupe de maladies hétérogènes dans lesquelles les cellules de l'organisme se développent de manière incontrôlée en raison de défauts dans les mécanismes naturels de régulation de la croissance et de la prolifération des cellules (Moradi *et al.*, 2021).

Les tumeurs malignes sont des tumeurs à croissance rapide. Elles donnent naissance à une dissémination tumorale à distance (surtout par voie lymphatique et sanguine) avec éclosion et développement de tumeurs secondaires dans d'autres viscères : les métastases. Les tumeurs malignes ont tendance à récidiver après éradication locale. L'évolution, en l'absence de traitement, se fait spontanément vers la mort. Les tumeurs malignes sont mal limitées, non encapsulées ; elles envahissent et détruisent l'organe dans lequel elles ont pris naissance, ainsi que les organes de voisinage. C'est le cas du cancer de la prostate qui représente le premier cancer urologique et le deuxième néoplasme le plus fréquent chez l'homme dans le monde après le cancer de poumon (Barsouk *et al.*, 2020)

Le cancer de la prostate est une maladie qui se développe à partir de cellules de la prostate initialement normales qui se transforment et se multiplient de façon anarchique, jusqu'à former une masse appelée tumeur maligne (Moradi *et al.*, 2021). La majorité des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes (90 %) ; ils se développent à partir des cellules qui constituent le tissu de revêtement de la prostate (cellules épithéliales). Les autres formes correspondent à des sarcomes ou des rhabdomyosarcomes (Guo et Czerniak, 2023).

I.3.2- Epidémiologie

Les données épidémiologiques montrent qu'il existe un risque d'environ 20 % de développer un cancer avant l'âge de 75 ans et un risque de 10 % de mourir de ce cancer. En 2020, 19,3 millions de nouveaux cas de cancer ont été répertoriés avec plus de 10 millions de décès par cancer dans le monde (Ferlay *et al.*, 2021). Le CaP est le type de cancer le plus répandu chez l'homme dans le monde après le cancer du poumon et la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme (Sung *et al.*, 2021). Selon les données de l'OMS, l'incidence du CaP est de 14,1% dans la population masculine mondiale avec une prévalence de 20% (Sung *et al.*, 2021). L'incidence du CaP ne cesse d'augmenter et pourra atteindre 2293818 nouveaux cas en 2040 avec 379005 cas de décès si rien n'est fait (Rawla, 2020). En Afrique, c'est le cancer le plus répandu en termes d'incidence et de décès (Ferlay *et al.*, 2021) avec le plus grand taux de mortalité estimé à +124,4% d'ici 2040 (Ferlay, 2019). Au Cameroun, le cancer de la prostate touche environ 7,3% de la population masculine ayant un âge moyen de 44,8 ans et 1047 cas de cancer de la prostate ont été répertoriés de 2004 à 2015 (Engbang *et al.*, 2017).

I.3.3- Cancérogénèse

Les grandes étapes de la cancérogénèse sont : l'initiation, la promotion, la progression maligne et la formation des métastases (Figure 8).

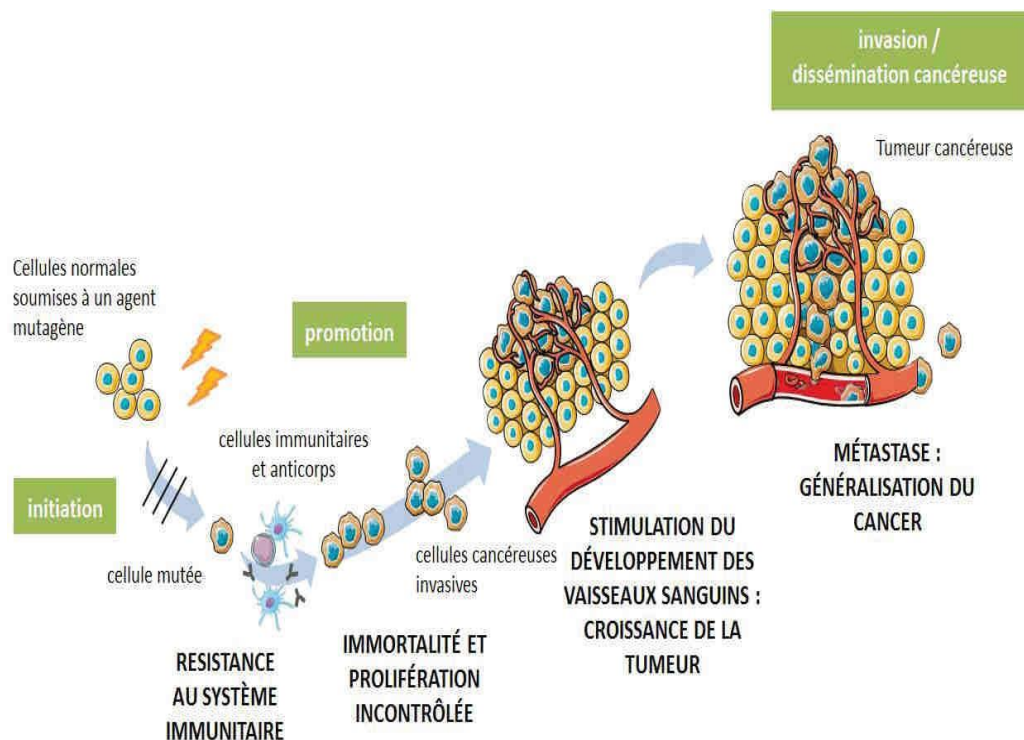


Figure 8: Etapes de la cancérogénèse (Mongis *et al.*, 2017).

❖ L'initiation

L'initiation est une étape ponctuelle correspondant à l'altération du génome d'une cellule lui conférant la propriété d'échapper aux régulations cellulaires. Dans les cellules somatiques, des altérations de l'acide désoxyribonucléique (ADN) d'origine endogène (erreurs au cours de la réplication de l'ADN ou de la mitose, espèces réactives de l'oxygène (ERO), hypo- ou hyperméthylation de l'ADN) ou induites par des facteurs environnementaux cancérigènes apparaissent fréquemment au cours de la vie. Une altération de l'ADN n'est transmise aux cellules dérivant de la cellule « initiée », que si elle n'est pas létale et n'est pas réparée. Les dommages oxydatifs à l'ADN peuvent entraîner des mutations ponctuelles, des délétions, des insertions ou des translocations chromosomiques, qui peuvent provoquer l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs et conduire à l'initiation de la carcinogenèse (Klaunig *et al.*, 2011).

❖ **La promotion**

La promotion tumorale est une phase relativement longue (pouvant durer plusieurs années chez l'Homme) au cours de laquelle la cellule initiée va proliférer et conduire progressivement au développement d'un clone de cellules mutées. La multiplication cellulaire étant exponentielle, un nombre limité de divisions cellulaires suffit à engendrer un nombre considérable de cellules tumorales. Divers facteurs endogènes (facteurs de croissance et hormones) ou exogènes (toxiques chimiques, facteurs alimentaires, etc.), du fait de leur action répétitive, vont déréguler certains des mécanismes fins qui contrôlent la multiplication cellulaire (Mongis *et al.*, 2017).

❖ **La progression**

La progression tumorale constitue la dernière étape de la cancérogenèse. Elle marque le passage de lésions précancéreuses à des lésions malignes, avec une prolifération cellulaire indépendante, une extension invasive de la tumeur et sa capacité à métastaser (Lasfargues, 2018). C'est une phase complexe qui consiste en l'accumulation de nouvelles anomalies du génome, la vascularisation de la tumeur (angiogenèse) et en l'acquisition de la capacité d'invasion conférant ainsi à la tumeur une plus grande malignité.

❖ **Invasion tissulaire et formation de métastases**

L'invasion tissulaire et la formation de métastases nécessitent que les cellules tumorales acquièrent la capacité à migrer vers d'autres tissus et à les envahir. Les cellules cancéreuses se regroupent initialement pour former une tumeur primaire. Une fois la tumeur formée, les cellules peuvent commencer à se détacher de cette tumeur et se déplacer vers d'autres parties du corps, ce processus est appelé métastase. Ces cellules cancéreuses qui se déplacent dans l'organisme sont capables d'établir de nouvelles tumeurs dans des endroits éloignés du site d'origine. Ceci implique le changement de certaines fonctions cellulaires (adhésion cellulaire) et la modification de l'expression de certains gènes tels que ceux codant des métalloprotéinases dégradant la matrice

extracellulaire (MMP) ou des molécules d'adhésion (Yilmaz *et al.*, 2007). Les sites courants de métastases sont les os, les poumons, le foie et le système nerveux central.

I.3.4- Mécanisme physiopathologique

La première phase de développement de l'adénocarcinome prostatique correspond à la forme localisée suivie d'une extension locale. L'inflammation et/ou l'exposition à des agents cancérigènes entraîne des lésions intraépithéliales prostatiques (PIA) et la mort cellulaire conduisant à la régénération des tissus qui se manifestent morphologiquement par une atrophie prostatique (Coleman, 2018). Au cours de l'auto-renouvellement des cellules qui en résulte, les cellules acquièrent et accumulent des altérations génétiques somatiques notamment les méthylations du gène de GSTP1 (Glutathionne S-transférase), gène qui protège les cellules épithéliales de la prostate contre les lésions de l'ADN, le raccourcissement des télomères et l'activation de la protéine MYC (« myelocytomatosis »), un proto-oncogène qui se transforme en oncogène; ce qui entraîne une transformation néoplasique avec la mise en place d'une néoplasie intraépithéliale prostatique (NIP) de bas et de haut grade (Nelson *et al.*, 2022). Le CaP peut évoluer de la NIP au carcinome invasif puis à la formation des métastases et à la mort (Coleman, 2018). Les sites métastatiques les plus fréquents sont ganglionnaires et osseux. Les atteintes osseuses touchent préférentiellement le bassin, le rachis, les côtes et le sternum (Gundem *et al.*, 2015).

I.3.5- Gènes impliqués dans la cancérogénèse

I.3.5.1- Oncogènes

Les oncogènes sont les principaux moteurs de la croissance tumorale (Nagarajan *et al.*, 2016). Les proto-oncogènes sont les formes bénignes des oncogènes qui codent pour la croissance, l'adhérence et la division cellulaire. Ils possèdent des sites fragiles pouvant se rompre en présence des cancérigènes pour donner des oncogènes (Kontomanolis *et al.*, 2020). Ils peuvent induire l'apparition et/ou le développement d'une tumeur.

I.3.5.2- Gènes suppresseurs de tumeurs

Les gènes suppresseurs de tumeurs ou anti-oncogènes (gènes P53 et P16) sont des gènes qui bloquent la croissance du cancer par inhibition de la prolifération cellulaire, activation de la différenciation, activation des gènes de réparation de l'ADN, activation de l'apoptose, inhibition de l'angiogenèse et activation de l'ancrage cellulaire du cancer (Kontomanolis *et al.*, 2020). Ces gènes suppresseurs peuvent également présenter une ou plusieurs mutations qui altère(nt) leur fonction. La cellule présente dans ce cas des anomalies de réparation de l'ADN, une perte du contrôle de la multiplication cellulaire ou une résistance à l'apoptose.

I.3.6- Types histologiques des carcinomes prostatiques

L'établissement d'un diagnostic histopathologique du cancer de la prostate nécessite un examen au microscope optique des coupes de tissus colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. La grande majorité de ces néoplasmes malins sont d'origine et de différenciation épithéliale et sont des carcinomes. Il existe 5 grands groupes de tumeurs prostatiques (Vandenbos *et al.*, 2004).

I.3.6.1- Tumeurs épithéliales prostatiques

L'adénocarcinome de la prostate est le type histologique majoritaire des tumeurs épithéliales, représentant plus des 90% des tumeurs malignes de la prostate (Wang *et al.*, 2013). Il se développe à partir des cellules internes des acini prostatiques. La base du diagnostic histologique de l'adénocarcinome de la prostate est l'évaluation des trois critères majeurs que sont l'altération de l'architecture glandulaire, la perte de cellules basales et une dysplasie des cellules de la paroi glandulaire (Murray, 2021). Les cellules sont souvent colonnaires et les noyaux sont grands, ovales à ronds et contiennent généralement un seul macronoyau (Humphrey *et al.*, 2017).

I.3.6.2- Tumeurs neuroendocrines

La présence de cellules neuroendocrines est notée dans environ un tiers des adénocarcinomes prostatiques peu différenciés. Les aspects microscopiques sont classiques avec une architecture cordonale ou insulaire, correspondant à une prolifération de cellules de petite taille, à noyau dense, hyperchromatique, riches en mitoses (Vandenbos *et al.*, 2004 ; Grignon, 2004).

I.3.6.3- Tumeurs stromales prostatiques

Elles font partie des tumeurs rares avec les sarcomes dérivant du mésenchyme prostatique. Le type histologique le plus fréquemment rencontré est caractérisé par un stroma normo- ou hypercellulaire avec atypies nucléaires dégénératives, sans mitose et glandes normales (Cucherousset, 2015).

I.3.6.4- Tumeurs mésenchymateuses

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des mitoses, d'atypies cytonucléaires et de nécrose. Il s'agit des tumeurs de haut grade, à cellules fusiformes sans différenciation spécifique (Vandenbos *et al.*, 2004).

I.3.6.5- Tumeurs hémo-lymphatiques

Le diagnostic est histologique, montrant une infiltration du parenchyme par une prolifération à cellules rondes d'allure lymphomateuse (Cucherousset, 2015).

I.3.7- Pathogénèse du cancer de la prostate

I.3.7.1- Implication des androgènes et ses récepteurs

Le cancer de la prostate est considéré comme un cancer androgéno-sensible dans 90% des cas, nécessitant des androgènes, tels que la testostérone et la DHT pour son développement. De plus, la thérapie de privation d'androgènes entraîne une régression des tumeurs de la prostate dans près de 80% des cas. Malgré cela, les tumeurs finissent par se développer, malgré la poursuite du traitement antiandrogène (Rise *et al.*, 2019). La résistance du CaP à la thérapie de privation d'androgènes pourrait dépendre de plusieurs voies centrées sur la signalisation des androgènes, notamment la production intra-tumorale et surrénalienne d'androgènes, la surexpression des RA, des variantes d'épissage du RA constitutivement actives et l'expression de mutants du RA (Wadosky *et al.*, 2016).

❖ Production intra-tumorale des androgènes

Il est clairement établi que l'un des mécanismes par lesquels les cellules cancéreuses prostatiques peuvent contourner la privation androgénique est l'augmentation de la conversion de la testostérone circulante en DHT au sein du stroma tumoral (boucle paracrine) (Chang *et al.*, 2011). Par ailleurs, les CaP métastatiques sont également capables de maintenir, malgré une castration optimale, des taux d'androgènes intratumoraux (boucle autocrine) en synthétisant eux-mêmes des androgènes. Ce maintien de taux d'androgènes intratumoraux peut résulter d'une hyper-expression ou mutation activatrice du gène de la 5 α -réductase permettant la conversion de l'androstènedione en 5 α -androstènedione puis en DHT. Ce mécanisme permet le maintien d'un taux élevé d'androgènes au niveau des tissus tumoraux malgré un effondrement des taux sanguins circulant de DHT après castration (Fontana et Limonta, 2021).

❖ Surexpression des AR

Les cellules cancéreuses prostatiques peuvent acquérir une hypersensibilité aux androgènes, par une surexpression du RA ou par une augmentation de l'expression du RA liée à l'absence de sa dégradation à la suite d'une mutation du gène *SPOP* (*Speckle-type POZ protein*) qui code une ubiquitine ligase E3 (Mani *et al.*, 2014).

❖ Epissage du AR

Les épissages alternatifs des transcrits du RA produisent également des formes tronquées du récepteur (Mudryj et Tepper, 2013). Parmi ces variants d'épissage, les variants AR-V7 et AR-V567es ont été particulièrement étudiés. Les variants AR-V jouent un rôle critique dans le développement et la progression du CaP car ils possèdent une activité transcriptionnelle indépendante du ligand et sont fortement régulés à la hausse dans les CaP hormono-résistants (Paschalis *et al.*, 2018). Les AR-V induisent également l'expression des gènes impliqués dans le cycle cellulaire (Aurilio *et al.*, 2020). Le variant AR-V7 montre que les gènes affectés en présence

de ce variant sont principalement impliqués dans la migration des cellules cancéreuses par activation de la synthèse des cadhérines, protéines responsables de la liaison à la matrice extracellulaire (Sun *et al.*, 2014 ; Schreyer *et al.*, 2017).

❖ Mutations du RA

Les mutations du RA induisent l'expression d'un ensemble de gènes impliqués dans l'apparition et la progression du CaP vers une maladie métastatique avancée. Ces formes mutées du AR peuvent reconnaître comme agonistes des stéroïdes autres que les androgènes, mais aussi des anti-androgènes comme agonistes (Derycke *et al.*, 2014).

I.3.7.2- Implication des œstrogènes

Le métabolisme des œstrogènes en hydroxy-œstrogènes, en cathécols et en composés génotoxiques sous l'action des cytochromes peut avoir un effet carcinogène. En effet, les cathécols, sous l'action des peroxydases se transforment en semi-quinones puis en quinones qui réagissent avec l'ADN pour former des adduits à l'origine de l'initiation du cancer de la prostate (Ruan et Mueck, 2023). Il a été démontré que l'exposition des rats adultes à des doses supra-physiologiques d'œstradiol avec maintien des concentrations physiologiques de testostérone conduit à la mise en place d'une néoplasie intraépithéliale prostatique dans la prostate dorsolatérale et du cancer dans la zone péri-urétrale par stimulation de la prolifération des cellules stromales chez le rat (Leav *et al.*, 1998).

I.3.7.3- Rôle de l'inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique à une agression (infection microbienne, particules étrangères, traumatisme) qui accompagne la réponse immunitaire et favorise le renouvellement cellulaire. Les cellules immunitaires infiltrant les tumeurs de la prostate contribuent à l'initiation et/ou à la progression du CaP en produisant les ROS qui induisent des lésions cellulaires. L'accumulation de ces lésions génomiques conduit à la carcinogenèse de la prostate et la progression du CaP (Shiota *et al.*, 2014). Il a été démontré que les cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6, libérées par les macrophages du sous-type 1 interviennent dans la croissance néoplasique prostatique (Bouraoui *et al.*, 2008). Pour progresser en volume, une tumeur devra acquérir la capacité d'induire l'angiogenèse.

I.3.7.4- Implication des facteurs de croissance et apoptose

L'apoptose, appelée également mort cellulaire programmée, est un phénomène dans lequel la cellule participe à son autodestruction sous le contrôle de divers signaux internes et externes. Dans le carcinome de la prostate, il a été observé une surexpression des protéines anti-apoptotiques ou une inhibition de la production des protéines pro-apoptotiques médiée par les androgènes (Westaby *et al.*, 2021). Parmi les protéines qui jouent un rôle important dans la régulation de

l'apoptose, on distingue celles de la famille des Bcl-2 ("B-cell lymphoma 2) qui contient plusieurs membres qui peuvent être pro-apoptotiques comme Bax ("*protéine Bcl-2-associated X*"), Bid ("*BH3 domain-only death agonist protein*") et Bak ou anti-apoptotiques comme Bcl-2 et Bcl-xl ("*B-cell lymphoma-extra large*") localisés sur la membrane mitochondriale externe et jouant un rôle dans la régulation de l'apoptose par blocage de la libération du cytochrome C (Qing *et al.*, 2022). Dans une cellule cancéreuse prostatique, on note une surexpression des molécules anti-apoptotiques qui peuvent inhiber le processus d'apoptose en bloquant la libération du cytochrome C ou en inhibant l'activité de la caspase-3 (Ali et Kulik, 2021).

Des facteurs de croissance comme l'IGF jouent un rôle central dans le développement, la croissance et la progression du cancer de la prostate (Monti *et al.*, 2007) en stimulant la prolifération cellulaire et en inhibant l'apoptose. En se fixant sur son récepteur, l'IGF active plusieurs voies de signalisation à l'instar de la voie de MAPK et la voie de PI3K/Akt/protéine kinase B conduisant à la prolifération des cellules épithéliales prostatiques (Gurumurthy *et al.*, 2001). L'IGF-1 induit l'expression de protéases qui hydrolysent les membranes basales induisant la migration tumorale (Grimberg, 2003). A ce jour, de nombreuses protéines ont été identifiées chez l'Homme comme des activateurs de l'angiogenèse, parmi lesquels les plus actifs sont : l'"Epidermal growth factor" (EGF), le "fibroblast growth factor" (FGF), l'interleukine 8 (IL-8), le "Platelet-derived epidermal growth factor", le "transforming growth factor α " (TGF α) ainsi que le "Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)" (Geindreau *et al.*, 2022).

I.3.8- Facteurs de risque

Différents facteurs environnementaux et génétiques sont associés à la progression de la croissance anormale des cellules de la prostate, comme l'âge, l'hérédité, l'obésité, le tabagisme et l'alimentation (Habib *et al.*, 2021).

I.3.8.1- La génétique

Le cancer de la prostate est le cancer pour lequel le poids de l'hérédité est prépondérant, les antécédents familiaux représentant le facteur de risque le plus prépondérant. Il existe deux types de prédispositions génétiques au cancer de la prostate : l'hérédité monogénique, rare (5% des cas), et l'hérédité polygénique, prédominante (95% des cas). Les gènes en cause dans l'hérédité monogénique les plus souvent décrits sont les gènes de réparation de l'ADN (notamment BRCA1, BRCA2, ATM) et le gène HOXB13 situé sur le chromosome 17q21 (Ewing *et al.*, 2012). La caractéristique des cancers héréditaires monogéniques est un âge de survenue précoce et une forte agressivité lors de mutations de BRCA2 et de HOXB13 (Sreenath *et al.*, 1999). L'hérédité polygénique est plus délicate à analyser. Plus de 150 variants génétiques ont été associés à une augmentation du risque de CaP dans des populations d'origines diverses (Haffner *et al.*, 2021).

I.3.8.2- L'âge

L'âge est un important facteur de risque dans le développement du cancer de la prostate et dont l'incidence croît fortement avec ce dernier. Le nombre de cas chez les hommes âgés de plus de 80 ans est environ 40 fois plus élevé que chez les hommes de moins de 50 ans (Malik *et al.*, 2018).

I.3.8.3- L'obésité

Il est de plus en plus clair que l'obésité est associée à l'insulino-résistance et à l'hyperinsulinisme. L'exposition à des taux sanguins élevés d'insuline et de facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF) est associée à un risque plus élevé de cancer de la prostate (Yu et Rohan, 2000). L'obésité est également associée à une augmentation des taux d'IGF-1 libre ou bioactif et à l'inhibition de l'expression de la SHBG conduisant à l'augmentation de la fraction libre des androgènes, facteurs impliqués dans la prolifération et régulation de la différenciation cellulaire (Amling, 2005).

La diminution du taux d'androgènes avec l'âge s'accompagne de l'augmentation du volume du tissu adipeux périprostatique (Li *et al.*, 2016). Il a été démontré que le tissu adipeux périprostatique joue un rôle majeur dans la progression du cancer de la prostate par des mécanismes paracrines (Van Roermund *et al.*, 2011). Les adipocytes matures sécrètent la chimiokine CCL7, qui diffuse à travers la capsule vers la zone périphérique de la prostate. L'interaction entre la chimiokine CCL7 et son récepteur CCR3, exprimé par les cellules tumorales invasives, favorise leur migration hors de la prostate. Les adipocytes hypertrophiques sécrètent de plus grandes quantités de CCL7, ce qui augmente la migration et facilite l'extension extra-prostatique des cellules tumorales dans l'obésité (Laurent *et al.*, 2016).

I.3.8.4- L'alcool

Les boissons alcoolisées sont classées parmi les agents cancérigènes pour l'Homme. L'éthanol absorbé à la suite de la consommation de boissons alcoolisées est transformé, principalement dans le foie, par l'alcool déshydrogénase en acétaldéhyde puis en acétate par l'aldéhyde déshydrogénase. L'acétaldéhyde (ACH) déclenche la cancérogenèse en formant des adduits avec les protéines et l'ADN et en provoquant des mutations (Diaz Gomez *et al.*, 1999). L'action de l'ACH est également associée à la production d'ERO connues pour leurs actions génotoxiques (Shiota *et al.*, 2014).

I.3.8.5- Le tabagisme

Le tabagisme est un facteur de risque bien connu pour de nombreux cancers. Les fumeurs sont exposés à une myriade de composés cancérigènes, dont le cadmium, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les amines aromatiques hétérocycliques et les nitrosamines, qui peuvent stimuler le développement des tumeurs de la prostate en créant les mutations du gène suppresseur de tumeur p53 (Watters *et al.*, 2009).

I.3.8.6- L'alimentation

Les effets de l'alimentation et des nutriments sur la pathogenèse et la progression du cancer de la prostate font l'objet d'une attention croissante (Matsushita *et al.*, 2020).

❖ Aliments à risque

Il a été démontré une corrélation entre les régimes excessivement caloriques, notamment la consommation importante de viandes rouges en particulier en cas de cuisson à haute température (Zheng *et al.*, 2009), des aliments riches en graisses (Liss *et al.*, 2019), des produits laitiers (Tat *et al.*, 2018) et l'incidence élevée des cancers prostatiques.

❖ Aliments protecteurs

Certains aliments à l'instar des polyphénols du thé vert (Kurahashi *et al.*, 2008), du lycopène (Rowles *et al.*, 2017), des phytoœstrogènes (Mahmoud *et al.*, 2014), de la vitamine D et du sélénium (Gilbert *et al.*, 2011) ont été promus au rang de facteurs protecteurs, voire de véritables alicaments pour la prévention du cancer de la prostate.

I.3.8.7- L'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Une interaction entre une exposition professionnelle élevée aux HAP et le polymorphisme de la glutathion S-transférase (GSTP1), un gène détoxifiant, a été montrée comme étant associée à un risque accru de cancer de la prostate (Barul *et Parent*, 2021).

Les HAP sont une famille de plus de 100 produits chimiques, généralement présents dans des mélanges complexes présents naturellement dans l'environnement ou résultant de la combustion incomplète ou de la pyrolyse de diverses matières organiques (Barul *et Parent*, 2021). Les HAP sont de trois origines : pétrogénique et présents dans les produits pétroliers, pyrogénique ou pyrolytique formés par combustion incomplète de la matière organique et biogénique libérés par certaines plantes (conifères). La voie d'exposition la plus importante est la voie pyrogénique à travers le feu, le chauffage domestique, les industries, le carburant diesel, la combustion du bois et du charbon (Lima *et al.*, 2005).

Le Benzo(a)Pyrène (BaP) est un HAP pyrogénique classé comme cancérigène du groupe 1 par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (en anglais CIRB) (Moorthy *et al.*, 2015). Il est métabolisé dans le foie en métabolites réactifs tels que les époxydes et les métabolites conjugués qui peuvent intervenir dans l'initiation, la promotion et la progression du cancer agit

comme un carcinogène génotoxique et non par leur capacité à interagir avec l'ADN en formant des adduits qui provoquent des cancers en particulier le CaP (Jee *et al.*, 2020). Une interaction entre une exposition professionnelle élevée aux HAP et le polymorphisme de la glutathion S-transférase (GSTP1), un gène détoxifiant, a été montrée comme étant associée à un risque accru de cancer de la prostate (Barul et Parent, 2021).

I.3.9- Dépistage

Le dépistage permet le diagnostic du cancer à un stade précoce voire de prévenir son apparition. Plusieurs méthodes sont reconnues parmi lesquelles le toucher rectal, le dosage des marqueurs, les biopsies, l'imagerie par Résonance Magnétique et la scintigraphie :

I.3.9.1- Le toucher rectal

Le toucher rectal permet au médecin de sentir la présence de zones dures ou irrégulières en cas d'anomalies prostatiques. Un toucher rectal normal n'exclut pas un cancer car cet examen ne permet de détecter que des tumeurs palpables. La prostate normale doit avoir le sillon médiant.

I.3.9.2- Le dosage des marqueurs

Les marqueurs permettent non seulement de détecter le cancer de la prostate dans les biopsies primaires, mais aussi de déterminer le stade de la maladie et de choisir les options thérapeutiques, comme la réalisation ou non d'une biopsie répétée (Chistiakov *et al.*, 2018).

❖ Le PSA

Le PSA est le premier marqueur moléculaire approuvé par la FDA ("Food Drug Administration") pour la détection du cancer de la prostate (Rittenhouse *et al.*, 1998). Au stade précoce, le cancer de la prostate est asymptomatique et est suspecté le plus souvent sur une élévation des taux sériques de PSA. L'augmentation du taux sérique dans la grande majorité des CaP, témoigne d'une production en grande quantité de cette protéine par les cellules tumorales, quoique plusieurs autres facteurs puissent affecter le taux de PSA comme l'âge, les infections et l'éjaculation. Le PSA est mesuré en ng/ml. La norme la plus communément admise par les laboratoires est inférieure à 4 ng/ml. Un niveau de PSA supérieur à la norme peut être le reflet d'un problème au niveau de la prostate (Salman *et al.*, 2015).

❖ Le dosage du PCA3 ("Prostate Cancer Antigen 3")

Le PCA3 est le deuxième marqueur moléculaire approuvé par la FDA pour la détection du cancer de la prostate (Rönnau *et al.*, 2015). C'est un ARN non codant spécifique à la prostate, et fortement exprimé dans les cellules cancéreuses de la prostate. Il régule la survie cellulaire en contrôlant la voie de signalisation dépendante du RA, l'expression des cofacteurs et des gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse procarcinogénique (Terrier *et al.*, 2017).

❖ Autres marqueurs

Le Confirm MDx est un test épigénétique qui détecte les modifications épigénétiques de l'ADN. Ces modifications épigénétiques induisent des lésions cancéreuses qui peuvent être présentes malgré l'apparence normale des cellules (Trock *et al.*, 2012).

Le ProMark est un test de pronostic du CaP basé l'analyse d'imagerie immunofluorescente pour quantifier l'expression des biomarqueurs et classer les tumeurs des patients (Brönimann *et al.*, 2020).

Le TMPRSS2 est une protéase spécifique de la prostate sensible aux androgènes. Le gène le plus fréquent dans la famille des gènes ETS fusionnant avec TMPRSS2 est le gène ERG retrouvé dans environ 85% des échantillons positifs (Fujita et Nonomura, 2018).

I.3.10- Symptomatology

Le plus souvent, le cancer de la prostate n'occasionne pas de troubles urinaires car il se développe en périphérie de la prostate et ne comprime pas l'urètre. Il peut cependant arriver que certains troubles se manifestent, en particulier à un stade avancé. Les symptômes sont alors semblables à ceux de l'adénome prostatique.

I.3.11- Traitements

I.3.11.1- Traitements du cancer de la prostate localisé

❖ La surveillance active

La surveillance active s'adresse à certains patients atteints d'une tumeur localisée à faible risque d'évolution, dont le cancer ne nécessite pas obligatoirement un traitement immédiat mais qui pourraient bénéficier d'un traitement curatif en cas d'évolution du cancer (Rozet *et al.*, 2020).

❖ La prostatectomie

L'intervention se déroule sous anesthésie générale. La totalité de la prostate, ainsi que les vésicules séminales, deux petites glandes situées de part et d'autre de la prostate sont retirées (Bianco *et al.*, 2005). Les effets indésirables spécifiques à la prostatectomie les plus fréquents sont l'incontinence urinaire, l'anéjaculation, les troubles de l'érection et l'infertilité (Resnick *et al.*, 2013).

❖ La radiothérapie externe

La radiothérapie est un traitement locorégional des cancers. Elle utilise des rayonnements ionisants qui détruisent les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier. Elle consiste à diriger précisément ces rayonnements sur la zone à traiter, tout en préservant le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants (Viani *et al.*, 2016). Cette technique s'accompagne de plusieurs effets indésirables tels que la rectite, les troubles urinaires et les troubles de l'érection (Litwin et Tan, 2017).

❖ La curiethérapie

La curiethérapie de la prostate consiste à placer des sources radioactives à l'intérieur de la prostate. Ces éléments radioactifs émettent des rayonnements qui détruisent les cellules cancéreuses. Cette technique est associée à plusieurs effets indésirables tels que l'hématurie, la rectite, les troubles urinaires, la présence du sang dans le sperme et les troubles de l'érection (Rozet *et al.*, 2018).

❖ **La cryothérapie**

La cryothérapie, appelée aussi cryochirurgie, détruit la tumeur grâce au froid intense délivré par une sonde appelée cryosonde. Le mode d'action repose sur la congélation (-40°) du tissu conduisant à une dénaturation protéique, une rupture des membranes cellulaires par les cristaux de glace, et des microthromboses vasculaires avec apoptose (Matillon *et al.*, 2012). Les effets secondaires sont les troubles de l'érection et une incontinence urinaire (Rozet *et al.*, 2020).

I.3.11.2- Traitement des cancers de la prostate localement avancé et métastatique

❖ **L'hormonothérapie**

L'hormonothérapie consiste à empêcher l'action stimulante de la testostérone sur les cellules cancéreuses pour stopper le développement du cancer par déprivation androgénique (Rozet *et al.*, 2020). Elle peut se faire par deux méthodes :

❖ **Les traitements médicamenteux**

Les médicaments d'hormonothérapie utilisés sont des analogues et des antagonistes de la LH-RH, qui bloquent la production de la testostérone par les testicules. Les plus courants sont le flutamide, le bicalutamide, le nilutamide, l'acétate de cyprotérone, l'acétate d'abiratéron et l'enzalutamide (Zerbib, 2007).

❖ **L'ablation des testicules**

L'ablation des testicules est une intervention chirurgicale qui consiste à enlever la partie du tissu des testicules qui sécrète la testostérone. Deux techniques existent : la pulpectomie qui conserve la paroi externe des testicules et l'orchidectomie, plus rarement utilisée, au cours de laquelle tout le testicule est enlevé (Rozet *et al.*, 2020).

Les effets indésirables suivants sont communs aux différents types d'hormonothérapie : les bouffées de chaleur, les troubles de l'érection, la baisse de la libido, la prise de poids, l'ostéoporose, la gynécomastie et l'irritabilité (Hodge *et al.*, 2009).

❖ **La chimiothérapie**

La chimiothérapie est un traitement systémique dont l'action est dirigée contre les mécanismes de la division cellulaire par leur action cytotoxique ou cytostatique. Parmi les molécules utilisées, on a le docétaxel et la prednisone ou prednisolone (Fournier, 2004). Les effets indésirables sont : les sensations de fourmillement, les troubles cutanés, les nausées et les

vomissements, perte de cheveux, affections oculaires, fonte musculaire et diabète (Hodge *et al.*, 2009).

❖ L'immunothérapie

L'immunothérapie du cancer peut se faire par la fabrication des vaccins thérapeutiques ou par l'inhibition des points de contrôle. La vaccinothérapie vise principalement à favoriser l'activation des cellules T cytotoxiques, qui ont des effets anti-tumoraux, en reconnaissant les antigènes tumoraux et en exécutant l'apoptose (Rizzo *et al.*, 2020). C'est le cas du sipuleucel-T qui est une immunothérapie active qui consiste à infuser des cellules mononucléées du sang périphérique, activées *in vitro* par une protéine de fusion. L'inhibition des points de contrôle immunitaires (thérapie ciblée) passe le blocage des protéines exprimées par les cellules cancéreuses qui empêchent le système immunitaire de reconnaître ces cellules comme le non-soi et les détruire (Rizzo *et al.*, 2020).

I.3.11.3- La phytothérapie

La phytothérapie occupe une place importante dans la prévention du cancer de la prostate car c'est une maladie caractérisée par une longue période d'attente, une forte influence du régime alimentaire et l'absence de traitement à un stade avancé (Bounda, 2018). C'est le cas du lycopène, un composé bioactif de la tomate impliqué dans l'inhibition de la tumorigénèse prostatique (Moran *et al.*, 2022).

I.4- Alicaments

I.4.1- Définition

Un alicament ou aliment fonctionnel est un aliment qui peut être consommé régulièrement dans le cadre d'un régime alimentaire normal et qui est démontré comme pouvant apporter un bénéfice physiologique ou médical en régulant les fonctions de l'organisme afin de protéger contre des maladies telles que les maladies coronariennes, l'hypertension, le diabète, l'ostéoporose et le cancer ou d'en retarder la progression (Doyon et Labrecque, 2008).

I.4.2- Alicaments et tumeurs

Diverses études ont démontré que les extraits de betterave grâce à ses activités antioxydantes et chimio-préventives sont efficaces dans la prévention de la carcinogénèse sur lignées cellulaires humaines de cancer du pancréas, du sein et de la prostate (Tan et Hamid, 2021). De même, l'oignon et l'ail contiennent certains composés biologiquement actifs qui ont des effets anti-carcinogènes (Tiwary et Hussain, 2020). Un grand nombre de glycosides triterpéniques de type cucurbitacine et cucurbitane isolés des plantes de la famille des Cucurbitaceae se sont révélés être des agents cytotoxiques et antitumoraux (Mukherjee *et al.*, 2022).


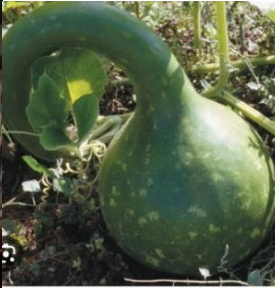




I.5- Cucurbitacées




Les cucurbitacées constituent la plus grande famille de cultures maraîchères et fruitières, qui comprend environ 125 genres et 960 espèces repartis à travers le monde, et principalement dans les pays tropicaux et subtropicaux (Mukherjee *et al.*, 2022). Nous nous sommes intéressés dans le cadre de ce travail aux genres de cucurbitacées dont les fruits sont plus connus et dont les graines sont les plus fréquemment consommées au Cameroun, il s'agit de : *Lagenaria siceraria*, *Cucumeropsis manii*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucumis sativus* et *Cucumis melo*.

I.5.1- Description morphologique

Les noms vernaculaires, la description morphologiques ainsi que les photographies des différentes espèces de courge sont présentées dans le tableau I.

Tableau I: Description morphologique des six espèces de courge

	Synonymes	Noms vernaculaires	Description	Photographies	
				Fruit	Graines
Lagenaria siceraria Standl	<i>Cucurbita siceraria</i> , <i>Lagenaria vulgaris</i>	"Bottle gourd" (en anglais), courge, (en français), "ngol nwouan" (en bulu), calebasse, "ndù tò" (en Ghomala)	- plante herbacée annuelle, monoïque grimpante ou rampante, à tige anguleuse assez épaisse et recouverte de poils souples et fins, - les feuilles sont longuement pétiolées, - le fruit est une baie de forme et de taille variable qui va de verdâtre et dense, - les graines sont entourées d'une couche externe brune dure et d'une membrane interne blanche, aplaties et mesurent de 7 à 20 mm de long (Mampouya <i>et al.</i> , 2016).		
Cucumeropsis manii Naud	<i>Cucumeropsis edulis</i> , <i>Cladosyos edulis</i> , <i>Momordica procera</i>	"egusi melon" (en anglais), "ngon" (en bulu) et "mpock" (en Ghomala)	- plante herbacée annuelle, monoïque grimpante, à tige légèrement ramifiée, - le fruit est une baie lisse, de forme ovoïde, pendante de couleur vert clair, - les graines sont entourées d'une couche externe et d'une couche interne toutes deux blanches, ovales, réduites ou en pointe à l'extrémité, mesurant 16-18 mm de long.		
Cucurbita maxima Duchesne	<i>Cucurbita pepo</i> var. <i>maxima</i> , <i>Cucurbita argyrosperma</i> , <i>Cucurbita maxima</i> var. <i>globosa</i>	"Pumpkin" (en anglais), courge (en français), "ndzen" (en ewondo) et "mpock" (en Ghomala)	- plante herbacée annuelle, monoïque grimpante ou rampante à tige légèrement ramifiée, - le fruit est une baie volumineuse de couleur jaune à verte, - les graines sont de forme horizontale et ovale mesurant 20-24mm de long, englobées extérieurement par une capsule blanche et intérieurement d'une membrane verte. (Muntean <i>et al.</i> , 2013).		

<p><i>Cucurbita moschata</i> Duchesne</p>	<p><i>Cucurbita pepo</i> var. <i>moschata</i>, <i>Cucurbita mixta</i>, <i>Cucurbita argyrosperma</i> var. <i>moschata</i></p>	<p>"Muskmelon" (en anglais), courge musquée (en français), "ndzen abog" (en bulu) et "ᵠᵠᵠ mᵠlam" (en Ghomala)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - plante annuelle dicotylédone, aux tiges légèrement laineuses rampantes ou grimpantes des vrilles, - les feuilles sont circulaires, réniformes, en forme de cœur ou triangulaires, souvent profondément dentelées à la base, - le fruit est une grosse baie globuleuse à ovoïde ou cylindrique de couleur jaune à verte, - les graines sont obovoïdes, aplaties, de 10-20 mm de long et enveloppées d'une couche externe blanche et d'une enveloppe interne verte (Magdeleine <i>et al.</i>, 2011). 	
<p><i>Cucumis sativus</i> Linn</p>	<p><i>Cucumis esculentus</i>, <i>Cucumis anguria</i>, <i>Cucumis myriocarpus</i>, <i>Cucumis sativus</i> var. <i>hardwickii</i></p>	<p>"Cucumber" (en anglais), concombre, cornichon (en français), "omgbwa" (en ewondo), "nfempock" (en Ghomala)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - plante annuelle dicotylédone, aux tiges munies de poils rigides, - le fruit est cylindrique, plus ou moins allongé de couleur vert-jaune, - les graines sont horizontales, petites et longues de 8-10 mm de longues entourées d'une couche externe brune clair dure et d'une membrane interne blanche (Tatlioglu, 1993). 	
<p><i>Cucumis melo</i> Linn</p>	<p><i>Melo sativus</i>, <i>Melo vulgaris</i>, <i>Melo cantalupa</i>, <i>Melo chandalak</i>, <i>Melo monoclinus</i></p>	<p>Muskmelon (en anglais), melon (en français).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - plante annuelle, sans doute d'origine africaine, a des tiges rampantes assez grêles, hérissées de poils raides, - les feuilles, entières ou lobées, toujours pétiolées, se développent au niveau des nœuds, axillant chacune une vrille fine, simple. 	

I.5.2- Répartition géographique

Les Cucurbitacées sont présentes sur tous les continents mais elles sont largement répandues dans les régions subtropicales et tropicales. En Afrique, elles sont présentes aussi bien dans la zone sahara-sahélienne que dans la zone tropicale et sub-tropicale (Mampouya *et al.*, 2016).

I.5.3- Systématique

Selon APG III, *Lagenaria siceraria*, *Cucumeropsis manii*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucumis sativus* et *Cucumis melo* obéissent à la classification suivante (Maadsi et Khaled. 2012) :

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Cucurbitales
Famille :	Cucurbitaceae
Genre :	Lagenaria, Cucumeropsis, Cucurbita et Cucumis
Espèces :	<i>Lagenaria siceraria</i> , <i>Cucumeropsis manii</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>Cucurbita moschata</i> , <i>Cucumis sativus</i> et <i>Cucumis melo</i>

I.5.4- Actions thérapeutiques

Les plantes de la famille des Cucurbitaceae constituent une excellente source de composants fonctionnels bioactifs ayant diverses importances thérapeutiques. Elles possèdent des propriétés antidiabétique, anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, antimicrobienne, cardioprotectrice, hypolipidémique, antioxydante et anti-tumorale (Mukherjee *et al.*, 2022). Elles interviendraient dans le traitement du SIDA (Ng *et al.*, 1992).

I.5.5- Usage traditionnel

Les graines séchées décortiquées sont généralement broyées et utilisées comme ingrédients pour épaissir une soupe ou préparées en une pâte communément appelée met de pistache (Pelé *et al.*, 1967). Les graines de cucurbitacées sont également utilisées comme sources d'huile et contiennent environ 30 à 50% de l'huile. Les fruits mûrs de *L. siceraria* peuvent être utilisés comme récipients à usages multiples, instruments de musique ou à des fins ornementales (Minocha, 2015).

I.5.6- Composition chimique et nutritionnelle

La valeur nutritive des graines de pistache du Cameroun ne dépend pas de la région bioclimatique de culture mais de l'espèce. Ces graines sont sources de glucides, de protéines, de lipides, de fibres et de minéraux (Achu *et al.*, 2005). Elles sont riches en acides gras insaturés, en stérols, en tocophérols, en squalène et en caroténoïde (Amin *et al.*, 2019).

I.5.7- Travaux antérieurs

Les travaux antérieurs réalisés sur les six espèces de cucurbitacées étudiées dans le cadre de ce travail sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau II: Récapitulatif des travaux antérieurs menés sur les six espèces de cucurbitacées

Noms scientifiques	PU	NI	Constituants phytochimiques	Activités biologiques	Constatations majeures	Références
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne	- feuilles - fleurs - graines - fruit	45526 / HNC	Phénols totaux, flavonoïdes, caroténoïdes totaux, terpénoïdes et les tannins. Hussain <i>et al.</i> , 2021	- Antioxydant - Antimicrobien - Anticancéreux - Anti-inflammatoire - Antidiabétique	- Bonne activité antioxydante dans les deux tests DPPH et FRAP ; - Destruction de la croissance des bactéries et des champignons ; - Agent anticancéreux naturel dans les lignées cellulaires N2a cultivées ; - Réduction de l'œdème de la patte ; - Diminution du niveau élevé de glucose dans le sang.	Sha'a, 2021 ; Neelamma <i>et al.</i> , 2021 ; Wahid <i>et al.</i> , 2021 ; Mahmoodpoor <i>et al.</i> , 2018
<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne	- graines - chair - fruit - graines	25691/ SRF-CAM	Phénols totaux, flavonoïdes et les tannins. Enneb <i>et al.</i> , 2020	Antioxydant Anti-diabétique Anticancer Antibactérien	- Régulation des facteurs de transcription adipogènes/lipogènes ; - Activités hypoglycémiantes ; - Protecteur contre le cancer de la prostate ; - Inhibe la croissance des cellules de mélanome M21 ; - Activité antibactérienne élevée.	Mindjou <i>et al.</i> , 2021 ; Men <i>et al.</i> , 2020.
<i>Lagenaria siceraria</i> Standl	- feuilles - fruits - fruits - fruits - graines	48907/ HNC	Alcaloïde, glycosides, stéroïdes, tannins, saponines et flavonoïdes.	- Anticancer - Hypolipidémiant - Antiinflammatoire - Antioxydante - Antimicrobien - Antibactérien - Cytotoxique	- Effet antiprolifératif et anti-carcinogène ; - Réduit les niveaux élevés de triglycérides, de cholestérol et de lipoprotéines de basse densité tout en augmentant les niveaux de lipoprotéines de haute densité. - Effets anti-inflammatoires et analgésiques de l'extrait de jus chez les souris et les rats. - Activité antioxydante dans un modèle in-vitro utilisant le DPPH - Activité contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Streptococcus pyogenes</i>	Aref <i>et al.</i> , 2021 ; Ahmad <i>et al.</i> , 2022 ; Goji <i>et al.</i> , 2006.

<i>Cucumis sativus</i> Linn	- graines - feuilles	42457/ HNC	Alcaloïde, glycosides, stéroïdes, tannins, saponines et flavonoïde.	- Analgésique et anti-inflammatoire - Antioxydant - Antibactérien - Cytotoxique	- Activité antibactérienne spécifique contre <i>S. aureus</i> , gram positif, et <i>K. pneumonia</i> , gram négatif. - Une bonne activité antioxydante dans les deux tests DPPH et FRAP ; - Inhibition de la croissance de <i>S. aureus</i> et <i>K. pneumoniae</i> ; - Activité sélective contre deux lignées cellulaires cancéreuses distinctes, la lignée cellulaire de carcinome pulmonaire non à petites cellules humain déficient en p53 (H1299) et la lignée cellulaire d'adénocarcinome mammaire humain dépendant des œstrogènes.	Wahid <i>et al.</i> , 2021. Foong <i>et al.</i> , 2016
<i>Cucumeropsis manii</i> Naud	- graines	42484 /HNC	Alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides, stéroïdes et tanins Adepoju <i>et al.</i> , 2021	- Antimicrobien - Hypoglycémique - Antioxydant - Athérogénicité	- Inhibition de la croissance de <i>E. coli</i> et activité antifongique contre <i>Aspergillus spp</i> et <i>F. solani</i> . - Faible activité hypoglycémique - Inhibition de la peroxydation des lipides et activité de pouvoir réducteur - Réduction du taux de cholestérol LDL et amélioration du taux de cholestérol HDL, réduisant ainsi le rapport athérogène.	Adepoju <i>et al.</i> , 2021 Teugwa <i>et al.</i> , 2013 Victor <i>et al.</i> , 2020 Achu <i>et al.</i> , 2008
<i>Cucumis melo</i> Linn	- feuilles - fruit - chair et graines	49585/ HNC	Alcaloïdes, saponines, flavonoïdes, glycosides et stéroïdes Babulreddy <i>et al.</i> , 2013	- Antioxydant, - Hypolipidémique, - Hépatoprotecteur - Antiinflammatoire - Antiprolifératif	- Diminution des niveaux de LDL, AST et ALT ; augmentation des activités CAT dans le CSM et réduction de l'activité GSH et du niveau MDA. - Activités anti-inflammatoires par des propriétés antioxydantes - Activités cytotoxiques par la BSLA - Activité hypoglycémique par la réduction du niveau de glucose dans le sang et possédant des propriétés de stimulation de l'insuline	Dhiman <i>et al.</i> , 2012 Malathi et Vadivelu, 2021

Légende : PU : Parties utilisées ; NI : Numéro d'identification

I.6. Modèles du cancer de la prostate

Les modèles animaux plus utilisés sont les modèles murins qui jouent un rôle central dans l'accélération du développement de nouvelles approches chimio-préventives et thérapeutiques contre le CaP. Des lignées cellulaires humaines de CaP sont aussi disponibles (Lamb et Zhang, 2005).

I.6.1. Modèles animaux

I.6.1.1. Tumeurs spontanées

Les rats de souche Wistar, Sprague Dawley et ACI/Seg sont connus pour développer de façon spontanée le CaP avec l'âge mais l'incidence de ces tumeurs est généralement faible et les périodes de latence sont longues. Ces tumeurs ne se développent que dans une zone précise de la prostate chez le rat et sont parfois caractérisées par une absence de métastases (Russell et Voeks, 2003).

I.6.1.2. Induction chimique de la carcinogénèse

Le modèle de CaP chez le rat induit par la N-méthyl-N-nitrosourée (NMU) et les androgènes a été mis au point par McCormick et Rao, (1999). Le modèle de rat induit par le NMU-androgène induit des adénocarcinomes et des lésions hyperplasiques atypiques dans les régions ventrale, dorsolatérale et antérieure de la prostate avec une incidence élevée. Au cours d'un traitement prolongé, ce modèle développe des lésions prostatiques qui imitent étroitement celles observées chez les patients humains (Nascimento-Goncalves *et al.*, 2023). Tout d'abord, les rats sont traités quotidiennement avec un antiandrogène, tel que le flutamide ou l'acétate de cyprotérone, afin d'inhiber la prolifération des cellules épithéliales de la prostate, suivi de l'administration de la testostérone pour induire un pic de prolifération cellulaire. Après cette étape, une seule injection intrapéritonéale de MNU, ciblant la population de cellules. Enfin, les rats reçoivent une faible dose de testostérone à libération lente jusqu'à la fin de l'expérience afin de soutenir le développement tumoral (Bosland *et al.*, 2022).

L'administration chronique de la testostérone seule ou associée à la 17β -oestradiol a été rapporté comme modèle hormonal d'induction du CaP chez le rat. L'administration de la testostérone seule induit un adénocarcinome avec une faible incidence dans les zones dorsolatérales et/ou antérieures de la prostate de plusieurs souches de rat. L'administration combinée induit une incidence élevée au niveau des zones dorsales, latérales et antérieures de la prostate des rats Noble et Sprague Dawley (Bosland, 1992).

I.6.1.3. Souris porteuses de xénogreffes

Chez les souris immunodéficientes, la croissance tumorale se produit après implantation des cellules humaines ou xénogreffes. L'avantage de cette approche par rapport à une étude *in vitro* est

la présence d'une structure tridimensionnelle complète avec angiogenèse, facteurs paracrines, hormones, interactions stromales et aussi métastases (Lamb et Zhang, 2005). Les limites de ces modèles comprennent un potentiel métastatique relativement faible lorsqu'ils sont implantés par voie sous-cutanée et des interactions potentielles entre espèces qui peuvent influencer la croissance et la progression de la tumeur (Russell et Voeks, 2003).

I.6.1.4. Souris transgéniques (génétiquement modifiées)

Ces modèles reproduisent en profondeur les différentes étapes du cancer de la prostate et les mutations génétiques humaines associées à la progression tumorale (Kaplan-Lefko *et al.*, 2003). Les gènes cibles manipulés sont ceux qui altèrent l'expression des facteurs de croissance et de leurs récepteurs, les régulateurs du cycle cellulaire, les gènes pro- et anti-apoptotiques, les récepteurs des hormones stéroïdiennes, les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs (Lamb et Zhang, 2005).

I.6.1.5. Souris allogreffes

C'est un système de tumeurs généré chez la souris en utilisant des lignées de cellules tumorales ou des tissus dérivés du même fond génétique et de ce fait le matériau transplanté et l'hôte partagent la même souche (Rea *et al.*, 2016).

I.6.1.6. Souris *knockout* (KO)

C'est un modèle de souris basé sur le retrait de gènes suppresseurs de tumeurs soit par délétion de séquences entières ou d'une partie de celles-ci. (Rea *et al.*, 2016).

I.6.2. Modèles *in vitro*

Dans le domaine de la recherche contre le CaP, les chercheurs utilisent principalement 3 types de lignées cellulaires : les cellules LNCaP, PC3 et DU-145, ainsi que quelques dérivations clonales de ces lignées (Cunningham et You, 2015).

I.6.2.1. Cellules DU-145

Ce sont des cellules aneuploïdes non hormono-sensibles isolées à partir de métastases cérébrales du cancer de la prostate à n'exprimant ni le RA ni PSA mais exprimant les facteurs de croissance tels que l'EGF et le TGF α .

I.6.2.2. Cellules PC-3

Les cellules de la lignée PC3 sont des cellules androgéno-non sensibles obtenue à partir de métastases vertébrales n'exprimant ni le RA ni le PSA.

I.6.2.3. Cellules LNCaP

Les cellules LNCaP ont été isolées à partir de métastases lymphatiques d'adénocarcinome humain. Ce sont des cellules sensibles aux androgènes qui expriment les RA et le PSA. Des lignées cellulaires moins utilisées et moins bien caractérisées comme EB-33, PC-93, TSU-PR1, JCA-1, ND-1, PPC-1 et DuPro-1 sont aussi disponibles (Van Bokhoven *et al.*, 2003).

I.7. Etude de la toxicité de l'extrait

La toxicité se définit comme l'ensemble des effets néfastes qui peuvent être des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, provoquées par une substance introduite à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées (Hodgson, 2004).

I.7.1- Toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë est une analyse de l'ensemble des effets adverses qui surviennent dans un délai de quelques minutes à quelques jours (2 à 4 semaines) suite à une absorption de dose unique généralement élevée d'une substance. La toxicité aiguë s'exprime généralement par la dose létale 50 (DL50) qui est la dose unique d'une substance d'essai susceptible d'entraîner la mort de 50% des animaux (OCDE, 2022).

I.7.2- Toxicité sub-aiguë

La toxicité sub-aiguë ou toxicité à court terme concerne les effets nocifs dus à une exposition répétée des doses ne produisant pas d'effets toxiques immédiats. C'est la forme commune d'exposition humaine à de nombreux produits chimiques. Ici, la substance à étudier est administrée quotidiennement pendant une période allant d'un à trois mois.

I.7.3. Toxicité chronique

Les essais de toxicité chronique consistent en une mise en évidence des altérations fonctionnelles et/ou morphologiques suite à l'administration répétées des doses non létales sur une longue période d'une substance seule ou en association et à établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie (OCDE, 2001).



**CHAPITRE II :
MATERIEL ET
METHODES**

II.1- Matériel biologique

II.1.1- Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué des graines de six espèces de cucurbitacées les plus consommées au Cameroun. Après récolte, ces plantes ont été authentifiées à l'Herbier National du Cameroun. Les noms scientifiques des espèces utilisées, les lieux de récolte ainsi que les numéros d'authentification sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau III).

Tableau III: Espèces de cucurbitacées utilisées

Noms scientifiques	Partie utilisée	Lieu de récolte	Village	Département	Région	Numéro d'authentification
<i>Cucurbita maxima</i>	Graines	Bafoussam II	Tyo-Village	Mifi	Ouest	45526 / HNC
<i>Cucurbita moschata</i>	Graines	Bandjoun	Nkouo	Nkoug-Khi	Ouest	25691/SRF-CAM
<i>Lagenaria siceraria</i>	Graines	Bafoussam II	Tyo-Village	Mifi	Ouest	48907/HNC
<i>Cucumis sativus</i>	Graines	Bafang	Babouantou	Haut-Nkam	Ouest	42457/HNC
<i>Cucumeropsis manii</i>	Graines	Bafoussam II	Tyo-Village	Mifi	Ouest	42484 /HNC
<i>Cucumis melo</i>	Graines	Bertoua	Koume-Bonis	Lom-et-Djérem	Est	49585/HNC

II.1.2- Matériel animal

II.1.2.1- Cellules humaines cancéreuses

Les cellules DU145 et PC3, qui sont des cellules humaines cancéreuses de la prostate non androgéno-sensibles, et les cellules LNCaP, qui sont des cellules cancéreuses de la prostate androgéno-sensibles ont été achetées auprès de l'"American Type Culture Collection" (ATCC) (Wesel, Allemagne).

II.1.2.2- Animaux expérimentaux

Les rats mâles albinos de souche Wistar ont été obtenus du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I. Ils étaient âgés de 1,5 mois et pesaient environ 90 g d'une part et de 2,5 à 3 mois pour un poids moyen de 200 g d'autre part. Les rats ont été logés dans des cages collectives tapissées de litière de copeaux de bois dans les conditions de température ambiante, aération suffisante, sous un cycle nyctéméral naturel (environ 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité). Ils recevaient tout au long de l'expérimentation, de l'eau et une alimentation composée d'un mélange de farine de maïs (50%), de farine de blé (22%), de farine de poisson (15%), de tourteaux de palmiste (4%), de poudre d'os (3%), de poudre d'arachide (5%), de sel de cuisine (0,75%) et la vitamine de marque prémix® (0,25%). Les expérimentations ont été conduites en accord avec les recommandations de l'autorisation N° FWIRB 00001954 du comité d'éthique national camerounais sur l'usage des animaux de laboratoire.

II.1.3- Substances

La Finastéride (Chibroproscart), et le bilucamide (Casodex), ont été obtenus de Pierre Fabre (Boulogne, France). L'Enanthate de testostérone (Androtardyl®) et le Benzo(a)pyrène ont été achetés à Bayer Pharma AG (Berlin, Allemagne). L'œstradiol valérate (Progynova® 2 mg) a été obtenu de Delpharm (Lille, France), et le Fulvestrant (ICI 182,780) ont été fournis par le laboratoire Juvamine (Paris, France).

Les kit ELISA pour la détermination quantitative du PSA total et des marqueurs inflammatoires (IL1 β , IL6, TNF α , IL10) ont été obtenus de Cusabio Biotech Co. Ltd, Newark (Delaware, USA). Les kits de HDL-cholestérol, cholestérol total, triglycérides, bilubirine, ASAT et ALAT ont été obtenus de Pol. Ind. Can Castell Canovelles (Barcelone, Espagne).

II.2- Méthodes

II.2.1- Préparation des extraits

II.2.1.1- Préparation des solutions des graines totales crues et cuites

Pour l'obtention de la pâte crue, les graines séchées de chaque espèce de courge ont été décortiquées, puis 100 g ont été broyées séparément à l'aide d'une machine électrique (blender) pendant trois minutes. La poudre obtenue a été conservée au réfrigérateur pendant trois jours et renouvelée. Les solutions des graines totales crues administrées aux rats ont été préparées en fonction de la masse des animaux. De façon générale, 2,3 g de poudre des graines de chaque espèce ont été solubilisés dans 46 mL d'eau distillée de façon à obtenir une solution mère de 50 mg/mL. La solution mère ainsi obtenue était conservée à 4°C pour les traitements ultérieurs des animaux. Connaissant la dose D (mg/kg), le poids P (kg) de l'animal et la concentration C (mg/mL) de l'extrait, le volume V (mL) à administrer à un rat a été déterminé à partir de la formule suivante : **Volume (mL) = Dose (mg/kg) x Poids (kg) / Concentration (mg/mL).**

Parmi les six espèces de courge sélectionnées, *C. sativus* a présenté les meilleurs effets sur la plupart des paramètres évalués. La suite de ces travaux s'est donc appesanti sur cette espèce. Pour l'obtention de la pâte cuite, 50 g de poudre des graines de *C. sativus* a été pesée, mélangée avec 50 mL d'eau, enveloppée dans des feuilles biodégradables (feuilles de bananier-plantain) puis portée à ébullition dans un pot en acier inoxydable pendant deux heures. Le gâteau de pistache obtenu a été pesé et conservé au réfrigérateur pendant deux jours. Les solutions des graines totales cuites administrées aux rats ont comme précédemment décrit pour l'obtention de la solution des graines totales crues.

II.2.1.2- Obtention de l'huile et du tourteau de *C. sativus*

Les graines de *C. sativus* crues ayant montré les meilleurs effets, un fractionnement en tourteau et en huile de ces graines a été réalisé dans le but de déterminer dans quelle partie se trouve

les métabolites responsables des effets observés. Cette extraction s'est faite à froid (température inférieure à 50 °C) afin de préserver chaque espèce ont été introduite pour extraction dans une machine à huile modèle YD-ZY-OIC marque GmbH (Paris, France) pendant huit minutes. Ce procédé a permis d'obtenir 168,65 g d'huile soit un rendement de 33,73% et 317,1 g de tourteau soit un rendement de 63,42% à partir de 500 g de graines.

II.2.2- Tests pharmacologiques

II.2.2.1- Préparation des solutions

❖ Solution de gavage

Les doses des solutions de gavage utilisées dans de ce travail ont été obtenues des travaux antérieurs stipulant que la quantité journalière de pistache recommandée par la commission Allemande est de 10 g/jour chez un homme adulte de 70 kg (Blumenthal, 1998). La technique de Nair et Jacob, (2016) a permis d'obtenir une dose d'environ 1000 mg/kg chez le rat. La dose du rat a été encadrée par fractionnement suivant un facteur de 1/2 de façon à obtenir les doses inférieures de 125, 250 et 500 de celle de 1000 mg/kg PC. L'huile a été administrée par voie orale aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg PC et le tourteau aux doses de 85, 170, 340 mg/kg PC. Ces doses ont été extrapolées de la dose pharmacologique efficace (500 mg/kg) en respectant les proportions de l'huile ($33,73\% \times 500 \text{ mg} = 170 \text{ mg}$) et du tourteau ($63,42\% \times 500 \text{ mg} = 340 \text{ mg}$) suivi d'un fractionnement selon un facteur de 1/2.

❖ Solution d'énanthate de testostérone

L'énanthate de testostérone a été administré à la dose de 3 mg/kg par voie sous-cutanée (*sc*); dose rapportée comme étant efficace pour induire l'hyperplasie de la prostate chez les rats normaux (Zingué *et al.*, 2020). Pour le test anti-androgénique, réalisé suivant la ligne directrice de l'OCDE adoptée en 2009, la dose de 0,4 mg/kg a été utilisée alors que pour l'induction du cancer de la prostate qui s'est réalisée suivant le protocole modifié de Boileau *et al.*, 2003, les doses de 10 et de 100 mg/kg ont été utilisées. En pratique, une ampoule d'Androtardyl® de 1 mL contenant 250 mg d'énanthate de testostérone était dissout dans un volume d'huile de maïs ; le mélange était agité puis conservé à 4°C pour des traitements ultérieurs.

❖ Solution d'œstradiol valérate

L'œstradiol valérate (Progynova®) a été administrée aux rats à la dose de 400 µg/kg dans les tests d'évaluation des activités oestrogéniques chez les rats mâles. En pratique, un comprimé de 2 mg a été dissout dans de l'eau distillée, agité puis conservé à 4°C pour des traitements ultérieurs.

❖ Solution de finastéride

Le finastéride, inhibiteur de la 5α réductase utilisé comme médicament de référence dans le traitement de l'HBP a été administré à la dose de 5 mg/kg PC en se basant sur des travaux antérieurs (Njamen *et al.*, 2020 ; Zingué *et al.*, 2020). Un comprimé de 5 mg a été dissout dans 10 mL d'eau

distillée et le mélange a été agité à l'aide d'un ultrason de marque Elmasonic® puis conservé à 4°C pour les utilisations ultérieures.

❖ **Solution d'acétate de cyprotérone**

L'acétate de cyprotérone est un antagonisme de la LH utilisée pour la castration chimique des rats durant le test d'induction du CaP. Il a été administré par voie *sc* à la dose de 20 mg/kg PC suivant le protocole modifié décrit par Boileau *et al.*, 2003. Pour ce faire, 20 mg de ce composé ont été dissouts dans 20 mL d'huile de maïs puis conservée à 4°C pour les traitements ultérieurs.

❖ **Solution de Fulvestrant**

Le fulvestrant est antagoniste compétitif des récepteurs aux estrogènes. Il a été administré à la dose de 300 µg/kg, dose rapportée comme présentant les effets anti-oestrogéniques. Pour ce faire, 6 mg de poudre ont été dissoutes dans 10 mL l'huile de maïs puis conservées à 4°C pour les traitements ultérieurs.

❖ **Solution du létrozole**

Le létrozole un inhibiteur de l'aromatase, enzyme permettant la conversion irréversible des androgènes en estrogènes. Il a été administré à la dose de 0,5 mg/kg PC ; dose équivalente à deux fois celle de l'homme qui est de 2,5 mg/jour (Vari *et al.*, 2017 ; Jasem et Tawfeck, 2020).

❖ **Solution de formol à 10%**

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

❖ **Solution lipidique 0,1%**

Un dixième de gramme d'huile des graines de *C. sativus* a été prélevé, pesé puis ajouté dans des tubes contenant au préalable 2,5 mL de chlorure de méthylène à la concentration de 40 g/L.

❖ **Solution lipidique 0,5%**

Un demi gramme d'huile des graines *C. sativus* a été pesé, introduit dans une fiole jaugée de 100 mL et dissout avec un peu de solvant de chlorure de carbone (CCL₄). Le contenu a été ensuite complété avec le même solvant jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution de thiosulfate de sodium N/50**

Cinq grammes de thiosulfate de sodium ont été dissout dans un peu d'eau distillée contenue dans une fiole jaugée de 500 mL puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution de thiosulfate de sodium 0,01 N**

Dans une fiole jaugée a été introduit 1,24 g de cristaux d'hyposulfite de sodium puis le contenu a été dissout avec un peu d'eau distillée. Le contenu a été complété à 500 ml avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution de thiosulfate de potassium 0,5 N**

Dans un bécher ont été introduit 28,056 g de thiosulfate de potassium puis le contenu a été dissout avec un peu d'éthanol. A l'aide d'une burette graduée, 1000 mL d'éthanol a été mesurée, introduit dans le bécher contenant la solution puis homogénéisée de façon à obtenir une solution de concentration massique 28,056g/L.

❖ **Solution d'empois d'amidon 1%**

Un gramme d'amidon a été dissout dans une fiole jaugée de 100 mL avec un peu d'eau distillée. Le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et porté à ébullition tout en agitant jusqu'à obtention d'une solution homogène.

❖ **Solution d'iodure de potassium (KI) 2%**

Deux grammes de KI ont été dissout dans une fiole jaugée de 100 mL avec un peu d'eau distillée puis compléter jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution d'iodure de potassium 10%**

Dans une fiole jaugée de 100 mL ont été introduit 10 g de cristaux de KI. Le contenu a été dissout avec un peu d'eau distillée complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution saturée d'iodure de potassium**

Pour le faire, 127,5 g d'iodure de potassium ont été pesés, introduits dans une fiole jaugée de 100 mL et dissouts avec un peu d'eau distillée. Le mélange a été complété avec de l'eau distillée dans jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution d'acide sulfurique N/50**

Connaissant la densité d , la masse volumique (m_v) et le poids molaire de H_2SO_4 (PM), la concentration de la solution stock (C_N) a été déterminée en utilisant la formule suivante : $C_N = (d \times m_v \times 1000) / PM$.

La dissociation de l'acide sulfurique conduisant à la libération de deux moles d'ions hydroxyles, la C_N a été multipliée par deux. Le volume de la solution stock à prélever a été déterminé à partir de la concentration finale N/50, le volume de la solution finale (1000 ml), la concentration initiale C_N en utilisant la relation $C_i V_i = C_f V_f$.

Un volume initial de 0,55 ml de H_2SO_4 concentré a été pipeté et introduite dans une fiole jaugée d'un litre contenant un peu d'eau distillée puis complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution alcoolique d'iode 0,5%**

Cinq grammes de cristaux d'iode ont été introduits dans une fiole jaugée de 1000 mL puis dissouts avec un peu d'éthanol puis complétés avec de l'éthanol jusqu'au trait de jauge.

❖ **Solution de Chlorure de mercure (HgCl₂) 0,69%**

Après avoir pesé 0,69 g de cristaux de HgCl₂, ce dernier a été dissout avec un peu d'éthanol et compléter avec de l'éthanol jusqu'au trait de jauge dans une fiole de 100 mL.

❖ **Solution de phénolphtaléine 2%**

Deux grammes de phénolphtaléine ont été introduits puis dissouts avec un peu d'éthanol dans une fiole jaugée de 100 mL. Le volume a été complété avec de l'éthanol jusqu'au trait de jauge.

❖ **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 µL de peroxyde d'hydrogène 35% dans de l'eau distillée pour un volume final de 50 mL.

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

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

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

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

❖ **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 peroxyde d'hydrogène 50 mM**

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM a été obtenue en diluant 243 µL 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.

❖ **Solution d'acide phosphorique 2,5%**

Pour préparer la solution d'acide phosphorique 2,5 %, 2,5 mL d'acide phosphorique 85 % ont été prélevés et le volume final complété à 100 mL avec de l'eau distillée.

❖ **Solution de naphtyléthylènediamine 0,1%**

La solution de naphtyléthylènediamine 0,1% (NED 0,1%) a été obtenue par dissolution de 0,1 g de NED dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 mL.

❖ **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.

❖ **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).

❖ **Solution standard de nitrite de sodium 1 mM**

Pour la préparation de la solution de nitrite de sodium (NaNO_2) 1 mM, 0,69 g de 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 μM**

La solution de nitrite de sodium 1 μM a été obtenue par dilution de la solution de NaNO_2 1 mM au 1/1000^e, avec de l'eau distillée.

❖ **Préparation du réactif de Bradford**

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

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

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

❖ **Préparation du réactif d'Ellman**

Pour la préparation du réactif d'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.

II.2.2.2- Préparation des tampons

❖ Solution tampon phosphate (0,1 M, pH 6,5)

Le tampon phosphate a pour rôle le maintien des tissus dans les conditions proches du pH de l'organisme. Il a été préparé en faisant dissoudre 8,9 g de phosphate disodique hydraté (Na_2HPO_4 ; H_2O) dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL (solution A). De plus, 6,5 g de phosphate monosodique hydraté (NaH_2PO_4 ; H_2O) ont été dissous dans 250 mL d'eau distillée, puis le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée (solution B). Le pH de la solution B a été ajusté à 6,5 avec la solution A.

❖ Tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2)

Le tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) permet de rendre le milieu basique. Il a été préparé en faisant dissoudre 4,5 g de carbonate de sodium (NaCO_3 ; 10 H_2O) et 4,2 g de carbonate monosodique (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.

❖ Tampon Tris (0,05 M, pH 7,4)

Pour la préparation de ce tampon, 1,21 g de tris base (NaHPO_4) 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.

❖ Tampon Mc-Even

Pour la préparation de la solution de Mc-Even, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH_2PO_4 , 1 g de CO_3NaH , 0,03 g de MgCl_2 et 2 g de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ont été dissous dans de l'eau distillée pour un volume de 500 mL (solution A). Ensuite, 0,28 g de CaCl_2 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.

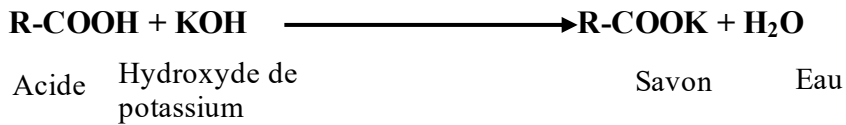
II.2.3- Evaluation des propriétés qualitatives de l'huile des graines de *Cucumis sativus*

II.2.3.1- Indice d'acide

L'acidité représente le pourcentage d'acides gras libres d'un corps gras. Elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique. La méthode utilisée est celle décrite par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1981).

❖ Principe

Le principe de cette méthode repose sur la neutralisation des acides gras libre par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) sans hydrolyser les liaisons esters des glycérides, selon la réaction suivante :



❖ Mode opératoire

Dans un bocal contenant un millilitre de solution lipidique a été ajouté quelques gouttes de phénolphtaléine 2%. Le mélange a été titré en agitant à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium KOH (0,1N) jusqu'à obtention d'une coloration rose persistant une dizaine de secondes. Un essai témoin a été réalisé dans les mêmes conditions à la seule différence que la solution lipidique a été remplacée par le chlorure de méthylène. Le nombre d'essai par échantillon était de trois.

❖ Expression des résultats

L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique qui se détermine ainsi :

Indice d'acidité = $(\text{NH}^+ * (\text{V}_0 - \text{V}) * 56,1 / \text{m})$ avec :

Poids moléculaire de KOH = 56,1 g/mol

V : volume en millilitre de HCl nécessaire à la neutralisation de l'échantillon ;

V₀ : volume en millilitre de HCl nécessaire à la neutralisation du blanc ;

NH⁺ : normalité de la solution de HCl (1 N) ;

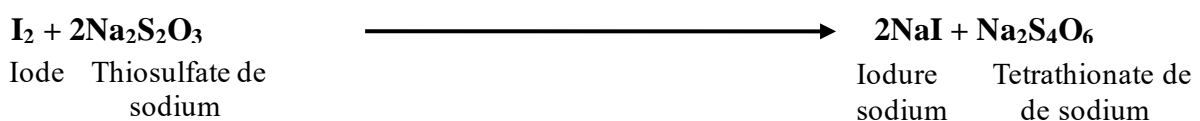
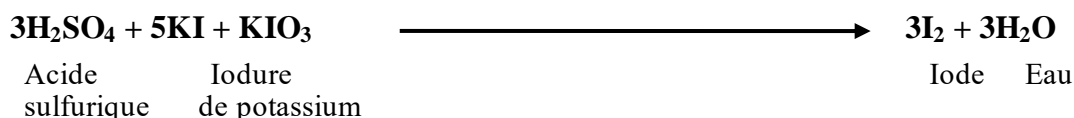
m : masse en gramme de la prise d'essai.

II.2.3.2- Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde représente la quantité de substances pouvant oxyder l'iodure de potassium en présence d'acide acétique et de chloroforme. La méthode utilisée est celle décrite par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1981).

❖ Principe

Le traitement de la matière grasse en solution avec l'acide sulfurique et le chloroforme par une solution d'iodure de potassium libère de l'iode qui peut être titré par une solution de thiosulfate de sodium 0.01N suivant les équations suivantes :



❖ Mode opératoire

Dans une fiole contenant 1 mL de chloroforme, 1,5 mL d'acide sulfurique a été introduit à 0,1 g d'échantillon d'huile et 1 mL d'iodure de potassium (solution aqueuse saturée). La fiole a été ensuite bouchée immédiatement, agité vigoureusement pendant 1 minute et laisser à l'obscurité pendant 5 minutes à température ambiante. Par la suite, 7,5 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon ont été ajoutés au mélange. L'iode libéré a été titré par une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) à 0,01N tout en maintenant le mélange en agitation vigoureuse. Parallèlement, un essai à blanc a été effectué de la même façon.

❖ Expression des résultats

L'indice de peroxyde (IP) se détermine ainsi : $I_p \text{ (m}_{\text{éq}} \text{ d'O}_2\text{/kg)} = N (V-V_0) * 1000 / m$
avec : IP : indice de peroxyde (m_{éq} d'O₂/kg) ;

V : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer l'échantillon ;

V₀ : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer le blanc ;

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium (0,01 N) ;

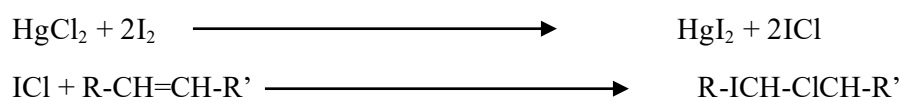
m : masse en gramme de la prise d'essai.

II.2.3.3- Indice d'iode

L'indice d'iode (In) se définit comme le nombre de grammes d'iode fixé par 100 g de matières grasses. Il a été déterminé suivant la méthode de l'AFNOR (1981). Il donne une indication sur la teneur de la graisse examinée en acides gras non saturés. Il permet donc de déterminer un nombre moyen de doubles liaisons présentes sur ses acides gras constitutifs.

❖ Principe

Le principe de détermination de l'indice d'iode se base sur la fixation d'halogènes par les doubles liaisons des AG insaturés, susceptibles d'entrer en jeu dans une réaction d'addition. En présence du chlorure d'iode obtenu en faisant réagir le chlorure de mercure et l'iode, l'iode se lie aux doubles liaisons des acides gras insaturés suivant les équations suivantes :



L'excès d'iode est titré par le thiosulfate de sodium de titre connu après addition de l'iodure de potassium dans le milieu réactionnel.

❖ Mode opératoire

La solution lipidique a été pesée et introduite dans une fiole de 100 mL contenant 15 mL de tétrachlorure de carbone, 20 mL de solution alcoolique d'iode et 20 mL de chlorure de mercure alcoolique. Le flacon a été légèrement agité et placé à l'obscurité pendant deux heures. Au bout de cette période, 25 mL d'iodure de potassium à 2% ont été ajoutés avec 10 mL d'eau distillée. L'excès d'iode de la solution obtenue a été titré avec le thiosulfate de sodium à 0,1 N en présence de quelques

gouttes d'empois d'amidon jusqu'à la décoloration totale caractéristique de l'absence d'iode. Un essai à blanc a été effectué dans les mêmes conditions sans matière grasse.

❖ Expression des résultats

Le poids en grammes d'iode fixé par 100 g de matière grasse est donné par la relation suivante :
$$I_n = (0,127 * N (V_2 - V_1) / m) * 100$$

avec V_1 : volume de thiosulfate de sodium en mL utilisé pour titrer l'échantillon ;

V_2 : volume de thiosulfate de sodium en mL utilisé pour titrer le contrôle ;

N : normalité du thiosulfate de sodium ;

m : masse de la matière grasse.

II.2.4- Evaluation des effets antiprolifératifs des graines de courges

II.2.4.1- Evaluation des effets des graines des six espèces de courges sur la croissance des cellules prostatiques humaines cancéreuses

La croissance cellulaire a été estimée à l'aide du test MTT (bromure de 3 [4,5-diméthylthiazol-2-yl] diphényltétrazolium). C'est un test colorimétrique qui est couramment utilisé pour la quantification de la prolifération, la viabilité et la toxicité cellulaire. Le MTT est un sel de tétrazolium de couleur jaune qui, en présence de cellules métaboliquement actives, est clivé par des succinate déshydrogénases de la chaîne respiratoire mitochondriale pour former des cristaux de formazan violets solubles dans le DMSO et quantifiable par mesure colorimétrique. Il permet donc d'évaluer les effets des substances testées sur la croissance globale, en déterminant la concentration de l'extrait qui inhibe 50% de la croissance cellulaire (CI50) tel que décrit par Njamen *et al.* (2020). Les cellules cancéreuses prostatiques humaines (DU145, PC3 et LNCaP) ont étéensemencées dans une microplaque à 96 puits à une densité de 5000 cellules/puits dans 50 μ L du milieu RPMI-1640. Après 24 h, pour permettre leur adhésion, les cellules ont été traitées avec les six (6) extraits des graines de courge à des concentrations allant de 12,5 à 100 μ g/mL.

Dans l'expérience *in vitro*, les cellules témoins ont été incubées avec le véhicule (DMSO 0,01% dans le milieu RPMI-1640). Après 24 h, 48 h et 72 h d'incubation, 10 μ L de MTT (0,5 mg/mL préparé dans du PBS) ont été ajoutés dans chaque puits et les plaques ont été incubées pendant 4 h supplémentaires à 37 °C dans l'obscurité. Le MTT a été solubilisé avec 100 μ L d'un tampon contenant 10% de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) dans 0,01 M HCl et laissé incuber toute la nuit. L'absorbance a été mesurée à 550 nm à l'aide d'un lecteur ELISA pour microplaques de marque TECAN®, (Crailsheim, Allemagne).

II.2.4.2- Evaluation des effets protecteurs des graines des six espèces de cucurbitacées sur l'HBP induite par la testostérone

La première partie *in vivo* de cette étude a consisté à l'évaluation des effets antiprolifératifs des graines des six espèces courge comestibles sur l'HBP. Pour ce faire, 75 rats mâles âgés de 2,5 à 3 mois ont été acclimatés pendant une semaine et répartis en quinze groupes de 5 animaux chacun. Un groupe témoin normal (NOR) qui recevait la substance de dilution (eau distillée) *PO* et de l'huile de maïs par voie *SC*, un groupe témoin négatif (BPH) qui recevait la testostérone à une dose de 3 mg/kg par voie *SC* et de l'eau distillée *PO*, un groupe témoin positif (FINAS) qui recevait la testostérone à une dose de 3 mg/kg par voie *SC* et du finastéride à une dose de 5 mg/kg *PO*. Les douze autres groupes tests recevaient la testostérone comme précédemment et les solutions des graines des six espèces de courge (*Lagenaria siceraria*, *Cucumeropsis manii*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucumis melo* et *Cucumis sativus*) crues aux doses de 500 et 1000 mg/kg *PC PO* respectivement (Figure 9).

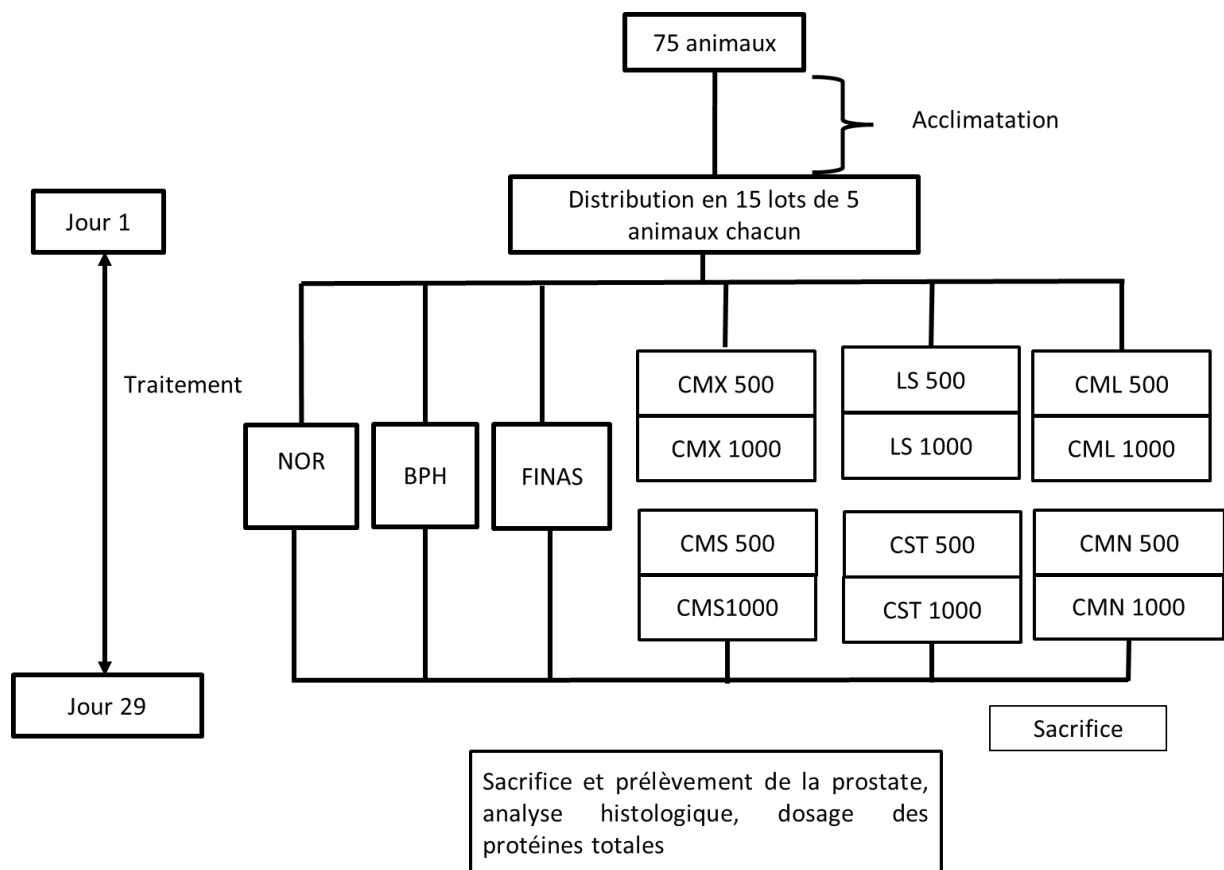


Figure 9: Protocole d'évaluation des effets antiprolifératifs des graines des six espèces de courge.

NOR = rats normaux ; HBP = rats témoins négatifs ; FINAS = Finastéride ; LS = *L. siceraria*; CMN = *C. manii*; CMX = *C. maxima*; CMS = *C. moschata*; CML = *C. melo* et CST = *C. sativus*.

Tous les traitements ont été effectués une fois par jour aux alentours de 8 h pendant 28 jours. A la fin du traitement, les rats des différents groupes ont été sacrifiés par décapitation après une anesthésie légère au diazépam (10 mg/kg) et à la kétamine (50 mg/kg). Une laparotomie a permis de mettre en évidence l'ensemble du système urogénital. Une partie de la prostate a été pesée puis

homogénéisée et centrifugée. Le surnageant a été recueilli pour les dosages biochimiques. La prostate ventrale a été prélevée, pesée et fixée immédiatement dans du formol à 10% pour une analyse histologique.

II.2.4.3- Evaluation des effets de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus* contre l'HBP induite par la testostérone

Dans cette partie, l'étude s'est focalisée sur l'évaluation de l'effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus*, espèce ayant montré le meilleur effet sur la plupart des paramètres évalués dans les tests précédents *in vitro* et *in vivo*. Le même protocole sus-décrit a été utilisé à la différence que nous avons juste 8 groupes tests qui recevaient la pâte des graines de *C. sativus* crues (CS-f) et cuites (CS-c) aux doses de 125, 250, 500 et 1000 mg/kg PC (Figure 10).

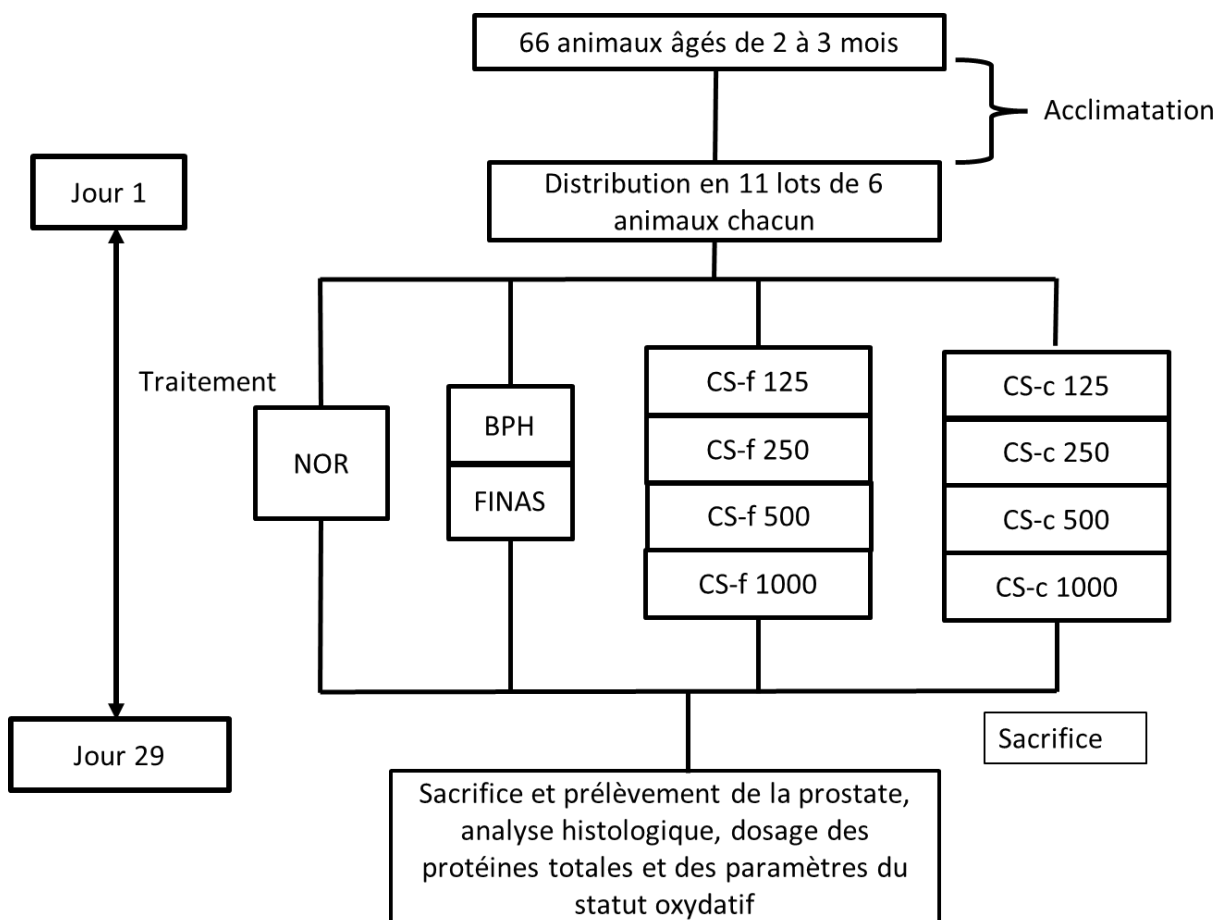


Figure 10: Protocole d'évaluation de l'effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus*.

NOR = rats normaux ; HBP = rats témoins négatifs ; FINAS = Finastéride ; CS-f = *C. sativus* crue ; CS-c = *C. sativus* cuit.

II.2.4.4- Evaluation des effets de la fréquence de prise des graines *C. sativus* contre l'HBP induite par la testostérone

Une enquête menée auprès des ménagères (Annexe 1) a révélé que les aliments à base des graines de courge se consomment environ trois fois par semaine et le plus souvent le weekend sous forme de met de pistache associé soit aux légumes soit à la sauce jaune.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de la fréquence de consommation des graines de *C. sativus* dans un modèle d'HBP chez le rat. Le protocole décrit précédemment a été utilisé avec la différence que nous avons 2 groupes tests dont l'un recevait la pâte des graines de *C. sativus* crues à la dose de 500 mg/kg PC trois fois par semaine (CS_{3/7}) et l'autre tous les jours (CS_{7/7}) (Figure 11). A la fin de l'étude, les mêmes paramètres précédemment décrits ont été considérés.

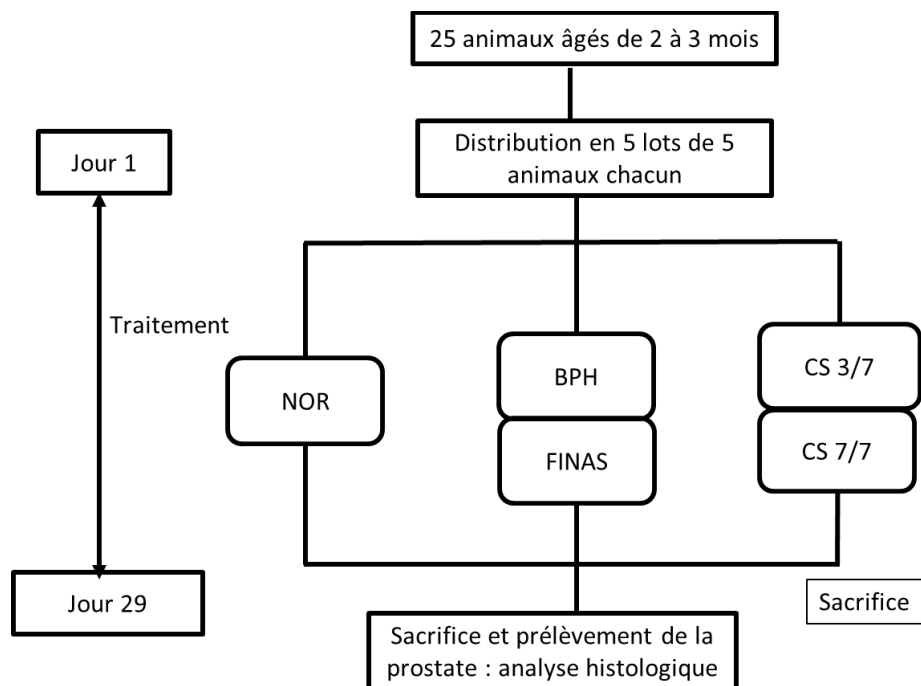


Figure 11: Protocole d'évaluation de l'effet de la fréquence d'administration sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus*.

NOR = rats normaux ; HBP = rats témoins négatifs ; FINAS = Finastéride ; CS_{3/7} = *C. sativus* crues trois fois par semaine ; CS_{7/7} = *C. sativus* crues quotidiennement.

II.2.5- Evaluation des effets antiprolifératifs de l'huile et du tourteau issus des graines *C. sativus*

II.2.5.1- Evaluation des effets antiprolifératifs de l'huile et du tourteau issus des graines *C. sativus* contre l'HBP

Dans le but de déterminer la partie de la graine responsable des effets obtenus les effets antiprolifératifs du tourteau et de l'huile ont été évalués dans un modèle de rat d'HBP sus-décrit. Nous disposions de 7 groupes tests (Figure 12) qui recevaient en plus de la testostérone l'huile de *C. sativus* aux doses respectives de 42,5 ; 85 et 170 mg/kg ou le tourteau des graines de *C. sativus* aux doses de 85 ; 170 et 340 mg/kg ainsi qu'un extrait total à la dose de 500 mg/kg. En plus des paramètres suscités, le sang artéro-veineux a été immédiatement recueilli dans les tubes à héparine

pour la numération formule sanguine. Une autre quantité a été recueillie dans les tubes secs, centrifugée à 3000 tours pendant 15 minutes et conservée à -20°C, pendant trois jours pour le dosage du marqueur du cancer (PSA).

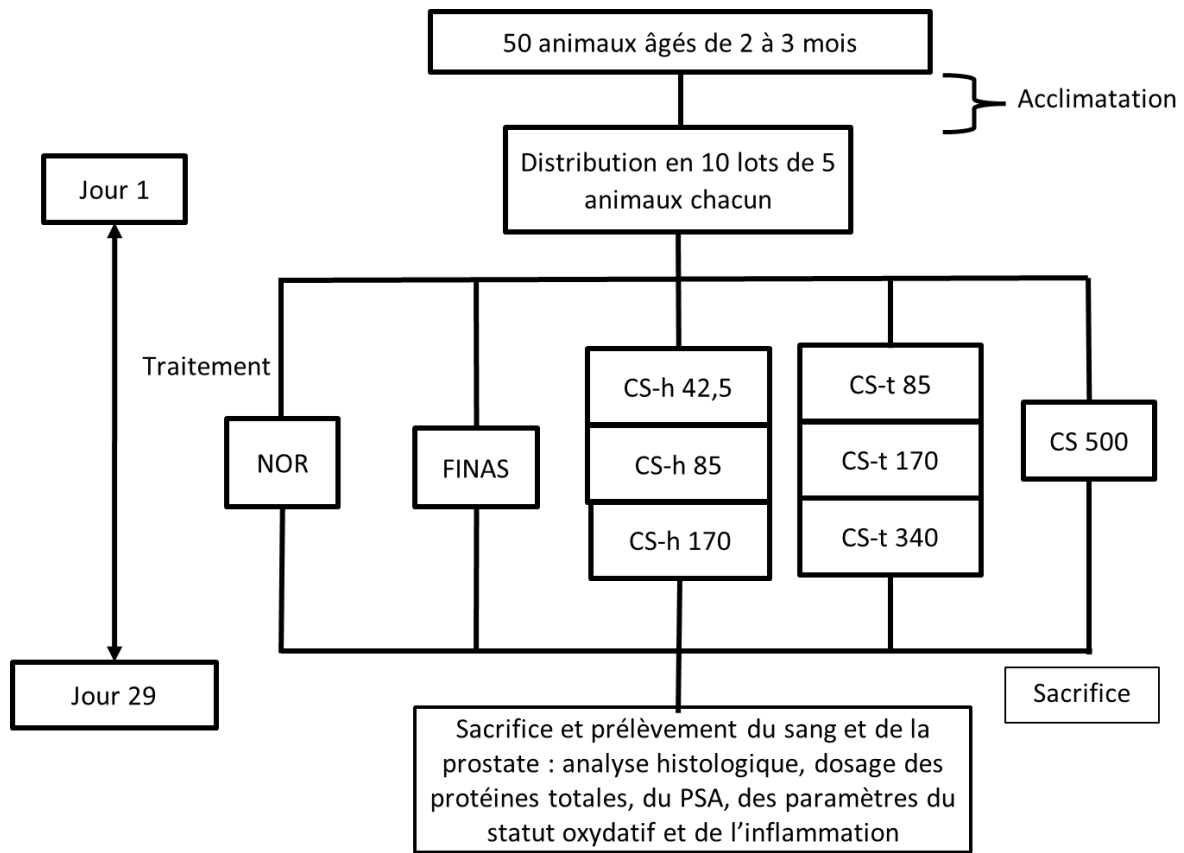


Figure 12: Protocole d'évaluation des effets antiprolifératifs de l'huile et du tourteau des graines de *C. sativus*.

NOR = rats normaux ; HBP = rats témoins négatifs ; FINAS = finastéride ; CS-h = Huile extraite des graines de *C. sativus* ; CS-t = tourteau extrait des graines de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* crue. J= jour.

II.2.5.2- Evaluation des effets protecteurs de l'huile extraite des graines de *C. sativus* sur le cancer de la prostate

❖ Induction du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate a été induit par une coadministration de benzo(a)pyrène et de testostérone suivant les protocoles modifiés de McCormick et Rao, (1999) et de Zabaiou, (2017). Tous les rats des autres lots ont été traités comme sous-décrit à l'exception de ceux de groupe contrôle normal. Chaque rat a été traité avec une injection d'acétate de cyprotérone (20 mg/kg, dose calculée à partir de l'extrapolation de la dose journalière chez l'homme) pendant 5 jours consécutifs (Figure 13). Après la dernière injection d'acétate de cyprotérone, les rats ont reçu une injection sous-cutanée quotidienne de propionate de testostérone (TP) pendant trois jours à la dose 100 mg/kg PC. Au jour 9, les rats ont reçu une dose intraprostatique unique de Benzo(a)pyrène à la dose de 50

mg/kg. A partir du jour 10, les rats ont reçu une injection sous-cutanée hebdomadaire de TP (10 mg/kg PC) pendant trois mois.

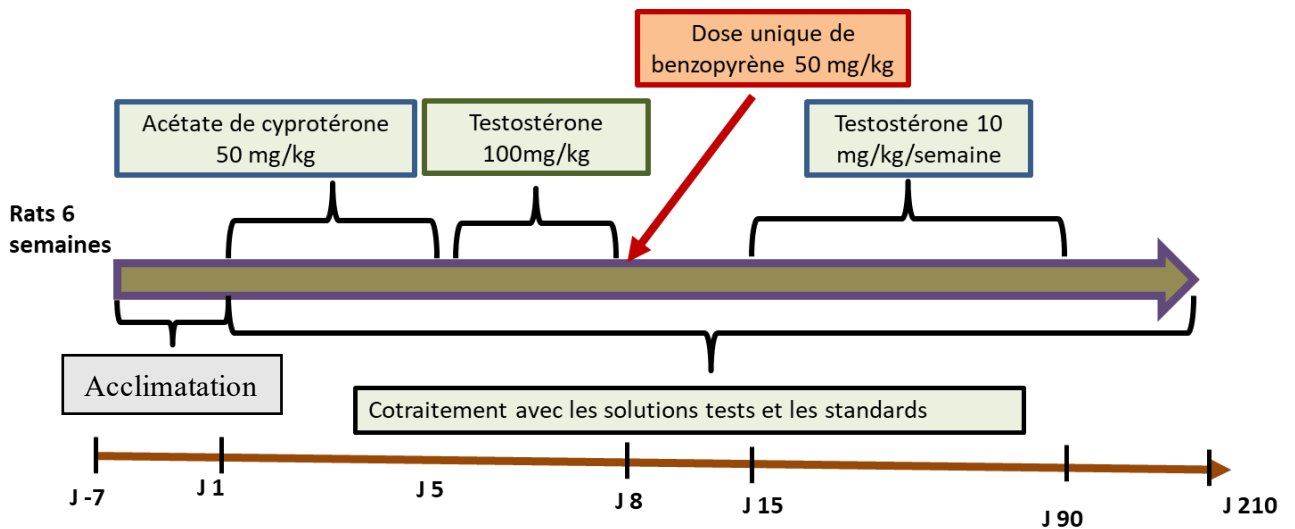


Figure 13: Représentation schématique du protocole d'induction du cancer de la prostate chez le rat.

❖ Procédure expérimentale

Cette expérience avait pour but d'évaluer les effets protecteurs de l'huile des graines de *C. sativus* sur un modèle de cancer de la prostate induit par le B(a)P. Pour ce faire, 56 rats âgés de 5 semaines ont été acclimatés pendant une semaine et répartis-en 7 groupes de 8 animaux chacun (Tableau IV). Les deux premiers groupes servaient de témoin normal et négatif et étaient traités avec de l'huile de maïs par voie orale. Le troisième groupe servait de témoin positif et était traité avec le Casodex à la dose de 13,5 mg/kg PC par voie orale. Les quatre groupes essais recevaient l'huile de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg ainsi que l'extrait total à la dose de 500 mg/kg PC. Les animaux étaient pesés chaque semaine, palpés deux fois par semaine et l'incidence des tumeurs a été mesurée.

Tableau IV: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés dans le test de chimioprévention contre le CaP

Groupes	Nombre de rats	Produits administrés
NOR	8	Huile de maïs
B(a)P	8	AC + TESTO + B(a)P + Huile de maïs
CSX	8	AC + TESTO + B(a)P + CASO

CS-h 42,5	8	AC + TESTO + B(a)P + CS-h 42,5
CS-h 85	8	AC + TESTO + B(a)P + CS-h 85
CS-h 170	8	AC + TESTO + B(a)P + CS-h170
CS 500	8	AC + TESTO + B(a)P + CS 500

NOR = rats normaux ; NEG = rats témoins négatifs ; B(a)P = Benzopyrène ; TESTO = Testostérone (Androtardyl) ; AC = Acétate de cyprotérone ; CASO = Casodex ; CS-h = Huile extraite des graines de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* crue.

❖ **Sacrifice des animaux**

Le traitement a duré 32 semaines à l'issue duquel les rats des différents groupes ont été sacrifiés par décapitation sous anesthésie au Diazepam (10 mg/kg) et à la kétamine (50 mg/kg). Le sang artéro-veineux a été immédiatement collecté dans des tubes secs et centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 minutes. Le surnageant recueilli a été transféré dans des micro-tubes et conservé à -20°C pour les analyses biochimiques. Tous les organes ont été prélevés et pesés. Les organes de toxicité (foie, reins, poumons) ainsi que les testicules et la prostate ont été fixés dans du formol 10% pour analyse histologique. Une partie de la prostate a été pesée, homogénéisée et centrifugée. Le surnageant a été recueilli pour les dosages biochimiques. En plus des paramètres suscités, le sang artéro-veineux a été immédiatement recueilli dans les tubes à héparine pour la numération formule sanguine. Une autre quantité a été recueillie dans les tubes secs, centrifugée à 3000 tours/min pendant 15 minutes et conservé à -20°C pour le dosage du marqueur du cancer à l'instar du PSA ainsi que les paramètres de la toxicité à l'instar de l'ALAT, l'ASAT, la créatinine et l'urée.

La masse relative de chaque organe a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Masse relative (\%)} = \text{masse de l'organe (g)} / \text{masse corporelle (g)} \times 100$$

L'incidence tumorale et la charge tumorale totale qui correspondent respectivement au pourcentage d'animaux atteints dans un groupe et à la masse totale des tumeurs des animaux d'un groupe ont été calculées.

Le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale ou de la masse tumorale d'un groupe a été calculé en utilisant la formule décrite par (Zingué *et al.*, 2021) : **% d'inhibition = (charge tumorale chez le témoin négatif - charge tumorale chez les groupes tests) × 100 / charge tumorale chez le témoin négatif**

II.2.6- Evaluation des mécanismes d'action cellulaires des graines de *C. sativus*

II.2.6.1- Evaluation des mécanismes d'action cellulaires *in vitro* de l'huile des graines de *C. sativus*

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la formation des clones cancéreuses**

Les cellules DU 145 ont étéensemencées dans des microplaques à 6 puits à une densité de 500 cellules/puit et exposées à *C. sativus* ou au docétacel (médicament de référence dans le

traitement du cancer de la prostate) aux concentrations de 50 et 100 µg/mL pendant 24 h. Le milieu de culture (RPMI 1640) a été remplacé par un milieu sans extrait et les cellules ont été cultivées pendant 7 jours. Seules les colonies comportant plus de 50 cellules ont été considérées. Chaque expérience a été réalisée en triplicat et répétée 3 fois (Zingue *et al.*, 2020).

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur les mécanismes de mort cellulaire**

Le type de mort cellulaire (nécrose ou apoptose) a été évalué à l'aide du kit de détection de l'apoptose Annexine V-FITC par cytométrie de flux. L'expression de l'Annexine V/iodure de propidium (IP) a permis de vérifier si la croissance des cellules tumorales était altérée ou réduite en raison de l'apoptose. Les cellules DU 145 ont été incubées avec l'huile de *C. sativus* à 50 et 100 µg/mL ou le véhicule (DMSO 0,01%) pendant 24 h. Ensuite, les cellules ont été lavées deux fois avec du tampon phosphate (PBS) et incubées avec 5 µL d'Annexin V-FITC et 5 µL d'iodure de propidium dans l'obscurité pendant 15 min à température ambiante. Les cellules ont ensuite été analysées par cytométrie en flux à l'aide de l'appareil de marque FACScalibur (BD Biosciences, Heidelberg, Allemagne). Le nombre de cellules apoptotiques (précoces et tardives), nécrotiques et viables a été exprimé en % (Zingue *et al.*, 2020).

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la migration cellulaire**

Ce test a été réalisé pour évaluer la capacité de *C. sativus* à inhiber la migration des cellules DU 145 en utilisant la méthode d'induction d'une plaie. Brièvement, les cellules DU 145 ont étéensemencées sur des plaques de 12 puits à raison de 2×10^5 cellules/puit et incubées pendant 24 heures avec l'huile de *C. sativus* à 50 et 100 µg/mL ou avec le véhicule (DMSO) pour témoin. En outre, le milieu de culture a été retiré et une plaie a été créée à l'aide d'un embout de pipette de type P200, puis lavée deux fois avec du tampon PBS pour éliminer les cellules détachées mécaniquement. Les cellules ont ensuite été maintenues dans du RPMI 1640 pendant 48h. La migration cellulaire et l'occupation relative de la zone blessée par les cellules en migration a été enregistrée sous un microscope inversé (40×) Zeiss Axio Observer.Z1 (Hallbermoos, Allemagne). Des microphotographies ont été réalisées toutes les 12 h et la zone de cicatrisation a été évaluée par le logiciel ImageJ[®]. Chaque expérience a été répétée trois fois.

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'adhésion des cellules à la matrice extracellulaire**

Les plaques de 6 puits ont été recouvertes toute la nuit avec du collagène ou de la fibronectine, qui sont des composants de la matrice extracellulaire. Ensuite, l'huile de *C. sativus* a été ajoutée aux concentrations de 50 et 100 µg/mL ou le véhicule (DMSO) pour les cellules contrôles pendant 1 h sur les plaques. Pour éviter les adhésions cellulaires non spécifiques, les plaques ont été lavées avec de l'albumine de sérum bovin (BSA) à 1% dans du PBS. Ensuite, les

cellules cancéreuses prostatiques DU 145 ont été ajoutées à une densité de $0,5 \times 10^6$ dans chaque puit pendant 60 minutes. Par la suite, les cellules tumorales non adhérentes ont été lavées. Les cellules adhérentes ont été fixées avec 2% de glutaraldéhyde et comptées dans cinq champs différents à l'aide d'un microscope optique à l'objectif $20 \times$ pour calculer le taux d'adhésion cellulaire moyen (Zingue *et al.*, 2020).

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* dans le test de chimiotaxie**

Le but de ce test était d'évaluer la capacité des cellules cancéreuses DU 145 à migrer en réponse à des signaux chimio-attractants. Pour ce faire, les chambres de Boyden à 6 puits avec des pores de $8 \mu\text{m}$ de taille ont été remplies de 500 000 cellules DU145 pendant 24 h dans un milieu sans sérum, tandis que la chambre inférieure contenait du milieu IMDM plus 10 % de FBS ("*Fetal Bovine Serum*"). Après incubation, la surface supérieure de la membrane de Boyden a été délicatement nettoyée à l'aide d'un coton-tige pour éliminer les cellules n'ayant pas migrées et fixée avec du glutaraldéhyde à 2%. Les cellules ayant migrées vers la surface inférieure de la membrane ont été colorées à l'hématoxyline et comptées séparément au microscope (objectif $20 \times$). Les chambres de Boyden utilisées dans cette expérience provenaient de Greiner (Frickenhausen, Allemagne).

❖ **Evaluation des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'expression des intégrines β -1 et β -4**

Ce test a été réalisé pour évaluer la capacité de *C. sativus* à inhiber l'expression des intégrines β -1 et β -4, protéines membranaires exprimées à la surface des cellules cancéreuses prostatiques DU 145, intervenant dans l'adhésion, la migration et la signalisation cellulaire. Techniquement, les cellules DU145 ont été incubées avec de l'huile de graines de *C. sativus* pendant 24 h. Après incubation, les cellules ont été traitées avec $0,5 \mu\text{g}$ des solutions d'anticorps anti- β 1 (IgG1 ; clone MAR4) et anti- β 4 (IgG2b ; clone 439-9B) puis incubées à température ambiante pendant une heure et lavées. L'expression des intégrines a été mesurée à l'aide d'un cytomètre de flux FACScan (BD Biosciences, Heidelberg ; analyse de l'histogramme du canal FL-2H (log) ; 1×10^4 cellules/scan) et exprimée en unités de fluorescence moyenne. Les IgG1-PE de souris (MOPC-21) et les IgG2b-PE de rat (R35-38) ont été utilisés comme contrôles pour l'intégrine- β 1 et l'intégrine- β 4, respectivement. Tous les anticorps utilisés dans cette expérience provenaient de BD Pharmingen (Heidelberg, Allemagne).

II.2.6.2. Evaluation des modes d'action cellulaires des graines de *C. sativus*

i- Evaluation de l'activité anti-androgénique des graines de *C. sativus*

Cette expérience a été réalisée suivant le protocole de la ligne directrice 441 de l'OCDE. Pour ce faire, 36 rats âgés de six semaines ont été acclimatés puis castrés, excepté le groupe témoin normal. Après une semaine de déplétion hormonale, ils ont été répartis en 6 groupes de 6 animaux

chacun (Tableau V). Un groupe témoin normal qui recevait la substance de dilution (eau distillée) *PO* et de l'huile de maïs par voie *SC*. Le groupe témoin négatif recevait de l'eau distillée *PO* et la testostérone par voie sous cutanée. Le troisième groupe servait de témoin positif et recevait le flutamide à la dose de 3 mg/kg-PC/j *PO* et la testostérone par voie *SC* (0,4 mg/kg PC/jour). Les quatre groupes tests recevaient l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5 ; 85 et 170 mg/kg et l'extrait total à la dose de 500 mg/kg PC *PO* et la testostérone par voie *SC*. Le traitement a duré 10 jours à l'issue duquel les animaux ont été sacrifiés par décapitation. La prostate ventrale, les vésicules séminales, le gland ainsi que le gland de tyson ont été immédiatement prélevés, débarrassés de la graisse et pesés.

Tableau V: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés lors de l'évaluation des effets antiandrogéniques de l'huile des graines de *C. sativus*

Groupes	Nombre de rats	Produit administré et voie d'administration
NOR	6	Eau distillée (po) + Huile de maïs (sc)
TESTO	6	Eau distillée (po) + TESTO (sc)
FLU	6	Flutamide (po) + TESTO (sc)
CS-h 42,5	6	CS-h + TESTO (sc)
CS-h 85	6	CS-h + TESTO (sc)
CS-h 170	6	CS-h + TESTO (sc)
CS 500	6	CS + TESTO (sc)

TESTO = Testostérone ; CS-h = Huile de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* cru.

ii- Evaluation de l'activité œstrogénique des graines de *C. sativus*

L'activité oestrogénique a été évalué comme possible mode d'action de *C. sativus* et réalisé suivant le protocole modifié de Jasem et Tawfeek (2020). Pour ce faire, 45 rats mâles âgés de 2 mois ont été acclimatés et répartis en 8 groupes de 5 animaux chacun traités comme suit : le premier groupe recevait le véhicule (huile de maïs) ; le deuxième groupe était traité avec un antiœstrogène pur, ICI 182,780 (faslodex) à la dose de 300 µg/kg PC, le troisième groupe recevait l'œstradiol Valérate (E₂V) à la dose de 400 µg/kg ; le quatrième lot recevait concomitamment l'E₂V et le letrozole aux doses sus-cités. Les quatre derniers groupes recevaient l'huile des graines de *C. sativus* (CSh) aux doses respectives 42,5, 85 et 170 mg/kg ainsi que le total des extraits (CS) à la dose de 500 mg/kg concomitamment avec l'E₂V et le letrozole aux doses sus-cités. Les traitements se sont faits *PO* et ont duré 30 jours à l'issue desquels les animaux ont été sacrifiés. Les organes androgéno-dépendants tels que la prostate, l'épididyme, les vésicules séminales, les testicules, le canal déférent, et le pénis ont été prélevés (Tableau VI).

Tableau VI: Répartition des groupes d'animaux en fonction des produits administrés lors de l'évaluation des effets oestrogéniques de l'huile des graines de *C. sativus*

Groupes	Nombre de rats	Produit administré et voie d'administration
---------	----------------	---

NOR	5	Huile de maïs
ICI	5	ICI + E ₂ V
LETRO	5	Letrozole
LETRO+E ₂ V	5	Letrozole + E ₂ V
CS-h 42,5	5	CS-h + Letrozole+E ₂ V
CS-h 85	5	CS-h + Letrozole+E ₂ V
CS-h 170	5	CS-h + Letrozole+E ₂ V
CS 500	5	CS + Letrozole+E ₂ V

TESTO = Testostérone ; CS-h = Huile de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* cru.

iii- Evaluation des activités antioxydantes *in vitro* des graines de *C. sativus*

❖ Test de réduction du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Principe

Le test DPPH mesure l'activité antioxydante des composés capables de transférer des atomes d'Hydrogène. Le principe repose sur la capacité de l'antioxydant présent dans l'échantillon à neutraliser le radical libre DPPH⁺. Lorsque le DPPH⁺ réagit avec un antioxydant, il change de couleur de violet-foncé à jaune-pale, ce qui peut être mesuré spectrophotométriquement pour quantifier l'activité antioxydante de l'échantillon à un maximum d'absorbance à 517 nm.

Mode opératoire

Dans une microplaque de 96 puits ont été introduits 100 µL d'échantillon à une concentration initiale de 5 mg/mL puis 7 dilutions successives ont été réalisées. Ensuite 100 µL de la solution de DPPH ont été ajoutés dans chaque puit. Le blanc était constitué de 100 µL d'échantillons et 100 µL de méthanol (solvant de dilution du DPPH). Le contrôle était constitué du solvant de dilution de l'échantillon puis de la solution de DPPH. Tous les tests ont été réalisés en triplicata puis l'absorbance a été lu à 517 nm dans un lecteur de microplaque après 1h. Les résultats ont été exprimés sous forme de CI₅₀ (concentration à laquelle 50% des radicaux libres ont été piégés). %I = (Abs control - Abs Echantillon) / Abs control*100; Abs Echantillon = (Abs test - Abs blanc) / Abs test.

❖ Test de réduction du radical ABTS⁺

Principe

En réagissant avec le persulfate de sodium (K₂S₂O₈), l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline -6-sulfonique acide) (ABTS) forme le radical ABTS⁺, de couleur bleu verte. L'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du radical qui est mesurée

par spectrophotométrie à 734 nm. La décoloration est proportionnelle à la concentration en antioxydants. La méthode est généralement standardisée par rapport au Trolox.

Mode opératoire de la méthode de radical ABTS

Dans une microplaque de 96 puits, ont été introduits 100 µL d'échantillon de concentration initiale 1 mg/mL. Après 7 dilutions successives, 100 µL de solution d'ABTS ont été introduits dans les puits. Le blanc était constitué de 100 µL d'échantillon et 100 µL d'éthanol (solvant de dilution de l'ABTS). Le control était constitué de 100 µL de solvant de dilution de l'échantillon et 100 µL de solution ABTS. Tous les tests ont été réalisés en triplicata. L'absorbance a été lu à 734 nm dans un lecteur de microplaque après 60 minutes. Les résultats ont été exprimés sous forme de mg équivalent de trolox par gramme de matière.

❖ Capacité antioxydante totale

Principe

En milieu acide et en présence d'agents réducteurs, le molybdate d'ammonium réagit pour former un complexe vert de phosphomolybdate 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

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 90 min. Ensuite l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre le blanc. La capacité antioxydante totale de l'huile et de l'extrait des graines totales 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.

II.2.7- Chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à la spectrométrie de masse de l'huile des graines de *C. sativus*

La technique de chromatographie GC-MS est la meilleure technique utilisée pour la séparation et l'identification des composés chimiques organiques ; ceci grâce à la spectroscopie de masse.

Principe

Cette méthode est basée sur la séparation des composés en fonction de leur température de volatilisation suivie de leur entraînement par le gaz vecteur vers le système de spectrométrie de masse où ils seront fragmentés par ionisation. Les différents fragments sont enregistrés sous la

forme d'un spectre de masse en fonction de leur poids moléculaire. La reconstitution de ces fragments permet de déterminer la structure chimique du composé.

Préparation de la solution stock

Pour la préparation de la solution stock, 0,1 g d'extrait a été pesé, introduit dans un tube conique, dissout dans 5 ml d'acétone et passé au vortex afin d'avoir une solution homogène. Le mélange a été passé dans une centrifugeuse à 4500 tours/ min pendant 5 minutes. Le surnageant a été introduit dans des tubes HPLC pour se rassurer d'avoir un extrait bien limpide, ensuite les échantillons ont été préparés pour l'injection.

Description de l'appareil utilisé

La GC-MS a été faite sur un chromatographe. Une solution d'extrait a été introduite et vaporisée au niveau de l'injecteur de type SPLITLESS. Le détecteur était un spectromètre de masse de type Agilent Technologies 5975C VL MSD. Les conditions opératoires étaient les suivantes une température de l'injecteur (300°C), température du détecteur : 200°C, température et la vitesse du four programmé lors de la manipulation et le gaz vecteur était de l'hélium qui est un gaz neutre avec un débit de 0,8mL/min. L'enregistreur était un logiciel de type « MSD CHEMSTATION G1701EA E.02.02.1431 » et la base de données pour la comparaison des résultats de type « NIST MS SEARCH 2.2».

Description de la méthode

- La première étape a consisté à injecter l'échantillon contenus dans les tubes HPLC dans le portoir d'injection du chromatographe. Chaque échantillon (1 µL) a été prélevé grâce à une micro seringue. Au niveau de l'injecteur, la machine a procédé à une série de lavage avec les solvants puis avec l'échantillon avant le prélèvement les différents échantillons. Après injection, la seringue est à nouveau nettoyée avec le solvant. Le 1^{er} échantillon prélevé est la solution étalon qui est ici l'acétone et il est injecté avec force dans la colonne. L'échantillon est ensuite injecté à une température de 300°C, une vitesse de 0,8ml/min et une pression de 5,8 Pa. Il est ensuite vaporisé et mélangé au gaz vecteur qui est l'hélium et ce mélange est entraîné dans le four.
- Au niveau du four, une température dans l'intervalle 50 - 200°C à une vitesse du four à 5°C/min a été enregistrée puis le moniteur a été réglé à 200°C pendant 7 minutes. Après ce temps, on est passé à l'intervalle 200-280°C à une vitesse du four de 20°C/min. A 280°C, on a maintenu pendant 4 minutes pour un temps total de 45 min. Les composés ont été entraînés dans le four en fonction de l'affinité entre la phase stationnaire et la phase mobile (hélium) et une fois séparés, ceux- ci ont été amenés au détecteur un à un.
- Au niveau du détecteur (spectrophotomètre de masse) : la sortie de la phase mobile est caractérisée par un bombardement et les molécules vont s'ioniser et avoir une charge. Le détecteur va donc détecter la charge et le poids moléculaire de la substance et puis faire le ratio

qui va donner la nature du composé et comparé avec la base de données présents dans la machine. Un signal est envoyé sous forme de pic dans le moniteur. Dans les mêmes conditions, chaque échantillon a un temps de rétention bien précis donné par la machine sous forme de pic. Le temps écoulé entre l'éluion et l'injection est appelé temps de rétention.

II.2.8- Evaluation de la toxicité aiguë et du profil toxicologique de l'huile et des graines de *C. sativus*

II.2.8.1- Evaluation de la toxicité aiguë

L'essai de toxicité a été mené suivant la méthode d'ajustement des doses de la ligne 425 de l'OCDE (OCDE, 2022). L'essai a été réalisé sur 24 rats femelles de souche Wistar et leur comportement a été observé ainsi que le nombre de décès sur une période de 14 jours (Figure 14). Après 12 h de jeûne, elles ont été réparties de la façon suivante : un groupe témoin constitué de 3 femelles et recevant de l'eau distillée à la dose de 10 mL/kg ; trois groupes expérimentaux constitués chacun de 3 femelles recevant respectivement l'huile, du tourteau et du totum des graines de *C. sativus* PO à la dose 2000 mg/kg.

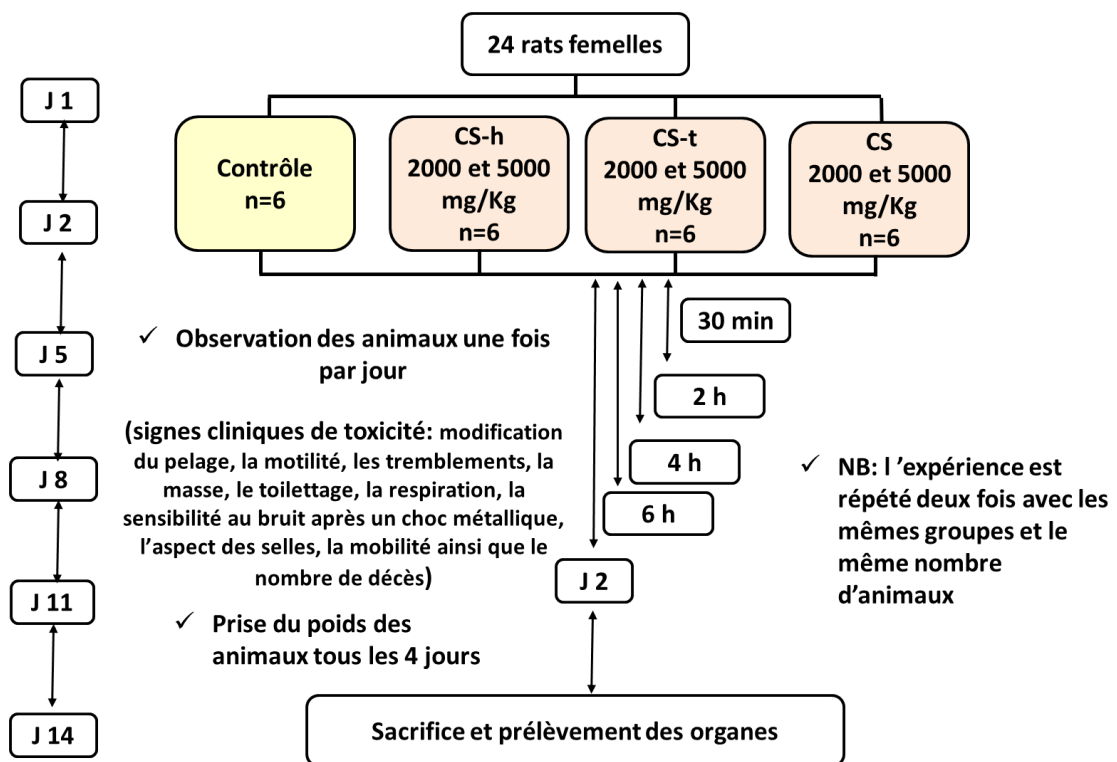


Figure 14: Représentation schématique du protocole d'évaluation de la toxicité aiguë de *C. sativus*. CS-h = Huile de *C. sativus* ; CS-t = tourteau de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* cru

L'expérimentation a été répétée une fois avec ces mêmes extraits à la dose de 5000 mg/kg. Une observation comportementale a été réalisée 3 h après administration des substances. Les animaux ont reçu de l'eau et une alimentation normale pendant la période d'expérimentation. Pendant cette même période, les signes de toxicité notamment la modification du pelage, la motilité,

les tremblements, la masse, le toilettage, la respiration, la sensibilité au bruit après un choc métallique, l'aspect des selles, la mobilité ainsi que le nombre de décès ont été notés. Les expérimentations ont été répétées une fois dans le but de confirmer les effets observés.

II.2.8.2- Evaluation de la toxicité des doses répétées pendant le test pharmacologique

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'innocuité des graines et de l'huile de ces graines de *C. sativus* sur une longue période de consommation. Nous disposions de 18 animaux mâles qui, après acclimatation ont été répartis en 3 groupes de 6 animaux chacun : un contrôle normal qui recevaient de l'huile de maïs *PO* ainsi que deux groupes tests qui recevaient respectivement la solution des graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg et l'huile de ces graines à la dose de 170 mg/kg PC (Figure 15).

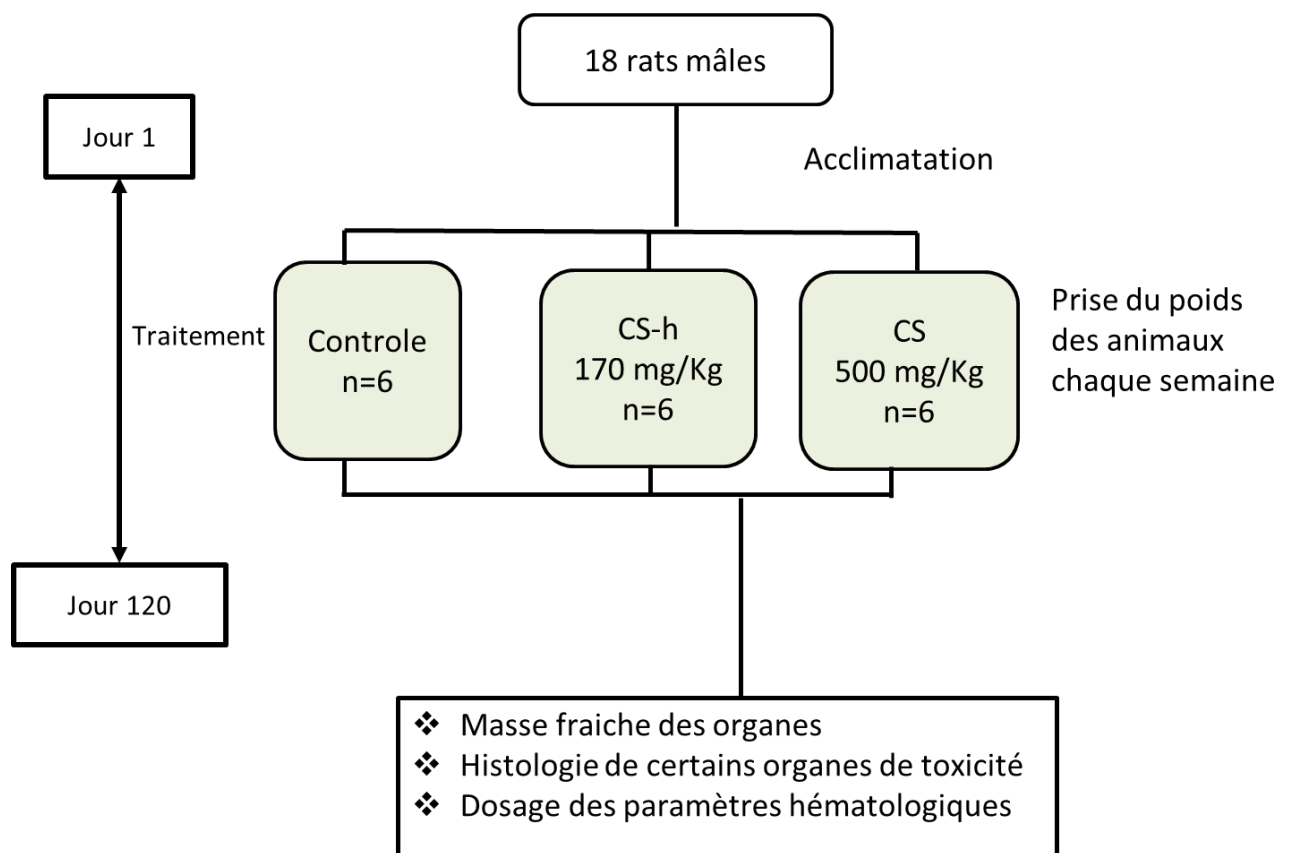


Figure 15: Représentation schématique du protocole d'évaluation de la toxicité des doses répétées de *C. sativus*.

CS-h = Huile de *C. sativus* ; CS-t = tourteau de *C. sativus* ; CS = *C. sativus* cru.

Le traitement a duré trois mois à l'issue duquel les animaux ont été sacrifiés. Les organes androgéno-dépendants tels que la prostate, les vésicules séminales, l'épididyme, les testicules ainsi que d'autres organes d'intérêt ont été prélevés, pesés et fixés dans du formol 10% pour analyse histologique. Une partie du sang a été recueillie dans les tubes héparinés pour la numération formule

sanguine. Une autre partie a été recueillie dans les tubes secs, centrifugée à 3000 tours/min pendant 15 minutes et le sérum conservé à - 20°C pour les dosages des paramètres toxicologiques.

II.2.9- Analyse histologique

La technique histologique est la technique de préparation des tissus/organes en vue de leur observation au microscope. La technique histologique utilisée dans ce travail est celle décrite par Cannet (2006) ; elle consiste en :

❖ La fixation

La fixation est la première étape et la base de la préparation des tissus en vue de leur observation au microscope. L'objectif de la fixation est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. La fixation doit aussi permettre au tissu de passer par les étapes de la technique histologique sans changements, ni déformations en insolubilisant les composants cellulaires et en augmentant le potentiel tinctorial des différents constituants cellulaires. Dans cette étude, le formol 10% a été utilisé pour fixer les organes prélevés parce que ce dernier pénètre très rapidement les tissus (Cannet, 2006).

❖ La macroscopie

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

❖ La déshydratation

La déshydratation, aussi appelé « circulation » comporte trois étapes : la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- La déshydratation proprement dite

Une fois fixés, les organes devant être inclus dans la paraffine pour être coupés en tranches fines de l'ordre de quelques micromètres, ont été débarrassés de toute trace d'eau. Pour ce procédé, 6 bacs d'alcool, à raison de deux heures dans chaque bac, ont été utilisés dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 70%, 1 bac d'éthanol à 80%, 2 bacs d'éthanol à 95%, et 2 bacs d'alcool absolu (éthanol à 100%).

- L'éclaircissement

L'éclaircissement est la seconde étape de la déshydratation et 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 tels que le xylène ou le toluène. Après déshydratation, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène (2 x 2 h).

- L'imprégnation

L'imprégnation consiste au remplacement de l'eau des cellules par la paraffine : les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4 heures (2 h x 2 bains) dans de la paraffine chaude (60°C) et liquide.

❖ L'inclusion

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

❖ La coupe

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

❖ La coloration

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

- Déparaffinage et réhydratation

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

- 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'eau distillée, d'eau lithiunée et d'eau acidifié, d'alcools à 80% et 95%, d'éosine alcoolique et enfin dans l'éthanol 95%. Ceci se faisait à des périodes variées comme l'indique le tableau VII.

Tableau VII: Étapes de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine

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

❖ Le montage

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

Les coupes des différents organes obtenues ont été observées et filmées à l'aide d'un microscope Zeiss relié à un ordinateur où les images sont transférées, éditées et analysées avec le logiciel YAIS. La taille des épithélia prostatiques a été exprimée en micromètre et déterminée sur les microphotographies au moyen d'un équipement complet consistant en un ordinateur comportant le logiciel Image J.

II.2.10- Evaluation de quelques paramètres biochimiques

II.2.10.1- Dosage de la « Prostatic Specific Antigen » (PSA)

❖ Principe

Ce dosage s'est effectué suivant la technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser le complexe antigène-anticorps formé (ELISA).

❖ Mode opératoire

Le PSA a été dosé suivant les consignes du kit Fortress Diagnostics Limited kit" (Delaware, USA). Les puits de microtitration ont été sensibilisés à l'aide d'un anticorps monoclonal (de souris) dirigé contre un site antigénique unique de la molécule de PSA. Dans chaque puits de la microplaque à 96 puits ont été introduits de façon appropriée 25 µL de chaque échantillon, standard ou contrôle puis incubé à température ambiante pendant 5 minutes. Ensuite, 100 µL d'un anticorps anti-PSA conjugué à de la peroxydase ajoutés et mélangés. Après 60 minutes d'incubation à température ambiante, les puits ont été rincés trois fois avec 400 µL d'eau distillée par puits. La solution de substrat (100 µL) a été ajoutée dans chaque puits puis incubée pendant 20 minutes avant l'ajout de 100 µL de solution d'arrêt dans chaque puits pour stopper la réaction colorimétrique.

La densité optique (DO) de la solution dans chaque puits a été lue à 450 nm. Les concentrations de PSA de rat dans les échantillons, qui sont proportionnelles aux valeurs des DO ont été calculées en comparant les valeurs de DO des échantillons avec la courbe standard (Voir annexe 2).

II.2.10.2- Dosage des protéines totales

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

❖ Principe

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

❖ Mode opératoire

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

Tableau VIII: Protocole de dosage des protéines totales prostatiques par la méthode de Bradford

N° des tubes	0	1	2	3	4	5	6	Xn
	Blanc			Etalon				
BSA (µg/mL)	0	15	30	45	60	75	90	/
Tampon Phosphate (pH=7,5)	50	485	470	455	440	425	410	/
Bradford (µL)	450	500	500	500	500	500	500	450
Homogénats (µL)	0	0	0	0	0	0	0	50

Le blanc a été préparé en parallèle avec 500 µL du réactif de Bradford et 500 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH : 7,5). Le "Sérum Albumine Bovin" (BSA) aux concentrations 0, 20 ; 40 ; 60 ; 80 et 100 µg/mL a été utilisé comme étalon. La courbe d'étalonnage (Annexe 3) a été réalisée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons avec la concentration en BSA. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée en se servant de la courbe d'étalonnage (Annexe 3).

II.2.10.3. Dosage de quelques marqueurs de statut oxydatif

i) Dosage d'un marqueur de la peroxydation lipidique : malondialdéhyde (MDA)

❖ Principe

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

Dans des tubes à essai en verre ont été introduits 83 μL d'échantillon et 167 μL de réactif TBA puis fermés hermétiquement. Le mélange a été chauffé au bain-marie à 100 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes, les tubes ont été ouverts permettant l'évacuation des gaz formés lors de la réaction puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes. L'absorbance du surnageant a été lue à 532 nm à l'aide du spectrophotomètre de marque Genesis (Gesvrine, France). La concentration du MDA a été déterminée en utilisant son coefficient d'extinction moléculaire.

❖ Expression des résultats

La concentration du malondialdéhyde exprimée en mol/g de tissu a été calculée grâce au rapport suivant :

$$[\text{MDA}] (\text{mol/g}) = \text{DO} / \epsilon \times l \times m$$

où DO = densité optique ; l = longueur de la cuve = 1 cm ; ϵ = coefficient d'extinction molaire = $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; m = Masse de l'organe (g).

ii) Dosage du glutathion réduit

La détermination de l'activité du glutathion réduit a été effectuée selon la méthode décrite par Ellman (1959).

❖ Principe

L'acide 2,2'-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion pour former un complexe coloré jaune qui absorbe à 412 nm.

❖ Mode opératoire

Cinq cents microlitres du réactif d'Ellman ont été ajoutés dans des tubes contenant 40 μL d'homogénats et 40 μL de tampon Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4) (tube blanc). Les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex puis incubés à 37°C pendant 60 minutes. Les absorbances ont été lues à 412 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

❖ Expression des résultats

La concentration du glutathion réduit exprimée en mol/g de tissu a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire grâce au rapport suivant :

$$[\text{GSH}] (\text{mol/L}) = \text{DO} / \epsilon \times l \times m$$

où DO = densité optique de la solution étudiée ; l = longueur de la cuve = 1 cm ; ϵ = coefficient d'extinction molaire = $13600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; m = Masse de l'organe (g).

iii- Détermination de l'activité de la catalase

La détermination de l'activité de la catalase a été effectuée selon la méthode décrite par Sinha (1972).

❖ Principe

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase et se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu-vert d'acide perchlorique instable. Ce dernier sera ensuite

décomposé par la chaleur pour former un complexe vert qui absorbe à la longueur d'onde de 570 nm selon l'équation :

❖ Mode opératoire

Les tubes ont été remplis selon le protocole décrit dans le tableau IX pour le tracé de la courbe d'étalonnage de la catalase. La quantité de peroxyde d'hydrogène a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage. Cette dernière a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂ (Annexe 4).

Tableau IX: Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

Tubes	0	1	2	3	4	5	X1...Xn	
Eau distillée	50	-	-	-	-	-	-	
Échantillon (µL)	-	-	-	-	-	50	50	
Tampon phosphate (0,1mM ; pH7,5) (µL)	750	-	-	-	-	750	750	
Volume de H ₂ O ₂ (50mM) (µL)	200	0	20	40	80	160	200	
Les tubes ont été laissés à incuber à 25 °C pendant 1 minute								
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (µL)	2000	2000	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 refroidit à 25°C								
Eau distillée (µL)	-	1000	980	960	920	840	-	
Concentration de H ₂ O ₂ (mM)	-	0	2	4	8	16	-	
Absorbances obtenues	-	0	0,00	0,01	0,02	0,05	-	
			7	4	5	2		

Dans chaque tube à essai, 50 µL d'échantillon à analyser (homogénat) et 700 µL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,5) ont été introduits. Le chronomètre a été déclenché après ajout de 200 µL de solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (50 mM). La réaction a été arrêtée une minute plus tard par ajout de 2 mL de la solution de dichromate de potassium/acide acétique. Dans le tube témoin, il a été introduit 800 µL de tampon phosphate (0,1M, pH 7,5). L'ensemble des tubes a été chauffé à 100 °C pendant 10 min et après refroidissement, la densité optique a été lue à 620 nm.

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

Act CAT = ΔDO/a x t x m où Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g d'organes); **ΔDO = DO essai - DO blanc** ; a = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0038); t = durée de la réaction (1 minute); m = Masse de l'organe (g).

iv- Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

La détermination de l'activité de la superoxyde dismutase a été effectuée suivant la méthode décrite par Misra et Fridovich (1972).

❖ Principe

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. L'activité spécifique de la SOD a été déterminée à partir de la formule suivante : $2O^{\cdot-}_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$.

❖ Mode opératoire

Un volume de 0,3 mL d'adrénaline fraîchement préparé dans le mélange tampon-échantillon a été ajouté à 0,2 mL d'échantillon et 2,5 mL de carbonate de sodium (0,05 M ; pH 10,2) contenu au préalable dans les tubes à essai. Après mélange, la densité optique a été lue à 480 nm toutes les 30 secondes pendant 120 secondes. La cuve de référence contenait 2,5 mL de tampon, 0,3 mL de substrat adrénaline et 0,2 mL d'eau distillée.

Une unité de SOD est la quantité de SOD nécessaire pour entraîner 50% d'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute. L'activité de la SOD a été calculée comme suit : % 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) où ΔA_{essai} = Variation de l'absorbance de l'échantillon ; ΔA_{blanc} = Variation de l'absorbance du blanc ; f = facteur de dilution.

v- Dosage des nitrites

❖ Principe

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. La coloration est proportionnelle à la quantité de nitrites présente dans l'échantillon (Fermor *et al.*, 2001).

❖ Mode opératoire

Les tubes ont été remplis suivant le protocole de dosage des nitrites est décrit dans le Tableau X.

Tableau X: Protocole du dosage des nitrites

	Blanc	Etalons						Echantillons
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X ₁X ₂
Concentration de NaNO ₂ (µM)	0	0,03	0,06	0,12	0,25	0,50	1	-
Volume de NaNO ₂ (µL)	-	100	100	100	100	100	100	-
Echantillon (µL)	-	-	-	-	-	-	-	100
Eau distillée (µL)	500	400	400	400	400	400	400	400
Réactif de Griess (µL)	500	500	500	500	500	500	500	500
Absorbances obtenues	0	0,06	0,13	0,22	0,45	1,02	2,05	-

Les étalons (tubes 1 à 6) ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage (Annexe 5). La concentration des nitrites a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 2,0355x$.

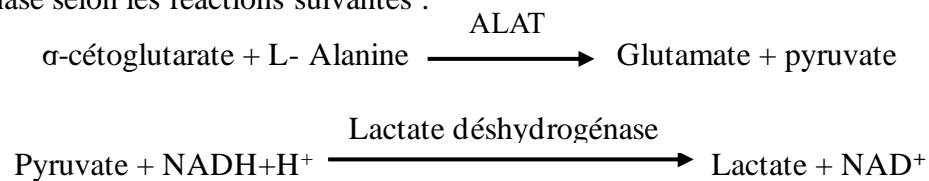
II.2.10.4- Dosage de quelques marqueurs de la fonction hépatique et rénale

i- Dosage Alanine aminotransférase (ALAT)

Le dosage s'est réalisé suivant les instructions du kit cypress diagnostics (Belgique).

❖ Principe

Il est basé sur la mesure cinétique de l'alanine aminotransférase sérique dans un système réactionnel dont la finalité est l'oxydation du coenzyme NADH, H⁺. L'ALAT catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'α-cétoglutarate en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique. L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique et NAD⁺ par la lactate déshydrogénase selon les réactions suivantes :



Le taux de diminution de la concentration de NADH mesuré photométriquement est proportionnel à la concentration de l'ALAT présente dans l'échantillon (Murray, 1989).

❖ Mode opératoire :

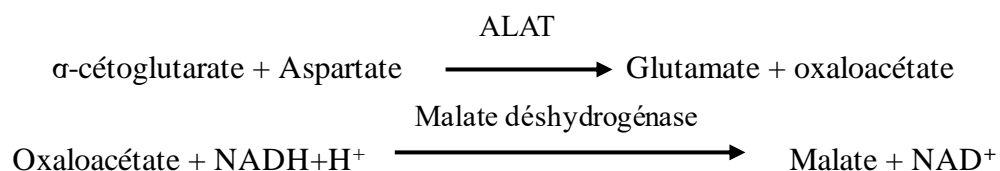
Pour la préparation du réactif de travail, des volumes égaux d'enzyme et de tampon ont été bien mélangés. La solution enzymatique a été préparée en mélangeant 0,18 mmol/L de NADH, 600 U/L de malate dehydrogenase et 12 mmol/L d'oxoglutarate. Le tampon a été préparé en mélangeant 0,18 mmol/L d'aspartate et 80 mmol/L de tampon tris pH 7,8. Un mL de réactif de travail a été pipeté et mélangé avec 0,1 mL d'échantillon. Après une minute d'incubation à 37°C, l'absorbance initiale a été lue à 340 nm. L'absorbance a été lue toutes les minutes pendant 3 min. L'activité de l'ALAT a été quantifiée grâce à cette formule : $\text{GPT(ALT)(U/L)} = \Delta\text{Abs. /min} \times 1746$.

ii- Dosage de l'Aspartate aminotransférase (ASAT)

Le dosage s'est réalisé suivant les instructions du kit cypress diagnostics (Belgique).

❖ Principe

L'ASAT catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate à l'α-cétoglutarate en formant l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique. L'acide oxaloacétique produit est réduit en malate par la malate déshydrogénase et NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de diminution de la concentration de NADH mesuré photométriquement est proportionnel à la concentration de l'ASAT présente dans l'échantillon (Murray, 1984a).

Le mode opératoire ainsi que l'activité de l'ALAT ont été déterminés comme précédemment décrit pour le cas de l'ASAT.

iii- Dosage de la créatinine

Ce dosage s'est fait suivant les instructions du kit cypress diagnostics (Langdorp Belgique).

❖ Principe

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium. En effet, la créatinine réagit avec le picrate de sodium alcalin formant un complexe rouge. La différence d'absorbance à des moments prédéterminés pendant la conservation est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984b).

❖ Mode opératoire

Dans un tube à essai, 100 µL de sérum ont été ajoutés à 1 mL de la solution de travail (obtenu par mélange d'une solution de 0,1 g de picrate de sodium et d'une solution de 0,8 g de NaOH) en déclenchant simultanément le chronomètre. Le tube a été agité par inversion et le contenu versé dans une cuve de lecture. L'absorbance initiale a été lue à 520 nm au spectrophotomètre de marque Genesis (Gesvrine, France) contre le blanc à 20 s puis à 80 s après stabilisation du mélange. La solution étalon de créatinine a été obtenue en dissolvant 1,76 mg de poudre de créatinine dans 1 mL d'eau distillée. La concentration en créatinine a été déterminée à partir de la formule suivante :
Concentration créatinine (mg/dL) = DO (échantillon) / DO (standard) × 1,76.

iv- Dosage de la bilirubine totale

❖ Principe

Il repose sur la réaction de la bilirubine avec une solution acide pour former un produit coloré. Dans une solution alcaline, la bilirubine forme en présence des sels d'acide sulphanilique diazoté, un composé coloré rouge (azo-bilirubine). Des deux fractions présentes dans le sérum (la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre), seule la bilirubine-glucuronide réagit avec la solution aqueuse alors que la bilirubine libre exige de la solubilisation avec du diméthylsulphoxyde (DMSO) avant de réagir. Un taux élevé de bilirubine traduit des dommages au niveau hépatocellulaire ou l'obstruction des canaux biliaires.

❖ Mode opératoire

Le protocole du dosage est décrit dans le tableau XI ci-dessus :

Tableau XI: Protocole de dosage de la bilirubine totale

	Blanc Echantillon	Echantillon	Blanc standard	Standard
Standard (µL)	-	-	20	20
Echantillon (µL)	20	20	-	-
Acide sulfanilique (µL)	1000	1000	1000	1000
Diazonium (µL)	-	200	-	200

Les préparations ont été homogénéisées et incubées pendant 10 min à une température comprise entre 15 et 25°C. L'absorbance des échantillons et du standard a été lue à 555 nm contre

le blanc réactif. Le calcul de la concentration de la bilirubine totale (mg/dL) s'est fait suivant la formule : Concentration Bilirubine ($\mu\text{mol/L}$) = $\text{DO}(\text{échantillon}) - \text{DO}(\text{Blanc échantillon}) / \text{DO}(\text{standard}) - \text{DO}(\text{Blanc standard}) \times 35$. La concentration du standard de bilirubine étant de 35 mg/dL.

v) Dosage de l'urée

L'urée représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie. C'est un des marqueurs du débit de filtration glomérulaire.

❖ Principe

En présence de l'uréase, l'urée est hydrolysée pour donner l'ammoniaque et le dioxyde de carbone. L'ammoniaque produite se combine avec le 2-oxoglutarate et le NADH en présence du glutamate déshydrogénase pour donner le glutamate et le NAD.

❖ Mode opératoire

Le contenu des tubes ayant permis d'évaluer la concentration en urée dans les différents échantillons a été obtenu selon le protocole de Kaplan (1984) décrit dans le tableau XII :

Tableau XII: Protocole de dosage de l'urée sérique

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (μL)	10	-	-
Standard (μL)	-	10	-
Echantillon (μL)	-	-	10
Tampon (μL)	1000	1000	1000
Uréase (goutte)	1	1	1
Hypochlorite (μL)	200	200	200

Le contenu a été mélangé, incubé pendant 5 minutes à température ambiante et l'absorbance lue au spectrophotomètre contre le blanc à 578 nm.

La concentration en urée sérique a été calculée à partir de la formule suivante : **Concentration Urée (mg/dL) = $\text{DO}(\text{échantillon}) - \text{DO}(\text{blanc}) / \text{DO}(\text{standard}) \times 50$** . La concentration du standard de l'urée étant de 50 mg/dL.

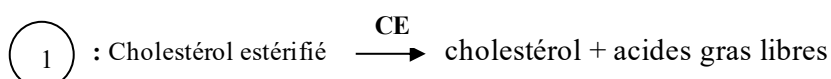
II.2.10.5- Dosage des indicateurs du métabolisme lipidique

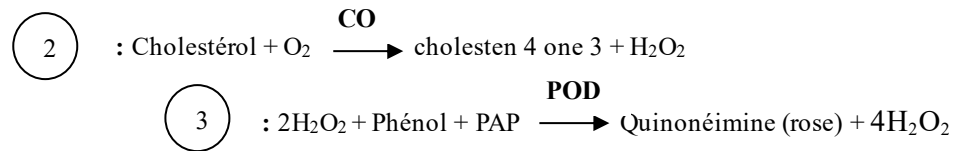
i- Dosage du cholestérol total

❖ Principe

Les esters de cholestérol et le cholestérol libre sont présents dans le sérum. En présence de cholestérol estérase, les esters de cholestérol sont hydrolysés et le cholestérol total est mesuré après oxydation avec la cholestérol oxydase pour former du peroxyde d'hydrogène. Ce dernier réagit avec le phénol et la 4-aminoantipyrine pour former un colorant quinonéimine rose.

La méthode enzymatique fournie par le kit de dosage colorimétrique de marque LABKIT (Barcelone, Espagne) a été utilisée suivant les réactions ci-dessous :





CE = Cholestérol Estérase, **CO** = Cholestérol Oxydase, **POD** = Peroxydase ; PAP = 4-amino-antipyrine.

Le dosage du cholestérol a été réalisé comme décrit dans le tableau XIII.

Tableau XIII: Protocole de dosage du cholestérol total

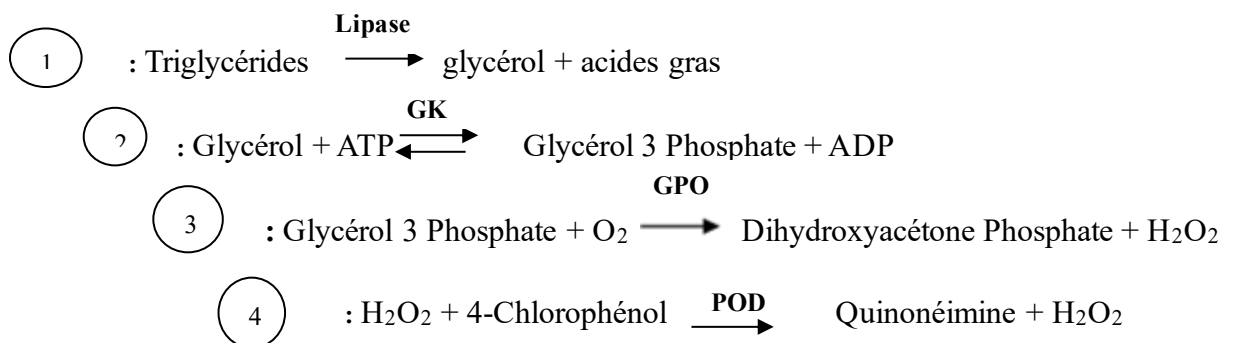
	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (μL)	10	-	-
Standard (μL)	-	10	-
Echantillon (μL)	-	-	10
Réactif (μL)	1000	1000	1000

Le mélange a été homogénéisé et incubé à 37°C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm. Le taux sérique de cholestérol a été calculé de la manière suivante :
 Concentration Cholestérol total (mg/dL) = DO (échantillon) / DO (standard) × 200. La concentration du standard étant de 200 mg/dL.

ii) Dosage des triglycérides (TG)

❖ Principe

Sous l'action de lipases, les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras. Le glycérol sera ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène sous l'action successive du glycérol-kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase. L'absorbance du complexe coloré (quinonéimine), servant d'indicateur de la formation du peroxyde d'hydrogène sous l'action de la peroxydase, proportionnelle à la concentration en triglycérides dans le spécimen, peut alors être mesuré à 500 nm.



GK = Glycérol Kinase, **GPO** = Glycérol-3-phosphate kinase, **POD** = Peroxydase

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon.

❖ Mode opératoire

Les taux sériques de triglycérides ont été mesurés à l'aide d'un kit de dosage colorimétrique

de marque LABKIT (Barcelone, Espagne). Les triglycérides ont été quantifiés suivant le protocole décrit dans le tableau XIV.

Tableau XIV: Protocole de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif (µL)	1000	1000	1000

Le mélange a été homogénéisé puis incubé à 37°C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à 500 nm. La concentration des triglycérides a été déterminée par la formule suivante : **Concentration TG (mg/dl) = DO (échantillon) / DO (standard) × 200** avec 200 mg/dL représentant la concentration du standard.

iii- Dosage du HDL-cholestérol

❖ Principe

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et les chylomicrons du spécimen sont précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium. Le cholestérol-HDL obtenu dans le surnageant après centrifugation est ensuite dosé par un réactif utilisé pour le dosage du cholestérol total.

❖ Mode opératoire

Le LDL-cholestérol a été précipité par ajout à 500 µL d'échantillon 100 µL de précipitant. Après homogénéisation et incubation à température ambiante pendant 15 minutes, les tubes ont été centrifugés à 3000 trs/mn pendant 15 minutes. Le HDL-cholestérol contenu dans le surnageant a été déterminé en suivant le protocole du cholestérol total décrit précédemment avec une concentration standard de HDL-cholestérol égale à 175 mg/dL. La concentration de HDL-Cholestérol a été déterminée suivant la formule : **Concentration HDL-cholestérol (mg/dL) = DO (échantillon) / DO (standard) × 175.**

iv- Détermination du LDL-cholestérol

Les concentrations de LDL-Cholestérol ont été déterminées par calcul suivant la formule de Hoffmann (1985) : **Concentration LDL-Cholestérol (g/L) = Cholestérol total - (Cholestérol HDL - TG / n)** avec n = 2 lorsque les valeurs des paramètres utilisés sont exprimées en mmol/L et n = 5 lorsque ces valeurs sont exprimées en g/L.

v- Détermination de l'index athérogène

Le risque athérogène a été évalué à partir de l'indice athérogène lié à la concentration en

cholestérol total et en cholestérol HDL (Youmbissi *et al.*, 2001) suivant la formule : **Index athérogène (mg/dL) = Cholestérol total / HDL-cholestérol.**

II.2.10.5- Dosage de quelques marqueurs de l'inflammation

Les concentrations des cytokines (IL-1 β ; IL-6 ; TNF- α et IL 10) ont été déterminées par la technique ELISA-Sandwich conformément au protocole expérimental fourni par le fabricant du kit (Cusabio Technology LLC, USA).

❖ Principe

Elle consiste en la détection des différents analytes à l'aide de deux types d'anticorps monoclonaux spécifiques : les anticorps de capture préfixés sur une microplaque et les anticorps de détection reliés à la peroxydase via le système biotin-avidine. Après lavage, de la peroxydase de raifort conjuguée à de l'avidine (HRP) est ajoutée aux puits. Après un lavage pour éliminer tout réactif avidine-enzyme non lié, une solution de substrat est ajoutée aux puits et la couleur se développe proportionnellement à la quantité d'IL liée lors de l'étape initiale. L'intensité de la couleur est mesurée à 450 nm.

❖ Mode opératoire

Les cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α et IL10 ont été dosées séparément. Dans chaque puits de la microplaque à 96 puits préalablement sensibilisés avec les anticorps de capture spécifiques à chacune des cytokines ont été introduits 100 μ L des échantillons et du standard. La plaque a été couverte avec le papier à aluminium fournie et incubée pendant 2 heures à 37°C. Après incubation, le contenu a été retiré délicatement de la plaque sans lavage puis 100 μ L de la solution d'anticorps associée à la biotine ont été introduits dans chaque puits. La plaque a de nouveau été recouverte d'un papier à aluminium pour une période d'incubation d'une heure à 37°C. Après incubation, la plaque a été lavée 3 fois de suite par ajout de 200 μ L de solution de tampon de lavage dans chaque puits. A chaque fois, celle-ci a été inversée sur du papier absorbant pour l'élimination complète de la solution de lavage. Après lavage, 100 μ L de la solution d'avidine (révélateur) ont été ajoutés dans les puits. La plaque a été recouverte avec le papier à aluminium, et incubée de nouveau pendant 1 h à température ambiante. Le contenu a été retiré délicatement des puits et la plaque a été lavée 6 fois avec le tampon de lavage. Le substrat (90 μ L) a été ajouté dans chaque puits puis la plaque a été incubée pendant 30 minutes à 37°C à l'obscurité. La solution d'arrêt (90 μ L) a été introduite dans chaque puits et mélangé délicatement. La densité optique de chaque puits a été déterminée dans les 5 minutes, à l'aide d'un lecteur de microplaques réglé sur 450 nm. Les concentrations de cytokines de rat dans les échantillons, qui sont proportionnelles aux valeurs des DO ont été calculées en comparant les valeurs de DO des échantillons avec les courbes standards (Annexe 6).

II.2.11- Analyse statistique

Tous les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard sur la moyenne. Les moyennes ont été comparées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 8.03 par analyse de la variance (ANOVA) suivie du post-test de Dunnett. *In vitro*, les expériences ont été réalisées en "triplicate" dans au moins trois expériences indépendantes. Les données obtenues ont été également exprimées sous forme de moyenne \pm erreur standard sur la moyenne (ESM) et l'analyse des données s'est faite à l'aide du logiciel Sigma plot version 11.00. La différence a été considérée comme significative à $p < 0,05$.



**CHAPITRE III :
RESULTATS**

III.1- Effet antiprolifératif des graines des six espèces de cucurbitacées sur la prostate

III.1.1- Effets des graines sélectionnées sur la croissance des cellules cancéreuses de la prostate

La figure 16 illustre les effets des graines de trois espèces de courge sélectionnées à savoir : *Lagenaria siceraria* (LSi), *Cucumeropsis manii* (CMn), *Cucurbita maxima* (CMx) sur la croissance des cellules DU145 et PC3 après 24, 48 et 72 heures. CMx a inhibé de façon significative la croissance des deux lignées de cellules cancéreuses à 100 µg/mL sur les cellules DU145 ($p < 0,05$) et les cellules PC3 ($p < 0,05$). CMn n'a inhibé de façon significative ($p < 0,05$) que la croissance des cellules cancéreuses PC3 à la concentration de 12,5µg/mL.

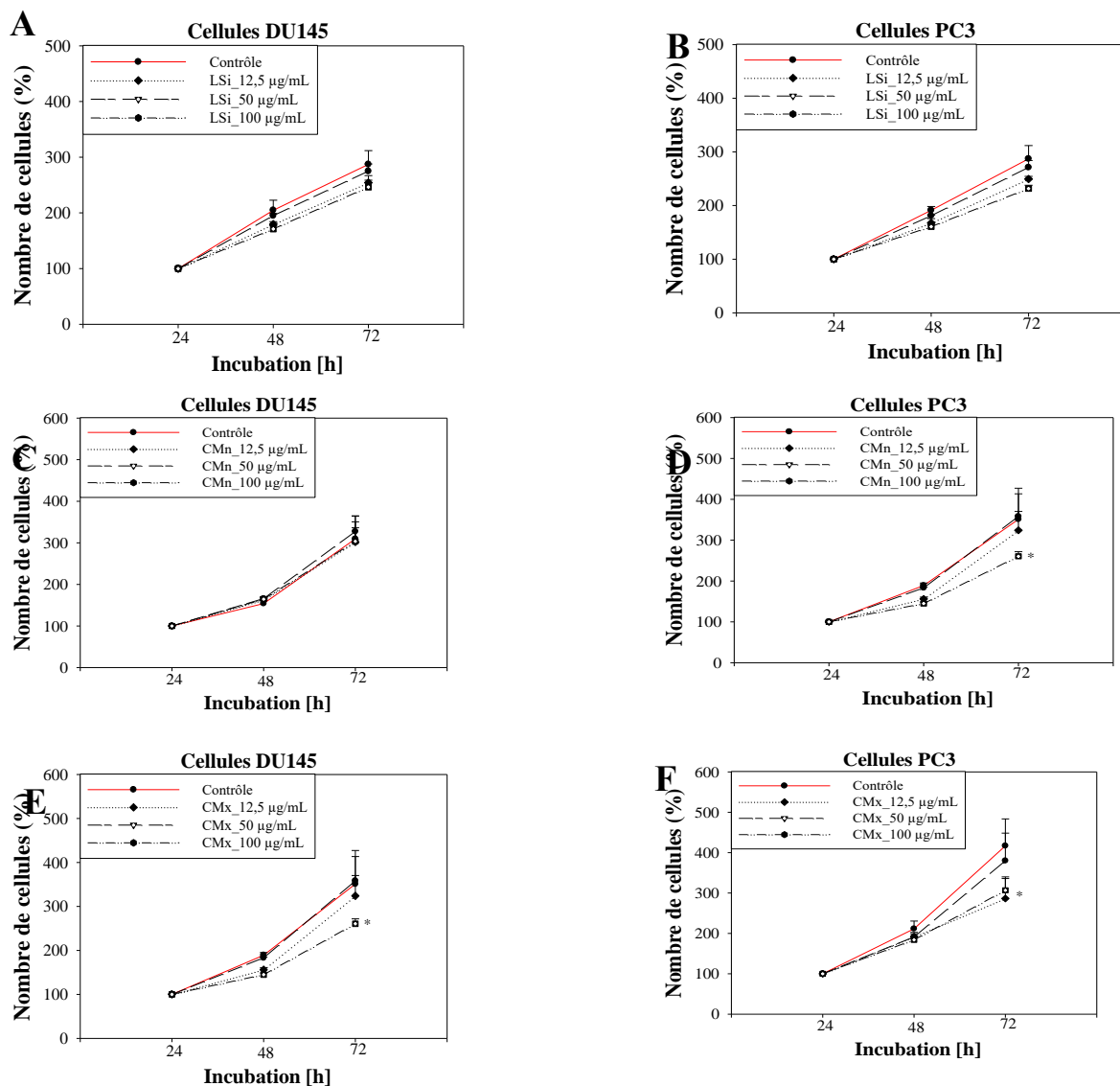


Figure 16 : Effets des graines de *L. siceraria*, *C. manii* et *C. maxima* sur la croissance cellulaire.

Légende : Contrôle = courbe de croissance des cellules cancéreuses traitées avec le véhicule (DMSO). LSi = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Lagenaria siceraria* aux concentrations de 12,5, 50 et 100 µg/mL. CMn = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Cucumeropsis manii* aux concentrations de 12,5, 50 et 100 µg/mL. CMx = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Cucurbita maxima* aux concentrations de 12,5, 50 et 100 µg/mL.

La figure 16' suivante présente les effets des graines de trois autres espèces de courge sélectionnées : *Cucurbita moschata* (CMs), *Cucumis melo* (CMI) ; *Cucumis sativus* (CSt). Les graines de CMs et CMI ainsi que celles de LSi n'ont pas inhibé la croissance des cellules DU145 et PC3. Les graines de *Cucumis sativus* (CSt) ont inhibé la croissance des cellules cancéreuses DU145 ($p < 0,05$ à $100 \mu\text{g/mL}$) et PC3 ($p < 0,05$ à $12,5 \mu\text{g/mL}$ et $p < 0,01$ à $100 \mu\text{g/mL}$) de manière temps dépendant. Parmi les six échantillons, *Cucumis sativus* (CS) a présenté les effets antiprolifératifs les plus puissants *in vitro* surtout à la dose de $100 \mu\text{g/mL}$.

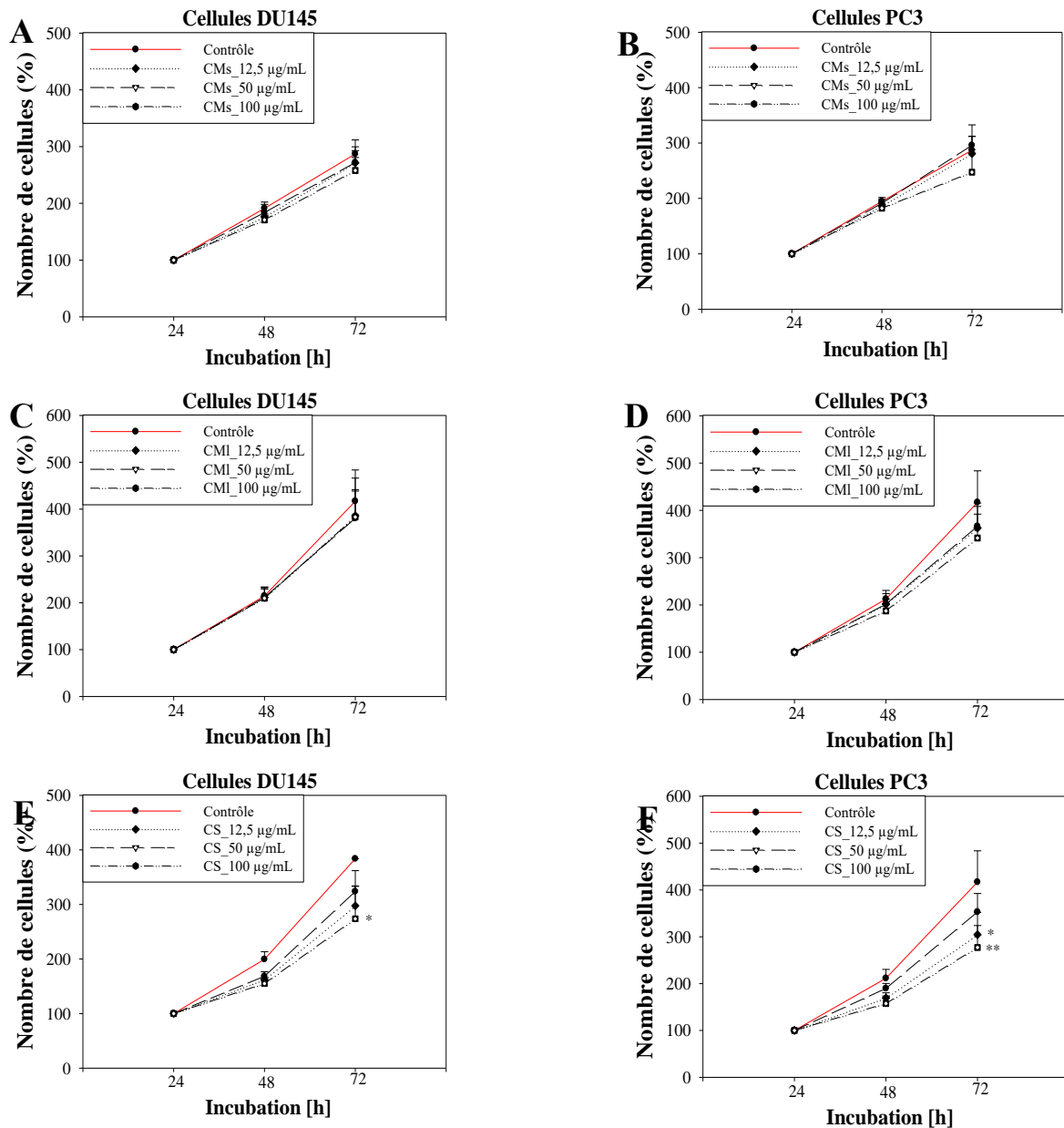


Figure 16' : Effets des graines de *C. moschata*, *C. mélo* et *C. sativus* sur la croissance cellulaire.

Légende : Contrôle = courbe de croissance des cellules cancéreuses traitées avec le véhicule (DMSO). CMs = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Cucurbita moschata* aux concentrations de 12,5, 50 et $100 \mu\text{g/mL}$. CMI = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Cucumis melo* aux concentrations de 12,5, 50 et $100 \mu\text{g/mL}$. CS = courbes de croissance des cellules cancéreuses traitées avec les graines de *Cucumis sativus* aux concentrations de 12,5, 50 et $100 \mu\text{g/mL}$.

III.1.2- Effets des graines sélectionnées sur un modèle d'HBP chez le rat

III.1.2.1- Effets sur la masse, le volume et le taux de protéines prostatiques

Les effets des graines des six espèces de cucurbitacées sur l'index prostatique, le pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique, le volume de la prostate et le taux de protéines totales dans la prostate sont représentés dans le tableau XV. L'administration de la testostérone pendant 28 jours a entraîné une augmentation significative ($p < 0,01$) de l'ordre de 50,74% de la masse relative de la prostate comparé aux rats normaux. Le finastéride a induit une diminution significative du volume de la prostate ($p < 0,01$) et du taux de protéines dans la prostate ($p < 0,001$) en comparaison aux animaux témoin négatif. Le taux de protéines totales dans la prostate a diminué de manière significative avec *C. maxima* (CMx) à la dose de 500 mg/kg ($p < 0,05$) ; *C. melo* (CMI) aux doses de 500 et 1000 mg/kg ($p < 0,001$) et *C. sativus* (CS) à la dose de 500 mg/kg ($p < 0,001$). De toutes les graines de courge testées, l'extrait de *C. sativus* a présenté les meilleurs effets surtout à la dose de 500 mg/kg marqués ici par un pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique de 49,5 %, la réduction de la masse relative de la prostate (de 2436 ± 71 chez les rats HBP contre 2029 ± 96 mg/kg chez les rats traités avec les *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg), la réduction significative ($p < 0,01$) du volume de la prostate (de 332 ± 14 en HBP contre 216 ± 14 mm³) et du taux de protéines totales (de $88 \pm 0,8$ chez les rats HBP contre $74 \pm 1,3$ µg/mL chez les rats traités avec les *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg).

Tableau XV: Effets protecteurs des six graines de courge sur l'index prostatique, le pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique, le volume et le taux de protéines totales

Groupes	Masse relative de la prostate fraîche (mg/kg PC)	PI (%)	Volume de la prostate (mm ³)	Taux de protéines totales (µg/mL)
NOR	1616,5 ± 99,4	-	292,3 ± 14,1	86,0 ± 1,4
HBP	2436,3 ± 71,5##	-	332,1 ± 14,4	88,3 ± 0,8
FINAS	1889,2 ± 30,2#	54,4	202,7 ± 20,5**	75,4 ± 1,2***
LSi 500	2377,2 ± 258,5	7,2	326,0 ± 15,4	89,9 ± 1,9
LSi 1000	2385,3 ± 280,1	6,2	248,1 ± 13,2	89,6 ± 0,1
CMn 500	2451,1 ± 168,3	0,0	313,6 ± 20,8	86,1 ± 3,3
CMn 1000	2390,9 ± 240,7	5,5	292,9 ± 33,9	86,0 ± 2,8
CMx 500	2324,4 ± 122,9	13,6	260,6 ± 38,8	78,4 ± 4,4*
CMx 1000	2210,8 ± 187,3	27,5	249,0 ± 20,5	84,5 ± 1,4
CMs 500	2192,6 ± 129,2	29,8	264,1 ± 18,5	83,2 ± 4,4
CMs 1000	2493,8 ± 224,5	0,0	271,9 ± 43,1	80,0 ± 0,9
CMI 500	2454,2 ± 68,8	2,1	327,9 ± 5,1	69,5 ± 2,7***
CMI 1000	2418,9 ± 163,3	2,1	257,3 ± 12,8	66,9 ± 1,6***
CS 500	2030,0 ± 96,8	49,5	216,9 ± 14,7**	74,9 ± 1,3***
CS 1000	2272,1 ± 49,9	20,3	224,0 ± 17,5*	86,6 ± 1,0

PI = Pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique, NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités par de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de la finastéride (5 mg/kg) ; LSi = rats co-traités avec de l'énanthate de

testostérone (3 mg/kg) et *L. siceraria* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMn = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. manii* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMx = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. maxima* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMs = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone et *C. moschata* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMI = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone et *C. melo* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CSt = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. sativus* aux doses de 500 et 1000 mg/kg. # $p < 0,05$ et ## $p < 0,01$: différence significative par rapport aux rats normaux. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives \pm ESM, n=5. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au contrôle négatif (HBP).

III.1.2.2- Effets sur la masse, le volume et le taux de protéines prostatiques

Les coupes transversales de la prostate montrent que 28 jours d'administration consécutive de la testostérone chez les rats ont entraîné un épaississement et un développement de l'épithélium. On note également une invagination projetant l'épithélium vers la lumière glandulaire ainsi que les tissus connecteurs comprimés comparativement aux animaux du groupe normal (Figure 17). L'administration des espèces de courge a protégé contre l'augmentation de l'épaisseur de l'épithélium induite par la testostérone par une par un épithélium prostatique réduit avec un stroma normal constitué de tissus connecteurs et de vaisseaux sanguins. Cet effet est beaucoup plus prononcé avec l'extrait des graines totales de *L. siceraria* (LSi) et *C. manii* (CMn) à la dose de 1000 mg/kg et *C. sativus* (CS) aux doses de 500 et 1000 mg/kg.

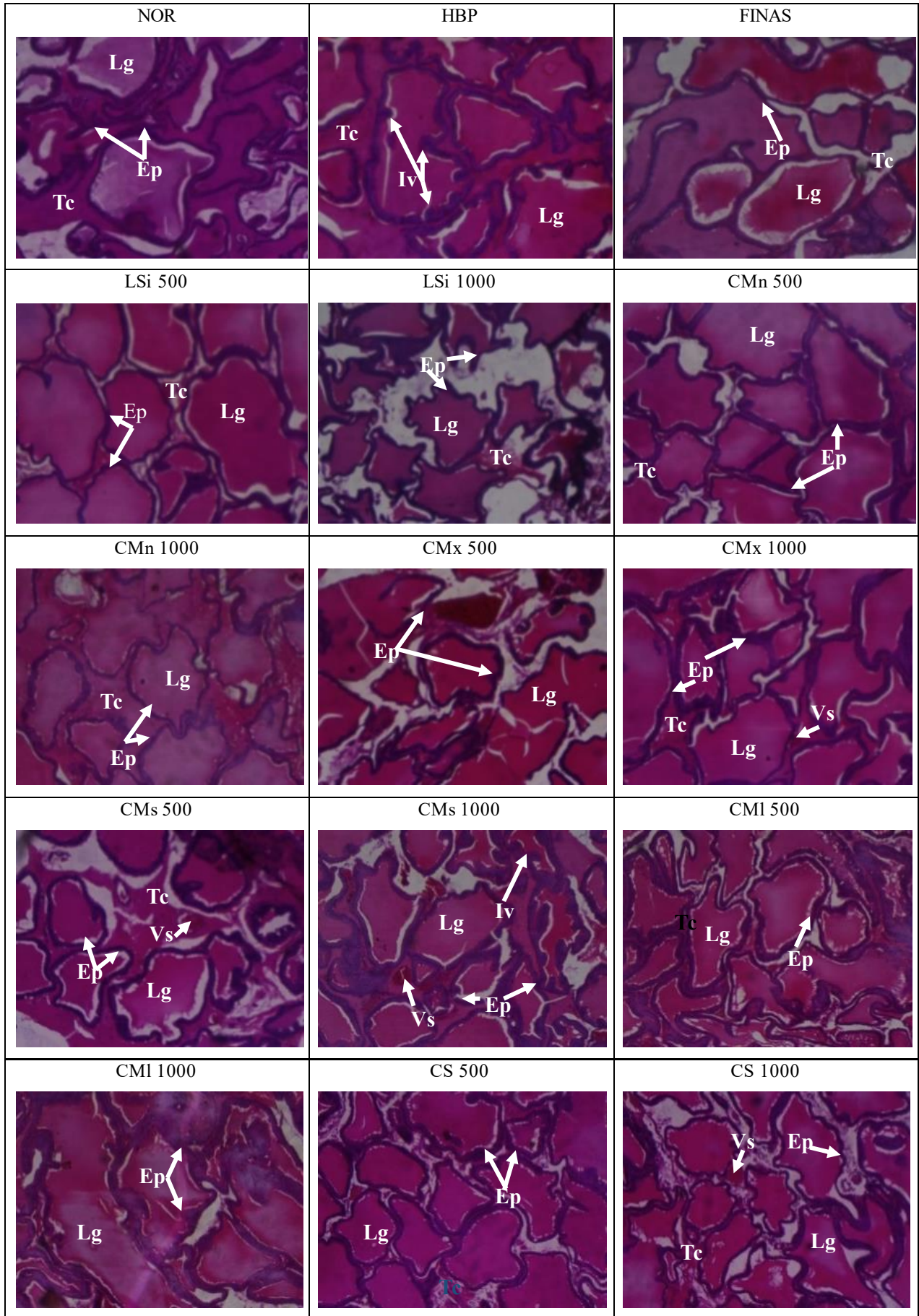


Figure 17: Microphotographies H&E×100 de la prostate.

Légende : **Ep**= épithélium ; **Iv**= Involution; **Vs**= vaisseaux sanguins; **Tc**= tissus connecteurs; **Lg**= lumière glandulaire.

La mesure des tailles des épithélia prostatiques et du diamètre glandulaire a montré que l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) de la taille de l'épithélium prostatique et une diminution significative du diamètre glandulaire chez les animaux du groupe témoin négatif comparé aux animaux normaux (Figure 18). Concernant les graines de courge étudiées, *L. siceraria* (LSi) aux doses de 500 et 1000 mg/kg ($p < 0,001$) ; *C. mannii* (CMn) à la dose de 500 mg/kg ($p < 0,001$) ; *C. maxima* (CMx) aux doses de 500 ($p < 0,01$) et 1000 mg/kg ($p < 0,05$) et *C. sativus* aux deux doses testées, 500 ($p < 0,01$) et 1000 mg/kg ($p < 0,001$) tout comme la finastéride, ont diminué significativement la taille de l'épithélium prostatique. Seul *C. sativus* aux deux doses testées a induit tout comme la finastéride une augmentation significative du diamètre glandulaire comparé au témoin négatif.

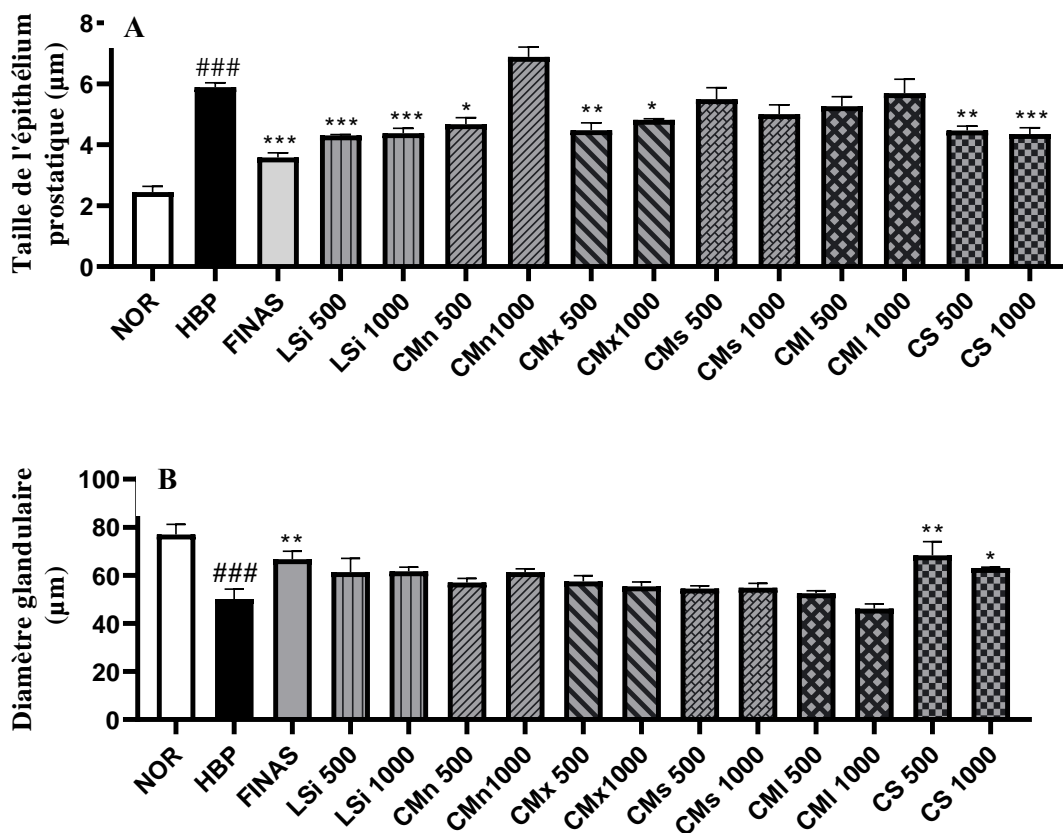


Figure 18: Représentation schématique des effets des graines des six espèces de courge sur la taille de l'épithélium (A) et le diamètre glandulaire (B).

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités par de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et de la finastéride (5 mg/kg) ; LSi = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *L. siceraria* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMn = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. mannii* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMx = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. maxima* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMs = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone et *C. moschata* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CMI = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone et *C. melo* aux doses de 500 et 1000 mg/kg ; CS = rats co-

traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et *C. sativus* aux doses de 500 et 1000 mg/kg. ### $p < 0,001$: différence significative par rapport à la normale. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, $n=6$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au contrôle négatif (HBP).

III.1.3- Effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus*

Les graines de *C. sativus* ayant montré les meilleures activités sur les tests préliminaires réalisés, la suite de nos travaux s'est appesanti sur cet échantillon.

III.1.3.1- Effet sur l'index prostatique, le volume, le taux de protéines totales et la taille de l'épithélium prostatique

Les effets des graines fraîches et cuites de *C. sativus* sur l'index prostatique, le volume, le taux de protéines totales prostatiques et la taille de l'épithélium prostatique sont regroupés dans le tableau ci-dessous. L'administration de testostérone pendant 28 jours a induit une augmentation significative de la masse relative de la prostate ($p < 0,001$), du volume de la prostate ($p < 0,001$), du taux de protéines totales dans la prostate ($p < 0,01$) et de la taille de l'épithélium prostatique en comparaison aux rats normaux (Tableau XVI). Les graines de *C. sativus* fraîches (CS-f) ont diminué de manière significative ces paramètres ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) comparé au groupe témoin négatif, surtout aux doses de 250 et 500 mg/kg PC. Cet effet a été observé avec les graines de *C. sativus* cuites (CS-c) surtout à la dose de 1000 mg/kg ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Le finastéride administrée à 5 mg/kg a réduit de manière significative ($p < 0,001$) le poids relatif de la prostate induit par la testostérone, le volume de la prostate, le taux de protéines totales dans la prostate et la taille de l'épithélium prostatique comparé aux rats atteints d'HBP.

Tableau XVI: Effet de la cuisson sur les paramètres prostatiques chez les rats souffrants d'HBP

Groupes	Masse relative (mg/kg PC)	PI (%)	Volume de la prostate (mm ³)	Taux de protéines (mg/mL)	Taille de l'épithélium (µm)
NOR	1690,8 \pm 54,4		454,8 \pm 87,9	95,4 \pm 2,2	6,9 \pm 0,4
HBP	3690,8 \pm 127,0###		925,2 \pm 56,5###	108,7 \pm 4,4##	10,6 \pm 0,4###
FINAS	2298,2 \pm 177,7***	100	423 \pm 48,1***	86,6 \pm 2,3***	7,9 \pm 0,4***
CS-f 125	2929,0 \pm 314,8	54,71	451,9 \pm 94,7***	113,1 \pm 3,9	9,4 \pm 0,1
CS-f 250	2991,6 \pm 218,3	50,21	512,7 \pm 72,2**	109,1 \pm 4,4	8,6 \pm 0,1**
CS-f 500	2659,6 \pm 178,9**	74,05	387,9 \pm 54,3***	98,2 \pm 0,4*	9,1 \pm 0,1*
CS-f 1000	3188,1 \pm 169,8	36,10	456,2 \pm 46,7***	87,9 \pm 1,2***	9,9 \pm 0,2
CS-c 125	3249,3 \pm 345,1	31,70	662,8 \pm 74,1	94,1 \pm 2,8***	9,9 \pm 0,6
CS-c 250	3004,6 \pm 110,9	49,28	536,2 \pm 35,2**	91,7 \pm 2,1**	9,1 \pm 0,2*
CS-c 500	3040,3 \pm 163,4	46,71	681,1 \pm 60,7	90,5 \pm 2,1***	9,7 \pm 0,2
CS-c 1000	2832,8 \pm 269,8*	61,61	564 \pm 67,1**	94,1 \pm 1,9**	9,9 \pm 0,3

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-f = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et aux graines de *C. sativus* fraîches, CS-c = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et des graines de *C. sativus* cuites. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, $n=6$. ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différence significative par rapport aux animaux

normaux, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport aux animaux du groupe HBP. PI = Pourcentage d'inhibition.

L'extrait frais de graines de *C. sativus* a présenté des effets plus puissants que l'extrait cuit, avec des effets optimaux à la dose de 500 mg/kg marqués par une inhibition de manière significative l'augmentation de la masse relative de la prostate induite par la testostérone (de $3690,8 \pm 127,0$ mg/kg dans l'HBP contre $2659,6 \pm 178,9$ mg/kg), du volume de la prostate (de $925,2 \pm 56,5$ mm³ dans l'HBP contre $387,9 \pm 54,3$ mm³), du taux de protéines totales dans la prostate (de $108,7 \pm 4,4$ mg/mL dans l'HBP contre $98,2 \pm 0,4$ mg/mL) et de la hauteur de l'épithélium prostatique (de $10,6 \pm 0,4$ µm contre à $9,1 \pm 0,1$ µm) par rapport aux rats atteints d'HBP.

III.1.3.2- Effet sur le statut oxydatif

Les effets d'un traitement de 28 jours avec les graines de *C. sativus* frais et cuites sur le taux de malondialdéhyde (MDA), le taux de glutathion réduit (GSH) et l'activité de la catalase prostatique sont consignés dans le tableau XVII. La testostérone administrée chez les animaux du groupe témoin négatif a entraîné une augmentation significative du taux de MDA ($p < 0,001$) et une diminution non significative du taux de glutathion réduit et de l'activité de la catalase comparé au témoin normal. Tout comme la finastéride, *C. sativus* frais a protégé contre le stress oxydatif induit par la testostérone par une diminution significative du taux de MDA ($p < 0,01$) surtout à la dose de 250 mg/kg et une augmentation significative de l'activité de la catalase ($p < 0,05$) à la dose de 500 mg/kg ainsi que du taux de glutathion réduit aux doses de 250 ($p < 0,05$) et 500 mg/kg PC ($p < 0,001$). *C. sativus* cuit a également protégé contre les effets oxydatifs subséquents à l'administration de la testostérone par une diminution significative de la concentration en MDA ($p < 0,05$) à la dose de 1000 mg/kg et une augmentation significative du taux de GSH ($p < 0,05$) à cette même dose.

Le meilleur effet antiprolifératif sur la prostate a été obtenu avec les graines de *C. sativus* fraîches qui ont réduit la concentration en MDA (de $654,5 \pm 11,6$ µmol/g d'organe chez les animaux du groupe HBP à $505,1 \pm 26,6$ µmol/g d'organe à la dose de 250 mg/kg chez les animaux traités avec les graines fraîches de *C. sativus*) et augmenté le taux de GSH (de $186,1 \pm 11,1$ µmol/g d'organe chez les animaux du groupe HBP à $327,2 \pm 8,3$ µmol/g d'organe à la dose de 500 mg/kg) ainsi que l'activité de la catalase (de $97,0 \pm 7,0$ mmol/min/g d'organe chez les animaux du groupe HBP à $140,6 \pm 4,5$ à la dose de 500 mg/kg chez les animaux traités avec les graines fraîches de *C. sativus*).

Tableau XVII: Effet de la cuisson des graines de *C. sativus* du statut oxydatif dans la prostate des rats BPH

Groupes	Concentration en MDA ($\mu\text{mol/g}$ d'organe)	Glutathion réduit prostatique $\mu\text{mol/g}$ d'organe	Activité de la catalase (mmol/min/g d'organe)
NOR	506,6 \pm 24,2	235,2 \pm 27,7	118,2 \pm 6,2
HBP	654,5 \pm 11,6###	186,1 \pm 11,1	97,0 \pm 7,0
FINAS	553,6 \pm 11,4*	354,0 \pm 47,0***	151,5 \pm 8,2**
CS-f 125	593,7 \pm 7,7	187,0 \pm 9,7	104,2 \pm 13,2
CS-f 250	505,1 \pm 26,6***	293,6 \pm 15,1*	120,2 \pm 8,0
CS-f 500	580,1 \pm 26,8	327,2 \pm 8,3***	140,6 \pm 4,5*
CS-f 1000	579,3 \pm 45,8	271,3 \pm 5,9	123,4 \pm 1,6
CS-c 125	608,1 \pm 13,9	196,5 \pm 29,2	121,2 \pm 7,9
CS-c 250	591,9 \pm 15,3	249,4 \pm 25,9	103,591 \pm 14,8
CS-c 500	606,8 \pm 24,0	235,4 \pm 13,4	109,0 \pm 8,1
CS-c 1000	533,8 \pm 20,0*	289,2 \pm 18,9*	95,294 \pm 19,0

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-f = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et aux graines de *C. sativus* fraîches, CS-c = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et des graines de *C. sativus* cuites. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, n=6. ###p < 0,001 : différence significative par rapport aux animaux normaux, *p < 0,05 ; **p < 0,01 ; ***p < 0,001: différence significative par rapport aux animaux du groupe HBP.

III.1.4- Effet de la fréquence de consommation des graines de *C. sativus* sur les paramètres prostatiques chez les rats

La figure 19 montre que l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative de la masse relative ($p < 0,001$), du volume ($p < 0,001$) et de la taille de l'épithélium ($p < 0,01$) de la prostate en comparaison aux animaux normaux. Les graines de *C. sativus* administrées quotidiennement (CS-7/7) ont prévenu l'hyperplasie prostatique par une réduction significative de la masse relative ($p < 0,05$), du volume ($p < 0,001$) et de la taille de l'épithélium prostatique ($p < 0,05$) en comparaison aux animaux du groupe témoin négatif. Par contre, l'administration de 3 jours sur 7 de *C. sativus* (CS-3/7) n'a réduit de façon significative que le volume prostatique ($p < 0,001$). Tout comme la finastéride, l'administration quotidienne de *C. sativus* est plus efficace que la prise intermittente.

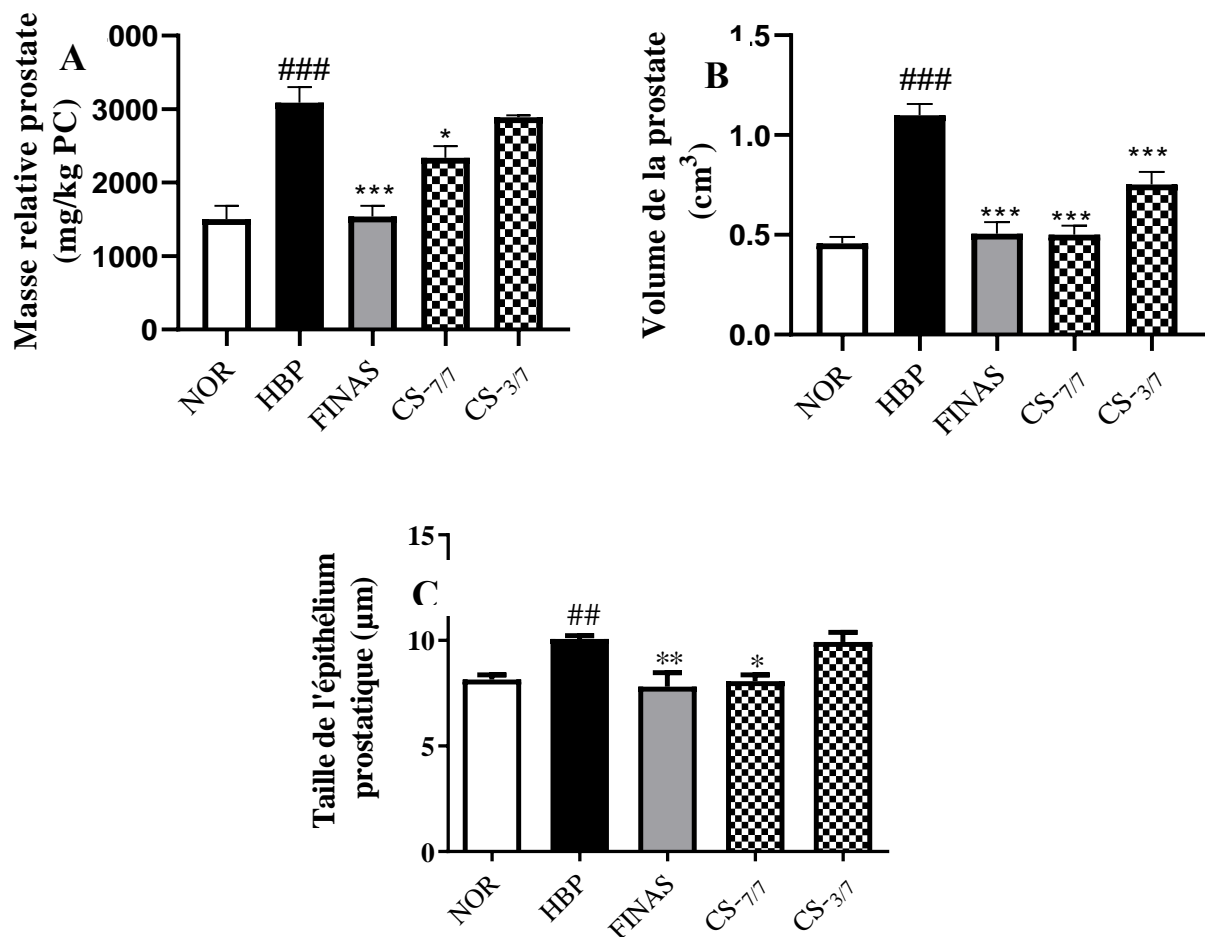


Figure 19: Représentation schématique des effets de *C. sativus* sur la masse relative (A), le volume (B) et la taille de l'épithélium prostatique (C).

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-3/7 = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et aux graines de *C. sativus* crues trois fois par semaine, CS-7/7 = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et des graines de *C. sativus* crues tous les jours. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, n=6. ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différence significative par rapport aux animaux normaux, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe témoin négatif.

III.1.5- Effet de l'huile et du tourteau des graines de *C. sativus* sur les paramètres prostatiques des rats présentant une HBP

III.1.5.1- Effet sur la croissance cellulaire

La figure 20 montre que le tourteau de graines *C. sativus* à toutes les doses testées n'a pas réussi à inhiber la croissance des cellules cancéreuses de la prostate *in vitro*. L'huile de ces graines a conservé la quasi-totalité des effets du totum sur les cellules cancéreuses de la prostate, matérialisés par une inhibition dépendante du temps de la croissance des cellules non androgéno-

sensibles (DU145 et PC3) et androgéno-sensibles (LNCaP), avec l'effet le plus marquant observé sur les cellules LNCaP plus particulièrement à la concentration de 100 µg/mL.

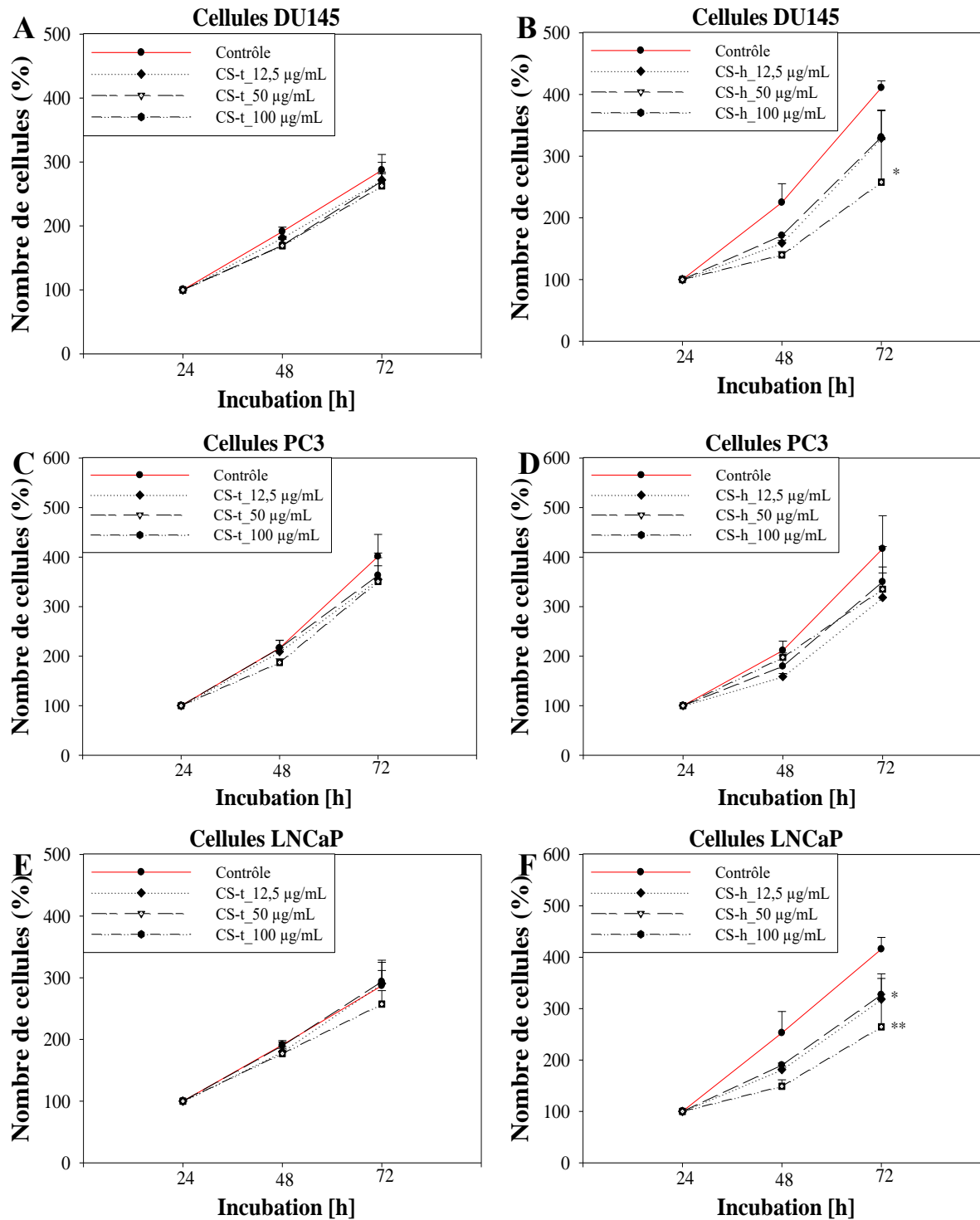


Figure 20: Effets de l'huile et du tourteau des graines de *C. sativus* sur la croissance des cellules cancéreuses non sensibles (DU 145 et PC3) et sensibles (LNCaP) aux androgènes. CS-h= huile de *C. sativus* ; CS-t= tourteau de *C. sativus*.

III.1.5.2- Effet de l'huile de *C. sativus* sur les paramètres prostatiques chez des rats présentant une HBP

La figure 21 montre que l'administration de la testostérone a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids relatif de la prostate, du volume de la prostate et du taux sanguin de la PSA chez les rats malades comparés aux rats normaux. La finastéride a diminué significativement ($p < 0,001$; $p < 0,01$) ces paramètres sauf la PSA comparés au groupe témoin négatif (HBP). L'huile de graines de *C. sativus* a induit une diminution significative de la masse relative de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$), du volume de la prostate ($p < 0,05$) et du

taux sérique de PSA ($p < 0,05$) à toutes les doses testées avec un effet optimal à la dose de 170 mg/kg. Le tourteau n'a pu réduire significativement ($p < 0,05$) la masse relative de la prostate qu'à la dose de 320 mg/kg. Les effets observés sur tous les paramètres de la prostate après un traitement de 28 jours sont similaires à ceux observés avec les graines entières de *C. sativus* à la 500 mg/kg.

Compte tenu de l'ensemble de ces résultats, les autres paramètres évalués étaient centrés sur l'huile des graines de *C. sativus*.

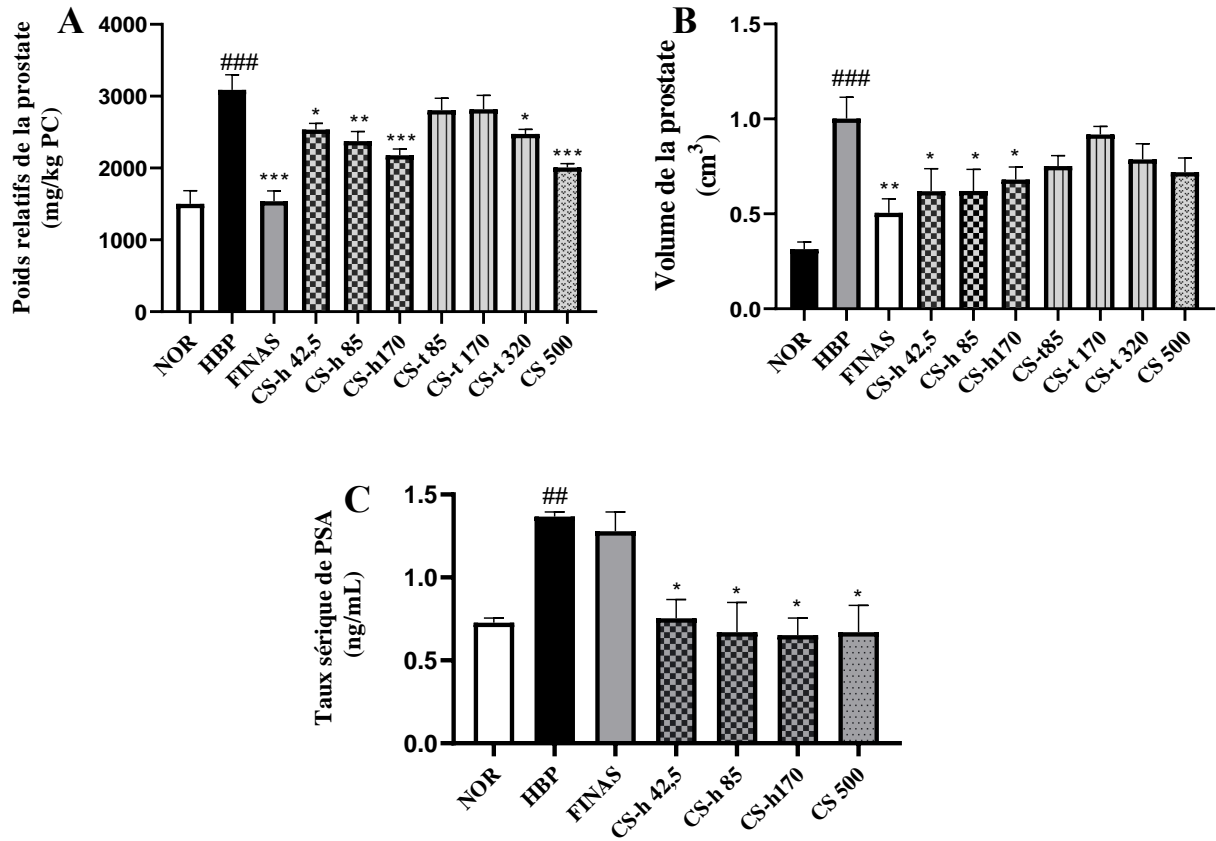


Figure 21: Représentation schématique de l'effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur la masse relative (A), le volume (B) et la taille de l'épithélium (C) de la prostate chez les rats souffrants d'HBP.

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-h = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et à l'huile des graines de *C. sativus*, CS-t = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au tourteau des graines de *C. sativus*, CS = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et et au totum de *C. sativus* aux doses de 500 et 1000 mg/kg. . Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, n=6. ### $p < 0,01$ #### $p < 0,001$: différence significative par rapport aux normaux, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe HBP.

Les effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la morphologie de la prostate fraîche après 28 jours consécutifs de traitement sont représentés sur la figure 22. Il ressort de cette figure que la prostate des rats HBP est plus volumineuse que celle des animaux normaux. Les photographies

représentatives des prostates des groupes traités montrent une réduction significative du volume de la prostate tant pour ceux qui recevaient le finastéride que l'huile des graines de *C. sativus*.

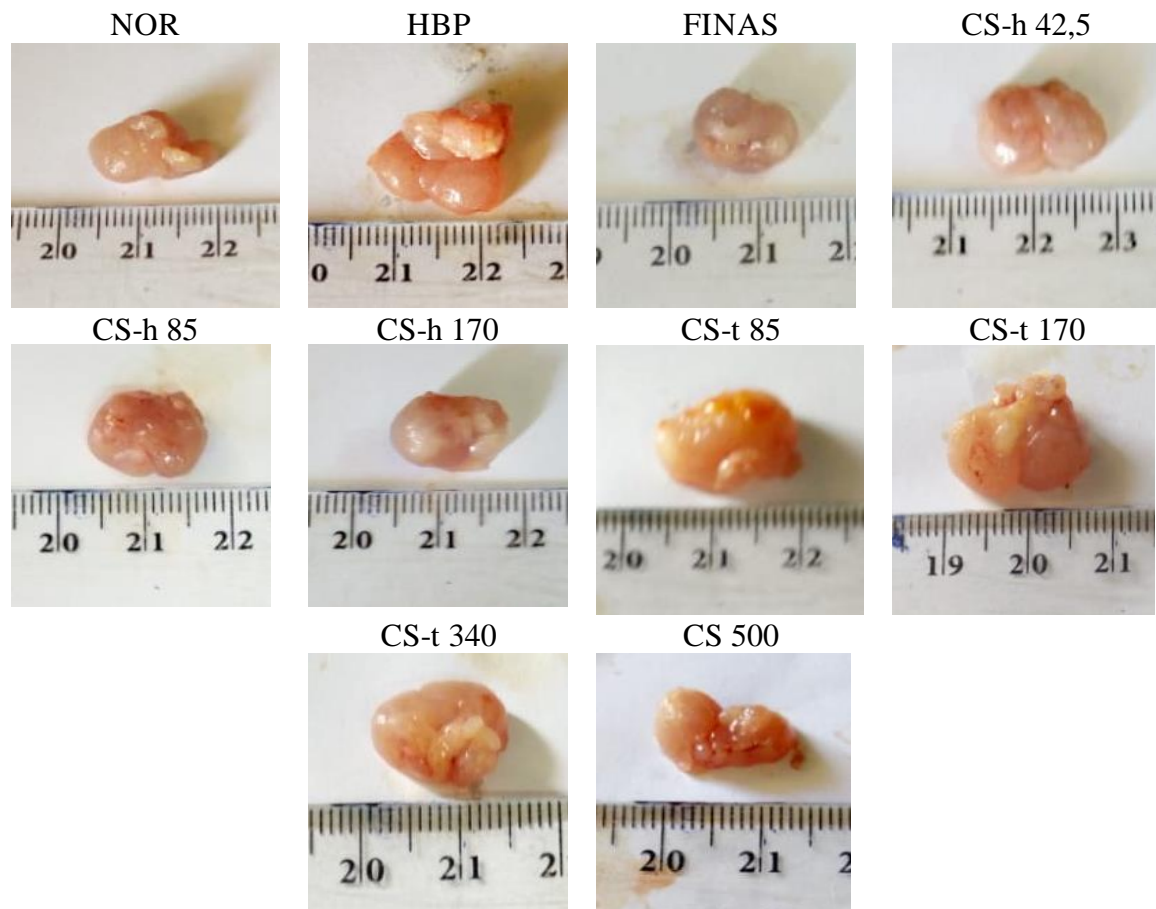


Figure 22: Effets de l'huile et du tourteau des graines de *C. sativus* sur la morphologie de la prostate après 28 jours de traitement chez les rats.

III.1.5.3- Effet de l'huile sur le taux sérique de certaines cytokines pro-inflammatoires

Le tableau XVIII montre les effets de l'huile de *C. sativus* sur certaines cytokines pro-inflammatoires. La testostérone a entraîné une augmentation significative ($p < 0,01$; $p < 0,001$) des taux de TNF- α , IL-1 β et IL-6 par rapport aux rats normaux. Tout comme la finastéride, l'huile de graines de *C. sativus* ainsi que l'extrait de graines entières ont réduit de manière significative les taux sériques de TNF- α ($p < 0,05$), IL-1 β ($p < 0,01$) et IL-6 ($p < 0,05$) principalement aux doses de 170 mg/kg pour l'huile et 500 mg/kg PC pour l'extrait des graines entières comparés aux rats HBP.

Tableau XVIII: Effet d'un traitement de 28 jours avec l'huile de *C. sativus* sur le taux sérique de certaines cytokines pro-inflammatoires chez les rats HBP.

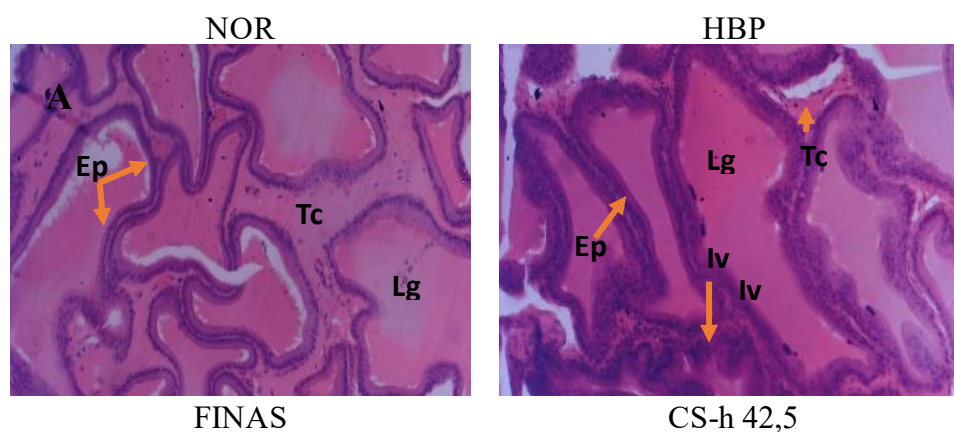
Groupes	Concentration dans le sérum ($\mu\text{g/ml}$)		
	TNF α	IL1 β	IL-6
NOR	142,4 \pm 9,6	727,9 \pm 50,7	4,8 \pm 0,2
HBP	221,6 \pm 6,4##	870,9 \pm 10,3##	5,8 \pm 0,14###
FINAS	142,4 \pm 6,4**	677,5 \pm 4,8***	5,1 \pm 0,1
CS-h 42,5	248,1 \pm 16,1	832,5 \pm 25,4	6,2 \pm 0,2
CS-h 85	179,2 \pm 20,1	749,2 \pm 26,8*	5,5 \pm 0,1

CS-h 170	175,7 ± 8,7*	753,6 ± 7,4**	5,1 ± 0,1*
CS 500	148,1 ± 5,2**	696,5 ± 10,3***	5,1 ± 01

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-h = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et aux graines *C. sativus* entières à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs ± ESM, n=6. ## $p < 0,01$: différence significative par rapport aux normaux, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe HBP.

III.1.5.4- Effet de l'huile sur la prolifération de l'épithélium prostatique

Les coupes transversales de la prostate colorées à l'hématoxiline-éosine (H&E) ont montré que l'huile de graines de *C. sativus* tout comme la finastéride a réduit la taille de l'épithélium prostatique à une simple couche de cellules comme chez les rats normaux (Figure 23). La mesure de la taille de l'épithélium prostatique a montré que la testostérone a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) de la taille de l'épithélium prostatique (Figure 23'). La finastéride ($p < 0,001$), l'huile à toutes les doses testées ($p < 0,01$ à 42,5 mg/kg et $p < 0,001$ à 85 et 170 mg/kg BW) et l'extrait des graines entières ($p < 0,001$) ont diminué de manière significative la taille de l'épithélium prostatique comparés au rat HBP.



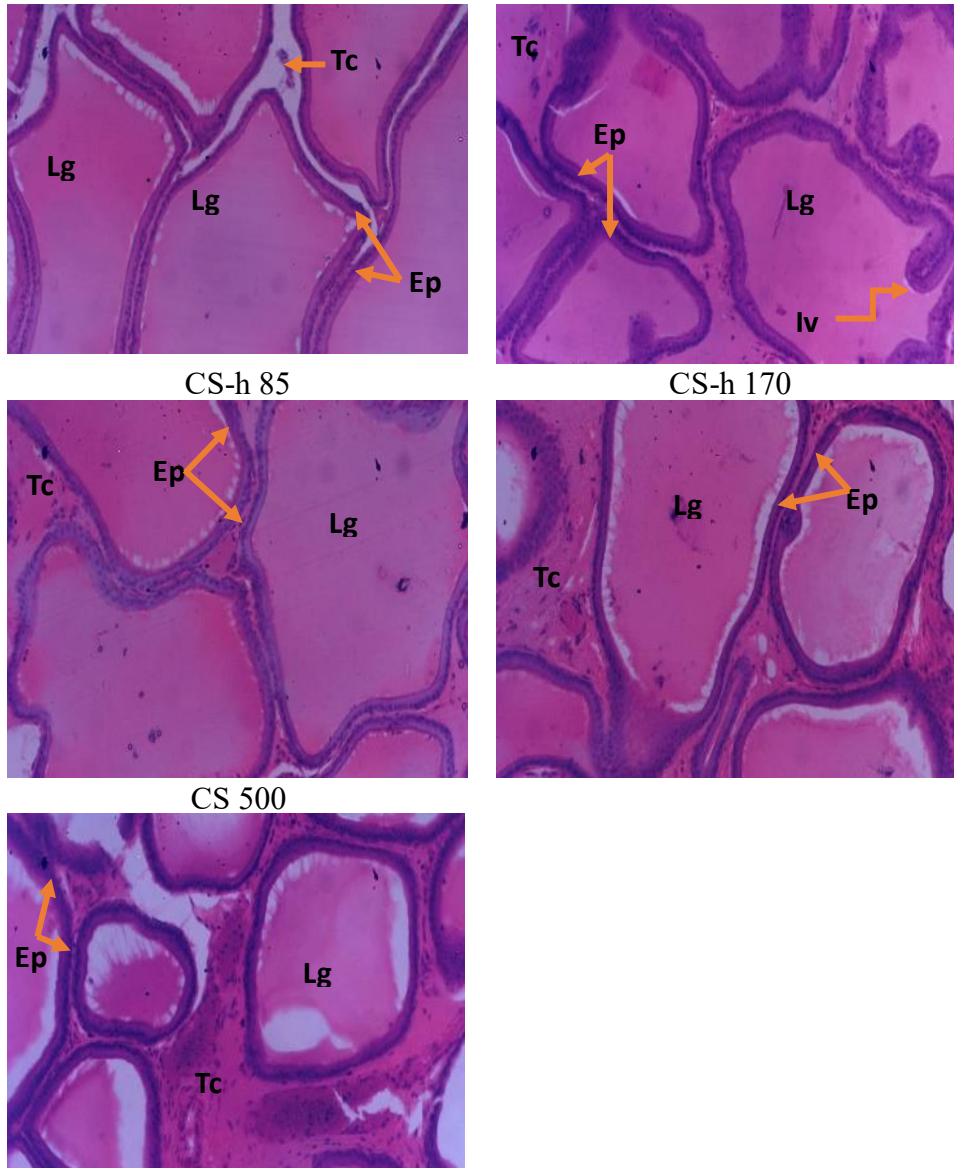


Figure 23: Microphotographies des coupes colorées à l'H&E et filmés au grossissement 100 de la prostate.

Légende : **Ep** = épithélium ; **Iv** = Involution; **Tc** = tissus connecteurs; **Lg** = lumière glandulaire.

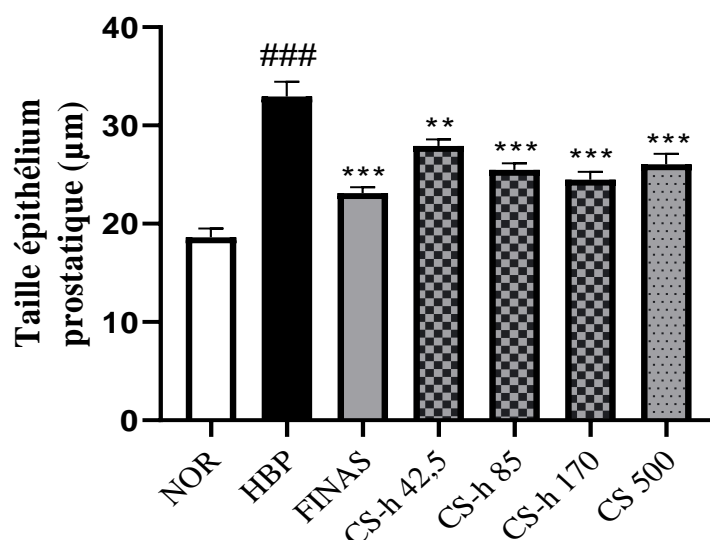


Figure 23': Représentation schématique de l'effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur la taille de l'épithélium prostatique.

NOR = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée ; HBP = rats traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et ayant reçu de l'eau distillée pendant 28 jours ; FINAS = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et au finastéride (5 mg/kg) ; CS-h = rats co-traités à l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats co-traités avec de l'énanthate de testostérone (3 mg/kg) et à l'extrait total des graines *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des valeurs \pm ESM, n=6. ### $p < 0,001$: différence significative par rapport aux normaux. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe HBP.

III.2- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur le cancer de la prostate induit chez le rat

III.2.1- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'évolution pondérale

La Figure 24 montre l'évolution de la masse corporelle des animaux durant les 28 semaines d'expérimentation. A la 9^{ème} semaine de traitement, on observe une faible croissance ($p < 0,01$) chez les animaux traités à l'huile de *C. sativus* à toutes les doses testées comparés aux animaux du groupe témoin négatif. A la 13^{ème} semaine, seuls les animaux traités avec l'huile à la dose de 170 mg/kg ont présenté une faible croissance corporelle. Entre la 13^{ème} et à la 21^{ème} semaine, on note une baisse significative ($p < 0,01$) de la croissance chez les animaux du groupe témoin négatif comparé aux animaux du groupe témoin normal. A partir de la 21^{ème} semaine de traitement, aucune différence significative n'a été observé jusqu'à la fin du traitement.

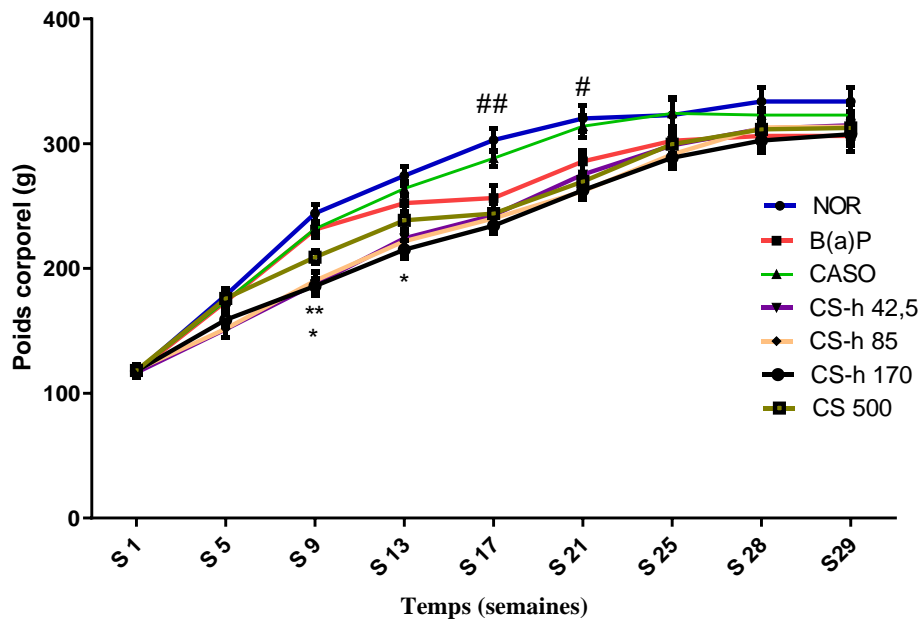


Figure 24: Evolution pondérale des animaux suivis pendant sept mois de traitement suite à l'induction du cancer de la prostate.

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne des masses corporelles \pm ESM, n = 8. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2- Effet de l'huile de *C. sativus* sur quelques paramètres prostatiques chez les rats cancéreux

III.2.2.1- Effet de l'huile de *C. sativus* sur l'incidence, la charge tumorale et le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale

Les effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'incidence, la charge tumorale et le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale après 28 semaines de traitement sont présentés sur le tableau XIX. Les rats du groupe témoin négatif ont présenté une incidence tumorale de 75 % avec une charge tumorale de $36,61 \pm 4,72$ g. Le traitement avec le casodex a réduit l'incidence des tumeurs à 0% avec un pourcentage d'inhibition de la charge tumorale de 100 %. Les rats traités à l'huile de *C. sativus* ainsi qu'à l'extrait des graines totales ont présenté une diminution dose-dépendante de la charge tumorale allant de $23,56 \pm 3,32$ g chez les animaux traités avec la dose de 42,5 mg/kg à $0,72 \pm 0,10$ g chez ceux traités avec la dose de 170 mg/kg (Tableau XIX). L'incidence tumorale varie de 62,5 % chez les animaux traités avec l'huile à la dose de 42,5 mg/kg à 12,5 %

chez ceux traités avec ce même extrait à la dose de 170 mg/kg. De même, le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale varie de 27,25 % chez les animaux traités avec l'huile la dose de 42,5 mg/kg à 88,79 % ceux traités avec l'huile à la dose de 170 mg/kg.

Tableau XIX : Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'incidence tumorale, la charge tumorale et le pourcentage d'inhibition de la charge tumorale

Paramètres	Nombre de rats avec tumeur	Incidence tumorale (%)	Charge tumorale (g)	Inhibition liée à la charge tumorale (%)
NOR	0	0	-	-
B(a)P	6/8	75	36,6 ± 4,7	-
CASO	0/8	0	-	100
CSt-h 42,5	5/8	62,5	23,6 ± 3,3	27,3
CSt-h 85	3/8	37,5	3,3 ± 0,7	49,4
CSt-h 170	1/8	12,5	0,9 ± 0,0	88,8
CS 500	3/8	37,5	0,7 ± 0,1	83,9

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs de la charge tumorale représentent les moyennes ± ESM, n = 8.

III.2.2.2- Effet de *C. sativus* sur la morphologie de la prostate fraîche

La figure 25 présente la morphologie de la prostate fraîche après sept mois de traitement. Les solutions de gavage ont réduit considérablement la taille de la prostate avec une effet optimal chez les animaux traités au casodex suivi de ceux recevant l'extrait des graines totales et de l'huile à la dose de 170 mg/kg.

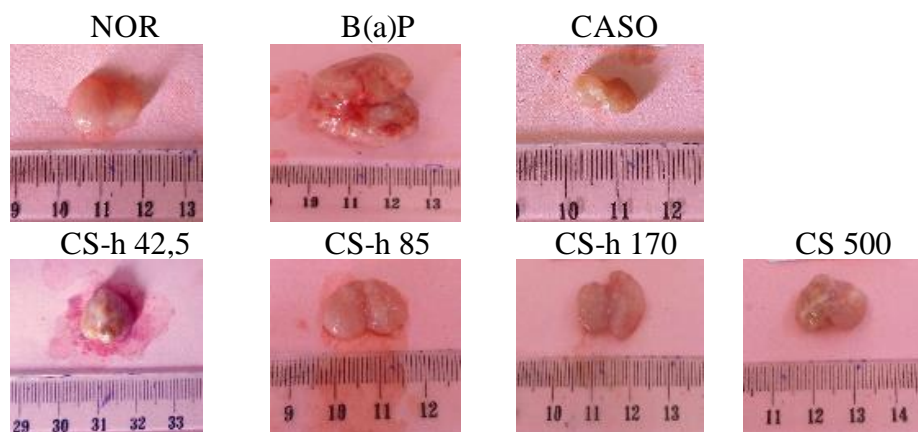


Figure 25: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la morphologie de la prostate après 7 mois de traitement. NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant

reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate.

III.2.2.3- Effet de l'huile de *C. sativus* sur la masse, le volume de la prostate ventrale et le taux de protéines totales dans la prostate

Les résultats de l'effet des graines de *C. sativus* sur le cancer de la prostate sont résumés sur la figure 26. L'administration du benzo(a)pyrène a entraîné une augmentation significative de la masse relative de la prostate ($p < 0,01$), du volume de la prostate ($p < 0,05$), du taux de protéines totales prostatiques ($p < 0,01$) et du taux de PSA comparé au témoin normal. Le casodex a réduit significativement ($p < 0,01$) ces paramètres. L'huile de graines de *C. sativus* a induit une diminution significative et dose-dépendante de la masse relative de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$), du volume de la prostate ($p < 0,05$), du taux de protéines totales ($p < 0,05$; $p < 0,01$) et du taux de PSA ($p < 0,05$) surtout aux doses de 85 et 170 mg/kg pour l'huile et 500 mg/kg pour les graines totales comparés au groupe non traité (B(a)P).

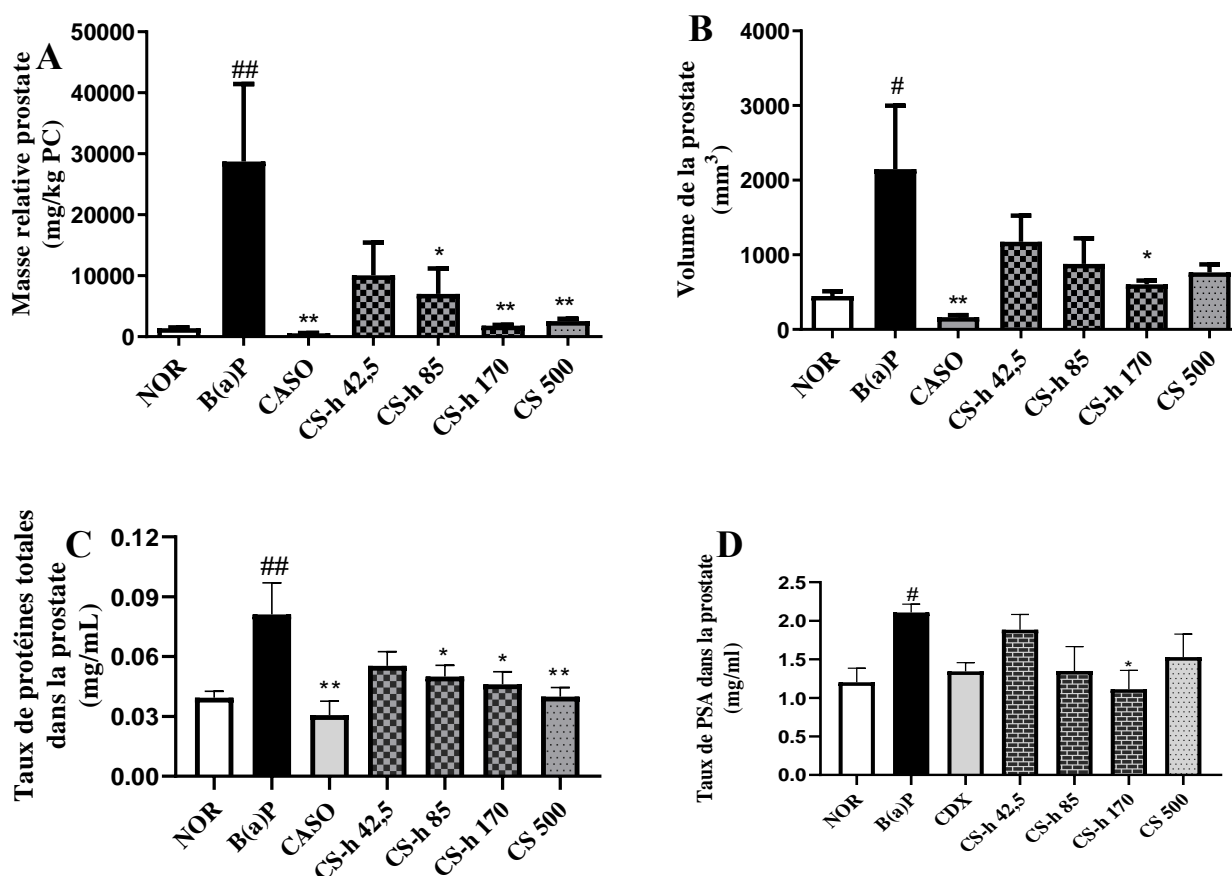


Figure 26: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la masse relative (A), le volume (B) et le taux de protéines totales (C). NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de

maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs de la charge tumorale représentent les moyennes \pm ESM, n = 8. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2.4- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques paramètres du stress oxydatif

Le tableau XX montre les effets des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs du stress oxydatif du tissu prostatique des animaux expérimentaux. Il ressort que l'administration du B(a)P a induit une diminution significative des taux de SOD ($p < 0,01$), de GSH ($p < 0,001$) et de l'activité de la catalase ($p < 0,001$) par rapport aux rats du groupe témoin normal. En revanche, l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg a prévenu le stress oxydatif induit par le carcinogène par une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de GSH. De même, seul l'extrait des graines totales tout comme le traitement de référence a diminué significativement l'activité de la catalase ($p < 0,01$) en comparaison au témoin négatif.

D'autre part, l'administration du carcinogène (B(a)P) a induit une augmentation significative des concentrations des nitrites ($p < 0,01$) et du MDA ($p < 0,001$) comparés au groupe de contrôle normal. Le traitement avec l'huile à toutes les doses testées et l'extrait des graines totales de *C. sativus* ainsi qu'avec le casodex (groupe positif) ont protégé contre la peroxydation lipidique par une diminution significative ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,01$) de ces paramètres.

Tableau XX: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs du stress oxydatif dans la prostate

Groupes	Nitrite ($\mu\text{mol/g}$ de protéine)	MDA ($\mu\text{mol/g}$ de protéine)	Catalase (mM de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min/g}$ de protéine)	SOD (SOD unités/g de protéine)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ de protéine)
NOR	0,8 \pm 0,2	10,0 \pm 1,2	735,9 \pm 94,6	4200,6 \pm 701,5	78,3 \pm 8,4
B(a)P	2,6 \pm 0,5##	48,9 \pm 3,3###	275,3 \pm 62,6###	1980,2 \pm 314,4##	35,1 \pm 7,1###
CASO	0,8 \pm 0,2**	35,8 \pm 7,1*	597,9 \pm 109,8*	2972,5 \pm 549,2	51,5 \pm 5,9
CSt-h 42,5	0,6 \pm 0,2***	15,0 \pm 1,1***	305,9 \pm 54,8	2071,2 \pm 273,2	28,8 \pm 5,9
CSt-h 85	1,2 \pm 0,4*	13,4 \pm 1,5***	420,8 \pm 76,3	2220,1 \pm 186,9	42,9 \pm 6,2
CSt-h 170	0,8 \pm 0,6**	21,3 \pm 3,2***	405,7 \pm 47,5	2434,4 \pm 454,2	61,6 \pm 7,9*
CS 500	0,8 \pm 0,2**	21,3 \pm 2,7***	556,3 \pm 63,0*	2786,5 \pm 526,7	51,1 \pm 5,5

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats

servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne \pm ESM, n = 8. ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$; différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2.5- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs de l'inflammation chez les rats cancéreux

Les effets du B(a)P et de l'huile des graines de *C. sativus* sur certaines cytokines pro- et anti-inflammatoires sont présentés dans le tableau XXI. L'exposition au B(a)P a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de Tumor Necrosing Factor alpha (TNF- α), d'interleukine 1-beta (IL-1 β) ($p < 0,001$) et d'interleukine 6 (IL-6) ($p < 0,001$) ainsi qu'une diminution significative du taux d'interleukine 10 (IL-10) ($p < 0,001$) chez les animaux du groupe témoin négatif en comparaison au groupe témoin normal. Le traitement avec l'huile aux doses de 85 et 170 mg/kg ($p < 0,01$ et $p < 0,001$) ainsi que l'extrait des graines totales de *C. sativus* ($p < 0,01$ et $p < 0,001$) ont induit une réduction significative des concentrations de l'IL-6, de l'IL-1 β et du TNF- α et une augmentation significative ($p < 0,05$) de la concentration de l'IL-10 en comparaison au groupe témoin négatif. L'administration du casodex a réduit significativement ($p < 0,001$) les concentrations de l'IL-6, de l'IL-1 β et du TNF- α et augmenté significativement ($p < 0,001$) celle de l'IL-10.

Tableau XXI: Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs de l'inflammation

Groupes	IL-1 β (pg/ml)	TNF α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
NOR	683,3 \pm 24,5	158,8 \pm 5,0	6,28 \pm 0,11	104,1 \pm 2,1
B(a)P	995,3 \pm 31,2###	217,2 \pm 6,7###	7,24 \pm 0,10###	91,6 \pm 1,9###
CASO	754,4 \pm 18,19***	160,3 \pm 6,4***	6,17 \pm 0,15***	108,5 \pm 1,4***
CSt-h 42,5	937,4 \pm 20,27	220,0 \pm 7,4	7,28 \pm 0,22	87,3 \pm 1,8
CSt-h 85	876,6 \pm 30,0 **	180,6 \pm 9,4**	6,64 \pm 0,11**	101,3 \pm 2,9*
CSt-h 170	871,9 \pm 14,1**	155,5 \pm 3,6***	6,17 \pm 0,08***	107,8 \pm 1,4***
CS 500	671,9 \pm 28,7***	156,8 \pm 7,6***	6,24 \pm 0,09***	103,8 \pm 2,9**

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne \pm ESM, n = 8. ### $p < 0,001$; différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2.6- Effet de l'huile *C. sativus* sur l'histologie de la prostate

Les microphotographies des coupes de la prostate grossis 40 fois ont révélé un adénocarcinome de Gleason 8 (4+4) avec une gaine péri-nerveuse caractérisée par une architecture cellulaire altérée, une hypertrophie cellulaire et une dysplasie dans le groupe témoin négatif (Figure 27). Les coupes de prostate des groupes contrôles normal et positif ont montré des acini avec une architecture prostatique normale. L'administration d'huile de graines de *C. sativus* à la faible dose (CS-h 42,5) a montré une hyperplasie glandulaire floride associée à un adénocarcinome papillaire de bas grade. La dose de 85 mg/kg a protégé contre le cancer induit par le benzopyrène par une présentation d'hyperplasie glandulaire proliférative papillaire des cellules stromales et la dose la plus élevée (CS-h 170) a montré une hyperplasie glandulaire floride avec différentes tailles de cellules et des capsules épaissies. Le groupe traité avec l'extrait des graines totales de *C. sativus* (CS 500) a également montré une hyperplasie glandulaire proliférative.

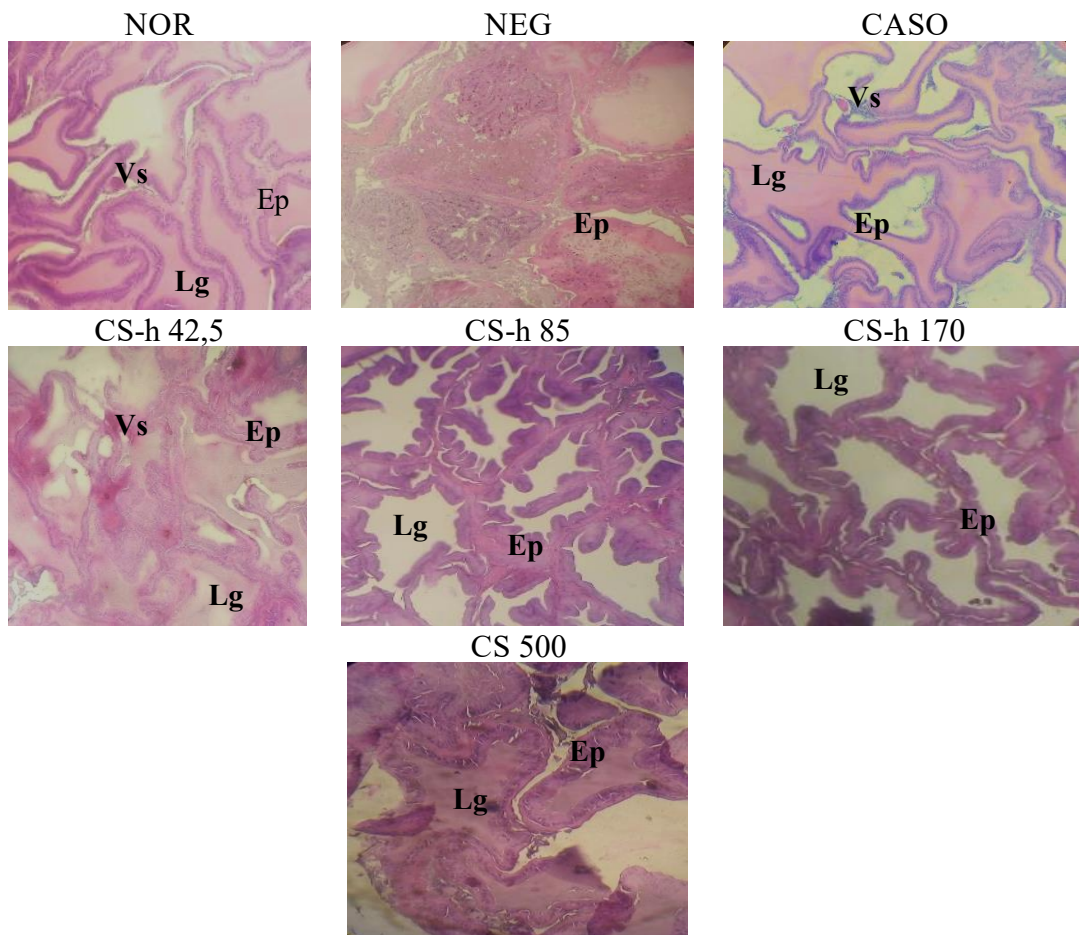


Figure 27: Microphotographies des coupes histologiques colorées à l'H&E et filmées au grossissement 100 des prostates des rats soumis à un traitement de 28 semaines.

Légende: **Ep** = épithélium ; **Iv** = Involution ; **Tc** = tissus connecteurs ; **Lg** = lumière glandulaire ; **Vs** = Vaisseaux sanguins.

III.2.3- Effet de l'huile de *C. sativus* sur la masse relative de quelques organes chez les rats

Le tableau XXII montre les effets de *C. sativus* sur la masse relative de plusieurs organes. Il ressort que l'exposition au B(a)P a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de la masse relative de la rate. Par contre, l'huile extraite des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg a réduit significativement ($p < 0,05$) ce paramètre. Le traitement au casodex a réduit significativement la masse des vésicules séminales ($p < 0,001$), de l'épididyme ($p < 0,05$) et du pénis ($p < 0,05$) comparés au groupe témoin normal et négatif. L'huile extraite des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ($p < 0,01$) ainsi que l'extrait des graines totales ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de la masse des testicules en comparaison aux animaux du groupe témoin négatif.

Tableau XXII: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la masse relative de quelques organes chez les cancéreux

Organes	NOR	NEG	CASO	CSt-h 42,5	CSt-h 85	CSt-h 170	CS 500
Vésicules Séminales	5,11 ± 0,15	5,28 ± 0,22	1,41 ± 0,08***	5,27 ± 0,39	4,92 ± 0,42	5,48 ± 0,37	5,99 ± 0,39
Epididyme	3,08 ± 0,16	3,07 ± 0,20	2,10 ± 0,13*	3,15 ± 0,32	3,17 ± 0,31	3,29 ± 0,16	3,44 ± 0,25
Testicules	8,98 ± 0,34	8,25 ± 0,20	8,65 ± 0,29	8,38 ± 0,31	8,59 ± 0,20	9,75 ± 0,27**	9,52 ± 0,14*
Pénis	0,81 ± 0,03	0,87 ± 0,03	0,69 ± 0,04*	0,83 ± 0,06	0,88 ± 0,04	0,91 ± 0,03	0,92 ± 0,04
Surrénales	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,02
Foie	2,64 ± 0,58	2,82 ± 1,06	2,68 ± 0,93	2,56 ± 0,90	2,79 ± 1,72	2,59 ± 0,87	2,67 ± 1,26
Reins	4,66 ± 0,11	5,47 ± 0,39	4,52 ± 0,15	5,36 ± 0,25	5,23 ± 0,24	4,90 ± 0,11	5,39 ± 0,21
Rate	3,31 ± 0,21	4,38 ± 0,29#	3,51 ± 0,18	4,26 ± 0,27	3,60 ± 0,34	3,20 ± 0,10*	4,01 ± 0,39
Poumons	5,14 ± 0,27	6,37 ± 0,36	6,29 ± 0,56	5,98 ± 0,44	6,80 ± 0,37	5,89 ± 0,28	5,68 ± 0,29
Cœur	2,75 ± 0,05	3,03 ± 0,18	2,70 ± 0,08	2,63 ± 0,19	2,71 ± 0,13	2,90 ± 0,12	3,51 ± 0,42

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne ± ESM, n = 8. # $p < 0,05$; différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.4- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs des fonctions hépatique chez des rats

Les effets de l'administration du benzopyrène sur les concentrations de transaminases (ASAT, ALAT), de créatinine et d'urée sont présentés dans le tableau XXIII. Il ressort que ce carcinogène a induit une augmentation significative ($p < 0,001$) des activités de l'ASAT et de l'ALAT ainsi que des taux de créatinine dans le groupe témoin négatif comparés au groupe témoin normal. Le traitement avec l'huile à toutes les doses testées des graines totales tout comme le casodex a protégé contre les effets délétères du B(a)P sur le foie par une réduction significative des activités de l'ASAT ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) et de l'ALAT ($p < 0,05$; $p < 0,01$) comparés aux rats du groupe témoin négatif (B(a)P). Aucune différence significative n'a été observée sur la concentration en urée entre les différents groupes tout au long de l'expérimentation.

Tableau XXIII: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur les fonctions hépatiques (ASAT et ALAT) et rénales (créatinine et urée)

Groupes	ASAT (U/I)	ALAT (U/I)	Créa (mg/mL)	Urée (mg/mL)
NOR	8,29 ± 0,25	13,75 ± 0,99	0,33 ± 0,00	0,25 ± 0,00
B(a)P	11,96 ± 0,96 ##	22,15 ± 0,49 ####	0,43 ± 0,01 ####	0,26 ± 0,00
CASO	8,92 ± 0,53*	13,73 ± 0,52**	0,32 ± 0,00	0,24 ± 0,00
CS-h 42,5	7,03 ± 0,52 ***	16,47 ± 1,99*	0,31 ± 0,01	0,25 ± 0,00
CS-h 85	8,27 ± 0,84 **	14,72 ± 1,25**	0,31 ± 0,01	0,25 ± 0,00
CS-h 170	8,98 ± 0,99 *	14,93 ± 1,08**	0,30 ± 0,00	0,25 ± 0,00
CS 500	8,50 ± 0,79 *	16,69 ± 1,55*	0,30 ± 0,00	0,23 ± 0,00

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne ± ESM, n = 8. ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin normal. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.5- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur le profil lipidique chez des rats cancéreux

Le tableau XXIV présente les effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques marqueurs lipidiques. Il ressort de ce tableau que l'administration du benzopyrène a induit chez animaux témoin négatif une augmentation significative des concentrations du cholestérol " Low Density Lipoproteins " (LDL) ($p < 0,01$) et de l'index athérogène (IA) ($p < 0,05$) comparés au

groupe témoin normal. Le traitement de référence (casodex) a augmenté significativement la concentration sérique en de cholestérol "High Density Lipoproteins " (HDL) ($p < 0,01$) et réduit significativement celles de LDL ($p < 0,05$) et d'IA ($p < 0,05$) en comparaison au témoin normal. De même, l'huile de *C. sativus* a augmenté de façon significative la concentration de HDL ($p < 0,01$) et réduit significativement celle des LDL ($p < 0,05$) surtout à la dose de 85 mg/kg. L'extrait total a réduit significativement ($p < 0,01$) la concentration des triglycérides comparé au témoin négatif.

Tableau XXIV: Effets de l'huile des graines *C. sativus* sur la lipidémie chez des rats ayant cancer de la prostate

Groupes	CT (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	TG (mg/dL)	IA (mg/dL)
NOR	283,3 ± 11,8	172,5 ± 7,6	75,2 ± 16,0	121,1 ± 6,1	1,64 ± 0,08
B(a)P	306 ± 10,2	156,7 ± 9,9	136,9 ± 16,6###	136,1 ± 5,0	1,95 ± 0,2#
CASO	297,2 ± 12,1	213,0 ± 7,6**	58,2 ± 4,9*	121,7 ± 8,4	1,40 ± 0,03*
CS-h 42,5	289,2 ± 14,1	191,2 ± 8,7	78,3 ± 13,2*	118,1 ± 8,0	1,51 ± 0,08
CS-h 85	301,6 ± 7,8	200,4 ± 9,5**	72,7 ± 9,8*	136,8 ± 7,6	1,50 ± 0,06
CS-h 170	286,7 ± 13,1	179,4 ± 6,6	81,2 ± 13,7	128,4 ± 6,9	1,60 ± 0,09
CS 500	271,8 ± 14,6	144,6 ± 12,7	105,6 ± 14,9	99,7 ± 8,9**	1,88 ± 0,13

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne ± ESM, n = 8. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin normal. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif.

III.2.6- Effet de l'huile des graines de *C. sativus* sur quelques paramètres hématologiques chez les rats cancéreux

Les résultats consignés dans le tableau XXV montrent les effets de l'huile et des graines de *C. sativus* sur quelques paramètres hématologiques après 210 jours de traitement. Il ressort que l'administration du benzo(@)pyrène a induit une diminution significative ($p < 0,01$) du nombre de globules blancs comparé au contrôle normal. Par ailleurs une augmentation significative du pourcentage de monocytes ($p < 0,05$) et de granulocytes ($p < 0,001$) a été observée. Tout comme le casodex, l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg a induit une augmentation significative ($p < 0,01$) du pourcentage lymphocytaire comparé au témoin négatif. Par contre, une diminution significative ($p < 0,001$) et à toutes les doses testées du pourcentage de granulocytes a été observée en comparaison au groupe contrôle négatif. Une augmentation significative ($p < 0,01$)

du pourcentage d'hématocrite et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) a été observé respectivement avec l'huile de *C. sativus* aux doses de 170 mg/kg et 42,5 mg/kg en comparaison au groupe témoin négatif. Malgré ces variations, ces valeurs restent dans la marge des valeurs normales.

Tableau XXV: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* quelques paramètres hématologiques chez les rats cancéreux

	VRM	NOR	B(a)P	CASO	CS-h 42,5	CS-h 85	CS-h 170	CS 500
Globules blancs (10 ³ /μL)	3-18	11,66 ± 1,85	6,45±1,12 #	10,88±1,80	4,40±1,07	8,36±0,96	8,32±0,77	6,17±0,06
Lymphocytes (%)	53-54	75,29 ± 1,91	63,67 ± 4,86	84,02 ± 0,22**	68,68 ± 2,28	65,69 ± 3,51	72,46 ± 2,16**	63,80 ± 5,18
Monocytes (%)	0-6	8,16 ± 1,57	13,12 ± 0,96#	4,48 ± 0,88**	11,63 ± 1,46	8,62 ± 1,53	7,37 ± 0,99	12,96 ± 1,81
Granulocytes (%)	5-53	23,35 ± 3,16	38,53 ± 2,74####	13,08 ± 1,06***	18,81 ± 2,16***	25,56 ± 2,19***	9,38 ± 2,19***	18,00 ± 1,66***
Globules rouges (10 ⁶ /μL)	5-10	8,09 ± 0,28	7,35 ± 0,30	8,62 ± 0,26	7,68 ± 0,30	7,39 ± 0,79	7,60 ± 0,27	8,51 ± 0,34
Hématocrite (%)	42-50	44,91 ± 1,43	40,06 ± 1,54	47,64 ± 1,10	42,72 ± 1,98	41,19 ± 3,18	47,40 ± 1,79*	44,63 ± 2,10
Hémoglobine (g/dL)	10-17	13,76 ± 0,27	13,5 ± 0,33	13,96 ± 0,29	14,02 ± 0,46	12,16 ± 1,08	12,86 ± 0,18	13,98 ± 0,44
VCM (fL)	42-64	55,57 ± 0,49	54,59 ± 0,73	55,32 ± 0,76	55,57 ± 0,63	54,17 ± 0,59	54,94 ± 0,81	52,42 ± 0,65
HCM (pg)	15-21	17,26 ± 0,43	18,01 ± 0,46	15,82 ± 0,46*	18,52 ± 0,37	17,23 ± 0,73	15,02 ± 0,46	16,48 ± 0,47
CCMH (g/dL)	28-37	30,06 ± 0,95	31,38 ± 0,86	29,32 ± 0,17	34,18 ± 0,28*	29,25 ± 0,94	27,31 ± 0,93	31,43 ± 0,28
Plaquettes (10 ³ /μL)	200-1100	612,13± 38,54	667,86 ± 48,61	715,2 ± 38,97	535,16 ± 52,84	556,8 ± 75,17	600,28 ± 45,27	487,5 ± 61,32

NOR = rats normaux ayant reçu de l'huile de maïs ; B(a)P = rats servant de témoin négatif et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 7 mois ; CASO = rats servant de témoin positif et traité au casodex à la dose de 12,5 mg/kg ; CS-h = rats servant de groupes tests et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg, CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités aux graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Tous les rats exceptés ceux du groupe normal ont été exposés à 50 mg/kg d'acétate de cyprotérone, 12,5 mg/kg de benzopyrène et 10 mg/kg/semaine de testostérone pour l'induction du cancer de la prostate. Les valeurs représentent la moyenne ± ESM, n = 8. #*p* < 0,05 ; ####*p* < 0,001 : différence significative par rapport au témoin normal. **p* < 0,05 ; ***p* < 0,01 ; ****p* < 0,001 : différence significative par rapport au témoin négatif. HCM : Hémoglobine corpusculaire moyenne, CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, VCM : Volume corpusculaire moyen, VRM : Valeurs de références chez les mâles.

III.3- Evaluation des modes d'action de l'huile des graines de *C. sativus*

III.3.1- Effet anti-androgénique

Le figures 28 illustre les effets anti-androgéniques de l'huile des graines de *C. sativus* sur les masses relatives de la prostate (Figure 28 A), des vésicules séminales (Figure 28 B), du gland (Figure 30 C) et de la glande de tyson (Figure 28 D). Il ressort que la castration a entraîné une réduction significative ($p < 0,05$) de la masse relative de la prostate ventrale, des vésicules séminales et du gland comparé au groupe non castré (SHAM) après 17 jours. La testostérone administrée aux animaux castrés à la dose de 0,4 mg/kg pendant 10 jours a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de la masse relative de ces paramètres ainsi que celle de la glande de tyson. Tout comme le flutamide (3 mg/kg), l'huile extraite des graines de *C. sativus* a réduit significativement la masse relative de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$), des vésicules séminales ($p < 0,01$), du gland ($p < 0,05$) et de la glande de tyson ($p < 0,001$) comparé au groupe ayant reçu uniquement la testostérone. L'extrait des graines totales n'a réussi à réduire de façon significative que la masse des vésicules séminales ($p < 0,01$) et du gland de tyson ($p < 0,001$).

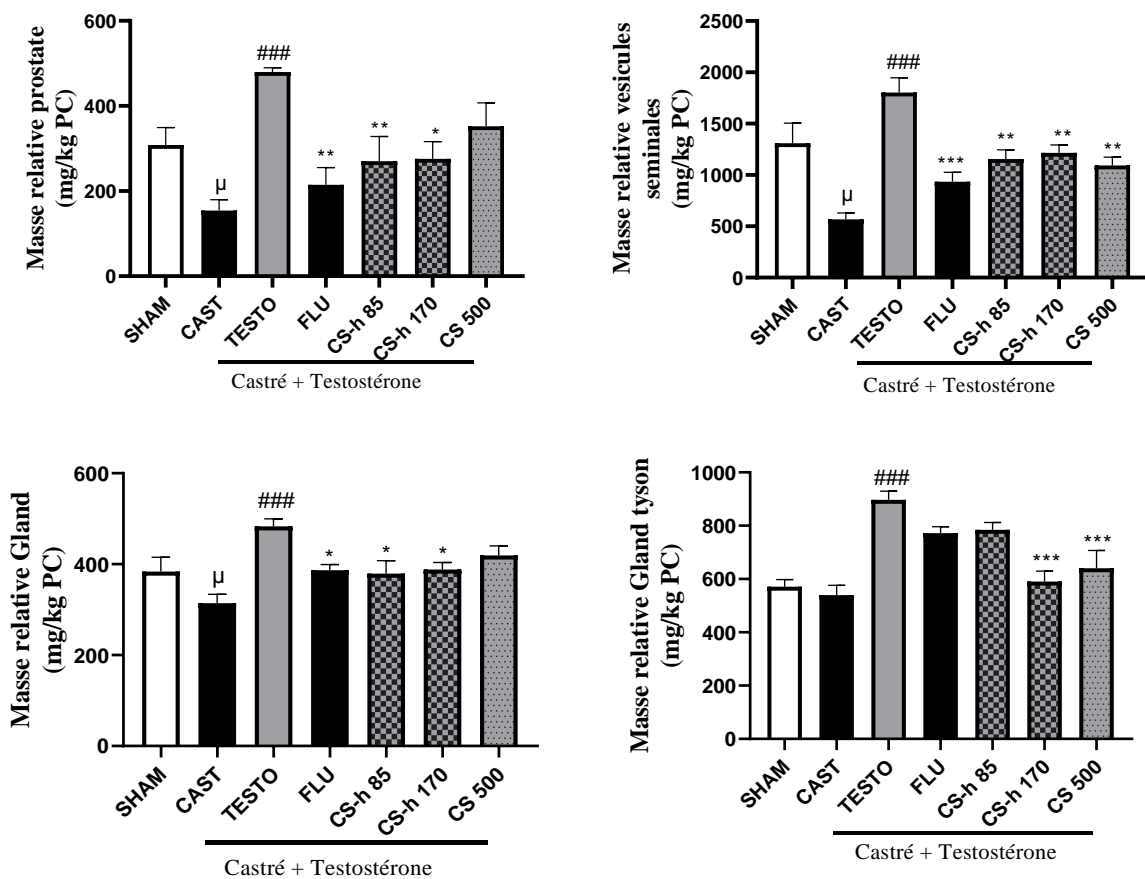


Figure 28: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur les masses relatives de la prostate (A), des vésicules séminales (B), du gland (C) et du gland de tyson (D).

SHAM = rats ayant subi une chirurgie blanche et recevant de l'huile de maïs; CAST = rats castrés et ayant reçu de l'huile de maïs pendant 10 jours; TESTO = rats castrés et ayant reçus la testostérone à la dose de 0,4 mg/kg ; FLU=

rats castrés et cotraités avec la testostérone à la dose de 0,4 mg/kg et le flutamide à la dose de 3 mg/kg ; CS-h = rats castrés et cotraités avec la testostérone à la dose de 0,4 mg/kg et l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 85 et 170 mg/kg ; CS = rats castrés et cotraités avec la testostérone à la dose de 0,4 mg/kg et l'extrait des graines totales de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses corporelles \pm ESM, n=5. $\mu p < 0,05$: différence significative par rapport au témoin normal, ### $p < 0,001$: différence significative par rapport au castré, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe castré et traité à la testostérone.

III.3.2- Effet oestrogénique

Les effets potentialisateurs des œstrogènes, de l'huile et de l'extrait des graines totales de *C. sativus* sur les masses relatives des testicules, de la prostate, des vésicules séminales, de l'épididyme, du canal déférent et du pénis sont représentés par le tableau XXVI. Il ressort de ce résultat que le fulvestrant a entraîné une réduction significative des masses relatives de la prostate ($p < 0,05$) et des vésicules séminales ($p < 0,01$) comparé au témoin normal. Le letrozole (LETRO) quant à lui a entraîné une réduction non significative de ces paramètres comparé aux animaux du groupe témoin normal après 28 jours de traitement. Le letrozole administré concomitamment avec l'œstradiol valérate (E₂V) a réduit significativement la masse de la prostate ($p < 0,05$) en comparaison au témoin normal. L'huile extraite des graines de *C. sativus* ainsi que le totum ont potentialisé les effets des œstrogènes par une réduction significative des masses relatives des testicules ($p < 0,05$), de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$), du canal déférent ($p < 0,05$; $p < 0,01$), et du pénis ($p < 0,05$) comparés au groupe LETRO.

Tableau XXVI: Effets potentialisateurs des œstrogènes de *C. sativus* sur les masses de quelques organes androgéno-dépendants

NOR= rats traités à l'huile de maïs; FASLO = rats traités avec le fulvestrant à la dose de 300 μ g/150 g; Letro = rats traités au letrozole à la dose de 0,5 mg/kg ; Letro+E2V= rats cotraités avec le letrozole à la dose de 0,5 mg/kg et l'œstradiol valérate à la dose de 400 μ g/kg ; LETRO+E2V+CS-h = rats cotraités avec le letrozole à la dose de 0,5

Groupes	Testicules	Prostate	Vésicules séminales	Epididyme	Canal déférent	Pénis
NOR	14,50 \pm 0,55	0,85 \pm 0,15	3,33 \pm 0,45	3,86 \pm 0,14	0,67 \pm 0,04	1,11 \pm 0,05
FASLO	12,56 \pm 0,93	0,32 \pm 0,06#	1,56 \pm 0,24##	3,28 \pm 0,20	0,61 \pm 0,04	0,96 \pm 0,08
LETRO	14,36 \pm 0,35	0,65 \pm 0,03	2,91 \pm 0,36	3,55 \pm 0,06	0,65 \pm 0,05	1,06 \pm 0,03
LETRO + E2V	11,97 \pm 0,73	0,33 \pm 0,05*	2,20 \pm 0,49	3,51 \pm 0,14	0,62 \pm 0,07	1,03 \pm 0,03
LETRO + E2V+ CS-h 42,5	9,21 \pm 1,61*	0,34 \pm 0,07	3,13 \pm 0,43	3,61 \pm 0,28	0,31 \pm 0,06**	0,70 \pm 0,05
LETRO + E2V + CS-h 85	10,30 \pm 1,25	0,37 \pm 0,06	1,73 \pm 0,36	2,65 \pm 0,42	0,50 \pm 0,07	0,95 \pm 0,1*
LETRO + E2V + CS-h 170	9,75 \pm 1,02*	0,35 \pm 0,07*	0,85 \pm 0,07**	3,05 \pm 0,11	0,36 \pm 0,03**	0,76 \pm 0,06*
LETRO + E2V + CS 500	8,73 \pm 2,27*	0,21 \pm 0,02**	2,24 \pm 0,57	3,20 \pm 0,18	0,40 \pm 0,09*	0,74 \pm 0,08*

mg/kg, l'œstradiol valérate à la dose de 400 μ g/kg et l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 42,5, 85 et 170 mg/kg ; LETRO+E2V+ CS 500 : rats cotraités avec le letrozole à la dose de 0,5 mg/kg, l'œstradiol valérate à la dose de 400 μ g/kg et l'extrait des graines totales de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne

des masses corporelles \pm ESM, n=5. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin normal, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport au témoin négatif (LETRO).

III.3.3- Activités antioxydantes *in vitro* des graines de *C. sativus*

Le tableau XXVII présente les concentrations inhibitrices 50 (CI 50) de l'huile et de l'extrait des graines totales pour les radicaux DPPH⁺ et ABTS⁺ ainsi que la capacité antioxydante totale de l'extrait des graines totales. Il ressort que les CI 50 de l'huile et de l'extrait total des graines de *C. sativus* pour le radical DPPH⁺ sont respectivement de $25,06 \pm 0,65$ mg/mL et $20,45 \pm 0,23$ mg/mL alors que ces valeurs pour le radical ABTS⁺ sont respectivement de 0,25 et 3,75 mgEq trolox/g matières sèches. La capacité antioxydante de tous les antioxydants présents dans l'extrait des graines totales est de $92,91 \pm 6,43$ mg Eq AA/g de matière sèche.

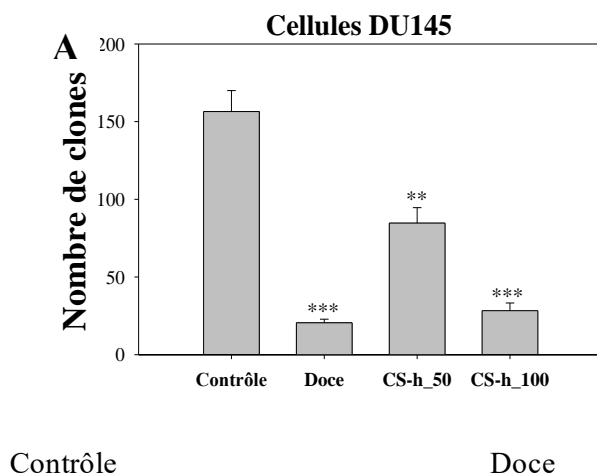
Tableau XXVII: Capacité antioxydante de l'huile et du *totum* des graines de *C. sativus*

	DPPH (CI 50) (mg/mL)	ABTS (mgEq trolox/g matières sèches)	Capacité anti-oxydante totale (mg Eq AA/g de matière sèche)
CS-h	$25,06 \pm 0,65$	0,25	
CS	$20,45 \pm 0,23$	3,75	$92,91 \pm 6,43$

III.4- Elucidation de quelques mécanismes d'action par lesquels de l'huile des graines de *C. sativus* exerce ses effets anticancéreux

III.4.1- Effet de l'huile de *C. sativus* sur la formation des colonies de cellules

La figure 29 A présente les effets de l'huile de graines de *C. sativus* sur la formation des clones de cellules DU145. Il ressort que le docétaxel ($p < 0,001$ à $1\mu\text{M}$) tout comme cette huile a inhibé la formation des clones des cellules DU145 ($p < 0,01$ à $50\mu\text{g/mL}$ et $p < 0,001$ à $100\mu\text{g/mL}$) en comparaison au contrôle. Les photomicrographies illustrées dans la figure 29 B montrent la taille moyenne des clones obtenus. On peut observer que l'huile des graines de *C. sativus* tout comme le docétaxel, a réduit le nombre ainsi que la taille des clones comparés à celle des cellules non traitées.



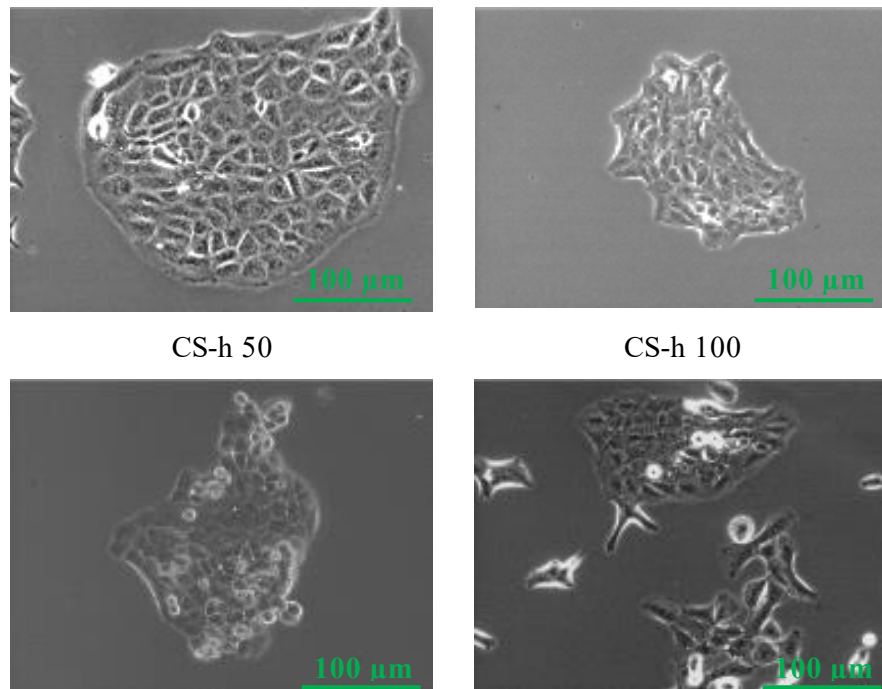
B

Figure 29 : Représentation graphique des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la formation des clones (A) et la taille des clones (B).

Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 µM ; CS-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux concentrations de 50 et 100 µg/mL ; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux cellules non traitées.

III.4.2- Effet de l'huile de *C. sativus* sur le mécanisme de mort cellulaire

La figure 32 montre que l'incubation pendant 24 heures des cellules DU 145 avec l'huile des graines de *C. sativus* a diminué leur viabilité et a entraîné une légère augmentation de la population de cellules apoptotiques comparé aux cellules contrôles, seulement à la concentration de 100 µg/mL. Ces effets observés sont inférieurs à ceux induits par le docétaxel.

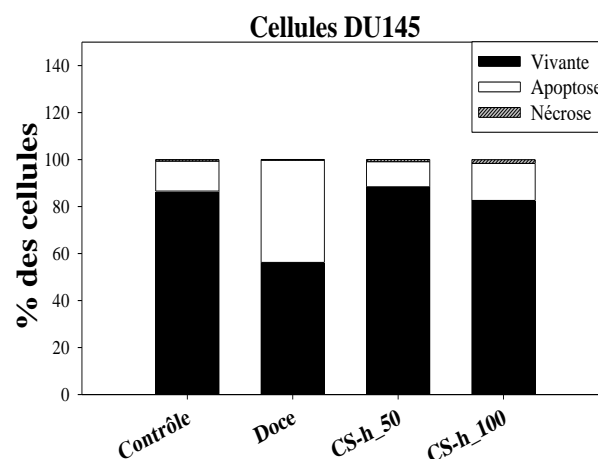


Figure 30: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la mort des cellules cancéreuses.

Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 μM ; CS-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux doses de 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$.

III.4.3- Effet anti-migration/invasion de l'huile de *C. sativus*

III.4.3.1- Effet de l'huile de *C. sativus* sur la cicatrisation cellulaire

Les figures 31 A et 31 B montrent que l'huile des graines de *C. sativus* inhibe la progression des cellules DU145 dans la zone libre des cellules après 12 et 24 heures, de manière concentration-dépendante. L'effet était similaire pour les concentrations de 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$ après 12 heures ($p < 0,05$), mais après 24 heures, seule la concentration la plus élevée était significative ($p < 0,01$). Cet effet était inférieur à celui induit par le docétaxel ($p < 0,001$ après 24 h).

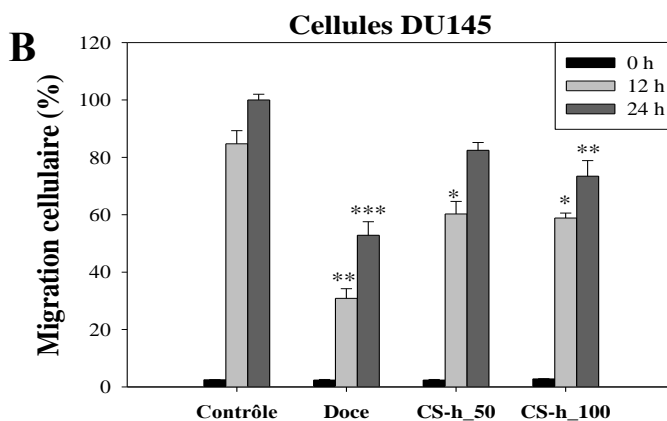
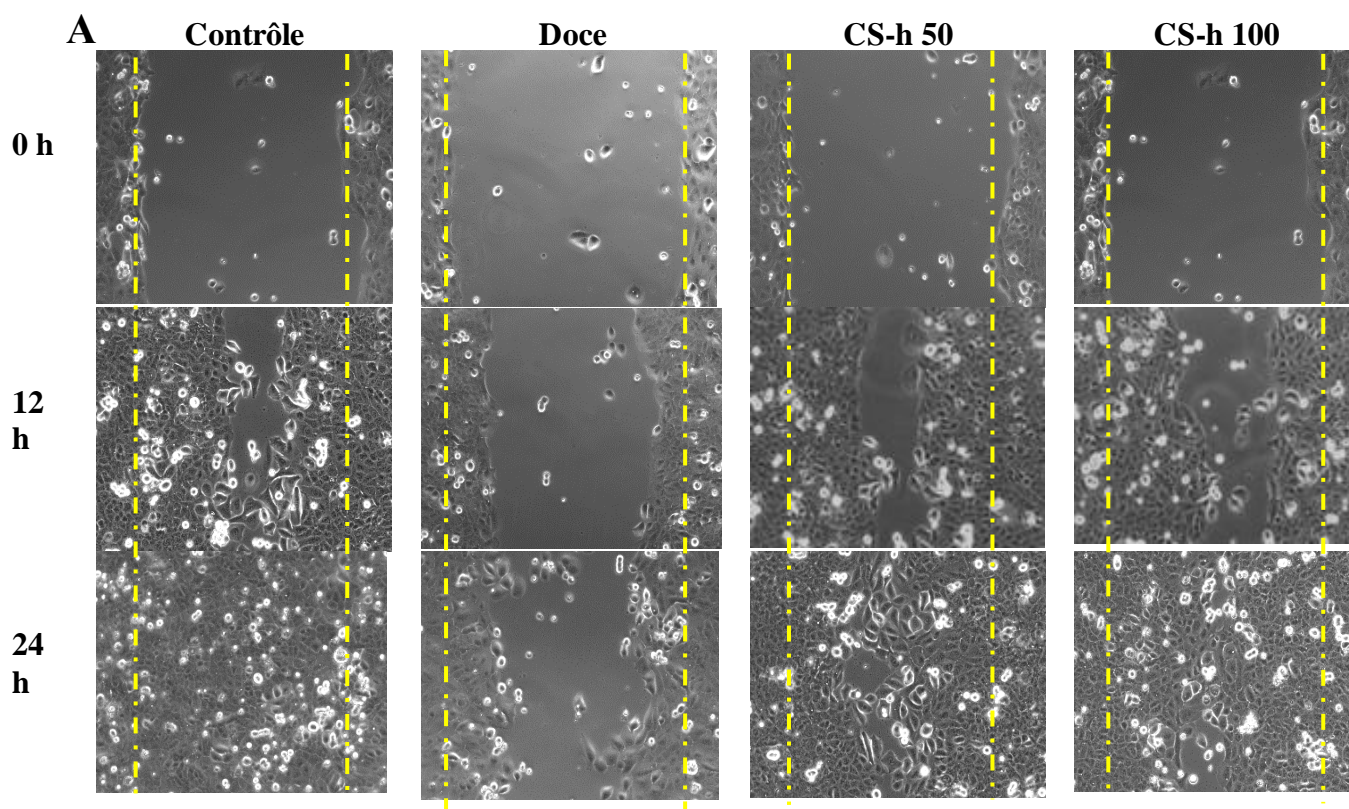


Figure 31: Représentation graphique des effets de l'huile et de l'extrait des graines totales de *C. sativus* sur la migration tumorale (A) et le pourcentage des cellules ayant migrées (B).

Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 μM ; CSt-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux doses de 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux cellules non traitées.

III.4.3.2- Effet de l'huile de *C. sativus* sur l'adhésion des cellules aux composants de la matrice extracellulaire

La Figure 32 montre que l'huile des graines de *C. sativus* diminue l'adhésion des cellules DU145 à la matrice extracellulaire de collagène et de fibrinogène comparés aux cellules contrôles, alors que le docétaxel (1 μM) l'augmente.

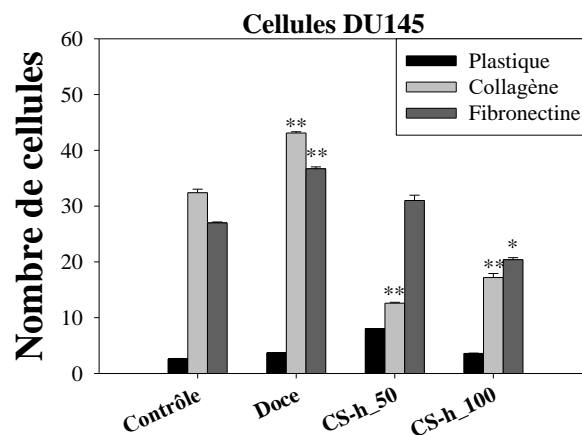


Figure 32: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la matrice extracellulaire.

Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 μM ; CSt-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux doses de 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux cellules non traitées.

III.4.3.3- Résultats du test de chimio-attraction

Les figures 33 A et 33 B montrent que, tout comme pour le docétaxel ($p < 0,001$), le nombre de cellules DU145 ayant traversé la membrane de l'insert a été significativement réduit ($p < 0,05$ à 50 $\mu\text{g/mL}$ et $p < 0,01$ à 100 $\mu\text{g/mL}$) après 24 heures d'incubation avec l'huile des graines de *C. sativus*.

A

Contrôle

Doce

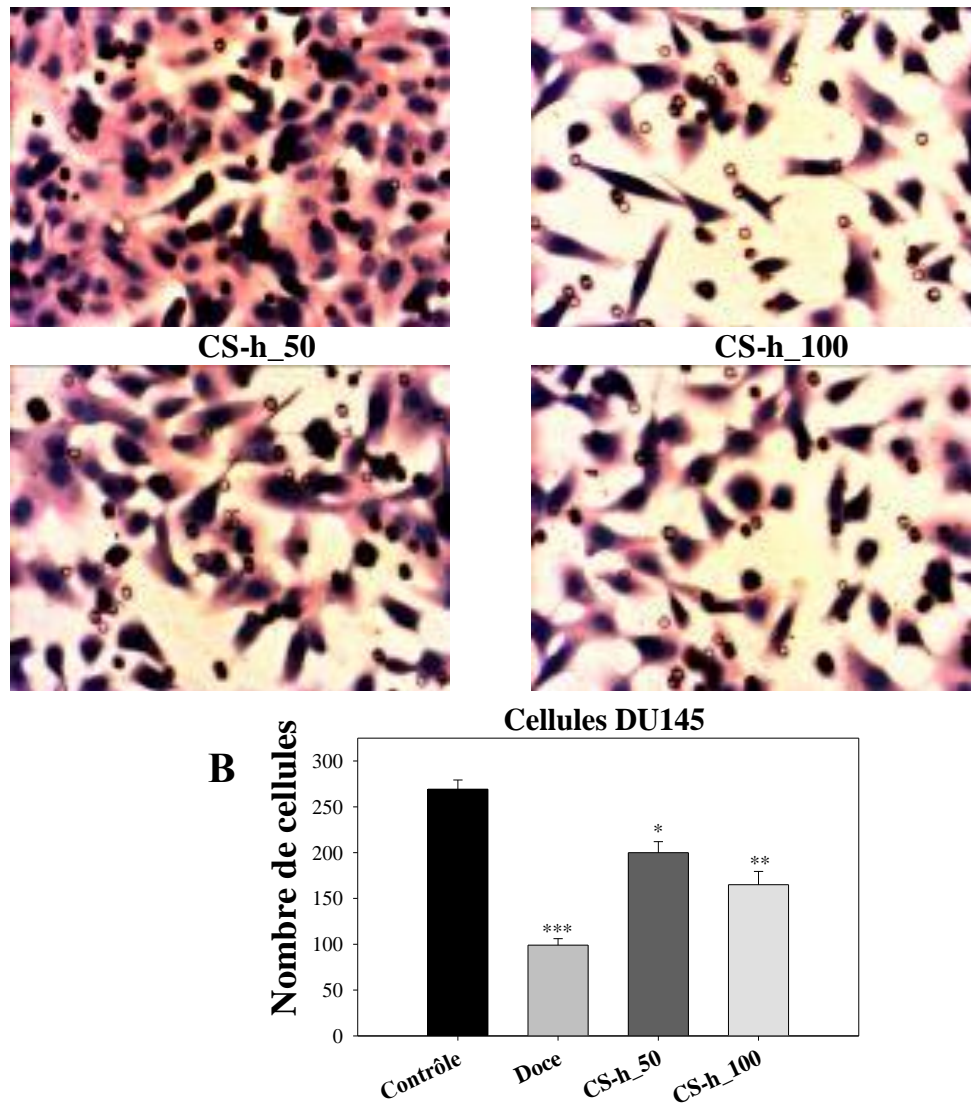


Figure 33: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la capacité des cellules à traverser la membrane de l'insert. Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 μM ; CSt-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux doses de 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux cellules non traitées.

III.4.3.4- Expression des intégrines β -1 et β -4

La figure 34 montre que l'huile de graines de *C. sativus* augmente l'expression de l'intégrine β -1 ($p < 0,01$) à la concentration de 50 $\mu\text{g/mL}$ et de l'intégrine β -4 à 100 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,01$).

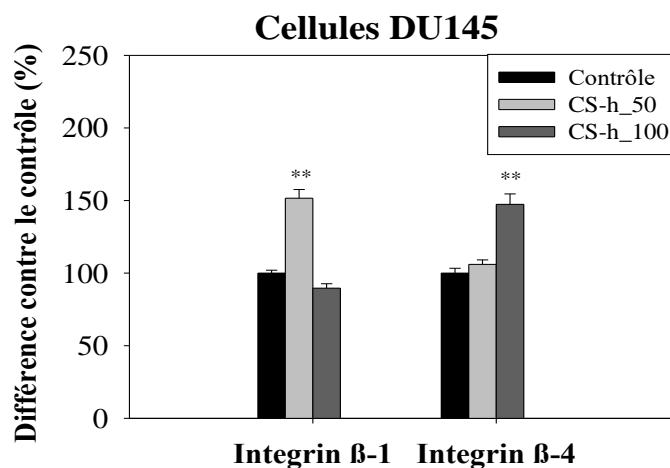


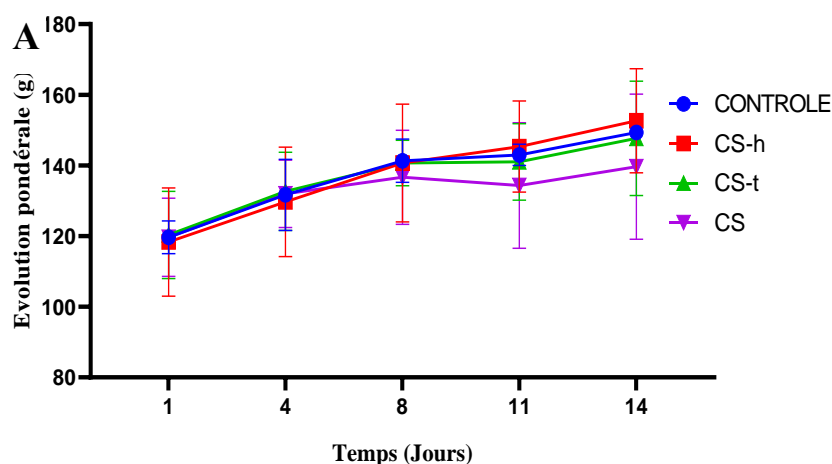
Figure 34: Représentation graphique des effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur l'expression des intégrines. Contrôle = cellules cancéreuses non traitées. Doce = cellules servant de contrôle positif traitées avec docétaxel à 1 μM ; CSt-h 50 et 100 = cellules servant de groupe tests traitées avec l'huile de graines de *C. sativus* aux doses de 50 et 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. $**p < 0,01$: différence significative par rapport aux cellules non traitées.

III.5- Etudes toxicologiques

III.5.1- Evaluation de la toxicité aiguë

III.5.1.1- Effets des extraits sur l'évolution pondérale

L'administration d'une dose unique de 2000 et 5000 mg/kg PC de l'huile, du tourteau et de l'extrait des graines totales (totum) de *C. sativus* par voie orale, même après une répétition de l'expérimentation, n'a entraîné ni mortalité, ni signes phénotypiques de toxicité après 14 jours d'observation (Figures 35 A et 35 B). En comparaison au groupe témoin normal, aucune différence significative n'a été observée, après traitement, sur l'évolution du poids corporel. De même, aucune modification du comportement, de la respiration, de la peau, des yeux, du pelage et de l'activité somatomotrice n'a été observée.



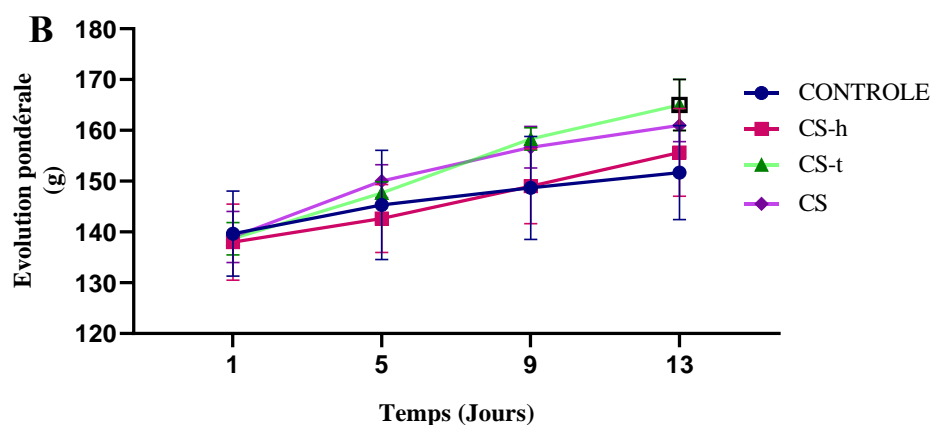


Figure 35: Évolution pondérale des rats en essai de toxicité aiguë pour les doses de 2000 (A) et 5000 mg/kg (B). CONTRÔLE = rats ayant reçu de l'eau distillée à la dose de 10 mL/kg PC ; CS-h = rats servant de groupe test et traités et à l'huile des graines de *C. sativus* aux doses de 2000 et 5000 mg/kg ; CS-t = rats servant de groupe test et traités au tourteau des graines de *C. sativus* aux doses de 2000 et 5000 mg/kg ; CS = rats servant de témoin pharmacologique et traités au totum des graines de *C. sativus* aux doses de 2000 et 5000 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses corporelles \pm ESM, n = 3.

III.5.1.2- Effets sur la masse relative de quelques organes

L'analyse des résultats du tableau XXVIII montrent que les poids relatifs des organes de toxicité tel que le foie, les poumons, les reins, la rate, le cerveau, l'estomac et les glandes surrénales des animaux recevant les extraits 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 XXVIII: Effets de l'administration aiguë de l'huile des graines de *C. sativus* sur la masse relative des organes

Organes	CONTRÔLE	CS-h	CS-t	CS
Foie	35,88 \pm 2,62	35,59 \pm 1,08	44,44 \pm 0,54	33,80 \pm 0,83
Poumons	7,90 \pm 1,83	8,82 \pm 0,43	8,26 \pm 0,10	6,62 \pm 0,87
Rate	5,48 \pm 0,38	4,30 \pm 0,78	4,94 \pm 0,27	4,00 \pm 0,43
Coeur	3,60 \pm 0,09	3,53 \pm 0,16	4,36 \pm 0,11	4,05 \pm 0,32
Reins	7,39 \pm 0,17	7,22 \pm 0,37	6,81 \pm 0,21	6,62 \pm 0,28
Rate	0,38 \pm 0,01	0,39 \pm 0,07	0,33 \pm 0,04	0,34 \pm 0,04
Utérus	2,08 \pm 0,16	2,13 \pm 0,14	2,11 \pm 0,13	1,82 \pm 0,24
Ovaire	0,68 \pm 0,07	0,67 \pm 0,08	0,55 \pm 0,06	0,59 \pm 0,04

NOR = rats servant de témoin traités l'huile de maïs ; CS-h = rats servant de groupe test traités à l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ; CS = rats servant de groupe test traité avec le total des graines de *C. sativus* à la

dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives \pm ESM, n=6. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin.

III.5.2- Aperçu toxicologique durant le traitement pharmacologique

III.5.1.1- Effets des extraits sur la masse relative de quelques organes

En comparaison au groupe contrôle (CONTRÔLE), une diminution significative des masses relatives de la prostate ($p < 0,05$; $p < 0,01$) et des vésicules séminales ($p < 0,01$) ont été observées avec l'huile extraite de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg PC ainsi que l'extrait total des graines à la dose de 500 mg/kg PC (Tableau XXIX). Par contre, une augmentation significative de la masse relative des testicules ($p < 0,001$) et du foie ($p < 0,01$) a été observée avec les deux solutions administrées.

Tableau XXIX: Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur la masse relative des organes chez les rats après 90 jours de traitement

Organes	CONTRÔLE	CS-h 170	CS 500
Prostate	1,60 \pm 0,10	1,08 \pm 0,10 *	0,98 \pm 0,10**
Vésicules Séminales	4,99 \pm 0,10	4,13 \pm 0,29 **	3,25 \pm 0,24 **
Epididyme	3,08 \pm 0,16	3,56 \pm 0,13	3,37 \pm 0,15
Testicules	9,58 \pm 0,16	11,75 \pm 0,45 ***	11,86 \pm 0,34 ***
Pénis	0,91 \pm 0,04	1,14 \pm 0,05	1,04 \pm 0,02
Surrénales	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,09	0,20 \pm 0,07
Foie	2,64 \pm 0,60	3,07 \pm 1,30 **	3,02 \pm 0,38**
Reins	4,67 \pm 0,12	4,71 \pm 0,10	4,76 \pm 0,20
Rate	4,13 \pm 0,41	4,18 \pm 0,17	4,06 \pm 0,45
Poumons	5,15 \pm 0,27	5,29 \pm 0,21	5,11 \pm 0,42
Cœur	2,75 \pm 0,05	2,73 \pm 0,18	2,87 \pm 0,17

NOR = rats servant de témoin traités l'huile de maïs ; CS-h = rats servant de groupe test traités à l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ; CS = rats servant de groupe test traité avec le total des graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives \pm ESM, n=6. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin.

III.5.1.2- Effets de l'huile des graines de *C. sativus* sur les paramètres hématologiques

Le tableau XXIX représente les effets de l'huile et de l'extrait des graines totales sur les paramètres hématologiques évalués. Il a été observé une diminution significative des pourcentages des monocytes ($p < 0,01$), d'hématocrite ($p < 0,05$; $p < 0,01$) et du volume corpusculaire moyen (VCM) ($p < 0,001$) chez les animaux ayant reçu l'huile de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg et l'extrait de ses graines totales à la dose de 500 mg/kg en comparaison au groupe témoin. De même, ces extraits ont induit une augmentation significative de la quantité d'hémoglobine corpusculaire moyen (HCM) ($p < 0,01$) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ($p < 0,001$). Malgré ces variations, ces valeurs restent dans la marge des valeurs normales.

Tableau XXX : Effets de de l'huile et du total des graines de *C. sativus* sur quelques paramètres hématologiques

Paramètres	VRM	CONTRÔLE	CS-h 170	CS 500
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)	3-18	11,66 ± 1,85	13,66±1,07	12,20±1,10
Lymphocytes (%)	53-54	75,29 ± 1,91	71,64 ± 2,50	75,03 ± 1,29
Monocytes (%)	0-6	8,16 ± 1,57	0,22 ± 0,04**	0,30 ± 0,05**
Granulocytes (%)	5-53	23,35 ± 3,16	24,66 ± 1,27	26,08 ± 1,37
Globules rouges ($10^6/\mu\text{L}$)	5-10	8,09 ± 0,28	7,23 ± 0,28	7,44 ± 0,43
Hématocrite (%)	42-50	44,91 ± 1,43	38,34 ± 1,11*	36,88 ± 1,84**
Hémoglobine (g/dL)	10-17	13,76 ± 0,27	14,36 ± 0,38	14,48 ± 0,75
VCM (fL)	42-64	55,57 ± 0,49	53,26 ± 2,00	49,66 ± 0,82***
HCM (pg)	15-21	15,79 ± 1,54	19,94 ± 0,53**	19,50 ± 0,23**
CCMH (g/dL)	28-37	30,06 ± 0,95	37,48 ± 0,47***	39,32 ± 0,21***
Plaquettes ($10^3/\mu\text{L}$)	200-1100	612,13±38,54	448,8 ± 30,53	597,6 ± 38,97

CONTRÔLE = rats servant de témoin traités l'huile de maïs ; CS-h = rats servant de groupe test traités à l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ; CS = rats servant de groupe test traité avec le total des graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives ± ESM, n=6. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin. VRM : Valeurs de références chez les rats mâles.

III.5.1.3- Effets des extraits sur les paramètres biochimiques

❖ Effets sur les paramètres des fonctions hépatique et rénale

Les effets de l'huile (CSt-h 170) et des graines (CS 500) de *C. sativus* sur les marqueurs de la fonction hépatique et rénale sont résumés dans le tableau XXX. L'analyse statistique a révélé une augmentation significative des taux d'ALAT ($p < 0,01$; $p < 0,001$) et de bilirubine totale ($p < 0,001$) avec l'huile et les graines totales comparé au témoin. Aucune variation significative des marqueurs de la fonction rénale n'a été observée.

Tableau XXXI : Effets de l'huile et du total des graines sur quelques marqueurs des fonctions hépatique et rénale

Groupes	ASAT (U/I)	ALAT (U/I)	Crea (U/I)	Urée (U/I)	BD (U/I)	BT (U/I)
CONTRÔLE	8,29 ± 0,25	13,75 ± 0,99	0,33 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,26 ± 0,05
CS-h 170	9,17 ± 1,27	20,82 ± 1,73**	0,29 ± 0,00	0,23 ± 0,00	0,09 ± 0,02	0,24 ± 0,05
CS 500	8,61 ± 0,26	18,41 ± 1,22***	0,35 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,13 ± 0,04	0,90 ± 0,22***

CONTRÔLE = rats servant de témoin traités l'huile de maïs ; CS-h = rats servant de groupe test traités à l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ; CS = rats servant de groupe test traité avec l'extrait des graines totales de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives ± ESM, n = 6. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin.

❖ Effets sur la lipidémie

Le tableau ci-dessous montre les effets de l'huile (CS-h 170) et des (CS 500) des graines totales de *C. sativus* sur la lipidémie chez le rat (Tableau XXXI). L'administration de l'huile ainsi que des graines totales de *C. sativus* a induit une diminution significative ($p < 0,05$) de la concentration en triglycérides associée à une augmentation significative ($p < 0,05$) de la concentration en HDL-cholestérol surtout avec l'extrait des graines totales comparés au témoin.

Tableau XXXII: Effets de l'huile et du total des graines sur quelques paramètres biochimiques

Groupes	CT (U/I)	HDL (U/I)	LDL (U/I)	TG (U/I)	IA (U/I)
CONTRÔLE	283,3 ± 11,8	172,5 ± 7,6	75,2 ± 16,0	121,12 ± 6,06	1,46 ± 0,08
CS-h 170	276,0 ± 12,8	204,0 ± 12,6	65,9 ± 8,1	84,04 ± 5,10*	1,41 ± 0,05
CS 500	292,2 ± 12,5	219,4 ± 16,1*	39,0 ± 6,9***	90,50 ± 2,06*	1,17 ± 0,04

NORMAL = rats servant de témoin traités l'huile de maïs ; CS-h = rats servant de groupe test traités à l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg ; CS = rats servant de groupe test traité avec le total des graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives ± ESM, n=6. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport au témoin.

III.5.1.4- Histo-architecture des organes d'intérêt en toxicologie

La figure 36 présente les microphotographies des coupes du foie, des poumons et des reins des animaux normaux ayant reçu de l'huile de maïs (A), celles des animaux qui recevaient de l'huile des graines de *C. sativus* à la dose de 170 mg/kg (B) et celles des animaux qui recevaient les graines totales de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg. Comparé au témoin normal (A), l'huile et l'extrait des graines totales n'ont induit aucune altération sur l'histo-architecture de ces différents organes.

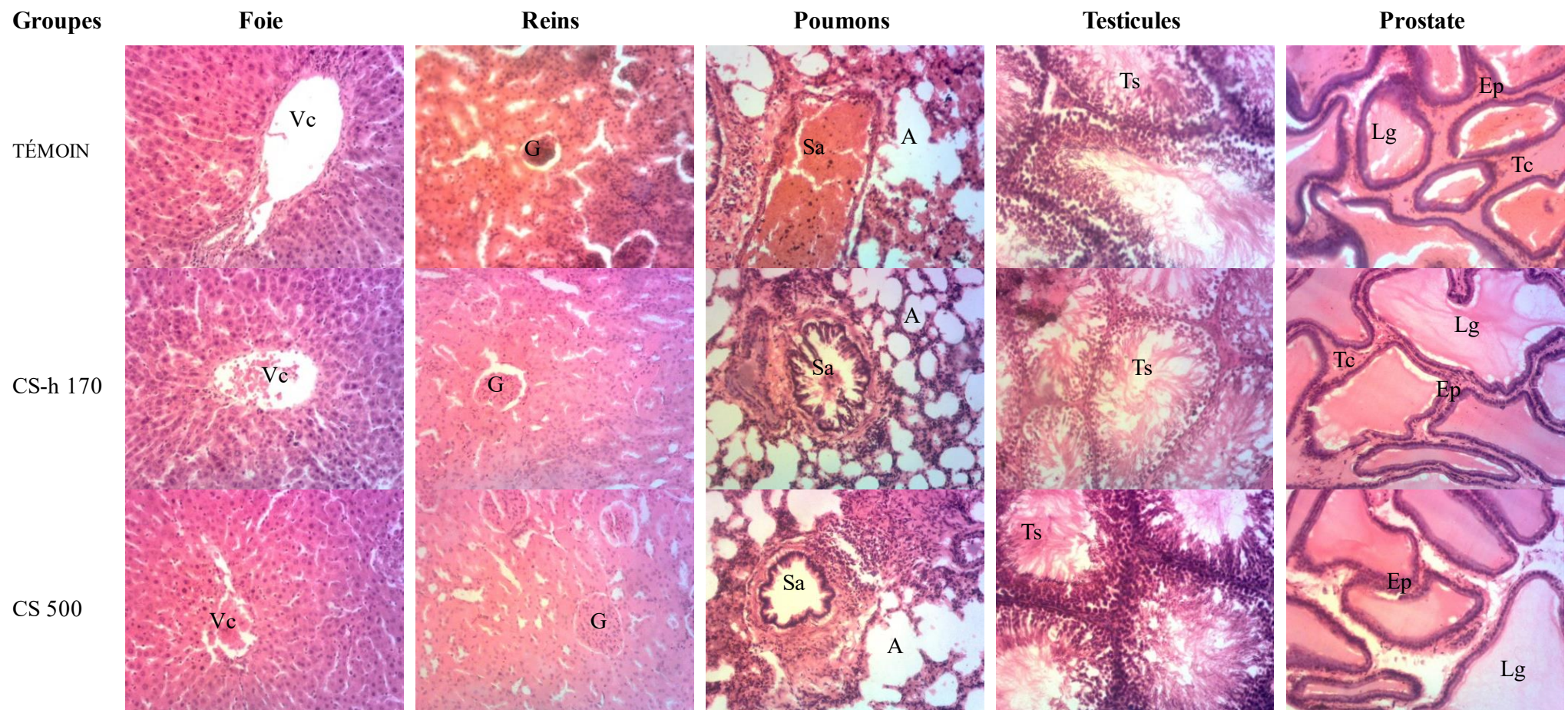


Figure 36: Microphotographies (HE×200) des coupes histologiques du foie, du rein, des testicules et de la prostate obtenus après 90 jours de traitement des animaux avec l'huile et les graines totales de *C. sativus*.

Légende : A : Alvéole ; Ca : Canal alvéolaire ; Ep : Epithélium ; G : Glomérule ; Lg : Lumière glandulaire ; Sa : Sac alvéolaire ; Tc : Tissu conjonctif ; Ts : Tube séminifère ; Vc : Veine centrolobulaire.

III.6- Propriétés qualitatives de l'huile des graines de *C. sativus*

Les résultats des paramètres physico-chimiques qui sont l'indice d'acide, l'indice de peroxyde et l'indice d'iode de l'huile nouvellement extraite (CS-hr) et celle conservée pendant trois mois (CS-ha) des graines de *Cucumis sativus* sont présentés dans le tableau XXXIII. L'indice d'acidité de l'huile nouvellement extraite est de 2,52 mg de KOH/g d'huile, valeur inférieure à la limite standard (3 mg de KOH/g). Par contre après 3 mois de conservation, cette valeur est passée à 3,37 mg de KOH/g d'huile. De même, l'indice de peroxyde est passé de 1,85 meq d'O₂/kg d'huile fraîche à 2,05 meq d'O₂/kg chez l'ancienne huile. Ces valeurs sont inférieures à 10 meq d'O₂/kg d'huile qui est la valeur standard. L'indice d'iode de l'huile fraîche est de 48,26 g d'I₂/100g d'huile qui diminue pour atteindre 29,21 g d'I₂/100 g d'huile après 3 mois de conservation. Toutefois, ces valeurs sont inférieures à 110 g d'I₂/100 g d'huile qui est la limite standard.

Tableau XXXIII: Paramètres de la qualité de l'huile des graines de *C. sativus*

	Durée de conservation	Indice d'acide (mg de KOH/g d'huile)	Indice de peroxyde (meq d'O ₂ /kg)	Indice d'iode (g/100 g d'huile)
CS-hr	3 jours	2,52 ± 0,14	1,85 ± 0,13	48,26 ± 1,27
CS-ha	3 mois	3,92 ± 1,12	2,80 ± 0,00	29,21 ± 0,64
VS		< 4	< 10	< 110

CS-hr = huile des graines de *C. sativus* fraîchement extraite ; CS-ha = huile des graines de *C. sativus* après 3 mois de conservation ; VS= Valeur standard. Les valeurs représentent la moyenne des masses relatives ± ESM, n=3.

III.7- Analyse chimique par GC-MS de l'huile des graines de *C. sativus*

Le chromatogramme de l'huile des graines de *C. sativus* est présenté sur la figure 37. L'étude de la composition phytochimique des composés volatils dans cette huile en comparaison avec la base des données de type « NIST MS SEARCH 2.2» a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs, qui sont résumés dans le tableau XXXIV. Ce tableau présente également le temps de rétention (TR), le pourcentage de la surface du pic, la formule moléculaire et la masse moléculaire des composés chimiques identifiés. Huit composés ont été identifiés de cette huile : le propanal (24,63%), le 2,4-decadienal (0,67%), le 2,4-nonadienal (1,12%), l'acide n-hexadécanoïque (23,94%), l'acide 9,12-octadécanoïque (47,8 %) et le squalène (1,81%). Ces composés volatils sont regroupés en plusieurs classes notamment les aldéhydes, les cétones, les alcanes et les esters.

Tableau XXXIV: Composés bioactifs identifiés dans l'huile des graines de *C. sativus*

Pic	TR (min)	% pic	Composés identifiés	Nature	Formule moléculaire	Masse molaire
1	1,905	24,63	propanal	Composé organique	C ₃ H ₆ O	58,08
2	16,382	0,67	2,4-decadienal	Aldéhyde gras	C ₁₀ H ₁₆ O	152,24
3	16,983	9,68	2,4-nonadienal	Aldéhyde gras	C ₉ H ₁₄ O	138,21
4	31,974	23,94	acide n-hexadécanoïque	Acide gras saturé	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,43
5	37,536	47,83	acide 9,12-octadécadienoïque	Acide gras polyinsaturé	C ₁₆ H ₂₈ O	252,39
6	44,780	1.81	squalène	triterpène	C ₃₀ H ₅₀	410,73

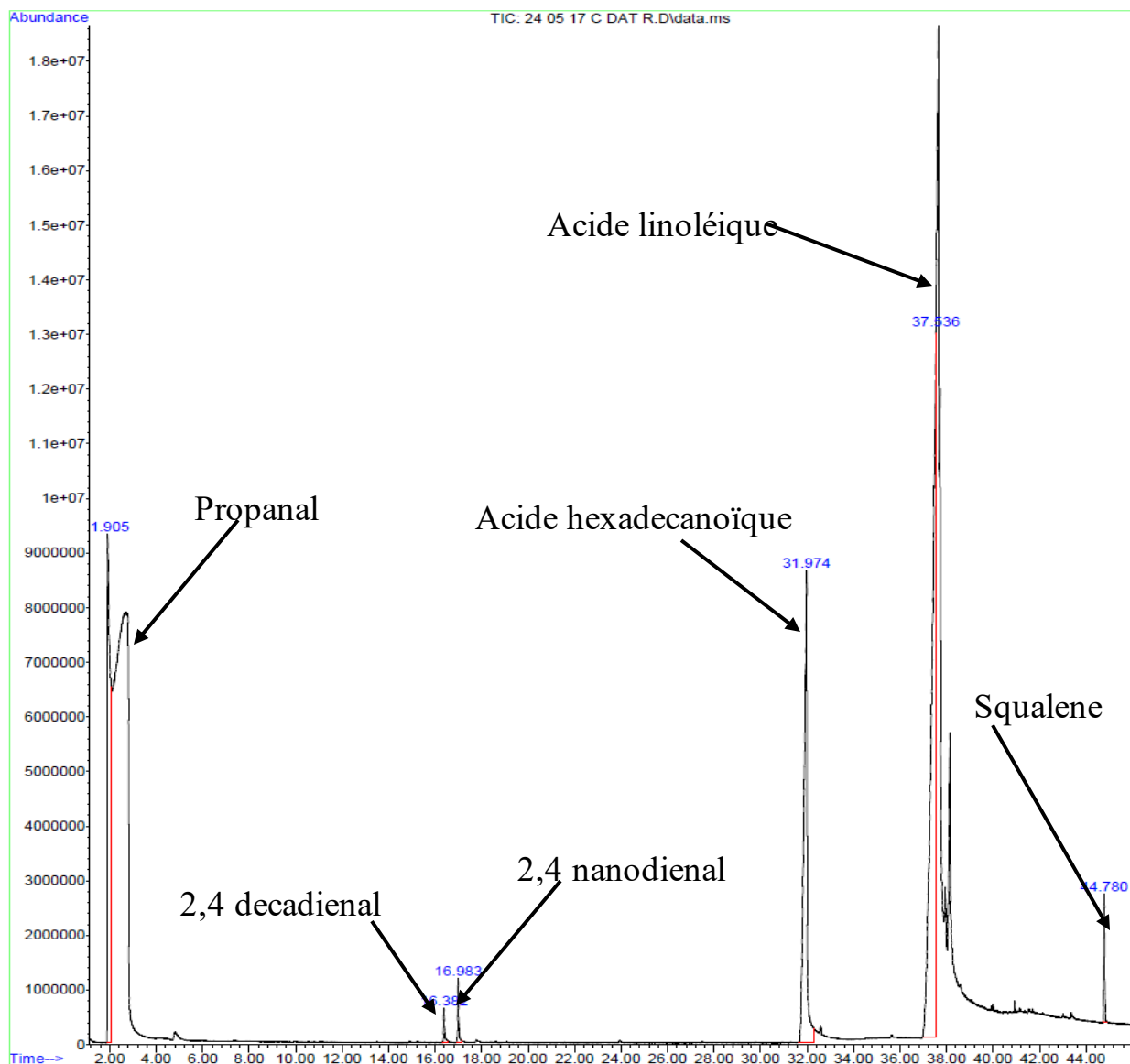


Figure 37 : Chromatogramme GC-MS de l'huile des graines de *C. sativus*.



**CHAPITRE IV :
DISCUSSION**

Le cancer de la prostate et l'hyperplasie bénigne de la prostate sont deux pathologies urologiques les plus communes de l'appareil urogénital mâle ayant en commun une prolifération anarchique des cellules de la prostate. Pour vérifier scientifiquement les affirmations empiriques sur les effets bénéfiques des graines des six espèces de courge, un test de viabilité cellulaire a été effectué sur les cellules cancéreuses de la prostate DU145 et PC-3. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait des graines de *C. maxima* et de *C. sativus* ont inhibé significativement la croissance des cellules de manière dose dépendante surtout à la concentration de 100 µg/mL. Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux, qui ont démontré les effets antiprolifératifs et anticancéreux des graines de courge (Malathi et Vadivelu, 2021 ; Aref *et al.*, 2021). *In vivo*, l'administration de la testostérone à la dose de 3 mg/kg chez le rat pendant 28 jours a induit une augmentation significative de la masse relative et du volume de la prostate comparé aux rats normaux, confirmant l'installation de l'HBP (Onoja *et al.*, 2022). En effet, l'augmentation de la masse relative et du volume de la prostate résulte d'une prolifération des cellules épithéliales prostatiques et constitue des indicateurs cruciaux du diagnostic de l'HBP (Seo *et al.*, 2021 ; Raafat *et al.*, 2022). Ce modèle d'induction de l'HBP est largement utilisé par la communauté scientifique (Njamen *et al.*, 2020 ; Zingué *et al.*, 2020). Le développement de la glande prostatique et, par conséquent, l'HBP, est influencé par la dihydrotestostérone (DHT) qui, elle résulte de la conversion de la testostérone dans la prostate, *via* l'activité de la 5 alpha-réductase de type II (Mobley *et al.*, 2015). La DHT se lie aux récepteurs des androgènes et induit la croissance et la différenciation des cellules de la prostate, ce qui provoque une hyperplasie des cellules stromales et épithéliales pouvant évoluer en HBP (Wijerathne *et al.*, 2017 ; Seo *et al.*, 2021). Une augmentation significative de la teneur en protéines totales dans la prostate a été observée chez les animaux traités uniquement à la testostérone. Tout comme la finastéride, les graines de *C. maxima*, *C. melo* et *C. sativus* ont diminué de manière significative la teneur en protéines totales chez les animaux traduisant une protection vis à vis de l'hyperplasie induite par la testostérone. En effet, les protéines étant les constituants essentiels des cellules, toute prolifération cellulaire due à l'effet mitogène et anabolisant des androgènes s'accompagne d'une augmentation du taux des protéines (Kouakou et Benie, 2003). Comme prévu, la finastéride (standard dans cette étude) a contrecarré de manière significative les effets de la testostérone après 28 jours de co-traitement (Onoja *et al.*, 2022). Elle empêcherait la croissance prostatique en inhibant la 5alpha-reductase de type II (Kim, 2022).

A l'exception des graines de *C. mannii* et de *C. moschata* qui n'ont pas modifié les paramètres de la prostate, tous les autres échantillons testés ont montré des effets protecteurs contre l'HBP induite par la testostérone, suggérant des effets antiprolifératifs. Le meilleur effet a été observé avec les graines de *C. sativus* à la dose de 500 mg/kg qui a présenté un pourcentage d'inhibition de la croissance prostatique de 49,5%. Cela pourrait s'expliquer par sa richesse en cucurbitacines, un

triterpène dont les effets antiprolifératifs ne sont plus à démontrés (Wahid *et al.*, 2021). Ces résultats ont été confirmés sur le plan histologique par une augmentation significative de la taille de l'épithélium prostatique et une diminution significative du diamètre ; un épithélium épais et développé projetant vers la lumière glandulaire chez les animaux traités uniquement avec la testostérone pendant 28 jours. L'hyperplasie épithéliale de la prostate a été inhibée dans les groupes traités aux graines de courge suggérant un effet antiprolifératif de ces graines.

L'effet de la cuisson sur l'activité pharmacologique des graines de *C. sativus* a révélé que les graines de *C. sativus* crues et cuites ont réduit significativement la masse relative, le volume, le taux de protéines totales et la taille de l'épithélium prostatique avec un effet plus marqué avec *C. sativus* cru à la dose de 500 mg/kg. Cette observation va en droite ligne avec celle de Olufeko *et al.* (2020) qui ont montré que la cuisson des graines de courge réduit la teneur en terpènes, composés identifiés dans les graines de courge et connus pour leurs effets antiprolifératifs. Le stress oxydatif est une condition de l'environnement cellulaire qui survient lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité des systèmes biologiques à réparer les dommages oxydatifs ou à neutraliser les effets des intermédiaires réactifs, y compris les peroxydes et les radicaux libres. Dans cette étude, il a été observé une augmentation significative des taux tissulaires de MDA et une diminution non significative du taux de GSH et de l'activité de la catalase chez les animaux traités à la testostérone. Le MDA est un marqueur de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif. L'activité des enzymes antioxydantes, y compris la catalase est régulée à la baisse dans la plupart des tissus prostatiques des patients atteints d'HBP comparés aux tissus prostatiques normaux. Cette diminution de l'efficacité des mécanismes de défense antioxydants est due aux dommages oxydatifs marqués ici par une augmentation du taux de MDA (Udensi et Tchounwou, 2016). Le traitement aux graines de *C. sativus* a entraîné une diminution du taux de MDA et une augmentation du taux de GSH et de l'activité de la catalase, l'effet étant plus marqué avec les graines crues. Ces résultats suggèrent que ces graines possèdent une activité antioxydante qui serait médiée par les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins présents dans les graines de *C. sativus* tels que révélé par les études phytochimiques réalisées par Begum *et al.* (2018). Des études antérieures ont montré que les graines de cette espèce contiennent tous les types de cucurbitacines (Wahid *et al.*, 2021) bien connue pour leur une activité antioxydante (Ramezani *et al.*, 2021). Les graines de *C. sativus* cuites ont présenté une activité antioxydante uniquement à la dose la plus élevée, ce qui traduit une diminution de l'activité antioxydante. En effet, au cours de la cuisson et sous l'effet d'agitation, les molécules subissent un choc thermique, elles se brisent et se recombinent au hasard à d'autres molécules pour former de nouvelles structures très complexes, n'existant pas dans la nature et dont les propriétés sont inconnues. Il s'agit par exemple de la

polymérisation des sucres, l'oxydation, la polymérisation et la cyclisation des huiles (Seignalet, 2004).

Une enquête réalisée auprès des consommateurs des graines de courge à l'Ouest Cameroun a révélé que ces graines se consomment deux à trois fois par semaine. Il a été question de faire une étude comparative des effets de la consommation quotidienne et ceux de la consommation régulière sur un modèle expérimental d'induction de l'HBP chez le rat. Seule l'administration quotidienne des graines de *C. sativus* a prévenu l'installation de l'HBP par une diminution significative de la masse relative, du volume et de la taille de l'épithélium prostatique. Ces résultats montrent que la prise quotidienne des graines de *C. sativus* semble plus efficace qu'une prise intermittente. Ces graines agiraient donc par un effet cumulatif. Il est bien connu que l'intensité ou la probabilité d'apparition des effets est proportionnelle à la quantité de principe actif présent au site d'action. Pour générer un effet détectable, le principe actif doit être capable d'atteindre le site d'action et être présent en quantité suffisante pour interagir avec le récepteur ou l'enzyme cible (Brunel *et al.*, 2021).

Le test de croissance cellulaire a révélé que, seule la fraction huileuse des graines de *C. sativus* a inhibé significativement la croissance des cellules DU145 et LNCaP, avec un effet plus marqué sur les cellules LNCaP. Cette différence serait due à la variation dans la composition relative en composés bioactifs dans l'huile et dans le tourteau. En effet, les résultats de l'analyse GC-MS de l'huile de *C. sativus* a révélé la présence du squalène et du supraène, des triterpènes connus pour leurs effets cytotoxiques sur les lignées cellulaires prostatiques LnCap (Alafnan *et al.*, 2023). Il a été démontré que *C. sativus* fait partir des espèces de courge les plus riches en cucurbitacines qui sont des triperpénoides tétracycliques connus pour leurs effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses par inhibition de la voie MAPK (Varela *et al.*, 2022), voie impliquée dans la croissance, la prolifération et la survie cellulaire. L'huile de *C. sativus* posséderait donc la quasi-totalité des cucurbitacines responsables des effets observés et pourrait exercer ses effets antiprolifératifs soit par sa capacité à antagoniser les RA exprimés par les cellules LNCaP soit par l'inhibition de l'expression de ces récepteurs. Les effets observés *in vitro* ont permis d'évaluer *in vivo*, l'effet de l'huile de ces graines sur un modèle d'HBP chez le rat. Il a été observé une réduction significative de la masse de la prostate fraîche, du volume et de la taille de l'épithélium prostatique chez les rats traités avec cette huile en comparaison aux rats traités à la testostérone. L'huile de *C. sativus* tout comme celle de *C. pepo* serait dotée des propriétés antiprolifératives sur la croissance des cellules de la prostate et agirait par inhibition de la 5 α -réductase, enzyme responsable de la conversion de la T en DHT (Gossel-Williams *et al.*, 2006 ; Heim *et al.*, 2018 ; Alhakamy *et al.*, 2019). Le PSA est une glycoprotéine membre de la famille des kallikréines produite principalement par l'épithélium ductal et acinaire de la prostate et sécrétée dans la lumière. Elle a pour fonction de cliver la séménogéline I et II dans le coagulum séminal (Balk *et al.*, 2003) et sa sécrétion est stimulée par

les androgènes surtout par la phosphorylation de la DHT au sein des cellules stromales prostatiques (Maccoccia *et al.*, 2022). Son taux élevé dans le sang au-delà de la normale est un indicateur d'une situation pathologique de la prostate à l'instar de la prostatite, de l'HBP et du CaP (Onojo *et al.*, 2022). Dans cette étude, l'administration de testostérone a augmenté les taux de PSA dans le groupe témoin négatif, ce qui est en accord avec les observations de Eleazu *et al.* (2021). Cette augmentation traduit une hyperplasie prostatique (prolifération des cellules prostatiques). La réduction des taux sériques de PSA des groupes traités à la finastéride et à l'huile des graines de *C. sativus* suggère une inhibition de la prolifération cellulaire (Onojo *et al.*, 2022). Il a été démontré que le traitement de l'HBP avec la finastéride diminue de 50% le taux de PSA total dans la prostate (Stenman *et al.*, 1999). En effet, l'analyse GC-MS de cette huile a permis d'identifier la présence en grande quantité (47,83 %) de l'acide 9,12-octadécadiénoïque qui est un acide gras polyinsaturé connu pour atténuer l'expression des biomarqueurs de la prostate (PSA) dans l'HBP par inhibition de la 5 α -réductase (Onojo *et al.*, 2022 ; Chakraborty *et al.*, 2024).

La prostate est normalement peuplée par un petit nombre de cellules inflammatoires tels que les lymphocytes T et B, les macrophages et les mastocytes. Il a été démontré que la prolifération des cellules prostatiques dans l'HBP est amplifiée en cas d'inflammation chronique (Samarinas *et al.*, 2018). L'inflammation est une réponse physiologique, initiée par la synthèse et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-12 et l'IFN- γ par les macrophages suite à une lésion inflammatoire. Ces cytokines amplifient la réponse inflammatoire en activant l'expression de divers gènes comme la cyclooxygénase-2 (COX-2) par des facteurs de transcription (Mitsunari *et al.*, 2021) et contribuent ainsi à l'élargissement de la prostate et à la croissance des cellules épithéliales tels que rapportés par Rho *et al.* (2020). De même, dans cette étude, il a été observé une augmentation significative des taux sérique de TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6 chez les rats atteints d'HBP comparés aux rats normaux. Ces résultats confirment le processus inflammatoire qui s'accompagne de l'installation de l'HBP. L'huile des graines de *C. sativus* a régulé à la baisse l'augmentation de ces cytokines induite par la testostérone. Les travaux antérieurs ont montré que les triterpènes retrouvés dans cette huile sont de puissants agents anti-inflammatoires agissant par inhibition des enzymes cyclooxygénases (Wahid *et al.*, 2021 ; Silvestre *et al.*, 2022). Il a été démontré également démontré que les terpènes exercent leurs propriétés anti-inflammatoires par inhibition de la phosphorylation du facteur nucléaire κ B, voie impliquée dans la prolifération cellulaire induite par le TNF- α (Jia *et al.*, 2015 ; Del Prado-Audelo *et al.*, 2021).

Le CaP, qui affecte principalement la zone périphérique de la prostate, est le premier cancer urogénital et le deuxième néoplasme le plus fréquent chez les hommes dans le monde (Barsouk *et al.*, 2020). Les HAP tels que le B(a)P utilisé comme cancérigène dans ce travail sont associés à un risque accru de CaP chez l'homme (Barul *et Parent*, 2021). En effet, le B(a)P est métabolisé au

niveau du foie en composés époxydes ayant la capacité d'interagir avec l'ADN en formant des adduits qui provoquent des cancers (Jee *et al.*, 2020). L'administration du B(a)P a induit une augmentation significative de la masse relative, du volume et de l'index prostatique associée à une indice tumorale de 75%. Ce résultat prouve qu'une tumeur de la prostate a été induite dans ce travail. L'augmentation de la masse relative de la prostate peut s'expliquer par l'action toxique du B(a)P sur la prostate. En effet, le B(a)P peut induire le CaP en endommageant l'ADN des cellules prostatiques conduisant à leur multiplication incontrôlée et leur transformation en cellules cancéreuses. Le traitement simultané des rats rendus cancéreux par les graines et l'huile de *C. sativus* a induit une diminution des paramètres morphologiques de la prostate et suggère la capacité de ces graines à contrecarrer les effets du B(a)P sur les cellules prostatiques. L'huile des graines de *C. sativus* posséderait une activité antitumorale. Tout comme dans l'HBP, le PSA reste le plus important biomarqueur sérique utilisé avec succès pour le diagnostic du CaP (Bouraoui *et al.*, 2008). L'administration du B(a)P a induit une augmentation significative du taux de PSA sérique en comparaison au groupe normal. Cette augmentation traduit l'index de prolifération cellulaire au niveau prostatique. Il a été démontré que le PSA peut cliver l'"Insuline Like Growth Factor Binding Protein" (IGFBP3) libérant le facteur de croissance analogue à l'insuline IGF-1 (bioactif) qui favoriserait à son tour le développement du cancer de la prostate par activation de la voie PI₃K/AKT (Catalano *et al.*, 2023). Dans les lignées cellulaires du CaP, l'IGF-1 active directement les RA en l'absence d'androgènes, contribuant à l'échec de la thérapie de privation d'androgènes et au développement du CaP résistant à la castration (Munshi *et al.*, 2023). Le PSA peut également cliver les glycoprotéines de la matrice extracellulaire telles que la fibronectine et la laminine ainsi que l'activateur du plasminogène de type urokinase qui sont des protéines impliquées dans la migration cellulaire, l'invasion et la formation des métastases (Balk *et al.*, 2003). Cependant, l'huile des graines de *C. sativus* a induit une diminution significative du taux de PSA comparé au groupe contrôle négatif ; témoignant de ses propriétés antiprolifératives. Cette activité serait due à l'action de l'acide linoléique, tel que révélé par l'analyse GC-MS réalisé dans le cadre de ce travail, connu pour inhiber la 5 α -réductase (Karawya *et al.*, 2015 ; Azizi *et al.*, 2021).

Les travaux antérieurs ont montré que le B(a)P diminue les activités des enzymes antioxydantes, telles que la catalase, la glutathion peroxydase, la SOD ainsi que les taux de GSH, de vitamine C et de vitamine E mais qu'il augmente le niveau de peroxydation lipidique (Bukowska *et al.*, 2022). Le même effet a été observé dans le cadre de cette étude. Cette observation traduit l'installation d'un désordre oxydatif dans le microenvironnement des cellules prostatiques. En effet, en se transformant en métabolites secondaires toxiques, le B(a)P génère également des ROS qui attaquent l'ADN et conduisent à des mutations, des délétions, des insertions, ou des translocations chromosomiques, qui à leur tour initient la carcinogenèse en activant des oncogènes et en inactivant

des gènes suppresseurs de tumeurs (Klaunig *et al.*, 2011). L'exposition des rats au B(a)P a augmenté le taux de MDA, ce qui concorde avec la désorganisation du système de défense antioxydant enzymatique des cellules. Cependant, l'administration de l'extrait des graines totales de *C. sativus* et son huile a inhibé la carcinogénèse au niveau de la prostate par une réduction significative de la peroxydation lipidique et une augmentation des taux d'antioxydants endogènes dans la prostate. L'analyse GC-MS a révélé la présence des triterpènes connus pour exercer leur activité antioxydante par inhibition de la production du TNF- α et de l'IL-6 (Lim *et al.*, 2024). Cette activité antioxydante pourrait en partie expliquer ses effets bénéfiques contre le CaP et l'HBP.

Il a été démontré que le B(a)P augmente le taux des cytokines pro-inflammatoires (Bukowska *et al.*, 2022), entraînant la rupture de l'équilibre des cytokines et donc la mise en place de plusieurs maladies dont le cancer (Berti et Olivera, 2018). Les cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 libérées par les cellules infiltrantes la tumeur, principalement par les macrophages du sous-type 1, interviennent dans la croissance néoplasique de la prostate par libération des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote provoquant des dommages à l'ADN et des lésions cellulaires. Elles induisent également des lésions de l'ADN, l'instabilité chromosomique et les modifications épigénétiques (Bouraoui *et al.*, 2008 ; Strasner et Karin, 2015). L'IL-1 et l'IL-6 induisent une activation des facteurs de transcription (facteur nucléaire κ B (NF- κ B)), des molécules d'adhésion et des facteurs angiogéniques sur le site de la tumeur, augmentant ainsi la survie et la prolifération des cellules néoplasiques. Le TNF α est capable d'induire la transformation des cellules épithéliales prostatiques en cellules mésenchymateuses en supprimant l'E-cadhérine, en augmentant les activités de la vimentine et des métalloprotéinases matricielles favorisant l'invasion et la migration des cellules tumorales (Catalano *et al.*, 2023). En revanche, l'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire libérée par les macrophages de sous-type 2, détectée dans divers types de cancer, et qui joue un rôle clé dans la suppression immunitaire et la tolérance induite par les tumeurs (Sato *et al.*, 2011 ; Berti et Olivera, 2018). Les travaux réalisés dans le cadre de cette étude ont montré que l'administration du B(a)P a induit une augmentation significative des taux de TNF- α , d'IL-1 et d'IL-6 et une diminution significative des taux d'IL-10 en comparaison aux animaux témoin négatif. En effet, le B(a)P inhibe l'activité des cellules immunitaires telles que les lymphocytes T et les "natural killer" qui jouent un rôle crucial dans la reconnaissance et l'élimination des cellules cancéreuses. En affaiblissant le système immunitaire, le B(a)P peut permettre aux cellules cancéreuses de se développer sans être détectées ni détruites (Zaccaria et McClure, 2013). Le traitement avec l'huile de *C. sativus* ainsi que les graines totales a réduit l'augmentation des taux de TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6 induite par le B(a)P et a augmenté le taux d'IL-10 confirmant les propriétés anti-inflammatoires décrites dans l'HBP.

Environ 90 à 95% des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes acineux qui proviennent de la prostate périphérique (Tai *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2013). Le score de Gleason est l'un des paramètres histologiques les plus utiles pour prédire le comportement biologique et le résultat clinique de l'adénocarcinome prostatique (Tai *et al.*, 2011). Dans cette étude, les animaux traités au B(a)P ont montré un adénocarcinome de Gleason 8 (4+4) avec une gaine périnerveuse caractérisée par une altération de l'architecture cellulaire, une hypertrophie cellulaire, une dysplasie des cellules prostatiques stromales et épithéliales associée à la perte de la membrane basale, résultat similaire à celui de Murray (2021). L'huile des graines de *C. sativus* et l'extrait des graines totales ont retardé la prolifération des cellules de la prostate marquée par une néoplasie intra-épithéliale prostatique de bas grade (PIN) caractérisée par une prolifération intraluminaire des cellules sécrétoires de la prostate tels que décrite par Montironi *et al.* (2000). L'inhibition de la progression tumorale observée avec *C. sativus* pourrait être attribuée à ses propriétés anti-prolifératives, anti-inflammatoires et anti-oxydantes précédemment démontrées.

L'analyse de la masse relative des organes androgéno-dépendants et de quelques organes de toxicité a révélé que les animaux exposés au B(a)P présentent une augmentation significative de la masse relative de la rate telle qu'observée par Hegazy *et al.*, (2012). La rate est le plus grand organe lymphoïde secondaire de l'organisme chargé de déclencher les réactions immunitaires contre les antigènes transmis et de filtrer le sang (Cesta, 2006). L'huile des graines de *C. sativus* a induit une réduction significative de ce paramètre. Cet effet serait dû à l'activité anti-inflammatoire de cet extrait tel que précédemment décrit. Le traitement des rats par le bilucamide (casodex) a réduit de manière significative la masse des vésicules séminales, de l'épididyme et du pénis en comparaison au groupe témoin négatif. Le bilucamide est un antagoniste des RA qui se fixe sur ces derniers empêchant la liaison de la testostérone et par conséquent la diminution de la masse des organes androgéno-dépendants (Fradet, 2004). L'huile extraite des graines de *C. sativus* ainsi que les graines totales ont entraîné une augmentation significative de la masse des testicules et non significative de la masse des autres organes androgéno-dépendants corrélé à la réduction significative de la masse de la prostate tel qu'observée précédemment en comparaison au groupe témoin négatif. En effet, l'augmentation de la masse des testicules est un marqueur des effets androgéniques alors que la diminution du poids de la prostate est un marqueur des effets anti-androgéniques (OCDE, 2009). Le développement de la prostate est sous le contrôle de la DHT alors que celui du testicule est sous le contrôle de la T, Or, la 5-alpha réductase est absente dans les testicules, ce qui explique le fait que les inhibiteurs de la 5-alpha réductase n'ont pas d'effet marqué sur la spermatogenèse (Dohle *et al.*, 2003). Cet extrait agirait donc par inhibition spécifique de la 5 α -alpha réductase tel que décrit précédemment. L'augmentation des taux des enzymes ALT et AST et de la créatinine dans le sang est considérée comme un bon indicateur des lésions des cellules rénales et hépatiques (Kolade et

Oladiji, 2018). Dans cette étude, nous avons observé que l'administration du B(a)P a induit une augmentation significative des taux des marqueurs sériques tels que l'AST, l'ALT et la créatinine. En général, le B(a)P induit l'hépatotoxicité et une toxicité rénale par le stress oxydatif et la perte de la fonction mitochondriale (Ji *et al.*, 2016). L'augmentation des taux sérique de l'AST, de l'ALT et de la créatinine est un indicateur de la toxicité hépatique et rénale du B(a)P. L'élévation des activités des transaminases et de la créatinine s'explique par la perte des hépatocytes fonctionnels et de l'intégrité membranaire (Ji *et al.*, 2016). Le traitement à l'huile des graines de *C. sativus* a réduit significativement ces paramètres reflétant la restauration des hépatocytes et de l'intégrité physiologique rénale. Ceci est une indication que l'huile de graines de *C. sativus* serait capable de prévenir les dommages du foie par l'activité antioxydante précédemment montrée.

L'analyse du profil lipidique des animaux a montré que l'exposition au B(a)P a induit une augmentation significative de l'IA et non significative du taux de cholestérol total (CT), des triglycérides et une diminution non significative des taux de HDL cholestérol comparé au témoin normal. Ces résultats sont similaires à ceux de Elsheikh et Hassan (2022) et constituent un indicateur de la peroxydation lipidique induite par le B(a)P. Par contre, l'huile de *C. sativus* tout comme le casodex, a augmenté de façon significative le taux du HDL-cholestérol et réduit significativement celle des LDL-cholestérol et des triglycérides. Ce résultat montre que cet extrait serait doté de propriétés hypolipidémique et hypocholestérolémique. Ces propriétés seraient attribuées à sa teneur élevée en acides gras polyinsaturés (acide linoléique), telle que révélé par l'analyse GC-MS, connus pour leurs activités hypocholestérolémiantes et athéroprotectrices (Makni *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2019 ; Singh et Kumar, 2023).

L'analyse de la NFS a révélé que l'exposition des rats au B(a)P induit une diminution significative des taux de lymphocytes ainsi qu'une augmentation significative des taux de monocytes et de granulocytes donc un ratio lymphocytes-monocytes (RLM) bas en comparaison aux animaux normaux. Ces résultats sont en droite ligne avec ceux de Galván *et al.* (2006) et de Xu *et al.* (2021), qui ont évalués respectivement les effets du B(a)P sur la différenciation des cellules lymphoïdes et myéloïdes de la moelle osseuse et les taux prédictifs de monocytes et de lymphocytes en situation de CaP. Ce déséquilibre est le résultat des effets immuno-toxiques des dérivés quinones produites lors du métabolisme enzymatique du B(a)P sur les cellules de la moelle osseuse (Galvan *et al.*, 2006). Les monocytes et les lymphocytes sont deux composants essentiels de l'immunité naturelle et acquise et le RLM montre l'état de progression de l'immunité liée à la maladie. En outre, les monocytes circulants, jouent un rôle clé dans le microenvironnement tumoral en se transformant en macrophages associés à la tumeur qui à leur tour favorisent la croissance, l'angiogenèse et la formation des métastases tumorales. À l'inverse, les lymphocytes peuvent supprimer la prolifération et la migration des cellules tumorales (Nonomura *et al.*, 2010). Nous avons obtenu avec l'huile et

l'extrait des graines totales de *C. sativus* une augmentation significative du RLM montrant que cet extrait aurait la capacité d'interférer avec les enzymes du métabolisme du B(a)P conduisant à l'inhibition de la tumorigénèse.

Le test de viabilité cellulaire effectué dans ce travail a montré que l'exposition des cellules DU145 pendant 24 heures à l'huile des graines de *C. sativus* a entraîné une diminution significative de leur croissance. Il a été également observé une augmentation du nombre des cellules apoptotiques surtout à la concentration de 100 µg/mL après 24 heures d'incubation. Les résultats susmentionnés corroborent ceux de Tuama et Mohamed, qui ont démontré que *C. sativus* est riche en composés bioactifs dotés de pouvoir cytotoxique sur les cellules cancéreuses mammaires et de Qing *et al.* (2022) qui ont montré que la cucurbitacine C, un triterpène, identifié dans l'espèce *C. sativus*, est en partie responsable de son activité anticancéreuse sur les cellules DU145. L'analyse GC-MS de l'huile des graines de *C. sativus* a révélé la présence des triterpènes ainsi que de l'acide 9,12 octadécadiénoïque qui, selon la littérature sont des composés dotés de propriétés cytotoxiques significatives à l'égard de diverses cellules cancéreuses, y compris les cellules cancéreuses prostatiques (Qing *et al.*, 2022 ; Alafnan *et al.*, 2023). Les travaux de Montecillo-Aguado *et al.* (2023) et de Zhang *et al.* (2023) ont montré que l'acide 9,12 octadécadiénoïque connu sous le nom de l'acide linoléique inhibe la croissance des cellules cancéreuses en régulant à la hausse l'expression des protéines proapoptotiques Bax et Bad et en régulant à la baisse l'expression des protéines antiapoptotiques Bcl-2. Il en résulte une augmentation de la perméabilité membranaire mitochondriale et la libération du cytochrome C suivi de l'activation des caspase-9 et -3 et la réduction des taux d'ATP dans diverses lignées cellulaires cancéreuses (Qing *et al.*, 2022). De même, les triterpènes induisent l'arrêt de la croissance cellulaire et l'apoptose par activation de la voie de signalisation PI₃K-Akt suivi de la libération du cytochrome C mitochondrial et de l'activation des caspases 8/9 et 3/7 (Wu *et al.*, 2019). La migration et l'invasion cellulaire sont des caractéristiques déterminantes pour les cellules cancéreuses devant se métastaser (Entschladen *et al.*, 2004). Dans cette étude, l'huile des graines de *C. sativus* a inhibé la migration des cellules DU145 du milieu pauvre en nutriments pour un milieu riche en nutriments, ce qui suggère sa capacité à limiter les cellules du cancer de la prostate dans une région précise. Les triterpènes sont connus pour inhiber la migration et l'invasion des cellules *via* l'inhibition de l'expression des métalloprotéases-9 (Song *et al.*, 2015) ainsi que l'induction des changements épigénétiques de la molécule d'ADN (Varela *et al.*, 2022). Les intégrines sont des protéines transmembranaires également impliquées dans la migration, l'invasion et l'auto-développement des cellules métastatiques. Elles interviennent comme médiateurs dans l'attachement des cellules à la matrice extracellulaire environnante. Il a été observé au niveau des cellules cancéreuses prostatiques (DU145 et PC3) une augmentation de l'expression des intégrines β_1 et une diminution de l'expression des intégrines β_4 (Goel *et al.*, 2008).

Dans ce travail, l'huile des graines de *C. sativus* a inhibé de façon non significative le taux des intégrines β_1 et augmenté significativement le taux des intégrines β_4 surtout à la dose de 100 $\mu\text{g/ml}$. Ce qui est en accord avec la diminution de l'adhésion à la matrice extracellulaire au collagène et à la fibronectine observée dans cette étude. Tous ces résultats soulignent le potentiel anti-métastatique de l'huile de graines des *C. sativus* contre le CaP. Cette inhibition passerait par la capacité de l'extrait à inhiber les fonctions des récepteurs de l'IGF et de la voie PIK/Akt à travers sa capacité à antagoniser les intégrines β_1 .

Le test anti-androgénique de l'OCDE a été réalisé dans le but d'évaluer si cet extrait exercerait ses activités par blocage des RA ou par inhibition de la 5α -réductase. La castration a entraîné une baisse significative des masses relatives de la prostate, des vésicules séminales, du gland et du gland de tyson. La testostérone administrée aux animaux castrés a entraîné une augmentation significative de la masse relative de la prostate, des vésicules séminales, du gland et du gland de tyson. L'augmentation de la masse de la prostate dépend des androgènes tissulaires, à savoir la DHT (Ajayi et Abraham, 2018). *C. sativus* tout comme le flutamide administré concomitamment avec la testostérone chez des rats castrés a réduit considérablement la masse relative de ces organes. Selon l'OCDE (2009), une réduction significative d'au moins deux des cinq masses des tissus dépendant des androgènes cibles comparés au traitement par la testostérone seule peut être considérée comme un résultat anti-androgénique. *C. sativus* serait doté des propriétés anti-androgéniques dues à sa richesse en acides gras polyinsaturés, composés ayant la capacité d'inhiber la 5-réductase (Heim *et al.*, 2018).

Les travaux menés sur le rôle des phyto-œstrogènes dans l'étiologie ou la prévention du CaP sont controversés (Nelles *et al.*, 2016). Les études antérieures ont montré des effets protecteurs des phytoœstrogènes sur la cancérogénèse prostatique (Ganry, 2005 ; He *et al.*, 2015). Dans cette étude, l'administration du fulvestrant et du létrozole à des rats adultes a entraîné une réduction des masses relatives de la prostate et des vésicules séminales comparés aux animaux non traités. Ces résultats corroborent ceux de Jasem et Tawfeek (2020) qui ont montré que l'administration du létrozole aux rats adultes induit une diminution de la masse des organes androgéno-dépendants. Les inhibiteurs de l'aromatase à l'instar de l'anastrozole et du létrozole sont un groupe de médicaments qui inhibent la conversion des androgènes en œstrogènes. Le fulvestrant, un antagoniste pur des récepteurs aux œstrogènes, agit par inhibition de leur dimérisation, leur translocation et augmente leur dégradation (Carlson, 2005). L'administration concomitante du létrozole et des œstrogènes a entraîné une réduction significative de la masse relative de la prostate et une réduction non significative de la masse des autres organes androgéno-dépendants. Les œstrogènes aussi sont connus pour inhiber la croissance des organes reproducteurs mâle et la spermatogenèse par rétroaction négative sur le complexe hypothalamo-hypophysaire (Schulster *et al.*, 2016). Chez les rongeurs et chez l'humain,

le sous-type β du récepteur des œstrogènes est le plus prédominant. En se fixant sur les récepteurs β , les œstrogènes induisent des effets antiprolifératifs et pro-apoptotiques dans la prostate (Ajayi et Abraham, 2018). L'administration concomitante des huiles des graines de *C. sativus*, des œstrogènes et du letrozole a induit davantage une baisse significative de la masse relative des testicules, de la prostate, des vésicules séminales et du pénis. Selon les travaux menés par Kuhnle *et al.* (2009), les plantes de la famille des cucurbitacées comportent jusqu'à 12-13 μg phytoœstrogènes pour 100 g. Il a été démontré que le squalène parfois appelé spinacène ou supraène, triterpène identifié dans l'huile des graines de *C. sativus*, constitue une catégorie importante de phyto-œstrogènes (Kiyama, 2017). Les phytoœstrogènes se fixent préférentiellement sur les récepteurs β aux œstrogènes connus pour leurs propriétés antiprolifératives (Karsli-Ceppioglu *et al.*, 2015).

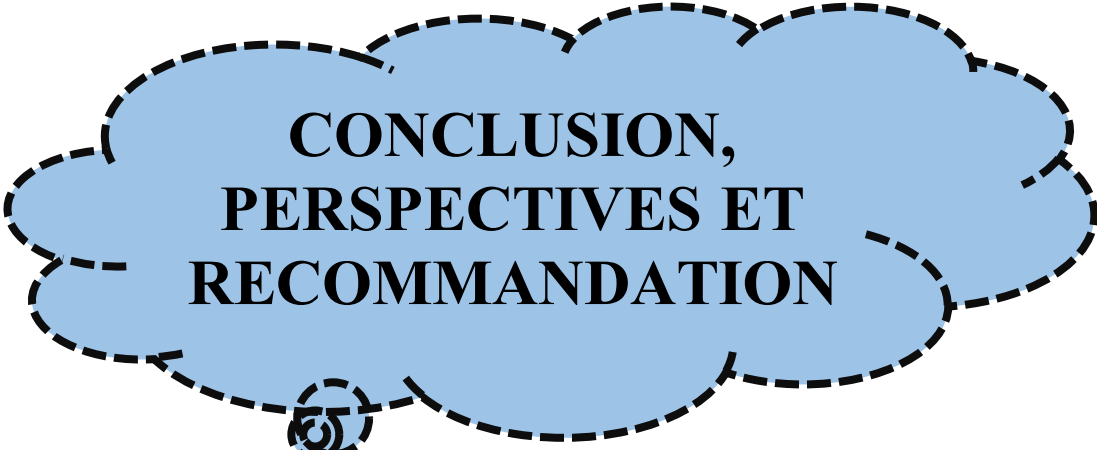
Les résultats de la toxicité aiguë montrent que l'administration d'une dose unique de 2000 ou de 5000 mg/kg PC de l'huile, du tourteau ou même des graines totales de *C. sativus* par voie orale, même après une répétition de l'expérimentation, n'a entraîné ni mortalité, ni signes phénotypiques de toxicité après 14 jours d'observation, permettant de déduire une DL_{50} supérieure à 5000 mg/kg PC. Ces résultats sont similaires à ceux de Wahid *et al.* (2021) qui en évaluant la toxicité de l'huile des graines, des feuilles et des extraits de fruits de *C. sativus* ont montré leur innocuité jusqu'à 5000 mg/kg. Fort de ces observations, les graines de *C. sativus* peuvent être considérées comme une substance très faiblement toxique (OCDE, 2022).

L'administration répétée de la meilleure dose de l'huile ainsi que l'extrait des graines totales de *C. sativus* pendant 90 jours a révélé une diminution significative des masses relatives de la prostate et des vésicules séminales associée à une augmentation significative de la masse relative des testicules. En général, l'augmentation de la masse des testicules est un indicateur de son bon fonctionnement. Les graines de courge contribuent au bon fonctionnement de l'appareil reproducteur masculin grâce à leur richesse en minéraux et surtout en zinc qui est un antioxydant intervenant dans la réparation de l'ADN et la protection des cellules reproductrices du stress oxydatif (Stewart et Lephart, 2023). De plus, les phytoestrogènes contenus dans les graines de courge agiraient par activation de la libération de l'hormone lutéinisante (LH) par l'antéhypophyse qui en retour stimulerait les testicules à libérer la testostérone (Purnamasari *et al.*, 2021). La diminution significative de la masse de la prostate serait due à l'action des phytoœstrogènes entraînant une accumulation de la testostérone et une stimulation à la hausse de la masse des testicules tels que rapporté par Karuna *et al.* (2023). L'analyse des fonctions rénales et hépatiques sont d'une importance capitale pour évaluer la toxicité des médicaments et des extraits végétaux car ces organes interviennent dans la neutralisation des toxines, l'épuration du sang et l'élimination des déchets. Il a été observé une augmentation significative des taux d'ALAT et de bilirubine totale

associée à une augmentation significative de la masse relative du foie chez les rats traités avec les graines de *C. sativus* comparés aux animaux du groupe contrôle. L'analyse histologique des coupes de foies n'a montré aucun dommage cellulaire ni un signe de toxicité. Ces résultats pourraient s'expliquer par l'action des hépatotoxines présentes dans les graines de courge. En effet, l'analyse GC-MS a permis de détecter une teneur élevée en aldéhyde, composé connus pour causer des dommages hépatiques au niveau moléculaire sans provoquer de changements histopathologiques significatifs (Tennekoon *et al.*, 1994). De plus, seule une élévation des taux sériques de transaminases associée à une augmentation du taux de bilirubine deux fois supérieure à la valeur normale est considérée comme un marqueur de toxicité hépatique (Gupta et Trivedi, 2018). Ce qui n'est pas le cas dans cette étude. L'augmentation de la bilirubine totale ainsi que des taux de ALAT observée dans notre étude s'est produite dans les limites normales et ne saurait être considérée comme toxique (Jacob Filho *et al.*, 2018). Il est bien connu que le foie est l'organe clé dans la synthèse et l'excrétion du cholestérol. A cet effet tout type d'obstruction dans le foie, soit intra ou extra-hépatique, s'accompagne d'une augmentation du taux du cholestérol total dans le plasma (Feki *et al.*, 2021). Une diminution significative des biomarqueurs lipidiques (LDL et triglycérides) et une augmentation du taux de HDL-cholestérol ont été observées confirmant une absence d'obstruction du foie. Le système hématopoïétique est parmi les cibles les plus sensibles des toxiques, ce qui en fait un bon système de mesure de toxicité d'une substance (Adeneye *et al.*, 2006). Les médicaments toxiques affectent la moelle osseuse conduisant à la détérioration des cellules sanguines à l'origine des maladies telles que l'anémie et la leucémie (Singh *et al.*, 2021). Il a été observé une diminution significative des pourcentages des monocytes et d'hématocrite associée à une augmentation du volume corpusculaire moyen et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine comparés au groupe témoin normal. Cependant, ces variations observées dans notre étude s'est produite dans les limites normales et ne saurait être considérée comme indicateur de l'anémie (Jacob Filho *et al.*, 2018). De plus, les paramètres clés montrant une anémie sont une diminution significative des concentrations en hémoglobine et en hématocrite corrélée à une diminution des taux d'hémoglobine corpusculaire moyen et de concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (Tariq *et al.*, 2023). Dans ce travail aucune modification significative des taux d'hémoglobine n'a été observée.

Les méthodes d'extraction et de conservation des huiles influencent leur qualité. Cette dernière est mesurable en évaluant les caractéristiques physico-chimiques de l'huile. L'évaluation passe par la détermination de la teneur en acides gras libres, de l'oxydation ainsi que du degré d'insaturation de cette huile (Singh et Kumar, 2023). Le rendement d'extraction de l'huile des graines de *C. sativus* a été de 35,1 %, rendement inférieur à celui obtenu par Fokou *et al.* (2009). En effet, l'extraction à froid donne un faible rendement mais elle reste la meilleure méthode car

permet l'obtention d'une huile non raffinée riches en phytostérols et en composés phénoliques connus pour leur efficacité dans le traitement des pathologies variées y compris celles de la prostate (Singh et Kumar, 2023). L'indice d'acidité décrit la rancidité de l'huile en mesurant la teneur en acides gras libres. Plus sa valeur est faible plus elle témoigne de la bonne qualité de l'huile. L'indice d'acidité de l'huile de *C. sativus* varient de $2,52 \pm 0,14$ mg de KOH/g d'huile fraîche à $3,92 \pm 1,12$ mg de KOH/g d'huile après 3 mois de conservation, valeurs proches de celles obtenues par Achu *et al.* (2006) et de Fokou *et al.* (2009). Une huile fraîche de bonne qualité doit avoir un indice d'acidité inférieure à 5 mg (Murthy *et al.*, 2022). Nous pouvons donc dire que l'huile des graines de *C. sativus* fraîchement pressée est de bonne qualité et cette qualité reste conservée après 3 mois. L'indice de peroxyde quant à lui indique l'état de l'oxydation primaire dans les huiles et est considéré comme un important paramètre de contrôle de la qualité des huiles comestibles (Veronezi *et al.*, 2015). Il mesure la quantité d'hydro-péroxydes contenus dans une huile. L'indice de peroxyde de l'huile fraîchement extraite était de $1,85 \pm 0,13$ meq O₂/kg d'huile tandis que celle conservé après 3 mois au réfrigérateur était de $2,80 \pm 0,00$ meq O₂/kg d'huile (différence non significative). Ces valeurs sont largement inférieures à celle de Veronezi *et al.* (2015). Toutefois, ces valeurs sont inférieures à 10 meq O₂/kg d'huile permettant de classer cette huile parmi les huiles de bonne qualité (Murthy *et al.*, 2022). Dans l'étude des propriétés des huiles, l'indice d'iode représente le paramètre le plus utile car il renseigne sur le degré d'insaturation des acides gras contenus dans une huile donnée. Il permet en outre de classer les huiles végétales en huiles siccatives, semi-siccatives et non-siccatives. Ainsi, plus une huile est insaturée, plus son indice d'iode est élevé (Novidzro *et al.*, 2019). Nos résultats ont montré des valeurs d'indice d'iode allant de $29,21 \pm 0,635$ g I₂/100 g d'huile à $48,26 \pm 1,27$ g I₂/100 g d'huile respectivement après 3 mois de conservation et 3 jours post-extraction. Cette huile est classée parmi les huiles non siccatives dont les indices d'iode sont compris entre 0 à 110 g I₂/100 g d'huile (Blayo, 2002). L'ensemble de ces résultats montrent que même après trois mois de réfrigération, les huiles de *C. sativus* restent de bonne qualité et justifieraient donc de la qualité l'huile de *C. sativus* utilisée dans le cadre de ce travail.



**CONCLUSION,
PERSPECTIVES ET
RECOMMANDATION**

Conclusion

La présente étude avait pour but d'évaluer *in vitro* et *in vivo* les effets antiprolifératifs des graines de quelques espèces de cucurbitacées camerounaises, en occurrence *C. sativus* sur des modèles de tumeurs bénignes et malignes de la prostate induit chez le rat de souche Wistar. Il ressort de cette étude que :

1- Les six espèces de graines de courge testées possèdent une activité antiproliférative *in vitro* sur les cellules cancéreuses prostatiques et *in vivo* sur l'HBP chez le rat, l'huile extraite des graines de *C. sativus* crues administrée quotidiennement pendant 28 jours a de meilleurs effets. Ces effets ont été marqués par une diminution de la masse relative et du volume de la prostate ainsi que le taux de protéines totales et de la taille de l'épithélium prostatique ; une diminution du taux de PSA, des marqueurs pro-oxydants et inflammatoires surtout à la dose de 500 mg/kg pour l'extrait des graines totales et 170 mg/kg pour la fraction huileuse.

2- L'huile des graines de *C. sativus* possède une activité anticancéreuse car *in vitro*, elle inhibe la croissance des lignées cellulaires, avec un effet plus marquant sur les cellules LNCaP surtout à la concentration de 100 µg/mL. *In vivo*, elle inhibe la charge, l'incidence et le volume des tumeurs avec un effet exacerbé à la dose de 170 mg/kg PC.

3- L'huile extraite des graines de *C. sativus* exercerait ses effets antiprolifératifs *in vitro* en induisant une cytotoxicité, en stimulant l'apoptose, en inhibant la formation des clones cellulaires, la migration et l'invasion tumorale. *In vivo*, cette huile agirait soit par un effet anti-androgénique par inhibition de la 5 α -réductase, soit par une action anti-oxydante par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du taux de glutathion réduit et de l'activité de la catalase ; soit par une action anti-inflammatoire par la stimulation de la synthèse des cytokines anti-inflammatoires tels que l'IL10 et inhibition de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires ; soit par une action oestrogénique par action sur les récepteurs β aux œstrogènes situés dans l'épithélium prostatique et dans le stroma. Ces effets seraient attribués à l'acide linoléique et au squalène, composés identifiés dans l'huile de ces graines et connus pour leurs propriétés anti-androgéniques, anti-inflammatoires, anti-oxydants et anti-hyperlipidémiques.

4- L'huile et l'extrait des graines totales de *C. sativus* seraient très faiblement toxiques en témoigne leur DL 50 > 5000 mg/kg. L'huile utilisée dans le cadre de ce travail serait une huile de bonne qualité.

Pris dans l'ensemble, ces résultats apportent des bases scientifiques aux pratiques empiriques et suggèrent que l'huile des graines de *C. sativus* est un alicament aux propriétés anticancéreuses pouvant faire l'objet d'une homologation et d'une divulgation sur le marché.

Recommandation

Nous encourageons la population désireuse de prévenir les pathologies liées à la prostate de consommer la fraction huileuse des graines de *C. sativus* dans leur salade et autres plutôt que la forme préparée.

Perspectives

Toutefois, il serait nécessaire dans un futur propre :

- ✚ d'isoler et d'évaluer les effets antiprolifératifs des composés majoritaires issus de *C. sativus*;
- ✚ d'évaluer la possibles effets de l'administration chronique chez des rats ;
- ✚ d'évaluer la stabilité de ces huiles sur une durée d'un an.



REFERENCES

- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M, Tchouanguép FM. (2005).** Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. *Afr J Biotechnol*; 4(11): 1329-1334.
- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M, Tchouanguép FM. (2008).** Atherogenicity of *Cucumeropsis mannii* and *Cucumis sativus* oils from Cameroon. *Afr J Food Sci*; 2(3): 021-025.
- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M, Tchouanguép MF. (2006).** Chemical characteristics and fatty acid composition of Cucurbitaceae oils from Cameroon. In 13th World Congress of Food Science and Technology; 1249-1259.
- Adeneye AA, Ajagbonna OP, Adeleke TI, Bello SO. (2006).** Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. *J. Ethnopharmacol*; 105(3): 374-379.

- Adepoju AJ, Abdul-Hammed M, Falade VA, Azeez SO. (2021).** Phytochemical screening and antimicrobial activity study of *Cucumeropsis mannii* and *Irvingia gabonensis* ethanolic seeds extracts. *World J Pharm Res*; 10(8): 176-186.
- AFNOR. (1981).** Association Française de Normalisation. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. Recueil de normes françaises. AFNOR, Paris, (France). 2^e édition; 438p.
- Ahmad MD, Ahmad I, El-Chaghaby G, Rashad S. (2022).** Nutritional and Medicinal Potential of Bottle Gourd (*Lagenaria siceraria*): A Mini Review. *Egypt J Bot*; 62(1): 1-10.
- Ajayi A, Abraham K. (2018).** Understanding the role of estrogen in the development of benign prostatic hyperplasia. *Afr J Urol*; 24(2): 93-97.
- Alafnan A, Khalifa NE, Hussain T, Osman ME. (2023).** Cucurbitacin-B instigates intrinsic apoptosis and modulates Notch signaling in androgen-dependent prostate cancer LNCaP cells. *Front pharmacol*; 14: 1-12.
- Alhakamy NA, Fahmy UA, Ahmed OA. (2019).** Attenuation of benign prostatic hyperplasia by optimized tadalafil loaded pumpkin seed oil-based self nanoemulsion: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Pharmaceutics*; 11(12): 1-13.
- Ali A, Kulik G. (2021).** Signaling pathways that control apoptosis in prostate cancer. *Cancers*; 13(5): 1-34.
- Amin MZ, Islam T, Mostofa F, Uddin MJ, Rahman MM, Satter MA. (2019).** Comparative assessment of the physicochemical and biochemical properties of native and hybrid varieties of pumpkin seed and seed oil (*Cucurbita maxima* Linn.). *Heliyon*; 5(12): 1-6.
- Amling CL. (2005).** Relationship between obesity and prostate cancer. *Curr Opin Urol*; 15(3): 167-171.
- Aref ABM, Semmler M, Mohamadain HS, Jad MM. (2021).** Biological Effects of DMBA and *Lagenaria siceraria*: 2: Modulatory Role of *Lagenaria siceraria* on the ileum of females Swiss Albino Mice induced by the possible carcinogenic effect of DMBA. *Egypt Acad J Biol Sci*; 13(2): 87-99.
- Aubaile-Sallenave F. (2001).** Les cucurbitacées en Méditerranée. De Babylone à aujourd'hui : le cas de la courgette et d'al-Fāqūs. *Boccone*; 13: 239-250.
- Aurilio G, Cimadamore A, Mazzucchelli R, Lopez-Beltran A, Verri E, Scarpelli M, Massari F, Cheng L, Santoni M, Montironi R. (2020).** Androgen Receptor Signaling Pathway in Prostate Cancer: From Genetics to Clinical Applications. *Cells*; 9: 1-14.
- Azizi A, Mumin NH, Shafqat N. (2021).** Phytochemicals with anti 5-alpha-reductase activity: A Prospective For Prostate Cancer Treatment. *F1000Res*; 10: 1-19.

- Babulreddy N, Sahoo SP, Ramachandran S, Dhanaraju MD. (2013).** Anti-hyperglycemic activity of *Cucumis melo* Leaf extracts in Streptozotocin induced Hyperglycemia in Rats. *Inter J*; 2(4): 22-27.
- Balk SP, Ko YJ, Bublely GJ. (2013).** Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol*; 21(2): 383-391.
- Barsouk A, Padala SA, Vakiti A, Mohammed A, Saginala K, Thandra KC, Rawla P, Barsouk A. (2020).** Epidemiology, staging and management of prostate cancer. *J Med Sci*; 8: 1-13.
- Barul C, Parent ME. (2021).** Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and risk of prostate cancer. *Environmental Health*; 20(1): 1-10.
- Begum HA, Asad F, Sadiq A, Mulk S, Ali K. (2018).** Antioxidant, antimicrobial activity and phytochemical analysis of the seeds extract of *Cucumis sativus* Linn. *Pure appl biol*; 8(1): 433-441.
- Berti FCB, Oliveira KB. (2018).** IL-10 in cancer: Just a classical immunosuppressive factor or also an immunostimulating one? *AIMS allergy immunol*; 2(2): 88-97.
- Bianco FJ, Scardino PT, Eastham JA. (2005).** Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function (« trifecta »). *Urology*; 66: 83-94.
- Blayo A. (2002).** Les huiles végétales, les colophanes et les terpènes. *Actualite chimique*; (11/12): 27-30.
- Blumenthal M, Busse WR. (1998).** The Complete German Commission E Monographs, Therapeutic Guide to Herbal Medicines. American Botanical Council; Integrative Medicine Communications, Austin, Texas; 685p.
- Boileau TWM, Liao Z, Kim S, Lemeshow S, Erdman JJW, Clinton SK. (2003).** Prostate carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea (NMU)-testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J Natl Cancer Inst*; 95(21): 1578-1586.
- Bok RA, Small EJ. (2002).** Bloodborne biomolecular markers in prostate cancer development and progression. *Nat Rev Cancer*; 2(12): 918-926.
- Bonnaure-Sorbier D. (2020).** L'hyperplasie bénigne de la prostate, un vieillissement cellulaire naturel. *Actualités pharmaceutiques*; 59(592): 20-24.
- Boron W, Boulpaep E. (2003).** Medical physiology: a cellular and molecular approach University of Michigan, Ann Arbor, Unités States. Elsevier/saunders (3rd Ed); 1313p.
- Bosland MC, Schlicht MJ, Horton L, McCormick DL. (2022).** The MNU plus testosterone rat model of prostate carcinogenesis. *Toxicol Pathol*; 50(4): 478-496.
- Bosland MC. (1992).** Animal models for the study of prostate carcinogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry*; 50(S16H): 89-98.

- Bounda GA. (2018).** Phytotherapy of prostate cancer: how far are we. *Clin Oncol Case Rep*; 1(1): 1-9.
- Bouraoui Y, Ricote M, García-Tuñón I, Rodríguez-Berriguete G, Touffehi M, Rais NB, Fraile B, Paniagua R, Oueslati R, Royuela M. (2008).** Pro-inflammatory cytokines and prostate-specific antigen in hyperplasia and human prostate cancer. *Cancer Detect Prev*; 32(1): 23-32.
- Bradford M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*; 72: 248-254.
- Brand LJ, Dehm SM. (2013).** Androgen Receptor Gene Rearrangements: New Perspectives on Prostate Cancer Progression. *Curr Drug Targets*; 14: 441-449.
- Brönimann S, Pradere B, Karakiewicz P, Abufaraj M, Briganti A, Shariat SF. (2020).** An overview of current and emerging diagnostic, staging and prognostic markers for prostate cancer. *Expert Rev Mol Diagn*; 20(8): 841-850.
- Brunel P, Flesch G, Meno-Tetang G. (2021).** Voyage au coeur de la relation dose-réponse du médicament. In *Voyage au coeur de la relation dose-réponse du médicament*. EDP Sciences *Les Ulis : EDP Sciences France*; 316p.
- Bukowska B, Mokra K, Michalowicz J. (2022).** Benzo[a]pyrene Environmental Occurrence, Human Exposure, and Mechanisms of Toxicity. *Int J Mol Sci*; 23(11): 1-30
- Cannet C. (2006).** Artéfacts les difficultés de la technique histologique, de la circulation à la coupe. *Rev fr histotechnol*; 19: 71-83.
- Cao D, Sun R, Peng L, Li J, Huang Y, Chen Z., Chen B, Li J, Ai J, Yang L, Liu L, Wei Q. (2022).** Immune Cell Proinflammatory Microenvironment and Androgen-Related Metabolic Regulation During Benign Prostatic Hyperplasia in Aging. *Front Immunol*; 13: 1-8.
- Carlson RW. (2005).** The history and mechanism of action of fulvestrant. *Clin Breast Cancer*; 6: S5-S8.
- Carson C, Rittmaster R. (2003).** The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology*; 61: 2-7.
- Catalano M, Roviello G, Santi R, Villari D, Spatafora P, Galli IC, Sessa F, Conte FL, Mini E, Cai T, Nesi G. (2023).** Inflammation in Urological Malignancies: The Silent Killer. *Int J Mol Sci*; 24(1): 1-24.
- Cesta MF. (2006).** Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. *Toxicol Pathol*; 34(5): 455-465.
- Chakraborty A, Bhattacharjee A, Chakraborty M, Mukhopadhyay G. (2024).** 5 Alpha-Reductase Inhibitory Potential of *Solanum nigrum* Effective for Management of Alopecia. *Indian J Pharm Sci*; 86(2): 509-516

- Chang KH, Li R, Papari-Zareei M, Watumull L, Zhao YD, Auchus RJ, Sharifi N. (2011).** Dihydrotestosterone synthesis bypasses testosterone to drive castration-resistant prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci*; 108(33): 13728-13733.
- Chimento A, De Luca A, Avena P, De Amicis F, Casaburi I, Sirianni R, Pezzi V. (2022).** Estrogen Receptors-Mediated Apoptosis in Hormone-Dependent Cancers. *Int J Mol Sci*; 23(3): 1-34.
- Chistiakov DA, Myasoedova VA, Grechko AV, Melnichenko AA, Orekhov AN. (2018).** New biomarkers for diagnosis and prognosis of localized prostate cancer. *Semin Cancer Biol*; 52: 9-16.
- Chughtai B, Lee R, Te A, Kaplan S. (2011).** Role of inflammation in benign prostatic hyperplasia. *Reviews in Urology*; 13(3): 147-150.
- Coleman KM, Smith CL. (2001).** Intracellular signaling pathways: nongenomic actions of estrogens and ligand-independent activation of estrogen receptors. *Front Biosci*; 6: 1379-1391.
- Coleman WB. (2018).** Molecular pathogenesis of prostate cancer. *Mol Pathol*; 555-568.
- Corti M, Lorenzetti S, Ubaldi A, Zilli R, Marcoccia D. (2022).** Endocrine Disruptors and Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*; 23(3): 1-17.
- Cucherousset J. (2015).** Formes inhabituelles de cancer de prostate. *Le nouveau Cancérologue*. 2015; 8(02). Cunningham D, You Z. *In vitro* and *in vivo* model systems used in prostate cancer research. *J Biol Methods*; 2(1): 1-28.
- Cussenot O, Cancel-Tassin G. (2004).** Facteurs de risque génétique pour le cancer de la prostate. *médecine/sciences*; 20(5): 562-568.
- Das K, Buchholz N. (2019).** Benign prostate hyperplasia and nutrition. *Clin Nutr*; 33: 5-11.
- Del Prado-Audelo ML, Cortés H, Caballero-Florán IH, González-Torres M, Escutia-Guadarrama L, Bernal-Chávez SA, Leyva-Gómez G. (2021).** Therapeutic applications of terpenes on inflammatory diseases. *Front pharmacol*; 12: 1-7.
- Derycke LDM, Bracke ME, Hagberg TM. (2014).** Androgen receptor mutations in prostate cancer. *Cell*; 6: 1180-1189.
- Devlin MC, Simms SM, Maitland JN. (2021).** Benign prostatic hyperplasia-what do we know? *BJU Int*; 127: 389-399.
- Dhiman K, Gupta A, Sharma DK, Gill NS, Goyal A. (2012).** A review on the medicinally important plants of the family Cucurbitaceae. *Asian J Clin Nutr*; 4(1): 16-26.
- Diaz Gomez MI, Fanelli SL, Castro GD, Costantini MH, Castro JA. (1999).** A liver nuclear ethanol metabolizing system. Formation of metabolites that bind covalently to macromolecules and lipids. *Toxicology*; 138: 19-28.

- Dohle GR, Smit M, Weber RFA. (2003).** Androgens and male fertility. *World J Urol*; 21(5): 341-345.
- Doyon M, Labrecque J. (2008).** “Functional foods: a conceptual”. *Br Food J*; 110: 1133-1149.
- Dun MW, Kazer MW. (2011).** Prostate cancer overview. *Semin. Oncol*; 27(4): 241-250.
- Eleazu K, Maduabuchi AP, Eleazu CO. (2021).** Cocoyam (*Colocasia esculenta*) modulates some parameters of testosterone propionate-induced rat model of benign prostatic hyperplasia. *Drug Chem Toxicol*; 45(5): 1923-1933.
- Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys*; 82: 70-77.
- Elsheikh AM, Hassan SA. (2022).** Resveratrol: A Potential Protector Against Benzo [a] pyrene-Induced Lung Toxicity. *Pak J Biol Sci*; 25(1): 78-89.
- Ene CV, Nicolae I, Geavlete B, Geavlete P, Ene CD. (2022).** IL-6 Signaling Link between Inflammatory Tumor Microenvironment and Prostatic Tumorigenesis. *Analytical Cellular Pathology*; 2022: 1-11.
- Engbang JPN, Sala B, Moby H, Ligan Y, Djimeli BD, Simo G, Moune A, Mouelle AS, Fewou A, Essame JLO, Hasigov A. (2017).** Epidemiomorphology of Prostate Cancer in Cameroon: About 1047 Cases. *J Cancer Tumor Int*; 6(3): 1-8.
- Enneb S, Drine S, Bagues M, Triki T, Boussora F, Guasmi F, Nagaz K, Ferchichi A. (2020).** Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (*Cucurbita moschata* D.) from Tunisia. *S Afr J Bot*; 130: 165-171.
- Entschladen F, Theodore L, Drell I, Lang K, Joseph J, Zaenker KS. (2004).** Tumour-cell migration, invasion and metastasis: navigation by neurotransmitters. *Lancet*; 5: 254-258.
- Estebanez-Perpina E, Bevan CL, McEwan IJ. (2021).** Eighty Years of Targeting Androgen Receptor Activity in Prostate Cancer: The Fight Goes on. *Cancers*; 13: 1-19.
- Evans C, Fleshner N, Fitzpatrick J, Zlotta A. (2005).** An evidence-based approach to understanding the pharmacological class effect in the management of prostatic diseases. *BJU Int*; 95: 743-749.
- Ewing CM, Ray AM, Lange EM, Zuhlke KA, Robbins CM, Tembe WD, Cooney KA. (2012).** Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk. *N Engl J Med*; 366(2): 141-149.
- Feki A, Kammoun I, Naifar M, Ayadi FM, Hakim A, Amara E. (2021).** Etude du profil biochimique chez des rats traités avec des doses croissantes en thiaméthoxame study of the biochemical profile in rats treated with increasing doses of thiamethoxam. *J Inf Med Sfax*; 37: 55-63.
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Pineros M, Znaor A, Bray F. (2019).** Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int. J. Cancer*; 144(8): 1941-1953.

- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. (2021).** Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*; 149(4): 778-789.
- Fermor 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. *J Orthop Res*; 19: 729-737.
- Fokou E, Achu MB, Kansci G, Ponka R, Fotso M, Tchiegang C, Tchouanguép FM. (2009).** Chemical properties of some Cucurbitaceae oils from Cameroon. *Pak J Nutr*; 8(9): 1325-1334.
- Fontana F, Limonta P. (2021).** Dissecting the Hormonal Signaling Landscape in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cells*; 10(5): 1-26.
- Foong FHN, Mohammad A, Ichwan SJA. (2015).** Biological properties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) extracts. *Malaysian J Anal Sci*; 19(6): 1218-1222.
- Fournier G. (2004).** Cancer de la prostate diagnostic et bilan d'extension. *Annal Urol*; 38: 207-224.
- Fradet Y. (2004).** Bicalutamide (Casodex®) in the treatment of prostate cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*; 4(1): 37-48.
- Fujita K, Nonomura N. (2018).** Urinary biomarkers of prostate cancer. *Int J Urol*; 25(9): 770-779.
- Galani P. (2015).** Diagnosis and prognosis of prostate cancer. *J Adv Med Dent Scie Res*; 3(5): S49-S43.
- Galván N, Page TJ, Czuprynski CJ, Jefcoate CR. (2006).** Benzo(a)pyrene and 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene differentially affect bone marrow cells of the lymphoid and myeloid lineages. *Toxicol Appl Pharmacol*; 213(2): 105-116.
- Ganry O. (2005).** Phytoestrogens and prostate cancer risk. *Prev. Med*; 41(1): 1-6.
- Geindreau M, Bruchard M, Vegran F. (2022).** Role of cytokines and chemokines in angiogenesis in a tumor context. *Cancers*; 14(10): 1428-1438
- Gilbert R, Martin RM, Beynon R, Harris R, Savovic J, Zuccolo L, Bekkering GE, Fraser WD, Sterne JAC, Metcalfe C. (2011).** Associations of circulating and dietary vitamin D with prostate cancer risk: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Cancer Causes Control*; 22: 319-340.
- Glaser A, Shi Z, Wei J, Lanman NA, Ladson-Gary S, Vickman RE, Xu J. (2022).** Shared Inherited Genetics of Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate Cancer. *Eur Urol Open Sc*; 43: 54-61.
- Goel HL, Li J, Kogan S, Languino LR. (2008).** Integrins in prostate cancer progression. *Endocr Relat Cancer*; 15: 657-664.

- Goji M, Asres K, Gameda N, Yirsaw K. (2006).** Screening of the antimicrobial activities of some plants used traditionally in Ethiopia for the treatment of skin disorders. *Ethio Pharma J*; 24: 130-135.
- Gossell-Williams M, Davis A, O'connor N. (2006).** Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of sprague-dawley rats by pumpkin seed oil. *J Med Food*; 9(2): 284-286.
- Grimberg A. (2003).** Mechanisms by which IGF-I may promote cancer. *Cancer Biol Ther*; 2(6): 630-635.
- Gundem G, Van Loo P, Kremeyer B, Alexandrov LB, Tubio JM, Papaemmanuil E, Brewer DS, Kallio HM, Bova GS. (2015).** The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer. *Nature*; 520(7547): 353-357.
- Guo CC, Czerniak B. (2023).** Updates of Prostate Cancer from the 2022 World Health Organization Classification of the Urinary and Male Genital Tumors. *J Clin Transl Pathol*; 3(1): 26-34.
- Gupta V, Trivedi P. (2018).** *In vitro* and *in vivo* characterization of pharmaceutical topical nanocarriers containing anticancer drugs for skin cancer treatment. *Lipid nanocarriers for drug targeting*; 15(2): 563-627.
- Gurumurthy S, Murthi VK, Rangnekar VM. (2001).** *Cancer Metastasis Rev*; 20(3/4): 225-243.
- Habib A, Jaffar G, Khalid MS, Hussain Z, Zainab SW, Ashraf Z, Haroon A, Javed R, Khalid B, Habib P. (2021).** Risk Factors Associated with Prostate Cancer. *J Drug Deliv Ther*; 11(2): 188-193.
- Haffner MC, Zwart W, Roudier MP, True LD, Nelson WG, Epstein JI, Marzo AM, Nelson PS, Yegnasubramanian S. (2021).** Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. *Nat Rev Urol*; 18(2): 79-92.
- Hamid A, Umbas R, Mochtar C. (2011).** Recent role of inflammation in prostate diseases: chemoprevention development opportunity. *Acta Med Indones*; 43: 59-65.
- He J, Wang S, Zhou M, Yu W, Zhang Y, He X. (2011).** Phytoestrogens and risk of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *World J Surg Oncol*; 3(1): 1-11.
- Hegazy AM, Bakry HH, El-Shawarby RM, Abou-Salem ME, El-Aleem NA, Nasr SM. (2012).** Effects of benzo (a) pyrene on blood components, tumor markers, and oxidative status in mice. *Toxicol Environ Chem*; 94(1): 136-145.
- Heim S, Seibt S, Stier H, Moré MI. (2018).** Uromedic® pumpkin seed derived Δ^7 -sterols, extract and oil inhibit 5α -reductases and bind to androgen receptor *in vitro*. *Pharmacol Pharm*; 9(06): 193-207.
- Ho KL, Ng ZX, Wang CW, Mat Junit S, Huah Lim S, Ngo CT, Yong HA, Yong PH. (2022).** Comparative analysis of *in vitro* enzyme inhibitory activities and phytochemicals from

- Platyclusus orientalis* (L.) Franco via solvent partitioning method. *Appl Biochem Biotechnol*; 194(8): 3621-3644.
- Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. (2009).** Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol*; 142: 71-74.
- Hodgson E. (2003).** A textbook of modern toxicology. 3th edition. USA : Wiley Interscience; 525-541.
- Hoffmann GE, Hiefinger R, Weiss L. (1985).** Five methods for measuring low-density lipoprotein cholesterol concentration in serum compared. *Clin Chem*; 31: 1729-1730.
- Humphrey PA. (2017).** Histopathology of prostate cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*; 7(10): 1-21.
- Hussain A, Kausar T, Din A, Murtaza MA, Jamil MA, Noreen S, Rehman H, Shabbir H, Ramzan MA. (2021).** Determination of total phenolic, flavonoid, carotenoid, and mineral contents in peel, flesh, and seeds of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *J Food Process Preserv*; 2021: 1-8.
- Ittmann M. (2018).** Anatomy and histology of the human and murine prostate. *Cold Spring Harb Perspect Med*; 8(5): 1-6.
- Jacob Filho W, Lima CC, Paunksnis MRR, Silva AA, Perilhão MS, Caldeira M, Bocalini D, de Souza RR. (2018).** Reference database of hematological parameters for growing and aging rats. *The Aging Male*; 21(2): 145-148.
- Jasem MH, Tawfeek KF. (2020).** Aromatase inhibitor, flax seed and sage effects on adult rat fertility and sexual behavior. *J Educ Sci*; 29(2): 174-185.
- Jee SC, Kim M, Kim KS, Kim HS, Sung JS. (2020).** Protective effects of myricetin on benzo(a)pyrene-induced 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and BPDE-DNA adduct. *Antioxidants*; 9(5): 1-13.
- Ji X, Li Y, He J, Shah W, Xue X, Feng G, Zhang H, Gao M. (2016).** Depletion of mitochondrial enzyme system in liver, lung, brain, stomach and kidney induced by benzo(a)pyrene. *Environ Toxicol Pharmacol*; 43: 83-93.
- Jia Q, Cheng W, Yue Y, Hu Y, Zhang J, Pan X, Xu Z, Zhang P. (2015).** Cucurbitacin E inhibits TNF- α -induced inflammatory cytokine production in human synoviocyte MH7A cells via suppression of PI3K/Akt/NF- κ B pathways. *Int Immunopharmacol*; 29(2): 884-890.
- Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. (2023).** Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*; 97: 2499-2574.
- Kaplan A. (1984).** Uric acid. Clin Chem. The C.V Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1257-1260.

- Kaplan-Lefko PJ, Chen TM, Ittmann MM, Barrios RJ, Ayala GE, Hussv WJ, Maddison LA, Foster BA, Greenberg NM. (2003).** Pathobiology of autochthonous prostate cancer in a pre-clinical transgenic mouse model. *Prostate*; 55(3): 219-237.
- Karawya FS, Zahran NM. (2015).** Histological study of the effect of pumpkin seed oil on experimentally induced benign prostatic hyperplasia of the ventral prostate in adult male albino rats. *Egypt J Histol*; 38(2): 286-294.
- Karsli-Ceppioglu S, Ngollo M, Judes G, Penault-LLorca F, Bignon YJ, Guy L, Bernard-Gallon D. (2015).** The role of soy phytoestrogens on genetic and epigenetic mechanisms of prostate cancer. In *The Enzymes*; 37: 193-221.
- Karuna A, Lata S, Pradeep B. (2023).** Pumpkin seed ethanolic extract protects against escitalopram-induced reproductive toxicity in male mice. *Asian Pac J Reprod*; 12(2): 71-80.
- Keehn A, Taylor J, Lowe FC. (2016).** Phytotherapy for Benign Prostatic Hyperplasia. *Curr Urol Rep*;17(7): 1-6.
- Kim H. (2022).** Finasteride therapy in a dog with benign prostatic hyperplasia. *J Anim Reprod Biotechnol*; 37(3): 209-212.
- Kishorebabu A, Sree SN, Chandralekha SP. (2019).** A Review on Benign Prostatic Hyperplasia. *World J Curr Med Pharm Res*; 1(5): 192-197.
- Kiyama R. (2017).** Estrogenic terpenes and terpenoids: Pathways, functions and applications. *Eur J Pharmacol*; 815: 405-415.
- Klaunig JE, Wang Z, Pu X, Zhou S. (2011).** Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol*; 254(2): 86-99.
- Knoblauch SE, True L, Tretiakova M, Hukkanen RR. (2018).** 18-Male reproductive system. *Comparative Anatomy and Histology*; 2018: 335-363.
- Kolade OY, Oladiji TA. (2018).** Protective Effects of Curcumin Against Benzopyrene Induced Liver Toxicity In Albino Rats. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*; 210(1): 1-17.
- Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, Diakosavvas M. (2020).** « Role of Oncogenes and Tumor-Suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review ». *Anticancer Res*; 40(11): 6009-6015.
- Kouakou K, Benie T. (2003).** Effet antifertilisant de *Dal-dinia concentrica* et *Psathyrella efflorescens*. Recherche des effets œstrogéniques. *Ethnopharmacologia*; 31: 45-57.
- Kuhnle GG, Dell'Aquila C, Aspinall SM., Runswick SA, Joosen AM, Mulligan AA, Bingham SA. (2009).** Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and 13C-labelled standards. *Food Chem*;116(2):542-554.

- Kurahashi N, Sasazuki S, Iwasaki M, Inoue M, Tsugane S. (2008).** JPHC Study Group. Green tea consumption and prostate cancer risk in Japanese men: a prospective study. *Am J Epidemiol*; 167: 71-77.
- Kwon E, Drake C, Scher H, Fizazi K, Bossi A, van den Eertwegh A, Krainer M, Houede N, Santos R, Mahammedi H, Ng S, Gerritsen WR. (2014).** Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184-043): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*; 15(7): 700-712.
- Lamb DJ, Zhang L. (2019).** Challenges in prostate cancer research: animal models for nutritional studies of chemoprevention and disease progression. *J Nutr*. 205;135(12): S3009-S3015.
- Langan R. (2019).** Benign Prostatic Hyperplasia. *Prim Care*; 46: 223-232.
- Lasfargues G. (2018).** Current concepts in carcinogenesis. In: Musu T, Vogel L, (eds). *Cancer and work, understanding occupational cancers and taking action to eliminate them*. ETUI European Trade Union Institute, Brussels. 2018: 15-25.
- Laurent V, Guérard A, Mazerolles C, Le Gonidec S, Toulet A, Nieto L, Zaidi F, Majed B, Garendeau D, Socrier Y, Golzio M, Muller C. (2016).** Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. *Nat Commun*; 7(1): 1-15.
- Leav I, Ho SM, Ofner P, Merk FB, Kwan PW, Damassa D. (1988).** Biochemical alterations in sex hormone-induced hyperplasia and dysplasia of the dorsolateral prostates of Noble rats. *J. Natl Cancer Inst*; 80(13): 1045-1053.
- Lefstin JA, Yamamoto KR. (1998).** Allosteric effects of DNA on transcriptional regulators. *Nature*; 392: 885-888.
- Lerner LB, McVary KT, Barry MJ, Bixler BR, Dahm P, Das AK, Gandhi MC, Kaplan SA, Kohler TS, Martin L, Pardons K, Roehrborn CG, Stoffel JT, Welliver C, Wilt TJ. (2021).** Management of lower urinary tract symptoms attributed to benign prostatic hyperplasia: AUA guideline part I-initial work-up and medical management. *J Urol*; 206(4): 806-817.
- Li Y, Periwal V, Cushman SW, Stenkula KG. (2016).** Adipose cell hypertrophy precedes the appearance of small adipocytes by 3 days in C57BL/6 mouse upon changing to a high fat diet. *Adipocyte*; 5: 81-87.
- Lim J, Lee H, Hong S, Lee J, Kim Y. (2024).** Comparison of the Antioxidant Potency of Four Triterpenes of *Centella asiatica* against Oxidative Stress. *Antioxidants* ; 13(4): 2-14.
- Lima ALC, Farrington JW, Reddy CM. (2005).** Combustion-derived polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment-a review. *Environ Forensics*; 6(2): 109-31

- Liss MA, Al-Bayati O, Gelfond J, Goros M, Ullevig S, DiGiovanni J, Hamilton-Reeves J, O’Keefe D, Bacich D, Weaver B, Leach R, Thompson IM, Hamilton-Reeves J, O’Keefe D, Bacich D,1 Weaver B, Leach R, Thompson IM. (2019).** Higher baseline dietary fat and fatty acid intake is associated with increased risk of incident prostate cancer in the SABOR study. *Prostate Cancer Prostatic Dis*; 22: 244-251.
- Litwin MS, Tan HJ. (2017).** The diagnosis and treatment of prostate cancer: a review. *Jama*; 317(24): 2532-2542.
- Ly A. (2018).** Traditional Medicines and Cancer Therapies in African Landscape. *J Tumor Med Prev*; 3: 1-6.
- Maadsi L, Khaled H. (2012).** Effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux et l’activité antioxydante de deux espèces de courge (*Cucurbita pepo* et *Cucurbita moschata*) récoltées à Bejaia. Mémoire de Fin de Cycle d’étude en Sciences Alimentaires. Université A -Mira de Bejaia, Algérie; 84p
- Magdeleine-Marie C, Mahieu M, Archimède H. (2011).** Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.) Seeds as an Anthelmintic Agent? *Nuts Seeds Heal Dis Prev*; 933-939.
- Mahmoodpoor A, Medghalchi M, Nazemiyeh H, Asgharian P, Shadvar K, Hamishehkar H. (2018).** Effect of *Cucurbita maxima* on control of blood glucose in diabetic critically ill patients. *Adv Pharm Bull*; 8(2): 347-351
- Mahmoud AM, Yang W, Bosland MC. (2014).** Soy isoflavones and prostate cancer: A review of molecular mechanisms. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 140:116-132.
- Makni M, Fetoui H, Gargouri NK, Garoui EM, Jaber H, Makni J, Zeghal N. (2008).** Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in ω -3 and ω -6 fatty acids in hypercholesterolemic rats. *Food Chem Toxicol*; 46(12): 3714-3720.
- Malathi G, Vadivelu J. (2021).** In-vitro antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of Cucumis melo L. of ethanolic extract. *Biomedicine*; 41(2): 439-442.
- Malik SS, Batool R, Masood N, Yasmin A. (2018).** Risk factors for prostate cancer: A multifactorial case-control study. *Curr Probl Cancer*; 42: 337-343.
- Mampouya D, Silou T, Bintoungui JP, Kama-Niamayoua R, Maloumbi M, Saadou M. (2016).** Lipides extraits des graines de *Lagenaria siceraria* (mol.) standl d’Afrique subsaharienne : caractérisation et évaluation de la biodiversité. *Annale des Sciences et Techniques*; 12(4): 71-82.
- Mani R-S. (2014).** The emerging role of speckle-type POZ protein (SPOP) in cancer development. *Drug Discov Today*; 19:1498-1502.

- Marcoccia D, Smeriglio A, Mantovani A, Trombetta D, Lorenzetti S. (2022).** Intracellular distribution of vinclozolin and its metabolites differently affects 5 α -dihydrotestosterone (DHT)-induced PSA secretion in LNCaP cells. *Reprod Toxicol*; 111: 83-91.
- Marieb EN. (2010).** Anatomie et physiologie Humaines. 8 e me Edition. DeBoeck Université, Paris, Bruxelles; 2010: 1190-1196.
- Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. (2003).** Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol*; 253(2): 165-174.
- Martin PM, Muracciole X, Berenguer C, Boudouresque F, L'H O. (2008).**  volution de la cellule normale à la cellule cancéreuse prostatique hormonod pendante-hormono-indépendante. *Médecine Nucléaire*; 32(1): 5-23.
- Matillon X, Crouzet S, Murat FJ, Cherasse A, Martin X. (2012).** Cryothérapie de rattrapage pour récidive de cancer de prostate après radiothérapie externe. *Progrès en Urologie*; 22(13): 801-801.
- Matsumoto S, Hanai T, Uemura H. (2010).** Chronic treatment with a PDE5 inhibition increases contractile force of normal bladder in rats. *Int Urol Nephrol*; 42: 53-56.
- Matsushita M, Fujita K, Nonomura N. (2020).** Influence of diet and nutrition on prostate cancer. *Int J Mol Sci*; 21(4): 1-18.
- Mc Neal JE. (1968).** Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol*; 49: 347-357.
- McCormick B.J., Raynor M.C. (2020).** The Prostate and Benign Prostatic Hyperplasia. In: Isaacson A, Bagla S, Raynor M, Yu H, (eds). Prostatic Artery Embolization. Springer, Cham; 00: 1-9.
- McCormick DL, Rao KV. (1999).** Chemoprevention of hormone-dependent prostate cancer in the Wistar-Unilever rat. *Euro Urol*; 35: 464-467.
- Men X, Choi S-I, Han X, Kwon H-Y, Jang G-W, Choi Y-E, Park S, Lee, O-H. (2020).** Physicochemical, nutritional and functional properties of *Cucurbita moschata*. *Food Science and Biotechnology*; 30: 171-183.
- Messner EA, Steele TM, Tsamouri MM, Hejazi N, Gao AC, Mudryj M, Ghosh PM. (2020).** The androgen receptor in prostate cancer: Effect of structure, ligands and spliced variants on therapy. *Biomedicines*; 8(10): 1-19.
- Mindjou S, Brahmi F, Belkhiri W, Adjeroud N, Benali L, Boucetta L, Madani K, Boulekbache L. (2021).** Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of the Seeds Oil of Two Cucurbita Species From Bejaia (Algeria): Comparative Study. *Phytoth rapie*; 2021: 1-6.
- Minocha S. (2015).** An overview on *Lagenaria siceraria* (bottle gourd). *J Biomed Pharm Res*; 4(3): 4-10.

- Misra H, Fridovich I. (1972).** Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven.* 1972; 101: 109-109.
- Mitsunari K, Miyata Y, Matsuo T, Mukae Y, Otsubo A, Harada J, Kondo T, Matsuda T, Ohba K, Sakai H. (2021).** Pharmacological Effects and Potential Clinical Usefulness of Polyphenols in Benign Prostatic Hyperplasia. *Molecules*; 26(2): 1-20.
- Mobley D, Feibus A, Baum N. (2015).** Benign Prostatic Hyperplasia and Urinary Symptoms: Evaluation and Treatment. *Postgrad Med*; 127: 301-307
- Mongis A. (2017).** Une nouvelle stratégie d'immunothérapie: cibler directement des immunostimulants à la surface des cellules tumorales par ligation bio-orthogonale. Thèse de doctorat de biophysique moléculaire. Université d'Orléans, France; 202p.
- Montecillo-Aguado M, Tirado-Rodriguez B, Huerta-Yepez S. (2023).** The involvement of polyunsaturated fatty acids in apoptosis mechanisms and their implications in cancer. *Int J Mol Sci*; 24(14): 2-24.
- Monti S, Proietti-Pannunzi L, Sciarra A, Lolli F, Falasca P, Poggi M, Celi FS, Toscano V. (2007).** The IGF Axis in Prostate Cancer. *Curr Pharm Des*; 13(7): 719-727.
- Montironi R, Mazzucchelli R, Algaba F, Lopez-Beltran A. (2000).** Morphological identification of the patterns of prostatic intraepithelial neoplasia and their importance. *J Clin Pathol*; 53(9): 655-665.
- Moorthy B, Chu C, Carlin DJ. (2015).** polycyclic aromatic hydrocarbons: from metabolism to lung cancer. *Toxicol Sci*; 145(1): 5-15.
- Moradi S, Kelarjani MK, Shokri V. (2021).** Prostate cancer as a multifactorial disorder: an overview of the different sides of disease. *Cent Asian J Medical Pharm*; 1(3): 134-150.
- Moran NE, Thomas-Ahner JM, Wan L, Zuniga KE, Erdman W, Clinton SK. (2022).** Tomatoes, Lycopene, and Prostate Cancer: What Have We Learned from Experimental Models? *J Nutr*; 152(6): 1381-1403.
- Mudryj M, Tepper CG. (2013).** On the origins of the androgen receptor low molecular weight species. *Horm Cancer*; 4: 259-269.
- Mukherjee PK, Singha S, Kar A, Chanda J, Banerjee S, Dasgupta B, Sharma N. (2022).** Therapeutic importance of Cucurbitaceae: A medicinally important family. *J Ethnopharmacol*; 282: 1-27.
- Mumbere MP, Muhindo L, Juakali S, Modia OA, Katenga BG. (2021).** Intérêt de la biochimie du plasma séminal dans l'exploration de l'infertilité masculine. (Revue de la littérature). *Kis Med*; 11(2): 473-483
- Munshi F, Marthi S, Hyams E. (2023).** Obesity and prostate cancer. In: Mehrzad R, (ed). *The Link Between Obesity and Cancer.* United States. Academic Press; 115-128.

- Muntean E, Muntean N, Duda MM. (2013).** *Cucurbita maxima* Duch. as a medicinal plant. *Hop Med Plants*; 21(1/2): 75-80.
- Muraleedharan V, Jones T. (2010).** Testosterone and the metabolic syndrome. *Ther Adv Endocrinol Metab*; 1: 207-223.
- Murray R. (1984a).** Aspartate aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ, (eds). *Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation*. St Louis, MO: CV Mosby Company:1105-1108.
- Murray R. (1984b).** Creatinine In: Kaplan LA, and Pesce AJ, (eds). *Clinical Chemistry; Theory, Analysis and Correlation*, CV Mosby Co., St. Louis; 1247-1253.
- Murray R. (1989).** Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ, (eds). *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*. 2nd ed. (Chap. St Louis). St Louis, MO: The CV Mosby Company; 895-898.
- Murray TB. (2021).** The pathogenesis of prostate cancer. *Exon Publications*; 29-41.
- Murthy HN, Dewir YH, Dalawai D, Al-Suhaibani N. (2022).** Comparative physicochemical analysis of seed oils of wild cucumber (*Cucumis sativus*), cucumber (*Cucumis sativus*), and gherkin (*Cucumis anguria*). *S Afr J Bot*; 145:186-191.
- Nagarajan A, Malvi P, Wajapeyee N. (2016).** Oncogene-Directed Alterations in Cancer Cell Metabolism. *Trends in Cancer*; 2(7): 365-377.
- Nair AB, Jacob S. (2016).** A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharma*; 7: 27-31.
- Nascimento-Goncalves E, Seixas, F, da Costa, RMG, Pires MJ, Neuparth MJ, Moreira-Goncalves D, Fardilha M, Faustino-Rocha AI, Colaco B, Ferreira R, Oliveira PA. (2013).** Appraising Animal Models of Prostate Cancer for Translational Research: Future Directions. *Anticancer Research*; 43(1): 275-281.
- Neelamma G, Rasheed SH, Vinukonda A, Aruna M. (2021).** *In vitro* screening for cytotoxic activity of herbal plant extracts on N2a cell lines. *Res J Pharm Technol*; 14(4): 2009-2012.
- Nehikhare O, Kasivisvanathan V, Ellis H, Challacombe B. (2018).** Anatomy, physiology and pathology of the large prostate. In *The big prostate*; 1-10.
- Nelles JL, Hu WY, Prins GS. (2011).** Estrogen action and prostate cancer. *Expert Rev Endocrinol Metab*; 6(3): 437-451.
- Nelson WG, Brawley OW, Isaacs WB, Platz EA, Yegnasubramanian S, Sfanos KS, Lotan TL, De Marzo AM. (2022).** Health inequity drives disease biology to create disparities in prostate cancer outcomes. *J Clin Invest*; 132(3): 1-10.

- Ng TB, Chan WY, Yeung HW. (1992).** Proteins with abortifacient, ribosome inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti-AIDS activities from Cucurbitaceae plants. *Gen Pharmacol Vas Sys*; 23(4): 575-590.
- Ngaroua DBA, Dah'Ngwa DY, Eloundou NJ. (2019).** Epidemiological Profile of the Cancer AR the Regional Hospital of Ngaoundere (Cameroon). *J Clin Med Res*; 2(1): 1-10.
- Njamen D, Bakam Y, Rutz J, Maxeiner S, Awounfack F, Ndinteh T, Jüngel E, Zingue S, Blaheta A. (2020).** *Irvingia excelsa* ethanolic extract displays *in vitro* cytotoxic effects on prostate cancer cells and prevents benign prostatic hyperplasia in Wistar rats. *Biologia*; 75: 2053-2062.
- Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Aozasa A, Tsujimura A. (2010).** Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int*; 107(12): 1918-1922.
- Novidzro KM, Wokpor K, Fagla BA, Koudouvo K, Dotse K, Osseyi E, Koumaglo KH. (2019).** Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. *Int J biol chem sci*; 13(4): 2360-2373.
- Nyamai DW, Arika WM, Rachuonyo HO, Wambani JR, Ngugi MP. (2016).** Herbal management of benign prostatic hyperplasia. *J Cancer Sci Ther*; 8(5): 130-134.
- OCDE. (2009).** Essai No. 441: Bio-essai de Hershberger sur le rat : Essai de dépistage à court terme de propriétés (anti)androgéniques, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Paris ; 1-23.
- OCDE. (2022).** Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l'ajustement des doses, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Paris ; 1-28.
- Olufeko SO, Omojola AB, Ogunwole OA. (2020).** Effects of cooking on chemical and phytochemical compositions of raw and cooked melon (*Citrullus colocynthis* L) and walnut (*Tetracarpidium conophorum* L) seeds. *Niger J Anim Prod*; 47(4): 74-82.
- OMS. (2023).** Médecine traditionnelle. <https://www.who.int/fr/news/item/10-08-2023-who-convenes-first-high-level-global-summit-on-traditional-medicine-to-explore-evidence-base-opportunities-to-accelerate-health-for-all>.
- Onojo RI, Ihedioha JI, Shoyinka SV, Ezema AS, Emejuo NT, Mgbeahuruike AC, Emesiani BI, Obidah W, Clinton I. (2022).** Inhibitory effects of *Calocybe indica* macrofungi on experimental benign prostatic hyperplasia in rats. *Iran J Basic Med Sci*; 26(1): 121-127.

- Paner G. (2010).** Prostate gland and seminal vesicle. In Amin M, (ed). Diagnostic pathology: Genitourinary Section 3, Amirysis, Salt Lake City, UT; 154-156.
- Paschalis A, Sharp A, Welti JC, Neeb A, Raj GV, Luo J, Plymate SR, de Bon JS. (2018).** Alternative splicing in prostate cancer. *Nat Rev Clin Oncol*; 15: 663-675
- Pelé J, Le Berre S. (1967).** Les aliments d'origine végétale au Cameroun. *Cameroun Agricole Pastorale et Forestier*; 108: 16-33.
- Pinheiro LC, Martins Pisco MD. (2012).** Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia. *Tech Vasc Interv*; 15(4): 256-260.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*; 269(2): 337-341.
- Prins GS, Korach KS. (2008).** The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids*; 73(3): 233-244.
- Purnamasari R, Lusiana N, Widayanti LP, Kumalasari MLF. (2022).** The effectiveness of zinc micronutrients from pumpkin (*Cucurbita moschata*) extract on the testosterone levels of mice (*Mus musculus* L). *Indian J Forensic Med Toxicol*; 16(1): 986-993.
- Qing Z, Shi Y, Han L, Li PK, Zha Z, Liu C, Liu X, Huang P, Liu Y, Tang Q, Zeng K, Zeng J, Zhou Y. (2022).** Identification of seven undescribed cucurbitacins in *Cucumis sativus* (cucumber) and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*; 197: 113-123.
- Raafat M, Kamel AA, Shehata AH, Ahmed AF, Bayoumi AMA, Moussa RA, Abourehab MAS, El-Daly M. (2022).** Aescin protects against experimental benign prostatic hyperplasia and preserves prostate histomorphology in rats via suppression of inflammatory cytokines and COX-2. *Pharmaceuticals*; 15(2): 130-148.
- Ramezani M, Hasani M, Ramezani F, Abdolmaleki MK. (2021).** Cucurbitacins: A Focus on Cucurbitacin E As A Natural Product and Their Biological Activities. *Pharm Sci*; 27(1): 1-13.
- Rangel N, Villegas VE, Rondon-Lagos M. (2021).** Obesity and Androgen Receptor Signaling: Associations and Potential Crosstalk in Breast Cancer Cells. *Cancers*;13(9):1-22.
- Rawla P. (2020).** Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Surg Oncol*; 10(2): 63-89.
- Rea D, Del Vecchio V, Palma G, Barbieri A, Falco M, Luciano A, Biase D, Perdonà S, Facchini G, Arra C. (2016).** Mouse models in prostate cancer translational research: from xenograft to PDX. *Biomed Res Int*; 2016: 1-11.
- Resnick MJ, Koyama T, Fan KH, Albertsen PC, Goodman M, Hamilton AS, Hoffman RM, Potosky AL, Stanford JL, Stroup AM, Van Horn RL, Penson DF. (2013).** Long-term

- functional outcomes after treatment for localized prostate cancer. *N Engl J Med*; 368(5): 436-445.
- Rho J, Seo CS, Park HS, Jeong HY, Moon OS, Seo YW, Kwun HJ. (2020).** *Asteris Radix et Rhizoma* suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats by regulating apoptosis and inflammation. *J Ethnopharmacol*; 255: 1-11.
- Risbridger GP, Bianco JJ, Ellem SJ, McPherson SJ. (2003).** Estrogens and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*; 10: 187-191.
- Rise MA, Malhotra SV, Stoyanova T. (2019).** Second-Generation Antiandrogens: From Discovery to Standard of Care in Castration Resistant Prostate Cancer. *Front Oncol*; 28(9): 1-12.
- Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, Partin AW. (1998).** Human kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate. *Crit Rev Clin Lab Sci*; 35(4): 275-368.
- Rizzo A, Mollica V, Cimadamore A, Santoni M, Scarpelli M, Giunchi F, Cheng L, Lopez-Beltran A, Fiorentino M, Montironi R, Massari F. (2020).** Is there a role for immunotherapy in prostate cancer? *Cells*; 9(9): 2-22.
- Roberts M, Teloken P, Chambers S, Beh Sci A, Williams S, Yaxley J, Samaratunga H, Frydenberg M, Robert A. (2018).** Prostate cancer detection. *National Library of Medicine*; 1-95.
- Roehrborn C, Gange S, Shore N, Giddens J, Bolton D, Cowan B, Brown B, McVary K, Te A. (2013).** The prostatic urethral life for treatment of urinary tract symptoms associated with prostate enlargement due to BPH. *J Urol*; 190: 2161-2167.
- Rohrmann S, Giovannucci E, Willett WC, Platz EA. (2007).** Fruit and vegetable consumption, intake of micronutrients, and benign prostatic hyperplasia in US men. *Am J Clin Nutr*; 85(2): 523-529.
- Rollet J. (1999).** Biochimie du liquide séminal : Intérêt pour le clinicien. *Andrologie*; 9(4):468-471.
- Rolnik A, Olas B. (2020).** Vegetables from the Cucurbitaceae family and their products: Positive effect on human health. *Nutrition*; 78: 1-25.
- Rönnau CGH, Verhaegh GW, Luna-Velez MV, Schalken J. (2014).** Noncoding RNAs as novel biomarkers in prostate cancer. *Biomed Res Int*; 85(2): 523-529.
- Rowles JL, Ranard KM, Smith JW, An R, Erdman JW. (2017).** Increased dietary and circulating lycopene are associated with reduced prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis*; 20: 361-377.
- Royuela M, de Miguel MP, Bethencourt FR, Sanchez-Chapado M, Fraile B, Arenas MI, Paniagua R. (2001).** Estrogen receptors alpha and beta in the normal, hyperplastic and carcinomatous human prostate. *J Endocrinol*; 168: 447-454.

- Rozet F, Hennequin C, Beauval JB, Beuzeboc P, Cormier L, Fromont G, Mongiat-Artus P, Ouzzane A, Ploussard G, Azria D, Brenot-Rossi I, Cancel-Tassin G, Cussenot O, Lebre T, Rebillard X, Soulié M, Renard-Penna R, Méjean A. (2016).** Recommandations en onco-urologie 2016-2018 du CCAFU : Cancer de la prostate CCAFU french national guidelines 2016-2018 on prostate cancer. *Progrès en Urologie*; 1:95-143.
- Rozet F, Hennequin C, Beauval JB, Beuzeboc P, Cormier L, Fromont-Hankard G, Mongiat-Artus P, Ploussard G, Mathieu R, Brureau L, Ouzzane A, Azria D, Brenot-Rossi I, Cancel-Tassin G, Cussenot O, Rebillard X, Lebre T, Soulié M, Renard Penna R, Méjean A. (2018).** Recommandations françaises du Comité de Cancérologie de l'AFU- Actualisation 2018-2020 : cancer de la prostate. *Progrès en Urologie*; 28: R81-R132.
- Rozet F, Mongiat-Artus P, Hennequin C, Beauval JB, Beuzeboc P, Cormier L, Méjean A. (2020).** Recommandations françaises du Comité de cancérologie de l'AFU-actualisation 2020-2022 : Cancer de la prostate. *Progrès en Urologie*; 30(12): 136-251.
- Ruan X, Mueck AO. (2023).** The WHO claims estrogens are 'carcinogenic': is this true? *Climacteric*; 26(3): 263-270.
- Rubatzky VE, Yamaguchi-Mas. (1997).** World Vegetables, Principles, Production and nutritive value. 2nd Edition. Chapman and Hall, U.S.A; 577-639.
- Russell PJ, Voeks DJ. (2003).** Animal models of prostate cancer. *Prostate Cancer Methods and Protocols*; 89-112.
- saacson A, Bagla S, Raynor M, Yu H. (2020).** Prostatic Artery Embolization. *Springer Nature Switzerland AG*; 156p.
- Sahayi M, Shirali S. (2018).** Study of Cucurbita extract effect on changes of AGEs, lipid and glycemic profile and CRP in type 1diabetics rats. *Bangladesh J Medical Sci*; 17: 84-87.
- Sallenave FA. (2001).** Les cucurbitacées en Méditerranée. De Babylonie à aujourd'hui : le cas de la courgette & d'al-faqqûs. *Boccone*; 13: 239-250.
- Salman JW, Schoots IG, Carlsson SV, Jenster G, Roobol MJ. (2015).** Prostate Specific Antigen as a Tumor Marker in Prostate Cancer: Biochemical and Clinical Aspects. In: Scatena R (ed) *Advances in Cancer Biomarkers: From biochemistry to clinic for a critical revision*. Rome, Italy; 867: 93-114.
- Samarinas M, Moysidis K, Perdikaki P, Gravas S. (2018).** Practice Patterns in Diagnosis and Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms due to Benign Prostatic Hyperplasia among General Practitioners: Lessons Learnt from a Greek Survey. *Balkan Med J*; 35(3): 287-289.
- Sato T, Terai, Tamura Y, Alexeev V, Mastrangelo MJ, Selvan SR. (2011).** Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. *Immunol Res*; 51(2): 170-182.

- Schreyer E, Barthélémy P, Cottard F, Madi-Berthélémy PO, Schaff-Wendling F, Kurtz JE, Céraline J. (2017).** Variants du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. *Med Sci*; 33(8-9):758-764.
- Schulster M, Bernie AM, Ramasamy R. (2016).** The role of estradiol in male reproductive function. *Asian J Androl*; 18(3): 435-440
- Seignalet J. (2004).** L'alimentation ou la troisième médecine. 5ème édition. François-Xavier de Guibert 3, rue Jean-François-Gerbillon, 75006 Paris; 617p
- Seisen T, Rouprêt M, Faix A, Droupy S. (2012).** La prostate : une glande au carrefour uro-génital. *Progrès en urologie*; 22: S2-S6.
- Seo YS, Shin NR, Nam HH, Song JH, Cheol Moon B, Choi G, Shin I, Kim JS. (2021).** Effects of larval extracts from identified *Protaetia brevitarsis seulensis* against benign prostatic hyperplasia induced by testosterone in rats. *Food Sci Nutr*; 9(10): 5361-5369.
- Sha'a KK. (2021).** Evaluation and Comparison of the Antioxidant Activities and Nutritional Composition of *Cucurbita maxima* and *Vigna unguiculata* Leaf Extracts. *European J Nutr Food Saf*; 13(1): 29-39.
- Shadmanov AA, Saliev AR, Salomova FI. (20).** Epidemiology of benign prostate hyperplasia and the importance of risk factors in the development of pathology (on the example of andijan). *Cent Asian J Med*; 2021(4): 147-153.
- Shiota M, Yokomizo A, Naito S. (2014).** Chapter 2-Oxidative Stress and Prostate Cancer. In: Preedy V, (ed). *Cancer, Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. 2nd Edition. London, United Kingdom, San Diego; 15-26.
- Sies H.** Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. 2015; 4: 180-183.
- Silvestre GFG, De Lucena RP, Alves HDS. (2022).** Cucurbitacins and the Immune System: Update in Research on Anti-inflammatory, Antioxidant, and Immunomodulatory Mechanisms. *Curr Med Chem*; 29(21): 3774-3789.
- Singh A, Kumar V. (2023).** Phyto-chemical and bioactive compounds of pumpkin seed oil as affected by different extraction methods. *Food Chem Advances*; 2: 1-9.
- Singh C, Tiwari KN, Kumar P, Kumar A, Dixit J, Saini R, Mishra SK. (2021).** Toxicity profiling and antioxidant activity of ethyl acetate extract of leaves of *Premna integrifolia* L. for its application as protective agent against xenobiotics. *Toxicol Rep*; 8: 196-205.
- Sinha K. (1972).** Colorimetric essay of catalase. *Anal Biochem*; 47: 389-394.
- Song J, Liu H, Li Z, Yang C, Wang C. (2015).** Cucurbitacin I inhibits cell migration and invasion and enhances chemosensitivity in colon cancer. *Oncol Rep*; 26: 1867-1871
- Sow M, Nkégom B, Oyono J and Nzokou A. (2006).** Aspects épidémiologiques et histopathologiques des tumeurs urogénitales au Cameroun. *Progrès en Urologie*; 16: 36-39.

- Sreenath T, Orosz A, Fujita K, Bieberich CJ. (1999).** Androgen-independent expression of hoxb-13 in the mouse prostate. *The Prostate*; 41(3): 203-207.
- Stenman UH, Leinonen J, Zhang WM, Finne P. (1999).** Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol*; 9(2): 83-93.
- Stewart KL, Lephart ED. (2023).** Overview of BPH: Symptom Relief with Dietary Polyphenols, Vitamins and Phytochemicals by Nutraceutical Supplements with Implications to the Prostate Microbiome. *Int J Mol Sci*; 24(6): 1-41.
- Strasner A, Karin M. (2015).** Immune infiltration and prostate cancer. *Front Oncol*; 5: 1-10.
- Sun F, Chen HG, Li W, Yang X, Wang X, Jiang R, Guo Z, Chen H, Huang J, Borowsky AD, Qiu Y. (2014).** Androgen receptor splice variant AR3 promotes prostate cancer via modulating expression of autocrine/paracrine factors. *J Biol Chem*; 289: 1529-1539.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. (2021).** Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: Cancer J Clin*; 71(3): 209-249.
- Tai S, Sun Y, Squires JM, Zhang H, Oh WK, Liang CZ, Huang J. (2011).** PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *The Prostate*; 71(15): 1668-1679.
- Tan ML, Hamid, S. (2021).** Beetroot as a Potential Functional Food for Cancer Chemoprevention, a Narrative Review. *J Cancer Prev*; 26(1): 1-17.
- Tariq S, Ismail D, Thapa M, Goriparthi L, Pradeep R, Khalid K, Cooper AC, Jean-Charles G. (2023).** Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Its Effect on Red Blood Cell Indices. *Cureus*; 15(3): 1-13.
- Tat D, Kenfield SA, Cowan JE, Broering JM, Carroll PR, Van Blarigan EL, Chan JM. (2018).** Milk and other dairy foods in relation to prostate cancer recurrence: Data from the cancer of the prostate strategic urologic research endeavor. *Prostate*; 78: 32-39.
- Tatlioglu T. (1993).** Cucumber: *Cucumis sativus* L. In: Kalloo G, Bergh BO, (eds). Genetic improvement of vegetable crops. University of California, Riverside, USA; 197-234.
- Tennekoon KH, Jeevathayaparan S, Angunawala P, Karunanayake EH, Jayasinghe KSA. (1994).** Effect of *Momordica charantia* on key hepatic enzymes. *J Ethnopharmacol*; 44(2): 93-97.
- Terrier M, Terrier JE, Paparel P, Morel-Journal N, Baldini A, Ruffion A. (2017).** Epidémiologie, diagnostic et pronostic du cancer de la prostate. *Med Nucleaire*; 41(5): 329-334.
- Teugwa CM, Boudjeko T, Tchinda BT, Mejiato PC, Zofou D. (2013).** Anti-hyperglycaemic globulins from selected Cucurbitaceae seeds used as antidiabetic medicinal plants in Africa. *BMC Complement Altern Med*; 13: 1-8.

- Tiwary S, Hussain S. (2020).** Functional foods for prevention and treatment of cancer. *Asian J Pharm Clin Res*; 14(3): 4-10
- Tortora GJ, Grabowski SR. (2001).** Principes d'anatomie et de physiologie. Éditions du Renouveau Pédagogique Inc. Québec; 1121p.
- Tostain J, Rossi D, Martin PM. (2004).** Physiologie des androgènes chez l'homme adulte. *Progrès en Urologie*; 14: 639-660.
- Trock BJ, Brotzman MJ, Mangold LA, Bigley JW, Epstein JI, McLeod D, Klein EA, Jones JS, Wang S, McAskill T, Mehrotra J, Raghavan B, Partin AW. (2012).** Evaluation of GSTP1 and APC methylation as indicators for repeat biopsy in a high-risk cohort of men with negative initial prostate biopsies. *BJU Int*; 110: 56-62.
- Tuama AA, Mohammed AA. (2019).** Phytochemical screening and *in vitro* antibacterial and anticancer activities of the aqueous extract of *Cucumis sativus*. *Saudi J Biol Sci*; 26: 600-604.
- Udendi UK, Tchounwou P.B. (2016).** Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res*; 35(1): 1-19.
- Van Bokhoven A, Varella-Garcia M, Korch C, Johannes WU, Smith EE, Miller HL, Nordeen SK, Miller GJ, Lucia MS. (2003).** Molecular characterization of human prostate carcinoma cell lines. *The Prostate*; 57(3): 205-225.
- Van Roermund JG, Hinne KA, Tolman CJ, Bol GH, Witjes JA, Bosch JR, Kiemeny LA, Van Vulpen M. (2011).** Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. *BJU Int*; 107(11): 1775-1779.
- Vandenbos F, Chevallier D, Michiels JF. (2004).** Cancers de la prostate : classification histopathologique. *Oncologie*; 6(6): 385-393
- Varela C, Melim C, Neves BG, Sharifi-Rad J, Calina D, Mamurova A, Cabral C. (2022).** Cucurbitacins as potential anticancer agents: new insights on molecular mechanisms. *J Transl Med*; 20(1): 1-16.
- Vari CE, Ósz BE, Perian M, Mărușteri MS, Miklos A, Bosa UL, Tero-Vescan IA. (2017).** Do aromatase inhibitors reduce fertility and impair sexual behaviour in an androgen doping model in rats. *Farmacia*; 65(3): 336-342.
- Veronezi CM, Jorge N. (2015).** Chemical characterization of the lipid fractions of pumpkin seeds. *Nutr Food Sci*; 45(1): 164-173.
- Viani GA, Viana BS, Martin JE, Rossi BT, Zuliani G, Stefano EJ. (2016).** Intensity-modulated radiotherapy reduces toxicity with similar biochemical control compared with 3-dimensional conformal radiotherapy for prostate cancer: a randomized clinical trial. *Cancer*; 122(13): 2004-2011.

- Victor HE, Oguazu CE, Linda MC. (2020).** Studies on *In vitro* antioxidant analysis of *Cucumeropsis mannii* (melon) seed. *Nigerian J Exp Clin Biosci*; 8(2): 86-90.
- Wadosky KM, Koochekpour S. (2016).** Molecular mechanisms underlying resistance to androgen deprivation therapy in prostate cancer. *Oncotarget*; 7: 64447-64470.
- Wahid S, Alqahtani A, Khan RA. (2021).** Analgesic and anti-inflammatory effects and safety profile of *Cucurbita maxima* and *Cucumis sativus* seeds. *Saudi J Biol Sci*; 28(8): 4334-4341.
- Wang M, Zhang L, Wu X, Zhao Y, Wu L, Lu B. (2019).** Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC-MS. *Lwt*; 100: 355-361.
- Wang ZA, Mitrofanova A, Bergren SK, Abate-Shen C, Cardiff RD, Califano A, Shen MM. (2013).** Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. *Nat Cell Biol*; 15(3): 274-83.
- Watters JL, Park Y, Hollenbeck A, Schatzkin A, Albanes D. (2009).** Cigarette smoking and prostate cancer in a prospective US cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 18(9): 2427-2435.
- Weihua Z, Makela S, Andersson LC, Salmi S, Saji S, Webster JI, Jensen EV, Nilsson S, Warner M, Gustafsson J. (2001).** A role for estrogen receptor beta in the regulation of growth of the ventral prostate. *Proc Natl Acad Sci*; 98(11): 6330-6335.
- Westaby D, Jimenez-Vacas JM, Padilha, A, Varkaris A, Balk SP, de Bono JS, Sharp A. (2021).** Targeting the Intrinsic Apoptosis Pathway: A Window of Opportunity for Prostate Cancer. *Cancers*;14(1): 1-26.
- Wijerathne CU, Park HS, Jeon HY, Song JW, Moon OS, Seo YW, Wn Y-S, Kwun HJ. (2017).** *Quisqualis indica* improves benign prostatic hyperplasia by regulating prostate cell proliferation and apoptosis. *Biol Pharm Bull*; 12: 2125-2133.
- Wilbur K, Bernhein F, Shapiro O. (1949).** Determination of lipid peroxydation. *Arch Biochem Biophys*. 1949; 24: 3959-3964.
- Wu D, Wang Z, Lin M, Shang Y, Wang F, Zhou J, Wang F, Zhang X, Luo X, Huang W. (2019).** *In Vitro* and *In Vivo* Antitumor Activity of Cucurbitacin C, a Novel Natural Product From Cucumber. *Front. Pharmacol*; 10: 1-13.
- Xanthopoulou MN, Nomikos T, Fragopoulou E, Antonopoulou S. (2009).** Antioxydant and lipoxigenase inhibitory activities of pumpkin seedws extracts. *Food Res Int*; 42: 641-646.
- Xu Z, Zhang J, Zhong, Y, Mai Y, Huang D, Wei W, Huang J, Zhao P, Lin F, Jin J. (2021).** Predictive value of the monocyte-to-lymphocyte ratio in the diagnosis of prostate cancer. *Medicine*; 100(38) :1-6.

- Yamada S, Ito Y, Nishijima S, Kadekawa K, Sugaya K. (2018).** Basic and clinical aspects of antimuscarinic agents used to treat overactive bladder. *Pharmacol Ther*; 189: 130-148.
- Yilmaz M, Christofori G, Lehembre F. (2007).** Distinct mechanisms of tumor invasion and metastasis. *Trends Mol Med*; 13(12): 535-541.
- Youmbissi J, Djoumessi S, Nouedoui C, Ndofo P, Meli J. (2001).** Profil lipidique d'un groupe d'hypertendus camerounais noirs africains. *Med Afr Noire*; 48(7): 305-314.
- Yu H, Rohan T. (2000).** Role of insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst*; 92: 1472-1489.
- Zabaiou N. (2017).** Etude du stress oxydatif dans l'hypertrophie bénigne de la prostate et mise en évidence de l'effet de la propolis contre le cancer de la prostate *in vivo* sur un modèle animal de rat Wistar et *ex vivo* sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate hormono-sensibles. Biologie moléculaire. Université Clermont Auvergne, France; 141p.
- Zaccaria KJ, McClure PR. (2013).** Using immunotoxicity information to improve cancer risk assessment for polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures. *Int J Toxicol*; 32(4): 236-250.
- Zamagni A, Cortesi M, Zanoni M, Tesei A. (2019).** Non-nuclear AR Signaling in Prostate Cancer. *Front Chem*; 7: 1-11.
- Zerbib M. (2007).** Apports des analogues de la LHRH dans le traitement du cancer de la prostate. *Ann Urol*; 41: 1-86.
- Zhang M, Zhang YT, Xu G, Chen Y, Li H, Zhou G, Li N. (2024).** Extraction, purification and anticancer activity studies on triterpenes in pomegranate peel. *Food Funct*; 15: 6914-6928
- Zheng W, Lee SA. (2009).** Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. *Nutr Cancer*; 61: 437-446.
- Zingue S, Maxeiner S, Rutz J, Ndinteh D, Chun F, Fohouo F-N, Njamen D, Blaheta R. (2020).** Ethanol-extracted Cameroonian propolis: Antiproliferative effects and potential mechanism of action in prostate cancer. *Andrologia*; 52(9): 1-11.
- Zingue S, Mindang NE, Awounfack FC, Kalgonbe AY, Kada MM, Njamen D, Ndinteh DT. (2021).** Oral administration of tartrazine (E102) accelerates the incidence and the development of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced breast cancer in rats. *BMC Complement Altern Med*; 21: 1-11.



❖ **Annexe 1 : Questionnaire pour l'enquête réalisée auprès des consommateurs**

Questionnaire pour la collecte des données relatives au rôle des graines de courge sur la protection contre les maladies de la prostate

Objectifs

Ce questionnaire nous permettra de recueillir des informations sur ce que pensent les femmes de l'ouest du Cameroun sur l'effet protecteur des graines de courge sur les maladies de la prostate. Vos réponses et votre identité resteront confidentielles. Veuillez répondre à toutes les questions. Merci pour votre collaboration.

Éléments socio démographiques

Cochez ou remplissez

- 1- Age, 21-29ans (), 30-39 ans (), 31-39ans (), 40-49 ans (), 51-59 ans (), 60 ans et plus ().
- 2- Sexe : a) - Masculin (.....) ; b) - Féminin (.....)
- 3- Niveau académique
- 4- Avez-vous un diplôme ? si oui lequel.....
- 5- Avez-vous une fonction dans la vie ?

A- La perception qu'ont les femmes sur les graines de courge (pistache)

NB. Pour chacune des questions ci-dessous, vous répondrez par **1- oui ; 2- non ; 3- Aucune idée.**

Cochez ou entourez le numéro correspondant à votre réponse.

- 1- Mon voisinage parle de temps en temps des graines de courge (pistache) ? **1 2 3**
- 2- Les enfants mangent beaucoup les graines de courge ? **1 2 3**
- 3- Les graines de courge se produisent partout au Cameroun **1 2 3**
- 4- Les graines de courge ne peuvent être cultivées que par les femmes ? **1 2 3**
- 5- Il existe plusieurs types de graines de courge ? **1 2 3**
- 6- Les graines de courges ont plusieurs couleurs ? **1 2 3**
- 7- La plante qui produit les graines de courge est rampante ? **1 2 3**

B- L'importance des graines de courge

- 1- Les graines de courge sont produites uniquement pour des raisons économiques **1 2 3**
- 2- Les feuilles de courge sont utilisées comme légumes pour la consommation ? **1 2 3**
- 3- Les graines de courge produisent beaucoup d'huile ? **1 2 3**
- 4- Les graines de courge sont efficaces pour la prévention des maladies de la prostate ?
1 2 3

5- Les graines de courge se consomment crues ?

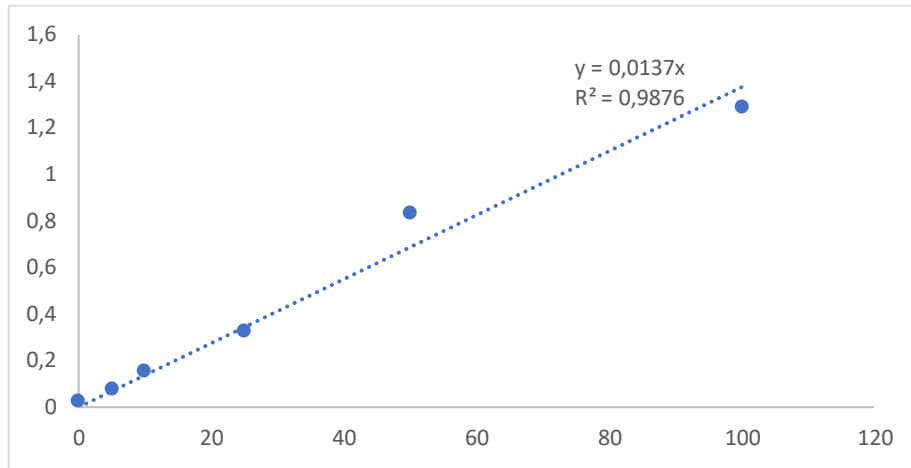
1 2

3

6- Vous préparez les graines de courge dans les feuilles de bananier-plantain ?

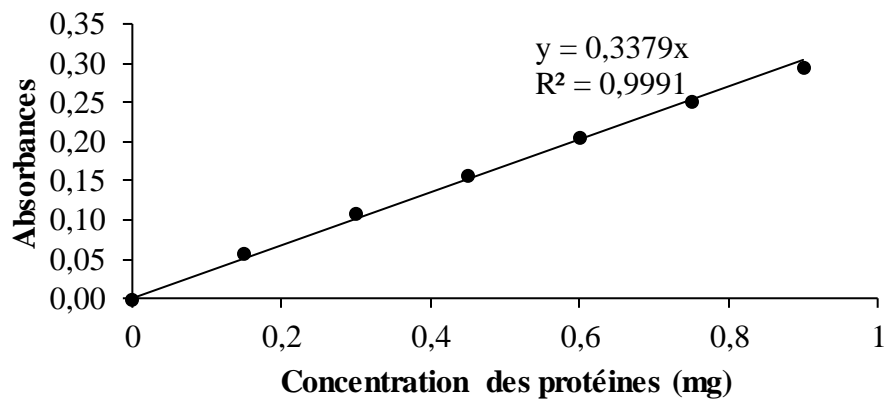
1 2 3

❖ **Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la PSA**



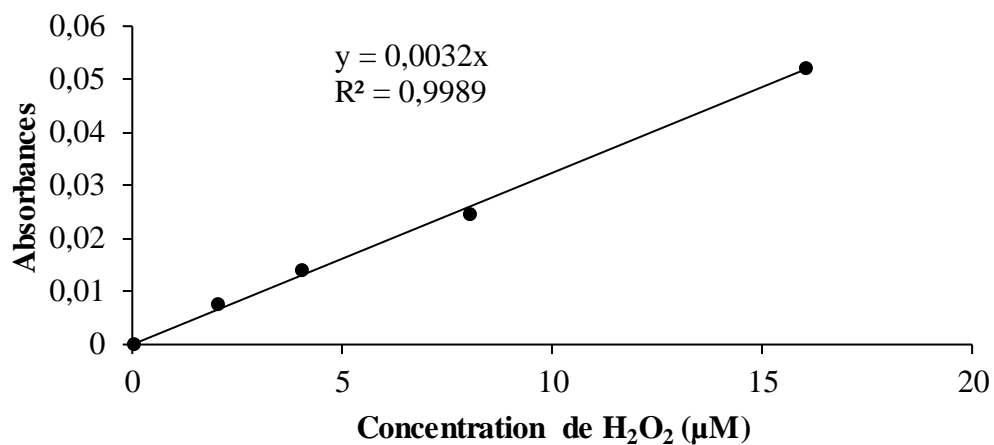
Courbe d'étalonnage de la PSA

❖ **Annexe 3 : Courbe d'étalonnage des protéines totales**



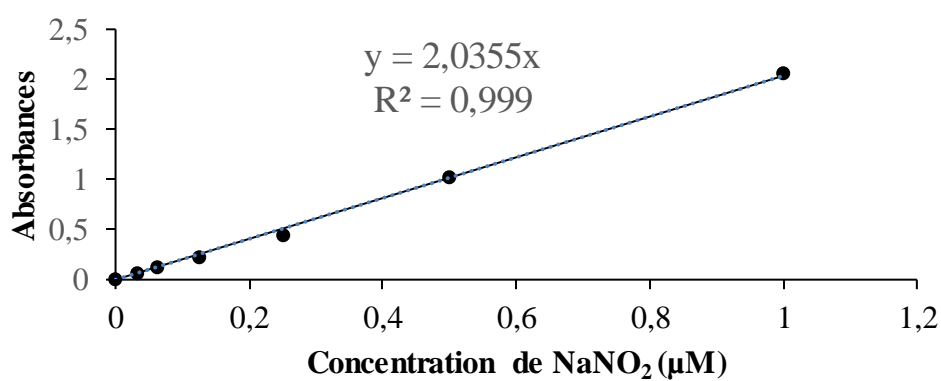
Courbe d'étalonnage des protéines

❖ **Annexe 4 : Courbe d'étalonnage de la catalase**



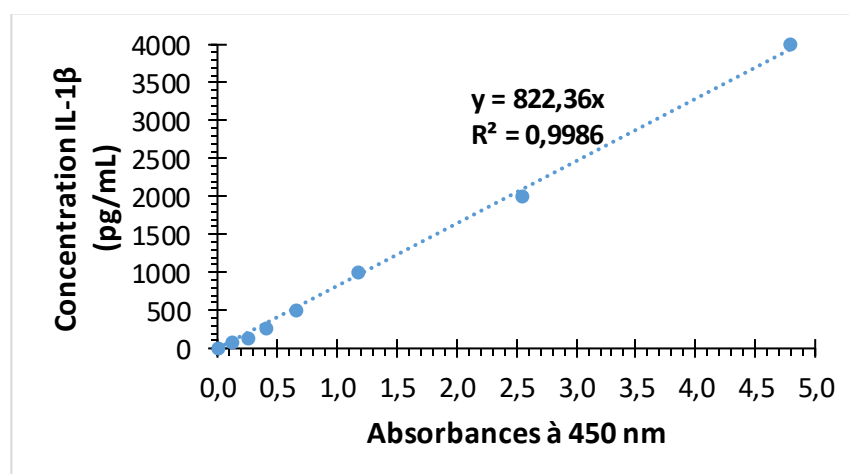
Courbe d'étalonnage de la catalase

❖ **Annexe 5 : Courbe d'étalonnage des nitrites**

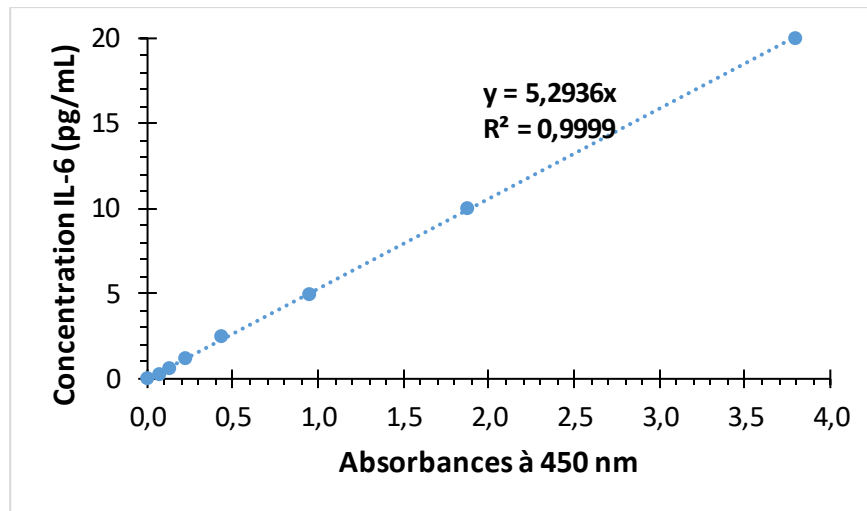


Courbe d'étalonnage des nitrites

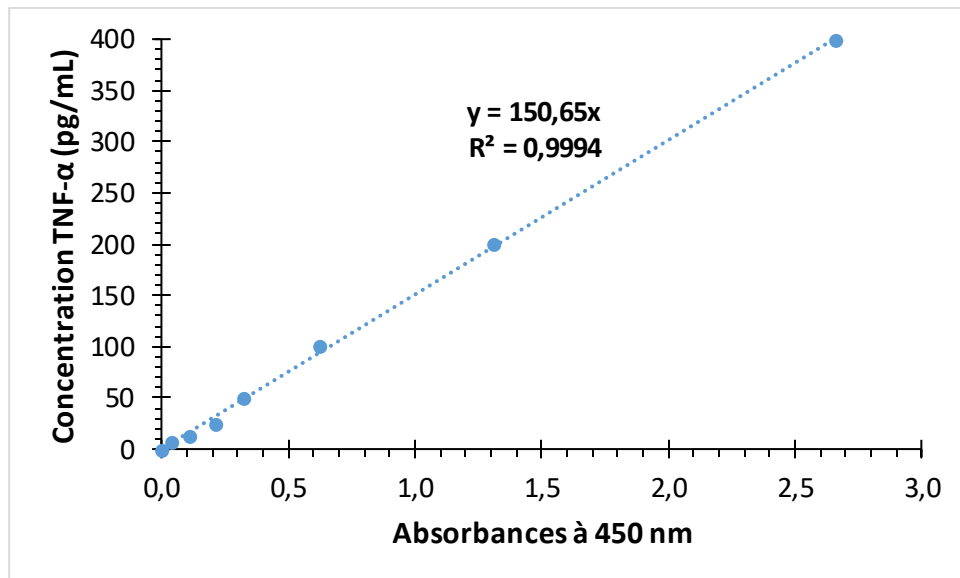
❖ **Annexe 6 : Courbe d'étalonnage des cytokines**



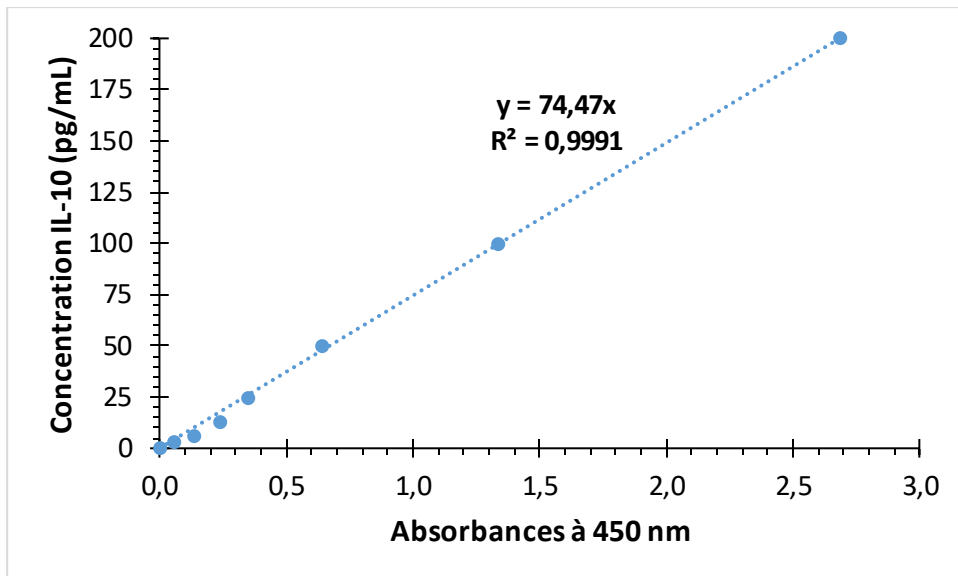
Courbe d'étalonnage de l'IL-1β



Courbe d'étalonnage de l'IL-6



Courbe d'étalonnage du TNF-α



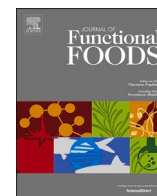
Courbe d'étalonnage de l'IL-10



LISTE DES PUBLICATIONS

Bakam YB, Fosso RU, Grein T, Ndinteh DT, Maxeiner S, Zingue S, Blaleta RA, Njamen D. (2024). *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) inhibits prostate carcinoma cell growth and prevents the testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in Wistar rat. *Journal of Functional Foods*, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106088>

Bakam YB, Ngo Pambe JC, Grey T, Maxeiner S, Rutz J, Njamen D, Blaheta AR, Zingue S. (2023). *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) seed oil prevents benzo(a)pyrene-induced prostate cancer *in vitro* and *in vivo*. *Environmental toxicology*, 1-15. <https://doi.org/10.1002/tox.23830>



Cucumis sativus (Cucurbitaceae) inhibits prostate carcinoma cell growth and prevents the testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in Wistar rat

Berlise Yengwa Bakam^a, Romeo Ulrich Fosso^a, Timothy Grein^{b,c}, Derek Tantoh Ndinteh^d, Sebastian Maxeiner^{b,c}, Stéphane Zingue^{b,d,e,*}, Roman A Blaheta^{b,c,1}, Dieudonne Njamen^{a,1,*}

^a Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé, 1, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

^b Department of Urology, University Hospital Frankfurt, D-60596 Frankfurt am Main, Germany

^c Department of Urology and Pediatric Urology, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, D-55131 Mainz, Germany

^d Centre for Natural Product Research, Department of Chemical Sciences, University of Johannesburg, P.O. Box 17011, Doornfontein, Johannesburg 2028, South Africa

^e Department of Pharmacotoxicology and Pharmacokinetics, Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Yaounde 1, P.O. Box 1364 Yaounde, Cameroon

ARTICLE INFO

Keywords:

Curcumis sativus
Pumpkin seeds
Benign prostatic hyperplasia
Antiproliferative
Antioxidant

ABSTRACT

Pumpkin seeds are claimed to treat prostate tumour/cancer. The *in vitro* (ability to inhibit cell growth through MTT assay) and *in vivo* (ability to prevent testosterone-induced BPH in rats at the doses of 125, 250, 500 and 1000 mg/kg BW) of six edible pumpkin seeds found in Cameroonian were assessed. The endpoints were cell growth arrest, prostate mass and volume, prostatic epithelium height, prostatic proteins, prostate specific antigen (PSA) and inflammatory cytokines. *In vitro*, *C. sativus* seeds exhibited the most potent antiproliferative effects on DU145 and PC3 prostate cancer cells and its oil conserved almost all the effects of raw seeds. Further, it prevented the increased of prostate relative mass and volume, prostate epithelium height, PSA and testosterone dose-dependently compared to normal rats. This effect is thought to be mediated through antiandrogenic, estrogenic and anti-inflammatory activities, evidenced by a decreased in IL-1 β , IL-6 and TNF α level. Overall, this results justify its traditional use.

1. Introduction

Cancer is a large family of diseases that involve abnormal cell growth with the potential to spread to other parts of the body (National Cancer Institute, 2018). With 1.4 million new cases and 375,000 deaths, prostate cancer was the fifth leading cause of cancer related deaths and the second most frequent cancer in men worldwide (Sung et al., 2021). Although not causing as many deaths, benign prostatic hyperplasia (BPH), remains a major public health challenge worldwide. It is the most common urogenic disease among men which greatly affects the lifestyle (Langan, 2019). The symptoms of BPH include but are not limited to urgency, frequency, nocturia, incomplete urination and weak urinary stream (McVary et al., 2011). Its etiology is not well understood,

however, genetic factors, dietary, endogenous hormones (androgens and estrogens), inflammation and oxidative stress have been positively correlated with BPH (Devlin, 2021).

Several modern therapeutic strategies have been developed nowadays and 5 α -reductase inhibitors such as finasteride and dutasteride are the most abundant in the market. Unfortunately, they have limitations such as dizziness, decreased libido, erectile dysfunction, hypotension, tachycardia and retrograde ejaculation (Yan et al., 2021). Hence, many patients rely to natural alternatives and functional foods offer wide range of health benefits (Singh and Kumar, 2023). The Cucurbitaceae is a large family distributed worldwide and gathering ~ 130 genera and 800 species including squash, gourds, melons and pumpkins (Sahayi and Shirali, 2018). Pumpkin seeds promote men fertility, prevent prostate

Abbreviations: ANOVA, Analysis of variance; ATCC, American Type Culture Collection; BPH, benign prostatic hyperplasia; BW, body weight; COX-2, cyclooxygenase-2; FBS, fetal bovine serum; DHT, dihydrotestosterone; HRP, horseradish peroxidase; IFN- γ , interferon; MTT, 3 [4,5-dimethylthiazol-2-yl] diphenyltetrazolium bromide; PSA, prostate specific antigen; SEM, standard error on mean; TNF α , Tumor Necrosing Factor alpha.

* Corresponding authors at: Laboratory of Animal Physiology, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde, 1, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon (D. Njamen) Basic and Clinical Cancer Research Unit, Department of Medical and Biomedical Engineering, Higher Technical Teachers' Training College, University of Ebolowa, P.O. Box 886, Ebolowa, Cameroon (S. Zingue).

E-mail addresses: stephane.zingue@fmsb-uy1.cm (S. Zingue), dnjamen@gmail.com (D. Njamen).

¹ Contributed equally.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106088>

Received 18 November 2023; Received in revised form 6 February 2024; Accepted 20 February 2024

Available online 25 February 2024

1756-4646/© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

related problems such as benign prostatic hyperplasia and prostate cancer and improve urinary dysfunction in overactive bladder syndrome (Paul et al., 2020). However, the pumpkins are distributed differently over the world and those of the unexplored countries attract the attention of scientists. In this line, this study sought the rational of using pumpkin seeds against benign prostatic hyperplasia.

2. Materials and methods

2.1. Substances

Finasteride (Chibproscart), used as standard drug was obtained from Pierre Fabre® (Boulogne, France); Enanthate testosterone (Androtardyl) used to induced BPH was purchased from Bayer Pharma® (Berlin, Germany). The PSA ELISA kit was obtained from Cusabio Biotech Co. Ltd (Newark, Delaware, USA).

2.2. Plant material

2.2.1. Pumpkin seeds collection

Cucurbita maxima (CMx), *Cucumeropsis manii* (CMn), *Lagenaria siceraria* (LSi), *Cucurbita moschata* (CMs), *Cucumis sativus* (CSt) and *Cucumis melo* (CMI) seeds were harvested in Baleng and Bafang (West Region, Cameroon). They were authenticated by comparison with the botanical sample deposited at the Cameroon National Herbarium. The Table 1 depicts information on the selected pumpkin studied as well as their voucher.

2.2.2. Preparation of the different extracts

The dried seeds were crushed using an electronic grinding. Two (2) g of powder were mixed with 5 ml of distilled water. The paste obtained was wrapped in biodegradable sheets and then prepared in a stainless-steel pot for two hours. The obtained pistachio cake was then weighed and homogenized in distilled water for animal treatment.

Pumpkin seeds oil was extracted using an oil machine model YD-ZY-OIC purchased from RPC (Paris, France). For this to be done, 500 g of *Cucumis sativus* seeds have been extracted through the machine at low temperature to preserve all the nutritional properties. This process yielded 168.65 g of oil (33.73 %) and 317.1 g of cake (63.42 %).

The powder pumpkin seeds obtained as well as the cakes were administered to the animals after mixing with distilled water, while the oil was administered by dilution in corn oil.

2.3. Experimental organisms

2.3.1. Cell lines

DU145 and PC3, which are human androgen-independent prostate cancer cells and LNCaP, androgen-dependent prostate cancer cells, were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC) (Wesel, Germany). The cells were cultured in RPMI 1640 medium containing 10 % fetal bovine serum (FBS), 1 % penicillin, 1 % glutamax and 20 mM HEPES-buffer (all from Gibco/Invitrogen, Karlsruhe, Germany). The cells were maintained at 37 °C in a humid atmosphere at 5 % CO₂. Subcultures from passages 5—22 were used. Before each experiment, cell viability was determined by trypan blue assay (Gibco/Invitrogen).

2.3.2. Animals

Male Wistar rats weighing ~ 250 g and aged ~ 2.5 months were obtained from the animal house of the Laboratory of Animal Physiology (University of Yaounde I, Cameroon). Animals were kept in the plastic cages and maintained in ambient temperature and humidity with a dark-light cycle of 12 h. The animals had free access to water and standard soy-free food consisting of: corn (36.5 %), bone flour (14.6 %), wheat (36.5 %), fish flour (4.9 %), crushed palm kernel (7.3 %), sodium chloride (0.3 %) and vitamin complex (Olivitazol® 0.02 %).

2.4. Experiments

2.4.1. MTT cell viability assay

Cell growth was estimated using MTT test (3 [4,5-dimethylthiazol-2-yl] diphenyltetrazolium bromide) (Roche Diagnostics, Penzberg, Germany). The cells (DU145, PC3 and LNCaP) were seeded in a 96-well plate at a density of 10,000 cells/well in 50 µL of RPMI-1640 medium. After 24 h, the cells were treated as follows:

- In the first experiment, all the six (6) pumpkin seeds have been tested at concentrations from 5 to 200 µg/mL.
- In the second experiment, oil and cake of *Curcumis sativus* have been tested at concentrations from 2.5 to 100 µg/mL.

In the both experiments, the control cells were incubated with vehicle (DMSO 0.01 % in RPMI-1640 medium). After 24 h, 48 h and 72 h of incubation, 10 µL of MTT (0.5 mg/mL in PBS) was added to each well and plates were incubated for an additional 4 h at 37 °C in the dark. The MTT was solubilized with 100 µL of a buffer containing 10 % SDS in 0.01 M HCl overnight. The absorbance was subsequently measured at

Table 1

Recapitulative information on the edible pumpkins of Cameroon.

Scientific name	Vernacular name	Parts used	Voucher	Phytochemical constituent	Biological activity	References
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne (CMx)	pœ tûœ	Leaves, flowers, seeds and fruit	45526/ HNC	Total phenols, flavonoids, total carotenoids, terpenoids, tannins	Antioxidant, antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory and anti-diabetic	Wahid et al., 2021
<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne (CMs)	pœ mêlam	Seeds, pulp and fruit	25691/SRF CAM	Total phenols, flavonoids, tannins	Antioxidant, antiobesity, anti-diabetic, anticancer and antibacterial	Mindjou et al., 2021
<i>Lagenaria siceraria</i> Standl (LSi)	ndû tû	Leaves, fruits and seeds	48907/ HNC	Alkaloids, glycosides, steroids, tannins, saponins and flavonoids	Anticancer, anti-hyperlipidemic, anti-inflammatory, analgesic, antioxidant and antimicrobial	Aref et al., 2021
<i>Cucumis sativus</i> (CSt)	mbotâmbû	Seeds and leaves	42457/ HNC	Alkaloids, glycosides, steroids, tannins, saponins and flavonoids	Analgesic, anti-inflammatory, antioxidant antibacterial and cytotoxic	Wahid et al., 2021
<i>Cucumeropsis manii</i> Naud (CMn)	ndû nkaok	Seeds	42484/ HNC	Alkaloids, flavonoids, glycosides, steroids, and tannins	Antimicrobial, hypoglycemic, antioxidant and anti-atherogenic	Adepoju et al., 2021
<i>Cucumis melo</i> (CMI)	ndû	Aerial parts, fruit, peel and seeds		Tannins, alkaloids, saponins, flavonoids, glycosides and steroids	Antioxidant, hypolipidemic, hepatoprotective, anti-inflammatory, antiproliferative and antidiabetic	Malathi and Vadivelu, 2021

550 nm using a microplate ELISA reader (TECAN®, Crailsheim, Germany).

2.4.2. Testosterone-induced BPH in rat

Rats were acclimatized for 2 weeks and divided into several groups of 5 rats each. Testosterone enanthate was administered at a dose of 3 mg/kg *s.c.*, reported as optimal dose to induce benign prostatic hyperplasia rats (Zingue *et al.*, 2020). Three (3) different experiments were performed but in all of them, the normal rats (NOR) and the negative (BPH) control groups received the vehicle (distilled water), while the positive control (FINAS) group received the finasteride at a dose of 5 mg/kg BW as reported by Njamen *et al.* (2020) and Zingue *et al.* (2020). The test groups vary in function of the experiment as follows:

- For the experiment dealing with the comparative effects of the six selected edible pumpkin seeds 12 test groups (n = 5) were randomly distributed and treated at two concentrations (500 and 1000 mg/kg BW) each seed;
- For the experiment dealing with the comparative effects between the raw and cooked *Curcumis sativus* (who showed promising effects in the previous experiment), 8 test groups were treated either with raw or cooked *Curcumis sativus* seeds at doses of 125, 250, 500 and 1000 mg/kg BW (doses extrapolated from the daily amount (10 g/day) recommended by the German commission and framed);
- For the experiment dealing with the assessment of the effects of *Curcumis sativus* seeds oil 4 test groups were treated with oil at 42, 85 and 170 mg/kg BW [doses extrapolated from the optimal dose (500 mg/kg) by applying the percentage of oil yield, which has been framed]. One group received the *C. sativus* raw seed extract at the dose of 500 mg/kg.

All treatments were done once daily around 8:00 a.m. by gavage for 28 days. At the end of all treatments, rats were sacrificed by decapitation under light anesthesia with Diazepam (10 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg). Blood was immediately collected in dry tubes and centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The collected supernatants were stored at -20 °C for biochemical analyses. The ventral prostates were removed, weighed and a part was immediately fixed in 10 % formalin for histological analysis. The other part was weighed and ground with the teflon-glass potter on ice in sodium phosphate buffer (0.1 M; pH 7.5) to obtain a final 20 % homogenate. After centrifugation at 3000 rpm for 15 min at 4 °C, the collected supernatant was stored at -20 °C for the determination of total protein in the prostate. The prostate wet weight was calculated as the prostate weight/body weight ratio as described by Nahata and Dixit (2012). The size of the prostate was measured using a 1 mm precision sliding caliper (IGAGING®) and prostate volumes were calculated using the formula of Rahul *et al.* (2014): volume = length × weight × height × $\pi/6$.

2.4.3. Evaluation of the anti-androgenic activity of *C. Sativus* seed oil

The anti-androgenic property of *C. sativus* was evaluated following the OECD guideline 441 (2009). Thus, 36 six-week-old rats were acclimatized and then castrated, while 6 rats underwent sham-operation. After one week of hormone depletion, the rats were divided into 6 groups of 6 animals each and randomized as follows: a normal control group receiving vehicle (distilled water) *per os* and corn oil subcutaneously. The negative control group (CAST) received distilled water *per os* and testosterone *s.c.*; while the positive control (FLU) received flutamide as standard at a dose of 3 mg/kg BW per day *per os* and testosterone *s.c.* (0.4 mg/kg bw/day). The four test groups received *C. sativus* seed oil at doses of 42.5, 85 and 170 mg/kg BW as well as the total crude extract (500 mg/kg BW) *per os* and testosterone *s.c.*. The treatment lasted for 10 days, after which the animals were sacrificed by decapitation and androgen-dependent organs (prostate, seminal vesicles, glans and Tyson's glans) were immediately removed and weighed.

2.4.4. Evaluation of estrogenic activity of *c. Sativus* seeds oil

Estrogenic activity was evaluated as a possible mode of action of *C. sativus*, using a modified protocol based on Jasem and Tawfeek (2020). Thus, 45 male rats that were 2 months old were acclimatized and divided into 8 groups of 5 animals each treated as follows: the first group received the vehicle (corn oil); the second group was treated with a pure antiestrogen (Fulvestrant) at a dose of 300 µg/kg BW; the third group received estradiol valerate (E₂V) at 400 µg/kg; the fourth group was co-treated with E₂V and letrozole at the fore mentioned doses. The last four groups received *C. sativus* seed oil (CSt-oil) at doses of 42.5, 85 and 170 mg/kg, respectively, or the total *C. sativus* seed extract (CSt) at a dose of 500 mg/kg, concomitantly with E₂V and letrozole at the fore mentioned doses. The treatment was *per os* and lasted for 30 days, after which, the animals were sacrificed and androgen-dependent organs (prostate, epididymis, seminal vesicles, testes, deferent canal and penis) were removed and weighed.

2.5. Evaluation of biochemical parameters

2.5.1. Total protein level

Total protein in prostate tissue was evaluated by Bradford methods (Bradford, 1976). In an acidic environment, the hydrophobic amino acid residues of the proteins react with Coomassie Blue G250. This reaction leads to a change color reaction which turns blue and absorbs at 595 nm. The intensity of the coloration is proportional to the total of protein residues contained in the homogenate.

2.5.2. PSA activity

The serum level of prostate specific antigen (PSA), the main biomarker of prostate disease, was measured by an ELISA method described by Nilsson *et al.* (1997). The PSA ELISA is a non-competitive solid phase immunoassay based on the direct sandwich technique. Calibrators, controls and samples were incubated together with a biotinylated anti-PSA monoclonal antibody and a horseradish peroxidase (HRP)-labeled anti-PSA monoclonal antibody in streptavidin-coated microtiter strips. Color intensity was determined in the microtiter plate spectrophotometer at 620 nm.

2.5.3. Serum level of IL-1 β , IL-6 and TNF- α

They were measure by the quantitative sandwich enzyme immunoassay technique. Antibody specific for Tumor Necrosing Factor alpha (TNF alpha), interleukin 1 beta (IL-1 beta) and interleukin 6 (IL-6) has been pre-coated into a microplate, then standards and samples were pipetted into the wells. The IL-1 β / IL-6/TNF α present in sample bound by the immobilized antibody. After removing any unbound substances, a biotin-conjugated antibody specific for IL-1 β / IL-6/TNF α has been added to the wells. After washing, avidin conjugated HRP was added to the wells. Following a wash to remove any unbound avidin-enzyme reagent, a substrate solution was added into each wells and color develops was proportional to the amount of IL-1 β / IL-6/TNF α bound in the initial step. The color development is stopped and the intensity of the color is measured through a multyreader ELISA ("Lumineux MAGpix Analyzer", XMAP Technology, USA).

2.6. Histological analysis

The prostates were fixed in 10 % neutral formalin and embedded in paraffin wax, sectioned into 5- μ m slices and stained with hematoxylin and eosin stain. Microphotographs were captured at 400 × magnification using complete Zeiss equipment consisting of a microscope Axioskop 40 connected to a computer. The images were analyzed using MRGrab1.0 and Axio Vision 3.1 software, all provided by Zeiss (Hallbermoos, Germany).

2.7. Statistical analysis

Results were expressed as mean ± standard error on the mean (SEM). Means were compared by analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's posttest using Sigma plot software version 11. The difference

was considered significant at $p < 0.05$.

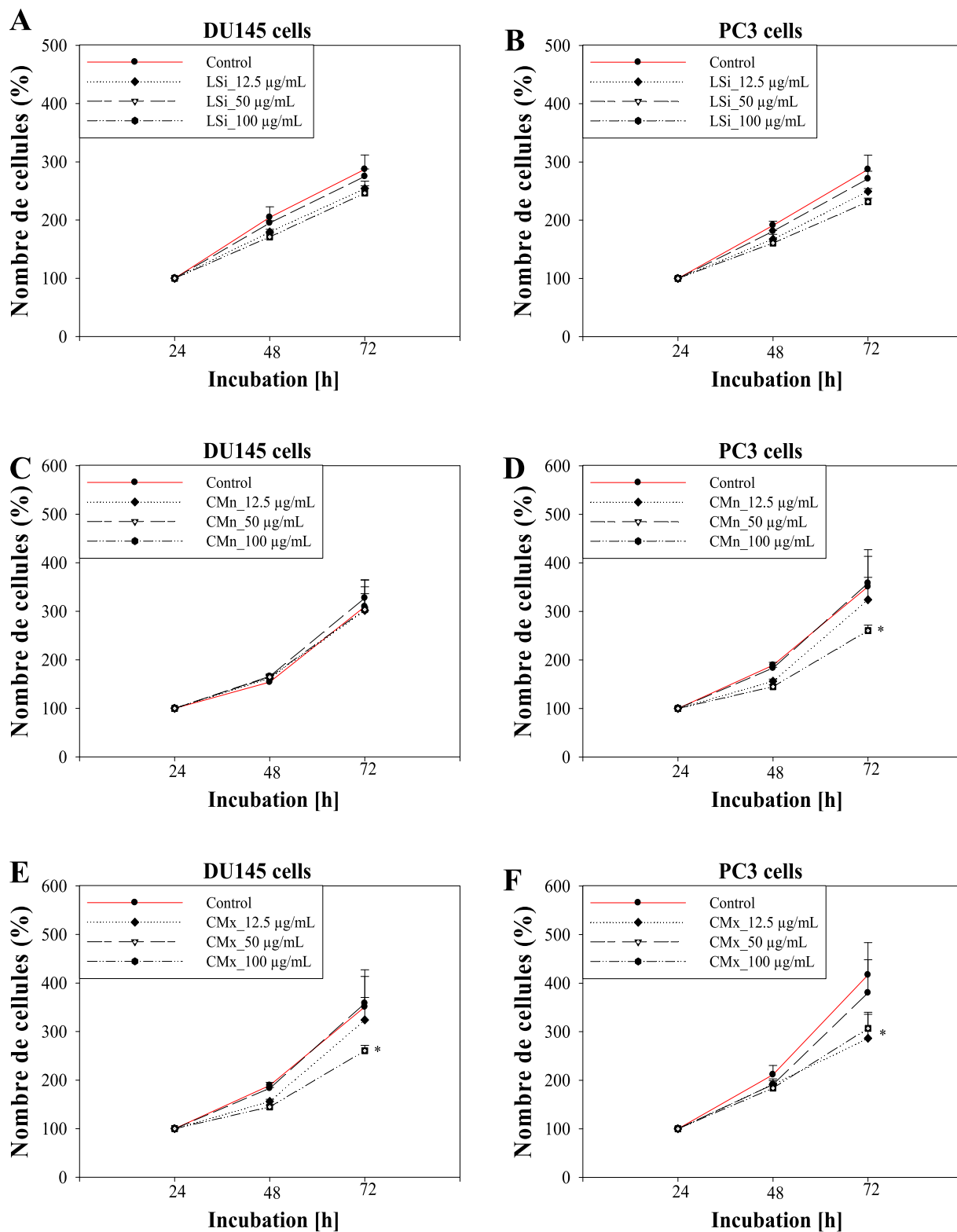


Fig. 1. Cell growth of *Lagenaria siceraria*-LSi (A & B), *Cucumeropsis manii*-CMn (C & D), *Cucurbita maxima*-CMx (E & F), *Cucurbita moschata*-CMs (G & H), *Cucumis melo*-CMI (I & J) and *Cucumis sativus*-CSt (K & L) on DU145 and PC3 cells, respectively. Cells were treated with concentrations range from 12.5 to 200 µg/mL and incubated for 24, 48 and 72 h. Control cells remained untreated. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ versus controls.

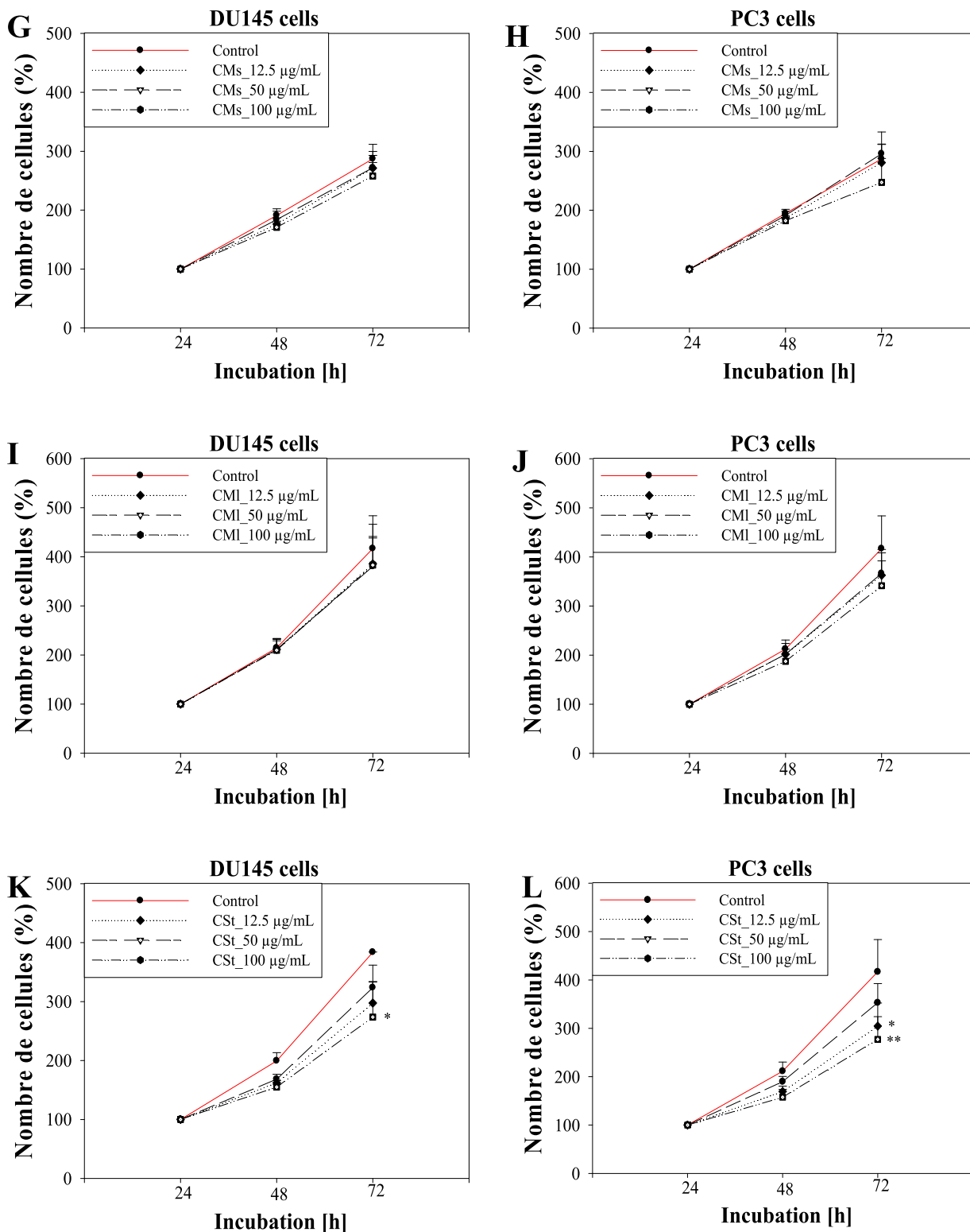


Fig. 1. (continued).

3. Results

3.1. Effects of selected pumpkin seeds on cell growth

The Fig. 1 depicts the effects of 3 (*Lagenaria siceraria*-LSi, *Cucumeropsis manii*-CMn, *Cucurbita maxima*-CMx) out of the six selected pumpkin

seeds on DU145 and PC3 cells growth after 24, 48 and 72 h. It can be observed that CMx exhibited significant inhibition of the both cancer cell lines ($p < 0.05$) at 100 µg/mL in DU145 cells and 50 and 100 µg/mL in PC3 cells.

The Fig. 2 presents the effects of the others selected pumpkin seeds (*Cucurbita moschata*- CMs, *Cucumis melo*-CMI; *Cucumis sativus*-CSt).

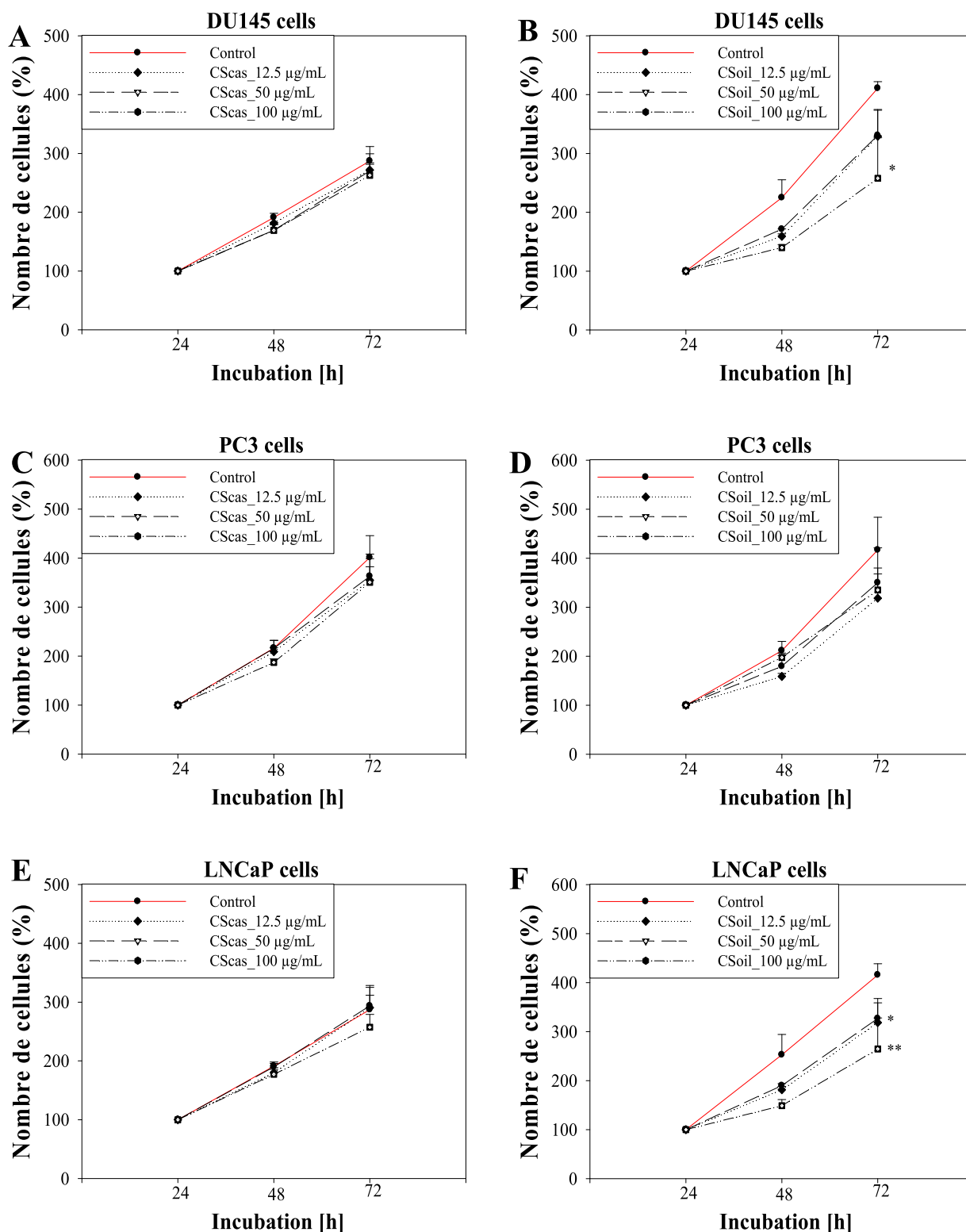


Fig. 2. Cell growth of *Cucumis sativus*-CSt cake and oil on DU145 (A & B), PC3 (C & D) and LNCaP (E & F) cells. Cells were treated with concentrations range from 12.5 to 200 µg/mL and incubated for 24, 48 and 72 h. Control cells remained untreated. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ versus controls.

and CMI as well as LSi (Fig. 1) did not change the growth of the DU145 and PC3 cells. The *Cucumis sativus* (CSt) seeds time-depend and concentration depend fashion inhibit the both DU145 ($p < 0.05$ at 100 µg/mL) and PC3 cells ($p < 0.05$ at 50 µg/mL and $p < 0.01$ at 100 µg/mL).

Out of the six samples, *Cucumis sativus* (CSt) exhibited the most potent antiproliferative effects *in vitro*.

3.2. Comparative effects of the six selected pumpkin seeds on BPH induced in rat

A 28-day administration of testosterone induced significant increase in the prostate index ($p < 0.01$), prostatic epithelium height ($p < 0.001$) and prostate cells diameter ($p < 0.01$) (Table 2). The finasteride

Table 2

Protective effects of the six selected pumpkin seeds from Cameroon against HBP induced in rats.

Groups	Prostate wet weight (mg/kg BW)	Prostate growth inhibition (%)	Prostate volume (mm ³)	Total protein level (mg/mL)	Epithelium height (µm)
NOR	1616 ± 99	–	292 ± 14	85 ± 1.4	2.4 ± 0.1
BPH	2436 ± 71##	–	332 ± 14	88 ± 0.8	5.8 ± 0.1###
FINAS	1889 ± 30#	54.4 %	202 ± 20**	75 ± 1.2***	3.5 ± 0.1***
LSi 500	2377 ± 258	7.21 %	325 ± 15	89 ± 1.9	4.3 ± 0.1***
LSi 1000	2385 ± 280	6.22 %	248 ± 13	89 ± 0.1	4.3 ± 0.1***
CMn 500	2451 ± 168	0.0 %	313 ± 20	86 ± 3.3	4.6 ± 0.2*
CMn 1000	2390 ± 240	5.5 %	292 ± 33	85 ± 2.8	6.8 ± 0.3
CMx 500	2324 ± 122	13.6 %	260 ± 38	78 ± 4.4*	4.4 ± 0.2**
CMx 1000	2210 ± 187	27.5 %	249 ± 20	84 ± 1.4	4.8 ± 0.1*
CMs 500	2192 ± 129	29.8 %	264 ± 18	83 ± 4.4	5.5 ± 0.3
CMs 1000	2493 ± 224	0.0 %	271 ± 43	80 ± 0.9	5 ± 0.3
CMI 500	2454 ± 68	2.1 %	327 ± 5	69 ± 2.7***	5.2 ± 0.3
CMI 1000	2418 ± 163	2.1 %	257 ± 12	66 ± 1.6***	5.6 ± 0.4
CSt 500	2029 ± 96	49.5 %	216 ± 14**	74 ± 1.3***	4.4 ± 0.1**
CSt 1000	2272 ± 49	20.3 %	224 ± 17*	86 ± 1.0	4.3 ± 0.2***

NOR = Normal rats that received distilled water; BPH = Rats treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and distilled water for 28 days; FINAS = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and finasteride (5 mg/kg); LSi = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *Lagenaria siceraria* at 500 and 1000 mg/kg; CMn = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *Cucumeropsis mannii* at 500 and 1000 mg/kg; CMx = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *Cucurbita maxima* at 500 and 1000 mg/kg; CMs = Rats co-treated with testosterone enanthate and *Cucurbita moschata* at 500 and 1000 mg/kg; CMI = Rats co-treated with testosterone enanthate and *Cucumis melo* at 500 and 1000 mg/kg; CSt = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *Cucumis sativus* at 500 and 1000 mg/kg. ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$: significant difference v.s. normal. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: significant difference v.s. negative control (BPH).

protected against the testosterone-induced the increased in prostate index ($p < 0.05$), prostate volume ($p < 0.01$), prostatic epithelium height ($p < 0.001$), prostate cells diameter ($p < 0.01$) and protein levels in prostate ($p < 0.001$). Concerning the selected pumpkin seeds, *Lagenaria siceraria* (LSi) at the 500 ($p < 0.001$) and 1000 mg/kg ($p < 0.001$); *Cucumeropsis mannii* (CMn) at 500 mg/kg ($p < 0.001$); *Cucurbita maxima* (CMx) at 500 ($p < 0.01$) and 1000 mg/kg ($p < 0.05$) and *Cucumis sativus* at 500 ($p < 0.01$) and 1000 mg/kg ($p < 0.001$) significantly decrease the prostatic epithelium height. Protein levels in prostate was significantly decreased and *Cucumeropsis mannii* (CMn) at the dose of 500 mg/kg ($p < 0.05$); *Cucumis melo* (CMI) at both 500 and 1000 mg/kg ($p < 0.001$) and *Cucumis sativus* at 500 mg/kg ($p < 0.001$).

Amongst all the tested pumpkin seeds, *Cucumis sativus* extract showed the most potent effect at the dose of 500 mg/kg (Table 2); evidenced by a reduction of prostate index (from 2436 ± 71 in BPH v.s. 2029 ± 96; non-significant), prostate volume (from 332 ± 14 in BPH v.s. 216 ± 14 mm³; $p < 0.01$), total protein level (from 88 ± 0.8 in BPH v.s. 74 ± 1.3 mg/mL; $p < 0.001$) and epithelium height (from 5.8 ± 0.1 BPH v.s. 4.4 ± 0.1 µm; $p < 0.001$). The following sample was then retained for further experiments.

3.3. Effect of raw and cooked *C. Sativus* seeds on BPH

As expected, the 28-day testosterone administration induced a significant increase in the relative prostate weight ($p < 0.001$), prostate volume ($p < 0.001$), total protein level in prostate ($p < 0.01$) and prostatic epithelial height compared to normal rats (Table 3). Raw and cook *C. sativus* seeds significantly decreased ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$) these parameters compared with the negative control group mostly at 250 and 500 mg/kg BW. Finasteride at 5 mg/kg BW significantly ($p < 0.001$) prevented the testosterone-induced relative prostate weight, prostate volume, total protein level in prostate and prostatic epithelial height as compared to BPH rats (Table 3).

The raw *C. sativus* seeds extract exhibit potent effects than the cooked one with the optimal effects at the dose of 500 mg/kg which significantly inhibit the testosterone induced the increased in the prostate weight (from 3690.8 ± 127.0 mg/kg in BPH v.s. 2659.6 ± 178.9 mg/kg), prostate volume (from 925.2 ± 56.5 mm³ in BPH v.s. 387.9 ± 54.3 mm³), total protein level in prostate (from 108.7 ± 4.4 mg/mL in BPH v.s. 98.2 ± 0.4 mg/mL) and prostatic epithelial height (from 10.6 ± 0.4 µm v.s. 9.1 ± 0.1 µm) as compared to BPH rats.

3.4. Comparative effects of oil and cake from *C. Sativus* seeds on cell growth

The Fig. 3 shows that the cake of *C. sativus* seeds failed to inhibit the prostate cancer growth *in vitro*. Interesting the oil of *C. sativus* seeds conserved the quasi-total effects of the raw seeds on prostate cancer cells, materialized by the time- and concentration-dependent inhibition of DU145, PC3 and LNCaP cells with best effect at 100 µg/mL.

Base on this result, only the oil of *C. sativus* seeds has been further tested on BPH in rat.

Table 3

Protective effects of raw and cooked *C. sativus* seeds against BPH induced in rat.

Groups	Prostate wet weight (mg/kg BW)	Prostate volume (mm ³)	Proteins in prostate (mg/mL)	Prostate epithelium height (µm)
NOR	1690.8 ± 54.4	454.8 ± 87.9	95.4 ± 2.2	6.9 ± 0.4
BPH	3690.8 ± 127.0###	925.2 ± 56.5###	108.7 ± 4.4##	10.6 ± 0.4###
FINAS	2298.2 ± 177.7***	423 ± 48.1***	86.6 ± 2.3***	7.9 ± 0.4***
CSt-raw 125	2929.0 ± 314.8	451.9 ± 94.7***	113.1 ± 3.9	9.4 ± 0.1
CSt-raw 250	2991.6 ± 218.3	512.7 ± 72.2**	109.1 ± 4.4	8.6 ± 0.1**
CSt-raw 500	2659.6 ± 178.9**	387.9 ± 54.3***	98.2 ± 0.4*	9.1 ± 0.1*
CSt-raw 1000	3188.1 ± 169.8	456.2 ± 46.7***	87.9 ± 1.2***	9.9 ± 0.2
CSt-cook 125	3249.3 ± 345.1	662.8 ± 74.1	94.1 ± 2.8***	9.9 ± 0.6
CSt-cook 250	3004.6 ± 110.9	536.2 ± 35.2**	91.7 ± 2.1**	9.1 ± 0.2*
CSt-cook 500	3040.3 ± 163.4	681.1 ± 60.7	90.5 ± 2.1***	9.7 ± 0.2
CSt-cook 1000	2832.8 ± 269.8*	564 ± 67.1**	94.1 ± 1.9**	9.9 ± 0.3

NOR = Normal rats that received distilled water; BPH = Rats treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and that received distilled water for 28 days; FINAS = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and finasteride (5 mg/kg); CSt-raw = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and raw *Cucumis sativus* seeds. CSt-cooked = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and cooked *Cucumis sativus* seeds. ### $p < 0.001$; ## $p < 0.01$; # $p < 0.05$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: significant difference v.s. normal. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: significant difference v.s. BPH.

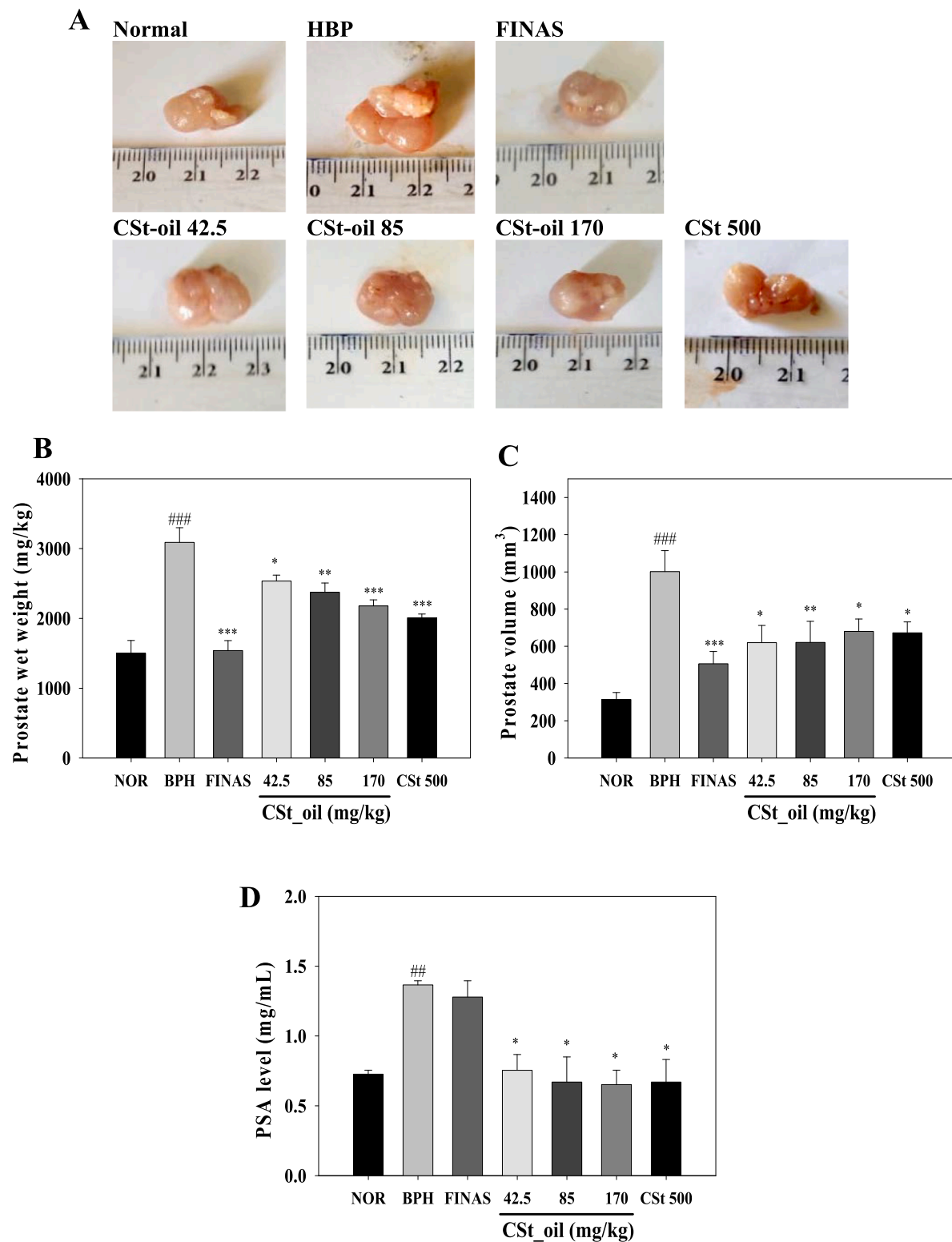


Fig. 3. Protective effects of *C. sativus* seed oil on morphology (A), prostate relative weight (B), prostate volume (C) and serum PSA level (D) after 28 days of treatment. Each bar represents the mean \pm SEM (n = 5). NOR = Normal rats that received distilled water; BPH = Rats treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and received distilled water; FINAS = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and finasteride (5 mg/kg); CSt-oil = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *C. sativus* seed oil at 85, 170, and 340 mg/kg; CSt 500 = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and crude *C. sativus* raw seed at 500 mg/kg BW. ^{###} $p < 0.001$: significant difference versus normal. ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$ and ^{***} $p < 0.001$: significant difference versus negative control (BPH).

3.5. Effect of oil from *C. Sativus* seeds in BPH

3.5.1. Effect on relative mass, volume and prostatic epithelium height

Testosterone has induced significant ($p < 0.001$) increase in the relative prostate weight and prostate volume in BPH rats compared to normal rats (Fig. 4). Finasteride significantly (at least $p < 0.001$) decreased these parameters compared to BPH group. *C. sativus* seeds oil induced a significant dose-dependent decrease in prostate relative mass ($p < 0.05$) and prostate volume ($p < 0.05$) at all the tested doses with optimal effects at dose of 170 mg/kg. The effects recorded in all prostate parameters following oil treatment are similar to that observed with the raw *C. sativus* seeds at 500 mg/kg.

3.5.2. Effect on PSA level

The Fig. 4D shows the effects of *C. sativus* seed oil on prostate specific antigen (PSA) levels after 28 days of treatment. A 28-day consecutive administration of testosterone resulted in a significant increase in PSA levels ($p < 0.01$) compared to the normal control group. Finasteride did not change the PSA level. Both oil from *C. sativus* and raw seeds extract significantly ($p < 0.01$) prevented the testosterone-induced increase in the PSA at all tested doses compared to BPH rats.

3.5.3. Effects on cytokines levels

The Table 4 displays the effects of *C. sativus* oil on some pro-inflammatory cytokines. Testosterone resulted in a significant ($p < 0.01$) increase in the levels of TNF alpha, IL-1 beta and IL-6 compared to the normal rats. Just like finasteride, *C. sativus* seed oil as well as the raw seeds extract, significantly ($p < 0.001$) reduced the serum levels of TNF α ($p < 0.05$), IL-1 β ($p < 0.01$) and IL-6 ($p < 0.01$) mainly at the dose of 170 mg/kg and 500 mg/kg BW, respectively compared to BPH rats.

3.5.4. Effects on histo-architecture of the prostate

The cross-sections of the prostates stained by the classical H&E stain (Fig. 5) showed that *C. sativus* seeds oil in the light of finasteride reduced the prostatic epithelium height at a simple layer such as in normal rats. The measurement of the prostatic epithelium height showed that testosterone-induced a significant ($p < 0.001$) increase in prostatic epithelium height. Finasteride ($p < 0.001$), oil at all tested dose ($p < 0.01$ at 42.5 mg/kg and $p < 0.001$ at 80 and 170 mg/kg BW) and raw extract ($p < 0.001$) significantly diminished the prostatic epithelium height compared to BPH rat.

3.6. Anti-androgenic effect of *C. Sativus*

Fig. 5 illustrates the anti-androgenic effects of *C. sativus* seed oil on the relative weights of the prostate (Fig. 5A), seminal vesicles (Fig. 5B), glans (Fig. 5C) and Tyson glans (Fig. 5D). Castration resulted in a significant reduction ($p < 0.05$) in the relative weight of the prostate, seminal vesicles and glans compared to the non-castrated group (SHAM) after 17 days. Administering testosterone to castrated animals at 0.4 mg/kg for 10 days resulted in a significant ($p < 0.001$) increase in the relative weight of these parameters, as well as that of Tyson glan. Similar to flutamide (3 mg/kg), *C. sativus* seed oil significantly reduced the relative weight of the prostate ($p < 0.05$; $p < 0.01$), seminal vesicles ($p < 0.01$), glans ($p < 0.05$) and Tyson glans ($p < 0.001$) compared to the testosterone-only group. The total seed extract significantly reduced only the weight of the seminal vesicle ($p < 0.01$) and Tyson's glans ($p < 0.001$).

3.7. Estrogenic effect *C. Sativus*

The estrogen-potentiating effects of *C. sativus* oil and total seed extract on the relative weights of the testes, prostate, seminal vesicles, epididymis, deferens ducts and penis are shown in Table 5. The results show that fulvestrant significantly reduced the relative weights of the prostate ($p < 0.05$) and seminal vesicles ($p < 0.01$) compared to the

normal control. Letrozole produced a non-significant reduction in these parameters compared to the non-castrated rats after 28 days of treatment. Letrozole co-administered with estradiol valerate (E_2V) significantly reduced prostate weight ($p < 0.05$) compared with the normal control. *C. sativus* seed oil and raw extract potentiated the effects of estrogen by significantly reducing the relative weights of the testes ($p < 0.05$), prostate ($p < 0.05$; $p < 0.01$), deferens ducts ($p < 0.05$; $p < 0.01$), and penis ($p < 0.05$) compared to the LETRO group.

4. Discussion

Prostate cancer and benign prostatic hyperplasia are linked by the uncontrolled proliferation of cells. To scientifically verify the claim on the beneficial effects of selected pumpkin seeds, they were first assessed on aggressive prostate cancer DU145 and PC-3 cells through a well characterize MTT assay, which measure the metabolic activity of cells. *C. sativus* seed extract inhibited DU145 and PC3 cells in a concentration-dependant manner mainly at 100 $\mu\text{g/mL}$. These results are in line with various reports, which showed the antiproliferative and anticancer effects of pumpkin seeds (Malathi and Vadivelu, 2021; Aref et al., 2021). BPH is a common male disease caused by excessive proliferation of the prostate gland and muscle tissue with age under the influence of androgens in particular testosterone (Mobley et al., 2015). Once released from its plasma carrier protein, testosterone enters into the prostate cell and is metabolized in dihydrotestosterone (DHT) by 5 α -reductase. DHT bind androgen receptors and induces growth and differentiation of the prostate cells; which in turn cause hyperplasia of stromal and epithelial cells and BPH (Seo et al., 2021). Alternatively, in elderly men, abundant adipocytes increase the amount aromatase which in turn increase the rate of conversion of androgens to estrogens. These later would act via estrogen receptors in prostate and activate the proliferation of stromal and epithelial cell autocrine and paracrine pathways (Devlin, 2021). In this study, the testosterone administration induced a significant increase in the prostate relative weight, prostate volume and prostate epithelium height compared to normal rats, confirming the set up of BPH (Nahata and Dixit, 2012). In fact, prostate weight and prostate volume are crucial indicators for the diagnosis of BPH and for the screening of potential beneficial compounds. This BPH rat model is widely used by the scientific community (Zingué et al., 2020). As expected, the finasteride, a selective inhibitor of type II 5- α reductase, used as standard in this study significantly counteracted the effects of testosterone after 28 days of co-treatment (Evans et al., 2005). Except for *Cucumeropsis mannii* and *Cucurbita moschata* seeds who failed to change the prostate parameters, the other exhibited protective effects against the testosterone-induced prostate hyperplasia, suggesting antiproliferative effects. The best effect was observed with *C. sativus* seeds. This might be due to its high content in cucurbitacins, which are well known antiproliferative (Wahid and Khan, 2021). It is worth noting that all the six pumpkins were tested at the same doses, which were extrapolated from the daily recommended amount of 10 g/day for human consumption as recommended by the German commission. Throughout this study, no signs of toxicity were observed, confirming the pumpkin's status as food.

Raw and cooked *C. sativus* seeds mainly at the doses of 250 and 500 mg/kg significantly reduced relative prostate weight mass and prostate volume as compared to BPH rat. It is well known that the intensity or the probability of occurrence of the effects is proportional to the quantity of drug present at the site of action. To generate a detectable effect, the drug must be able to reach the site of action and be present in sufficient quantity to interact with the target receptor or enzyme (Brunel et al., 2021). Moreover, the raw extract was the most active. This observation is consistent with observation of Olufeko et al. (2020), when evaluating the effects of the cooking on chemical and phytochemical compositions of raw and cooked melon as well as walnut seeds demonstrated that except for the flavonoids, cooking reduced tannin, steroid, terpenoids, alkaloids and phenol content in melon seeds. Polyphenols including flavonoids are known to have antiproliferative activity on BPH via the

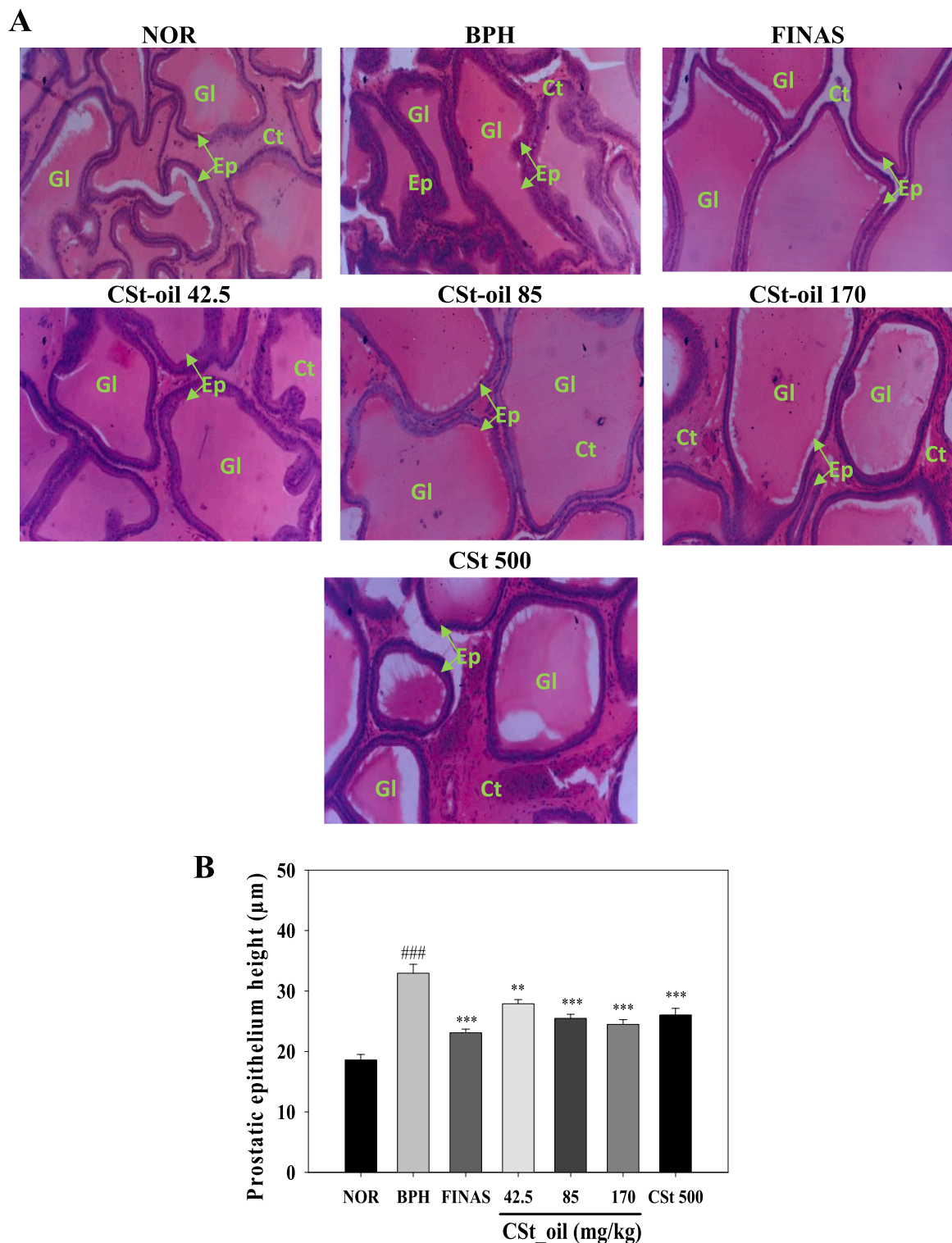


Fig. 4. H&E 100 × photomicrographs of prostate section (A) and prostatic epithelium height (B) in BPH rats treated with *C. sativus* seeds oil. Each bar represents the mean ± SEM (n = 5). NOR = Normal rats that received distilled water; BPH = Rats treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and received distilled water; FINAS = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and finasteride (5 mg/kg); CSt-oil = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and *C. sativus* seed oil at 85, 170, and 340 mg/kg; CSt 500 = Rats co-treated with testosterone enanthate (3 mg/kg) and crude *C. sativus* raw seed at 500 mg/kg BW. ###*p* < 0.001: significant versus normal. ***p* < 0.01; ****p* < 0.001: significant versus negative control (BPH). Ep = epithelium; Bl = blood vessels; Ct = connective tissue; Gl = glandular lumen.

Table 4
Protective effects oil from *C. sativus* seeds in some inflammatory cytokines against BPH in rat.

Group	Concentration level in serum (pg/ml)		
	TNF α	IL1 β	IL-6
NOR	142.4 \pm 9.6	727.9 \pm 50.7	155.1 \pm 2.2
BPH	221.6 \pm 6.4##	870.9 \pm 10.3##	184.8 \pm 8.8##
FINAS	142.4 \pm 6.4**	677.5 \pm 4.8***	148.1 \pm 3.1
CS-oil 42.5	248.1 \pm 16.1	832.5 \pm 25.4	176.2 \pm 3.5
CS-oil 85	179.2 \pm 20.1	749.2 \pm 26.8*	167.8 \pm 3.2*
CS-oil 170	175.7 \pm 8.7*	753.6 \pm 7.4**	156.1 \pm 1.6**
CS 500	148.1 \pm 5.2**	696.5 \pm 10.3***	157.6 \pm 1.2***

NOR = Normal rats receiving distilled water; BPH = Rats given testosterone enanthate (3 mg/kg) and distilled water for 28 days; FNS = Rats given testosterone enanthate and treated with finasteride (5 mg/kg); CS-oil = Rats given testosterone enanthate and treated with *Cucumis sativus* oil; CS = Rats given testosterone enanthate and treated with *Cucumis sativus*. PGI = Prostate growth inhibition. ### $p < 0.001$; ## $p < 0.01$; significant difference from normal. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; significant difference from negative control.

inhibition of 5 α -reductase isoenzymes (Mitsunari et al., 2021). *In vitro*, the oil better prevented the prostate cancer cells growth than the cake from *C. sativus* raw seeds. The difference effect could be due to the variation in the relative composition of bioactive ingredients in the oil and in the cakes; oil exhibited the quasi-totally effects of the raw seeds

extract. *In vivo* oil significantly decreased the prostate wet weight, prostate volume and prostatic epithelium height compared to untreated BPH rats. These results are in line with those of Gossel-Williams et al. (2006) who showed that the oil extracted from raw *C. sativus* as well as *C. pepo* inhibit prostate hyperplasia through the inhibition of 5 α -reductase. Although we did not assess the effect of *C. sativus* oil on 5 α -reductase, we can hypothesize than it induces part of its effect through this pathway. Studies have suggested that the actions of pumpkin seed oil may also be attributed to its content on phytosterols, which are known to interfere with the actions of dihydrotestosterone (Carbin et al., 1990).

PSA is a glycoprotein produced through the phosphorylation of DHT in the prostatic stromal cells (Kim et al., 2017; Eleazu et al., 2021) showed that a 28-day consecutive administration of testosterone at 3 mg/kg BW to induce BPH s.c. in rats is characterized by an increase of the serum PSA level. Concomitant with this observation, the testosterone induced significant increase in the PSA level and finasteride as well as *C. sativus* seeds oil at all tested doses reduced the serum PSA level, strengthen their anti-proliferative effects on the prostate. Prostate cell proliferation in BPH has been shown exacerbate under chronic inflammation. Inflammation is a physiological response, initiated by the synthesis of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, and IFN- γ) by macrophages in response to inflammatory injury. Inflammatory cytokines amplify the inflammatory response by activating the expression of various genes like cyclooxygenase-2 (COX-2) by

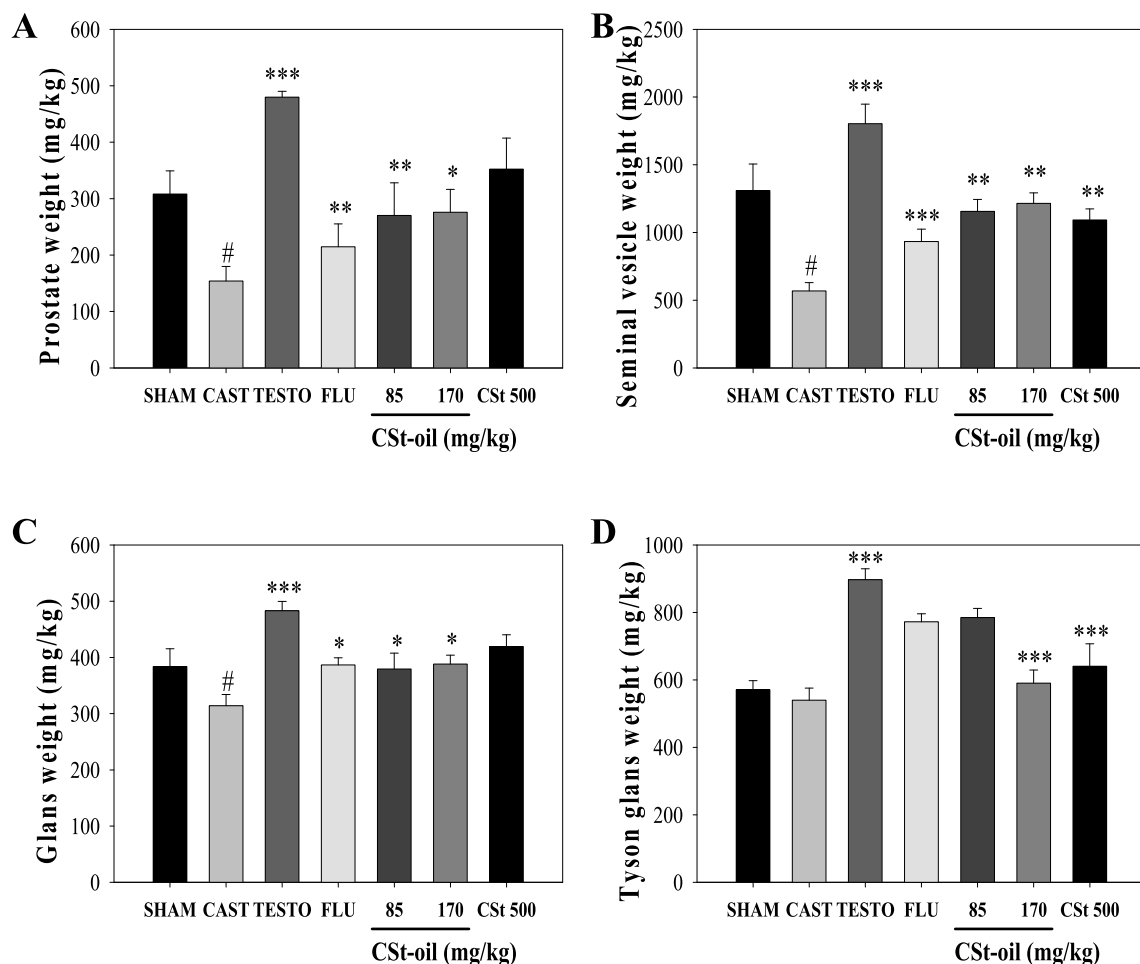


Fig. 5. The effects of *C. sativus* seed oil on the relative weights of prostate (A), seminal vesicles (B), glans (C) and tyson glans (D). SHAM = sham-operated rats receiving corn oil; CAST = castrated rats receiving corn oil for 10 days; TESTO = castrated rats receiving testosterone at 0.4 mg/kg; FLU = castrated rats co-treated with testosterone (0.4 mg/kg) and flutamide (3 mg/kg); CSt-oil = castrated rats co-treated with testosterone (0.4 mg/kg) and *C. sativus* seed oil at 85 and 170 mg/kg (most potent doses in the previous experiments); CSt = castrated rats co-treated with testosterone (0.4 mg/kg) and *C. sativus* seed crude extract at 500 mg/kg. (n = 5). # $p < 0.05$: significant difference versus normal control; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: significant difference versus negative control (CAST).

Table 5
Anti-estrogenic effect of *C. sativus* on androgeno-dependent organs.

Groups	Testicles	Prostate	Seminal vesicles	Epididymis	Deferent ducts	Penis
NOR	14.50 ± 0.55	0.85 ± 0.15	3.33 ± 0.45	3.86 ± 0.14	0.67 ± 0.04	1.11 ± 0.05
FASLO	12.56 ± 0.93	0.32 ± 0.06#	1.56 ± 0.24##	3.28 ± 0.20	0.61 ± 0.04	0.96 ± 0.08
LETRO	14.36 ± 0.35	0.65 ± 0.03	2.91 ± 0.36	3.55 ± 0.06	0.65 ± 0.05	1.06 ± 0.03
LETRO + E2V	11.97 ± 0.73	0.33 ± 0.05*	2.20 ± 0.49	3.51 ± 0.14	0.62 ± 0.07	1.03 ± 0.03
LETRO + E2V + CS-h 42.5	9.21 ± 1.61*	0.34 ± 0.07	3.13 ± 0.43	3.61 ± 0.28	0.31 ± 0.06**	0.70 ± 0.05
LETRO + E2V + CS-h 85	10.30 ± 1.25	0.37 ± 0.06	1.73 ± 0.36	2.65 ± 0.42	0.50 ± 0.07	0.95 ± 0.1*
LETRO + E2V + CS-h 170	9.75 ± 1.02*	0.35 ± 0.07*	0.85 ± 0.07**	3.05 ± 0.11	0.36 ± 0.03**	0.76 ± 0.06*
LETRO + E2V + CS-500	8.73 ± 2.27*	0.21 ± 0.02**	2.24 ± 0.57	3.20 ± 0.18	0.40 ± 0.09*	0.74 ± 0.08*

NOR = normal rats treated with corn oil; FASLO = normal rats treated with fulvestrant at 300 µg/150 g; LETRO = normal rats treated with letrozole at 0.5 mg/kg; LETRO + E2V = normal rats treated with letrozole (0.5 mg/kg) and estradiol valerate (400 µg/kg); LETRO + E2V + CST-oil = normal rats treated with letrozole (0.5 mg/kg), estradiol valerate (400 µg/kg) and *C. sativus* seed oil. *C. sativus* seed oil at 42.5, 85 and 170 mg/kg; LETRO + E2V + CST-500 = normal rats co-treated with letrozole (0.5 mg/kg), estradiol valerate (400 µg/kg) and *C. sativus* total crude seed extract at 500 mg/kg. (n = 5). #p < 0.05; ##p < 0.01: significant difference versus normal control. *p < 0.05; **p < 0.01: significant difference versus negative control (LETRO).

transcription factors (Mitsunari et al., 2021). Immune infiltrating cells are activated in BPH condition by the production of various inflammatory cytokines including TNF-α, IL-1β and IL-6. These cytokines contribute to prostate enlargement and growth of epithelial cells as reported by Rho et al. 2020. Similarly, in this study an up-regulation of TNF-α, IL-1β and IL-6 in BPH rat compared to the normal rats. *C. sativus* seeds oil significantly reduced the testosterone-induced up-regulation of TNF-α, IL-1β and IL-6 cytokines. This result is in accordance with the observation of El-Sherbiny et al. (2021), who demonstrated that diacerein inhibited the above-mentioned inflammatory cytokine on testosterone-induced BPH in rat. *C. sativus* seeds oil contains a high amount of cucurbitacins A, B, C, D, E and I, which are potent anti-inflammatory agents acting by inhibition of the cyclooxygenase (COX) enzymes (Wahid et al., 2021).

The etiology of BPH is not well understood, although various causes such as anti-inflammatory, antioxidant, androgenic, and estrogenic factors have been implicated. To assess the anti-androgenic and estrogenic potential of *C. sativus* oil, it was evaluated according to OECD protocols. The administration of testosterone to castrated animals led to a significant increase in the relative weights of the prostate, seminal vesicles, glans, and Tyson glans. These findings align with a study by Kim et al. (2002), which investigated the anti-androgenic effects of bisphenol-A in immature castrated rats. Both *C. sativus* and flutamide, when administered concurrently with testosterone to castrated rats, significantly reduced the relative mass of these organs, suggesting an anti-androgenic effect (OECD, 2009). Specifically, the increase in prostate weight is dependent on DHT (Ajayi and Abraham, 2018), and *C. sativus*, through its phytoconstituents such as delta-sterols, may inhibit 5-reductase (Heim et al., 2018). Moreover, the administration of fulvestrant (a pure anti-estrogen) and letrozole (an aromatase inhibitor) to normal adult rats resulted in a reduction in the relative weights of the prostate and seminal vesicles compared to untreated normal animals. These results support the findings of Jasem and Tawfeek (2020), who demonstrated that letrozole administration induced a decrease in the weights of androgen-dependent organs in adult rats. In the etiology of BPH, estrogens promote inflammation and hyperplasia by binding to ERα (Ajayi and Abraham, 2018). Fulvestrant, an estrogen receptor antagonist, inhibits estrogen dimerization and translocation while increasing estrogen degradation (Carlson, 2005). The co-administration of letrozole with estrogens led to a significant reduction in the relative weight of the prostate and a non-significant reduction in the weights of other androgen-dependent organs. Estrogens are known to inhibit the growth of male reproductive organs and spermatogenesis through negative feedback on the hypothalamic-pituitary complex (Schulster et al., 2016). By binding to ERβ, estrogens induce antiproliferative and pro-apoptotic effects in the prostate by inhibiting apoptosis, increasing oxidative stress, and decreasing testosterone levels (Ajayi and Abraham, 2018). Concurrent administration of *C. sativus* seed oil with estrogen and letrozole resulted in a decrease in the weights of androgen-dependent

organs compared to normal animals. These findings are consistent with those of Weber et al. (2001), who demonstrated that the administration of phytoestrogens, particularly soybean phytoestrogens, to male rats significantly reduced prostate weight. In fact, Kuhnle et al. (2009) found that cucurbits contain an average of 12.5 µg of phytoestrogens per 100 g. *C. sativus* phytoestrogens preferentially bind to ERβ, inducing the observed antiproliferative effects in this study (Karsli- Ceppioğlu et al., 2015).

Conclusion

Out of the six Cameroonian edible pumpkin seeds tested *in vitro* on prostate cancer cells growth and *in vivo* on testosterone-induced BPH *C. sativus* seeds was the most potent. Furthermore raw *C. sativus* seeds at 500 mg/kg and its oil at 170 mg/kg significantly reduced prostate weight, prostate volume, prostate epithelial height, total protein level and PSA. *C. sativus* seed oil appears to gather the overall bioactive ingredients presents in seeds, and it seems to act through anti-inflammatory, anti-androgenic and weak estrogenic activities. In sum *C. sativus* seeds has antiproliferative effects prostate; which could justify its use by Cameroonian male against prostate ailments.

Authors' contributions

ZS, NTD, BRA and ND designed the study. BYB, GT and ZS performed the *in vitro* study. BYB, FRU, NBC and ZS performed the *in vivo* part of the study. BYB and ZS drafted the paper. All authors have revised and approved the final manuscript.

Ethic statement

The experiments in animals were performed following the recommendation of the Joint Institutional Review Board Animal & Human Bioethics of the Faculty of Science (University of Yaounde 1) reference # BTC-JIRB2021-010, which adopted the directives established by the European Union on the care of animals (EEC Council 86/609).

CRedit authorship contribution statement

Berlise Yengwa Bakam: Writing – original draft, Methodology, Investigation, Data curation. **Romeo Ulrich Fosso:** Methodology, Investigation. **Timothy Grein:** Methodology, Investigation, Data curation. **Derek Tantoh Ndinteh:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision. **Sebastian Maxeiner:** Validation, Data curation. **Stéphane Zingue:** Writing – review & editing, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Data curation, Conceptualization. **Roman A Blaheta:** Validation, Supervision, Resources, Funding acquisition, Conceptualization. **Dieudonne Njamen:** Writing – review & editing, Validation, Supervision, Data curation, Conceptualization.

Declaration of competing 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.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgment

This work has been performed with the support from DAAD, the German Academic Exchange Service to Prof. Dr. Stephane Zingue (Grant N° PKZ 91745282). The authors are also thankful the Alexander von Humboldt Foundation.

Ethics approval and consent to participate


Housing of animals and all experiments were approved by the Cameroon Institutional National Ethic Committee, which adopted all procedures recommended by the European Union on the protection of animals used for scientific purposes.

References

- Adepoju, A. J., Abdul-Hammed, M., Falade, V. A., & Azeze, S. O. (2021). Phytochemical screening and antimicrobial activity study of *Cucumeropsis mannii* and *Irvingia gabonensis* ethanolic seeds extracts. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 10(8), 176–186.
- Ajayi, A., & Abraham, K. (2018). Understanding the role of estrogen in the development of benign prostatic hyperplasia. *The African Journal of Urology*, 24(2), 93–97.
- Aref, A. B. M., Semmler, M., Mohamadain, H. S., & Jad, M. M. (2021). Biological Effects of DMBA and *Lagenaria siceraria*: 2: Modulatory Role of *Lagenaria siceraria* on the ileum of females Swiss Albino Mice induced by the possible carcinogenic effect of DMBA. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, 13(2), 87–99.
- Carbin, B., Larsson, B., & Lindahl, O. (1990). Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols. *British Journal of Urology*, 66(6), 639–641.
- Carlson, R. W. (2005). The history and mechanism of action of fulvestrant. *Clinical Breast Cancer*, 6, 5–8.
- Devlin, M. C., Simms, S. M., & Maitland, J. N. (2021). Benign prostatic hyperplasia-what do we know? *BJU International*, 127(4), 389–399.
- Eleazu, K., Maduabuchi, A. P., & Eleazu, C. O. (2021). Cocoyam (*Colocasia esculenta*) modulates some parameters of testosterone propionate-induced rat model of benign prostatic hyperplasia. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(5), 1923–1933.
- El-Sherbiny, M., El-Shafey, M., El-Agawy, M. S. E. D., Mohamed, A. S., Eisa, N. H., & Elsherbiny, N. M. (2021). Diacerein ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats: Effect on oxidative stress, inflammation and apoptosis. *International Immunopharmacology*, 100, 1–10.
- Gossell-Williams, M., Davis, A., & O'Connor, N. (2006). Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of Sprague-Dawley rats by pumpkin seed oil. *Journal Medicinal Food*, 9(2), 284–286.
- Heim, S., Seibt, S., Stier, H., & Moré, M. I. (2018). Uromedic® pumpkin seed derived Δ^7 -sterols, extract and oil inhibit 5 α -reductases and bind to androgen receptor *in vitro*. *Pharmacol Pharm*, 9(06), 193–207.
- Jasem, M. H., & Tawfeek, K. F. (2020). Aromatase inhibitor, flax seed and sage effects on adult rat fertility and sexual behavior. *J Educ Sci*, 29(2), 174–185.
- Karsli-Ceppioglu, S., Ngollo, M., Judes, G., Penault-Llorca, F., Bignon, Y. J., Guy, L., & Bernard-Gallon, D. (2015). The role of soy phytoestrogens on genetic and epigenetic mechanisms of prostate cancer. *The Enzymes*, 37, 193–221.
- Kim, H. S., Han, S. Y., Kim, T. S., Kwack, S. J., Da Lee, R., Kim, I. Y., Seok, J., Lee, B. M., & Park, K. L. (2002). No androgenic/anti-androgenic effects of bisphenol-A in Hershberger assay using immature castrated rats. *Toxicology Letters*, 135(1–2), 111–123.
- Kuhnle, G. G., Dell'Aquila, C., Aspinall, S. M., Runswick, S. A., Joosen, A. M., Mulligan, A. A., & Bingham, S. A. (2009). Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and ¹³C-labelled standards. *Food Chemistry*, 116(2), 542–554.
- Langan, R. (2019). Benign Prostatic Hyperplasia. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 46(2), 223–232.
- Malathi, G., & Vadivelu, J. (2021). In-vitro antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of Cucumis melo L. of ethanolic extract. *Biomedicine*, 41(2), 439–442.
- McVary, K. T., Roehrborn, C. G., Avins, A. L., Barry, M. J., Bruskewitz, R. C., Donnell, R. F., Foster, H. E., Gonzalez, C. M., Kaplan, S. A., Penson, D. F., Ulchaker, J. C., & Wei, J. T. (2011). Update on AUA guideline on the management of benign prostatic hyperplasia. *The Journal of urology*, 185(5), 1793–1803.
- Mindjou, S., Brahm, F., Belkhir, W., Adjeroud, N., Benali, L., Boucetta, L., Madani, K., & Boulekache, L. (2021). Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of the Seeds Oil of Two Cucurbita Species From Bejaia (Algeria): Comparative Study. *Phytotherapie*, 1–6.
- Mitsunari, K., Miyata, Y., Matsuo, T., Mukae, Y., Otsubo, A., Harada, J., Kondo, T., Matsuda, T., Ohba, K., & Sakai, H. (2021). Pharmacological Effects and Potential Clinical Usefulness of Polyphenols in Benign Prostatic Hyperplasia. *Molecules*, 26(2), 1–20.
- Mobley, D., Feibus, A., & Baum, N. (2015). Benign Prostatic Hyperplasia and Urinary Symptoms: Evaluation and Treatment. *Postgraduate Medicine*, 127, 301–307.
- Nahata, A., & Dixit, V. (2012). Ameliorative effects of Stinging Nettle (*Urtica dioica*) on testosterone induced prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia*, 44, 396–409.
- National Cancer Institute. 2018. Targeted Cancer Therapies 7-30. "www.cancer.gov. (Accessed 28 March 2018).
- Nilsson, O., Peter, A., Andersson, I., Nilsson, K., Grundstrom, B., & Karlsson, B. (1997). Antigenic determinants of prostate-specific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *British Journal of Cancer*, 75(6), 789–797.
- OCDE. Essai No. 441: Bio-essai de Hershberger sur le rat: Essai de dépistage à court terme de propriétés (anti)androgéniques, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Paris. 2009:1-23.
- Olufeko, S. O., Omojola, A. B., & Ogunwole, O. A. (2020). Effects of cooking on chemical and phytochemical compositions of raw and cooked melon (*Citrullus colocynthis* L) and walnut (*Tetracarpidium conophorum* L) seeds. *Nigerian Journal of Animal Production*, 47(4), 74–82.
- Paul, M., Sohag, M., Khan, A., Barman, R., Wahed, M., & Khan M. (2020). Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seeds protect against formaldehyde-induced major organ damages. *Heliyon*, 6(8), 1-9.
- Sahayi, M., & Shirali, S. (2018). Study of Cucurbita extract effect on changes of AGEs, lipid and glycemic profile and CRP in type II diabetics rats. *Bangladesh Journal of Medical Science*, 17(1), 84–87.
- Schulster, M., Bernie, A. M., & Ramasamy, R. (2016). The role of estradiol in male reproductive function. *Asian Journal of Andrology*, 18(3), 435–440.
- Seo, Y.S., Shin, N.R., Nam, H.H., Song, J.H., Cheol, Moon, B., Choi, G., Shin, I-S., & Kim J. S. (2021). Effects of larval extracts from identified *Protactera brevitarsis* seulesis against benign prostatic hyperplasia induced by testosterone in rats. *Food Science And Nutrition*, 9(10), 5361-5369.
- Singh, A., & Kumar, V. (2023). Phyto-chemical and bioactive compounds of pumpkin seed oil as affected by different extraction methods. *Food Chemistry Advances*, 2, 1–9.
- Sung, H., Felay, J., Siegle, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2021: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249.
- Wahid, S., Alqahtani, A., & Khan, R. A. (2021). Analgesic and anti-inflammatory effects and safety profile of Cucurbita maxima and Cucumis sativus seeds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4334–4341.
- Weber, K. S., Setchell, K. D. R., Stocco, D. M., & Lephart, E. D. (2001). Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5 α -reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats. *The Journal of Endocrinology*, 170(3), 591–599.
- Yan, J., Li, X., & Li Y. (2021). The treatment of benign prostatic hyperplasia. *Prostatic Arterial Embolization: Key Techniques*, 7-11.
- Zingue, S., Maxeiner, S., Rutz, J., Ndinteh, D., Chun, F., Fohouo, F.-N., Njamen, D., & Blaheta, R. (2020). Ethanol-extracted Cameroonian propolis: Antiproliferative effects and potential mechanism of action in prostate cancer. *Andrologia*, 52(9), 1–11.

RESEARCH ARTICLE

Cucumis sativus (Cucurbitaceae) seed oil prevents benzo(a)pyrene-induced prostate cancer in vitro and in vivo

Berlise Yengwa Bakam¹ | Judith Christiane Ngo Pambe² | Timothy Grey³ | Sebastian Maxeiner³ | Jochen Rutz³ | Dieudonne Njamen¹ | Roman A. Blaheta³ | Stéphane Zingue^{4,5} 

¹Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé 1, Yaounde, Cameroon

²Department of Morphological Sciences and Pathological Anatomy, Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Garoua, Garoua, Cameroon

³Department of Urology and Pediatric Urology, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Germany

⁴Department of Urology, University Hospital Frankfurt, Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt am Main, Germany

⁵Department of Pharmacotoxicology and Pharmacokinetics, Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Yaounde 1, Yaounde, Cameroon

Correspondence

Roman A. Blaheta, Department of Urology and Pediatric Urology, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, D-55131 Mainz, Germany.

Email: roman.blaheta@unimedizin-mainz.de

Stéphane Zingue, Basic and Clinical Cancer Research Unit, Department of Pharmacotoxicology and Pharmacokinetics, Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Yaounde 1, P.O. Box 1364 Yaounde, Cameroon.

Email: stephane.zingue@fmsb-uy1.cm

Funding information

Deutscher Akademischer Austauschdienst, Grant/Award Number: PKZ 91745282

Abstract

Despite enormous progress in modern medicine, prostate cancer (PCa) remains a major public health problem due to its high incidence and mortality. Although studies have shown in vitro antitumor effects of cucurbitacins from *Cucumis sativus*, the in vivo anticancer effect of the seed oil as a whole, has yet to be demonstrated. The present study evaluated the in vitro anticancer mechanisms of *C. sativus* (CS) seed oil and its possible chemopreventive potential on benzo(a)pyrene (BaP)-induced PCa in Wistar rat. In vitro cell growth, clone formation, cell death mechanism, cell adhesion and migration as well as expression of integrins β -1 and β -4 were assessed. In vivo PCa was induced in 56 male rats versus 8 normal control rats, randomized in normal (NOR) and negative (BaP) control groups which, received distilled water; the positive control group (Caso) was treated with casodex (13.5 mg/kg BW). One group received the total seed extract at the dose of 500 mg/kg BW; while the remaining three groups were treated with CS seed oil at 42.5, 85, and 170 mg/kg BW. The endpoints were: morphologically (prostate tumor weight and volume), biochemically (total protein, prostate specific antigen (PSA), oxidative stress markers such as MDA, GSH, catalase, and SOD) and histologically. As results, CS seed oil significantly and concentration-dependently reduced the DU145 prostate cancer cell growth and clone formation (optimum = 100 μ g/mL). It slightly increased the number of apoptotic cells and inhibited the migration and invasion of DU145 cells, while it decreased their adhesion to immobilized collagen and fibrinogen. The expression of integrin β -1

Abbreviations: ADT, androgen deprivation therapy; AFP, alpha-fetoprotein; ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; ANOVA, analysis of variance; AR, androgen receptor; BaP, benzo(a)pyrene; BW, body weight; BPH, benign prostatic hyperplasia; Caso, casodex; CC₅₀, cytotoxic concentration which result in a 50% reduction of the number of cells; CNH, Cameroon National Herbarium; COX-2, cyclooxygenase-2; DHT, dihydrotestosterone; DNA, deoxyribonucleic acid; FBS, fetal bovine serum; HRP, Horseradish peroxidase; IGF-1, insulin-like growth factor 1; IMDM, Iscoves modified Dulbecco's medium; MDA, malonaldehyde; MTT, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; NOR, normal; NOS, nitric oxide synthase; PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons; PC, prostate cancer; PIN, prostatic intraepithelial neoplasia; PCA-3, prostate cancer antigen-3; PSA, prostate specific antigen; PI, propidium iodide; ROS, reactive oxygen species; rpm, run per minute; SDS, sodium dodecyl sulfate; SEM, standard error on mean; SOD, superoxide dismutase; TBA, thiobarbituric acid.

Roman A. Blaheta and Stéphane Zingue have contributed equally.

and β -4 was increased in presence of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CS oil. In vivo, the BaP significantly elevated the incidence of PC tumors (75%), the total protein and PSA levels, pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, and IL-6) and MDA levels compared to NOR. CS seeds oil significantly counteracted the effect of BaP by decreasing significantly the PC incidence (12.5%), and increasing the level of antioxidant (SOD, GSH, and catalase) and anti-inflammatory cytokine IL-10 in serum. While in BaP group PCa adenocarcinoma was the most representative neoplasm, rats treated with 85 and 170 mg/kg prevented it in the light of the casodex. It is conclude that CS may provide tumor suppressive effects in vitro and in vivo which makes it an interesting candidate to support the current treatment protocol.

KEYWORDS

anti-inflammatory, antioxidant, benzo(a)pyrene, *Cucumis sativus*, prostate cancer

1 | BACKGROUND

Prostate cancer (PCa) remains a major public health problem due to its high incidence and mortality. It is the first urogenital cancer and the second most common neoplasm in men worldwide, accounting for 13.5% of all cancer diagnoses in men.¹ The underlying mechanisms responsible for its initiation and progression are partially described; however, various environmental and genetic factors such as age, ethnicity, obesity, smoking, diet, inflammatory mediators, oxidative stress, and endogenous hormone are associated with PCa.² Chronic oxidative stress and inflammatory conditions are involved at the early stage of cancer initiation, including PCa. Indeed, under oxidative conditions, pro-oxidants prevail over anti-oxidants, which in turn promote the release of various inflammatory mediators, recognized for their role in cancer etiology.³ Moreover, numerous scientific reports have highlighted the key role of androgens (testosterone and dihydrotestosterone (DHT)) and their receptors (AR, androgen receptor) in the pathogenesis of PCa. In its active form (DHT), the testosterone regulates the prostate growth via AR binding. When this pathway is either up-regulated or disrupted, it can lead to abnormal activation of the receptors and production of oncogenes causing cancer.^{4,5}

The recurrent symptoms linked to PCa are lower urinary tract symptoms including but not limited to weak stream, hesitancy, urgency, frequency, nocturia, straining, intermittency, incomplete emptying and various degrees of incontinence that affect considerably patient's live quality.⁶ Several treatments directed against sensitive PC have been developed these last decades; essentially, surgery (prostatectomy) for the localized disease, active monitoring and radiotherapy. Unfortunately, many drawbacks have been reported, for example (i) prostatectomy increases the risk of bleeding, urinary symptoms and erectile dysfunction; (ii) radiation is associated with urinary difficulties and pelvic pain.⁷ Chemotherapy and androgen deprivation therapy (ADT) are used for metastatic PC; however, their long-term use can led to bone mineral density loss, sexual dysfunction, hot flushes, cardiac morbidity, thromboembolic

risks, cognitive dysfunction, impotence with decreased libido.⁸ Furthermore, the appearance of drug resistances 3–5 years after the beginning of treatment, make many treatments inefficient. At this stage, sensitive PC generally progress to non-sensitive one, for which no treatment is available.⁹ The search and development for the new therapeutic strategies is a current need and plants continue to offer interesting alternatives.

There is a growing interest of natural substances worldwide, which has been previously abandoned in favor of synthetic alternatives in the pharmaceutical industry. Indeed, chemoprevention is a method of prophylaxis which consists of using substances of natural origin to prevent diseases. Natural substances can also be useful for cancer treatment due to their ability to modulate mitogenic signals, cell cycles, cell survival, apoptosis, angiogenesis, and metastasis.^{10–12} They are from plant, animal or microbial origin and have been crucial to the development of new drugs, most of them being the precursors for new semi-synthetic derivatives.^{13,14} Prominent examples include the anticancer drug known as taxol which is a vinca alkaloid. With more than 450 000 species of evolved plants, only a tiny percentage has been investigated chemically, and the number of plants submitted to biological tests is even smaller. Among these, Pumpkins seeds are well known to have many virtues and its biological and pharmacological properties.

The pumpkins are functional food, for which, many works have been done. Thus, those of unexplored region therefore attract numerous scientists. In our continuous search of a potent and safe natural drug to fight cancer, we are interested to a much-consumed pumpkin seed in Cameroon *Cucumis sativus*. In fact, *C. sativus* species belong to cucurbitaceae family which has approximately 130 genera and 800 species including squash, gourds, melons and pumpkin.¹⁵ This specie is greatly appreciated and consumed by men of the West region of Cameroon to prevent begin and malign prostate diseases. Works in the literature describe the in vitro and in vivo anticancer potential of pumpkin seeds and their isolates, but to the best of our knowledge, no study have been performed with *C. sativus* on PCa.^{16,17} Based on these prerequisites, this study was undertaken to

evaluate the anti-prostate cancer effect of the *C. sativus* seeds oil on PCa cells and its ability to protect against prostate cancer induced by benzo(a)pyrene in Wistar rats.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Substances

The necessary for cell culture: fetal bovine serum (FBS), glutamax, penicillin and streptomycin were purchased from Gibco/Invitrogen (Karlsruhe, Germany). The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) dye reduction assay kit was from Roche Diagnostics (Penzberg, Germany); The Annexin V-FITC Apoptosis detection kit was purchased from BD Pharmingen (Heidelberg, Germany). The standard drug, bilucamide (Cadodex®) was obtained from Pierre Fabre (Boulogne, France). The carcinogen benzo(a)pyrene and enanthate testosterone (Androtardyl®) were purchased from Bayer Pharma AG® (Berlin, Germany). The prostatic specific antigen (PSA) ELISA kit was obtained from Cusabio Biotech Co. Ltd (Newark, Delaware, USA). The kits for colorimetric analysis of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), urea, creatinine and total protein were obtained from Pol. Ind. Can Castell (Canovelles Barcelona, Spain).

2.2 | Plant collection and extraction of *C. sativus* seed oil

CS seeds were harvested in Bafang (West Region, Cameroon) and authenticated by comparison with a botanical sample deposited at the Cameroon National Herbarium (CNH) under the voucher N°42 457/CNH.

They were dried in the shade, shelled and the seed oil was extracted using an oil machine model YD-ZY-OIC purchased from the Retail Performance Company GmbH (Paris, France). For this, 500 g of CS seeds were passed through the machine at low temperature to preserve all their nutritional properties. This process yielded 168.65 g of oil (33.73%) so called in this study CS-Oil.

Alternatively, 5 g of dried seeds were crushed using an electronic grinder and the obtained powder was diluted in 25 mL of distilled water.

2.3 | In vitro experiments

2.3.1 | Cell line and cell culture

The DU145 human prostate carcinoma cells (non-sensitive to androgens) were acquired from American Type Culture Collection (ATCC)/LGC Promochem (Wesel, Germany) and were routinely cultured in Iscoves Modified Dulbecco's Medium (IMDM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) supplemented with penicillin 100 U/mL

and streptomycin 100 µg/mL. Cells were passage every 2 days and the number of viable cells was assessed before each experiment by the Trypan blue method.

2.3.2 | MTT cell viability assay

For measuring cell growth, the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) dye reduction assay was used. A density of 5000 cells/mL was seeded onto 96-well plates. Thereafter *C. sativus* seed extract and oil were tested at the concentrations from 12.5 to 100 µg/mL, while control cells were exposed to the vehicle (DMSO, 0.01%). After 24, 48, and 72 h, MTT (0.5 mg/mL) was added and incubated for 4 h, afterward the deposit was dissolved using a detergent solution [consisting to 10% sodium dodecyl sulfate (SDS) plus 0.01 M of HCl]. The plates were incubated overnight at 37°C, 5% CO₂ and the absorbance were measured at 570 nm using an ELISA reader (TECAN®, Crailsheim, Germany). Results were expressed as mean cell number after deducting background absorbance.

2.3.3 | Clonogenic assay

Around 500 DU145 cells/well were seeded onto 6-well plates and treated as above mentioned for 24 h. Then, the cell medium was replaced with the IMDM free of treatment and cells were cultured for seven additional days. Only colonies >50 cells were counted.

2.3.4 | Mechanisms cell death

For measuring apoptosis, the cells were incubated with CS seed oil for 24 h; then they were washed twice with PBS and incubated with 5 µL of Annexin V-FITC and 5 µL of PI in the dark for 15 min at room temperature. Cells were then analyzed by flow cytometry using FACS caliber (BD Biosciences, Heidelberg, Germany) and the number of apoptotic, or necrotic or viable cells were expressed in percentages (%).

2.3.5 | Wound-healing assay

To assess the potential of *C. sativus* seed oil to inhibit cell migration, the DU145 cells were seeded on 12-well plates at a density of 2×10^5 cells/well and incubated for 24 h with the oil at concentrations of 50 and 100 µg/mL, while control cells were exposed to vehicle (DMSO, 0.01%). Afterward, medium was removed and a scratch wound was created using a pipette tip (100 µL) and then washed twice with PBS to remove cells mechanically detached. The cells were further maintained in IMDM medium for 24 h. The variation in recovery of the wounded area by migrating cells was recorded under a fluorescent microscope (40×) Zeiss Axio Observer.Z1 (Hallbermoos,

Germany). Microphotographs were made every 12 h and area of wound healing was evaluated by ImageJ[®] software.

2.3.6 | Cell adhesion to extracellular matrix

The 6-well plates were coated overnight with extracellular matrix components (collagen or fibronectin from Amsterdam). The cells were incubated with CS seed oil (same concentration described above) for 24 h. To prevent non-specific cell adhesions, the plates were washed with 1% bovine serum albumin (BSA) in PBS. Then, prostate tumor cells were added at a density of 0.5×10^6 to each well for 60 min. Adherent cells were fixed with 2% glutaraldehyde and counted in five different fields using a microscope (20 × objective) to calculate the average cell adhesion rate.

2.3.7 | Chemotaxis assay

To evaluate chemotaxis, the 6-well transwell chambers with 8 μm pores from Greiner (Frickenhausen, Germany) were filled with 500 000 cells DU145 cells for 24 h in serum-free medium, while the lower chamber contained IMDM medium plus 10% FBS. After incubation, the upper surface of the transwell membrane was gently cleaned with a cotton swab to remove non-migrating cells and fixed with 2% glutaraldehyde. Cells migrated to the lower surface of the membrane were stained with hematoxylin and counted separately under the microscope (20 × objective).

2.3.8 | Expression of integrin β-1 and β-4 assay

The integrins β-1 and β-4 expression was measured in DU145 cells by incubating them with *S. sativus* seed oil for 24 h. The integrins anti-β1 (IgG1; clone MAR4) and anti-β4 (IgG2b; clone 439-9B) expression was measured using a FACScan (BD Biosciences, Heidelberg; FL-2H (log) channel histogram analysis; 1×10^4 cells/scan) and expressed as mean fluorescence units. Mice IgG1-PE (MOPC-21) and rat IgG2b-PE (R35-38) were used as isotype controls for integrin-β1 and integrin-β4, respectively. All the antibodies used in this experiment were from BD Pharmingen (Heidelberg, Germany).

2.4 | In vivo experiment

2.4.1 | Animals

Male Wistar rats weighing 100 g and aged ~1.5 months were obtained from the animal house of the Laboratory of Animal Physiology (University of Yaounde I, Cameroon). Animals were kept in the plastic cages and maintained in ambient temperature and humidity with a dark-light cycle of 12 h. The animals had free access to water and standard soy-free food consisting of: corn (36.5%), bone flour

(14.6%), wheat (36.5%), fish flour (4.9%), crushed palm kernel (7.3%), sodium chloride (0.3%), and vitamin complex (Olivitazol[®] 0.02%).

2.4.2 | BaP induced prostate cancer in rat

After acclimatization, 56 rats were divided into 7 groups of 8 rats each randomized as follows: Group I, normal rats receiving the vehicle (corn oil). PCa was induced in all the groups except group I by a co-administration of benzo(a)pyrene and testosterone following the modified protocol of McCormick.¹⁸ Rats were injected consecutively with cyproterone acetate (20 mg/kg) for 5 days, then testosterone propionate (100 mg/kg) for 3 days and finally, a single intra-prostatic injection of benzo(a)pyrene (50 mg/kg BW). To promote the effect of BaP, testosterone (10 mg/kg) was weekly injected until the end of the experiment. The following groups were formed from the BaP-exposed rats: the Group II serving as the negative control rats, receiving corn oil, only; Group III, serving as positive control rats was treated with Casodex (13.5 mg/kg BW), which is a reference drug for treatment of advanced localized and metastatic human PCa. The groups IV, V, and VI were treated with *C. sativus* seeds oil at the doses of 42.5, 85, and 170 mg/kg; the group VII was treated with the crude extract of the seeds at the dose of 500 mg/kg BW. Treatment started 1 week before the induction of PCa and lasted 32 weeks, during what animals were weighed and palpated weekly.

At the end of treatments, rats were sacrificed by decapitation under light anesthesia with diazepam (10 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg). Blood was immediately collected in dry tubes and centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The collected supernatants were stored at -20°C for biochemical analyses. The ventral prostates were removed, weighed and a part was immediately fixed in 10% formalin for histological analysis. The other part was weighed and ground with the Teflon-glass potter on ice in sodium phosphate buffer (0.1 M; pH 7.5) to obtain a final 20% homogenate. After centrifugation at 3000 rpm for 15 min at 4°C, the collected supernatant was stored at -20°C for the determination of total protein in the prostate. The prostate wet weight was calculated as the prostate weight/body weight ratio as described by Nahata.¹⁹ The size of the prostate was measured using a 1 mm precision sliding caliper (IGAGING[®]) and prostate volume was calculated using the formula of Rahul²⁰: volume = length × weight × height × π/6. The percentage (%) of tumor incidence in each group was obtained by using the formula: % tumor incidence = (number of apparent prostate tumor/number of rats) × 100.

2.5 | Measurement of some biochemical parameters

2.5.1 | Total protein level

The total protein level in prostate was evaluated by the method of Bradford.²¹ Normally, in an acidic environment, the hydrophobic

amino acid residues of the proteins react with Coomassie Blue G250. This reaction leads to a blue complex which absorbs at 595 nm. The intensity of the coloration is proportional to the total of protein residues in the solution.

2.5.2 | Assessment of oxidative stress status

Malondialdehyde (MDA) is used as an indicator of tissue damage by free radicals; it was measured in this study thank to the protocol of Wilbur.²² In fact, carbonyl compounds like MDA from the decomposition of fatty acid hydroperoxides react with thiobarbituric acid (TBA) in an acidic and warm environment to give pink chromophores, which absorbs at 532 nm. The intensity of the coloration is proportional to level MDA in the solution.

The evaluation of the catalase activity was performed according to the protocol of Sinha.²³ This method is based on the hydrolysis of hydrogen peroxide into water and oxygen from the action of catalase present in homogenate tissue. The hydrogen peroxide (H_2O_2) remaining after the action of catalase, reduces hot potassium dichromate in the presence of acetic acid in chromium acetate of green color, which absorbs at 620 nm.

The superoxide dismutase (SOD) activity was measured following to the method of Misra and Fridovich.²⁴ The method is based on the inhibition of the oxidation of adrenaline to adrenochrome by the SOD present in the sample. The variation of the absorbance, which is proportional to the activity of SOD, was recorded every 30 s for 150 s at an absorbance of 480 nm.

The reduced glutathione (GSH) level was estimated by the colorimetric method of Ellman,²⁵ on which the thiol group present in samples react with the disulfide bridge contained in the Ellman reagent (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) to give a yellow aromatic thiol derivative of TNB (5-thiol-2-nitrobenzoic acid), which absorbs at 412 nm. The rate of TNB production is proportional to the level of GSH present in the sample.

2.5.3 | Measurement of IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α

The aforementioned cytokines were measured by the quantitative sandwich ELISA technique. The specific antibodies directed against IL-1 β /IL-6/IL-10/TNF α antigens have been pre-coated onto a 96-well microplate. Standards and samples were therefore pipetted into the wells and any IL-1 β /IL-6/IL-10/TNF α present bound specifically to the correspondent antibody. After subtracting unspecific bound, a biotin-conjugated antibody specific for IL-1 β / IL-6/IL-10/TNF α was added to the wells. After washing, avidin conjugated Horseradish Peroxidase (HRP) was added to the wells. Following an ultimate wash to remove any unbound avidin-enzyme reagent, a substrate solution has been added the colors, which are proportional to the amount of IL-1 β /IL-6/TNF α present in samples were reads by a multi-reader ELISA (Wiesbaden, Germany).

2.5.4 | Measurement of prostate specific antigen-PSA level

The level of PSA, the main biomarker of prostate disease, was measured in this work by a non-competitive solid phase sandwich ELISA method described by Nilsson.²⁶ Calibrators, controls and samples were incubated together with a biotinylated anti-PSA monoclonal antibody and a horseradish peroxidase (HRP)-labeled anti-PSA monoclonal antibody in streptavidin-coated microtiter strips. Color intensity was determined at 620 nm using a multi-reader ELISA.

2.5.5 | Transaminase activity, urea, and creatinine levels

The effects of benzo(a)pyrene and/or *C. sativus* seeds on liver and kidney function were evaluated by measuring the alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities, and urea and creatinine levels in the serum of rats using colorimetric kits purchased from Bio-diagnostic Co. (Giza, Egypt) according to the manufacturer's instructions.

2.6 | Statistical analysis

All the results were expressed as mean \pm standard error on the mean. Means were compared by analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnet's posttest using Sigma plot software version 11.00. In vitro the experiments were performed in triplicate from at least three independent experiments. The difference was considered significant at $p < .05$.

3 | RESULTS

3.1 | Cell growth and cell colony formation

3.1.1 | Cell growth

The effects of CS seed oil and crude extract are depicted in Figure 1A. The oil significantly and concentration-dependently reduced the DU145 cells, with a maximum effect observed at the concentration 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p < .05$). The crude extract induced such effect at the concentration of 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.1.2 | Cell colony formation

The Figure 1C reveals the capability of CS seed oil to inhibit the formation of DU145 cells, which is in the concentration-dependent fashion ($p < 0.01$ at 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and $p < .001$ at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). This effect was however far from that induced by the standard docetaxel ($p < .001$ at 1 μM).

The photomicrographs illustrated in Figure 1D show the average size of one clone obtained in one assay out of the three independent

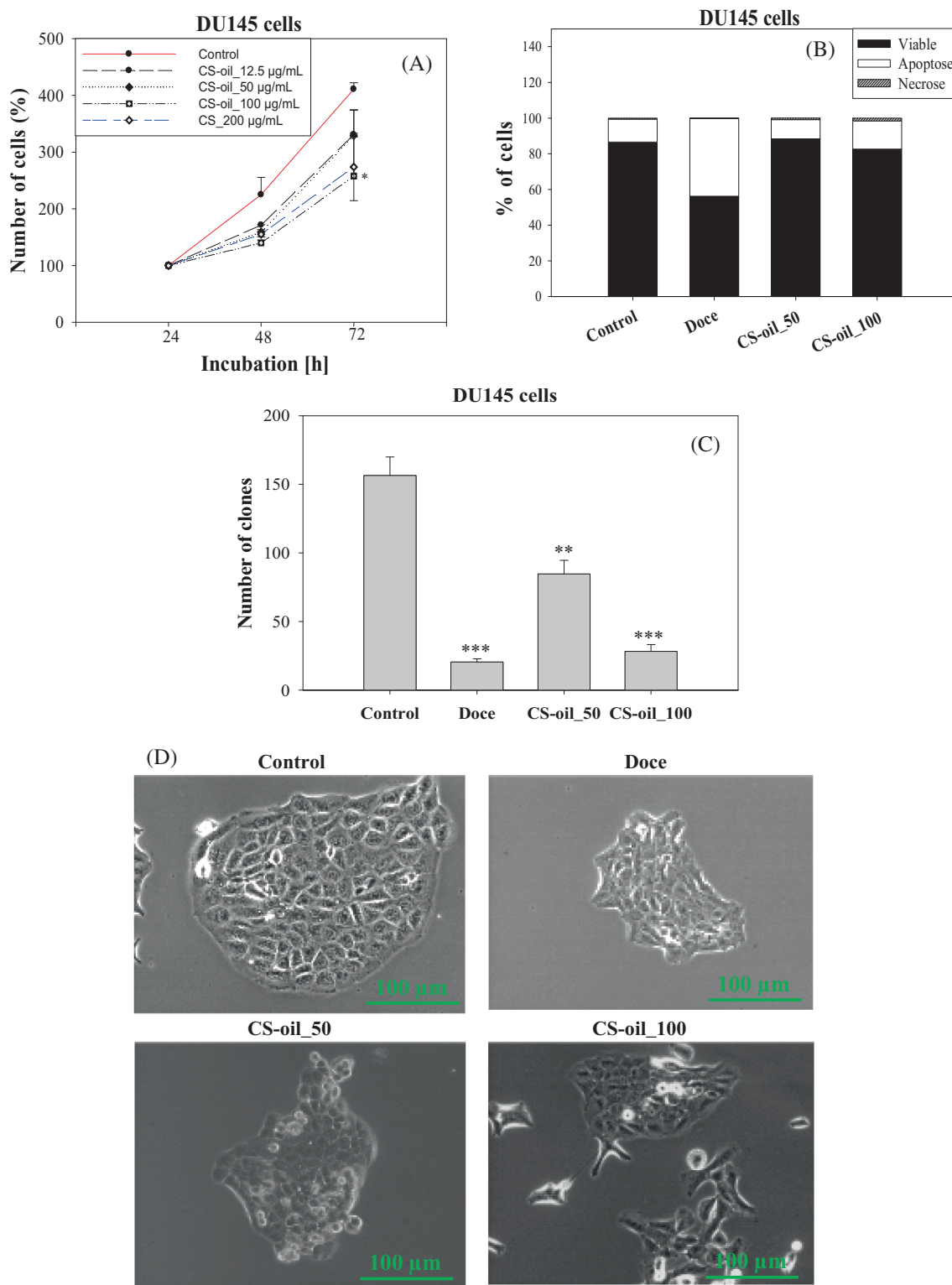


FIGURE 1 Growth of DU145 prostate carcinoma cells (A); apoptosis measurement by annexin V-FITC/PI staining in DU145 (B) and DU145 cell colony formation (C, D) in the presence or absence (control) of *C. sativus* oil (50 and 100 $\mu\text{g/mL}$). For apoptosis, the graphs show the percentage of cells in each phase for three independent experiments. Control = non-treated control cells of the same passage and cell numbers per well; Doce = positive control cells, treated with docetaxel at 1 μM ; CS-oil_50 and CS-oil_100 = cells treated with the *C. sativus* seeds oil at 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$; * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$: significant difference against the untreated cells (control).

assays performed. It can be observed that oil in the light of docetaxel, reduced the number as well as the size of the clones compared to that of untreated cells (Figure 1D).

3.2 | Cell death mechanism

The 24 h incubation of cells with CS oil led to a slight increase in the population of apoptotic cells compared to control but this is far lower than that induced by docetaxel (Figure 1B).

3.3 | Anti-migration/invasion effect

3.3.1 | Results of the wound-healing assay

Figure 2A, B show that CS seed oil inhibit the progression of DU145 cell into the zone freed of cells after the 12 and 24 h in the concentration-dependent manner. Effect was similar for the both 50 and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration after 12 h ($p < .05$), but after 24 h only the higher concentration exhibited significance ($p < .01$). This effect was lower than that induced by the docetaxel ($p < .001$ after 24 h).

3.3.2 | Cell adhesion to extracellular matrix components

The Figure 2C shows that CS decrease the DU145 cells adhesion for both collagen and fibrinogen extracellular matrix as compared to control cells; while docetaxel (1 μM) increased it.

3.3.3 | Chemotaxis

Figure 3A, B depicts that just like the docetaxel ($p < .001$), the number of DU145 cells invaded through the membrane of the insert, was significantly reduced ($p < .05$ at 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and $p < .01$ at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) after 24 h incubation with *C. sativum* seed oil.

3.3.4 | Expression of integrins β -1 and β -4

Figure 3C shows that *C. sativum* seed oil increases the expression of integrin β -1 ($p < .01$) at 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration and integrin β -4 at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p < .01$).

3.4 | Effects of *C. sativum* on benzo(a)pyrene-induced PC in rats

3.4.1 | Effect on body weight

The statistical analysis of body weight progression of rats throughout the 30 weeks of experimentation shows no significant variation

between the normal (NOR) and negative (BaP) control groups, except for week 17 ($p < .01$); and 18 ($p < .05$) (Figure 4A). As far as CS oil is concerned, a significant reduction in body weight was observed at week 8 ($p < .01$) with the entire tested dose and at week 13, only with the dose of 170 mg/kg compared to rats of the negative control (BaP).

3.4.2 | Effects on prostatic parameters

The Figure 4C, D and Table 1 depict the effects of CS seed on prostate in BaP-induced PCa in rats.

The tumor incidence was 75% in negative control group (BaP) as compared to normal rats (0%) (Table 1). CS seed oils had a tumor's incidence of 62.5%; 37.5%, and 12.5% for the doses of 42.5, 85, and 170 mg/kg BW, respectively. The rats treated with the crude extract at the dose of 500 mg/kg showed a tumor incidence of 37.5% (Table 1).

The relative prostate wet weight ($p < .01$), the prostate volume as well as the total protein level ($p < .01$) in the prostate were significantly increase in negative control group (BaP) compared to normal group (NOR). The standard, casodex as well as *C. sativum* seeds (oils and crude extract) showed a significant (from $p < .05$ to $p < .01$) decrease of these parameters compared to BaP group (Figure 4 and Table 1).

3.4.3 | Effect on PSA level

As demonstrated in the Table 1, the PSA level was significantly ($p < .05$) increase in BaP group as compared to normal control group (NOR). CS seed oil counteracted the effect of BaP by reducing the PSA level. However, the statistical significance was observed only at the dose of 170 mg/kg BW ($p < .05$) compared to BaP group.

3.4.4 | Effects on oxidative stress status in prostate

The rat of the BaP group had a significant decrease in the SOD ($p < .01$) and catalase ($p < .001$) activities, as well as in GSH level ($p < .001$) compared to normal control group (NOR). Only the 170 mg/kg dose of *C. sativum* seed oil just like the casodex, significantly increase of GSH level compared to the BaP group (Table 2).

A significant increase in the Na_2NO_2 and MDA level was observed in rats exposed to BaP only compared to normal rats (NOR). *C. sativum* (oil and seeds) such as casodex protected the prostate of rats against the lipid peroxidation, evidenced by a significant decrease at all tested dose of these parameters compared to rats of BaP group (Table 2).

3.4.5 | Effects on some inflammatory cytokines

BaP exposition induced a significant ($p < .001$) increase in the levels of $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, and IL-6 in BaP group compared to the normal group (NOR) (Table 3). CS seed oil and crude extract, induced a significant

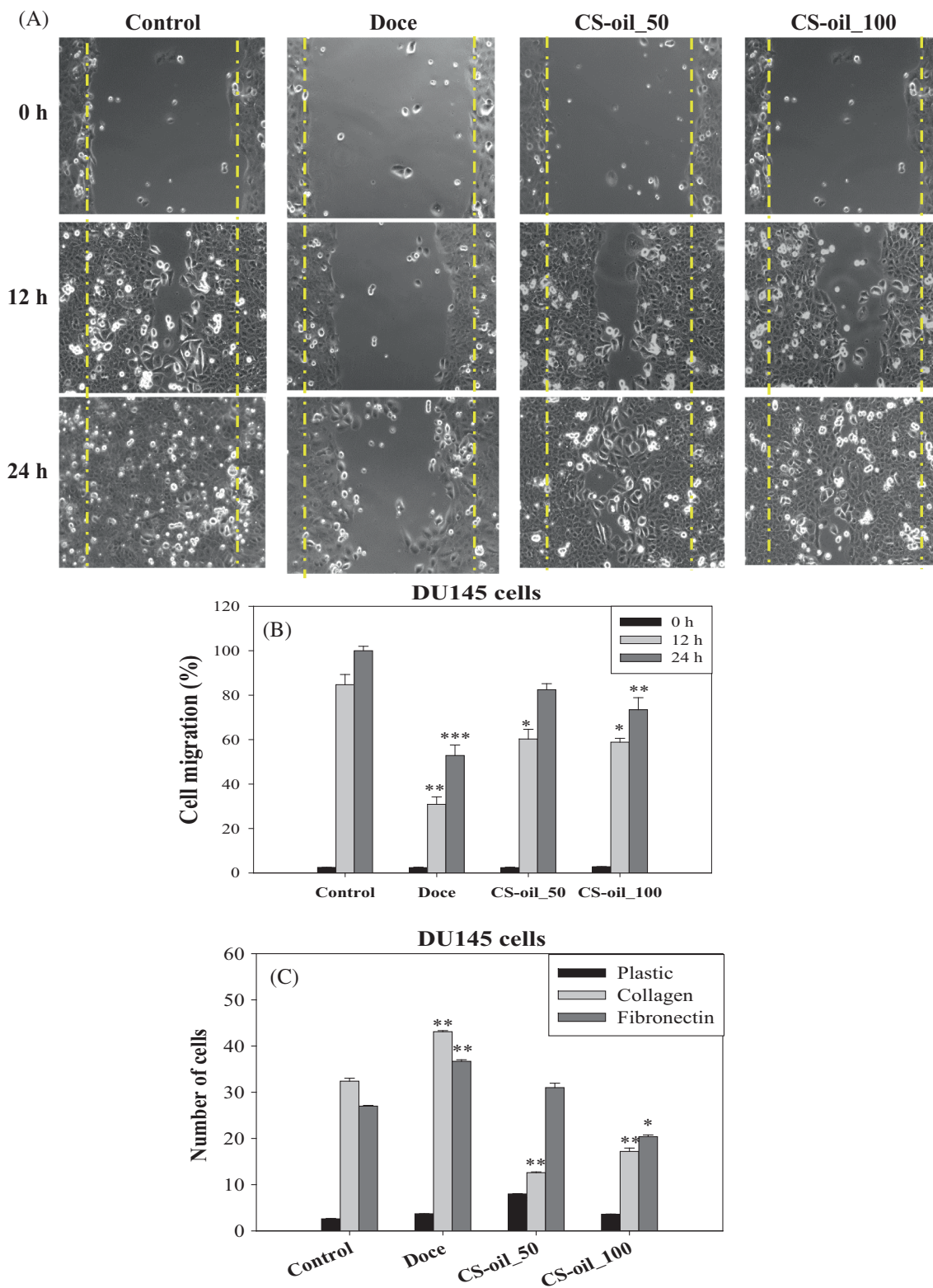
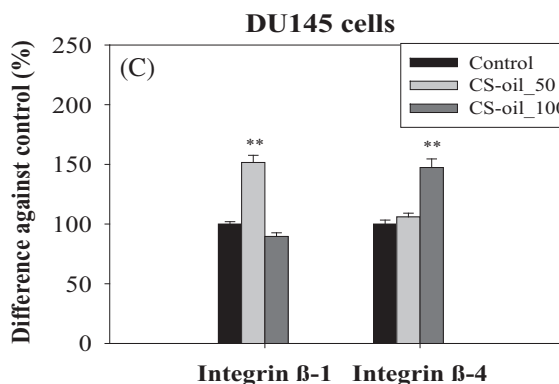
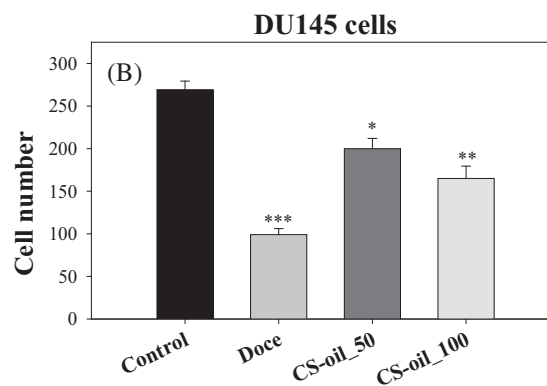
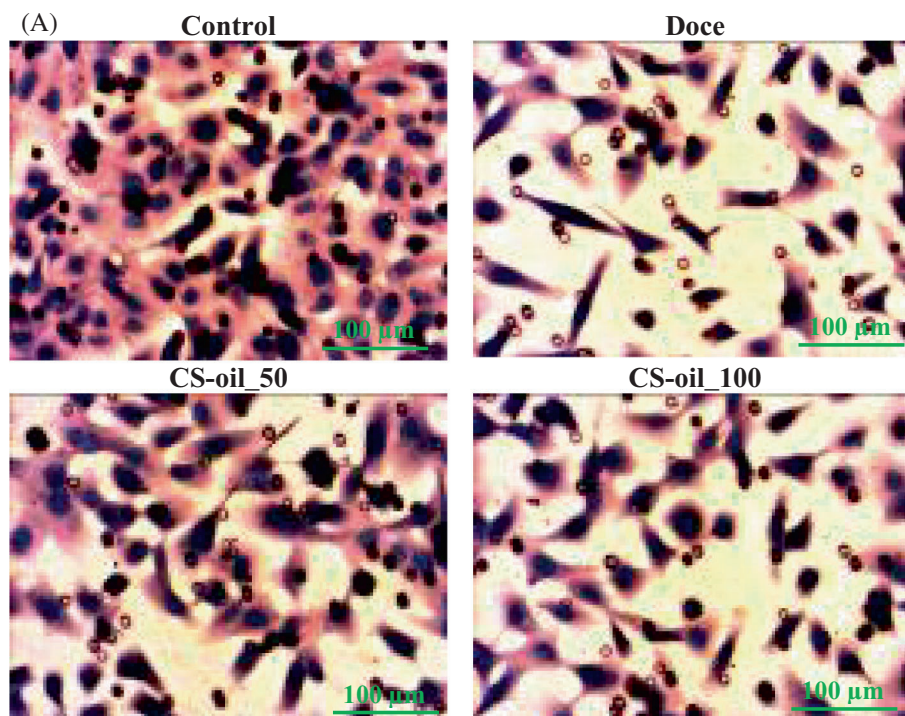


FIGURE 2 Effects of *C. sativus* on DU145 cells migration (A) and adhesive behavior of DU145 cells (B) after 24 h of treatment. For migration assay, microphotographs of one assay and graphic representation of three independent wound-healing assays were shown. For adhesion assay, the plates were coated with collagen or fibronectin overnight. Control = non-treated control cells of the same passage and cell numbers per well; Doce = positive control cells, treated with docetaxel at 1 μ M; CS-Oil 50 and 100 = cells treated with the *C. sativus* seeds oil at 50 and 100 μ g/mL; * p < .05; ** p < .01; *** p < .001: significant difference against the untreated cells (control).

FIGURE 3 Effects of *C. sativus* on DU145 cells invasion (A) and expression of integrin β -1 and β -4 in DU145 cells (B) after 24 h of treatment. For invasion assay, microphotographs of one assay and graphic representation of three independent assays were shown. Control = non-treated control cells of the same passage and cell numbers per well; Doce = positive control cells, treated with docetaxel at 1 μ M; CS-Oil 50 and 100 = cells treated with the *C. sativus* seeds oil at 50 and 100 μ g/mL; * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$: significant difference against the untreated cells (control).



reduction of these parameters at 85 mg/kg ($p < .01$) and 170 mg/kg ($p < .01$ and $p < .001$) compared to the BaP group. The dose of 42.5 mg/kg failed to do so, while crude extract reached the $p < .001$ significance for the above parameters.

Moreover, it was rather observed a significantly decrease of IL-10 level in cancer BaP animal compared to normal group (NOR). Rats treated with *C. sativus* seed oil and crude extract showed a significant ($p < .05$ at 85 mg/kg and $p < .001$ at 170 mg/kg for oil and $p < .01$ at

500 mg/kg for crude extract) increase of prostate IL-10 level compared to BaP group (Table 3).

3.4.6 | Histopathology of prostate

Hematoxylin and eosin staining was used to investigate the changes induced by BaP in prostate glands (Figure 5). Photomicrographs

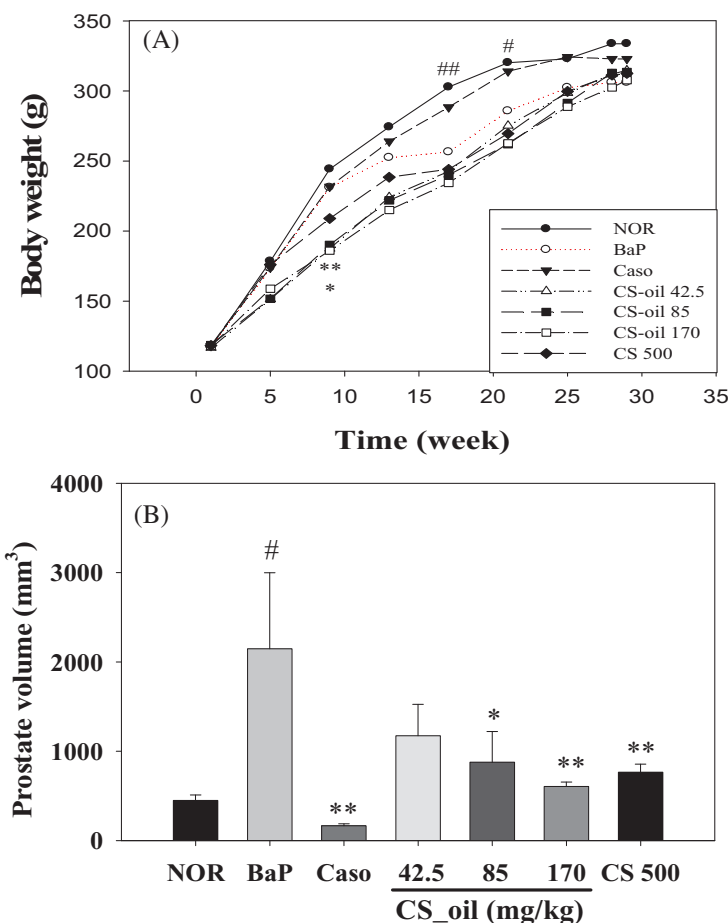
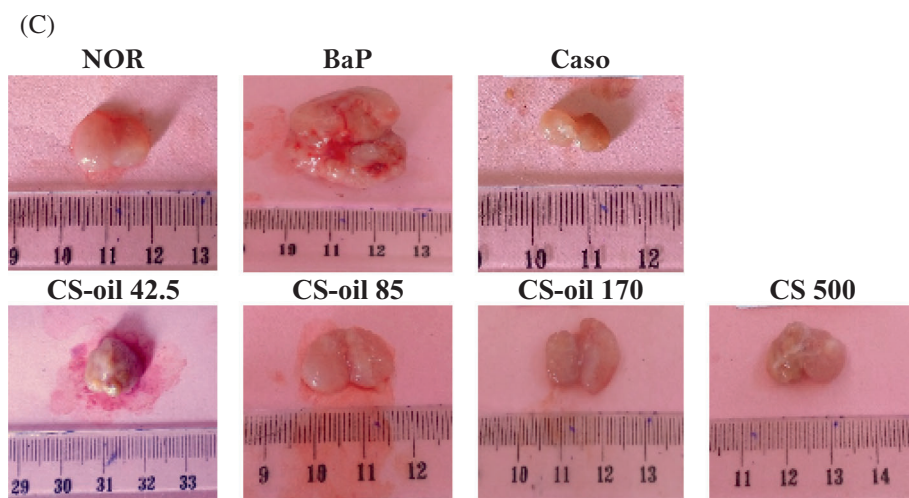


FIGURE 4 Effects of *C. sativus* on Body weight (A), prostate volumes (B), and prostate photographs (C) in rats exposed to BaP and treated for 32 weeks. Each point represents mean \pm SEM ($n = 8$). NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-Oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85 and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. # $p < .05$; ## $p < .01$: significant difference against the normal group (NOR); * $p < .05$; ** $p < .01$: significant difference against the negative control group (BaP).



(40 \times) revealed a Gleason 8 (4 + 4) adenocarcinoma with perineuronal sheathing characterized by altered cellular architecture, with cellular hypertrophy and dysplasia in the negative control group (BaP). The prostate sections from the normal and positive groups showed normal prostate architecture with well identified acini. Administration of *C. sativus* seed oil at the low dose (CS-oil 42.5) showed a florid glandular hyperplasia associated with low grade papillary adenocarcinoma. The highest doses (85 and 170 mg/kg BW) dose protected rats against BaP-induced cancer, evidenced by a papillary proliferative glandular hyperplasia of stromal cells. However, the dose of 170 mg/kg also presented a florid

glandular hyperplasia with different cell sizes and thickened capsules.

Rats treated with *C. sativus* seeds crude extract (CS 500) showed a proliferative glandular neoplasia (Figure 5).

3.5 | Assessment of the side effect on liver and kidney function

The effects of different treatments on the transaminase (AST and ALT) activities, as well as creatinine and urea levels are shown in Table 4. BaP

TABLE 1 Effect of *C. sativus* on prostate function.

Groups	Tumor incidence (%)	Prostate wet weight (mg/kg BW)	Protein level in prostate (mg/mL)	PSA level (mg/mL)
NOR	0	1402.9 ± 111.4	39.4 ± 3.1	1.20 ± 0.18
BaP	75	28738.0 ± 12710.4 ^{##}	81.1 ± 15.8 ^{##}	2.10 ± 0.11 [#]
Caso	0	544.6 ± 62.8 ^{**}	30.6 ± 7.0 ^{**}	1.34 ± 0.11
CS-oil 42.5	62.5	10064.6 ± 5390.2	55.3 ± 6.7	1.88 ± 0.19
CS-oil 85	37.5	7814.8 ± 4394.6 [*]	49.9 ± 5.6 [*]	1.34 ± 0.31
CS-oil 170	12.5	1820.2 ± 137.0 ^{**}	46.1 ± 8.4 [*]	1.11 ± 0.24 [*]
CS 500	37.5	2555.6 ± 379.6 ^{**}	39.9 ± 4.4 ^{**}	1.52 ± 0.30

Note: Each value represents the mean ± SEM, (n = 8). NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85 and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. [#]*p* < .05; ^{##}*p* < .01: significant difference against the normal group (NOR); ^{*}*p* < .05; ^{**}*p* < .01: significant difference against the negative control group (BaP).

TABLE 2 Effect of *C. sativus* on oxidative status.

Groups	Nitrite level	MDA	Catalase activity	SOD activity	GSH level
NOR	0.80 ± 0.16	10.0 ± 1.2	735.9 ± 94.6	4200.6 ± 701.5	78.3 ± 8.4
BaP	2.59 ± 0.47 ^{##}	48.9 ± 3.3 ^{###}	275.3 ± 62.6 ^{###}	1980.2 ± 314.4 ^{##}	35.1 ± 7.1 ^{###}
Caso	0.81 ± 0.15 ^{**}	35.8 ± 7.1 [*]	597.9 ± 109.8 [*]	2972.5 ± 549.2	51.5 ± 5.9
CS-oil 42.5	0.59 ± 0.18 ^{***}	15.0 ± 1.1 ^{***}	305.9 ± 54.8	2071.2 ± 273.2	28.8 ± 5.9
CS-oil 85	1.17 ± 0.36 [*]	13.4 ± 1.5 ^{***}	420.8 ± 76.3	2220.1 ± 186.9	42.9 ± 6.2
CS-oil 170	0.84 ± 0.60 ^{**}	21.3 ± 3.2 ^{***}	405.7 ± 47.5	2434.4 ± 454.2	61.6 ± 7.9 [*]
CS 500	0.83 ± 0.24 ^{**}	21.3 ± 2.7 ^{***}	556.3 ± 63.0 [*]	2786.5 ± 526.7	51.1 ± 5.5

Note: Each value represents the mean ± SEM, (n = 8). The biochemical parameters presented in this table were expressed as follows: nitrite concentration in μmol/g of protein; MDA level in μmol/g of protein; catalase activity in mM of H₂O₂/min/g of protein; SOD activity in SOD units/g of protein and GSH level in μmol/g of protein. NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85, and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. ^{##}*p* < .01; ^{###}*p* < .001: significant difference against the normal group (NOR); ^{*}*p* < .05; ^{**}*p* < .01; ^{***}*p* < .001: significant difference against the negative control group (BaP).

TABLE 3 Effect of *C. sativus* on some inflammatory cytokines.

Groups	IL-1β (pg/ml)	TNFα (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
NOR	683.3 ± 24.5	158.8 ± 5.0	6.28 ± 0.11	104.1 ± 2.1
BaP	995.3 ± 31.2 ^{###}	217.2 ± 6.7 ^{###}	7.24 ± 0.10 ^{###}	91.6 ± 1.9 ^{###}
Caso	754.4 ± 18.19 ^{***}	160.3 ± 6.4 ^{***}	6.17 ± 0.15 ^{***}	108.5 ± 1.4 ^{***}
CS-oil 42.5	937.4 ± 20.27	220.0 ± 7.4	7.28 ± 0.22	87.3 ± 1.8
CS-oil 85	876.6 ± 30.0 ^{**}	180.6 ± 9.4 ^{**}	6.64 ± 0.11 ^{**}	101.3 ± 2.9 [*]
CS-oil 170	871.9 ± 14.1 ^{**}	155.5 ± 3.6 ^{***}	6.17 ± 0.08 ^{***}	107.8 ± 1.4 ^{***}
CS 500	671.9 ± 28.7 ^{***}	156.8 ± 7.6 ^{***}	6.24 ± 0.09 ^{***}	103.8 ± 2.9 ^{**}

Note: Each value represents the mean ± SEM, (n = 8). NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85, and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. ^{###}*p* < 0.001: significant difference against the normal group (NOR); ^{*}*p* < .05, ^{**}*p* < 0.01, ^{***}*p* < 0.001: significant difference against the negative control group (BaP).

have induced a significant increase in AST and ALT activities, and creatinine level in the BaP control group compared to the normal control group (NOR). Treatment with *C. sativus* seed oil and crude extract protected against the deleterious effects of BaP on liver by a significant

reduction of the AST and ALT activities at all tested dose as compared to animals of the negative control group (BaP). However, this extract failed to protect rats against the BaP-induced the increase in the creatinine level. No change has been observed in the urea level (Table 4).

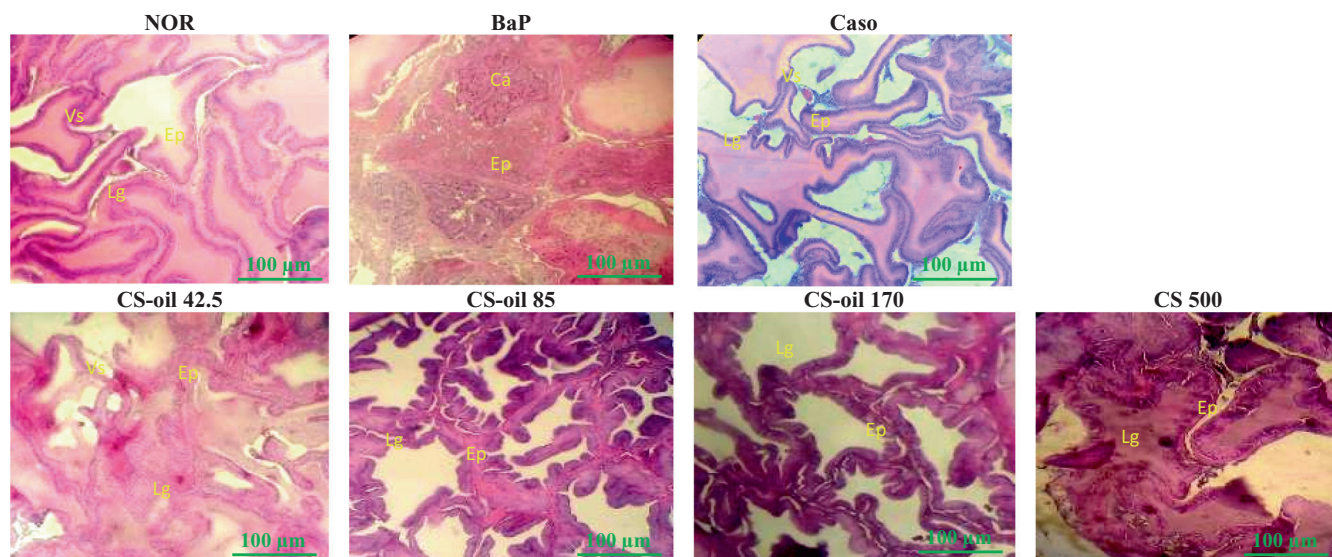


FIGURE 5 Effect of *C. sativus* seed oil on histopathology changes in prostate: 40× prostate section. NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-Oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85, and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. Ep = Epithelium of prostate cells; Vs, red blood cells; Lg, stroma of cells; Ca, carcinoma.

Groups	AST (UI)	ALT (UI)	Creatinine (mg/dL)	Urea (mg/dL)
NOR	8.29 ± 0.25	13.75 ± 0.99	0.33 ± 0.00	0.25 ± 0.00
BaP	11.96 ± 0.96 ^{###}	22.15 ± 0.49 ^{###}	0.43 ± 0.01 ^{###}	0.26 ± 0.00
Caso	8.92 ± 0.53	13.73 ± 0.52 ^{**}	0.32 ± 0.00	0.24 ± 0.00
CS-oil 42.5	7.03 ± 0.52 ^{***}	16.47 ± 1.99 [*]	0.31 ± 0.01	0.25 ± 0.00
CS-oil 85	8.27 ± 0.84 ^{**}	14.72 ± 1.25 ^{**}	0.31 ± 0.01	0.25 ± 0.00
CS-oil 170	8.98 ± 0.99 [*]	14.93 ± 1.08 ^{**}	0.30 ± 0.00	0.25 ± 0.00
CS 500	8.50 ± 0.79 [*]	16.69 ± 1.55 [*]	0.30 ± 0.00	0.23 ± 0.00

TABLE 4 Effect of *C. sativus* on liver and kidney function.

Note: Each value represents the mean ± SEM, (n = 8). NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-oil 42.5, 85, and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85 and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg. ^{###}*p* < .001: significant difference against the normal group (NOR); ^{*}*p* < .05; ^{**}*p* < .01; ^{***}*p* < .001: significant difference against the negative control group (BaP).

3.6 | Effect of *C. sativus* on relative masse of some organs

Table 5 describes the effects of *C. sativus* on the relative mass of several organs. Exposure to B(a)P resulted in a significant increase (*p* < .05) in the relative mass of the spleen as compared to normal rats. On the other hand, *C. sativus* seed oil at a dose of 170 mg/kg significantly reduced (*p* < .05) this parameter. Casodex treatment significantly reduced the mass of vesicles (*p* < .001), epididymis (*p* < .05) and penis (*p* < .05) compared with animals in the normal and negative control groups. *C. sativus* seed oil at 170 mg/kg (*p* < .01) and total seed extract (*p* < .05) significantly increased testicular mass compared with animals in the B(a)P group.

4 | DISCUSSION

C. sativus seed oil induced moderate cell growth arrest of the aggressive and androgen non-sensitive DU145 cell line. It further induced apoptosis in these cells at the concentration of 100 μg/mL after 24 h of incubation. The aforementioned results corroborate with those of Tuama,¹⁶ who demonstrated that *C. sativus* is rich in bioactive compounds endowed with cytotoxic effect. In fact, it exhibited a cytotoxic concentration which result in a 50% reduction of the number of cells (CC₅₀) of 15.6 μg/mL in MCF-7 breast cancer cells. Of note, cucurbitacins, a group of triterpenoids naturally found in cucumber have significant cytotoxic properties towards a various cancer cell, including PCa cells.²⁷ Furthermore, Qing et al.²⁸ showed that cucurbitacin C, a

TABLE 5 Effects of *C. sativus* on relative mass of some organs.

Organs	NOR	BaP	Caso	CS-oil 42.5	CS-oil 85	CS-oil 170	CS 500
Seminal vesicle	5.11 ± 0.15	5.28 ± 0.22	1.41 ± 0.08***	5.27 ± 0.39	4.92 ± 0.42	5.48 ± 0.37	5.99 ± 0.39
Epididymis	3.08 ± 0.16	3.07 ± 0.20	2.10 ± 0.13*	3.15 ± 0.32	3.17 ± 0.31	3.29 ± 0.16	3.44 ± 0.25
Testicle	8.98 ± 0.34	8.25 ± 0.20	8.65 ± 0.29	8.38 ± 0.31	8.59 ± 0.20	9.75 ± 0.27**	9.52 ± 0.14*
Penis	0.81 ± 0.03	0.87 ± 0.03	0.69 ± 0.04*	0.83 ± 0.06	0.88 ± 0.04	0.91 ± 0.03	0.92 ± 0.04
Adrenals	0.17 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.18 ± 0.02
Liver	2.64 ± 0.58	2.82 ± 1.06	2.68 ± 0.93	2.56 ± 0.90	2.79 ± 1.72	2.59 ± 0.87	2.67 ± 1.26
Kidneys	4.66 ± 0.11	5.47 ± 0.39	4.52 ± 0.15	5.36 ± 0.25	5.23 ± 0.24	4.90 ± 0.11	5.39 ± 0.21
Spleen	3.31 ± 0.21	4.38 ± 0.29 [#]	3.51 ± 0.18	4.26 ± 0.27	3.60 ± 0.34	3.20 ± 0.10*	4.01 ± 0.39
Lung	5.14 ± 0.27	6.37 ± 0.36	6.29 ± 0.56	5.98 ± 0.44	6.80 ± 0.37	5.89 ± 0.28	5.68 ± 0.29
Heart	2.75 ± 0.05	3.03 ± 0.18	2.70 ± 0.08	2.63 ± 0.19	2.71 ± 0.13	2.90 ± 0.12	3.51 ± 0.42

Note: Each value represents the mean ± SEM, (n = 8). NOR = normal control rats, which received distilled water; BaP = negative control rats, which received distilled water; Caso = positive control rats treated with the standard casodex at the dose of 13.5 mg/kg BW; CS-oil 42.5, 85 and 170 = rats treated with the *C. sativus* seeds oil at 42.5, 85 and 170 mg/kg; CS 500 = rats treated with the crude extract of the *C. sativus* seeds at 500 mg/kg.

[#]p < .05: significant difference against the normal group (NOR); *p < .05, **p < .01: significant difference against the negative control group (BaP).

type of cucurbitacins actually identified in CS are, in part, responsible for its anticancer activity with a CC₅₀ of 4.16 ± 0.42 μM in DU145 cells. The triggering of apoptosis through the down-regulation of the expression of key caspase-related proteins was proposed by Qing et al.²⁸ as one of the mechanisms that can explain the anticancer effect of cucurbitacin C. In addition, Wu²⁷ demonstrated that cucurbitacin C induced cell growth arrest and apoptosis through PI3K-Akt signaling pathway. Apoptosis could also be trigger in vivo by the natural substance through the DNA damage and TRAIL pathway.²⁹ Cell migration/invasion is an important feature for cancer metastasis.³⁰ In this study CS inhibited the DU145 cells migration into the nutrient-rich environment suggesting its potential to restrict PCa cells within a specified region. Cucurbitacins are known to inhibit cell migration and invasion via numerous pathways out of which the most potent are the down-regulation of p-STAT3 and MMP-9 expression.³¹ All these results highlight the anti-metastatic potential of CS seed oil against PCa and encourage deep study to identify its mechanism of action.

It is well documented that men, which had steady contact with hydrocarbon products such as polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) have a higher incidence to develop PCa.^{32,33} In this study, PCa was induced by a combined administration of cyproterone *i.p.*, testosterone *s.c.* and BaP intraprostatic, which are all routinely used in the laboratory to induce prostate carcinoma in rats. In this mixture, the cyproterone is an antagonist of the luteinizing hormone that inhibits testicular androgens leading to the atrophy of the prostatic epithelial cells. The testosterone, the main circulating androgen, promotes prostatic epithelial cell proliferation, and the carcinogen BaP initiates the prostate carcinoma.³⁴ In this study, 75% of rats in BaP group developed prostate tumors, which was correlated with a significant increase in the prostate wet weight, prostate volume compared to normal rat. Treatment with CS seed oil and crude extract decreased prostate cancer index, suggesting a potential anticancer effects of *C. sativus* seeds in vivo as well.

In this study, the exposition of rats to BaP significantly increased the PSA level in serum compared to normal rats. It has been shown

that PSA can cleave insulin-like growth factor binding protein-3 liberating bioactive insulin-like growth factor (IGF-1) that promote the PCa development by activating signaling pathway.³⁵ CS seed oil just like casodex, prevented BaP-induced the increase in PSA, which is in line with its effects on prostate mass and volume. About 90%–95% of PCa are acinar adenocarcinomas that arise from the peripheral prostatic glands.³⁶ Our results showed that animals exposed only to BaP had a Gleason 8 (4 + 4) adenocarcinoma with peri-nervous sheathing characterized by altered cellular architecture, cellular hypertrophy, and dysplasia of stromal and epithelial prostatic cells which have lost the basal membrane. This result is in line with those of Murray³⁷ who showed that histological diagnosis of PCa is made by assessing the loss of surrounding basal cells, loss of normal glandular architecture, including the disruption to the epithelial-stromal basement membrane and nuclear atypical of luminal cells. Research suggests that PCa begin as a pre-cancerous condition characterized by a prostate atrophy with degenerative changes in the acinus. Animals treated with *C. sativus* seed oil as well as the crude extract counteracted the BaP-induced damage in prostate marked by low-grade prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) characterized by an intraluminal proliferation of prostate secretory cells.³⁸

Chronic cell exposition to reactive oxygen species (ROS) can impair cell defense mechanisms and increases the PCa risks.³⁹ In this study, exposition to BaP sole, decreased the GSH level as well as SOD and catalase enzymatic activities in prostate compared to normal rats. These observations confirm the setup of oxidative stress in the micro-environment of prostatic cells. Indeed, while metabolizing in toxic metabolites that can bind and damage DNA, the BaP also generate ROS, which attacks DNA and lead to mutations, deletions, insertions, or chromosomal translocations, which in turn might initiate carcinogenesis by activating oncogenes and inactivating of tumor suppressor genes.⁴⁰ GSH and SOD are main endogenous antioxidant that counteracts the side effect of ROS in DNA, inhibiting therefore the carcinogenesis through phase II metabolism. The SOD generally dismutate

two anions to H₂O₂ and oxygen, whereas catalase transform H₂O₂ to water.³ In this study, this chain of defense was disrupted in rats exposed to BaP. Moreover, lipids, especially polyunsaturated fatty acids, are very susceptible to ROS attack leading to lipid peroxidation disrupting numerous cell functions including cell division. The final product of lipid peroxidation is MDA, which can initiate or promote tumors.⁴¹ The BaP increased the MDA level, concordant with the disorganization of the enzymatic antioxidant defense system of cells. CS seed oil significantly reduced the lipid peroxidation and increased the GSH level and SOD and catalase activities in prostate rat compared to BaP group; highlighting its antioxidant activity, which could at least account for its beneficial effects against PCa. In addition, its effects on endogenous antioxidants, studies have shown that these seeds contain cucurbitacins, compounds with potent antioxidant activity.^{42,43}

The cytokine network balance is a determinant factor to maintain homeostasis and any disruption in this balance contribute to the development of various diseases, including cancer.⁴⁴ The immune cells which infiltrate PCa generally contribute to its initiation and/or progression. Studies showed that pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1, and IL-6 are the most released by macrophages of the subtype 1 in PCa growth.⁴⁵ Rather, IL-10 is an anti-inflammatory cytokine from macrophage subtype 2, which play a key role in tumor-induced immune suppression and tolerance in various cancers.^{44,46} In this study, BaP induces an up-regulation of pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1, and IL-6, while it down-regulated the anti-inflammatory cytokine IL-10 compared to normal group. The HAPs (e.g., benzo(a)pyrene) contained in charred meat might induce inflammation, which in turn could initiate and/or promote the PCa through generation of ROS by infiltrating immune cells responsible of DNA damage and cell injury.⁴⁷ CS treatment successfully reduced the TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels and increased IL-10 cytokine level compared to rats of the BaP group. Wahid⁴³ demonstrated that *C. sativus* seeds endow with anti-inflammatory properties due to the presence of tetracyclic terpenoids and cucurbitacins. Indeed, cucurbitacins A, B, C, D, E and I detected in seeds of different varieties of CS have the ability to suppress the pro-inflammatory cytokines by inhibiting the activity of cyclooxygenase-2 (COX-2) and nitric oxide synthase (NOS).⁴⁸

5 | CONCLUSION

The present study, which aimed to assess the anticancer potential of *C. sativus* seed oil was performed in vitro and in vivo. In vitro, *C. sativus* seed oil significantly and concentration-dependently reduced the DU145 cell growth and clone formation. It increased the number of apoptotic cells and inhibits the migration and invasion of DU145 cells, while it decreases their adhesion for collagen and fibrinogen extracellular matrix. The expression of integrin β -1 and β -4 were increase at 100 μ g/mL. In vivo, the BaP significantly increase the incidence of PC tumors (75%), the total protein and PSA levels, pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, and IL-6) and MDA levels compared to the normal group (NOR). *C. sativus* seeds oil significantly

counteracted the effect of BaP by decreasing significantly the PCa incidence (12.5%), and increasing the level of antioxidant (SOD, GSH and catalase) and anti-inflammatory cytokine IL-10 in serum compared BaP rats. While in BaP group PCa adenocarcinoma was the most representative neoplasm, rats treated with 85 and 170 mg/kg prevented the glandular neoplasia. In sum, *C. sativus* seed oil has anti-prostate cancer effect in vitro and in vivo. The present study sheds more light on the importance of cucumber as a source of bio-anticancer agents.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Stéphane Zingue, Roman A. Blaheta, Berlise Yengwa Bakam and Dieudonne Njamen design the study. Berlise Yengwa Bakam, Timothy Grey, Sebastian Maxeiner, Jochen Rutz, and Stéphane Zingue performed the in vitro part of the study. Berlise Yengwa Bakam, Stéphane Zingue, and Dieudonne Njamen performed the in vivo part of the study. Judith Christiane Ngo Pambe realized the Histopathology analyses of prostate pieces. All authors have revised and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been performed with the support from DAAD, the German Academic Exchange Service to Prof. Dr. Stephane Zingue (Grant No. PKZ 91745282).

FUNDING INFORMATION

This study was funded by DAAD (Grant No. PKZ 91745282).

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

ORCID

Stéphane Zingue  <https://orcid.org/0000-0002-4854-8783>

REFERENCES

- Barsouk A, Padala SA, Vakiti A, et al. Epidemiology, staging and management of prostate cancer. *J Med Sci*. 2020;8:1-13.
- Habib A, Jaffar G, Khalid MS, et al. Risk factors associated with prostate cancer. *J Drug Deliv Ther*. 2021;11:188-193.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biol Med*. 2010;49:1603-1616.
- Brand LJ, Dehm SM. Androgen receptor gene rearrangements: new perspectives on prostate cancer progression. *Curr Drug Targets*. 2013; 14:441-449.
- Messner EA, Steele TM, Tsamouri MM, et al. The androgen receptor in prostate cancer: effect of structure, ligands and spliced variants on therapy. *Biomedicine*. 2020;8:1-19.
- Dun MW, Kazer MW. Prostate cancer overview. *Semin Oncol Nurs*. 2011;27:241-250.
- Litwin MS, Tan HJ. The diagnosis and treatment of prostate cancer: a review. *JAMA*. 2017;317:2532-2542.
- Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. Random systematic versus directed ultra sound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol*. 2009;142:71-74.
- Njamen D, Bakam Y, Rutz J, et al. *Irvingia excelsa* Mildbr. ethanolic extract displays in vitro cytotoxic effects on prostate cancer cells and

- prevents benign prostatic hyperplasia in Wistar rats. *Biologia*. 2020; 75:2053-2062.
10. Block K, Gyllenhaal C, Lowe L, Amedei A, Ruhul AR, Amin A. Designing a broad-spectrum integrative approach for cancer prevention and treatment. *Semin Cancer Biol*. 2015;35:276-304. doi:10.1016/j.semcancer.2015.09.007
 11. Bishayee A, Gautam S. Bioactive natural products in cancer prevention and therapy: Progress and promise. *Semin Cancer Biol*. 2016; 40:41:1-3. doi:10.1016/j.semcancer.2016.08.006
 12. Haque A, Brazeau D, Amin R. Perspectives on natural compounds in chemoprevention and treatment of cancer: an update with new promising compounds. *Eur J Cancer*. 2011;149:165-183. doi:10.1016/j.ejca.2021.03.009
 13. Hostettmann K, Terreaux C. Search for new lead compounds from higher plants. *Chimia*. 2000;54:652-657.
 14. Hostettmann K, Wolfender J-L. The search for biologically active secondary metabolites. *Pestic Sci*. 1997;51:471-482.
 15. Sahayi M, Shirali S. Study of *Cucurbita* extract effect on changes of AGEs, lipid and glycemic profile and CRP in type 1diabetics rats. *Bang J Med Sci*. 2018;17:84-87.
 16. Tuama AA, Mohammed AA. Phytochemical screening and *in vitro* antibacterial and anticancer activities of the aqueous extract of *Cucumis sativus*. *Saudi J Biol Sci*. 2019;26:600-604.
 17. Lemus-Mondaca R, Marin J, Rivas J, et al. A review of functional attributes and by products. *Rev Child Nutr*. 2019;46:783-791.
 18. McCormick DL, Rao KV. Chemoprevention of hormone-dependent prostate cancer in the Wistar-Unilever rat. *Euro Urol*. 1999;35:464-446.
 19. Nahata A, Dixit V. Ameliorative effects of Stinging Nettle (*Urtica dioica*) on testosterone induced prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia*. 2012;44:396-409.
 20. Rahul K, Manisha B, Vijay R. Inhibitory effects by ayurvedic plants on prostate enlargement induced in rats. *Pharmacogn Res*. 2014;6: 127-132.
 21. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-254.
 22. Wilbur K, Bernhein F, Shapiro O. Determination of lipid peroxydation. *Arch Biochem Biophys*. 1949;24:3959-3964.
 23. Sinha K. Colorimetric essay of catalase. *Anal Biochem*. 1972;47: 389-394.
 24. Misra H, Fridovich I. *Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood*. Yale University Press; 1972:101-109.
 25. Ellman G. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys*. 1959;82: 70-77.
 26. Nilsson O, Peter A, Andersson I, Nilsson K, Grundstrom B, Karlsson B. Antigenic determinants of prostate-specific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *Br J Cancer*. 1997;75:789-797.
 27. Wu D, Wang Z, Lin M, et al. *In Vitro* and *In Vivo* antitumor activity of cucurbitacin C, a novel natural product from cucumber. *Front Pharmacol*. 2019;10:1-13.
 28. Qing Z, Shi Y, Han L, et al. Identification of seven undescribed cucurbitacins in *Cucumis sativus* (cucumber) and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*. 2022;197:113-123.
 29. Chang YM, Shih YL, Chen CP, et al. Ouabain induces apoptotic cell death in human prostate DU 145 cancer cells through DNA damage and TRAIL pathways. *Environ Toxicol*. 2019;34:1329-1339.
 30. Entschladen F, Theodore L, Drell I, Lang K, Joseph J, Zaenker KS. Tumour-cell migration, invasion and metastasis: navigation by neurotransmitters. *Lancet*. 2004;5:254-258.
 31. Song J, Liu H, Li Z, Yang C, Wang C. Cucurbitacin I inhibits cell migration and invasion and enhances chemosensitivity in colon cancer. *Oncol Rep*. 2015;26:1867-1871.
 32. Eldaly E, Hussein M, El-Gaml A, El-hefny D, Mishref M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in charcoal grilled meat (kebab) and kofta and the effect of marinating on their existence. *Zagazig Vet J*. 2016;44:40-47.
 33. Islam J, Shree A, Afzal SM, Vafa A, Sultana S. Protective effect of Diosmin against benzo(a)pyrene-induced lung injury in Swiss Albino Mice. *Environ Toxicol*. 2020;35:747-757.
 34. Arroyo-Acevedo J, Herrera-Calderón O, Chávez-Asmat R, Anampa-Guzmán A, Chumpitaz-Cerrate V, Enciso-Roca E. Protective effect of *Chuquiraga spinosa* extract on N-methylnitrosourea (NMU) induced prostate cancer in rats. *Prostate Int*. 2017;5:47-52.
 35. Pollak M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:159-169.
 36. Wang ZA, Mitrofanova A, Bergren SK, et al. Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. *Nat Cell Biol*. 2013; 15:274-283.
 37. Murray TB. *The pathogenesis of prostate cancer*. Exon Publications; 2021:29-41.
 38. Montironi R, Mazzucchelli R, Algaba F, Lopez-Beltran A. Morphological identification of the patterns of prostatic intraepithelial neoplasia and their importance. *J Clin Pathol*. 2000;53:655-665.
 39. Miller DR. *The role of ROS in the progression and treatment of castration-resistant prostate cancer [thesis]*. University of Nebraska Medical Center; 2019:135p.
 40. Klauinig JE, Wang Z, Pu X, Zhou S. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011; 254:86-99.
 41. Sharmila G, Athirai T, Kiruthiga B, et al. Chemopreventive effect of quercetin in MNU and testosterone induced prostate cancer of Sprague-Dawley rats. *Nutr Cancer*. 2014;66:38-46.
 42. Ramezani M, Hasani M, Ramezani F, Abdolmaleki MK. Cucurbitacins: a focus on cucurbitacin E as A natural product and their biological activities. *J Pharm Sci*. 2021;27:1-13.
 43. Wahid S, Alqahtani A, Khan RA. Analgesic and anti-inflammatory effects and safety profile of *Cucurbita maxima* and *Cucumis sativus* seeds. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28:4334-4341.
 44. Berti FCB, De Oliveira KB. IL-10 in cancer: Just a classical immunosuppressive factor or also an immunostimulatingone? *AIMS Allerg Immunol*. 2018;2:88-97.
 45. Bouraoui Y, Ricote M, García-Tuñón I, et al. Pro-inflammatory cytokines and prostate-specific antigen in hyperplasia and human prostate cancer. *Cancer Detect Prev*. 2008;32:23-32.
 46. Sato T, Terai M, Tamura Y, Alexeev V, Mastrangelo MJ, Selvan SR. Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. *J Immunol Res*. 2011;51:170-182.
 47. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2007;7:256-269.
 48. Silvestre GFG, De Lucena RP, Alves HDS. Cucurbitacins and the immune system: update in research on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory mechanisms. *Curr Med Chem*. 2022;29:3774-3789.

How to cite this article: Bakam BY, Pambe JCN, Grey T, et al. *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) seed oil prevents benzo(a) pyrene-induced prostate cancer in vitro and in vivo. *Environmental Toxicology*. 2023;1-15. doi:10.1002/tox.23830