

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

FACULTÉ DES SCIENCES

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

DEPARTEMENT DE
BIOCHIMIE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

POST GRADUATE AND
TRAINING SCHOOL OF LIFE
SCIENCES, HEALTH AND
ENVIRONMENT

DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE -NKOLBISSON

BIOTECHNOLOGY CENTRE -NKOLBISSON

LABORATOIRE DE PHYTOPROTECTION ET DE VALORISATION DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES
LABORATORY OF PHYTOPROTECTION AND VALORISATION OF GENETIC RESOURCES

**Toxicité aigüe et effets protecteurs d'une combinaison
de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* contre
l'hyperplasie bénigne de la prostate induite par
l'énanthate de testostérone chez les rats**

Mémoire rédigé et présenté comme requis partiel en vue de l'obtention du
diplôme de Master en Biochimie

Option : Biotechnologie et développement

Par :

FOUNDIKOU MEFIRE Marie Tatiana

Licenciée ès-sciences

Matricule : 17I2515

Sous la Co-direction de :

Pr. BOUDJEKO Thaddée

Professeur/UYI

Dr. MEDIESSE KENGNE Francine

Chargé de recherche, IMPM



Année académique : 2023-2024

DEDICACE

Je dédie ce travail

À la famille FOUNDIKOU

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier l'Eternel DIEU pour m'avoir donnée la persévérance, la force, la santé, la patience et le courage de mener à bien ce travail. Mes remerciements vont également à l'endroit des personnes suivantes :

- Feu **Pr. BOUDJEKO Thaddée**, Professeur titulaire à l'Université de Yaoundé I pour avoir dirigé mes premiers pas dans la recherche ;
- **Dr. MEDIESSE KENGNE Francine**, Chargé de recherche à l'Institut de Recherches Médicales et d'études de Plantes Médicinales (IMPM) pour avoir dirigé ce travail, pour ses enseignements et critiques constructives qui ont contribué à l'élaboration de ce travail ;
- **Pr. DJOGOUE François**, Directeur du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé 1 (NKolbisson) pour m'avoir permise de réaliser ce travail au sein du centre et pour le support technique mis à ma disposition ;
- **Pr. MOUNDIPA FEWOU Paul**, Chef du Département de Biochimie et tous les enseignants dudit département pour les enseignements reçus, qui ont été d'une grande importance lors de la réalisation de ce travail ;
- **Pr. EWANE Annie Cécile**, Maître de conférences à l'Université de Yaoundé 1 et chef du Laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Génétiques (LPVRG) du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé 1 pour avoir courageusement pris les rênes de l'équipe de recherche après le décès du Pr. Boudjeko ;
- **Pr. ESSAMA OYONA Jean-Louis**, Directeur Général de l'Institut de Recherches Médicales et d'études de Plantes Médicinales (IMPM) pour le stage qui m'a été accordé et à l'unité Biochimie et Physiologie animale du Laboratoire de Pharmacologie et de Découverte des Médicaments de l'IMPM pour m'avoir permise de réaliser les tests *in vivo* au sein de l'animalerie dudit laboratoire ;
- Tous mes aînés du laboratoire, particulièrement **Dr. TENE Martial**, **Dr. SIPPING Marius**, **M. FOKA Ebenezer**, **M. MEPONG Franklin** et **M. NGAUTALA Gédéon** pour leur grande implication dans ce travail et leur disponibilité ;
- Mes parents notamment mon père **Rév. FOUNDIKOU Esaïe**, ma mère **FOUNDIKOU Charlotte**, ma tutrice **NJOYA Rachel** pour tout le soutien, les valeurs morales et les encouragements qu'ils m'ont apporté durant toutes mes années d'études ;
- A mes frères, mes sœurs, mes promotionnaires et amis particulièrement **MINLO'O Robert**, **NCHANKOU Loïc**, **MANINANG Grace** et **MBOUAMBE Hortense**, **DJAMPOU Rosine** et **DJOUKING Cintya** pour le soutien moral et leurs encouragements durant ces années d'études.

TABLE DE MATIERES

DEDICACE.....	1
REMERCIEMENTS.....	2
LISTE DES FIGURES.....	6
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES ANNEXES	7
RESUME.....	9
ABSTRACT	10
INTRODUCTION.....	12
CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTERATURE.....	4
I.1. Généralités sur l’hyperplasie bénigne de la prostate (HBP).....	16
I.1.1. Rappel sur la prostate	16
I.1.2. Pathologie de l’Hyperplasie bénigne de la prostate	17
I.1.3. Epidémiologie de l’hyperplasie bénigne de la prostate	17
I.1.4. Etiologie de l’hyperplasie bénigne de la prostate.....	18
I.1.5. Physiopathologie de l’hyperplasie bénigne de la prostate.....	18
I.1.5.1. La théorie hormonale.....	18
I.1.5.2 La théorie métabolique	19
I.1.5.3 La théorie sur le stress oxydatif.....	19
I.1.5.4 La théorie sur l’inflammation.....	19
I.1.6. Modèle expérimental <i>in vivo</i> de l’hyperplasie bénigne de la prostate.....	21
I.1.7. Manifestation clinique et diagnostic de l’hyperplasie bénigne de la prostate	21
I.1.8. Traitement de l’hyperplasie bénigne de la prostate	22
I.2. Généralité sur <i>Dichrostachys glomerata</i> (<i>D. glomerata</i>)	24
I.2.1. Systématique de <i>Dichrostachys glomerata</i>	24
I.2.2. Caractéristiques de <i>Dichrostachys glomerata</i>	24
I.2.3. Habitat et distribution de <i>Dichrostachys glomerata</i>	25
I.2.4 Utilisation traditionnelle de <i>Dichrostachys glomerata</i>	25
I.2.5. Composition chimique et activités biologiques <i>D. glomerata</i>	25
I.3.Généralité sur <i>Prunus africana</i> (<i>P. africana</i>).....	26
I.3.1. Systématique de <i>Prunus africana</i>	26
I.3.2 Caractéristiques de <i>Prunus africana</i>	26

I.3.3. Habitat et distribution de <i>Prunus africana</i>	27
I.3.4. Utilisation traditionnelle de <i>Prunus africana</i>	27
I.3.5. Composition chimique et activités biologiques de <i>Prunus africana</i>	28
I.4. Généralités sur la toxicité	28
I.4.1. Notion d'effet toxique	28
I.4.2. Les différentes formes de toxicité	28
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	17
II.1. MATÉRIEL.....	31
II.1.1. Matériel végétal.....	31
II.1.2. Matériel biologique	31
II.2 METHODES	32
II.2.1. Préparation des extraits	32
II.2.1.1. Préparation de l'extrait de <i>D. glomerata</i>	Erreur ! Signet non défini.
II.2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux de <i>P. africana</i>	32
II.2.1.3. Préparation des combinaisons de <i>P. africana</i> et <i>D. glomerata</i>	32
II.2.2. Evaluation des activités antioxydantes <i>in vitro</i>	33
II.2.2.1. Dosage des composés phénoliques	33
II.2.2.2. Évaluation de l'activité anti-radicalaire DPPH	33
II.2.2.3. Évaluation du pouvoir réducteur FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	34
II.2.3. Etude de la toxicité aiguë de combinaison M2 (75% de <i>Prunus africana</i> + 25% de <i>Dichrostachys glomerata</i>).....	35
II.2.4. Evaluation <i>in vivo</i> de l'effet protecteur de la combinaison <i>P. Africana</i> et <i>D. glomerata</i> contre l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	35
II.2.4.1. Induction de l'hyperplasie bénigne de la prostate	35
II.2.4.2. Détermination de quelques marqueurs physiologiques chez les rats ayant subi le test d'HBP induit par la testostérone	36
II.2.4.3. Détermination de la teneur en protéines totales contenu dans l'homogénat de la prostate des rats.....	37
II.2.4.4. Évaluation de l'effet de la combinaison M2 sur quelques marqueurs biochimiques chez les rats.....	37
II.2.4.5. Analyses histologiques.....	40
II.2.4.6. Détermination de la concentration des cytokines TNF α et IL-10	41
II.2.3. Analyses statistiques	42
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	30
III.1 RESUTATS	44
III.1.1. Rendement d'extraction	44

III.1.2. Evaluation <i>in vitro</i> des activités antioxydantes des extraits aqueux de <i>Prunus africana</i> et de <i>Dichrotachys glomerata</i>	44
III.1.2.1. Teneur en composés phénoliques	44
III.1.2.2. Activité anti-radicalaire DPPH	45
III.1.2.3. Activité antioxydante par la méthode de FRAP	45
III.1.3. Etude de toxicité aiguë.....	46
III.1.4. Effet des extraits de <i>P. africana</i> et de <i>D. glomerata</i> sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induit chez les rats	47
III.1.4.1. Effet des extraits de <i>P. africana</i> et de <i>D. glomerata</i> sur quelques marqueurs physiologiques de l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	47
III.1.4.2. Teneur en protéines totales contenu dans les homogénats de prostate des rats ayant l'hyperplasie bénigne de la prostate induit par la testostérone	51
III.1.4.3. Effets des combinaisons de <i>P. africana</i> et <i>D. glomerata</i> sur quelques marqueurs du stress oxydatif <i>in vivo</i>	52
III.1.4.4. Coupe histologique et histopathologie des tissus de prostates des rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	55
III.1.4.5. Effet des extraits de M2 sur la production des TNF α et des IL-10 chez les rats ayant subis les tests d'hyperplasie bénigne de la prostate.	57
III.2 DISCUSSION	59
CONCLUSION	63
PERSPECTIVES	63
REFERENCES	64
ANNEXE	72

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentations schématiques de l'anatomie de la prostate	17
Figure 2 : Déséquilibre entre la prolifération et l'apoptose cellulaire dans l'HBP	20
Figure 3 : <i>Dichrostachys glomerata</i>	24
Figure 4 : Planche botanique de prunier d'Afrique ou <i>Prunus africana</i>	27
Figure 5 : (A) plante <i>Dichrostachys glomerata</i> ; (B) écorce de <i>prunus africana</i>	31
Figure 6 : Teneur en composés phénoliques des extraits de <i>P. africana</i> et <i>D. glomerata</i> et de leur combinaison.	44
Figure 7 : Activité antiradicalaire DPPH de <i>P. africana</i> et de <i>D. glomerata</i>	45
Figure 8 : Activité réductrice du Fe^{3+} en Fe^{2+} des extraits de <i>P. africana</i> et de <i>D. glomerata</i>	46
Figure 9 : Volume de la prostate chez les rats développant l'hyperplasie bénigne de la prostate induit par la testostérone.....	48
Figure 10 : Masse de la prostate chez les rats développant l'hyperplasie bénigne de la prostate induit par la testostérone.....	49
Figure 11: Index prostatique chez les rats développant l'hyperplasie bénigne de la prostate induit par la testostérone.....	50
Figure 12: inhibition de l'hyperplasie bénigne de la prostate chez les rats.	51
Figure 13 : Teneur en protéines totales contenu dans les homogénats de prostate des rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.	52
Figure 14: Effets des extraits M2 sur taux de MDA contenu dans la prostate	53
Figure 15 : Effets des combinaisons M2 sur l'activité de la catalase dans la prostate	54
Figure 16 : Effets des extraits des M2 sur activité de la SOD dans la prostate	55
Figure 17 : Microphotographie de la prostate montrant la pathologie des tissus de prostates chez les rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	56
Figure 18 : Effets des extraits M2 sur les acini (taille de l'épithélium) des rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.	57
Figure 19 : Quantification du niveau de cytokines $TNF\alpha$ chez les rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	58
Figure 20 : Quantification du niveau de cytokines IL-10) chez les rats ayant subis les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.....	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents types de traitements de l'HBP	23
Tableau 2 : Matrice de mélanges des extraits aqueux de <i>P. africana</i> et <i>D. glomerata</i>	32
Tableau 3: Effet de la combinaison M2 sur quelques paramètres physiologiques chez les souris ..	46
Tableau 4 : Toxicité orale aiguë de la combinaison M2 sur les souris Swiss.	47

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Composition de l'aliment des animaux (rats)	A
Annexe 2 : Préparation des solutions	B
Annexe 3 : Courbes d'étalonnage	C
Annexe 4: Tableau des résultats des tests antioxydants et antiinflammatoires <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	D
Annexe 5 : Clairance éthique	E

SIGLES ET ABREVIATIONS

AUA	Americal_Urogical_Androgénique
BSA	Bovine Serum Albumin
D.O	Densité Optique
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
DHT	Dihydrotestostérone
EAG	Equivalent d'acide gallique
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant power
HBP	Hyperplasie Bénigne de la Prostate
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
IL	Interleukine
INF	Interféron
MDA	Malondialdéhyde
OCDE	Organisation pour la Coopération et le Développement Economique
PC	Poids Corporel
AR	Récepteurs Androgéniques
SOD	Superoxyde Dismutase
TA	Température Ambiante
TBA	Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide Trichloracétique
TNF	Tumor Necrosis Factor

RESUME

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est une maladie qui affecte couramment les hommes à partir de 40 ans avec une prévalence de 40 % entre 40 et 50 ans et près de 80 % au-delà de 80 ans. Elle induit des dysfonctionnements des appareils sexuels et urinaires constituant ainsi un véritable problème de santé publique. A ce jour, la prise en charge de l'HBP comprend principalement la chimiothérapie et/ou la chirurgie. Cependant, le coût économique élevé et les effets secondaires sur la santé reproductive sont un véritable frein à l'efficacité des moyens de prises en charge déployés. Ainsi, la plante apparaît comme une solution prometteuse. Le but de ce travail était d'évaluer l'effet d'une combinaison de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata*, deux plantes de la pharmacopée camerounaise sur l'HBP. A cet effet, cinq combinaisons à base d'extraits aqueux d'écorces de *Prunus africana* et des feuilles de *Dichrostachys glomerata* ont été obtenues en utilisant le logiciel Statistica. Le screening des combinaisons a été effectué par l'évaluation de leurs activités antioxydantes *in vitro*. Ensuite, la toxicité aiguë de la meilleure combinaison a été évaluée suivie de l'évaluation de son effet sur l'HBP induite par la testostérone chez les rats mâles de souche Wistar. Les marqueurs du stress oxydatif ont été déterminés, ainsi que les variations histologiques de la prostate et les taux de quelques cytokines par le test ELISA. Les résultats révèlent que la combinaison M2 (75% de *Prunus africana* + 25% de *Dichrostachys glomerata*) possède la teneur la plus élevée en composés phénoliques et une forte activité antioxydante. De plus, à la dose de 5000 mg/kg M2 ne présente pas d'effet toxique notoire chez les souris. La combinaison M2 à la dose de 500 mg/kg a également entraîné une réduction significative ($p < 5 \%$) du volume de la prostate de 42 %, de la taille de l'épithélium de 50 %, et une inhibition du développement de l'HBP de 47,17 % comparativement au groupe témoin négatif. La coupe histologique et histopathologique des tissus des prostates des rats du groupe test traité par le mélange M2 à la dose de 125 mg/kg a révélé une réduction significative ($p < 5 \%$) de l'épaisseur de l'épithélium prostatique par rapport au lot témoin négatif. Par ailleurs M2 à la dose de 500 mg/kg a permis une augmentation significative ($p < 5 \%$) de la production de cytokines anti-inflammatoires (IL-10) et a inhibé significativement ($p < 5 \%$) la production de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α comparativement au groupe témoin négatif. Les résultats obtenus montrent que cette combinaison de plantes médicinales est une piste probable pour la gestion de l'HBP.

Mots clés : hyperplasie de la prostate, *Prunus africain*, *Dichrostachys glomerata*, combinaison M2, *in vivo*, testostérone

ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a disease that commonly affects men from the age of 40, with a prevalence of 40% between the ages of 40 and 50, and almost 80% over the age of 80. It leads to dysfunction of the sexual and urinary systems, making it a real public health problem. To date, the treatment of BPH has mainly involved chemotherapy and/or surgery. However, the high economic cost and the side-effects on reproductive health are a real brake on the effectiveness of the treatment methods deployed. Plants thus appear to offer a promising solution. The aim of this study was to evaluate the effect of a combination of *Prunus africana* and *Dichrostachys glomerata*, two plants from the Cameroon pharmacopoeia, on BPH. To this end, five combinations based on aqueous extracts of *Prunus africana* bark and *Dichrostachys glomerata* leaves were obtained using Statistica software. Combinations were screened for antioxidant activity *in vitro*. Next, the acute toxicity of the best combination was assessed, followed by evaluation of its effect on testosterone-induced BPH in male Wistar rats. Markers of oxidative stress were determined, as well as histological variations in the prostate and levels of some cytokines by ELISA. The results show that the combination of M2 (75% *Prunus africana* + 25% *Dichrostachys glomerata*) has the highest phenolic content and strong antioxidant activity. In addition, at a dose of 5000 mg/kg M2 showed no notable toxic effects in mice. The M2 combination at 500 mg/kg also resulted in a significant ($p < 5\%$) reduction in prostate volume by 42%, epithelial size by 50%, and inhibition of BPH development by 47, 17% compared to the negative control group. Histological and histopathological sectioning of prostate tissue from rats in the test group treated with M2 mixture at 125 mg/kg revealed a significant ($p < 5\%$) reduction in prostatic epithelial thickness compared with the negative control batch. In addition, M2 at a dose of 500 mg/kg significantly increased ($p < 5\%$) the production of anti-inflammatory cytokines (IL-10) and significantly inhibited ($p < 5\%$) the production of the pro-inflammatory cytokine TNF- α compared with the negative control group. The results obtained show that this combination of medicinal plants is a likely avenue for the management of BPH.

Keywords : prostate hyperplasia, *Prunus africana*, *Dichrostachys glomerata*, M2 combination, *in vivo*, testosterone

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) ou adénome de la prostate est une maladie urologique caractérisée par la prolifération des cellules stromales et épithéliales dans la zone transitionnelle de la prostate (**Zabaiou et al., 2017**). Les mécanismes associés au développement de l'HBP comprennent principalement une augmentation du volume prostatique liée au taux d'androgènes, de l'inflammation et du stress oxydatif (**Tsunemori et Sugimoto, 2021a**). En effet, une production accrue d'androgènes tels que la dihydrotestostérone (DHT) due à un stress oxydatif provoque une hyperactivité cellulaire induisant la libération des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives par les macrophages et les neutrophiles. Parallèlement, la testostérone induit l'activation de l'inflammatoire de la prostate et provoque ainsi une sécrétion accrue de cytokines pro inflammatoires par les macrophages. Ces radicaux libres et ces cytokines pro inflammatoires stimulent la prolifération des cellules épithéliales conduisant au développement d'une néoplasie intraépithélial prostatique ou l'hyperplasie bénigne de la prostate (**Zabaiou et al., 2015**).

Cette pathologie affecte essentiellement 40 % des hommes âgés entre 40 et 50 ans et près de 80 % des hommes au-delà de 80 ans. L'examen rectal numérique, le dosage de l'antigène spécifique de la prostate sérique, l'évaluation des paramètres de débit urinaire, ainsi qu'une analyse d'urine et de créatine sérique sont des tests recommandés pour le diagnostic de l'HBP.

Le traitement de l'HBP est déterminé par la gravité des symptômes ainsi que toutes complications associées et comprend la médication et/ou la chirurgie. Les molécules pharmaceutiques sont les inhibiteurs de l'enzyme 5- α réductase, les inhibiteurs de l'aromatase et les alpha- bloqueurs. En plus du coût économique élevé de la prise en charge de l'HBP, les interventions chirurgicales peuvent être très souvent à l'origine de certaines anomalies des fonctions urinaires et sexuelles (**Maderbacher et al., 2019**). Ainsi, des solutions complémentaires ou alternatives efficaces, à faibles effets indésirables et moins coûteuses, telles que les plantes médicinales sont de plus en plus envisagées pour la prise en charge de l'HBP ;c'est le cas par exemple des extraits d'ortie, du palmier de Floride, des pépins de courges et du prunier d'Afrique qui ont fait l'objet d'études antérieures (**Darchy, 2017**) .

Le prunier d'Afrique ou *Prunus africana* (*P. africana*) est une plante appartenant à la famille des plantes Rosacées dont les feuilles, les écorces et les fruits sont traditionnellement utilisés depuis de nombreuses années en Afrique pour le traitement de l'HBP (**Nyamai et al., 2022**). Elle est utilisée dans la fabrication d'un médicament traditionnel amélioré(MTA) pour le traitement du cancer de la prostate et l'hypertrophie bénigne de la prostate (**Mpouam et al., 2022**). Cette utilisation

pharmacologique de *P. africana* se justifierait par ses nombreuses activités biologiques notamment des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. En outre, les écorces de *P. africana* ont une forte activité inhibitrice de la prolifération cellulaire lors du développement de l'HBP (Nyamai et al., 2022). Toutefois, il est important de noter que *Prunus africana* n'a pas d'effet prononcé sur le système immunitaire ; de plus les sujets atteints d'HBP présentent une défaillance du système immunitaire pendant la maladie et surtout lorsqu'ils ont été soumis à certains traitements comme les chimiothérapies. Il serait donc nécessaire d'aborder une approche combinatoire en associant à *Prunus africana* une plante immunostimulante qui pourra renforcer le système immunitaire et également potentialiser l'efficacité de *Prunus africana*. Pour ce faire, *Dichrostachys glomerata* (*D. glomerata*) grâce à sa capacité à stimuler le système immunitaire (Monday et Okon, 2021) pourrait être un complément de choix. L'extrait aqueux de *D. glomerata* appelé apirivine a montré des activités antivirales contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) notamment la réduction de la charge virale (l'augmentation significative du taux de CD4+) (Agon et Kinnoudo, 2008). Elle possède également des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Okpara et al., 2016). Plusieurs études ont été réalisées sur les combinaisons de plantes contre l'HBP c'est le cas par exemple de la combinaison de *cynodon dactylon* et *mimosa pudica* (Adewale et al., 2021). En revanche, aucune étude n'a encore été faite sur la combinaison de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* deux plantes à fort potentiel thérapeutique pouvant être exploitées pour le traitement de l'HBP. Le présent travail vise donc à étudier les effets antioxydants et anti-inflammatoires d'une combinaison à base de *P. africana* et *D. glomerata* contre l'hyperplasie bénigne de la prostate et ainsi valoriser ces deux plantes de la pharmacopée camerounaise.

QUESTION DE RECHERCHE

La combinaison constituée d'extrait d'écorces de *Prunus africana* et d'extrait de feuilles de *Dichrostachys glomerata* possède-t-elle des effets protecteurs contre l'hyperplasie bénigne de la prostate induit chez le rat ?

HYPOTHESE

La combinaison constituée d'extrait d'écorces de *Prunus africana* et d'extrait de feuilles de *Dichrostachys glomerata* possède des effets antioxydants et protecteurs contre l'hyperplasie bénigne de la prostate induit chez le rat.

OBJECTIF GENERAL

Rechercher les effets protecteurs d'une combinaison de *Prunus africana* et de *Dichrostachys glomerata* sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induit chez le rat.

OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

- ❖ Sélectionner la combinaison d'extraits de plantes démontrant une forte activité antioxydante.
- ❖ Déterminer les effets toxiques à court terme ainsi que la classe de toxicité de la combinaison sélectionner.
- ❖ Déterminer les effets protecteurs de cette combinaison sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induite chez le rat.

CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTÉRATURE

I.1. Généralités sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

I.1.1. Rappel sur la prostate

La prostate est une glande de l'appareil urogénital masculin, développée autour de la portion initiale de l'urètre, au carrefour des voies urinaires et des voies spermatiques. Très petite à la naissance, elle augmente de volume au moment de la puberté puis de nouveau après 50 ans. Elle est impliquée à la fois dans la miction, la fertilité et l'éjaculation (**Verze et al., 2016**).

- **Anatomie et histologie**

Chez l'homme, trois zones anatomiques et fonctionnelles de la prostate ont été définies par **McCoy en 1981**. Ce sont :

- **La zone périphérique** : Elle constitue plus de 70 % du volume de la prostate glandulaire. C'est la zone où la majorité des carcinomes (≈85 %) se développent.
- **La zone centrale** : Elle constitue 25 % du volume de la prostate glandulaire. C'est le siège de 5 % des cancers.
- **La zone de transition** : elle se trouve entre la zone centrale et la zone périphérique (5 % du volume prostatique glandulaire) qui contient les glandes dites mucorales. C'est le site exclusif de l'hyperplasie bénigne de la prostate et le siège de 10 % des cancers prostatiques.

Chez les rongeurs, la prostate est séparée en 4 lobes doubles : antérieurs, dorsaux, latéraux et ventraux. Ces lobes sont disposés en circonférence autour de la vessie (Figure 1) et présentent des motifs caractéristiques des ramifications canalaire et de production des protéines sécrétoires. Sur les bases anatomiques, pathologiques et moléculaires, il a été considéré que les lobes dorsolatéraux de la prostate des rongeurs correspondent à la zone périphérique humaine, tandis que leurs lobes ventraux correspondent à la zone centrale (**Kim et al., 2002**).

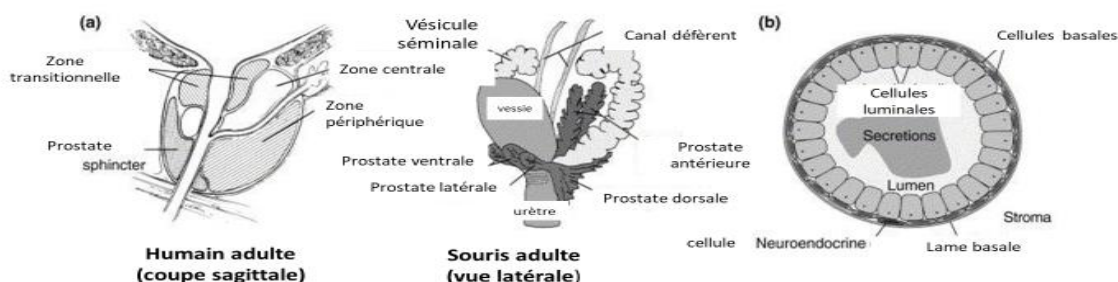


Figure 1 : Représentation schématique de l'anatomie de la prostate (**Kim et al., 2002**).

(a) : Comparaison schématique entre la prostate humaine (gauche) et la prostate de souris/rat (droite). **(b) :** Représentation schématique des types de cellules dans une section transversale d'épithélium prostatique.

- **Pathologies**

Les pathologies de la prostate peuvent schématiquement être classées en deux groupes :

- Les pathologies infectieuses de fréquence importante causant la prostatite. C'est la maladie la plus fréquente chez les hommes de moins de 50 ans. Elle se réfère à l'inflammation du tissu prostatique et se divise en quatre catégories : la prostatite bactérienne aigue (dysurie), la prostatite bactérienne chronique (infections fréquentes des voies urinaires), le syndrome de la prostatite chronique (douleurs pelviennes chroniques) et la prostatite inflammatoire asymptomatique (**Gupta-Elera et al., 2012**).

- Les pathologies entraînant des modifications anatomiques et physiologiques. Elles peuvent être bénignes : c'est l'hyperplasie bénigne de la prostate (l'HBP), ou maligne : c'est le cancer de la prostate. Le cancer de la prostate est une maladie de l'homme âgé, environ 85 % de cas ont été diagnostiqués chez les hommes de plus de 65 ans (**Tenke et al., 2007**).

I.1.2. Pathologie de l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP)

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est l'une des maladies urologiques les plus connues chez les hommes âgés. Pathologiquement, elle est caractérisée par une prolifération excessive de l'épithélium et du stroma prostatique qui progressent vers des nodules prostatiques (**Ke et al., 2019**). Elle commence comme une simple hyperplasie micronodulaire, et évolue vers un élargissement nodulaire macroscopique qui se traduit progressivement par une entité clinique (**Sciarra et al., 2007**). **Mc Neal (1981)** a décrit deux phases de progression de l'HBP : la première consiste en une augmentation des nodules hypertrophiques au niveau de la zone péri-urétrale et la deuxième en une augmentation significative de la taille des nodules glandulaires.

I.1.3. Epidémiologie de l'hyperplasie bénigne de la prostate

L'HBP est une des tumeurs bénignes masculines les plus fréquentes. L'incidence de l'HBP augmente à un rythme alarmant dans la plupart des pays du monde, en particulier dans les pays à faible revenu et à revenu intermédiaire qui connaissent actuellement des changements démographiques et épidémiologiques rapides. Toutefois, la fréquence réelle de ses manifestations cliniques demeure difficile à évaluer. Selon un rapport de l'American Urological Association publié en 2023, la prévalence mondiale de l'HBP varie de 20 à 62 % chez les hommes de plus de 50 ans et est la troisième cause la plus fréquente de consultation chez les hommes de cette tranche d'âge.

En Afrique, selon un rapport du collège des chirurgiens d'Afrique publié en 2016 la prévalence de l'HBP est estimée à plus de 50 % chez les hommes adultes de 60 ans. Selon les dernières données de l'OMS publiées en 2020, la prévalence de l'HBP au Cameroun est estimée à 38,5%

I.1.4. Etiologie de l'hyperplasie bénigne de la prostate

L'étiologie de l'HBP est multi factorielle et comprend :

- Un changement dans le métabolisme des androgènes qui se produit avec l'âge et qui conduit à une accumulation anormale de la dihydrotestostérone ;
- Un changement au niveau des interactions épithélium-stroma qui se produit avec l'âge et qui a un effet sur la croissance prostatique ;
- Une augmentation du nombre total des cellules souches prostatiques ou une augmentation de l'expansion clonale des cellules souches en cellules d'amplification et de transit (**Jena et al., 2016**).

I.1.5. Physiopathologie de l'hyperplasie bénigne de la prostate

Bien que le mécanisme physiopathologique de l'HBP ne soit toujours pas entièrement élucidé, quatre théories ont été annoncées (la théorie hormonale, la théorie métabolique, la théorie sur le stress oxydatif et la théorie sur l'inflammation) (**Oikonomopoulou et al., 2012**). Le point commun de ces théories est un déséquilibre entre la croissance et l'apoptose des cellules prostatiques, ce qui aboutit à une surpopulation cellulaire responsable d'hyperplasie.

I.1.5.1. La théorie hormonale

La croissance et les fonctions prostatiques sont régulées par les androgènes (testostérone, œstrogènes et dihydrotestostérone) et par les facteurs de croissance. La croissance de la prostate qui pèse 2 grammes chez l'enfant et 20 grammes à la puberté est corrélée à l'augmentation du taux de testostérone jusqu'à l'âge adulte (18-20 ans). Après la puberté, le poids de la prostate se stabilise et reste assez constant jusqu'à cinquante ans. La testostérone libre parvient jusqu'à la prostate par les vaisseaux sanguins puis elle est captée par les cellules prostatiques. Elle est alors convertie en dihydrotestostérone (androgène ayant une affinité à se lier aux récepteurs androgéniques deux fois plus puissant que la testostérone) (DHT) sous l'action de l'enzyme 5 α -réductase. Cette enzyme comprend deux isozymes : 5 α RD1 présente dans les cellules stromales et 5 α RD2 exprimée par les cellules épithéliales qui possède une affinité plus élevée pour la testostérone après la puberté. La DHT présente une affinité, deux à cinq fois, supérieure à celle de la testostérone pour se lier au récepteur des androgènes (AR). (**Vickman et al., 2020**). Lorsque l'AR est activé par la DHT, il régule

l'expression de gènes impliqués dans le développement et les fonctions prostatiques. Ainsi, il participe à la dérégulation de la croissance prostatique en émettant à la fois des signaux de prolifération et de survie dans les cellules épithéliales et les cellules stromales (**Gattolliat et al., 2015**). La testostérone est aussi convertie en œstrogènes par l'aromatase au niveau des cellules stromales qui va se lier sur deux récepteurs : ER α présent principalement dans ces mêmes cellules et ER β situé globalement au niveau des cellules épithéliales. L'activation du récepteur ER α engendre une prolifération cellulaire alors que le récepteur ER β a une action antiproliférative associée à un effet anti-inflammatoire (**Gattolliat et al., 2015**). Afin que la prostate garde un volume constant, il est nécessaire qu'un équilibre entre la prolifération et l'apoptose cellulaire soit maintenu.

I.1.5.2 La théorie métabolique

De récentes études statistiques et fondamentales (**De Nunzio et al., 2012**) ont mis en évidence une corrélation entre la survenue d'un syndrome métabolique et la survenue d'une HBP avec troubles urinaires et érectiles. Les facteurs de risque d'un syndrome métabolique sont l'existence de facteurs génétiques indéniables et d'un phénotype fœtal particulier. L'insulinorésistance lors du syndrome métabolique provoque une augmentation de l'insulinémie, de l'*Insulin Growth Factor-1* (IGF-1) et une augmentation du calcium ionisé cytosolique responsables d'une activation du système nerveux sympathique avec contraction des fibres musculaires prostatiques et une stimulation de la croissance de celles-ci.

I.1.5.3 La théorie sur le stress oxydatif

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées réactives (EOR) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des EOR (**Haleng et al., 2007**). C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, l'obésité, le cancer, les maladies dégénératives et des néoplasies (**Ikramuddin et al., 2015**). Au niveau de la prostate le stress oxydatif induit la libération excessive des radicaux libres qui pourraient conduire à l'hyperplasie ou une transformation précancéreuse de la prostate. Le niveau de l'hyperplasie bénigne de la prostate et sa croissance est fréquemment accompagné d'inflammation initié par la production des espèces oxygénées et nitrogénées réactives par les macrophages et neutrophiles (**Gacci et al., 2013**).

I.1.5.4 La théorie sur l'inflammation

La présence d'un infiltrat lymphocytaire (déjà présent à la 12^{ème} semaine de gestation) croissant tout au long de la vie semble être associé à la survenue de l'HBP. Les complications de

l'HBP surviennent statistiquement plus fréquemment chez les hommes ayant des infiltrats plus importants (**Oikonomopoulou et al., 2012**). Les lymphocytes T, B et les macrophages présents sécrètent alors des médiateurs (IL-2, IFN- γ , TGF, TNF- α) responsables de la croissance cellulaire stromale et glandulaire. De même, les cellules prostatiques sous condition de stimulation bactérienne ou virale, sont capables de sécréter de l'interleukine-1(IL-1) ou de l'interleukine-1(IL-5) responsables d'une croissance cellulaire locale et de l'amplification de la réponse cellulaire inflammatoire. Les cellules stromales sécrètent aussi une cytokine appelée (-CCL2 qui stimule la croissance épithéliale glandulaire.

Les facteurs expliquant l'inflammation prostatique sont doubles. D'une part, l'infection chronique pourrait être une origine à cette inflammation (*Escherichia coli*, virus divers dont virus de l'hépatite C, le virus humain du papilloma, et le virus humain de l'herpès virus HHV-8) dont la transmission est certainement sexuelle. Ces infections entraînent le chimiotactisme des cellules immunitaires. D'autre part, il existe peut-être une origine auto-immune à cette inflammation (**Liu et al., 2020**) .

En cas de lésions épithéliales canalaire, les enzymes protéolytiques du liquide séminal favorisent la constitution de brèches permettant le contact du stroma avec les spermatozoïdes et autres substances immunogènes dont l'antigène spécifique de la prostate. Ce contact entraînant une stimulation auto-immune responsable de la réaction immunitaire. Celle-ci, aboutit à la libération des cytokines telles que des Interleukines (IL- 1, 2, 6, 8, 13, 17, 18, 23), du *Transforming Growth Factor-alpha* (TGF- α), de l'*Interféron-gamma* (IFN- γ), et du *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) et *Tumor Necrosis Factor* (TNF α). La plupart de ces médiateurs induisent une prolifération cellulaire et sont responsables de la croissance cellulaire stromale et glandulaire.

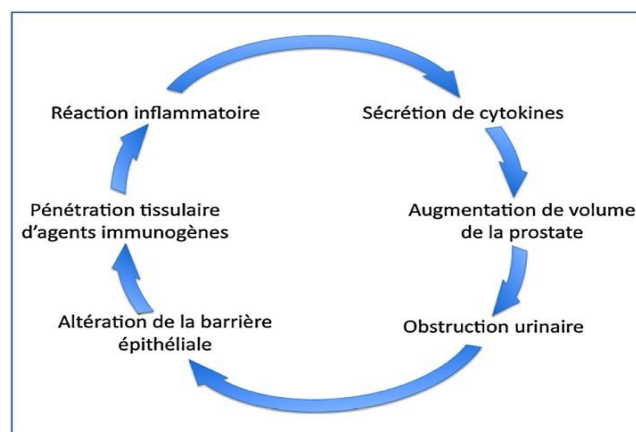


Figure 2 : Déséquilibre entre la prolifération et l'apoptose cellulaire dans l'HBP (Roehrborn, 2008).

I.1.6. Modèle expérimental *in vivo* de l'hyperplasie bénigne de la prostate

Pour tester de nouvelles substances anti-HBP, des modèles animaux *in vivo* sont nécessaires pour des tests pré-cliniques. Plusieurs modèles expérimentaux *in vivo* ont été développés chez certaines espèces par plusieurs méthodes comme reporté par **Mahapokai et al. (2000)**.

- La méthode d'induction hormonale qui se fait chez les rats mâles. L'HBP est induite par les hormones telles que les androgènes, les œstrogènes et les prostaglandines.
- La méthode de xénogreffe qui est établie avec des cellules dérivantes des cultures tissulaires humaines d'une prostate touchée par l'hyperplasie bénigne. Des échantillons chirurgicaux primaires contenant des acini et stroma histologiquement typiques de l'HBP sont implantés de manière sous cutanée chez les rats ou les souris immunodéficientes.
- La méthode transgénique qui se fait chez les souris transgéniques à la prolactine car celles-ci développent un élargissement significatif de la prostate et montrent des conditions pathologiques similaires à celle de l'HBP humaine.

Pendant ces tests expérimentaux *in vivo* plusieurs marqueurs et paramètres peuvent être dosés pour évaluer l'efficacité d'un traitement testé.

- **Antigène spécifique de la prostate** : marqueur tumoral spécifique de la prostate, utilisé pour diagnostiquer et suivre l'évolution de l'HBP
- **Volume de la prostate** : évalué par échographie ou MRI pour évaluer l'effet d'un traitement sur la taille de la prostate
- **Score d'histopathologie** : évaluation de l'histopathologie de la prostate pour déterminer le degré d'HBP
- **Inflammation** : mesurée par la présence des cytokines pro-inflammatoires ou cellules inflammatoires
- **Apoptose** : mesurée par la présence de cellules des cellules en apoptose
- **Prolifération cellulaire** : mesurée par la présence des cellules en division

I.1.7. Manifestations cliniques et diagnostic de l'hyperplasie bénigne de la prostate

L'HBP se manifeste cliniquement par une hésitante urinaire ou une pression émise lors des débuts urinaires, des infections urinaires fréquentes, dysfonctionnement sexuel et de rares pertes post-rénales. Ces manifestations causent une détérioration de la fonction urinaire et la qualité de vie des hommes. Les symptômes courants de l'HBP comprennent la nycturie, l'urgence urinaire, un faible jet d'urine, et une vidange incomplète de la vessie. (**Tauqeer et al., 2023 ; Ishola et al., 2017**).

I.1.8. Traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate

Il existe deux approches de traitements de l'HBP en fonction du degré de complication.

- Traitements médicamenteux (Inhibiteurs de la 5α -réductase, $\alpha 1$ -bloquants) pour des cas moins compliqués
- Traitements chirurgicaux en cas de complications

Tableau I : Différents types de traitements de l’HBP et effets indésirables (Baboudjian et al., 2021)

Traitements	Actions	Exemples	Effets indésirables
Alpha bloquants	Ils entraînent un relâchement de l’urètre prostatique, du col vésical ainsi qu’une réduction de la composante dynamique de l’obstruction sous vésicale. Leurs actions permettent d’améliorer la miction et les symptômes de l’HBP	Tamsulosine Silodosine	Troubles de l’éjaculation ; Vertige ; Diarrhée
Inhibiteurs de la 5 alpha réductase	Ils bloquent la conversion de la testostérone en DHT dans les cellules stromales et épithéliales prostatiques provoquant l’apoptose des cellules épithéliales.	Finastéride Dutastéride	Diminution de la libido ; Douleurs testiculaires ; Diminution de la qualité du sperme ; Diminution du volume d’éjaculation.
Traitements chirurgicaux	Ils sont recommandés en cas d’HBP compliquée	Résection transurétrale de la prostate ; Incision cervico-prostatique ; Adénectomie par voie haute	Majoritairement les infections post opératoires

➤ Phytothérapie et HBP

L’utilisation d’extraits de plantes pour le traitement ou la prévention de l’HBP a été signalée pour la première fois en Égypte au XV^{ème} siècle avant JC. Malgré l’insuffisance de preuves scientifiques, de nombreux composés végétaux sont utilisés jusqu’à ce jour pour traiter cliniquement l’HBP. Ces produits étant une combinaison de divers principes actifs. En effet la phytothérapie présente peu d’effets secondaires et par conséquent sont utiles pour le développement de la médecine alternative et ou complémentaire dans la prise en charge de l’HBP (Tsunemori et Sugimoto, 2021). Il persiste néanmoins des doutes quant à la validation scientifique de la phytothérapie, notamment en termes d’efficacité ou de sécurité interpellant ainsi à plus d’études scientifiques.

Quelques plantes dont les effets sur l’HBP ont été démontrées : *Serenoa repens*, *Epilobium parviflorum*, *Secale cereale*, *pygeum africanum*, *Urtica dioica*, *Vaccinium macrocarpon*, *Prunus africana* ...etc

I.2. Généralités sur *Dichrostachys glomerata* (*D. glomerata*)

D. glomerata encore appelé *Dichrostachys cinérea* ou *Dichrostachys nyassama* est une plante herbacée de la famille des *Mimosaceae*, originaire d'Afrique tropicale. Elle est communément appelée oreille de lapin en français et « Forkss » à l'Ouest Cameroun (**Pavela et al., 2016**).

I.2.1. Systématique de *Dichrostachys glomerata*

Selon la classification taxonomique de **Koudou et al.(1994)** *D. glomerata* appartient au/à :

Règne : *Trachéophytes*

Classe : *Magnoliophytes*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Mimosaceae*

Genre : *Dichrostachys*

Espèce : *Dichrostachys glomerata*

I.2.2. Caractéristiques de *Dichrostachys glomerata*

D. glomerata est une plante arbustive atteignant 2 à 7 m de haut. La plante est caractérisée par sa tige souvent armée d'épines et ses feuilles bipennées de couleur vert clair ayant de nombreuses paires de folioles. Les fleurs sont petites et peu visibles, de couleur jaune clair et regroupées en inflorescences globuleuses. Les fruits sont des gousses plates, brunes à maturité, qui contiennent de nombreuses graines noires (**Samseny et al., 2015**).



Figure 3 : *Dichrostachys glomerata* (weakley et SE flora, 2023)

I.2.3. Habitat et distribution de *Dichrostachys glomerata*

D. glomerata est très largement réparti, depuis l'Asie tropicale ; l'Australie jusqu'aux Caraïbes et en Afrique. En Afrique, elle est présente dans toutes les régions notamment en savane herbeuse, en forêt claire et près de la côte. Il est souvent présent sur des sols argileux lourds, mais également sur des sols sablonneux plus secs. Il est assez résistant à la sécheresse mais ne tolère pas l'asphyxie racinaire (**Group et al., 2013**).

I.2.4 Utilisation traditionnelle

D. glomerata est une plante médicinale utilisée depuis des siècles dans la médecine traditionnelle africaine et indienne pour traiter plusieurs variétés de maladies. Toutes les parties de la plante sont utilisées, sauf les inflorescences. L'écorce est utilisée pour traiter les maladies telles que l'épilepsie, les morsures de serpent, les piqûres de scorpion, les problèmes gynécologiques, la stérilité. Les feuilles servent pour le traitement des abcès, des furoncles, des maux de dent et de la tête comme antalgique, les problèmes oculaires, la pneumonie, l'asthme, les rhumatismes, troubles digestifs, maladies respiratoires et affection cutanée (**Group et al., 2013**). Les fruits connu sous le nom de quatre cotés sont couramment utilisés comme épices à l'Ouest Cameroun (**Kothari et al., 2014**).

I.2.5. Composition chimique et activités biologiques de *D. glomerata*

Le screening phytochimique d'extraits des parties aériennes a montré la présence des métabolites secondaires : flavonoïdes, tanins, stérols, alcaloïdes et saponines (**Group et al., 2013**).

L'Apirivine, obtenue après décoction des feuilles a été breveté au brevet n° wo2004/052384 grâce à son effet antiviral sur le virus du VIH par réduction de la charge virale à un seuil indétectable et augmentation du taux de CD4+ (**Agon et Kinnoudo, 2008**). En outre, les fractions flavonoïdes des feuilles possèdent des activités antiradicalaires DPPH et ABTS (**Okpara et al., 2016**). L'effet de l'extrait éthanoïque des feuilles sur la mémoire visuo-spatiale de la fonction post crise épileptique chez les souris a été démontré (**Monday et Okon, 2021**). Les activités antimicrobiennes et analgésiques de *D. glomerata* ont également été démontrées (**Owhorji et al., 2018**) ; **Susithra et Jayakumari, 2018**).

Les fruits ou épices de *D. glomerata* sont par contre plus exploités dans la résolution des problèmes dus aux troubles métaboliques. L'extrait aqueux de l'épice appelé *D. glomerata* à la dose de 300 mg/kg par jour après 12 semaines de traitements diminue efficacement la graisse corporelle et les complications associées (**Azantsa et al., 2015**). *D. glomerata* possède également des activités antioxydantes DPPH et FRAP *in vitro* et *in vivo* (**Kuate et al., 2013**). En outre, *D. glomerata* a

montré des effets prometteurs chez des patients atteints de COVID 19 car 07 jours après consommation les symptômes disparaissent et aucun effet secondaire ni réaction allergique n'a été détectée (**Ouédraogo et al., 2023**) .

I.3. Généralités sur *Prunus africana* (*P. africana*)

L'appellation *Prunus* dérive du mot latin *prunus* qui fait référence à la famille des pruniers et son nom scientifique *P. africana* indique une origine africaine de l'espèce (**Komakech et al., 2017a**). C'est une plante de la famille des *Rosaceae* ; communément appelée merisier ou prunier d'Afrique (*African cherry*), amandier amer (*bitter almond*) ou bois puant (*red stinkwood*). Elle est également connue sous de nombreuses dénominations vernaculaires au Cameroun : *kanda stick* en Pidgin, *wotango* en *Bakweri*, *alumty* en *Ngemba*, *Vla* en *Oku*, *kirah* en *Banso Bamenda*, puis *dalehi* en *Fulfulde* (**Das et al., 2011**).

I.3.1. Systématique

Selon la classification taxonomique de **Guignard et Dupont (2005)** *P. africana* appartient au/à :

Règne : *Plantae*

Classe : *Magnoliophyta*

Ordre : *Rosales*

Famille : *Rosaceae*

Genre : *prunus*

Espèce : *prunus africana*

I.3.2 Caractéristiques de *Prunus africana*

Prunus africana est une espèce d'arbre à feuilles persistantes. C'est un arbre forestier d'altitude, poussant dans les hautes terres humides et semi-humides. À maturité, *P. africana* mesure environ 10 à 25 m de haut avec des branches ouvertes. Les feuilles sont alternes et simples, mesurant environ 8 à 20 cm de longueur, vert foncé sur le dessus et vert pâle en dessous avec des marges légèrement dentelées. Les fleurs sont petites, blanches ou verdâtres. Les fruits sont sphériques, brun violacé et bilobés, avec un péricarpe fin et coriace. Les graines sont jaune-brun et de forme ovale comme le montre la figure ci-après (**Komakech et al., 2017b**).

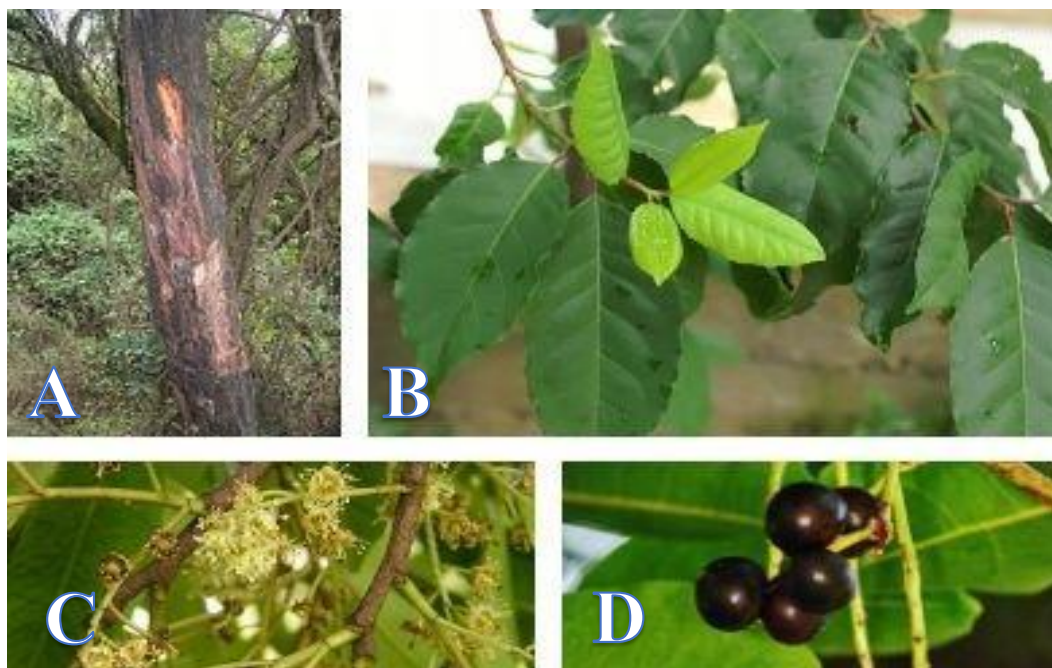


Figure 4 : Planche botanique de prunier d’Afrique ou *Prunus africana* (Khela, 2014).

A = tronc(écorces) ; B = feuilles ; C = fleurs ; D = fruits

I.3.3. Habitat et distribution de *Prunus africana*

P. africana est une espèce endémique d’Afrique subsaharienne. C’est l’une des espèces d’arbre médicinales les plus commercialisées dans le monde, c’est un arbre qui pousse dans les forêts afro montagnardes, sur le sol volcanique et sous le climat frais d’altitude. Dans son aire de distribution, les populations de *Prunus* sont discontinues, et fragmentées (Grace, 2019). Elle englobe le Cameroun, Côte d’Ivoire, Bioko, Sao Tomé, Ethiopie, Kenya, Rwanda, Guinée équatoriale, le Lesotho, le Malawi, le Mozambique, le Nigeria l’Angola, le Burundi, Zambie, Zimbabwe, Swaziland, Tanzanie Ouganda, Afrique du Sud, Madagascar, Soudan du Sud, et République Démocratique du Congo (Jimu, 2011).

I.3.4. Utilisation traditionnelle

Prunus africana est un arbre à usages multiples dont les différentes parties (écorces, racines, feuilles, fruits, tronc, etc.) se prêtent à plusieurs utilisations artisanales pour le traitement et la gestion de plusieurs maladies. Ainsi, les feuilles, les racines et les écorces sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle comme fébrifuge pour le traitement des maux d'estomac, des pathologies de la prostate, de l'infection pulmonaire (douleur de la poitrine), du paludisme, de la fièvre, des maladies sexuellement transmissibles et des blessures. En outre, l'écorce est également utilisée pour réguler la pression sanguine, traiter l'asthme et les troubles mentaux (Bodeker et al., 2014) ; Komakech et

Kang, 2019). De plus les écorces et feuilles, constituent un purgatif pour le bétail et les fruits sont consommés par plusieurs oiseaux, animaux et insectes.

I.3.5. Composition chimique et activités biologiques de *Prunus africana*

Les extraits *P. africana* sont commercialisés avec succès depuis des décennies principalement pour traiter les troubles de miction associés à l'HBP (**Rubegeta et al., 2022**). Dans le cas des pathologies de la prostate l'activité biologique a été largement associée aux phytostérols principalement le 3-b sitérol, le 3-b sitesténome, le «3-b stérol et les glycosides qui inhibent la production de prostaglandines dans la prostate suppriment ainsi les symptômes inflammatoire associés à l'HBP et la prostatite chronique (**Rubegeta et al., 2022**).

Les composés bioactifs que sont la beta amyryne et la beta sitérol-3-o-glycoside ont montré une cytotoxicité sélective envers les lignées cellulaires cancéreuses humaines carcinome colorectal (caco2) et embryonnaire (HEK 293), malgré cela, l'extrait brute est plus actif sur les modèles d'HBP chez les rats que tous les groupes de métabolites secondaires qui ont été extrait et testé (**Maiyoo et al., 2016**). L'extrait méthanoïque de *Prunus africana* est doué d'une activité antiproliférative chez les souris et est toxique pour les cellules Véro (**Omara et al., 2020**). Cependant, les extraits aqueux des feuilles, racines et écorces de *P. africana* ont montré une activité anti-inflammatoire, antioxydante, antipaludéen, antiprolifératif (**Madivoli et al., 2018**) ; (**Komakech et al., 2017**) ; (**Mutuma et al., 2020**) .

Concernant la toxicité de *P. africana*, **Karami et Mehdipour (2013)** ont montré que l'extrait n'avait aucun effet délétère chez les souris testés mais a présenté quelques signe de toxicité (diminution de l'appétit, perte de poids, augmentation de la fréquence urinaire, convulsion, tremblement et bien d'autres) à des doses supérieures à 2000 mg/kg.

I.4. Généralités sur la toxicité

I.4.1. Notion d'effet toxique

L'effet toxique est la capacité inhérente à une substance de produire des effets nocifs chez un organisme vivant et qui en font une substance dangereuse. Ainsi l'effet néfaste est lié à la dose, à la voie d'absorption, au type et à la gravité des lésions ainsi qu'au temps nécessaire à l'apparition d'une lésion (**Gille et al., 2004**) .

I.4.2. Les différentes formes de toxicité

➤ Toxicité aiguë

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances administrées (**Garcia-Villar et al., 1981**).

Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la dose létale 50 (DL50). La DL50 est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée (**Oliver, 1986**).

➤ **Toxicité subaiguë**

La toxicité subaiguë concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes. La substance à tester est administrée quotidiennement à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux. (**OCDE, 2008**).

➤ **Toxicité chronique**

Le but d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée. La substance d'essai est administrée quotidiennement à plusieurs groupes d'animaux d'expérience à des doses progressives, en général pendant une période de 12 mois. Cette durée est assez longue pour permettre aux effets de toxicité cumulée de se manifester, tout en évitant les effets perturbateurs des changements liés au vieillissement (**OCDE, 2009**).

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

II.1. MATÉRIEL

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le cadre de ce travail était constitué des écorces de *Prunus africana* récolté en janvier 2023 et des feuilles et de *Dichrostachys glomerata* cueillit en septembre 2023 provenant respectivement de la région du Sud-ouest (Buea) et du jardin botanique du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé 1.



Figure 5 : (A) Feuilles de *Dichrostachys glomerata* ; (B) écorce de *prunus africana* (photos : Foundikou, 2023).

II.1.2. Matériel biologique

Clairance éthique **No: BTC-JIRB2024-106**

Les rats mâles *Wistar* âgés de 02 à 03 mois, ayant un poids compris entre 170 et 230 g et les souris mâles *Swiss albinos* adultes ayant un poids compris entre 20 et 30 g ont été utilisés dans cette étude. Ces animaux provenaient de l'animalerie du Centre de Recherche en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle (CRPMT) de l'Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM).

II.1.3. Matériel de laboratoire

➤ Réactifs

- Acide trichloroacétique
- Acide orthophosphorique
- Acide thiobarbiturique
- Acide chloridrique
- Bleu de coomassie

- Dichromate de potassium
 - DPPH
 - Carbonate de sodium
 - Propionate de testostérone
 - Finasteride
- **Appareils et verrerie**
- Spectrophotomètre (UV-1605 Shimadzu)
 - Centrifugeuse
 - Bain marine
 - Etuve
 - Balance sensible (OHAUS)
 - Pied à coulisse

II.2 METHODES

II.2.1. Préparation des extraits de plantes

La préparation de l'extrait aqueux de *D. glomerata* a été réalisée selon le protocole décrit par **Agon et al. (2008)**. En effet, 500 grammes (g) de la plante ont été immergés dans 2 litres (L) d'eau distillée et le mélange a été porté à ébullition pendant 45 minutes (min). Durant la phase d'ébullition, 1 L d'eau distillée a été ajouté pour compenser la quantité d'eau évaporée. Après l'ébullition, le mélange a été mis au repos pendant 6 heures (h), filtré à l'aide d'un tamis aux mailles de 0,8 mm de diamètre et le filtrat obtenu a été séché à l'étuve à 45°C pendant 24h. L'extrait aqueux de *D. glomerata* obtenu (M5) a été conservé dans un bocal hermétiquement fermé à 4°C.

La préparation de l'extrait aqueux de *P. africana* a été faite selon le protocole d'**Asuzu et al., (2022)**. Ainsi, 50 g de poudre d'écorces de *P. africana* ont été macérés dans 1 L d'eau distillée pendant 24 h à température ambiante (TA). Le mélange a ensuite été filtré à l'aide d'un tamis en tissus de 0,8 mm de maille et le filtrat obtenu a été séché à l'étuve à 45°C pendant 24 h. l'extrait aqueux de *P. africana* obtenu (M1) a été conservé à l'abri de l'humidité.

II.2.1.3. Préparation des combinaisons de *P. africana* et *D. glomerata*

Les combinaisons des extraits de *P. africana* et *D. glomerata* ont été obtenues à travers une matrice conçue à l'aide du logiciel STATISTICA version 10. Les différents mélanges d'extraits de plantes sont mentionnés dans le tableau II.

Tableau II : Matrice de mélanges des extraits aqueux de *P. africana* et *D. glomerata*

Formulations	<i>P. africana</i> (%)	<i>D. glomerata</i> (%)
M1	100	0
M2	75	25
M3	50	50
M4	25	75
M5	0	100

II.2.2. Evaluation des activités antioxydantes *in vitro*

II.2.2.1. Dosage des composés phénoliques

La quantité de composés phénoliques des différentes combinaisons a été déterminée selon la méthode de Singleton et Rossi (1965) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Principe

En milieu alcalin et en présence de Folin-Ciocalteu, les phénols s'oxydent et forment un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Le réactif de Folin-Ciocalteu, acide fort de couleur jaune, formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) se réduit lors de cette réaction. La coloration bleue obtenue dont l'absorption maximale est faite à 760 nm est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans les extraits.

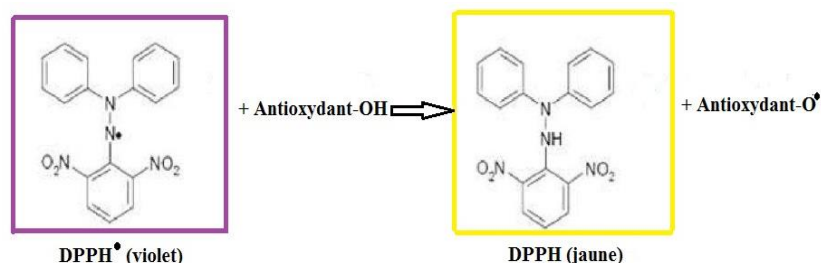
Mode opératoire

Dans un tube à essai, ont été introduits respectivement : 75 μ L d'extrait à la concentration 500 μ g/mL, 675 μ L d'eau distillée, 500 μ L de réactif de Folin. Le mélange a été incubé pendant 3min à température ambiante (TA) puis 750 μ L de Na_2CO_3 20% y ont été ajoutés. La lecture des densités optiques des mélanges s'est faite à 760 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu contre un blanc dépourvu d'extrait après 1h d'incubation à TA et à l'obscurité. L'acide gallique a été utilisé comme étalon. Après calcul à partir de la droite d'étalonnage, les concentrations de composés phénoliques présents dans les mélanges d'extraits ont été exprimées en μ g équivalent d'acide gallique (EAG)/mg d'extrait.

II.2.2.2. Évaluation de l'activité anti-radicalaire DPPH

Principe

Le 1,1'-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH•) est un radical instable de couleur violette qui absorbe à 517 nm. En présence des composés antiradicalaires, suite à un transfert d'un atome d'hydrogène, le DPPH• est réduit en un composé de couleur jaune : DPPH-H plus stable dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés contenus dans l'extrait à analyser. Cette réduction est traduite par une diminution de la D.O à 517nm.



Mode opératoire

Un volume de 500 µL de chaque solution d'extrait aux concentrations 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000 µg/mL a été introduit dans différents tubes à essais. Ensuite, 500 µL d'une solution méthanoïque de DPPH 400 µM fraîchement préparé ont été ajoutés. Après incubation (TA, 30 min, obscurité), La lecture des densités optiques s'est faite à 517 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu contre le blanc constitué du mélange méthanol et d'eau distillée. La catéchine aux concentrations 0,1 ; 1 ; 10 ; 100 µg/mL a été utilisé comme standard.

L'activité antiradicalaire (exprimée en pourcentage de radical DPPH• réduit) a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [1 - (\text{DO échantillon} / \text{DO contrôle})] \times 100$$

II.2.2.3. Évaluation du pouvoir réducteur FRAP « Ferric Reducing Antioxidant Power »

Principe

Cette méthode repose sur la capacité d'un antioxydant à réduire le fer à faible pH. En effet, en milieu acide, le complexe tripyridyltriazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en complexe tripyridyltriazine ferreux (Fe^{2+} -TPTZ) de couleur bleu intense absorbant à 593 nm et dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'antioxydants présents dans le milieu réactionnel (Benzie et Strain, 1996).

Mode opératoire

Un volume de 75 µL de chaque combinaison d'extrait à la concentration 1 mg/mL a été introduit dans différents tubes à essais. Ensuite, 2 mL du réactif de FRAP ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 20 min à TA et à l'obscurité. Les absorbances ont été lues à 593 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu contre un blanc constitué de l'eau distillée (Alam et

al., 2013). L'activité réductrice du fer a été exprimée en μg équivalent de catéchine (μgEAG)/mg d'extrait sec après extrapolation linéaire à partir de la courbe d'étalonnage à base de catéchine aux concentrations de 0,1 ; 1 ; 10 et 100 $\mu\text{g/ml}$.

II.2.3. Etude de la toxicité aiguë de la combinaison M2

L'étude de la toxicité aiguë a consisté à évaluer la dose létale 50 (DL_{50}) et/ou l'effet toxique de la combinaison sélectionnée selon la méthode décrite par **Peters et al. (2016)** et suivant le protocole de la ligne directrice 423 de l'Organisation pour la Coopération et le Développement Economique pour les essais de produits chimiques adopté en 2008 (OCDE, 2001b). Ainsi, six (06) souris ont été réparties en 2 lots de 03 animaux chacun. Avant l'administration de l'extrait, les animaux ont été privés de nourriture mais alimentés en eau pendant 12 h, puis pesés. A l'aide d'une sonde œsophagienne, l'extrait a été administrée à la dose de 5000 mg/kg et le lot témoin a reçu de l'eau distillée uniquement. Les animaux ont été ensuite placés dans des cages individuelles et les changements de comportement (réaction au bruit, agressivité, sensibilité à la douleur et anomalie posturale, pertes de poils, aspect des selles, aspect du pelage, salivation, tremblements, couleur des yeux, respiration ainsi que le nombre de décès) ont été observés 30 min, 2 h, 4 h et 8 h après l'administration puis une fois par jour pendant 14 jours. Deux heures après gavage, les souris ont eu accès libre à la nourriture et à l'eau potable. Les animaux ont été pesés quotidiennement durant toute l'expérimentation. À la fin de l'expérimentation les souris ont été tué par euthanasies

II.2.4. Evaluation *in vivo* de l'effet protecteur de la combinaison M2 contre l'hyperplasie bénigne de la prostate.

II.2.4.1. Induction de l'hyperplasie bénigne de la prostate

L'hyperplasie bénigne de la prostate a été induite chez les rats mâles par administration sous cutanée de l'énanthate de testostérone à la dose de 3 mg/kg (dilué dans l'huile de pistache) de masse corporelle selon le protocole de **Nahata et Dixit (2011)**. Les groupes tests et témoin positif ont été traités par la combinaison M2 ayant présenté de meilleurs activités antioxydantes aux doses de 125, 250 et 500 mg/kg de masse corporelle, et la finastéride (molécule de référence) à la dose de 5 mg/kg de masse corporelle respectivement.

Les rats sélectionnés pour l'expérimentation ont été acclimatés (02 semaines, TA), soumis à un cycle (lumière/obscurité) journalier normal, alimentés en eau potable et nourris régulièrement à base d'une diète normale. Après acclimatation, les animaux ont été randomisés selon leur masse en 6 groupes de cinq animaux chacun et traités comme suit :

Groupe 1- Témoin normal (Nor) : animaux sains ayant reçu par voie sous cutanée l'huile de pistache (0,2 mL/jr) et par voie orale 2 mL d'eau distillé ;

Groupe 2- Témoin négatif (TN) : animaux sains ayant reçu 0,2 mL de testostérone (3 mg/kg/jr) par voie sous cutanée et par voie orale 2 mL d'eau distillée ;

Groupe 3- Témoin positif (TP) : animaux sains ayant reçu 0,2 mL de testostérone (3mg/kg/jr) par voie sous cutanée et 2 mL de finastéride (5 mg/kg) par voie orale ;

Groupe 4, 5, 6- Tests M2₁₂₅, M2₂₅₀, M2₅₀₀ : animaux sains ayant reçu 0,2 mL de testostérone (3 mg/kg/jr) par voie sous cutanée et par gavage 2 mL d'extrait M2 aux doses 125, 250, 500 mg/kg/jr respectivement ;

Le traitement a été administré de façon journalière pendant une durée de 28 jours. Les masses corporelles des animaux ont été prises tous les 07 jours.

➤ **Sacrifice des animaux et préparation du sérum**

Les animaux ont été sacrifiés au 28^{ième} jour. A cet effet, les animaux ont été soumis à un jeûne non hydrique de 12 h puis anesthésiés en utilisant de l'éther et sacrifiés par décapitation cervicale. Le sang artéro-veineux de chaque animal a été collecté dans des tubes à essais secs de 5 mL préalablement étiquetés ; ensuite il a été centrifugé (3000 Tr/min, 15 min, 4 °C) et le surnageant a été conservé à 20 °C pour des analyses biochimiques ultérieures. Par ailleurs, les animaux ont été disséqués et les différents organes à l'instar de la prostate, le rein, la rate, le foie ont été prélevés puis pesés à l'aide d'une balance sensible (OHAUS).

➤ **Préparation des homogénats de prostate**

Vingt milligrammes de la prostate ont été prélevés et broyés dans 1 mL le tampon PBS « Phosphate Bovine Saline » (0,1M, pH 6,6) pour la préparation des homogénats (2 %). Ces derniers ont été centrifugés (3000 tr/min, 15 min, 4°C) et les surnageant ont été collectés et conservés à – 20 °C pour des analyses biochimiques ultérieures. Les différents tissus prostatiques prélevés ont été fixés dans du formol 10 % pour des études histologiques.

II.2.4.2. Détermination de quelques paramètres physiologiques chez les rats ayant subi le test d'HBP induit par la testostérone

➤ **Volume de la prostate**

La forme de la prostate étant considérée comme un ellipsoïde, son volume apparent a été déterminé à partir de la largeur (mesure transversale), la hauteur (mesure sagittale) et l'épaisseur (mesure antéropostérieure) selon la méthode décrite par **Rahul et al. (2014)**. Les dimensions de prostate ont été mesurées à l'aide du pied à coulisse avec 1 mm de précision chez chaque animal. Ce volume apparent a été calculé avec la formule développée par **Rahul et al. (2014)**.

$$\text{Volume} = 0,52 (L \times H \times e)$$

L= longueur ; H = hauteur ; e = épaisseur.

➤ Index prostatique

L'index prostatique (IP) ou la masse relative de la prostate est le rapport de la masse de la prostate sur la masse corporelle. l'IP a été calculé selon la formule développée par **Papaemmanuil et al. (2013)** .

$$\text{IP} = (\text{masse de la prostate (MP)} / \text{masse corporelle (MC)}) \times 100$$

➤ Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition de l'augmentation de la masse prostatique a été calculé par la formule

$$\text{suivante : \% d'inhibition} = 100 - \frac{\text{MP Groupe test} - \text{MP groupe témoin normal}}{\text{MP groupe témoin négatif} - \text{MP groupe témoins normal}} * 100$$

Avec MP = masse moyenne du groupe test

II.2.4.3. Détermination de la teneur en protéines totales contenues dans l'homogénat de la prostate des rats

La détermination de la teneur en protéines totales contenues dans les homogénats prostatiques des rats a été faite selon la méthode de Bradford.

Principe

Le dosage colorimétrique de la teneur en protéines totales est basé sur la fixation du bleu de Coomassie G 250 en milieu acide sur les résidus hydrophobes d'acides aminés constituant une protéine donnant ainsi une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présentes. Le complexe formé absorbe à un maximum de 595 nm.

Mode opératoire

Dans un tube à essai, un volume de 50 µL d'homogénat prostatique a été mélangé à 450 µL de tampon phosphate (0,1 M ; pH = 6,6) et 500 µL de réactif de Bradford. Après incubation (30 min, TA, obscurité), les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu contre un blanc constitué de 500 µL réactif de Bradford et de 500 µL tampon phosphate. Le BSA aux concentrations (0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) a été utilisé comme étalon. La concentration en protéines totales présente dans chaque homogénat a été exprimée en µg équivalent de BSA par mL d'homogénat (µg Eq BSA/mL).

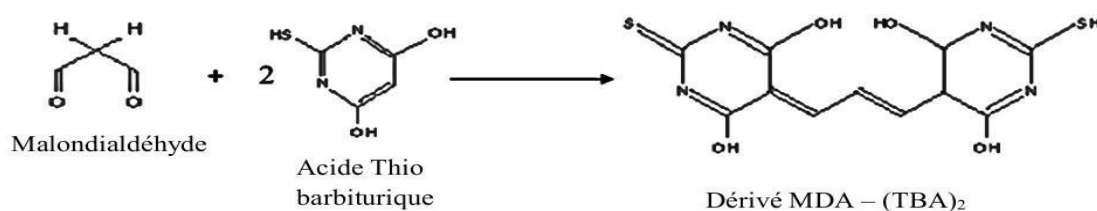
II.2.4.4. Évaluation de l'effet de la combinaison de *P. Africana* et *D. glomerata* sur quelques marqueurs biochimiques chez les rats

➤ Estimation du taux de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est un céto-aldéhyde physiologique produit lors de la décomposition peroxydative des lipides insaturés et est utilisé comme indicateur de dommage tissulaire par les radicaux libres. La mesure quantitative de la peroxydation lipidique de la prostate a été effectuée selon le protocole décrit par **Yagi (1976)**.

Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde issue de la décomposition des hydroperoxydes d'acide gras réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et chaud, pour donner des chromophores de couleur rose qui présentent un maximum d'absorption à 532 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de MDA présente dans le milieu.



Mode opératoire

Un volume de 100 µL d'homogénat a été mélangé avec 400 µL du mélange réactionnel (TBA 0,375 %, TCA 20 %, et HCL 1 N). Le mélange a été chauffé au bain marie à 100 °C pendant 15 minutes, a été refroidi, puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant obtenu a été lue à 532 nm contre le blanc à l'aide d'un Spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu. Le blanc a été préparé en parallèle suivant le même protocole, en remplaçant l'homogénat par l'eau distillée. La concentration en MDA a été déterminée, en utilisant le coefficient d'extinction molaire

(ϵ) du chromophore ($\epsilon_{\text{MDA}} = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} = 0,153 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) et a été exprimée en µM.

[MDA](µM)=DO échantillon/ ($\epsilon \cdot l$) en µmol/L

DO : Densité Optique de l'échantillon ;

l : longueur de la cuve (1cm)

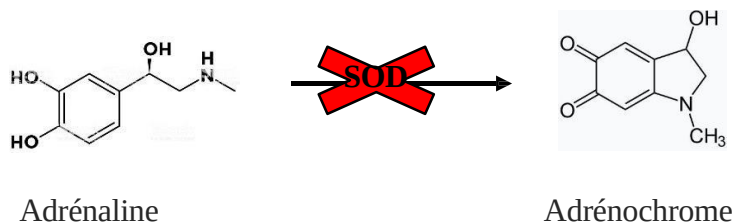
➤ Evaluation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

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

Principe

La méthode est basée sur l'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome par la SOD présente dans l'échantillon. La variation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité de

la SOD, est notée toutes les 30 secondes pendant 150 secondes et à une absorbance de 480 nm.



Mode opératoire

Un volume de 50 μL d'homogénat a été ajouté dans le mélange réactionnel contenant 550 μL de tampon carbonate ($\text{pH} = 10,2$; 0,05 M) et 100 μL d'adrénaline (0,3 mM) préparé dans le tampon carbonate. La DO de ce mélange a été rapidement lu à 480 nm toutes les 30 s pendant 150 s contre le blanc qui a été préparé suivant le même protocole et avec 50 μL d'eau distillée comme substitut de l'homogénat. L'activité enzymatique a été exprimée en unité de SOD/ μg de protéines et calculée selon la formule ci-dessous. 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 (50% d'inhibition = 1UI).

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\Delta\text{DO du blanc} - \Delta\text{DO de l'échantillon})}{\Delta\text{DO du blanc}} \times 100$$

$$\text{SOD unités/ mg Prot} = \frac{\text{SOD} \frac{\text{unités}}{\text{mL}}}{\text{prot} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)} \times \text{facteur de dilution}$$

➤ Evaluation de l'activité de la catalase

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

Principe

Cette méthode est basée sur l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène à partir de l'action de la catalase présente dans l'échantillon (homogénat). L'eau oxygénée (H_2O_2) restée après action de la catalase, réduit à chaud le dichromate de potassium en présence de l'acide acétique en acétate de chrome de coloration verte ; avec pour intermédiaire réactionnel l'acide perchromique. Qui c'est un composé instable de coloration bleu vert. L'acétate de chrome produit est mesuré à 620 nm.

Catalase



Mode opératoire

Un volume de 100 μL de peroxyde d'hydrogène et 100 μL de tampon phosphate (KH_2PO_4 ; 0,1 M ; $\text{pH} 7$) sont combinés à 50 μL d'homogénat. Après une minute d'incubation, 500 μL de dichromate

d'acétate ont été ajouté au milieu réactionnel afin de stopper la réaction. Ensuite, le mélange a été incubé au bain marie à 100°C pendant 10 minutes. L'absorbance a été lue à 620 nm contre le blanc dans lequel l'échantillon est remplacé par le tampon. L'activité de la catalase a été déterminée à partir de l'équation de la droite d'étalonnage du H₂O₂ et a été exprimée en μmol de peroxyde d'hydrogène consommé par minutes par μg de protéines ($\mu\text{mol} / \text{min} / \mu\text{g}$ de protéines).

$$\text{Activité de la catalase } (\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg protéine}) = \text{H}_2\text{O}_2 (\mu\text{mol} / \text{mL}) / t * c$$

$$\text{H}_2\text{O}_2 (\mu\text{mol} / \text{mL}) = (\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon} / a)$$

a= Valeur de la pente de la courbe d'étalonnage ;

t=Temps réactionnel (1min) ;

c= Concentration protéine en $\mu\text{g} / \text{mL}$;

DO=Densité Optique

II.2.4.5. Analyse histologique

L'analyse histologique de la prostate a été réalisée suivant le protocole de **Rothman et al., (2015)**. Elle s'est faite suivant plusieurs étapes à savoir : la fixation, le "trimming", la déshydratation, et l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

➤ La fixation

Les organes prélevés ont été fixés dans du formol tamponné 10 % pendant environ 30 jours.

➤ La Recoupe ou "trimming",

Après fixation, une fine tranche de chaque prostate fixée a été prélevée et placée dans des cassettes en plastique préalablement étiquetées.

➤ La Déshydratation,

Au cours de cette étape, les cassettes ont préalablement été introduites, dans 6 bacs contenant de l'alcool éthylique de degrés croissants à une durée déterminée : 1 bac d'éthanol 70° (1 h), 2 bacs d'éthanol 95° (1 h et 1 h 30), et 3 bacs d'éthanol 100° (1 h, 1 h 30 et 2 h) (déshydratation proprement dite).

➤ L'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation

Après la sortie du 3e bac d'alcool 100°, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène pendant 1 h et 1 h30 respectivement, puis dans une série de 3 bacs de paraffine en fusion (60°C) à raison de 1 h, 1 h 30 et 2 h respectivement (imprégnation). Les portions d'organe ont été placées selon un sens d'orientation déterminé dans des moules en acier inoxydable, puis la surface du moule a été recouverte par la base de la cassette et le moule a été rempli de paraffine en fusion. L'ensemble a été mis à solidifier sur une plaque réfrigérante. La coupe a été faite à l'aide d'un microtome Reichert-

Jung, les blocs de paraffine contenant les organes ont été coupés à une épaisseur de 5 µm. Les sections de rubans obtenues ont été mises à déplier dans un bain marie (40°C) contenant de l'eau gélifiée (1 %), puis récupérées sur des lames porte-objets propres préalablement étiquetées. Les lames ont ensuite séjourné pendant 24 heures dans une étuve à 45°C. Au cours de cette étape, les coupes ont subi un déparaffinage et une réhydratation avant d'être colorées. Lors du déparaffinage, les coupes ont séjourné dans 3 bains de xylène (5 minutes par bain). Elles ont par la suite été réhydratées en passant successivement dans des bains d'alcool de degrés décroissants à savoir 3 bains d'éthanol 100°, 1 bain d'éthanol 95°, et un bain d'éthanol 70° et elles ont été rincées à l'eau distillée pendant 5 minutes. La technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (HE) a été utilisée. Les lames ont été plongées dans l'hématoxyline de Mayer (substance basophile qui colore les composants nucléaires en bleu noir) pendant 10 minutes puis rincées à l'eau courante. Ensuite, elles ont été plongées successivement dans des bacs contenant de l'éthanol 70° et 90° et ont été lavées pendant 5 minutes. Les lames ont séjourné 5 minutes dans de l'éosine alcoolique 0,5 %.

Après la coloration, les lames ont été déshydratées dans trois bains d'éthanol 100° puis éclaircies dans trois bains de xylène (5 minutes par bain). Une fois sorties du xylène, quelques gouttes de résine ont été déposées sur les coupes, puis ces dernières ont été recouvertes à l'aide de lamelles de verre pour observation au microscope (**Scientico STM-50**).

II.2.4.6. Détermination de la concentration des cytokines TNF α et IL-10

Le test « ELISA-Sandwich » a été utilisé pour déterminer la concentration des cytokines TNF α et IL-10 dans les sérums des animaux

Principe

Le principe de cette technique repose sur la visualisation d'une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction enzymatique colorimétrique. L'enzyme préalablement couplé d'un anticorps spécifique à TNF- α ou IL-10 du rat, en présence des échantillons (ou standards) catalyse une réaction chimique qui transforme le substrat en composé coloré en bleu. La valeur de l'absorbance est proportionnelle à la concentration de TNF- α ou IL10 présent dans l'échantillon.

Mode opératoire

Dans les puits appropriés, ont été introduits 100 µL d'étalon, du blanc et de l'échantillon. La microplaque a été couverte avec le scellant fourni dans le kit et incubé pendant 90 min à 37°C. Le liquide de chaque puits a ensuite été décanté. Immédiatement, 100 µL de la solution de détection biotinylé ont été ajoutés dans chaque puits et la plaque a été couverte avec un nouveau scellant puis incubée 1 heure à 37°C. La solution de chaque puits a été décantée à nouveau avant l'ajout de 350 µL de tampon de lavage dans chaque puits. Les solutions de chaque puits ont été trempées pendant 1 min,

aspiré et séchez sur du papier absorbant propre. Cette étape de lavage a été répétée 3 fois. Les bandelettes testées ont été utilisées immédiatement après l'étape de lavage. Cent μL de solution de travail HRP Conjugué ont ensuite été ajoutés dans chaque puits et la plaque scellée à nouveau puis incubée pendant 30 min à 37°C . La solution de chaque puits est à nouveau décantée et le processus de lavage répété 5 fois comme indiqué à l'étape 3. Dans chaque puits 90 μL de réactif ont été ajoutés. La plaque couverte avec un nouveau scellant et incubée environ 15 min à 37°C à l'abri de la lumière. Enfin 50 μL de solution d'arrêt ont été ajoutés dans chaque puits et immédiatement la densité optique de chaque puits a été lue avec un lecteur de microplaque réglé à 450 nm. Le calcul de la concentration de $\text{TNF-}\alpha$ ou IL-10 présent dans les échantillons a été fait en comparant la DO des échantillons à la courbe standard.

II.2.3. Analyses statistiques

L'analyse des variances des données et la comparaison des moyennes a été réalisée à l'aide du test ANOVA one way (post hoc, Tukey) seuil de significativité 5% ($p < 0,05$) grâce au logiciel SPSS (Statistical Package of Social Sciences) 20 pour Windows. Le tracé des graphes s'est fait à partir du tableur Excel et le logiciel Graph Pad Prism version 8.0.1.

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 RESULTATS

III.1.1. Rendement d'extraction

L'extraction aqueuse de 500 g de poudre d'écorce de *P. africana* a permis l'obtention de 6,20 g d'extract brut (M1), soit un rendement de 1,24 % ; tandis que l'extraction de 1,5 kg de la plante de *D. glomerata* a permis d'obtenir 47,5 g d'extract aqueux (M5), soit un rendement de 9,5 %.

III.1.2. Activités antioxydantes des extraits aqueux de *Prunus africana*, de *Dichrotachys glomerata* et leurs combinaison

III.1.2.1. Teneur en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques des différents extraits ont été déterminés à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 3). La figure 6 révèle que tous les extraits contiennent des composés phénoliques. Cependant, les extraits M1 et M2 ont les taux les plus élevés de composés phénoliques soit $26,26 \pm 1,3$ et $24,66 \pm 0,61$ EAG/mg d'extract respectivement. L'extract M5 est le moins riche en composés phénoliques avec une teneur de $6,36 \pm 0,20$ EAG/mg d'extract, tandis que les combinaisons M3 et M4 ont des teneurs en composés phénoliques de $21,44 \pm 1,73$ EAG/mg d'extract et $16,95 \pm 2,01$ EAG/mg d'extract respectivement. ($p < 0,05$)

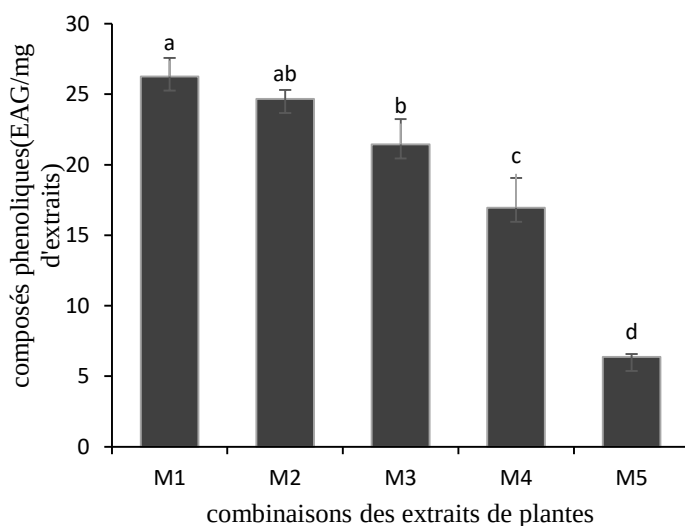


Figure 6 : Teneur en composés phénoliques des extraits de *P. africana* et *D. glomerata* et de leur combinaison.

M1 = 100 % *P. africana*; M2 = 75 % *P. africana* + 25 % *D. glomerata*; M3 = 50 % *P. africana* + 50 % *D. glomerata*; M4 = 25 % *P. africana* + 75 % *D. glomerata*; M5 = 100 % *D. glomerata*. $a > b > c > d$ à $p < 0,05$.

III.1.2.2. Activité anti-radicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire DPPH des différentes combinaisons est illustrée par la figure 7. Il en ressort que tous les extraits de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* et leurs combinaisons possèdent un pouvoir antiradicalaire. Cependant, la combinaison M2 présente la meilleure activité antiradicalaire DPPH à la concentration de 250 µg/mL soit avec un pourcentage d'inhibition de 65,72 % $\pm$ 1,31. La combinaison M5 quant à elle présente une faible activité antiradicalaire DPPH soit un pourcentage d'inhibition de 12,43% $\pm$ 1,91 à la concentration de 500 µg/mL.

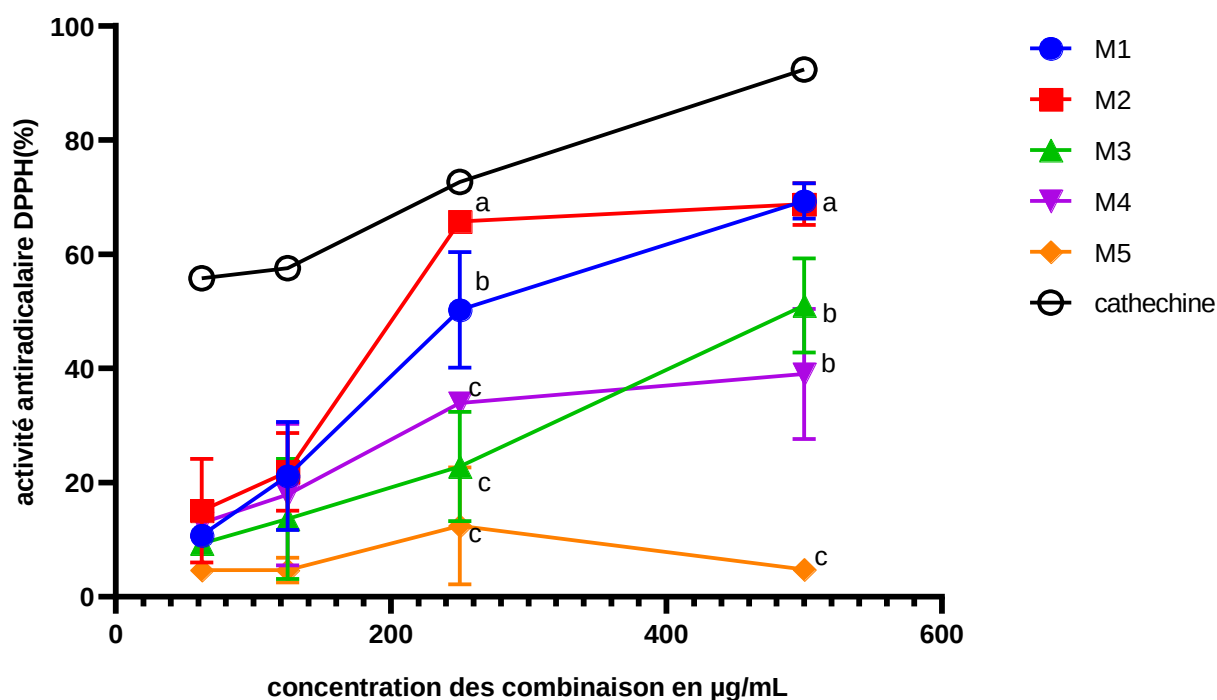


Figure 7 : Piégeage des radicaux DPPH par les extraits et différentes combinaisons de plante.

M1 = 100 % *P. africana*; M2 = 75 % *P. africana* + 25% *D. glomerata*; M3 = 50 % *P. africana* + 50 % *D. glomerata*; M4 = 25% *P. africana* + 75 % *D. glomerata*; M5 = 100 % *D. glomerata*.

III.1.2.3. Activité antioxydante FRAP

Le pouvoir réducteur du fer a été évalué par la méthode de FRAP à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 3). Il en découle que tous les extraits ont la capacité à réduire les ions ferriques en ions ferreux. Toutefois, M1 et M2 présentent les pouvoirs réducteurs les plus élevés soient 67,34 $\pm$ 0.10 et 64,27 $\pm$ 0.21 µg EAG/mg d'extrait respectivement, suivi de M3 (47,70 $\pm$ 0.20 µgEAG/mg) et M4 (26,91 $\pm$ 0.20 µgEAG/mg). L'extrait M5 présente le plus faible pouvoir réducteur soit 14,97 $\pm$ 0.41 µgEAG/mg de matière sèche (Figure 8).

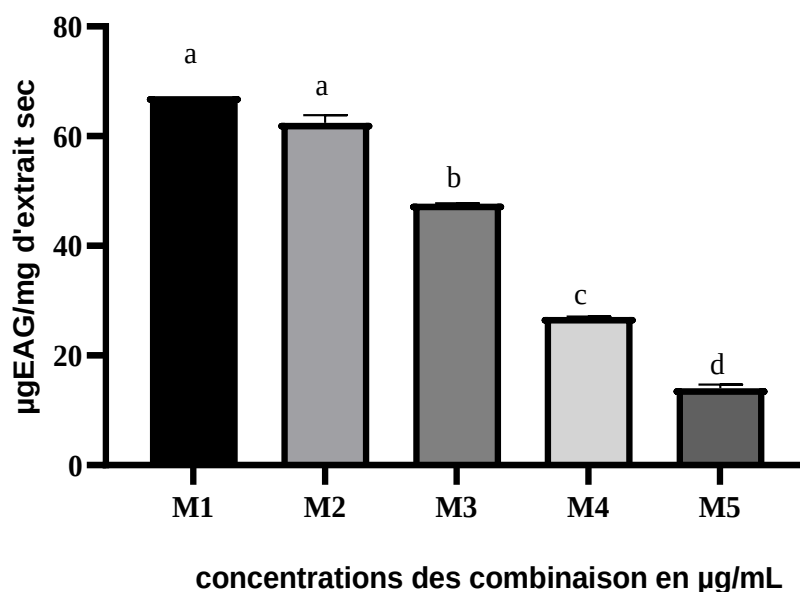


Figure 8 : Activité réductrice du fer ferrique en fer ferreux des extraits de *P. africana* et de *D. glomerata*

M1 = 100 % *P. africana*; M2 = 75 % *P. africana* + 25 % *D. glomerata*; M3 = 50 % *P. africana* + 50 % *D. glomerata*; M4 = 25 % *P. africana* + 75 % *D. glomerata*; M5 = 100 % *D. glomerata*. $a > b > c > d$ à $p < 0,05$.

III.1.3. Etude de toxicité aiguë

A l'issu du test de toxicité aiguë effectué, il en ressort que le mélange M2 à la dose de 5000 mg/kg n'a entraîné aucun changement de comportement, aucun décès ainsi qu'aucun signe de toxicité (Tableau III). Ce résultat suggère que la combinaison M2 à la dose de 5000 mg/kg n'engendrera aucun signe clinique de morbidité. La dose létale 50 (DL₅₀) de la combinaison M2 est donc supérieure à 5000 mg/kg.

Tableau III: Effet de la combinaison M2 sur quelques paramètres physiologiques chez les souris

Signes de morbidité	Contrôle normal	M2 à 5000 mg/kg
Aspect et perte du pelage	N	N
Couleur des yeux	N	N
Sensibilité à la douleur et anomalie posturale	N	N
Aspect et fréquence des fèces	N	N

Réaction au bruit et agressivité	A	A
Vomissements	A	A
Respiration	N	N
Consommation hydrique et alimentaire	N	N
Motricité et tremblement	N	N
Mobilité et motilité	N	N
Salivation	A	A
Diarrhée	A	A
Sommeil	A	A
Coma	A	A
Nombre de mort	A	A

(N) : Etat normal ; (A) : Absence des signes de morbidité.

Tableau IV : Toxicité orale aiguë de la combinaison M2 sur les souris *Swiss*.

Produit	Dose (mg/kg)	Nombres d'animaux par lot	Nombres d'animaux morts	Pourcentages de mort cumulée
Contrôle normal	eau distillée	3	0	0
Combinaison M2	5000	3	0	0

III.1.4. Effet de la combinaison M2 sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induit chez les rats

III.1.4.1. Effet de la combinaison M2 sur quelques marqueurs physiologiques de l'hyperplasie bénigne de la prostate

➤ Volume de la prostate

La figure 9 présente l'effet de la combinaison M2 aux doses de 125 ; 250 et 500 mg/kg sur le volume de la prostate des rats testés. Les résultats montrent une augmentation significative, soit 54 % ($p < 0,005$) du volume de la prostate des animaux du groupe témoin négatif comparativement à celui des animaux du groupe normal. En revanche, une diminution significative du volume de la prostate a été observée chez les animaux du groupe témoin positif, soit 36 % ($p < 0,005$) et chez ceux du groupe test ayant reçu M2 à la dose de 125 mg/kg, soit 42 % ($p < 0,005$) comparativement au

groupe témoin négatif. Cependant, aucune différence n'a été observée entre les animaux du groupe témoin positif et les animaux des groupes traités par la combinaison M2.

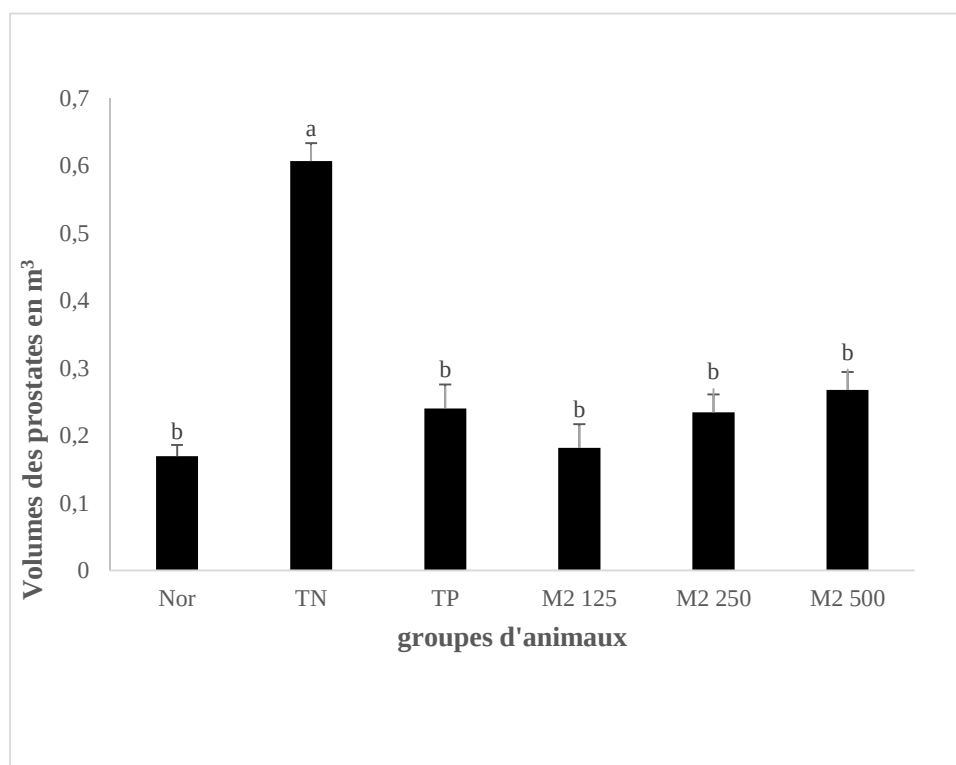


Figure 9 : Volume de la prostate des rats hyperplasiés et traités ou non par différentes doses de la combinaison M2 ou la finasteride

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) + eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) + eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes (a > b > c) à $p < 5\%$ pour une concentration donnée

➤ Masse de la prostate

La figure 10 indique que la masse de la prostate du groupe témoin négatif a significativement augmenté de l'ordre de 87,35 % ($p < 0,005$) comparativement à celle du groupe témoin normal. L'administration de M2 aux doses 125 ; 250 et 500 mg/kg a entraîné une réduction significative de la masse de la prostate de l'ordre de 55% ($p < 0,005$) comparativement au groupe témoin négatif. Cependant, aucune différence n'a été observée entre les masses prostatiques des animaux du groupe témoin positif et celles des groupes tests comparativement à celle du groupe témoin négatif.

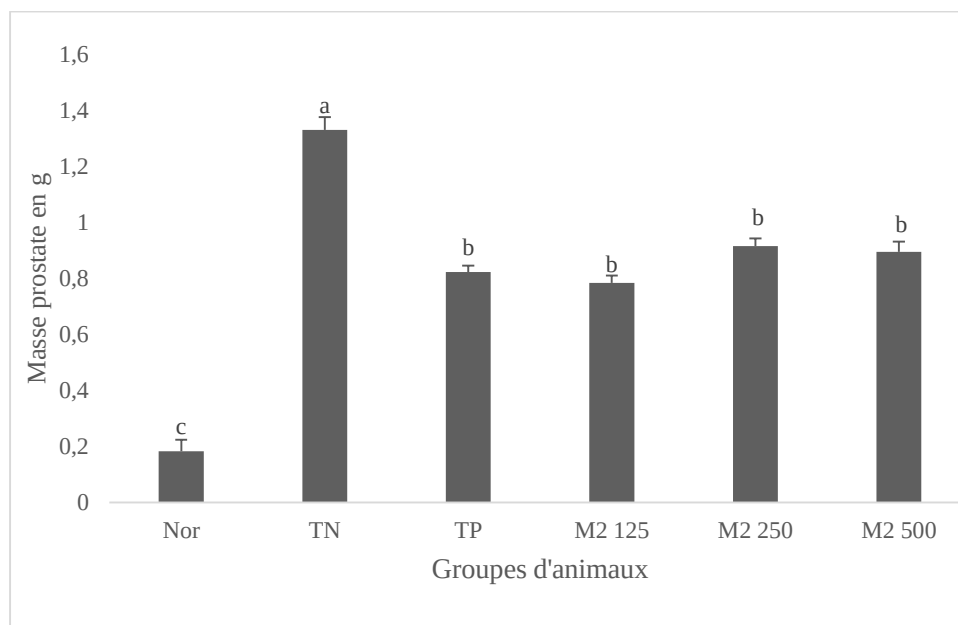


Figure 10 : Masse de la prostate des animaux rats hyperplasiés et traités ou non par différentes doses de la combinaison M2 ou la finasteride

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) + eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) + eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% D. africana + 25% D. glomerata

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes ($a > b > c$) à $p < 5\%$ pour une concentration donnée

➤ Masse relative de la prostate

La figure 11 présente l'effet de la combinaison M2 aux doses 125 ; 250 et 500 mg/kg sur la masse relative de la prostate (index prostatique). Il en ressort qu'une augmentation significative de l'ordre de 42% ($p < 0,005$) de l'index prostatique a été observée chez les animaux du groupe témoin négatif par rapport à ceux du groupe témoin normal. En revanche, aucune différence significative ($p < 0,005$) n'a été observée entre l'index prostatique des animaux du groupe témoin positif et ceux des groupes tests comparativement aux animaux du groupe témoin négatif.

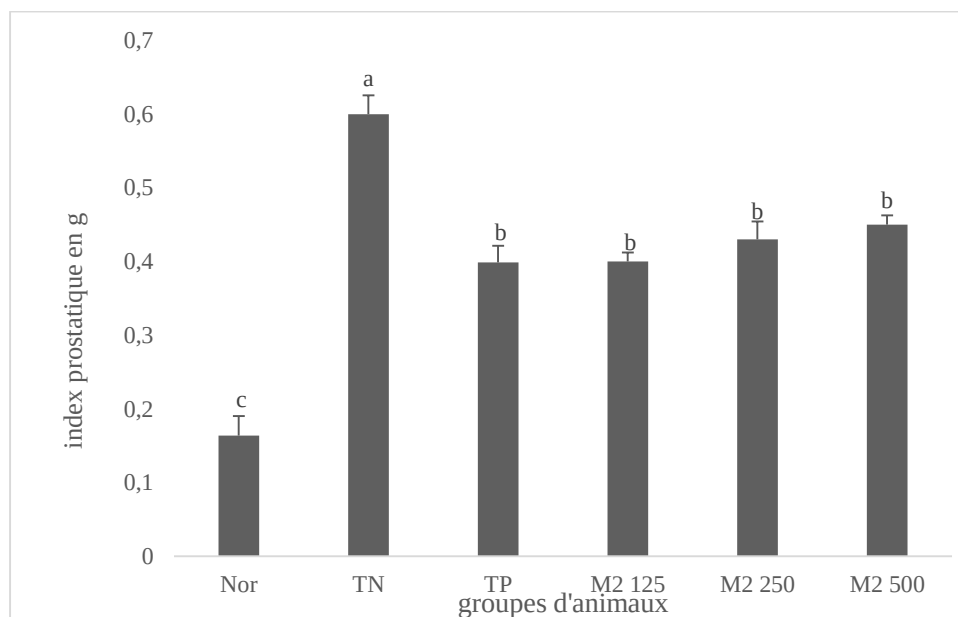


Figure 11: Index prostatique chez les rats développant l'hyperplasie bénigne de la prostate induite par la testostérone

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes ($a > b > c$) à $p < 5\%$ pour une concentration donnée

➤ Inhibition de l'hyperplasie bénigne de la prostate

La figure 12 illustre le pourcentage d'inhibition de la combinaison M2 sur le développement physiologique de l'HBP. Il en ressort que l'administration de M2 à la dose de 125 mg/kg entraine une inhibition du développement de l'HBP de l'ordre de $47,17\% \pm 1,31$ ($p < 0,005$) (index prostatique) comparativement au groupe témoin négatif. De plus, aucune différence significative n'a été relevée entre l'activité inhibitrice de M2 et celle de la finastéride, qui est de l'ordre de $44,22\% \pm 0,91$ ($p < 0,005$) (index prostatique).

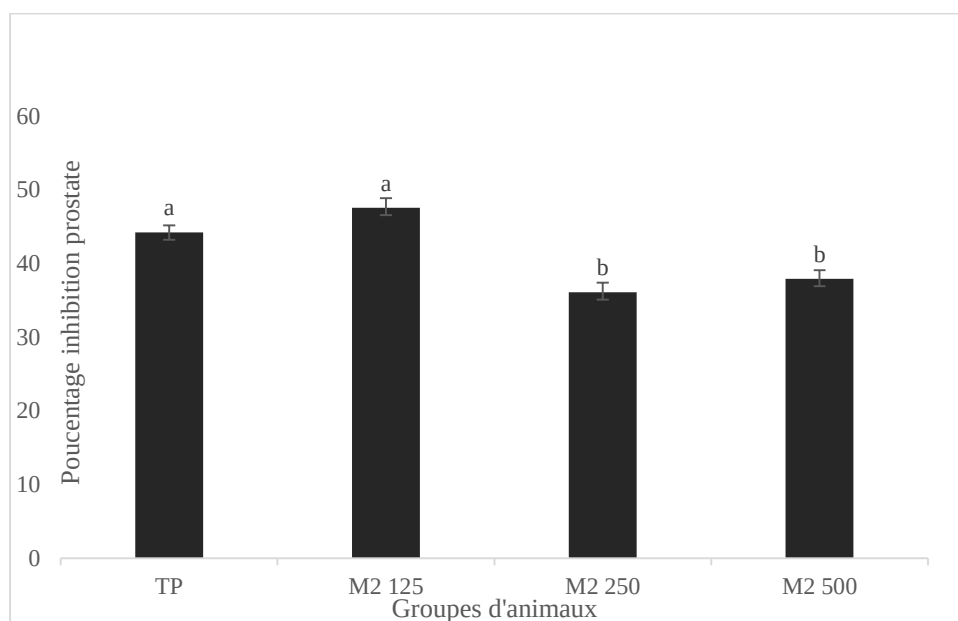


Figure 12: Inhibition de l'hyperplasie bénigne de la prostate chez les rat par la combinaison M2 ou la finasteride

TP = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes (a > b > c) à $p < 5\%$ pour une concentration donnée

III.1.4.2. Effet de la combinaison M2 sur la teneur en protéines totales des rats ayant subi le test d'hyperplasie bénigne de la prostate

La Figure 13 présente l'effet de la combinaison M2 sur la quantité de protéines totale contenu dans l'homogénat de prostate des rats testés. En effet, aucune différence significative du taux de protéines contenu dans l'homogénat des rats du groupe témoin négatif par rapport au groupe témoin normal n'a été observée. Cependant, la quantité de protéines contenues dans l'homogénat de prostate a significativement été réduite chez ceux du groupe témoin positif (11,21 % ($p < 0,005$)) et chez ceux des groupes tests M2 150 (10,88 % ($p < 0,05$)), M2 250 (10,44 % ($p < 0,05$)) et M2 500 (12,28 % ($p < 0,05$)) comparativement au taux de protéines des homogénats du groupe témoin négatif.

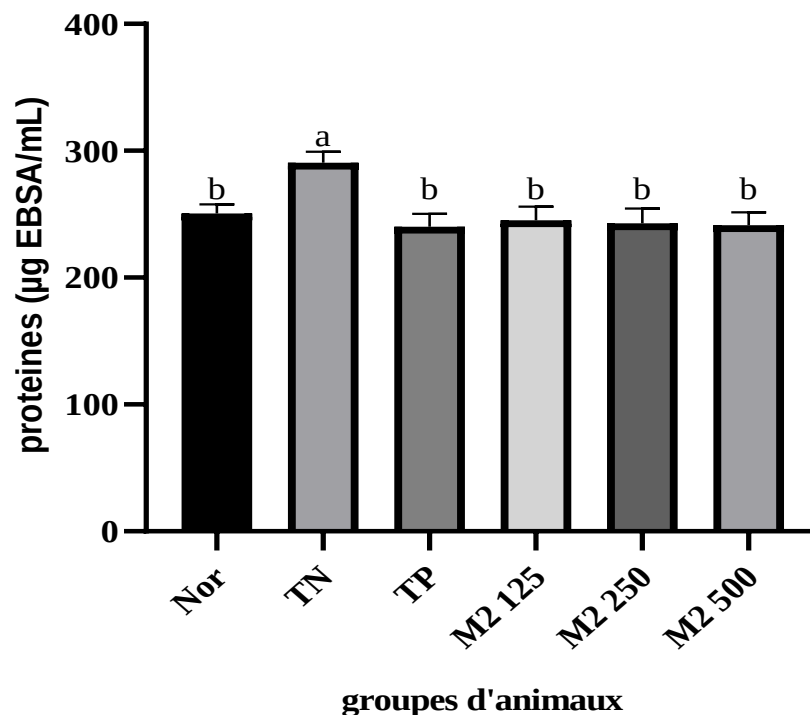


Figure 13 : Teneur en protéines totales contenues dans les homogénats de prostate des rats ayant subi les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

III.1.4.3. Effets de la combinaison M2 sur quelques marqueurs du stress oxydatif

➤ Effet de M2 sur le taux de MDA dans la prostate

La Figure 14 présente l'effet de la combinaison M2 sur le taux de MDA contenu dans l'homogénat de prostate des animaux testés. Il en ressort qu'une augmentation du taux de MDA a été observée dans les homogénats du groupe témoin négatif ($0,52 \pm 0,01$) par rapport à ceux du groupe normal ($0,16 \pm 0,01$). Par ailleurs, il a été observé que le mélange M2 à la dose de 500 mg/kg entraîne une réduction significative ($p < 0,05$) de MDA ($0,30 \pm 0,01$) comparativement au témoin négatif. En revanche, aucune différence significative ($p < 0,005$) du taux de MDA n'a été observée dans l'homogénat des animaux du groupe témoin positif, et celui du groupe test recevant les extraits M2 à la dose de 500 mg/kg comparativement aux homogénats du groupe témoin négatif.

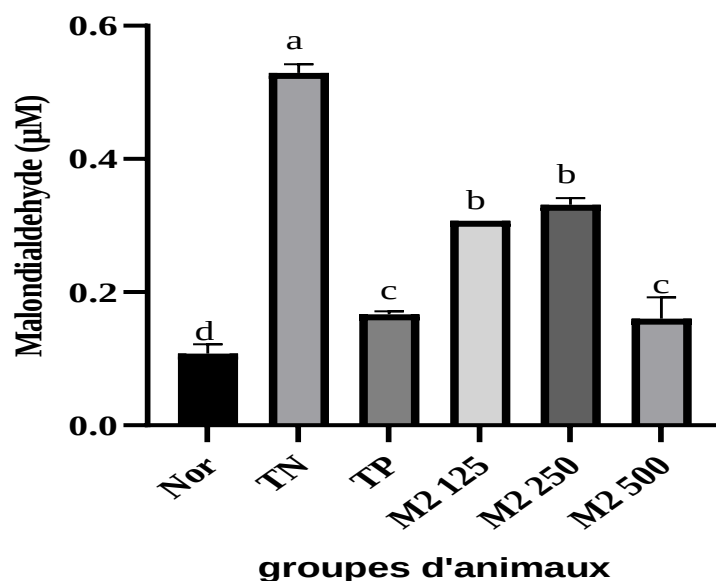


Figure 14: Effets de la combinaison M2 sur taux de MDA contenu dans la prostate

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = negative controls : testostérone; **TP** = positive controls ; **M2 125** = test group treated with M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= gzM2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata* Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes (a > b > c > d) $p < 5 \%$ pour une concentration donnée

➤ Effet de M2 sur l'activité de la catalase dans la prostate

L'activité de la catalase a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'eau oxygénée (Annexe 3). La figure 15 présente l'effet des extraits M2 sur l'activité de la catalase dans l'homogénat de prostate des rats testés. Elle révèle qu'il y'a réduction significative de l'activité de la catalase dans l'homogénat de prostate des rats du groupe témoin négatif comparativement à ceux des rats du groupe témoin normal avec un pourcentage de variation de l'ordre de (23,47 % ($p < 0,05$)). Cependant, l'activité de la catalase a significativement augmenté dans les homogénats du groupe test recevant M2 à la dose de 500 mg/kg avec un pourcentage de variation de (23,47 % ($p < 0,05$)), comparativement aux homogénats du groupe témoin négatif.

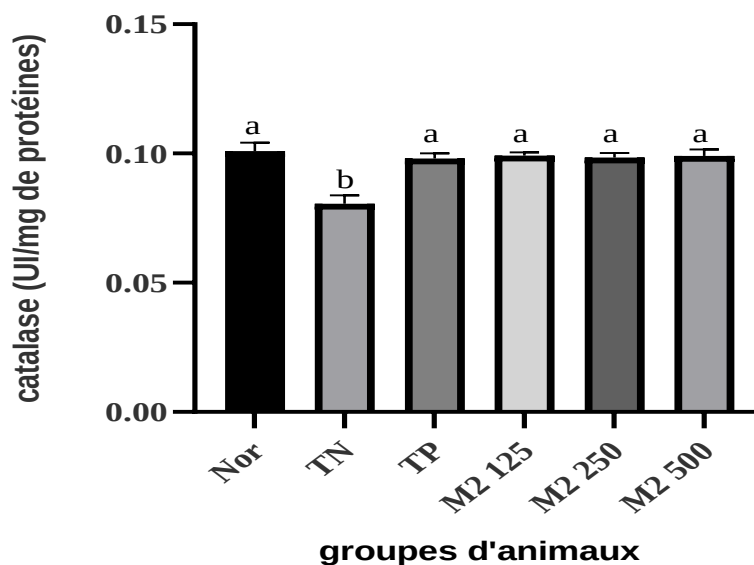


Figure 15 : Effets de la combinaison M2 sur l'activité de la catalase prostatique

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 mL) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes ($a > b > c$) à $p < 5\%$ pour une concentration donnée

➤ Effet de M2 sur l'activité de la superoxyde dismutase dans la prostate (SOD)

La Figure 16 présente l'effet de la combinaison de M2 sur l'activité de la SOD dans la prostate des rats testés. Il en ressort que l'activité de la SOD dans les homogénats des rats du groupe témoin négatif a significativement augmenté comparativement à ceux des rats du groupe témoin normal avec un pourcentage d'augmentation de l'ordre de 20,47 % ($p < 0,05$). Cependant, l'activité de la SOD a significativement ($p < 0,05$) été réduit dans les homogénats des rats traités par la combinaison M2 et par la finastéride comparativement aux homogénats du groupe témoin négatif.

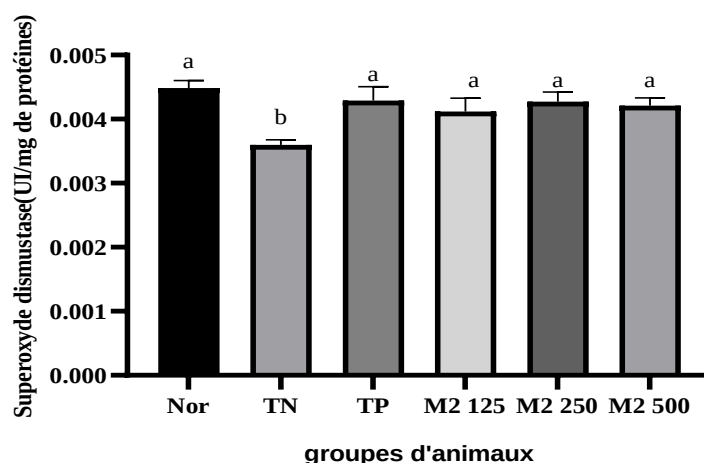


Figure 16 : Effets des extraits des M2 sur activité de la SOD prostatique

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 mL) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

III.1.4.4. Étude histopathologique des tissus de prostates des rats ayant subi les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

La section transversale des tissus prostatiques des rats testés est représentée à la figure 17. Cette analyse histologique de la prostate a révélé que les animaux du lot témoin normal ont présenté une microstructure prostatique saine présentant un stroma conjonctivo-vasculaire riche en fibres musculaires lisses dans la lumière du lobule prostatique. Tandis que, les animaux du lot témoin négatif ont montré une augmentation significative de l'épaisseur de l'épithélium prostatique et des sécrétions prostatiques (corps amyloïdes) en comparaison au lot témoin normal. Toutefois, les traitements des animaux soit à la combinaison M2 à la dose 500 mg/kg soit à la finastéride ont entraîné une réduction significative de l'épaisseur de l'épithélium prostatique par rapport au lot témoin négatif.

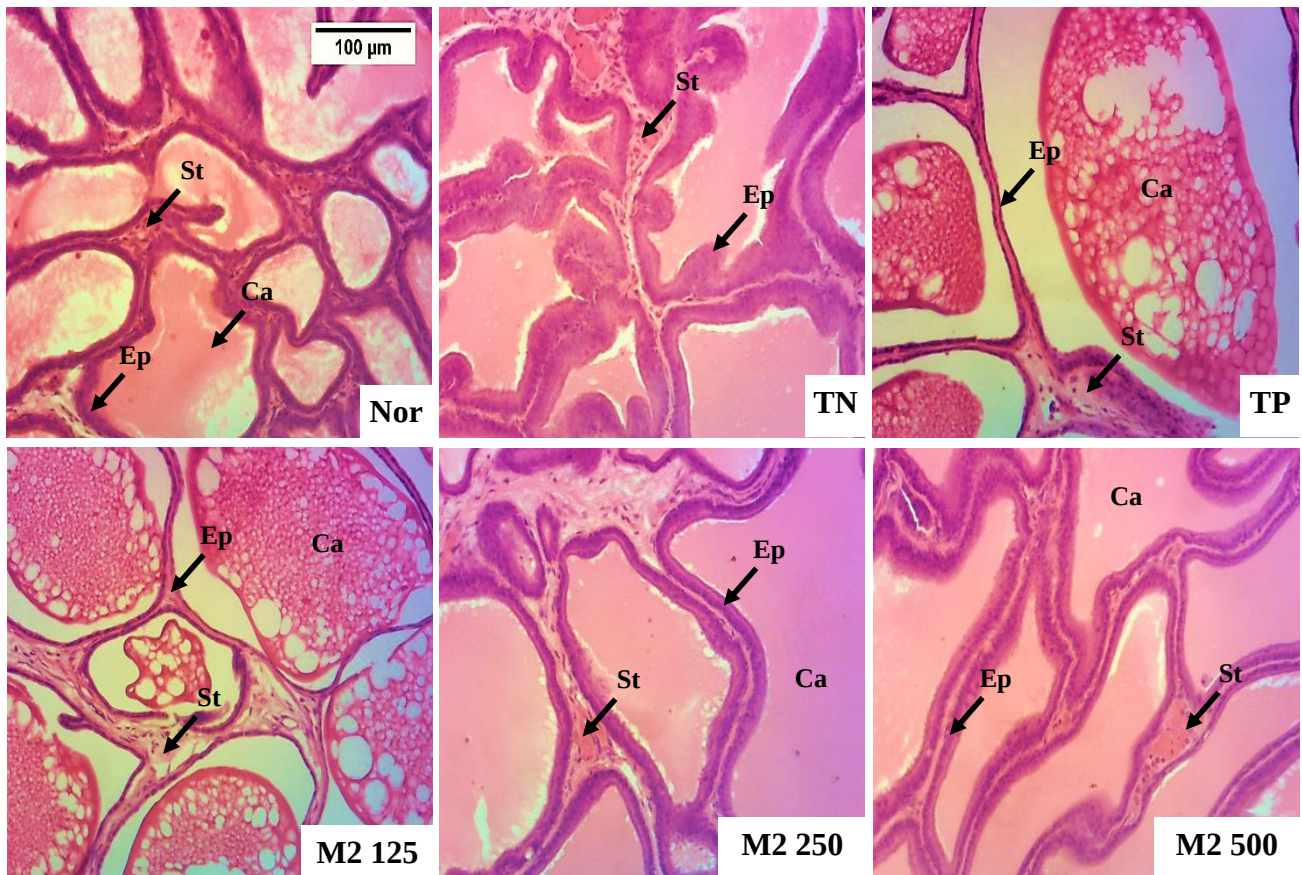


Figure 17 : Microphotographies des tissus prostatiques des animaux des différents groupes tests.

Ep = Épithélium bistratifié, **St** = Stroma ; **Ep** = Epithélium ; **CA** = Corps amylacés **Grandissement=10X** .**Nor** = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

La figure 18 présente l'effet des extraits M2 sur la taille de l'épithélium des animaux testés. Il en ressort qu'une augmentation significative ($p < 0,005$) de la taille de l'épithélium a été observée dans les prostates du groupe témoin négatif par rapport à ceux du groupe normal. Par ailleurs, une réduction significative ($p < 0,005$) de la taille de l'épithélium a été observée dans les tissus prostatiques des animaux du groupe témoin positif, et celui des groupes tests recevant M2 comparativement à ceux du groupe témoin négatif. Cependant, cette réduction est significativement ($p < 0,005$) plus prononcée dans les tissus prostatiques des animaux du groupe témoins positif par rapport à ceux des groupes traités par la combinaison M2

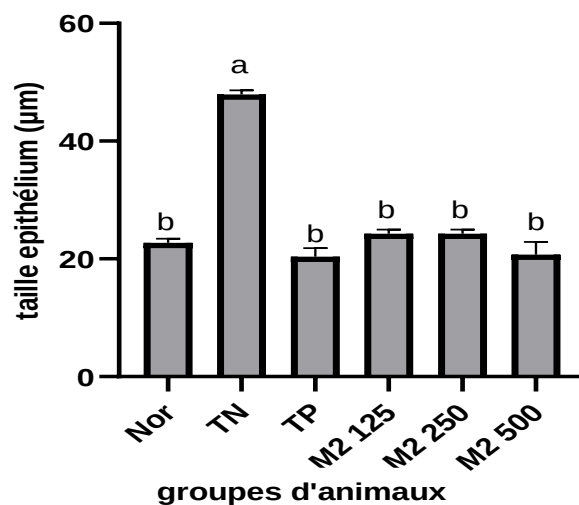


Figure 18 : Effets des extraits M2 sur les acini (taille de l'épithélium) des rats ayant subi les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

Les valeurs moyennes affectées des lettres sont significativement différentes (a > b> c) à $p < 5 \%$ pour une concentration donnée

III.1.4.5. Effet de M2 sur la production des cytokines $\text{TNF}\alpha$ et IL-10 chez les animaux des différents groupes tests.

Les concentrations sériques de $\text{TNF}\alpha$ et d'IL-10 ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnages (Annexe 3) et sont illustrées dans les figures 19 et 20. Il en ressort que la concentration sérique en $\text{TNF}\alpha$ des animaux du groupe témoin négatif a significativement ($p < 0,005$) augmenté comparativement à celle des animaux du groupe témoin. De même on observe une réduction significative ($p < 0,005$) de la concentration sérique en $\text{TNF}\alpha$ dans le sérum de la prostate des d'animaux traités par la combinaison M2 à différentes doses et ceux traité par la finastéride. Cependant, cette inhibition est plus prononcée chez les animaux traités par la combinaison M2 à la dose de 500 mg/kg comparativement à ceux du groupes témoin positif.

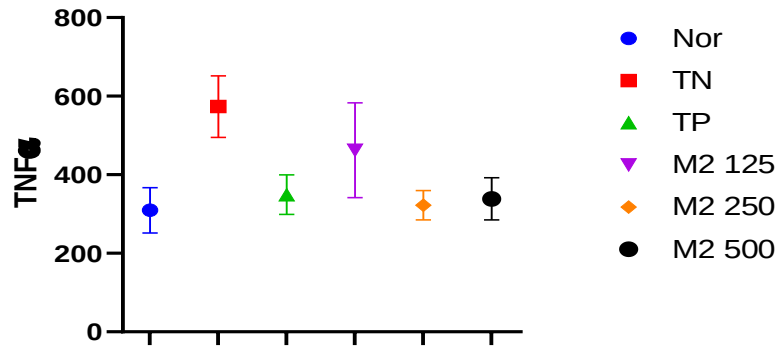


Figure 19 : Concentration sérique de TNF α chez les rats ayant subi les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

La Figure 21 présente la variation des concentrations d'IL-10 dans le sérum des rats ayant subi les tests sur l'HBP. Il en ressort que chez les animaux du groupes témoin négatif il y'a eu réduction significative ($p < 0,005$) de la concentration en IL-10 comparativement à celle des autres groupes. En outre, une augmentation significative ($p < 0,005$) de la concentration en IL-10 dans le sérum de la prostate a été observée chez les animaux du groupe test traités par la combinaison M2 à la dose de 500 mg/kg comparativement au groupe témoin positif.

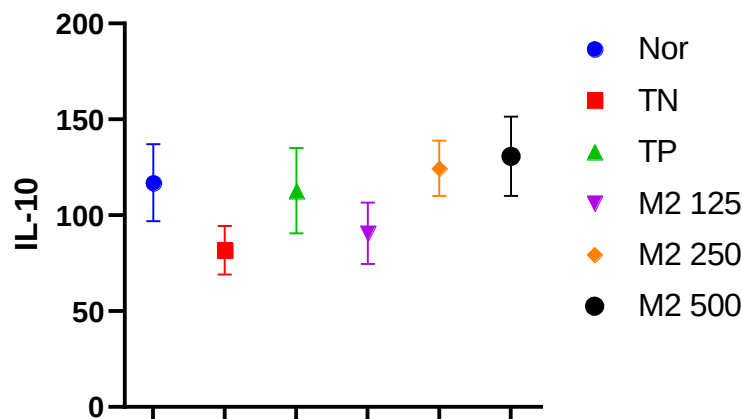


Figure 20 : Concentration sérique d'IL-10 chez les rats ayant subi les tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

Nor = groupe normal : huile de pistache (3mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TN** = groupe témoin négatif : testostérone (3 mg/kg) +eau distillée (2 ml) ; **TP** = groupe témoin positif : testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125** = groupe tests : testostérone (3mg/kg) + M2 (125 mg/kg) ; **M2 250**= groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (250 mg/kg) ; **M2 500** = groupe test : testostérone (3 mg/kg) + M2 (500 mg/kg). M2 =75% *D. africana* + 25% *D. glomerata*

III.2. DISCUSSION

L'hyperplasie bénigne de la prostate est une maladie chronique qui a de graves conséquences néfastes sur la qualité de vie des hommes atteints. Dans le schéma de lutte contre cette maladie, les plantes médicinales occupent une place prépondérante. Le but de ce travail était d'étudier l'effet de la combinaison des écorces de *Prunus africana* et des feuilles de *Dichrotachys glomerata* à titre préventif contre l'hyperplasie de la prostate induite chez les rats. L'extraction aqueuse des écorces de *Prunus africana* et des feuilles de *Dichrotachys glomerata* a permis d'obtenir des extraits avec des rendements de 1,24 et 9, 5% respectivement. Les mélanges des deux extraits ont permis d'obtenir 5 combinaisons, notamment M1 (100 % *P. africana*), M2 (75 % *P. africana* + 25% *D. glomerata*), M3 (50 % *P. africana* + 50 % *D. glomerata*), M4 (25% *P. africana* + 75 % *D. glomerata*), M5 (100 % *D. glomerata*). Il est à noter que, la surproduction des espèces oxygénées réactives tels que les radicaux libres dans la prostate crée un état de stress oxydatif qui favorise la prolifération des cellules épithéliales contribuant ainsi au développement de l'HBP (**Zabaïou et al., 2015**). La sélection de la meilleure combinaison a donc été guidée par quelques tests antioxydants. Premièrement, le dosage des composés phénoliques qui a révélé que toutes les combinaisons contiennent des composés phénoliques ; néanmoins, les mélanges M1 et M2 possèdent les teneurs les plus élevées comparativement aux autres combinaisons avec des valeurs de l'ordre de $26,26 \pm 1,31$ et $24,66 \pm 0,60$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ EAG respectivement. Ce résultat a été consolidé avec ceux des tests antiradicalaires DPPH qui ont révélés que bien que toutes les combinaisons présentent des activités antiradicalaires, M2 à la concentration de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $65,72 \% \pm 1,31$. De plus, les résultats présentent la capacité de toutes ces combinaisons à réduire les ions ferriques en ions ferreux. Cette aptitude à piéger les radicaux et à réduire le fer serait liée à la forte teneur de M1 et M2 en composés phénoliques qui leur confère la capacité de céder un atome d'hydrogène pour neutraliser les radicaux libres et à céder un électron pour réduire le fer. Au regard de la teneur en composés phénolique et des activités antioxydantes que possède la combinaison M2 et de l'importance physiopathologie du stress oxydatif lors du développement de la prostate, la combinaison M2 paraît comme une piste probable pour la gestion de l'HBP. Toutefois, il était judicieux de s'assurer de son innocuité au préalable.

L'étude de toxicité aiguë de la combinaison M2 à la dose de 5000 mg/kg n'entraîne aucun signe de toxicité et aucun décès suggérant ainsi une potentielle utilisation en toute sécurité. Cependant, **Karami et Mehdipour (2013)** ont démontré que l'extrait d'écorce de *P. africana* provoque quelques signes de toxicité à la dose de 2000 mg/kg chez les rats mâles de souche *Wistar*. Cette différence pourrait être due

au fait que *prunus africana* est juste présent à 75% dans la combinaison M2. Suite à l'innocuité de M2, toutes doses de M2 inférieure ou égale à 5000 mg/kg présentent un minimum de sécurité.

Au cours de ce travail, l'administration sous cutanée de l'énanthate de testostérone chez des rats mâles adultes du groupe témoin négatif révèle une augmentation significative ($p < 0,005$) du volume de la prostate, de l'index prostatique et de la masse de la prostate par rapport aux rats normaux. Ce résultat confirme l'influence de la testostérone sur la croissance de la prostate comme démontré par **Ali et al. (2013)**. De même, cette croissance de la prostate est corrélée sur le plan histologique par une augmentation de la taille de l'épithélium comparé au groupe normal. Cet épaississement de l'épithélium traduit une activation de la prolifération cellulaire qui montre une extension du stroma et une prolifération de l'épithélium, résultant d'une partielle obstruction de la lumière glandulaire. Ces résultats sont similaires à ceux de **Adewale et al. (2021)** et **Mbaka et al. (2019)** qui ont montré que l'administration de testostérone pendant 28 jours consécutifs aux rats entraînerait une prolifération accrue des cellules épithéliales, réduisant ainsi le diamètre glandulaire. Sur le plan biochimique, cette croissance est en étroite relation avec l'augmentation du taux de protéines montrant ainsi l'effet mitogène et anabolisant des androgènes responsables de la prolifération cellulaire (**Kouakou et Benie, 2003**). En outre, l'augmentation significative ($p < 0,005$) du taux de malondialdéhyde par rapport au groupe normal justifie l'accumulation des radicaux libres responsables de la peroxydation lipidique dans les cellules (**Ali et al., 2013**). La réduction significative ($p < 0,005$) du taux d'antioxydants SOD et catalase traduit une augmentation du taux des radicaux libres prouvant d'un état de stress oxydatif. Il a également été rapporté que l'inflammation joue un rôle essentiel dans la progression de l'HBP. Dans cette étude, les niveaux de TNF- α des animaux du groupe témoin négatif ont significativement augmentés par rapport aux rats normaux. Ce résultat est similaire à celui de **Sudeep et al. (2019)** qui ont démontré que l'induction de l'HBP par la testostérone entraîne une augmentation de l'expression de TNF- α dans le groupe témoin négatif. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la testostérone accélère les sécrétions des TNF- α produit par les macrophages responsable de la lésion de la paroi des tissus prostatiques pour libérer les granulocytes et les monocytes contribuant au développement du processus inflammatoire de la prostate (**Sudeep et al., 2019**). Ces résultats confirment l'installation de l'HBP chez les rats du groupe témoin négatif.

Tout comme la finastéride (5mg/kg), la combinaison M2 (125 mg/kg) protège contre l'HBP par réduction significative du volume de la prostate, du poids et de l'indice prostatique. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Chiu et al. (2020)**. De plus, sur le plan histologique, la réduction significative de la taille de l'épithélium par M2 à la dose de 500 mg/kg conduit à la réduction de l'involution épithéliale et par conséquent à l'augmentation du volume de la lumière glandulaire. La combinaison M2 inhibe également

le développement de la masse prostatique d'une valeur de 47,17 % (index prostatique). Cette inhibition n'est pas différente de l'inhibition observée chez les animaux du groupe traité par la finastéride qui était de 44,22%. Ces résultats démontrent que tout comme la finastéride la combinaison M2 agirait en inhibant l'enzyme 5 α -réductase responsable de la conversion de la testostérone en dihydrotestostérone capable de se lier au récepteur androgénique de la prostate et induire une hyperactivité cellulaire participant ainsi à l'épaississement de l'épithélium prostatique et donc au développement de l'HBP (**Mbaka et al., 2019**). De même, la réduction du taux de protéines chez les rats traités par la combinaison M2 suggère un changement enzymatique dans la glande prostatique (**Vyas et al., 2013**). Par ailleurs, la réduction du taux de MDA chez les rats traités par M2 serait due à la présence des composés phénoliques dans la combinaison M2 capable d'inhiber la peroxydation lipidique (**Ali et al., 2013**). De même, l'augmentation significative des enzymes antioxydantes catalase et SOD dans l'homogénat des rats traités confirme à suffisance la capacité antioxydante de la combinaison M2. Ces résultats sont similaires à ceux d'**Ali et al. (2013)** et **Li et al. (2018)** où une augmentation significative du taux d'enzymes antioxydantes et une diminution significative du taux de MDA chez les groupes tests par rapport au groupe témoin négatif ont été observées. Par ailleurs, il a été observé chez le groupe test recevant la combinaison M2 à la dose 500 mg/kg, une expression significativement élevée de cytokines anti-inflammatoires IL-10 comparativement au groupe témoin normal. En outre, une expression significativement faible de TNF α par rapport au groupe témoin négatif a été observée. Ce résultat traduirait l'effet anti-inflammatoire de la combinaison M2 ; en effet en cas d'HBP il y'a production excessive de TNF α et la combinaison M2 augmente la production d'IL10 afin de réduire cette production excessive de TNF α principal acteur retrouvé en quantité excessive dans les cellules prostatiques en cas d'HBP. (**Zhang et al., 2007**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

L'objectif général de la présente étude était d'évaluer les effets antioxydants et protecteurs de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* sur l'hyperplasie bénigne de la prostate induite chez les rats. À partir des différents résultats obtenus, les conclusions suivantes ont été tirées :

- ✓ Les combinaisons de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* sont riches en composés phénoliques et possèdent des activités antiradicalaires DPPH et réductrices du fer. Toutefois, la combinaison M2 possède les meilleures activités.
- ✓ La combinaison M2 administrée à la dose de 5000 mg/kg n'entraîne pas les signes cliniques de morbidité sur les animaux tests avec une DL50 supérieure à 5000 mg/kg.
- ✓ La combinaison M2 à différentes doses possède des effets inhibiteurs de l'hyperplasie bénigne de la prostate induit par la testostérone chez les rats.

PERSPECTIVES

- ✓ Evaluer les activités anti-inflammatoires des combinaisons de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata*
- ✓ Faire le dosage de l'antigène spécifique de la prostate PSA
- ✓ Évaluer l'effet de la combinaison M2 sur d'autres marqueurs de l'hyperplasie bénigne de la prostate à l'occurrence des tests androgénique
- ✓ Etudier la cytotoxicité de l'extrait ainsi que la toxicité subaigüe, chronique et subchronique de l'extrait M2

REFERENCES

- Adewale, A. O., Adediji, S. I., Olusola, O. O., Sulaiman, S. O., et Victoria, I. O. (2021). Ethanollic extract of combined *Cynodon dactylon* and *Mimosa pudica* ameliorated experimentally induced benign prostatic hyperplasia in Wistar rats. *Journal of Infertility and Reproductive Biology*, 9(1), 22-26.
- Agon, A. V., et Kinnoudo, C. (2008). Propriétés antivirales des extraits de *Dichrostachys glomerata* (*European Union Brevet EP1572220B1*).
- Alam, M. N., Bristi, N. J., et Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21(2), 143-152.
- Aryal, M., Pandeya, A., Gautam, N., Baral, N., Lamsal, M., Majhi, S., Chandra, L., Pandit, R., et Das, B. K. (2007). Oxidative stress in benign prostate hyperplasia. *Nepal Med Coll J*, 9(4), 222-224.
- Azantsa, B., Kuate, D., Chakokam, R., Paka, G., Bartholomew, B., et Nash, R. (2015). The effect of extracts of *Irvingia gabonensis* (IGOB131) and *Dichrostachys glomerata* (Dyglomera™) on body weight and lipid parameters of healthy overweight participants. *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 200-208.
- Baboudjian, M., Fourmarier, M., Gondran-Tellier, B., Pradere, B., Userovici, M., Alegorides, C., et Barry Delongchamps, N. (2021). Head-to-head comparison of prostatic urethral lift and water vapor thermal therapy for the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia : A real-life study. *International Urology and Nephrology*, 53(9), 1757-1763.
- Benzie, I. F. F., et Szeto, Y. T. (1999). Total Antioxidant Capacity of Teas by the Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 633-636.
- Bodeker, G., van 't Klooster, C., et Weisbord, E. (2014). *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman : The overexploitation of a medicinal plant species and its legal context. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 20(11), 810-822.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

- Bradley, B., Singleton, M., et Po, A. L. W. (1989). BISMUTH TOXICITY—A REASSESSMENT. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 14(6), 423-441.
- Chhowalla, M., Jena, D., et Zhang, H. (2016). Two-dimensional semiconductors for transistors. *Nature Reviews Materials*, 1(11), 1-15.
- Chughtai, B., Forde, J. C., Thomas, D. D. M., Laor, L., Hossack, T., Woo, H. H., Te, A. E., et Kaplan, S. A. (2016). Benign prostatic hyperplasia. *Nature reviews Disease primers*, 2(1), 1-15.
- Das, B., Ahmed, N., et Singh, P. (2011). Prunus diversity-early and present development : A review. *Int J Biodivers Conserv*, 3(14), 721-734.
- De Nunzio, C., Aronson, W., Freedland, S. J., Giovannucci, E., et Parsons, J. K. (2012). The correlation between metabolic syndrome and prostatic diseases. *European urology*, 61(3), 560-570.
- Gacci, M., Vignozzi, L., Sebastianelli, A., Salvi, M., Giannessi, C., De Nunzio, C., Tubaro, A., Corona, G., Rastrelli, G., et Santi, R. (2013). Metabolic syndrome and lower urinary tract symptoms : The role of inflammation. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 16(1), 101-106.
- Garcia-Villar, R., Toutain, P. L., Alvinerie, M., et Ruckebusch, Y. (1981). The pharmacokinetics of xylazine hydrochloride : An interspecific study. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 4(2), 87-92.
- Gattolliat, C.-H., Uguen, A., Pesson, M., Trillet, K., Simon, B., Doucet, L., Robaszkiewicz, M., et Corcos, L. (2015). MicroRNA and targeted mRNA expression profiling analysis in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *European Journal of Cancer*, 51(3), 409-420.
- Gille, G., Hung, S., Reichmann, H., et Rausch, W. (2004). Oxidative Stress to Dopaminergic Neurons as Models of Parkinson's Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018(1), 533-540.
- Group, L. P. W., Bruneau, A., Doyle, J. J., Herendeen, P., Hughes, C., Kenicer, G., Lewis, G., Mackinder, B., Pennington, R. T., et Sanderson, M. J. (2013). Legume phylogeny and classification in the 21st century : Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*, 62(2), 217-248.
- Gupta-Elera, G., Garrett, A. R., Robison, R. A., et O'Neill, K. L. (2012). The role of oxidative stress in prostate cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 21(2), 155-162.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., et Chapelle, J. P. (2007). Oxidative stress. *Revue medicale de liege*, 62(10), 628-638.
- Holmberg, J., et Robert, K.-H. (2000). Backcasting—A framework for strategic planning. *International Journal of Sustainable Development et World Ecology*, 7(4), 291-308.

- Ikramuddin, S., Billington, C. J., Lee, W.-J., Bantle, J. P., Thomas, A. J., Connett, J. E., Leslie, D. B., Inabnet, W. B., Jeffery, R. W., et Chong, K. (2015). Roux-en-Y gastric bypass for diabetes (the Diabetes Surgery Study): 2-year outcomes of a 5-year, randomised, controlled trial. *The lancet Diabetes et endocrinology*, 3(6), 413-422.
- Ishola, I. O., Tijani, H. K., Dosumu, O. O., Anunobi, C. C., et Oshodi, T. O. (2017). Atorvastatin attenuates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats: Role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ and cyclo-oxygenase-2. *Fundamental et Clinical Pharmacology*, 31(6), 652-662.
- Jimu, L. (2011). Threats and conservation strategies for the *African cherry (Prunus africana)* in its natural range-A review. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 3(4), 118-130.
- Ke, Z., Cai, H., Wu, Y., Lin, Y., Li, X., Huang, J., Sun, X., Zheng, Q., Xue, X., Wei, Y., et Xu, N. (2019). Identification of key genes and pathways in benign prostatic hyperplasia. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11),
- Kim, M. J., Cardiff, R. D., Desai, N., Banach-Petrosky, W. A., Parsons, R., Shen, M. M., et Abate-Shen, C. (2002). Cooperativity of *Nkx3.1* and *Pten* loss of function in a mouse model of prostate carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(5), 2884-2889.
- Komakech, R., et Kang, Y. (2019). Ethnopharmacological potential of *African cherry [Prunus africana]*. *Journal of Herbal Medicine*, 17, 100283.
- Komakech, R., Kang, Y., Lee, J.-H., et Omujal, F. (2017a). A review of the potential of phytochemicals from *Prunus africana* (Hook f.) Kalkman stem bark for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Komakech, R., Kang, Y., Lee, J.-H., et Omujal, F. (2017b). A review of the potential of phytochemicals from *Prunus africana* (Hook f.) Kalkman stem bark for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Kothari, S. C., Shivarudraiah, P., Venkataramaiah, S. B., Gavara, S., Arumugam, S. N., et Soni, M. G. (2014). Toxicologic evaluation of *Dichrostachys glomerata* extract: Subchronic study in rats and genotoxicity tests. *Food and chemical toxicology*, 69, 120-131.
- Li, J., Peng, L., Cao, D., Gou, H., Li, Y., et Wei, Q. (2020). The association between metabolic syndrome and benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *The Aging Male*, 23(5), 1388-1399.
- Liu, W., Zhang, Q., Chen, J., Xiang, R., Song, H., Shu, S., Chen, L., Liang, L., Zhou, J., You, L., Wu, P., Zhang, B., Lu, Y., Xia, L., Huang, L., Yang, Y., Liu, F., Semple, M. G., Cowling, B. J.,

- ... Liu, Y. (2020). Detection of Covid-19 in Children in Early January 2020 in Wuhan, China. *New England Journal of Medicine*, 382(14), 1370-1371.
- Maderbacher, G., Keshmiri, A., Krieg, B., Greimel, F., Grifka, J., et Baier, C. (2019). Kinematic component alignment in total knee arthroplasty leads to better restoration of natural tibiofemoral kinematics compared to mechanic alignment. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 27(5), 1427-1433.
- Madivoli, E. S., Maina, E. G., Kairigo, P. K., Murigi, M. K., Ogilo, J. K., Nyangau, J. O., Kimani, P. K., et Kipyegon, C. (2018). In vitro antioxidant and antimicrobial activity of *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman (bark extracts) and *Harrisonia abyssinica* Oliv. extracts (bark extracts): A comparative study. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 2(1), 1-9.
- Mahapokai, W., Van Sluijs, F. J., et Schalken, J. A. (2000). Models for studying benign prostatic hyperplasia. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 3(1), 28-33.
- Maiyoo, F., Moodley, R., et Singh, M. (2016). Phytochemistry, cytotoxicity and apoptosis studies of β -sitosterol-3-oglucoside and β -amyrin from *Prunus africana*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(4), 105-112.
- Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A.-S., Richard, M.-J., et Favier, A. (2003). Antioxidant Supplementation and Tapering Exercise Improve Exercise-Induced Antioxidant Response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2), 147-156.
- Mbaka, G., Ogbonnia, S., Sulaiman, A., et Osiagwu, D. (2019). Histomorphological effects of the oil extract of *Sphenocentrum jollyanum* seed on benign prostatic hyperplasia induced by exogenous testosterone and estradiol in adult Wistar rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 9(1), 21.
- Mpouam, A. R., Bile, A. W., Wete, E., Betti, J. L., Kouobegne, S., Fouadjio, B. J., Njimban, O. F., Nguenguim, J. R., Ottou, P. B. M., et Kourogue, L. R. (2022). Inventory of the exploitation of *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman (Rosaceae) in the Adamaoua region, Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(4), 1507-1521.
- Mutuma, G. G., Joseph, N., King'ori, M. A., et Silas, K. (2020). Phytochemical and anti-inflammatory analysis of *Prunus africana* bark extract. *Research Journal of Pharmacognosy*, 7(4), 31-38.
- Nahata, A., et Dixit, V. K. (2011). *Sphaeranthus indicus* Attenuates Testosterone induced Prostatic Hypertrophy in Albino Rats. *Phytotherapy Research*, 25(12), 1839-1848.
- NYAMAI, D. W., BURUGU, M. W., NG'ANG'A, M. M., et MUCHUGI, A. N. (2022). The phytochemical profiles and growth of *Prunus africana* in Kenya. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 20(2).

- Oikonomopoulou, K., Ricklin, D., Ward, P. A., et Lambris, J. D. (2012). Interactions between coagulation and complement—Their role in inflammation. *Seminars in Immunopathology*, 34(1), 151-165.
- Okpara, J. O. (2015). Exploring the Effects of Intangible Resources on Competitive Advantage and Performance of Listed Firms in Nigeria. *International Journal of Business etApplied Sciences*, 4(2).
- Okpara, J. O., Ambali, F. S., Ayo, J. O., et Aliu, Y. O. (2016). Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of the Flavonoid Fraction from the Leaves of *Dichrostachys glomerata* (Forsskal). *INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENCE AND APPLIED RESEARCH (ISSN: 2504-9070)*, 1(1).
- Omara, T., Kiprop, A. K., Ramkat, R. C., Cherutoi, J., Kagoya, S., Moraa Nyangena, D., Azeze Tebo, T., Nteziyaremye, P., Nyambura Karanja, L., et Jepchirchir, A. (2020). Medicinal plants used in traditional management of cancer in Uganda: A review of ethnobotanical surveys, phytochemistry, and anticancer studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1-26.
- Ouédraogo, D., Tarnagda, G., Ouédraogo, J. C. R. P., Héma, A., Tiendrebéogo, S., Ouédraogo, S., Ouédraogo, G. G., Belemnaba, L., Ouédraogo, N., et Kini, F. D. B. (2023). Clinical Evaluation of the Safety and Efficacy of the Phytomedicine APIVIRINE Based on Aqueous Extracts of *Dichrostachys glomerata* (Forssk.). *Chiov.(D. cinerea)* in COVID-19 Patients without Signs of Severity. *International Journal of Clinical Medicine*, 14(6), 302-318.
- Owhorji, B. I., Okon, U. E., et Osim, E. E. (2018). Calabash chalk chronic diet consumption elevates anxiety and pain perception. *World J. Pharmaceut. Res*, 7(12), 82-94.
- Papaemmanuil, E., Gerstung, M., Malcovati, L., Tauro, S., Gundem, G., Van Loo, P., Yoon, C. J., Ellis, P., Wedge, D. C., et Pellagatti, A. (2013). Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 122(22), 3616-3627.
- Parkin, J., etCohen, B. (2001). An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), 1777-1789.
- Pavela, R., Maggi, F., Mbuntcha, H., Woguem, V., Fogang, H. P. D., Womeni, H. M., Tapondjou, L. A., Barboni, L., Nicoletti, M., et Canale, A. (2016). Traditional herbal remedies and dietary spices from Cameroon as novel sources of larvicides against filariasis mosquitoes? *Parasitology research*, 115, 4617-4626.

Quigley, D. A., Dang, H. X., Zhao, S. G., Lloyd, P., Aggarwal, R., Alumkal, J. J., Foye, A., Kothari, V., Perry, M. D., et Bailey, A. M. (2018). Genomic hallmarks and structural variation in metastatic prostate cancer. *Cell*, 174(3), 758-769.

Roehrborn, C. G. (2008). Pathology of benign prostatic hyperplasia. *International journal of impotence research*, 20(3), S11-S18.

Ronn, A. M., Nouri, M., Lofgren, L. A., Steinberg, B. M., Westerborn, A., Windahl, T., Shikowitz, M. J., et Abramson, A. L. (1996). Human tissue levels and plasma pharmacokinetics of temoporfin (Foscan®, mTHPC). *Lasers in Medical Science*, 11(4), 267-272.

Rothman, A. M. K., Arnold, N. D., Chang, W., Watson, O., Swift, A. J., Condliffe, R., Elliot, C. A., Kiely, D. G., Suvarna, S. K., Gunn, J., et Lawrie, A. (2015). Pulmonary Artery Denervation Reduces Pulmonary Artery Pressure and Induces Histological Changes in an Acute Porcine Model of Pulmonary Hypertension. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 8(11), e002569. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.115.002569>

Rubegeta, E., Makolo, F., Kamatou, G., Enslin, G., Chaudhary, S., Sandasi, M., Cunningham, A. B., et Viljoen, A. (2022). The African cherry : A review of the botany, traditional uses, phytochemistry, and biological activities of *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman. *Journal of Ethnopharmacology*, 116004.

Sachs, B., Fatangare, A., Sickmann, A., et Glässner, A. (2021). Lymphocyte transformation test : History and current approaches. *Journal of immunological methods*, 493, 113036.

Samseny, R. R. A., Angone, S. A., Madingou, N. K., Mounanga, M. B., et Datté, J. Y. (2015). Study of pharmacological properties of the methanolic extract of *Dichrostachys cinerea* bark (L.) Wight et Arn (Leguminosae) in isolated myometrium from pregnant rats. *Journal of ethnopharmacology*, 169, 195-199.

Sciarra, A., Di Silverio, F., Salciccia, S., Gomez, A. M. A., Gentilucci, A., et Gentile, V. (2007). Inflammation and chronic prostatic diseases : Evidence for a link? *European urology*, 52(4), 964-972.

Shahidi, F., et Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.

Somé, A. F., Séré, Y. Y., Dokomajilar, C., Zongo, I., Rouamba, N., Greenhouse, B., Ouédraogo, J.-B., et Rosenthal, P. J. (2010). Selection of Known *Plasmodium falciparum* Resistance-Mediating Polymorphisms by Artemether-Lumefantrine and Amodiaquine- Sulfadoxine-Pyrimethamine but Not Dihydroartemisinin- Piperaquine in Burkina Faso. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(5), 1949-1954.

Sudeep, H. V., Venkatakrishna, K., Amrutharaj, B., Anitha, et Shyamprasad, K. (2019). A phytosterol-enriched saw palmetto supercritical CO₂ extract ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating the inflammatory and apoptotic proteins in a rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 270.

Susithra, E., et Jayakumari, S. (2018). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight and Arn. *Drug Invention Today*, 10(3).

Tabak, B. A., Leng, G., Szeto, A., Parker, K. J., Verbalis, J. G., Ziegler, T. E., Lee, M. R., Neumann, I. D., et Mendez, A. J. (2023). Advances in human oxytocin measurement: Challenges and proposed solutions. *Molecular psychiatry*, 28(1), 127-140.

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W.-P.-P., et Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and oxidative stress : A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1162.

Tenke, P., Horti, J., Balint, P., et Kovacs, B. (2007). Prostate Cancer Screening. In J. Ramon et L. J. Denis (Éds.), *Prostate Cancer* (Vol. 175, p. 65-81). Springer Berlin Heidelberg.

Tsunemori, H., et Sugimoto, M. (2021a). Effects of inflammatory prostatitis on the development and progression of benign prostatic hyperplasia : A literature review. *International Journal of Urology*, 28(11), 1086-1092.

Tsunemori, H., et Sugimoto, M. (2021b). Effects of inflammatory prostatitis on the development and progression of benign prostatic hyperplasia : A literature review. *International Journal of Urology*, 28(11), 1086-1092.

Udensi, U. K., et Tchounwou, P. B. (2016). Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *Journal of Experimental et Clinical Cancer Research*, 35(1), 139.

Verze, P., Cai, T., et Lorenzetti, S. (2016). The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology*, 13(7), 379-386.

Vickman, R. E., Franco, O. E., Moline, D. C., Vander Griend, D. J., Thumbikat, P., et Hayward, S. W. (2020). The role of the androgen receptor in prostate development and benign prostatic hyperplasia : A review. *Asian journal of urology*, 7(3), 191-202.

Wiese, D., DuBois, T. D., Sorice, K. A., Fang, C. Y., Ragin, C., Daly, M. B., Reese, A. C., Henry, K. A., et Lynch, S. M. (2023). Defining aggressive prostate cancer : A geospatial perspective. *BMC Cancer*, 23(1), 754.

Xia, S., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, H., Yang, Y., Gao, G. F., Tan, W., Wu, G., Xu, M., et Lou, Z. (2021). Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV : A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *The Lancet infectious diseases*, 21(1), 39-51.

Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., et Lobaccaro, J.-M. A. (2017). Biological properties of propolis extracts : Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, 207, 214-222.

ANNEXE

Annexe 1 : Composition de l'aliment des animaux pour 25kg d'aliments (rats)

Farine de maïs : 13 Kg

Son de blé : 3 Kg

Farine d'arachides : 3 Kg

Tourteau de palmistes : 2,75 Kg

Farine de coquille d'œufs de poule : 1 Kg

Farine de poisson : 2 Kg

Complexe vitaminique : 0,25 Kg

Annexe 2 : Préparation des solutions

a) Extraits M2 de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* (125 mg/kg)

Une masse de 4,851 g et 4,809 g d'extraits de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* respectivement ont été dissout dans 168 mL d'eau distillée.

b) Combinaison M2 de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* (250 mg/kg)

Une masse de 4,851 g et 4,809 g d'extraits de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* respectivement ont été dissouts dans 168 mL d'eau distillé.

c) Extraits M2 de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* (500 mg/kg)

Une masse de 4,851 g et 4,809 g d'extraits de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* respectivement ont été dissouts dans 168 mL d'eau distillé.

d) Extraits M2 de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* (5000 mg/kg)

Une masse de 4,851 g et 4,809 g d'extraits de *Prunus africana* et *Dichrostachys glomerata* respectivement ont été dissouts dans 168 mL d'eau distillé.

e) Solution de propionate de testostérone (3mg/kg)

Une ampoule de 250 mg/mL de testostérone a été dilué dans 83 mL d'huile de pistache afin d'avoir une solution testostérone de 3 mg/mL.

f) Solution de finastéride (5mg/kg)

Un comprimé de finastéride contenant 5 mg principe actif a été diluée dans 1 mL d'eau distillée.

g) Solution de SBA (sérum Bovin albumine)

Dans une fiole jaugée de 2 mL, 1 mg de poudre de BSA a été dissout dans de l'eau distillée et le volume a été complété au trait de jauge.

h) **Tampon phosphate (0,1 M pH = 6,6)**

Un mélange de 1,22 g de K_2HPO_4 et 5,85 g de KH_2PO_4 dans 500 mL d'eau distillée a été effectué. Ensuite, le pH a été calibré à 6,6 à l'aide du pH-mètre (marque de fabrication ???).

j) **Tampon phosphate (200 mM pH = 6,6)**

Une dissolution de 3,56 g de $Na_2HPO_4/2H_2O$ et 2,76 g NaH_2PO_4/H_2O dans 100 mL d'eau distillée a été effectuée. Puis, le pH a été calibré à 6,6 grâce au pH-mètre.

k) **Tampon carbonate (0,05 M pH= 10,2)**

Une dissolution de 0,75 g de $NaHCO_3$ et 1,75 g de Na_2CO_3 ont été faits dans 500 mL d'eau distillée stérile.

Le pH a été calibré à 10,2 grâce au pH-mètre.

l) **Acide trichloroacétique (10 %)**

Une masse de 5 g d'acide trichloroacétique a été dissout dans 50 mL d'eau distillée.

m) **Chlorure de fer (0,1 %)**

Une dissolution de 25 mg de chlorure de fer a été fait dans 25 mL d'eau distillée stérile.

n) **Adrénaline (0,3 mM)**

Une dissolution de 6 mg d'adrénaline a été fait dans 100 mL de tampon carbonate (0,05 M).

o) **Mélange dichromate/acide acétique**

Une dissolution de 3,75 g de dichromate de potassium dans 75 mL d'eau distillée a été effectuée, puis a été mélangée avec 150 mL d'acide acétique concentré.

p) **Solution de carbonate de sodium (1M)**

Une dissolution de 4,240 g de poudre de Na_2CO_3 a été faite dans 40 mL d'eau distillée.

q) **Solution de Bradford**

Une dissolution de 50 mg de Bleu de Coomassie G 250 dans 25 mL d'éthanol 95 % a été effectuée puis agiter pendant 30 min. par la suite 50 mL d'acide orthophosphorique (85 %) ont été ajoutés au mélange suivie d'une agitation supplémentaire de 10 min. Le volume a été complétée à 500 mL avec de l'eau distillée, puis la solution a été filtrée et conservée à 4 °C.

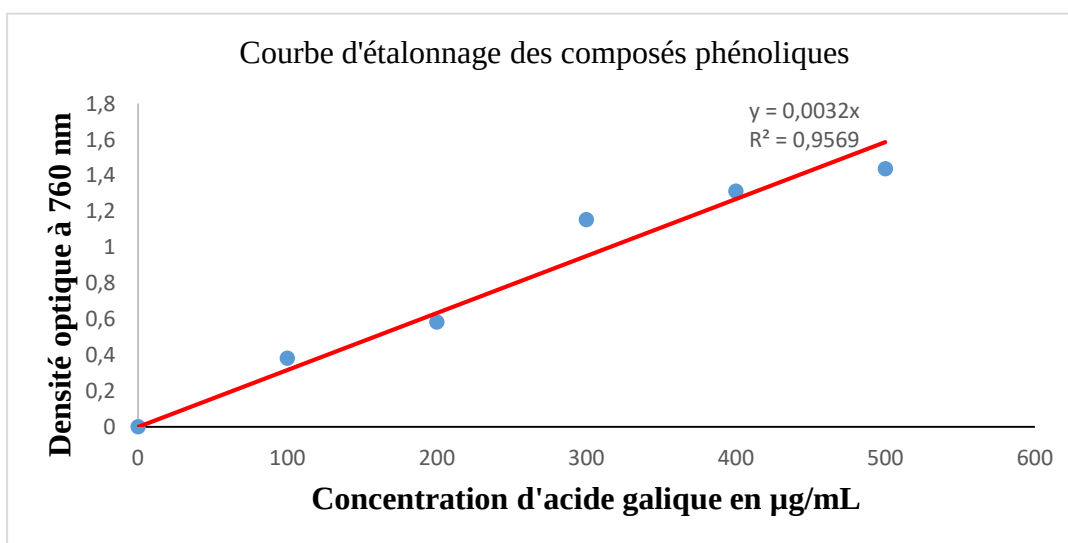
r) **Solution de DPPH (0,0016 %)**

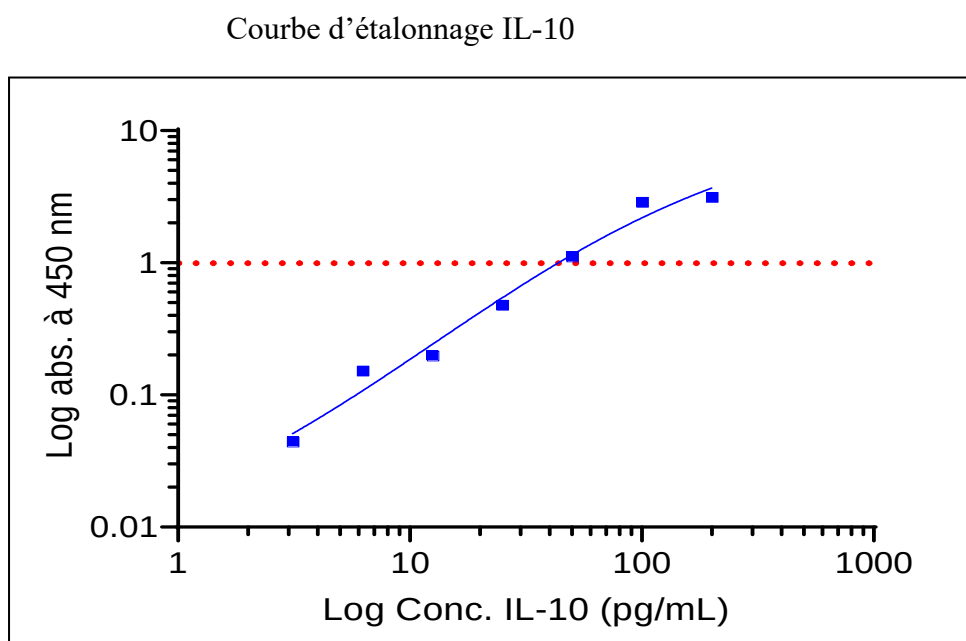
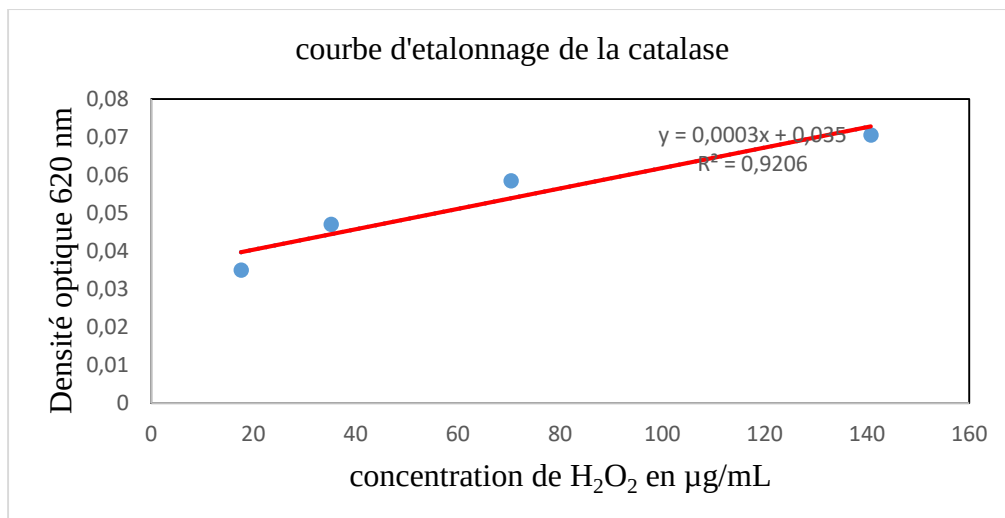
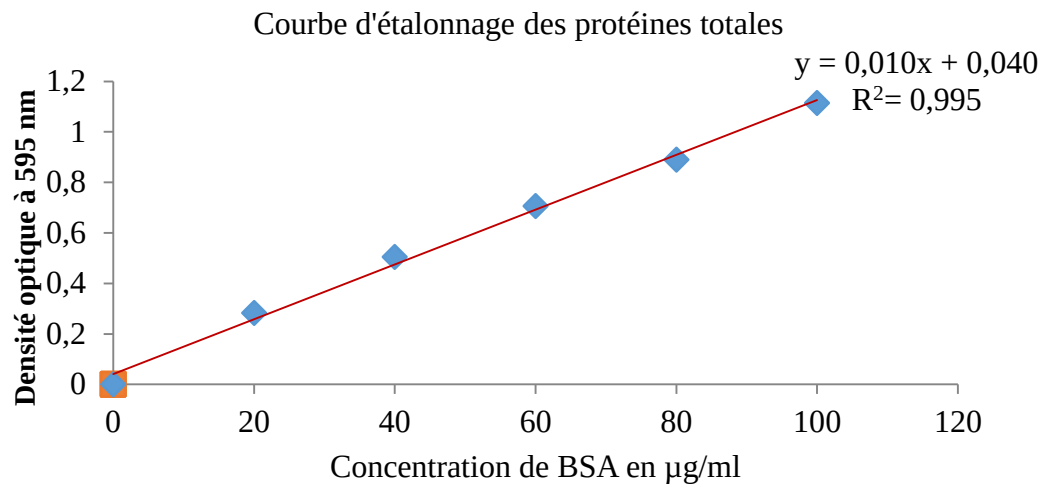
Une dissolution de 8 mg de DPPH dans 50 mL de méthanol 80 % a été effectuée.

s) **Solution réactionnelle pour dosage MDA**

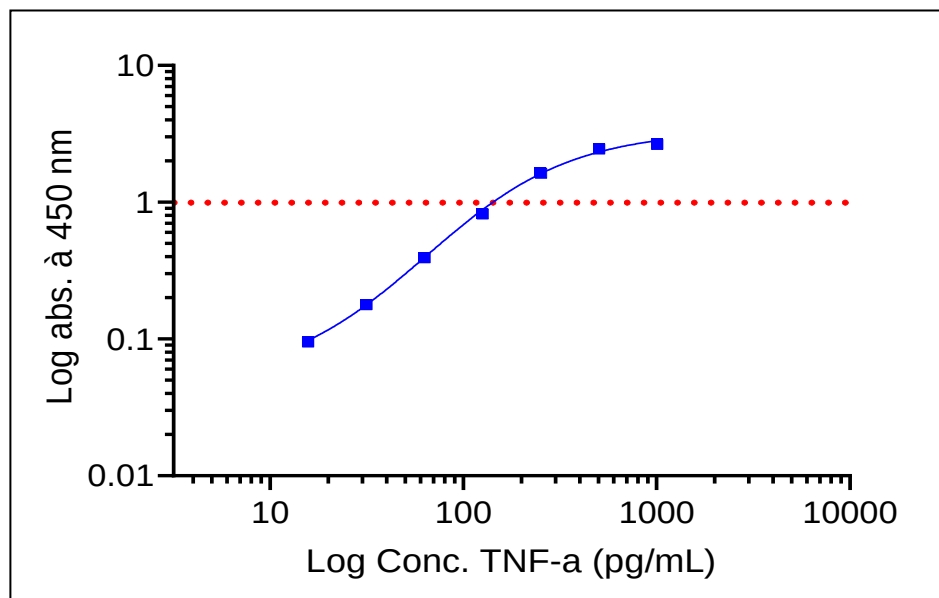
Un mélange : de 0,1875 g de l'acide thiobarbiturique (TBA), 10 g d'acide trichloracétique (TCA) dans 50 mL d'acide chloridrique (0,1 N) a été effectué. La solution obtenue a été chauffée à 40 °C dans un bain marie jusqu'à solubilisation complète de l'acide thiobarbiturique, puis transférée dans une fiole jaugée de 50 mL où le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Annexe 3 : Différentes courbes d'étalonnages utilisées





Courbe d'étalonnage TNF- α



Annexe 4 : Tableau des résultats des tests antioxydants *in vitro* et des tests sur l'hyperplasie bénigne de la prostate

a) Tests antioxydants *in vitro* (composés phénolique et FRAP)

Concentration $\mu\text{g/mL}$	M1	M2	M3	M4	M5
Composés phénoliques	26,26 ^a ± 1.3	24,66 ^{ab} ± 0.6	21,44 ^b ± 1.7	16,95 ^c ± 2.0	6,36 ^d ± 0.20
FRAP	2,31 ^a ± 0.21	2,17 ^a ± 0.50	1,67 ^b ± 0.61	1,00 ^c ± 0.3	0,39 ± 0.4 ^d

b) Activité antiradicalaire DPPH des mixtures de *Prunus africana* et de *Dichrostachys glomerata*

Concentration (µg/mL)	M1	M2	M3	M4	M5
125	69.34 ^a ±0.21	68.77 ^a ±0.10	51.04 ^a ±0.11	39.03 ^a ±0.22	33.93 ^b ±0.12
250	39.94 ^b ±0.3	65.77 ^a ±0.3	33.93 ^c ±0.1	22.81 ^c ±0.2	12.43 ^d ±0.1
500	13.94 ^a ±0.30	9.29 ^a ±0.12	9.16 ^b ±0.20	8.43 ^b ±0.11	3.41 ^c ±0.22

c) Effets des extraits de *Prunus africana* et de *Dichrostachys glomerata* sur différents paramètres de la prostate

Groupes	MCi(g)	MCf(g)	MP(g)	%d'inhibition de la prostate	IP	VP Cm3
Normal	91.41 ±10.31	108.22 ±9.5	0.182 ^c ±0.04	/	0.163 ^c ±0.02	0.06 ^b ±0.01
T. négatif	213.8 ±3.30	247 ±1.41	1.19 ^a ±0.24	/	0.481 ^a ±0.09	0.60 ^a ±0.05
T. Positif	182.2 ±15.72	206.5 ±15.51	0.82 ^b ±0.06	44.22 ^a ±0.91	0.398 ^b ±0.02	0.24 ^b ±0.06
M2 125 mg/kg	161.5 ±20.04	127.2 ±18.04	0.77 ^b ±0.15	47.22 ^a ±1.31	0.607 ^b ±0.10	0.18 ^b ±0.05
M2 150 mg/kg	132.6 ±17.22	142.3 ±16.61	0.916 ^b ±0.14	36.07 ^b ±1.31	0.613 ^b ±0.07	0.23 ^b ±0.05
M2 500 mg/kg	103.8 ±10.60	170.8 ±14.61	0.89 ^b ±0.24	37.90 ^b ±1.18	0.540 ^b ±0.18	0.26 ^b ±0.07

d) Taille de l'épithélium et du diamètre glandulaire des tissus de prostates des rats HBP induits par la testostérone

Groupes	Normal	T. négatif	T. positif	M2 150 mg/kg	M2 300 mg/kg	M2 150 mg/kg
Taille épithélium (µm)	3,63 ^b ±0,24	4,19 ^a ±0,20	2,94 ^c ±0,17	2,73 ^b ±0,02	3,10 ^b ±0,13	3,59 ^b ±0,30

e) Tests antioxydants *in vivo* et protéines

Groupes	Normal	T.négatif	T. positif	M2 125 mg/kg	M2 250 mg/kg	M2 500 mg/kg
SOD	23,08 ^a ±0.32	19,90 ^b ±0.21	24,35 ^a ±0.15	25,16 ^a ±0.24	25,09 ^a ±0.15	24,19 ^a ±0.13
CAT	6.89 ^a ±0.03	3.77 ^b ±0.04	6.41 ^a ±0.01	5.85 ^a ±0.09	5.93 ^a ±0.06	6.60 ^a ±0.02
MDA	0.10 ^d ±0.01	0.52 ^b ±0.01	0.16 ^c ±0.04	0.30 ^b ±0.09	0.33 ^b ±0.09	0.16 ^c ±0.03
Protéine µg Eq BSA/mL	288,54 ^b ±9.31	245,48 ^a ±13.82	281,07 ^b ±12.11	291,11 ^b ±20.93	252,89 ^b 18.72	263,19 ^b 20.44

f) Effets des extraits de *Prunus africana* et de *Dichrostachys glomerata* sur la production des cytokines (TNF- α et IL-10)

Groupes	Normal	T.négatif	T. positif	M2 125 mg/kg	M2 250 mg/kg	M2 500 mg/kg
Conc. TNF-α (µg/mL)	309.41 ^b ±57.4	573.37 ^a ±78.3	349.17 ^b ±50.2	462.43 ^b ±80.5	322.35 ^b ±37.3	338.55 ^b ±53.5
Conc. IL-10(µg/mL)	116.97 ^b ±20.51	80.70 ^c ±12.63	112.82 ^b ±22.18	90.55 ^b ±15.99	124.46 ^b ±14.41	130.72 ^a ±20.67

CAT : catalase, **SOD** : super oxyde dismutase, **MDA** : Malon dialdéhyde, **Normal** =groupe normal avec des rats ayant reçu de l'huile de maïs (0,2 ml) et l'eau distillée (2 ml); **T négatif**= groupe témoin négatifs avec des rats ayant reçu la testostérone (3 mg/kg) et l'eau distillée (2 ml) ; **T. Positif** = groupe témoin positif avec des rats ayant reçu la testostérone (3 mg/kg) et la finastéride (5 mg/kg) ; **M2 125**= groupe tests avec des rats ayant reçu la testostérone (3 mg/kg) et **M2 (125 mg/kg)** (la mixture constitué de 75% de *Prunus africana* et 25% de *Dichrostachys glomerata*) ; **M2 250**= groupe tests avec des rats ayant reçu la testostérone (3 mg/kg) et l'extrait **M2 (250 mg/kg)** ; **M2 500**= groupe tests avec des rats ayant reçu la testostérone (3 mg/kg) et l'extrait M2 (500 mg/kg) positif ; α = $p < 0,5$ représente la différence significative par rapport au groupe témoin des extraits.

Annexe 5 : Clairance éthique

Centre de Recherche et Formation Doctorale, Science de la Vie, Santé et Environnement (CRFD-SVSE)
Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environmental Sciences
University of Yaoundé I (UYI)



Joint Institutional Review Board for Animal & Human Bioethics (JIRB)
Email: jirbsecretariat@gmail.com

15 April 2024

FOUNDIKOU MEFIRE Marie Tatiana
University of Yaoundé 1, Cameroon
Faculty of Science, Department of Biochemistry

Ethical Clearance Reference N°: BTC-JIRB2024-106 (please use this reference number for all correspondences)

Protocol Title: "EVALUATION DES ACTIVITES ANTIOXYDANTES ET L'EFFET PROTECTEUR D'UNE COMBINAISON DE DEUX PLANTES MEDICINALES SUR L'HYPERPLASIE BEGNINE DE LA PROSTATE CHEZ LES RATS"

Investigator(s) Name(s): FOUNDIKOU MEFIRE Marie Tatiana, MSc Student, Pr. EFFA ONOMO Pierre & Dr MEDIESSE KENGNE Francine, Supervisors.

The proposed research protocol and related documents have been reviewed and deliberated by the JIRB of the Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environment Sciences (CRFD-SVSE) at the Biotechnology Centre, University of Yaoundé 1, on the 23rd February 2024.

The JIRB is satisfied with the current version of the research protocol and supporting documents and agrees that there is no objection on ethical grounds to the proposed study. The JIRB is therefore pleased to approve it on the consideration that the research team will strictly abide by the conditions of the approval below:

- Investigators must strictly follow the plan of the approved protocol. Any changes to the approved protocol will require prior JIRB approval.
- Must be promptly reported to the JIRB: (1) Any deviations from or changes to the protocol that are made to eliminate immediate hazards to the fauna or study participants; (2) All risks that may be rare or remote and especially those that may entail serious consequences or compromise potential benefits or that would affect the conduct of the research.
- Must prepare and submit a standard progress report of the research to the JIRB at completion or one year from the date of issuance of the approval letter and thereafter, on an annual basis.
- Must notify the JIRB when the research is completed. Failure to submit an annual progress report on the study may affect the conditions of approval.

The current ethical clearance is for one-year renewable, on the condition that a progress report is submitted to the JIRB. While the JIRB has given its approval for this study on a satisfactory ethical basis, it is necessary for the investigators to obtain research permit from the Ministry of Scientific Research and Innovation (MINRESI, Cameroon).

Sincerely,

Professor Jude D. Bigoga, M.Sc., Ph.D.
JIRB Chair
Faculty of Science, University of
Yaoundé I, Cameroon



Professor Frederic Nico Njayou, M.Sc., Ph.D.
Coordinator for Animal Research Bioethics
Faculty of Science, University of Yaoundé
I, Cameroon