REPUBLIQUE DU BENIN

****

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

****

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

****

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE (FSS)

****

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN MEDECINE

****

ANNEE : 2023 **N° 2633**

EVALUATION DE L'EFFET D'UNE RECETTE A BASE DE *Desmodium velutinum, Aframomum melegueta, Musa paradisiaca, Piper guineense* ET *Vitellaria paradoxa* SUR UN MODELE ANIMAL D'INFERTILITE MASCULINE

THESE

Présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

DIPLOME D'ETAT

par

Dossou Mariano AMOUSSOU

Né le 10 Juin 1998 à Cotonou (République du Bénin)

DIRECTEUR DE THESE :

MCA Simon AZONBAKIN

CO-DIRECTEUR DE THESE :

Dr Marius ADJAGBA

PRESDENT DU JURY

Pr Bonaventure AWEDE

MEMBRES DU JURY

Pr Julien G. DJEGO

MCA Fred J. HODONOU

Année académique : 2023-2024

REPUBLIQUE DU BENIN
*****
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE
****

N°1965 /2023/UAC/FSS/VD-Ecoles/VD-UFR Pharma/VD UFR Méd/SGE/CSRH/SA

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

DOYEN : Professeur AVAKOUDJO Josué Dejinnin Georges

VICE-DOYEN U.F.R Médecine : Maître de Conférences Agrégé VODOUHE Ulrich Bidossèssi

VICE-DOYEN U.F.R Pharmacie : Maître de Conférences Agrégé GANFON Medessou Yowel Habib

VICE-DOYENNE /ECOLES : Professeur AZON KOUANOU Angèle

Année : 2023-2024 (version octobre 2023)

PROFESSEURS TITULAIRES

1.	Dr ADJIBABI Wassi	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
2.	Dr MEHINTO Delphin Kuassi	Chirurgie Viscérale
3.	Dr LALEYE Anatole O. A	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
4.	Dr AMOUSSOU-GUENOU Marcellin Kuassi	Biophysique, Médecine Nucléaire
5.	Dr FIOGBE Michel Armand	Chirurgie Pédiatrique
6.	Dr HANS-MOEVI Aristote	Orthopédie -Traumatologie
7.	Dr KPADONOU Toussaint Godonou	Médecine Physique et de Réadaptation
8.	Dr ODOULAMI-YEHOUESSI Lisette	Ophtalmologie
9.	Dr ZOUMENOU Eugène	Anesthésie-Réanimation
10.	Dr DENAKPO Justin Lewis	Gynécologie Obstétrique
11.	Dr DOSSOU Francis Moïse	Chirurgie Générale
12.	Dr ADEGBIDI Hugues Daniel Gbadébo	Dermatologie Vénérologie
13.	Dr AFFOLABI Dissou	Bactériologie-Virologie
14.	Dr ALAO Modjere Ola Maroufou Jules	Pédiatrie et Génétique Médicale
15.	Dr ATADOKPEDE Agbomènou Félix	Dermatologie- Vénérologie
16.	Dr AWEDE Bonaventure Lucien Sévérin	Physiologie
17.	Dr FIOSSI KPADONOU Emilie	Pédopsychiatrie
18.	Dr TONATO BAGNAN Josiane Angéline A	Gynécologie-Obstétrique
19.	Dr ADJIEN Kodjo Constant	Neurologie
20.	Dr OGOUYEMI HOUNTO Aurore Bertille	Parasitologie
21.	Dr SEHONOU Jean	Hépato-Gastro-Entérologie
22.	Dr AGODOKPESSI Gildas	Pneumo-Phtisiologie
23.	Dr ALAMOU Soulé	Ophtalmologie
24.	Dr ALLABI Aurel Constant Eustache	Pharmacologie Clinique
25.	Dr AVAKOUDJO Josué D. Georges	Urologie-Andrologie
26.	Dr AYELO Ahounmènou Paul	Médecine du Travail
27.	Dr GNONLONFOUN Dieu donné	Neurologie
28.	Dr HOUNKPATIN Benjamin I. Bodounrin	Gynécologie Obstétrique
29.	Dr TSHABU AGUEMON Christiane	Gynécologie Obstétrique
30.	Dr ZOMALHETO Zavier Cossi	Rhumatologie
31.	Dr YEKPE AHOUANSOU Hermione Patricia Frida	Imagerie Médicale
32.	Dr AGUEMON Badirou Din	Santé Publique
33.	Dr ALAGNIDE Hountondji Etienne	Médecine Physique et de Réadaptation
34.	Dr AZON KOUANOU Angèle	Médecine Interne

Université d'Abomey-Calavi • FACULTÉ DES SCIENCES DE LA SANTÉ • LE DOYEN

35. Dr GBESSI Dansou Gaspard	Chirurgie Générale
36. Dr HINSON Vikkey Antoine	Médecine du Travail
37. Dr HOUNKPE Pierre Claver	Anesthésie-Réanimation
38. Dr LALYA Francis Honorat	Pédiatrie et Génétique Médicale
39. Dr VIGAN Jacques	Néphrologie
40. Dr CODJO Houétondji Léopold	Cardiologie
41. Dr YEMOA Loconon Y. Achille.	Chimie Analytique-Bromatologie

MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

1. Dr AVAKOUDJO François	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
2. Dr LAWSON AFOUDA Sonia	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
3. Dr SISSINTO SAVI DE TOVE Yolande	Parasitologie-Mycologie
4. Dr AGBODANDE Kouessi Anthelme	Médecine Interne
5. Dr ALIHONOU Thierry	Neurochirurgie
6. Dr BAGNAN TOSSA Léhila	Pédiatrie et Génétique Médicale
7. Dr GANFON M. Yowel Habib	Pharmacognosie
8. Dr KEREKOU Annelie Célestine.	Endocrinologie
9. Dr VODOUHE Ulrich B.	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
10. Dr WANVOEGBE Armand	Médecine Interne
11. Dr ABOUBACAR Moufalilou	Gynécologie-Obstétrique
12. Dr ABOUKI Chakiratou Olaïdé Adoukê	Ophtalmologie
13. Dr ADJADOHOUN Sonia B.M. Gwladys	Radiologie, Radiodiagnostic et Imagerie médicale
14. Dr AKODJENOU Joseph	Anesthésie Réanimation
15. Dr AKPADJAN Gbèmawonmédè Fabrice	Dermatologie-Vénérologie
16. Dr ALIHONOU Florence Nathalie Yacoba	Pédiatrie et Génétique Médicale
17. Dr ANAGONOU LARY Lucrèce	Pédopsychiatrie
18. Dr ATTOLOU Sètondji Roger Gilles	Chirurgie Générale
19. Dr AZONBAKIN Azandégbé Simon	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
20. Dr BIGOT Cédric Egnonwa Parfait	Médecine Légale
21. Dr BOGNON Gilles Modeste Alain	Pédiatrie et Génétique Médicale
22. Dr CHIGBLO Sègla Pascal Eric	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
23. Dr DEGBOE Kaï Bérénice Esthelle	Dermatologie-Vénérologie
24. Dr GNANGNON Freddy Houehanou Rodrigue	Cancérologie Chirurgicale
25. Dr HODONOU Dètondji Fred Jean-Martin	Urologie-Andrologie
26. Dr IMOROU SOUAÏBOU Yacoubou	Chirurgie Général
27. Dr KLIKPO Tchédié Etdéchié Elvire	Psychiatrie Adulte

Université d'Abomey-Calavi • LE DOYEN • FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

28. Dr KPOSSOU Aboudou Raïmi	Gastroentérologie et Hépathologie
29. Dr LAWANI Ismaïl	Chirurgie Viscérale
30. Dr MIKPONHOUE OLOU Rose Christelle	Médecine du Travail
31. Dr OGOUDJOBI Ogourindé Mathieu	Gynécologie-Obstétrique
32. Dr PADONOU Abiodun Adébola Djossè	Traumatologie-Orthopédie
33. Dr PADONOU Caroline Sourou Clémence	Pédiatrie et Génétique Médicale
34. Dr PADONOU Sètondji Géraud Roméo	Santé Publique
35. Dr SEIDOU Falilatou	Anatomie et Cytologie Pathologique
36. Dr SONOU Djidjoho Joël Arnaud	Cardiologie
37. Dr TOGNIFODE Medesse Véronique	Gynécologie-Obstétrique
38. Dr WACHINOU Ablo Prudence	Pneumo-Phtisiologie
39. Dr YEVI Dodji Magloire Inès	Urologie Andrologie
40. Dr ZOHOUN GUIDIGBI Lutécia Myria A	Pédiatrie et Génétique Médicale

MAITRES ASSISTANTS

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

1. Dr GANDAHO Hugues Jean-Thierry	Neurochirurgie
2. Dr AGBOTON Bruno Léopold	Néphrologie
3. Dr ADJAGBA Mahouna Philippe Dotou	Cardiologie
4. Dr AMOSSOU Labissi François	Traumatologie-Orthopédie
5. Dr BADOU Agnès Oladun Sylvie	Sociologie et Anthropologie sociale
6. Dr GNINKOUN Comlan Jules	Endocrinologie Métabolisme et Nutrition
7. Dr LOKOSSOU Mègnissè S. Houévi Symphorose	Gynécologie-Obstétrique
8. Dr TOKOUDAGBA Kossi Jean-Marie Dénis	Chimie Organique et Chimie des Substances Naturelles
9. Dr ADJOBIMEY Mênonli	Santé au Travail
10. Dr BANCOLE POGNON Sylvie Arlette A	Chirurgie Buccale
11. Dr ZOHOUN Comlan Gildas Alban	Hématologie
12. Dr AHOUNOU Ernest Stéphane	Anesthésie-Réanimation
13. Dr AÏGBE Nestor	Ophtalmologie
14. Dr DANGBEMEY Djima Patrice	Gynécologie-Odstrétique
15. Dr DO SANTOS ZOUNON Alexis	OTO-Rhino Laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale
16. Dr HOUNKPONOU AMOUSSOU-GUENOU Eliane Kayivi Murielle	Cardiologie
17. Dr LALEYE Christel Marie Fortunat Olatumbossum B.I.	Anatomie
18. Dr MIZEHOUN Gbèdécon Carmelle	Nutrition
19. Dr AGBOKPONTO Janvier Engelbert	Chimie Analytique

OCTOBRE 2023

20. Dr ASSANHOU Assogba Gabin	Pharmacie Galénique
21. Dr AZA-GNANDJI Guy-Gérard	Psychiatrie
22. Dr BAGLO Dédé Priscillia Tatiana	Hématologie Biologie
23. Dr GOUKODADJA Oswald	Traumatologie Orthopédie
24. Dr SOSSA Jean	Urologie
25. Dr HOUNDETOUNGAN David Gilles	Biophysique
26. Dr VIGNON Koffi Rodolphe	Hépato-Gastroentérologie

ASSISTANTS

1. Dr LANKPEKO AFFOLABI Clémence M.	Pédiatrie et Génétique Médicale
2. Dr YAKOUBOU YOBO Annatou	Pédiatrie et Génétique Médicale
3. Dr AMONLES Yves D.	Psychiatrie
4. Dr HOUESSOU ENIANLOKO TCHIAKPE Nicole Zinhoué	Pédiatrie
5. Dr DADJO Kinski Aumar	Traumatologie Orthopédie

ASSISTANTS EN POSITION PROBATOIRE

1. Dr HOUEZE Richard Ghislain Constantin	Neurologie
2. Dr CHABI Yossounon	Pharmacie hospitalière
3. Dr DANSOU Eugénie	Médecine interne
4. Dr DJOSSOU Hontongnon Julien	Rhumatologie
5. Dr AYI MEGNANGLO Codjo Austher	Radiologie et Imagerie médicale
6. Dr DAHOUE Togbédji Richard	Orthopédie Dento-Faciale
7. Dr HOUNSOU Nounagnon René	Chirurgie générale
8. Dr KOGUI DOURO Akim	Urologie-Andrologie

ASSISTANTS DE RECHERCHE DE RANG DOCTORAL

1. Dr TOHON Gbèdolo Honesty	Toxicologie et Analyse du risque

Le Doyen,

Université d'Abomey-Calavi LE DOYEN FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

Professeur Josué Dejinnin Georges AVAKOUDJO

OCTOBRE 2023

DEDICACE

Je dédie cette thèse :

- **A mes chers parents, AMOUSSOU K. Léon et KOMBETE A. Mahinou**

Depuis ma naissance vous vous êtes occupés de moi et avez tout sacrifié pour que je puisse avoir un avenir radieux. Les valeurs éthiques et morales que vous m'avez inculquées ont fait de moi l'homme que je suis devenu. Merci pour vos prières, vos bénédictions, vos précieux conseils et votre amour indéfectible et inconditionnel envers ma personne. Vous m'avez encouragé et soutenu jusqu'à l'aboutissement de ce travail. Puisse le Seigneur vous accorder santé et longévité afin que vous puissiez bénéficier des fruits de vos efforts.

Amen !

REMERCIEMENTS

Au Professeur Anatole LALEYE

Vos qualités intellectuelles et votre pédagogie nous ont amené au cours de notre cursus à aimer votre discipline et nous ont motivé à y faire notre travail de thèse. Comme un fils, vous nous avez accueilli dans vos locaux et offert un cadre adéquat pour nos études. Recevez ici, cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

Longue vie et parfaite santé à vous, cher Maître !

A mon Directeur de Thèse, Maître de Conférences Agrégé Simon AZONBAKIN

Cher maître, vous nous avez toujours inspiré par votre sens d'engagement et votre détermination. Nous avons beaucoup apprécié la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de diriger notre travail et la qualité de votre encadrement. Votre humilité, votre abnégation, votre amour du travail bien fait et votre sens de responsabilité à notre égard font de vous un Directeur de choix. Puisse Dieu vous accorder la santé et la prospérité.

Profonde déférence, cher Maître !

Au Professeur Habib GANFON

Cher Maitre, vous n'avez ménagé aucun effort à mettre à notre disposition votre laboratoire et tout le nécessaire dont nous avions besoin pour mener à bien nos travaux. Nous vous témoignons notre profonde gratitude pour votre sollicitude.

Sincères remerciements, cher Maître !

A mon Co-directeur Dr Marius ADJAGBA

Nous sommes heureux que vous ayez accepté de codiriger notre travail. Vous nous avez suivi comme un fils durant notre cursus. Aussi avons-nous apprécié votre implication et votre engagement dans l'aboutissement de nos travaux

malgré vos occupations. Recevez, cher maître, notre respect et notre profonde reconnaissance.

Profonde gratitude, cher maître !

Au Dr HOUNDETOUNGAN David

Merci pour votre participation dans la réalisation de cette thèse.

Profonde gratitude, cher Maître !

Au Dr Gérard DOSSOU-AGOIN

Pour la disponibilité et l'engagement que vous avez montrés dans l'accomplissement de ce travail.

Profonde gratitude !

A mes frères et sœurs

Vous qui avez toujours été là pour moi depuis le début, je vous témoigne ma profonde reconnaissance.

Sincères remerciements !

A M. Achille HOUETCHENOU

Vous m'avez toujours soutenu dans toutes mes entreprises et tout au long de mon parcours. Merci pour vos conseils de tous les jours et votre sollicitude.

Profonde reconnaissance !

A Mrs Arnaud AGBANLINSOU, Martial TCHOGBE et Yannick GOUSSANOU

Recevez ce travail comme la preuve de notre profonde gratitude.

Sincères remerciements !

A l'équipe de recherche du laboratoire d'histologie-cytologie et embryologie et particulièrement à Messieurs Honoré ZOCLANCLOUNON et Constant DJOKPE

Merci pour votre disponibilité, malgré vos différentes occupations, et votre participation à la réalisation de ces travaux.

Recevez notre sincère reconnaissance !

Aux DES d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique (Drs KOURAOGO Paul, OUEDRAOGO Anïs, YADJI GUERO Laila, TUO Alice, ILBOUDO Arnaud, NIKIEMA Romuald, GOULAI BI Etienne)

Nous vous sommes reconnaissant pour votre implication et votre engagement dans la réalisation de nos travaux.

Sincères remerciements !

Au Dr Marina DEGBELO

Nous vous remercions pour votre soutien lors de la réalisation de nos travaux et souhaitons une belle carrière.

Profonde reconnaissance !

Au Dr Maurel LALEYE

Merci pour votre soutien et votre participation dans la réalisation de cette thèse.

Profonde gratitude !

A M. God SOGLO

Merci pour votre participation dans la réalisation de ces travaux.

Profonde reconnaissance !

A mes promotionnaires et particulièrement aux membres de mon groupe d'internat (HOUNSOSSOU Marlyse, AMOUSSOU Robert, FANOU TOSSE Davy, DEHOUMON Marlyse, ASSANGBE Charesse, ATIHOU Rousland,

GBEWEDO Noé, DENAKPO Merquide, EZIN Vénérose, AMOU Franck, DJINADOU Youchaou, FINKPON Astride, LANVEDOU Dior, FAGNON Kêlomey, DADI Raïssa, TCHIAKPE Riccardo, BOCCO Yasmine, TOSSENOU Modeste et AGO Wilfrid alias AGO BABA)

Merci d'avoir rendu tous ces moments passés avec vous uniques. Belle carrière à vous, prospérité et succès dans toutes vos entreprises.

A mes amis pharmaciens Elfried GBEWEZOUN, Steeve DAZOUNDO, Farouk SAROUKOU, Axel AHOUANSOU, Faith ADOUNVO, Laura GOMEZ : nous avons apprécié votre application à la tâche lors de la réalisation de vos travaux, votre amour du travail bien fait, votre esprit de recherche scientifique et votre envie d'innover. Merci d'avoir contribué à la réalisation de cette thèse.

A M. Farouk AKIFEWA

Merci pour ta contribution dans la réalisation de ces travaux.

Profonde reconnaissance !

A Monsieur Parfait DOFFON

Pour votre sollicitude lors de la réalisation de nos travaux.

Sincères remerciements !

Au Dr Henri HOUNNASSO

Nous vous remercions pour votre contribution dans la réalisation de cette thèse.

Profonde reconnaissance !

A Mlle Ella LOKOUN

Merci pour votre soutien lors de la réalisation de ces travaux.

Sincères remerciements !

A Mlle AMOUSSOU Maria

Merci pour votre contribution dans la réalisation de nos travaux.

Profonde reconnaissance !

A Mlle Michkath MOUTAÏROU

Merci pour votre soutien dans la réalisation de ces travaux.

Sincères remerciements !

A Mlle Boushra ADIO

Merci pour ton soutien lors de la réalisation de ces travaux. Je te souhaite du succès dans tes études et tous tes projets.

Sincères remerciements !

A Mrs ADJIGNON SOGNIGBE Maxime, HOUNSINON Caleb et Mlles AKUETE-AKUE Ingrid, YAROU Manal et HOUSSOU Manouchka

Merci pour votre soutien lors de la réalisation de nos travaux.

Profonde reconnaissance !

A Mlle Nora HONFIN

Merci pour ta contribution dans la réalisation de cette thèse.

Profonde reconnaissance !

A Dr GBESSINON Firmin et Mme GBESSINON

Merci pour votre soutien lors de la réalisation de nos travaux.

Profonde reconnaissance !

A Mrs Olivier GANDONOU, HOUNDJAME Rokas, AVODAHO Clément, Junior ASSEY et Edoro KPADONOU

Sincères remerciements !

A Mmes Nicole AMADJIDJE et Firlande et Estelle GBENOUSSI

Sincères remerciements !

A Mmes Rose AVOUGNANSOU, HOUESSOU Ester, MONTERO Hermione et GBEHO Monia

Sincères remerciements !

A Mmes GANMONDEI Léa, GANMONDEI Sylvie et à mes cousins (Uriel, Samiath, Renaulde et Bellia)

Vous nous avez soutenu durant tout notre cursus. Recevez ce travail comme une preuve de notre reconnaissance.

Sincères remerciements !

A Mrs TELA et SEDJRO Stanislas

Merci pour votre accompagnement et votre sollicitude.

Profonde reconnaissance !

A M. Remy Gaudens HOUNDJE et Mme Akoele Gita HOUNDJE

Nous vous remercions pour votre soutien lors de la réalisation de nos travaux.

Sincères remerciements !

Mlle Grâce KAKPO

Sincères remerciements !

A mes amis GUELI Ulrich, AMOUSSOU Léa, ACAKPOVI Imelda, KITIHOUN Déo-gratias, KENOU Michelle

Profonde reconnaissance !

A Mmes AHOUANDJINOU Grâce, EDJO Adéline et HOUNDEGLA Judith.

Sincères remerciements !

A Mrs ZOUGOUNOU Simplice, DAYALOR Parfait et FANGBEDJI Elie.

Profonde reconnaissance !

A Mrs AMOUSSOU Epiphane, ASSOGBA Fabrice et YEBE Barnabé

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné.

Profonde reconnaissance !

A Mme LEROUX

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné au cours de notre stage à la maternité au CS Misséssin.

Profonde reconnaissance !

A Mme DAN

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné au cours de notre stage à la maternité au CS Misséssin.

Profonde reconnaissance !

Au Dr DODJI

Avec vous, nous avons tenu la lame de bistouri pour la première fois sur un champ opératoire, un moment que nous n'oublierons jamais. Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné.

Sincères remerciements !

Au Dr GAYITO René

Merci pour tout ce que vous nous avez appris pendant notre stage en chirurgie à l'Hôpital Padre Pio de N'dali. Avec vous, nous avons fait notre première extraction fœtale par césarienne. Nous vous témoignons notre profonde reconnaissance.

Profonde reconnaissance !

Au Dr GANGLO

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné pendant notre stage en chirurgie à l'Hôpital Padre Pio de N'dali !

Profonde gratitude !

Au Dr ADEBO Nazir

Nous avons beaucoup appris à vos côtés pendant nos stages aux urgences à l'Hôpital Padre Pio de N'dali.

Sincères remerciements !

Au Dr ADJIDOME Francis

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné et pour vos conseils.

Profonde reconnaissance !

Au Dr FADONOUGBO

Pour vos conseils et votre soutien.

Sincères remerciements !

Au Dr BOCODAHO Amos

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné et pour vos conseils.

Profonde reconnaissance !

Au Dr DANSOU Pétronille

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné.

Profonde gratitude !

Au Dr DAKO Ingrid

Merci pour tout ce que vous nous avez enseigné et pour vos conseils.

Profonde reconnaissance !

Au Dr Roméo DAH-BOLINON, Président de l'ONG Fondation Durable

Merci pour votre soutien et pour tout ce que vous nous avez appris. Que le Seigneur vous accompagne dans toutes vos entreprises.

Sincères remerciements !

Aux membres de l'ONG Fondation Durable et à l'équipe médicale

Puisse Dieu vous accompagner dans cette tâche d'aider les orphelins et les enfants démunis que vous vous êtes assignés. Merci de donner la joie au cœur à ces âmes innocentes.

Sincères remerciements !

HOMMAGES

Au président du Jury

Cher Maître, recevez notre reconnaissance pour avoir accepté évaluer la qualité de cet opuscule. Nous vous assurons par avance, que vos observations seront prises en considération.

Hommage respectueux, cher Maître !

Aux membres du Jury

Chers Maîtres, je vous prie de recevoir ma gratitude pour avoir accepté de contribuer à améliorer la qualité de ce travail. Vos précieuses recommandations seront scrupuleusement prises en considération.

Hommage respectueux, chers Maîtres !

A tout le personnel enseignant de la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou

Vous avez fait de nous l'homme que nous sommes devenu aujourd'hui et vous nous avez inculqué des qualités aussi bien intellectuelles que morales. Veuillez agréer, chers Maîtres, l'expression de notre profonde gratitude.

Par délibération, la Faculté des Sciences de la Santé a arrêté que les opinions émises dans cette thèse, n'engagent que son auteur.

SOMMAIRE

Pages

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS…….. **xxiii**

LISTE DES TABLEAUX……. **xxvi**

LISTE DES FIGURES……. **xxviii**

LISTE DES ANNEXES…… **xxxi**

INTRODUCTION…… **1**

GENERALITES……... **4**

CADRE, MATERIEL ET METHODE D'ETUDE……... **64**

RESULTATS…… **79**

DISCUSSION……... **101**

CONCLUSION……. **109**

PERSPECTIVES…….. **110**

REFERENCES……. **111**

ANNEXES……. **A**

TABLE DES MATIERES…… **M**

SERMENT D'HYPPOCRATE……... **P**

RESUME ET ABSTRACT…….. **R**

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ABP	Androgen Binding Protein
AMH	Anti-Müllerian Hormone
AND	Acide Désoxyribonucléique
AMP	Adénosine Monophosphate
AMPc	Adénosine Monophosphate cyclique
ASP	Actin-Severing Proteins
ASAT	Aspartates aminotransférases
ATCD	Antécédents
ATP	Adénosine Triphosphate
AZF	Azoospermia factor
CARD	Caspase Recruitment Domain
CAT	Catalase
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
°C	Degré Celsius
Cr	Crânial
Ctrl	Contrôle
Cyt c	Cytochrome c
DAG	Diacylglycérol
DHA	Acide déhydro-L-ascorbique
DL_{50}	Dose létale médiane
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Do	Dorsal
DPPH	2,2- Diphényl-1-picrylhydrazyl
DVAE	Desmodium Velutinum Aqueous Extract
EAG	Equivalents Acide Gallique
ECT	Equivalents Catéchine
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
ERU	Equivalents Rutine
EtOH	Ethanol
Fe	Fer
FSH	Follicule Stimulating Hormone
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power

g	Gramme
g/l	Gramme par litre
g/kg	Gramme par kilogramme
GnRH	Gonadotrophine Releasing Hormone
GPS	Global Positioning System
GPx	Glutathion peroxydases
h	Heure
HE	Hématoxyline-Eosine
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
IC_{50}	Inhibitory concentration 50
lGF1	lnsulin Growth Factor 1
IL1	Interleukine 1
IL6	Interleukine 6
IP3	Inositol triphosphate
kDa	Kilodalton
KISS 1 R	Kisspeptin receptor
KOR	kappa opiod peptide receptor
LDH	lactate dehydrogenase
LH	Luteinizing Hormone
LHRH	Luteinizing Hormone Realeasing Hormone
m	Masse
M	Molaire
mM	Milli molaire
MAR	Mixed Antiglobulin Reaction
MDA	Malondialdéhyde
MIS	Müllerian Inhibiting Substance
mg/kg	Milligramme par kilogramme
mg/ml	Milligramme par millilitre
ml	Millilitre
MOSI	Male Oxidative Stress Infertility
µg/ml	Microgramme par millilitre
µl	Microlitre
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide-Phosphate
NKB3R	Neurokinin B receptor

nm	Nanomètre
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
OCDE	Organisation de Coopération et Développement Economique
8OHdG	8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
8-OxodG	8-oxo-2'-déoxyguanosine
P	Protéine
PNN	Polynucléaire Neutrophile
P34H	34-kDa Human epididymal Protein
pH	Potential of Hydrogen
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate
PKA	Protéine Kinase A
PKC	Protéine Kinase C
PLC	Phospholipase C
SGF	Seminiferous Growth Factor
SOD	Superoxyde Dismutase
SRY	Sex determining Region of Y chromosome
TGFβ	Tumor Growth Factor β
UAC	Université d'Abomey-Calavi
UV	Ultra violet
v	Volume
Ve	Ventral

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau I : Seuil de normalité des différents paramètres spermatique selon l'OMS et anomalies associées (2010)…… 32

Tableau II : Les causes pré-testiculaires…….. 36

Tableau III : Les causes testiculaires……... 37

Tableau IV : Les causes post-testiculaires…… 37

Tableau V : Schéma du protocole pour l'activité pharmacologique…… 72

Tableau VI : Screening phytochimique de DAMPI……. 80

Tableau VII : Dosage quantitatif des composés polyphénoliques…….. 81

Tableau VIII : Test de réduction de la DPPH…….. 81

Tableau IX : Paramètres spermatiques……. 83

LISTE DES FIGURES

Pages

Figure 1 : Vue latérale du testicule et de l'épididyme après ouverture du scrotum…….. 4
Figure 2 : Coupe longitudinale du testicule…….. 5
Figure 3 : Vue anatomique schématique du trajet suivi par les spermatozoïdes depuis la libération dans la lumière des tubes séminifères jusqu'à l'expulsion lors de l'éjaculation…….. 7
Figure 4 : Schéma en vue ventrale de l´appareil génital du rat mâle…… 10
Figure 5 : Coupe du testicule en microscopie optique…….. 13
Figure 6 : Les stades du cycle spermatogénétique chez l'homme…… 17
Figure 7 : Les stades du cycle spermatogénétique chez le rat…….. 17
Figure 8 : Représentation schématique du spermatozoïde humain et du flagelle (modifiée)…….. 19
Figure 9 : Contrôle neuro-endocrinien de la spermatogenèse…….. 24
Figure 10 : Mécanisme de la peroxydation lipidique……... 41
Figure 11 : Fruits et graines de *Aframomum melegueta*……... 49
Figure 12 : Tige feuillée et fleurie de *Desmodium velutinum*…….. 52
Figure 13 : Fruits de *Musa paradisiaca*…… 54
Figure 14 : Tige feuillée de *Piper guineense*……..... 56
Figure 15 : Feuilles de *Vitellaria paradoxa*…….. 59
Figure 16 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH-H……... 70
Figure 17 : Extrait hydro-éthanolique de la recette (DAMPI)…….. 79
Figure 18 : Evolution du poids corporel……... 82
Figure 19 : Poids relatif des organes……. 82
Figure 20 : Effet de DAMPI sur le taux de MDA……. 84
Figure 21 : Effet de DAMPI sur l'activité de la SOD……... 85
Figure 22 : Effet de DAMPI sur l'activité de la catalase…….. 86
Figure 23 : Coupe histologique du testicule (groupe témoin ; HE x 100)..... 87

Figure 24 : Coupe histologique du testicule (groupe témoin ; HE x 400)..... 87
Figure 25 : Coupe histologique du testicule (groupe H_2O_2 ; HE x 100)…….. 88
Figure 26 : Coupe histologique du testicule (groupe H_2O_2 ; HE x 400)….. 88
Figure 27 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 0,5 g ; HE x 100)……..... 89
Figure 28 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 0,5g ; HE x 400)……... 89
Figure 29 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 1 g ; HE x 100)……. 90
Figure 30 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 1 g ; HE x 400)…..……. 90
Figure 31 : Coupe histologique du testicule (groupe Veliten ; HE x 100)... 91
Figure 32 : Coupe histologique du testicule (groupe Veliten ; HE x 400)... 91
Figure 33 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe témoin, HE x 100)…….. 92
Figure 34 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe témoin, HE x 400)…….. 92
Figure 35 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe H_2O_2, HE x 100)…….. 93
Figure 36 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe H_2O_2, HE x 400)…….. 93
Figure 37 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 0.5 g, HE x 100)…… 94
Figure 38 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 0.5 g, HE x 400)…… 94
Figure 39 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 1 g, HE x 100)…….. 95
Figure 40 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 1 g, HE x 400)…….. 95

Figure 41 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe Veliten 1 g, HE x 100)…….. 96

Figure 42 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe Veliten 1 g, HE x 400)…….. 96

Figure 43 : Consommation alimentaire……. 97

Figure 44 : Poids corporel……. 97

Figure 45 : Poids relatif des organes……. 98

Figure 46 : Coupe histologique du foie (groupe témoin)…….. 99

Figure 47 : Coupe histologique du foie (groupe DAMPI 2 g)…….. 99

Figure 48 : Coupe histologique du rein (groupe témoin)…….. 100

Figure 49 : Coupe histologique du rein (groupe DAMPI 2g)……... 100

LISTE DES ANNEXES

Pages

Annexe 1 : Protocole de recherche des groupes phytochimiques **A**

Annexe 2 : Poudre des plantes constituant la recette…… **F**

Annexe 3 : Agitateur magnétique rotatoire…… **F**

Annexe 4 : Dispositif de filtration…… **G**

Annexe 5 : Rotavapor……. **G**

Annexe 6 : Etuve…… **H**

Annexe 7 : Test positif au Tanins catéchiques…… **H**

Annexe 8 : Test positif aux tanins……... **I**

Annexe 9 : Test positif aux leucoanthocyanes…… **I**

Annexe 10 : Rats Wistar en cage…… **J**

Annexe 11 : Spermatozoïdes du rat Wistar en microscopie optique après coloration à l'éosine…… **J**

Annexe 12 : Certificat d'identification…… **K**

Annexe 13 : Certificat d'analyse…….. **L**

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans les sociétés humaines, la naissance d'un enfant dans un couple est un bonheur partagé. A l'opposé, un couple sans enfant est l'objet de beaucoup de critiques [1]. Un enfant apporte donc gaieté et honneur au couple [2].

L'infertilité du couple est définie selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant l'incapacité de concevoir après au moins 12 mois de rapports sexuels, réguliers, fréquents, complets et non protégés [2]. C'est un problème de santé publique qui touche environ 15% de couples dans le monde [3].

Pendant longtemps, la femme seule a porté le fardeau de l'infertilité du couple. Cependant, de récentes données montrent que les facteurs masculins contribuent à parts égales avec les facteurs féminins à la survenue de l'infertilité.

Les progrès de la médecine en général, et ceux de la biologie de la reproduction en particulier, ont établi la responsabilité de l'homme dans l'infertilité du couple ; dans 30% des cas, une étiologie masculine exclusive est retrouvée [3, 4]. Dans la majeure partie des cas, l'infertilité masculine est liée à des anomalies du spermogramme et chez 50% des hommes infertiles, aucune étiologie n'est identifiée. On parle alors d'infertilité idiopathique [5]. Des études récentes ont montré l'implication du stress oxydatif dans la survenue de l'infertilité idiopathique [5–7].

Les traitements proposés par la médecine moderne pour la prise en charge de l'infertilité idiopathique sont très nombreux incluant l'hormonothérapie, les antioxydants et parfois les techniques d'Assistance Médicale à la Procréation. Ces traitements sont généralement inaccessibles géographiquement et financièrement aux patients [5, 8]. Devant cette situation, les patients font parfois recours aux traitements traditionnels [8]. Des études effectuées au Bénin ont permis de répertorier les plantes utilisées dans la prise en charge de l'infertilité du couple [9–12].

Les plantes médicinales suscitent depuis toujours un grand intérêt et font de plus en plus l'objet d'investigations en vue d'en tirer de nouvelles molécules plus efficaces pour la prise en charge de l'infertilité masculine en général et celle

idiopathique en particulier. De nombreuses recettes ont montré une efficacité sur des modèles animaux d'infertilité et ceci surtout grâce à leur capacité antioxydante [13, 14]. Aussi chez l'homme, dans une étude préliminaire effectuée en 2018, l'équipe du Professeur AWEDE a montré une efficacité d'un remède constitué de *Garcinia kola*, *Manihot esculenta* et *Musa chinensis* sur l'infertilité masculine. Ils ont ainsi pu objectiver une tendance à l'amélioration de la numération, de la vitalité des spermatozoïdes et à l'augmentation des taux plasmatiques de testostérone, de LH et de FSH.

C'est dans cette même logique d'exploration des potentialités des plantes médicinales à améliorer la qualité du sperme que s'inscrit le présent travail. Il vise à étudier l'efficacité et l'innocuité d'une recette à base de plantes (*Desmodium velutinum*, *Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca*, *Piper guineense* et *Vitellaria paradoxa*) utilisée au Bénin dans le département du Mono, dans la prise en charge de l'infertilité masculine. Les objectifs de ce travail étaient :

- **Objectif général :** Etudier l'efficacité et l'innocuité d'une recette de la médecine traditionnelle utilisée dans le traitement de l'infertilité masculine sur le rat Wistar.
- **Objectifs spécifiques :**

Pour atteindre cet objectif, il s'est agi spécifiquement :

- d'analyser qualitativement et quantitativement le profil phytochimique de la recette
- d'évaluer la capacité antioxydante et les effets de la recette contre les troubles de la qualité du sperme du rat Wistar exposé au H_2O_2
- d'évaluer la toxicité aigüe de la recette

- **HYPOTHESES**

Les hypothèses rattachées à ces objectifs étaient :

- l'extrait hydroéthanolique de DAMPI renferme des métabolites secondaires doués de capacités antioxydantes.

- les capacités antioxydantes de DAMPI contribuent à ces effets protecteurs contre les troubles de la qualité du sperme induits par le H_2O_2 sur le rat Wistar
- l'extrait hydroéthanolique de DAMPI n'est pas toxique

1. GENERALITES

1.1- Rappel anatomo-physiologique et histologique

1.1.1- Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil reproducteur mâle comprend : les gonades masculines (testicules), les voies spermatiques, les glandes annexes, les organes génitaux externes.

1.1.1.1- Les testicules

Les testicules sont situés dans les bourses en dessous de la verge, au nombre de deux et constituent les organes producteurs de spermatozoïdes et sécrétoires d'hormones sexuelles mâles. Chaque testicule a la forme d'un petit œuf aplati transversalement et dont le grand axe est oblique en bas et en arrière. Le testicule pèse 14 à 20 g, mesure 4 cm de long, 2,5 cm d'épaisseur et 3 cm de diamètre antéro-postérieur. Une coupe verticale menée suivant le grand axe montre que l'organe est entouré d'une membrane fibreuse appelée albuginée et d'une tunique vasculaire . La figure 1 présente une vue latérale du testicule et de l'épididyme [15].

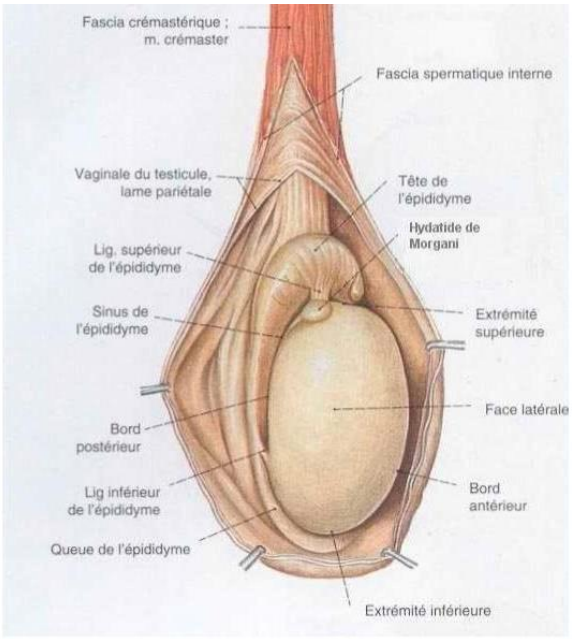


Figure 1 : Vue latérale du testicule et de l'épididyme après ouverture du scrotum [16]

L'albuginée est résistante, inextensible et donne au testicule sa coloration blanc nacré. Les testicules comportent deux faces (face interne et face externe), deux bords (l'un

postéro-supérieur et l'autre antéro-inférieur). L'albuginée s'épaissit vers la partie postéro-supérieure pour former le médiastinum testis qui envoie des cloisons (septula) qui divisent le testicule en lobules (200-300 lobules). Chaque lobule contient 1 à 4 tubes séminifères pelotonnés et des cellules interstitielles [15, 17].

La figure 2 présente une coupe longitudinale du testicule.

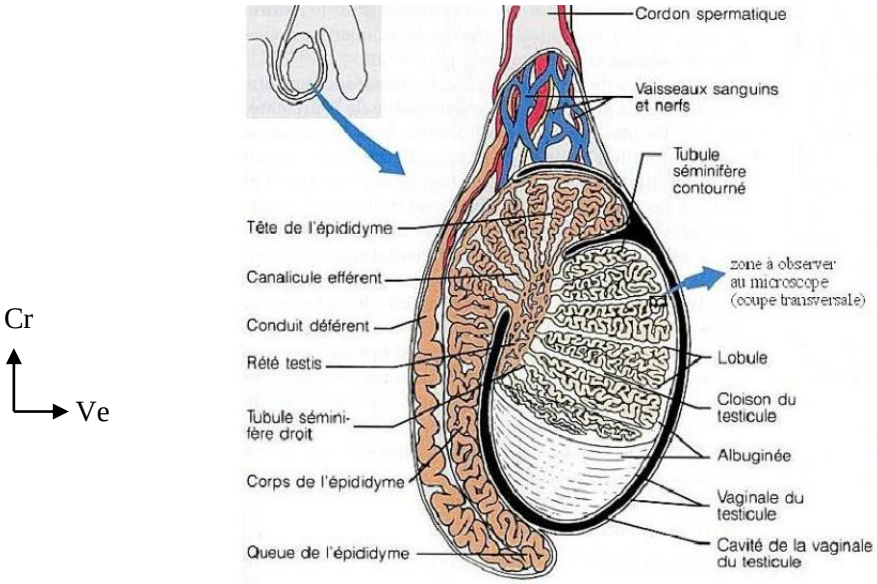


Figure 2 : Coupe longitudinale du testicule [16]

1.1.1.2- Les voies spermatiques

On distingue deux catégories de voies spermatiques :

a. Les voies spermatiques intra-testiculaires

Ce sont les tubes séminifères contournés, les tubes droits et le rete-testis.

- ***Les tubes séminifères contournés***

Chaque lobule contient environ 1 à 4 tubes séminifères contournés qui atteignent dans le testicule mature un diamètre de 140 à 300 µm et à l'état déroulé une longueur de 30 à 60 mm. C'est dans ces tubes que se forment les spermatozoïdes qui sont ensuite transportés dans les tubes droits.

- ***Les tubes droits***

Ce sont des conduits de 1 cm de long, tapissés histologiquement d'un épithélium cubique simple ou d'un épithélium pavimenteux simple. Ce sont les canaux excréteurs

de lobules. Les canalicules séminifères contenus dans chaque lobule du testicule se réunissent et forment un tube droit.

- ***Le rete-testis* ou *réseau de HALLER***

C'est un réseau de canalicules creusé dans le médiatinum testis où se jettent les tubes droits. Il est recouvert d'un épithélium cubique simple.

b. Les voies spermatiques extra-testiculaires

- ***Les cônes ou canalicules efférents***

Par l'intermédiaire du rete-testis, les spermatozoïdes pénètrent dans 12 à 20 canalicules efférents qui représentent la majeure partie de la tête de l'épididyme. Histologiquement, ils sont tapissés par un épithélium cylindrique simple reposant sur une membrane basale.

- ***L'épididyme***

C'est un organe allongé sur le bord postérieur du testicule dont il constitue le début de la voie excrétrice. Il comporte une tête antérieure renflée, un corps qui est médian et la queue postérieure qui se termine par le canal déférent. Long de 4 à 6 m, il commence au premier cône efférent et reçoit successivement tous les autres cônes. Le canal épididymaire se pelotonne en une épaisse masse correspondant au corps de l'épididyme. Il est tapissé d'un épithélium pseudostratifié stéréocilié qui repose sur une membrane basale. Le canal épididymaire est un lieu de stockage important des spermatozoïdes et également une voie de sécrétion des cellules qui a un triple rôle :

- assurer le maintien de la vitalité des spermatozoïdes arrivés dans les voies excrétrices ;
- conférer la mobilité propre aux spermatozoïdes quand ils atteignent ce segment des voies excrétrices c'est à dire l'épididyme ;
- rendre les spermatozoïdes inaptes à la fécondation par le phénomène dit « décapacitation ».

La musculature propre de l'épididyme est faite de couches musculaires s'épaississant de la tête vers la queue. Elle est circulaire au niveau de l'épididyme apical. Au niveau du corps et de la queue, des couches longitudinales et obliques s'y associent.

Cette musculature est régie par des mouvements rythmiques spontanés dont la fréquence diminue de la tête vers la queue tandis que l'amplitude augmente. Au niveau de l'épididyme caudale où les spermatozoïdes sont stockés avant l'éjaculation, uniquement des mouvements sporadiques sont observés [18, 19].

- ***Le canal déférent***

C'est un élément du cordon spermatique qui mesure environ 40 cm de long pour un diamètre de 2 mm. Partant de l'épididyme, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, se recourbe vers le bas du fond vésical où il continue par le canal éjaculateur [17].

- ***Le canal éjaculateur***

Il est long de 2 cm sur 1cm de diamètre et s'étend du point d'abouchement de la vésicule séminale dans le canal déférent à l'urètre prostatique. C'est un simple conduit vecteur. La figure 3 récapitule les voies spermatiques intra et extra-testiculaires

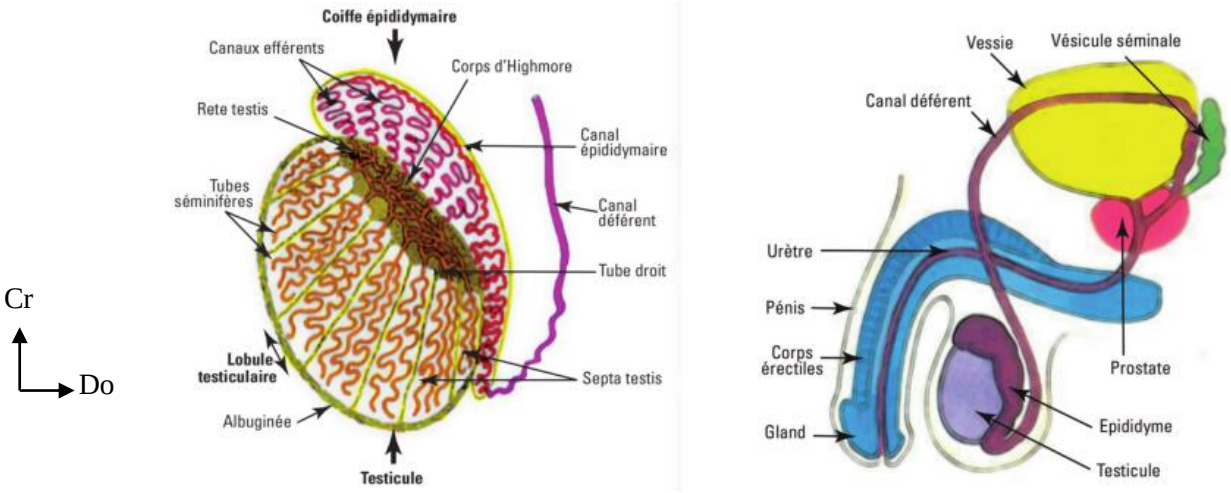


Figure 3 : Vue anatomique schématique du trajet suivi par les spermatozoïdes depuis la libération dans la lumière des tubes séminifères jusqu'a l'expulsion lors de l'éjaculation [20]

1.1.1.3- Les glandes annexes

Trois glandes sont annexées aux voies excrétrices masculines : les deux vésicules séminales (droite et gauche), la prostate (impaire et médiane) et les deux glandes de Cowper. Ces glandes produisent la majeure partie du sperme.

a- Les vésicules séminales [16, 21]

Les vésicules séminales sécrètent un liquide jaunâtre, visqueux et alcalin, qui agit sur l'état physiologique des spermatozoïdes en maintenant normale leur mobilité et en leur assurant une vitalité maximale dans le sperme.

b- La prostate [15, 16]

Elle apparaît comme un organe musculo-glandulaire impair et médian. Sa sécrétion (liquide prostatique) représente le 1/3 du plasma séminal. Elle est de couleur opaline, de faible viscosité et d'une odeur caractéristique due à la spermine.

c. Les glandes de Cowper

Elles sont constituées de deux petites masses glandulaires situées au-dessus du bulbe spongieux dans l'épaisseur de l'aponévrose pénienne moyenne. Les glandes de Cowper produisent un fluide émis en pré-sécrétion avant le coït et qui joue un rôle de protection du sperme contre les constituants délétères (ions, acides et bases) contenus dans l'urine au niveau de l'urètre [23].

1.1.1.4- Les organes génitaux externes

Les organes génitaux externes sont constitués par la verge et les bourses.

a- La verge [16, 17] **:**

C'est l'organe de la copulation destiné à déposer le sperme dans les voies génitales de la femme. Il comprend une racine fixe et un corps mobile, se terminant par une extrémité renflée appelée gland. La peau du pénis est lâche et forme autour du gland, vers l'extrémité distale le prépuce [22].

b- Le scrotum [16, 17] :

C'est un sac de peau et de fascia superficiel suspendu à l'extérieur de la cavité abdomino-pelvienne qui contribue au maintien d'une température scrotale relativement stable (32 à 35°C), il s'agit d'une adaptation essentielle à la spermatogénèse.

1.1.2- Particularités du système reproducteur chez le rat mâle

Les rats atteignent leur puberté entre 1 et 2 mois. Chez l'adulte, le scrotum est nettement visible en position ventrolatérale par rapport à l'anus. La distance anorectale est plus grande chez le mâle par rapport à la femelle. La peau du scrotum est mince et recouverte

de minces poils. Le rat est un phanerorchide intermittent. En effet, le canal inguinal dont le diamètre peut atteindre 8-12mm de long, reste ouvert tout au long de la vie animale, ce qui permet aux testicules de prendre une position soit scrotale, soit abdominale [23, 24].

Les testicules qui descendent entre le 30ème et le 40ème jour, sont de forme ovoïde et mesurent jusqu'à 2 cm de long. Ils atteignent un poids légèrement supérieur à 1 gramme lorsqu'ils sont dépourvus de leur épididyme [23, 24].

L'épididyme allongé se compose d'une grosse tête connectée par un fin corps à une queue très enroulée. Il entoure complètement le testicule sauf au niveau de son bord antérieur. La tête, logée dans un vaste corps adipeux, est, avec la queue, raccordée au testicule par un fin tissu conjonctif [23, 24].

Les conduits déférents débouchent au niveau de la paroi postérieure de l'urètre et ferme ainsi le col vésical. Juste avant leur terminaison, chaque conduit déférent présente une dilatation fusiforme ou ampoule du conduit déférent qui se rétrécit avant de pénétrer dans l'urètre. Ces ampoules sont entourées par des lobules issus des glandes ampullaires ramifiées. Ces lobules s'unissent à l'extérieur de la paroi des conduits déférents et s'ouvrent dans la lumière de ces ampoules à travers un canal excréteur commun. Ces glandes ne sont pas présentes chez l'homme [23, 24].

Les glandes génitales annexes sont très développées. Ils produisent un bouchon copulatoire gélatineux qui est visible dans le vagin après l'accouplement et qui est supposé empêcher les fuites de sperme. Ces glandes annexes sont la prostate, les vésicules séminales, les glandes ampullaires et les glandes bulbo-urétrales.

Les vésicules séminales s'étendent dorso-latéralement à la vessie, au-delà des crêtes iliaques et dorsalement en contact avec le rectum. Leurs extrémités supérieures sont brutalement recourbées vers l'arrière du corps. Elles sont grandes, lobulées et s'ouvrent dans l'extrémité inférieure du canal déférent. Chacune est entourée d'une capsule de même que le lobe dorsal de la prostate [23, 24].

La prostate se compose de 3 paires de glandes appelées lobe dorsal, lobe ventral, lobe latéral. La partie craniodorsale appelée glande coagulante est la plus volumineuse. Elle

est intimement associée à la vésicule séminale. Elle s'étend le long de la face interne et partage la même gaine de fascia. Elle mesure 14 à 18 mm de long sur 3 à 6 mm de large [23, 24].

Les glandes bulbo-urétrales se rencontrent au niveau de l'urètre à sa sortie du bassin. Elles forment un haricot de 5mm de long et se drainent dans la face dorsale de l'urètre à son franchissement. L'urètre présente un sinus latéral au niveau de la région du bulbe urétral [23, 24].

Les glandes préputiales se logent dans le tissu graisseux sous cutané à côté du pénis et s'ouvrent dans le prépuce. Ce sont des glandes sébacées qui secrètent une phéromone utilisée pour le marquage odoriférant. Celles-ci régressent avec l'âge et peuvent se remplir de sébum stagnant. Ces glandes sont absentes chez l'homme [23, 24].

Le pénis a la forme d'un 7 avec un angle antéro-ventral. Il est enfermé dans une gaine appelée prépuce et possède un os appelé le baculum. Le gland pénien rugueux du fait de la présence de papilles épidermiques, se situe dans le sac préputial. Une paire de glandes préputiales, de grande taille, aplaties et en forme de feuille, est présente juste à proximité du gland pénien. Leurs longs conduits excréteurs s'ouvrent dans la cavité préputiale près de l'extrémité du prépuce [23, 24].

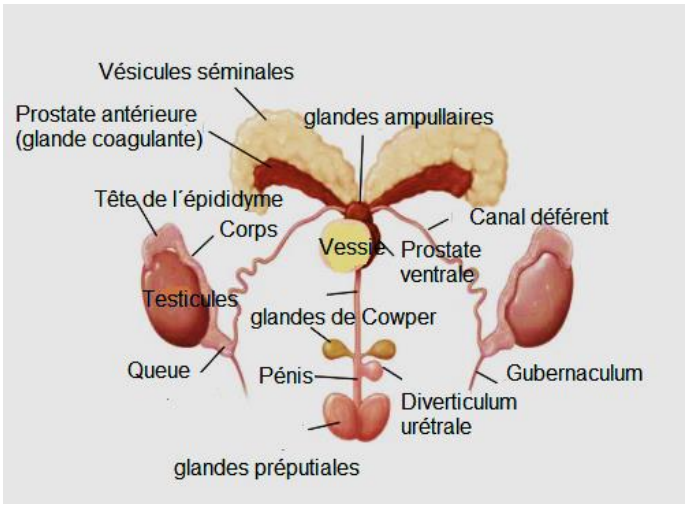


Figure 4 : Schéma de l'appareil génital du rat mâle (vue ventrale) [25]

1.1.3- Histologie du testicule

Les testicules ont la double fonction [17] :

- d'élaborer les cellules reproductrices masculines (spermatozoïdes) et,

- de synthétiser les hormones sexuelles masculines.

Chaque testicule est formé de deux tissus très différents :

1.1.3.1. Le testicule endocrine

Il est représenté par les cellules interstitielles de Leydig dont l'ensemble constitue la « glande interstitielle » du testicule. C'est une glande endocrine. Sous l'effet de la LH, les cellules de Leydig synthétisent la testostérone et des substances intermédiaires de testostérone. Ces hormones sont issues d'un précurseur commun, le cholestérol. Différentes enzymes telles que la 17α-Hydroxylase, la 17,20-Desmolase, la 17β-Hydroxystéroïde déshydrogénase et la 5α-réductase permettent la transformation du cholestérol en trois principaux stéroïdes testiculaires : la testostérone, la dihydrotestostérone et le 17-ß -œstradiol [26].

La testostérone est le principal androgène circulant. Quant à la dihydrotestostérone, c'est l'androgène actif au niveau des tissus périphériques (prostate, épididyme, vésicule séminale) grâce à la présence de l'enzyme 5-α réductase dans ces tissus. Le 17-ß - estradiol est sécrété par le testicule par conversion de la testostérone sous l'action de l'aromatase [16, 17, 26].

1.1.3.2. Le testicule exocrine

Il est représenté par les tubes séminifères qui sont le support de la production des spermatozoïdes. Ces tubes sont enveloppés par une membrane propre qui entoure l'épithélium séminal.

a- L'enveloppe péritubulaire [16] **:**

L'enveloppe péritubulaire ou lamina propria est composée d'une lame basale et de trois ou quatre couches concentriques de cellules péritubulaires séparées par du matériel fibrillaire et du collagène. Les cellules péritubulaires, contractiles, permettent la progression du contenu luminal vers les voies excrétrices. Les altérations de cette enveloppe sont un signe d'accompagnement constant des atteintes de la spermatogenèse [27].

b- Le tube séminifère

Le tube séminifère est un épithélium hétérogène qui comprend :

- la lignée germinale correspondant à l'ensemble des éléments qui aboutissent aux spermatozoïdes par le processus de la spermatogenèse.
- les cellules de Sertoli situées entre les cellules de la lignée germinale et présentant en microscope optique :
    - un noyau ovulaire différent des noyaux des cellules germinales ;
    - un cytoplasme qui émet des prolongements entre les cellules de l'épithélium séminal et qui présente diverses inclusions dont les plus communes sont dites cristalloïdes de Charcot- Bottchner.

Ces cellules de Sertoli ont un rôle très important pour la bonne marche de spermatogénèse :

- **Rôle structural :**

Par les jonctions serrées qu'elles établissent entre elles vers leur pôle basal, elles constituent une barrière physique séparant un compartiment basal en rapport avec l'interstitium contenant les capillaires sanguins et les cellules de Leydig et un compartiment apical ; elles forment ainsi la barrière hémato testiculaire [28].

- **Rôle dans la progression des cellules germinales :**

Elles exercent des fonctions mécaniques, par leur cytosquelette associé à des protéines contractiles ; elles permettent aux cellules germinales de migrer au fur et à mesure de leur maturation, en direction de la lumière du tube séminifère.

- **Rôle trophique :**

Elles exercent aussi des fonctions trophiques en assurant la maturation de la lignée germinale. Elle assure une fonction paracrine à l'égard des cellules germinales et elles sont responsables de la production du plasma séminal primitif [27, 29].

- **Rôles sécrétoires :**

Les cellules de Sertoli ont une activité de sécrétion importante notamment pour le soutien et la maturation des cellules germinales. L'une des protéines synthétisées par la cellule de Sertoli est « l'Androgen Binding Protein » (ABP). Elle est sécrétée dans le fluide luminal où elle se lie à la testostérone pour la transporter jusqu'à la tête de

l'épididyme. Après internalisation dans les cellules épithéliales, la testostérone, une fois libérée par l'ABP, est convertie en dihydrotestostérone par la 5α-réductase d'origine épithéliale [30]. Parmi les protéines synthétisées par les cellules de Sertoli, nécessaires au contrôle de la prolifération, la différenciation et au métabolisme des cellules germinales ; on distingue :

- **L'inhibine et l'activine :**

L'inhibine est constituée de deux sous-unités α et ß reliées par deux ponts disulfures. L'activine est un homodimère de 2 sous-unités ß. La sécrétion d'inhibine par la cellule de Sertoli est directement influencée par la FSH qui stimule la production de la sous-unité α sans modifier celle de la sous-unité ß [31]. Ils régulent la sécrétion de la GnRH et de la FSH (rétrocontrôle négatif sur la libération de la GnRH et la FSH en ce qui concerne l'inhibine et rétrocontrôle positif sur la libération de la FSH pour ce qui est de l'activine) [32].

La figure 5 nous montre les principaux types cellulaires observables en microscopie optique sur une coupe du testicule.

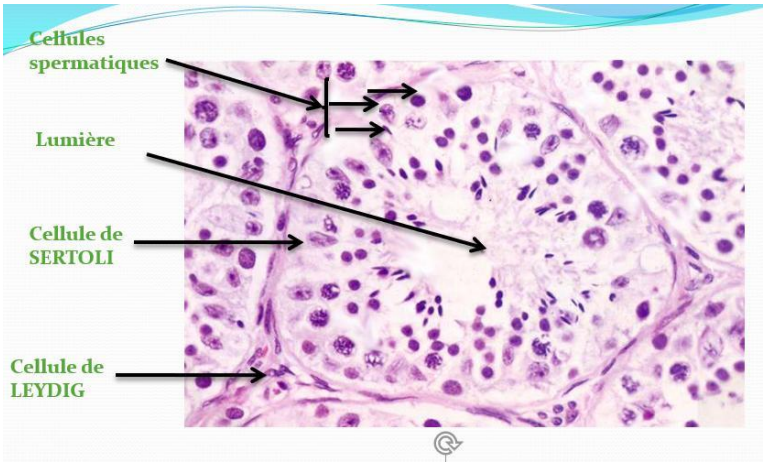


Figure 5 : Coupe du testicule en microscopie optique (x 400) [17]

La principale fonction du testicule exocrine est d'assurer la spermatogenèse.

1.1.4- La spermatogenèse

La spermatogenèse est l'ensemble des phénomènes de division et de différenciation cellulaire, qui à partir des cellules germinales souches (spermatogonies) donnent naissance aux spermatozoïdes. Elle a lieu dans le tube séminifère des testicules.

Elle débute à la puberté et se poursuit jusqu'à un âge avancé, mais peut diminuer à cet âge. Le début de la spermatogenèse commence par une division hétéronyme, suite à laquelle les deux cellules filles (deuxième groupe des cellules de type A) restent liées les unes aux autres par un mince pont cytoplasmique. C'est à travers ce processus qu'une spermatogonie est engagée dans le processus de la spermatogenèse [16, 17].
La spermatogenèse comprend trois phases distinctes : la phase de multiplication, la phase de maturation et la spermiogenèse.

1.1.4.1- La phase de multiplication

Elle dure environ 27 jours et assure trois fonctions principales grâce à la multiplication des spermatogonies A. La première est le maintien d'un pool de cellules germinales capables de se différentier assurant ainsi la continuité du processus de spermatogenèse. La deuxième est le renouvellement de l'épithélium séminifère en cas de dommage cellulaire. La dernière est la production des spermatocytes primaires par différentiation des spermatogonies A. Il existe deux types de spermatogonies de type A : A dark (Ad) et A pale (Ap). Le maintien du pôle cellulaire germinal ainsi que le renouvellement de l'épithélium séminifère est assuré par les spermatogonies Ad par contre la différenciation d'une spermatogonie Ad en spermatogonie Ap marque le début du processus de spermatogenèse [16, 17]. La spermatogonie Ap se différentie ensuite en spermatogonie B puis en spermatocyte primaires [33].

1.1.4.2- Phase de maturation

Elle fait suite à la naissance des spermatocytes primaires et comprend deux étapes : une mitose réductionnelle ou méiose I et une mitose équationnelle ou méiose II. Elle dure environs 24 jours dont 23 pour la méiose I et 1 pour la méiose II. Au cours de la phase de maturation le matériel génétique est réduit de moitié. On part donc des spermatocytes primaires, cellules diploïdes pour aboutir à la formation de 16 spermatides, cellules haploïdes [17]. La prophase de la 1ère division méiotique dure environ une à trois semaines. C'est la phase la plus longue ; elle est subdivisée en six étapes [34]: préleptotène, leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse. La métaphase I,

l'anaphase I et la télophase I font directement suite à la prophase [17]. Au cours de la mitose équationnelle, on assiste à une séparation des chromatides sœurs. Les spermatides rondes issues de cette division sont donc haploïdes à 23 chromosomes [34].

1.1.4.3- La spermiogenèse ou phase de différenciation

C'est la transformation d'une spermatide en spermatozoïde. Il s'agit d'une longue étape de maturation marquée par une réorganisation de l'ADN d'une part et d'autre part d'une réorganisation du complexe cytoplasmique. Au cours de ce processus, les spermatides subissent plusieurs changements comme :

- la condensation des chromosomes et des protéines du noyau pour former la tête du spermatozoïde. Le noyau se condense et se place en position sous membranaire. On assiste à un remplacement de 85 % des histones par la protamine entraînant une réduction de la taille du noyau de 10 %. Cette étape est déterminante pour l'obtention d'un sperme de bonne qualité. La condensation de l'ADN protège ce dernier contre tout dommage. Le déficit en protamine entraîne une fragmentation de l'ADN et constitue une cause d'infertilité avec diminution du nombre de spermatozoïdes, diminution de la mobilité, de la vitalité et la présence de nombreuses anomalies morphologiques [35].
- le développement de l'acrosome par le rassemblement des vésicules de l'appareil de Golgi. Il contient des enzymes protéolytiques nécessaires aux spermatozoïdes lors de l'interaction avec l'ovocyte ;
- au niveau de la partie proximale, les mitochondries s'assemblent en spirale au niveau de la pièce intermédiaire ;
- la formation du flagelle qui permet au spermatozoïde de se déplacer ; des microtubules se développent en arrière de l'acrosome.

Les corps résiduels (fragments de cytoplasme non utilisés) seront éliminés par la cellule puis phagocytés par les cellules sertoliennes.

Après ces changements morphologiques des spermatides, ils quittent l'épithélium séminifère pour achever leur maturation et acquérir leur pouvoir fécondant dans l'épididyme. La spermiogenèse dure 23 jours [17].

Au cours de la spermiogénèse (la tête des spermatides fait face au compartiment basal des tubes séminifères et la dernière étape consiste en la translocation des spermatozoïdes de la partie adluminale du tube séminifère vers la lumière du tube. Cette phase de libération des spermatozoïdes matures, où ils se détachent de la cellule de Sertoli dans la lumière du tube séminifère, est appelée spermiation [34].

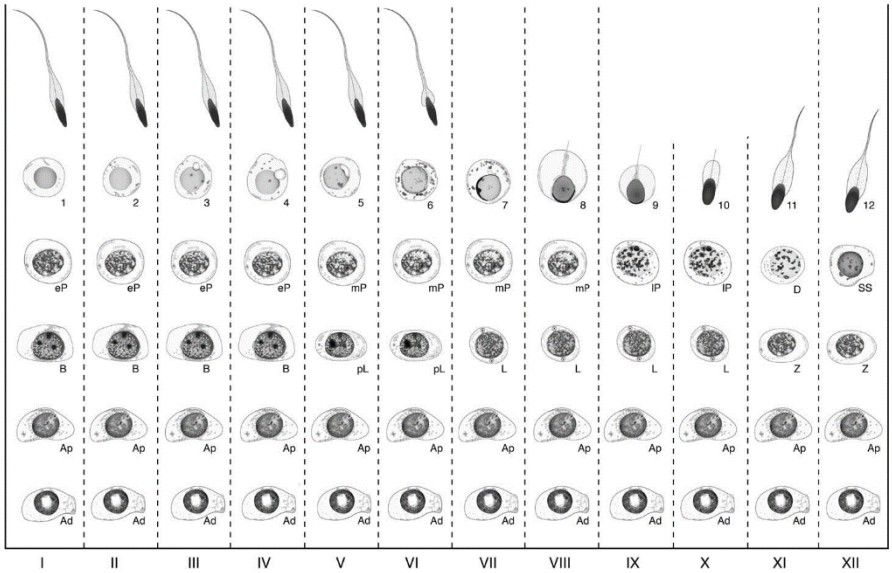
L'ensemble des phases de multiplication, de maturation et de différenciation s'appelle le cycle spermatogénétique, qui dure environ 74 jours. C'est pourquoi il est recommandé de faire un espacement de trois mois entre deux spermogrammes chez le même sujet [17].

1.1.4.4- Particularités de la spermatogenèse chez le rat

Sur le plan histologique, la spermatogenèse chez le rat dure environ 52 à 56 jours [36]. Chez le rat, on retrouve quatre types de spermatogonies A : A_{dark}, $A_{isolé}$, A_{paire}, $A_{aligné.}$ Chaque type cellulaire étant issu de la division et de la différentiation du type précédent. Ceci a comme intérêt la production d'un grand nombre de spermatozoïdes par rapport à l'espèce humaine qui ne possède que deux types de spermatogonies A (A_{dark} et A_{pale}). Bien d'autres facteurs augmentent le potentiel spermatogénétique du rat par rapport à celui de l'homme. Chez l'homme, le nombre absolu de cellules germinales est de 100-300 millions par gramme de testicules contre 530 millions par gramme de testicule chez le rat. De plus, le ratio de conversion spermatocytes pachytènes-spermatides ronds est de 3.5 et celui de conversion spermatides ronds-spermatides allongés de 0.9 chez l'homme tandis que ces ratios sont respectivement de 4 et 1 chez le rat. Par ailleurs, les cellules de Sertoli du rat ont une meilleure efficience que celles humaines [36, 37].

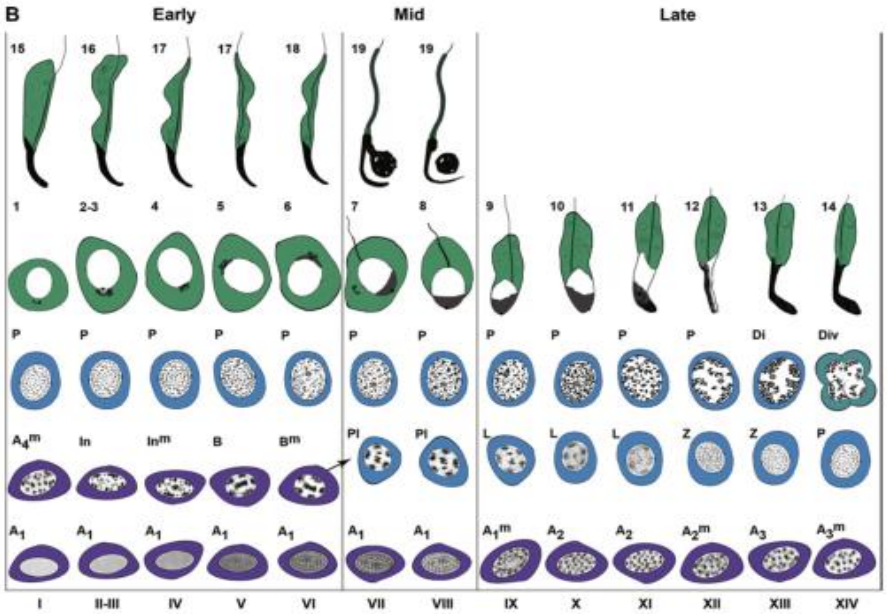
Le processus de la spermatogenèse chez le rat est presque similaire à celui de l'homme. Il comprend également trois phases. Cependant, il existe quelques spécificités. En effet, le cycle spermatogénétique du rat est subdivisé en 14 stades selon les 19 étapes de la

spermiogenèse tandis que dans l'espèce humaine, la spermiogenèse comprend 12 étapes permettant la subdivision du cycle en 12 stades [30, 38]. Les figures 6 et 7 ci-dessous montrent les étapes de la spermiogenèse ainsi que les stades du cycle spermatogénétique chez l'homme et chez le rat.



Ap : spermatogonie A_{pale}, Ad : spermatogonie A_{dark}, B : spermatogonie B, pL : spermatocyte préleptotène, L : spermatocyte leptotène, Z : spermatocyte zygotène, eP : spermatocyte pachytène au stade précoce, mP : spermatocyte pachytène au stade moyen, lP : spermatocyte pachytène au stade tardif, D : spermatocyte au stade diplotène, SS: spermatocyte secondaire, 1-12 : les 12 étapes de développement du spermatide.

Figure 6 : Les stades du cycle spermatogénétique chez l'homme [38]



A_{1-4} : spermatogonies A_1 à A_4, In: spermatogonie intermédiaire, m : mitose, B : spermatogonie B, Pl : spermatocyte préleptotène, L : spermatocyte leptotène, Z : spermatocyte zygotène, P : spermatocyte pachytène, Di : spermatocyte au stade diplotène, Div : 2ème division méiotique, 1-19 : les 19 étapes de développement du spermatide.

Figure 7 : Les stades du cycle spermatogénétique chez le rat [30]

1.1.4.5- Le spermatozoïde

C'est une cellule issue de la transformation des spermatides dont la complexité n'a été bien révélée que par le microscope électronique.

- Au **microscope optique**, le spermatozoïde présente trois parties que sont : la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle [17, 34].
- Le **microscope électronique** permet de détailler la complexité du spermatozoïde et distingue 5 parties :la tête, la pièce de connexion, la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale.

- **La tête**

Elle est formée du noyau recouvert par l'acrosome. Le noyau est allongé et aplati. L'acrosome recouvre la moitié antérieure du noyau et contient les enzymes hydrolytiques (protéases, phosphatase acide, hyaluronidase et neuraminidase, entre autres) que l'on trouve habituellement dans les lysosomes [34].

- **La pièce de connexion**

La pièce de connexion est un segment étroit contenant une paire de centrioles. Le centriole distal donne naissance à l'axonème, le constituant central de la queue du spermatozoïde [34].

- **La pièce intermédiaire**

La pièce intermédiaire de la queue est constituée d'une gaine de mitochondries à disposition hélicoïdale de 7 à 8 µm de long, de l'axonème micro tubulaire de type 9 + 2 et de neuf colonnes longitudinales, appelées fibres denses externes, qui s'étendent sur presque toute la longueur de la queue, à partir de la pièce de connexion correspondant au cou du spermatozoïde. La figure 8 illustre la structure de l'axonème.

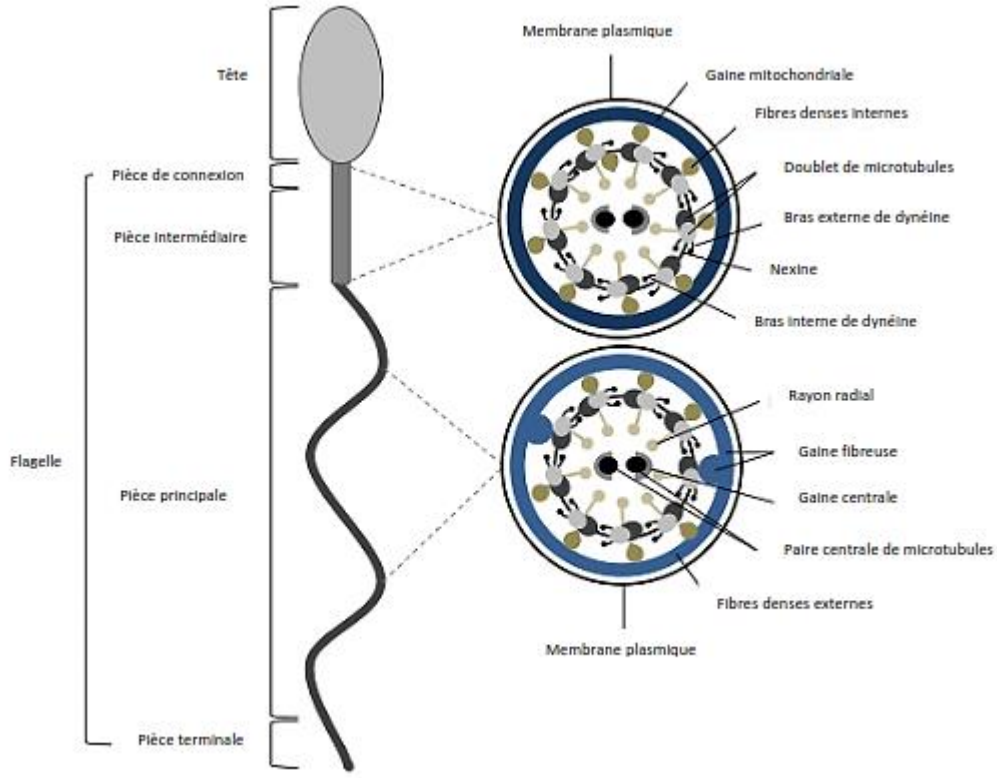


Figure 8 : Représentation schématique du spermatozoïde humain et du flagelle (modifiée) [39]

L'axonème est constitué d'un doublet central de microtubule complet et de neuf doublets périphériques faits d'un microtubule complet A (constitué de 13 tubulines) enchâssé dans un microtubule incomplet B (constitué de 15 tubulines). De chaque microtubule A partent des bras de dynéines, interne et externe en direction du microtubule B adjacent [40].

Les bras de dynéine sont constitués d'un domaine catalytique qui assure l'hydrolyse de l'ATP, un domaine terminal, permanemment lié au microtubule A (indépendamment de l'hydrolyse de l'ATP) et un domaine de liaison au microtubule B (dont la conformation dépend de l'hydrolyse de l'ATP). Les bras de dynéines sont les acteurs de la mobilité des spermatozoïdes [41].

La limite inférieure de la pièce intermédiaire correspond à la terminaison de l'hélice mitochondriale au niveau de l'annulus [34].

- **La pièce principale**

La pièce principale est le plus long segment de la queue. Elle est formée de l'axonème central entouré de sept fibres denses externes (et non neuf, comme dans la pièce intermédiaire) et d'une gaine fibreuse [34].

- **La pièce terminale**

La pièce terminale est un segment très court de la queue dans lequel on ne trouve que l'axonème du fait de l'interruption, en amont, des fibres denses externes et de la gaine fibreuse [34].

- **Mobilité du spermatozoïde**

La mobilité est l'un des paramètres essentiels de l'évaluation de la qualité du sperme. Il existe une corrélation entre les altérations de la mobilité des spermatozoïdes et l'infertilité. A l'origine du mouvement, il y a le glissement des microtubules périphériques axonémaux les uns par rapport aux autres, résultant d'un cycle mécano-chimique d'attachement et de détachement successifs des bras de dynéine sur le microtubule voisin. L'énergie nécessaire au déplacement des microtubules résulte de l'hydrolyse de l'ATP fournie par les mitochondries de la pièce intermédiaire et de la glycolyse. L'hydrolyse de l'ATP se produit grâce aux propriétés ATPasiques de la dynéine. Elle entraine un changement de conformation de la dynéine qui se lie au microtubule B voisin entrainant un mouvement de glissement. Le glissement qui se produit dans l'axe longitudinal du flagelle est alors transformé en courbure par un mécanisme incomplètement élucidé qui pourrait faire intervenir les liens de nexine et les ponts radiaires. L'interaction dynéine-tubuline se répète de proche en proche le long du flagelle. La courbure forme une onde qui se déplace vers l'extrémité distale flagellaire tout en augmentant progressivement son amplitude [40].

La régulation de la mobilité des spermatozoïdes fait intervenir plusieurs facteurs tels que les espèces réactives de l'oxygène, la concentration d'AMP cyclique, le pH et le calcium intracellulaire. Ces mécanismes de régulation sont détaillés un peu plus loin avec le rôle physiologique des espèces réactives de l'oxygène.

1.1.4.6- Maturation des spermatozoïdes

L'épididyme est le siège de la maturation des spermatozoïdes. Elle s'effectue au niveau de la tête et du corps de ce dernier où les spermatozoïdes subissent diverses modifications morphologiques avant d'être stockés au niveau de la région caudale. Ces modifications concernent essentiellement la morphologie, la motilité, la capacité à se lier à la pellucide et la condensation de la chromatine spermatique.

- **Modification morphologique**

Il s'agit essentiellement d'une réduction de la taille des spermatozoïdes résultant d'un phénomène de déshydratation cellulaire sous l'effet du fluide hyperosmolaire contenu dans l'épididyme. Ceci permet l'obtention de spermatozoïdes plus résistants [42]. Les spermatozoides subissent également des modifications membranaires telles que l'augmentation de la proportion d'acides gras polyinsaturés. L'acide gras polyinsaturé le plus représenté est l'acide docosahexaénoïque (à 50 %). La conséquence est l'augmentation de la fluidité membranaire des spermatozoides, condition préliminaire aux étapes suivantes que sont la capacitation, la réaction acrosomale et la fusion spermatozoïde-ovocyte.

- **Mobilité**

Au fur et à mesure de leur évolution dans le canal épididymaire, il y a une augmentation de la vélocité des spermatozoïdes ainsi qu'une modification de leurs mouvements flagellaires. Les spermatozoïdes initialement immobiles acquièrent une mobilité rectiligne. L'acquisition de la mobilité implique surtout les espèces réactives de l'oxygène.

- **Capacité à se fixer à la zone pellucide**

Elle implique diverses protéines dont la plus connue est la protéine P34H (34-kDa Human epididymal Protein) synthétisée au niveau du corps de l'épididyme. Cette protéine est incorporée grâce aux épididymosomes dans la membrane du spermatozoïde au niveau de la région couvrant l'acrosome. Un déficit en P34H entraine un défaut de

liaison spermatozoïde-zone pellucide. Environ 40 % des hommes ayant une infertilité idiopathique sont caractérisés par un déficit en P34H [43].

- **Condensation de la chromatine spermatique**

Elle implique également les espèces réactives de l'oxygène et sera détaillée plus loin avec le rôle physiologique des espèces réactives de l'oxygène.

1.1.5- Régulation de la spermatogenèse

La régulation de la spermatogenèse est endocrine (hormonale) et locale (paracrine, autocrine).

1.1.5.1- La régulation hormonale de la spermatogenèse

L'installation de la spermatogenèse à la puberté et son maintien dépend du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.

a- Niveau hypothalamique

Les neurones des noyaux supra-optique et ventro-médian de l'hypothalamus synthétisent une gonadolibérine la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), qui est sécrétée de façon discontinue, par décharges ou « pulses ». La sécrétion GnRH est elle-même régulée par la kisspeptine, un peptide hypothalamique sécrété par les neurones des noyaux infundibulaire et rostral préoptique. Elle stimule la sécrétion de GnRH en se liant à son récepteur KISS 1 R. Deux mécanismes permettent de réguler la sécrétion de kisspeptine : l'un autocrine et l'autre hormonal. Le mécanisme autocrine fait intervenir la neurikinine B et la dynorphine ayant respectivement des effets stimulateur et inhibiteur de la sécrétion pulsatile de kisspeptine en se liant respectivement à leur récepteur NKB3R (Neurokinin B receptor) et KOR (kappa opiod peptide receptor). Le mécanisme hormonal implique les hormones stéroïdiennes qui vont exercer un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de kisspeptine. C'est par ce dernier mécanisme que s'effectuerait le rétrocontrôle gonado-hypothalamique [17, 44, 45].

b- Niveau hypophysaire

La GnRH se lie à ses récepteurs sur les cellules de l'adénohypophyse et y induit la synthèse de deux hormones gonadotropes ou gonadotrophines, la FSH (Follicule

Stimulating Hormone) et la LH (Luteinizing Hormone), qui sont sécrétées de manière continue et régulière. Elles ont comme cellules cibles des cellules du testicule (cellules de Sertoli et cellules de Leydig). En effet, la GnRH se lie à son récepteur couplé à la protéine Gα située sur la membrane des cellules gonadotropes. Il s'en suit une activation de la phospholipase C (PLC) qui hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) en inositol 1, 4, 5 triphosphates (IP3) et en diacylglycérol (DAG). L'IP3 et le DAG sont tous les deux des seconds messagers. L'IP3 provoque la libération de calcium par le réticulum endoplasmique à l'origine d'une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium. Cette concentration est accrue par l'ouverture des canaux calciques de la membrane plasmique. Le calcium provoque l'exocytose des vésicules contenant les gonadotrophines [26].

Par ailleurs, le DAG stimule la protéine kinase C (PKC) qui va augmenter l'expression des gènes responsables de la synthèse de la FSH et de la LH [26].

c- Niveau testiculaire

Au niveau des cellules de Leydig, la LH se lie à un récepteur couplé à la protéine G qui active l'adényl cyclase. Ce dernier catalyse la synthèse d'AMPc qui active la protéine kinase A (PKA). La PKA activée module l'expression des gènes et augmente la synthèse des enzymes nécessaires à la biosynthèse de la testostérone[26]. Par un mécanisme similaire, la FSH se lie à ses récepteurs situés sur la cellule de Sertoli et stimule la synthèse de divers protéines[26].

d- Systèmes de rétro-contrôle

A tous les étages, les sécrétions endocrines sont contrôlées par leurs propres effets (feed back).

***Rétro-contrôle gonado-gonadique* :** l'inhibine a un effet inhibiteur sur les mitoses goniales.

***Rétro-contrôle gonado-hypophysaire* :** l'inhibine diminue la sécrétion de FSH et à moindre degré celle de LH ; la testostérone diminue la sécrétion de LH et à un moindre degré celle de FSH.

***Rétro-contrôle gonado-hypothalamique* :** la testostérone et l'inhibine ont un effet inhibiteur sur la production de GnRH.

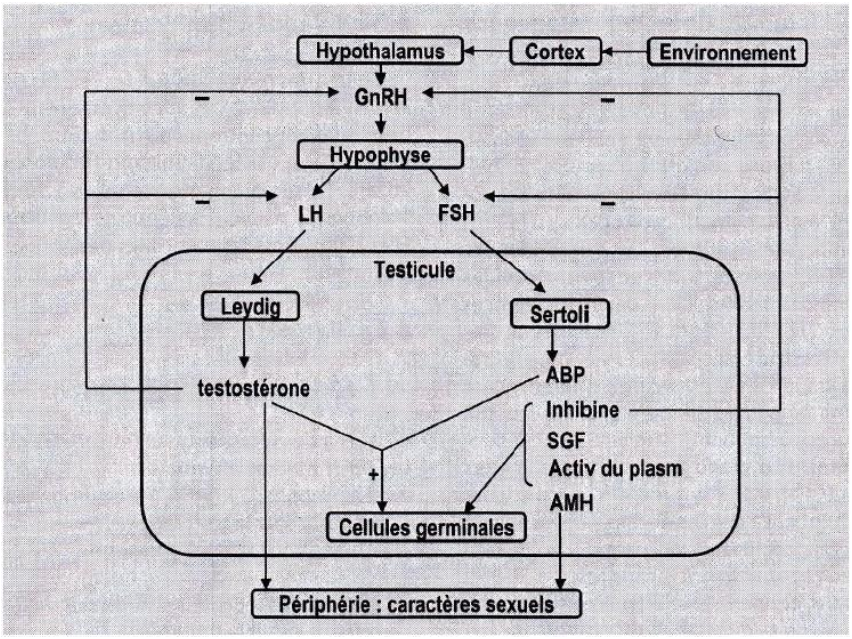


Figure 9 : Contrôle neuro-endocrinien de la spermatogenèse [17].

1.1.5.2- Régulation paracrine et autocrine de la spermatogenèse

Elle est due à des substances sécrétées par une cellule ou un groupe de cellules qui agissent sur des cellules voisines à l'intérieur du testicule. Ces substances sont responsables d'interactions réciproques entre les cellules de Leydig, les cellules de Sertoli et cellules germinales [46].

La cellule de Sertoli synthétise un grand nombre de substances, notamment : l'inhibine, l'activine, l'IGF 1, le TGF β, le SGF, l'activateur du plasminogène, les IL 1 et 6 [16].

1.2- Infertilité masculine

1.2.1- Définitions

L'infertilité du couple : elle est définie selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant l'incapacité pour un couple de concevoir après au moins 12 mois de rapports sexuels, réguliers, fréquents et non protégés [2].

Infertilité masculine primaire : Ce terme est utilisé lorsqu'un homme n'a jamais fécondé une femme (OMS 2023). Féconder signifie que la conception a eu lieu, indépendamment de l'évolution de la grossesse [16, 47].

Infertilité masculine secondaire : Ce terme est utilisé lorsqu'un homme a fécondé antérieurement une femme au moins une fois (OMS 2023). Ceci indépendamment du fait qu'elle soit la partenaire actuelle, et indépendamment de l'évolution de la grossesse [16, 47].

La stérilité : c'est un état irréversible d'infertilité [11].

1.2.2- Épidémiologie de l'infertilité masculine

L'infertilité touche environ 15 % des couples dans le monde (soit 48 millions de couples) et environ 190 millions de personnes sont concernées (OMS 2023) [48, 49]. Au Bénin, 20% des couples ont des difficultés à concevoir [50]. Les hommes sont les seuls responsables de 20 à 30 % des cas d'infertilité dans le monde et contribuent à 50 % des cas dans l'ensemble. Une cause est identifiée chez 5 hommes sur 10 et un traitement spécifique est proposé. Cependant, dans 50% des cas d'infertilité masculine, aucune cause n'est identifiée [3, 5, 6]

1.2.3- Facteurs de risque de l'infertilité masculine

La distinction entre facteurs de risque et étiologies est un peu théorique, car tous les facteurs de risque qui diminuent la fertilité peuvent entraîner une infécondité voire une stérilité. Les facteurs de risque peuvent être environnementaux ou liés au mode de vie.

1.2.3.1- L'impact des facteurs environnementaux sur la fertilité masculine

L'influence des facteurs environnementaux sur la fertilité a été décrite dans la littérature. Notre environnement est pollué par divers agents chimiques impactant négativement le système reproducteur. Des études ont montré une altération de la qualité du sperme chez les hommes vivant dans des zones hautement polluées [51]. Il s'agit essentiellement de la pollution aérienne, de l'exposition aux agents chimiques et aux radiations ionisantes et de la chaleur [52].

Les sources de pollution de l'air sont les gaz d'échappements des motos et des véhicules, les usines, les pesticides. Les agents polluants concernés sont des composés volatiles tels que : l'ozone, l'oxyde d'azote, le dioxyde de soufre, le monoxyde de

carbone et les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Les particules de moins de 10 micromètres peuvent traverser la barrière alvéolo-capillaire et altérer diverses fonctions dans l'organisme dont la fonction reproductrice. Des études ont montré une augmentation de la fragmentation de l'ADN, une augmentation des anomalies morphologiques et une diminution de la mobilité des spermatozoïdes chez les hommes vivant dans une zone dont l'air est pollué. L'exposition aux gaz d'échappements des automobiles entraine une altération de la chromatine spermatique et une fragmentation de l'ADN. L'ozone est un polluant majeur et peut expliquer l'augmentation des cas d'infertilité observés ces dernières années [52].

Le mécanisme par lequel les polluants de l'air entrainent des altérations des paramètres spermatiques n'est pas encore bien élucidé. Mais il peut être expliqué par le fait que les particules de moins de 2,5 micromètres peuvent traverser la barrière hémato-testiculaire et entrainer des troubles de la stéroïdogenèse. De plus, ils peuvent augmenter la production d'espèces réactives de l'oxygène, source d'altération des paramètres spermatiques [52].

Les métaux lourds comme le plomb, le chrome, l'arsenic, le mercure et le cadmium peuvent être source d'infertilité. Ces métaux proviennent principalement des domaines agricoles, des matières plastiques, des industries et des peintures. Le plomb diminue de la mobilité des spermatozoïdes, provoque une tératospermie, une décondensation de la chromatine spermatique et une fragmentation de l'ADN. Le chrome détruit les cellules germinales. Le mercure altère l'enveloppe péritubulaire et l'arsenic entraine des troubles de la stéroïdogenèse [51].

Les métaux lourds affectent la fertilité en induisant la production d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine d'une peroxydation lipidique et d'une fragmentation de l'ADN [52]. Certains métaux lourds sont également gonadotoxiques et génotoxiques et donc peuvent entraîner des effets sur les paramètres spermatiques [53].

Les matières plastiques sont d'utilisation courante dans la vie quotidienne, surtout dans les pays en voie de développement. Mais elles contiennent bien de composés chimiques capables de perturber le déroulement normal de la spermatogenèse. Le

bisphénol A est un constituant majeur des matières plastiques, connu pour sa capacité à perturber le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. Un taux élevé de bisphénol A entraîne une atteinte de l'ADN, une dysfonction mitochondriale, diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes [51, 52]. On retrouve également dans les matières plastiques les phtalates. Selon Emojevwe *et al.* en 2022, leur administration à 750 mg/kg à des rats Wistar par gavage pendant trois semaines entraîneraient une diminution de la numération, la vitalité et la mobilité des spermatozoïdes avec une augmentation des anomalies morphologiques. Ils induiraient également une destruction de l'épithélium séminifère et des cellules de Leydig et agiraient en stimulant la production d'espèces réactives de l'oxygène [54].

Les pesticides, spécialement le dibromochloropropane et l'éthylène dibromide qui sont les plus étudiés, sont connus pour leurs effets directs sur les spermatozoïdes, les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig. Ils peuvent créer des désordres hormonaux en agissant aussi bien sur la synthèse, le stockage, la libération, le transport que sur la liaison des hormones stéroïdiennes à leurs récepteurs. Une étude a montré que l'exposition aux pesticides réduit la numération des spermatozoïdes, leur mobilité et augmente le taux d'anomalies morphologiques. A faible dose, les herbicides réduisent la mobilité des spermatozoïdes, entrainent une dysfonction mitochondriale et la destruction des cellules de Sertoli par induction du stress oxydatif [52].

Plusieurs études ont mis en cause les radiations émises par les téléphones mobiles dans l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le sperme humain, avec un impact significatif sur la qualité du sperme. Des études *in vitro* ont montré que le rayonnement électromagnétique peut induire une production d'ERO, endommager l'ADN des spermatozoïdes humains, diminuer la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes ainsi que leur concentration en fonction de la durée d'exposition aux rayonnements [6].

La chaleur influence le développement des cellules reproductrices. La topographie des testicules permet de les maintenir à une température approximativement à 3°C en dessous de celle corporelle pour un bon déroulement de la spermatogenèse. Une

augmentation de cette température de 1°C entraine une réduction de la spermatogenèse de 14% et induit des anomalies morphologiques [55]. L'immersion d'animaux de laboratoire dans un bain d'eau chaude à 40-42°C pendant 30 minutes entraine une détérioration de la spermatogenèse avec induction d'apoptose et atteinte de l'ADN [56]. L'exposition à la chaleur peut être endogène comme dans la cryptorchidie par exemple ou exogène chez certains travailleurs (boulangers, soudeurs, conducteurs de taxi-moto) [51].

1.2.3.2- Impact du mode de vie sur la fertilité

Le mode de vie a un impact non négligeable sur la fertilité. Au nombre des facteurs liés au mode de vie, on peut citer le tabagisme, l'alcoolisme et l'alimentation.

Des études ont montré un effet négatif du tabagisme sur la fonction reproductive mâle [57].

Les cigarettes contiennent plus de 4000 substances chimiques, dont certaines peuvent causer un déséquilibre entre ERO et antioxydants dans le sperme des fumeurs. Par exemple, le sperme et le sang des fumeurs contiennent des concentrations de cadmium et de plomb plus élevées, qui s'accompagnent d'une production accrue d'ERO et d'une diminution de la mobilité des spermatozoïdes. Le tabagisme peut entrainer une augmentation de 48 % de la concentration des leucocytes et de 107 % des ERO au niveau du plasma séminal. Les spermatozoïdes des fumeurs sont beaucoup plus sensibles à la dénaturation de l'ADN que ceux des non-fumeurs, avec des niveaux plus élevés de ruptures de brins d'ADN [6, 58].

L'alcoolisme affecte la fertilité en diminuant le taux de testostérone et en altérant les paramètres spermatiques. L'acétaldéhyde, un métabolite de l'éthanol inhibe la liaison de la LH sur les récepteurs des cellules de Leydig. Il interagit également avec les lipides et protéines pour générer des ERO et endommager l'ADN [6, 57]. La consommation de l'alcool entraine une réduction du volume du sperme et de la numération des spermatozoïdes ; altère la mobilité des spermatozoïdes et augmente les anomalies morphologiques. Elle augmente également l'apoptose des cellules germinales par hyperactivation des récepteurs Fas [59].

En ce qui concerne l'alimentation, des études ont montré une corrélation négative entre la numération des spermatozoïdes et les acides gras saturés tandis que les oméga-3 auraient un effet bénéfique sur leur morphologie [57]. Comme aliments riches en acides gras saturés on peut citer : la plupart des aliments frits, la viande de porc, les viandes transformées, le chocolat, les friandises enrobées de chocolat.

1.2.4- Exploration du sujet infertile

Chacun des partenaires du couple présentant une infertilité doit être exploré cliniquement et bénéficier d'un examen complémentaire. L'évaluation initiale de la fertilité masculine consiste à réaliser un interrogatoire précis, un examen physique orienté et un spermogramme [60, 61].

1.2.4.1- Exploration clinique

a) Interrogatoire [61]

- Histoire reproductive : elle commence avec les renseignements ci-après :
  - fréquence des coïts et leur calendrier
  - durée de l'infertilité, fertilité antérieure
  - fécondabilité de la partenaire et son âge (la fertilité d'une femme de 35 ans est réduite de moitié par rapport à celle d'une femme de 25 ans et < 5% au-delà de 40 ans)
  - pathologies dans l'enfance
  - histoire sexuelle : les infections sexuellement transmises
  - le caractère primaire ou secondaire de l'infertilité
  - exposition aux facteurs délétères pour la spermatogenèse
- Traitements **:** actuels et antérieurs (chimiothérapie, radiothérapie, colchicine, antidépresseurs, neuroleptiques)
- Douleurs de l'appareil urogénital
- Troubles sexuels :
  - Dysfonction érectile
  - Baisse de la libido
  - Troubles de l'éjaculation : prématurée, anéjaculation, rétrograde

- Vécu du couple face à l'infertilité
  - Anxiété, dépression, déni…
- Antécédents pathologiques
  - Médicaux favorisant infertilité (cryptorchidie, oreillons, infections génitales, diabète ou autres endocrinopathies)
  - Chirurgicaux (cure de hernie inguinale, intervention sur bourses, traumatismes des organes génitaux externes)
  - Familiaux (hypofertilité chez les parents, cryptorchidie, cancer du testicule, mucoviscidose)

b) Examen physique [61]

Il doit être complet, chez un patient totalement dévêtu, debout puis couché en mettant un accent sur la sphère génitale.

- **Examen de la verge** :

Il se fait debout. Il faut :

- apprécier la morphologie de la verge,
- apprécier la position du méat urétral (apical, hypospadias épispadias),
- palper les corps caverneux à la recherche d'une induration,
- palper l'urètre à la recherche d'une sténose ou un diverticule.

- **Examen des bourses :**

Il se fait couché et debout. Il est bimanuel, bilatéral et comparatif. Il faut :

- apprécier l'aspect du scrotum
- faire un examen minutieux des testicules. La palpation bilatérale et comparative permet de faire la mensuration, d'apprécier la consistance et la sensibilité. On recherche systématiquement la présence d'un nodule.
- faire l'examen de l'épididyme : il faut examiner le sillon inter épididymo-testiculaire. L'épididyme normal est indolore, de consistance molle. On peut noter la présence d'un nodule ou d'une douleur à la palpation.

- examiner du cordon : rechercher des varicocèles par la manœuvre de Valsalva et palper les canaux déférents. L'examen peut permettre d'objectiver une absence unie ou bilatérale des canaux déférents ou la présence de nodule.

- **Toucher rectal**
  - Apprécier la prostate : taille, consistance, sensibilité
- **Les réflexes :** crémastérien, anal, bulbo-caverneux
- **Examen général**
  - Morphologie : apprécier la distribution de la graisse et de la pilosité
  - Rechercher une gynécomastie
  - Rechercher les signes en faveur d'une endocrinopathie : dysthyroïdie, Syndrome de Cushing
  - Tension artérielle
  - Rechercher une amputation du champ visuel ou une anosmie,
  - Faire l'examen pleuropulmonaire

c) Evaluation du retentissement psychologique

Il est important d'évaluer l'impact du retentissement psychologique du trouble sur le patient et les répercussions que cela pourrait engendrer sur la vie du couple au quotidien. On pourra ainsi proposer un accompagnement spécialisé si nécessaire [50, 62].

1.2.4.2. Exploration paraclinique

a) Le spermogramme

C'est l'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et physico chimiques du sperme ; c'est l'examen de première intention dans le bilan de l'homme infertile. Tout spermogramme anormal devrait être contrôlé trois mois après. Le seuil de normalité des différents paramètres spermatiques selon l'OMS (2010) et les anomalies associées sont résumés dans le tableau ci-après.

Tableau I : Seuil de normalité des différents paramètres spermatiques selon l'OMS 2010 et anomalies associées [64]

Paramètres spermatiques	**Normes OMS 2010**	**Anomalies**
Couleur	Blanchâtre	Opalescent, brun, translucide
Volume	≥ 1,5 et < 6ml	Hypospermie < 1,5 ml Hyperspermie ≥ 6 ml Aspermie : absence de sperme
pH	7,2 à 8	Augmenté ou diminué
Viscosité	Liquéfaction en 30min	Augmentée ou diminuée
Numération spermatique	≥ 15 millions/ml ≥ 39 millions/éjaculat	Azoospermie : 0 spermatozoïde Cryptozoospermie : quelques spermatozoïdes Oligospermie : < 15 millions/ml Polyzoospermie : > 200 millions/ml
Mobilité à la 1ère heure	≥ 40 % de a + b + c ≥ 32 % de a + b	Asthénospermie : < 40 % Asthénospermie : < 32 %
Vitalité	≥ 58 % de formes vivantes	Nécrospermie : < 58 %
Leucocytes	≤ 1 million de leucocytes/ml	Leucospermie : PNN >1million
Agglutinats	Absence	Présence
Formes typiques	≥ 4 % selon Krüger	Tératospermie : < 4 % selon Krüger
Autres	Absence de sang	Présence

Mobilité : a = spermatozoïdes « progressifs rapides » ; b = spermatozoïdes « progressifs lents » ; c = spermatozoïdes « mobiles sur place »

b) Le spermocytogramme

C'est l'étude morphologique des spermatozoïdes. Il est à la base du diagnostic étiologique [65]. Il consiste en l'analyse des spermatozoïdes au microscope afin de détecter les anomalies morphologiques.

d) La spermoculture

La spermoculture est l'étude bactériologique du sperme. Elle est demandée en cas d'antécédents infectieux génito-urinaires ou de symptomatologie évocatrice et devant certaines anomalies du spermogramme (leucospermie, nécrozoospermie, asthénozoospermie inexpliquée). Elle sera également demandée avant la prise en charge par l'assistance médicale à la procréation.

e) Autres moyens d'exploration [16, 61]

Si l'évaluation initiale (interrogatoire, examen physique et spermogramme) ne montre pas d'anomalie, il n'est pas indispensable de réaliser des examens complémentaires.

- **Imagerie**
  - **Echographie scrotale**

La plupart des pathologies scrotales sont palpables. Cependant, l'échographie scrotale est recommandée chez l'homme infertile compte tenu de l'association fréquente de l'infertilité masculine et des tumeurs du testicule. Elle est particulièrement importante si l'examen scrotal est difficile, une masse testiculaire est palpée ou des facteurs de risques de cancer du testicule sont retrouvés à l'interrogatoire (cryptorchidie, testicule atrophique, antécédents de cancer du testicule).

  - **Echographie prostatique transrectale**

Elle permet de dépister une obstruction des canaux éjaculateurs, une agénésie des vésicules séminales et/ou des déférents, ou un kyste de l'utricule prostatique. Elle est indiquée en cas d'azoospermie lorsqu'on suspecte une cause excrétoire, en cas d'hypospermie (volume < 1,5mL) et/ou d'anomalie au toucher rectal.

- **Biologie**

  - **Bilan hormonal**

Il est demandé dans les cas suivants : azoospermie, oligo-asthéno-zoospermie, troubles sexuels (baisse libido, dysfonction érectile), endocrinopathie décelable à la clinique. Les examens demandés sont :

- Testostérone totale : c'est le bilan hormonal de première intention. Son dosage permet de détecter un déficit de la fonction endocrine du testicule (hypogonadisme).
- LH et prolactine : elles sont demandées lorsque le taux de testostérone totale est bas ; afin de rechercher l'étiologie de l'hypogonadisme.
- FSH : elle explore la fonction du testicule exocrine.
- Inhibine : Elle est demandée en complément de la FSH pour l'exploration de la spermatogenèse. La diminution du taux d'inhibine entraîne une altération quantitative de la spermatogenèse : hypospermatogenèse ou aplasie germinale.
- TSH : il n'est pas recommandé en absence de signes cliniques en faveur d'une dysthyroïdie.

  - **La biologie séminale :**

Les paramètres biochimiques du sperme sont dosés afin de donner une indication sur les fonctions sécrétoires d'une portion du tractus génital dont ils sont spécifiques. La biologie séminale est indiquée dans les cas suivants : suspicion d'azoospermie sécrétoire, anomalie du pH ou de volume, de troubles de la coagulation, oligozoospermie, asthénozoospermie, nécrozoospermie, leucospermie.

Le fructose est le principal constituant glucidique du sperme. Il est retrouvé dans un éjaculat normal à un taux supérieur à 1g/l.

  - **Réaction d'agglutination mixte (MAR test) :**

Il permet de détecter l'auto-immunisation de surface. Il est indiqué en cas d'auto-agglutination spontanée, asthénospermie, nécrozoospermie, antécédent traumatique,

torsion spermatique ou chirurgie scrotale. Il existe un rôle de l'auto-agglutination dans l'infertilité si agglutination > 40 %.

- **Test post coïtal de Hühner**

C'est un examen microscopique du mucus cervical réalisé juste avant la date prévue de l'ovulation, quelques heures après un rapport sexuel, pour identifier la présence de spermatozoïdes mobiles dans la glaire cervicale. Il n'est indiqué qu'en cas de spermogramme normal. Ce test peut aider à identifier un facteur féminin (anomalie du pH et/ou de la qualité de la glaire) [60].

- **Examens génétiques**
  - **Caryotype :** il est indiqué en cas d'azoospermie non obstructive, oligospermie inférieure à 10 millions/ml, de signes cliniques évocateurs d'anomalie génétique, d'antécédents familiaux, d'avortements à répétition ou d'anomalies chromosomiques.
  - **Microdélétion du bras long du chromosome Y :** il est demandé en cas d'azoospermie sécrétoire et d'oligozoospermie sévère. La technique de recherche des microdélétions du bras long du chromosome Y consiste à caractériser, par biologie moléculaire, la présence ou l'absence de marqueurs cibles localisés au niveau d'une des régions AZF (Azoospermia factor) du chromosome Y.
  - **Recherche des mutations du gêne CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) :** elle est indiquée en cas d'azoospermie sécrétoire. Les mutations du gêne CFTR sont souvent retrouvées chez les sujets porteurs d'une absence congénitale des canaux déférents (pouvant être unie ou bilatérale) et lors de l'évaluation systématique de la mucoviscidose.
- **Biopsie testiculaire :** elle est réalisée s'il s'agit d'une azoospermie de cause incertaine.

- **Analyse post-éjaculatoire des urines :** doit être réalisée en cas d'hypospermie afin d'éliminer une éjaculation rétrograde.

1.2.5- Diagnostic différentiel

Il ne faut pas confondre une infertilité masculine avec [50] :

- une absence de grossesse sur une période de moins de douze (12) mois ;
- les effets d'une contraception hormonale de la femme ou de l'homme ;
- une absence de grossesse dans le cadre d'un couple ayant des relations sexuelles irrégulières et rares même après 12 mois et plus.

1.2.6- Etiologies de l'infertilité masculine

Les étiologies sont nombreuses et peuvent être classées en causes pré-testiculaires, testiculaires et post-testiculaires [20]. Ces causes sont classées dans les tableaux ci-après.

Tableau II : Les causes pré-testiculaires

Les hypogonadismes hypogonadotropes congénitaux (HHC)	• HHC normosmique isolée (anomalies génétiques) • Syndrome de Kallmann (HHC anosmique) • Hypopituitarisme congénital
Les hypogonadismes hypogonadotropes acquis (HHA)	• Tumeurs de la région hypothalamo-hypophysaire (craniopharyngiome, adénome hypophysaire, dysgerminomes, gliomes) • Processus infiltratifs hypothalamo-hypophysaires (hémochromatose, histiocytose, hypophysite, sarcoïdose) • Iatrogènes et traumatiques (chirurgicale, radiothérapie, traumatisme crânien) • Fonctionnelles (hyperprolactinémie, hypercortisolisme, carence nutritionnelle, causes médicamenteuses)

Tableau III : Les causes testiculaires

Chromosomiques	• Syndrome de Klinefelter • Anomalie du chromosome Y • Homme XX • Translocations et inversions
Génétiques	• Microdélétions du bras long du chromosome Y • Mutation du facteur de la FSH • Mutation de TEX11
Lésions testiculaires congénitales	• Cryptorchidie • Dysgénésies gonadiques à phénotype masculin
Anomalies qualitatives des spermatozoïdes	• Globozoospermie • Syndrome de Kartagener • Macrocéphales
Lésions acquises	• Traumatisme scrotal • Orchidectomie • Torsion testiculaire • Oreillons • Orchites infectieuses • Radiothérapie • Chimiothérapie • Inclusions surrénaliennes intra-testiculaires
Idiopathique	
Causes supposées	• Varicocèles • Auto-immunes

Tableau IV : Les causes post-testiculaires

Causes génétiques	• Agénésie des canaux déférents par mutation du gène CFTR • Syndrome de Young (Sinusite, infection pulmonaire, azoospermie, CFTR normale)
Acquises	• Compression du rete testis (infectieuses, inclusions surrénaliennes intra-testiculaires) • Obstruction idiopathique de l'épididyme • Obstruction des canaux déférents (post vasectomie volontaire, cure chirurgicale d'hernie inguinale avec ligature des canaux déférents) • Obstruction des canaux éjaculateurs (infectieuse)
Anomalies fonctionnelles de l'éjaculation	• Neuropathie diabétique • Traumatisme médullaire • Sclérose en plaque • Lésions neurologiques chirurgicales par curage ganglionnaire

1.2.7- Infertilité idiopathique

On parle d'infertilité idiopathique lorsqu'aucune cause n'est retrouvée. De nos jours, le terme infertilité idiopathique est également décrit sous l'appellation MOSI (Male Oxidative Stress Infertility), regroupant tous les cas d'anomalies du sperme associées au stress oxydatif [5].

Dans 50 % des cas d'infertilité masculine, aucune cause n'est retrouvée. Une des principales hypothèses actuelles concernant l'infertilité masculine idiopathique est une atteinte liée au stress oxydant, car 30 à 80 % des hommes infertiles ont des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène dans le liquide séminal et une faible défense antioxydante [5, 6].

La prise en charge est basée sur l'assistance médicale à la procréation et les traitements médicamenteux (hormonothérapie et les antioxydants) [5].

1.3- Stress oxydatif et infertilité masculine

1.3.1- Le stress oxydatif

1.3.1.1- Définition

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité de l'organisme à les détoxifier. Ce déséquilibre peut être dû à un excès de production des ERO ou à un défaut de détoxification [6].

1.3.1.2- Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène sont des composés chimiques (atomes ou molécules) issus du métabolisme cellulaire rendus instables par la présence d'un électron non apparié au niveau de leurs couches externes. Elles peuvent être radicalaires telles que l'anion superoxyde (O_2^{-}), l'ion peroxyde (O_2^{2-}) et le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) ou non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'ozone (O_3), l'acide hypochlorique (HOCl), l'oxygène singulet ($^1O_2$) et le peroxyde lipidique (LOOH). L'espèce réactive d'oxygène la plus rencontrée est l'anion superoxyde. Ces composés sont caractérisés par leur extrême réactivité. Ils acquièrent leur stabilité soit en gagnant

un électron (réduction) soit en perdant un électron (oxydation). Ils vont donc réagir avec les biomolécules environnantes provoquant des dommages à divers niveaux.

1.3.1.3- Sources des ERO dans les voies génitales

a) Sources endogènes

Les espèces réactives de l'oxygène proviennent essentiellement des cellules immunitaires (polynucléaires neutrophiles et macrophages), des spermatozoïdes (matures et immatures), ceux morphologiquement anormaux (anomalies de la pièce intermédiaire et résidus cytoplasmiques) [66].

Les ERO sont des acteurs majeurs de la réponse antibactérienne. La source d'ERO peut être membranaire telle que le complexe nicotinamide adénine dinucléotide-phosphate oxydase (NADPH oxydase) des phagocytes. Les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale sont également une source importante d'ERO.

Au cours de la spermatogenèse, les spermatides allongées perdent physiologiquement leur cytoplasme, condition nécessaire pour qu'ils acquièrent un pouvoir fécondant. Cependant, les spermatozoïdes endommagés peuvent conserver un excès de cytoplasme autour de la pièce intermédiaire. On parle d'excès de cytoplasme résiduel. La présence de corps résiduels cytoplasmique active le système de la NADPH oxydase, qui aboutit à une production d'ERO[6].

Il existe une forte corrélation entre les anomalies de la pièce intermédiaire, la présence de corps résiduels cytoplasmiques et la génération d'ERO. La pièce intermédiaire est riche en mitochondries. Un dysfonctionnement de la chaine de transport d'électrons mitochondriaux entraine la formation d'ERO par les complexes I et III de la chaîne respiratoire. Cette production d'ERO devient pathologique lorsqu'elle échappe au contrôle du système antioxydant [67].

b) Sources exogènes

Divers facteurs exogènes peuvent générer la production d'ERO tels qu'un régime alimentaire trop gras, l'alcool, le tabac, les stupéfiants, les radiations ionisantes, le stress et certains médicaments. Par ailleurs, les maladies chroniques (comme le diabète, l'insuffisance rénale chronique, la β thalassémie, les dysfonctions thyroïdiennes), les

infections génitales et affections testiculaires (varicocèles, torsion testiculaire, cryptorchidie) peuvent également être une source d'ERO [68].

1.3.1.4- Rôle physiologique des ERO dans la spermatogenèse

Les ERO ne sont pas que délétères pour l'organisme. Elles interviennent comme médiateurs au cours de la spermatogenèse et agissent à divers niveaux. Elles jouent un rôle majeur dans divers phénomènes tels que la maturation des spermatozoïdes (condensation de la chromatine spermatique et acquisition de la mobilité progressive), la capacitation, la fusion du spermatozoïde avec l'ovocyte.

Les ERO produites à faible dose par le NADPH oxydase favorisent d'une part le renouvellement des spermatogonies et maintiennent le pool de cellules germinales [68]. D'autre part, elles assurent la régulation du nombre de cellules germinales produites via l'apoptose. Le maintien d'un équilibre entre la prolifération des spermatogonies et l'apoptose est important pour une bonne spermatogenèse.

Il existe deux voies d'entrée en apoptose des cellules germinales : l'une intrinsèque impliquant les mitochondries et l'autre extrinsèque impliquant des récepteurs membranaires. Une forte concentration d'ERO entraine une augmentation de la perméabilité membranaire des mitochondries avec la libération de cytochrome c qui active la cascade des caspases (une famille de protéases) induisant la mort cellulaire [69].

Au cours de la maturation des spermatozoïdes, le phospholipide hydroperoxyde glutathion peroxydase catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène couplé à l'oxydation des groupements sulfhydryles des cystéines de la protamine et les protéines flagellaires créant ainsi des ponts disulfures. Ceci favorise la condensation de la chromatine spermatique et la stabilisation du flagelle avec pour conséquence l'acquisition de la mobilité rectiligne [68].

1.3.1.5- Rôle pathologique des ERO

Les spermatozoïdes ont une faible activité transcriptionnelle et un volume cytoplasmique limité. Ils sont dans l'incapacité de répondre à un stress oxydatif en produisant de novo des anti- oxydants ou en réparant le matériel cellulaire altéré.

Lorsque les ERO surpassent les systèmes de défense antioxydants et perturbent l'équilibre complexe entre ERO et antioxydants, les anomalies pathologiques se produisent selon la nature, la quantité des ERO et la durée de leur impact. Leurs conséquences sont la dégradation de lipides (peroxydation lipidique), de protéines, et de l'ADN [6].

a) La peroxydation lipidique

Chez les mammifères, la membrane des spermatozoïdes est très riche en acide gras polyinsaturés, responsables de la fluidité de la membrane [6]. Ces acides gras sont représentés à 50% par l'acide docosahexaénoïque qui contient 12 doubles liaisons dans sa structure moléculaire [70].

La peroxydation lipidique est un processus au cours duquel les ERO, aussi bien radicalaires que non radicalaires, réagissent avec les lipides (acides gras polyinsaturés surtout) contenant une double liaison carbone-carbone [71].

La caractéristique de l'autoxydation des acides gras polyinsaturés est d'être une réaction en chaîne radicalaire qui se déroule en trois étapes : initiation, propagation, terminaison. La figure 10 en fait une représentation schématique.

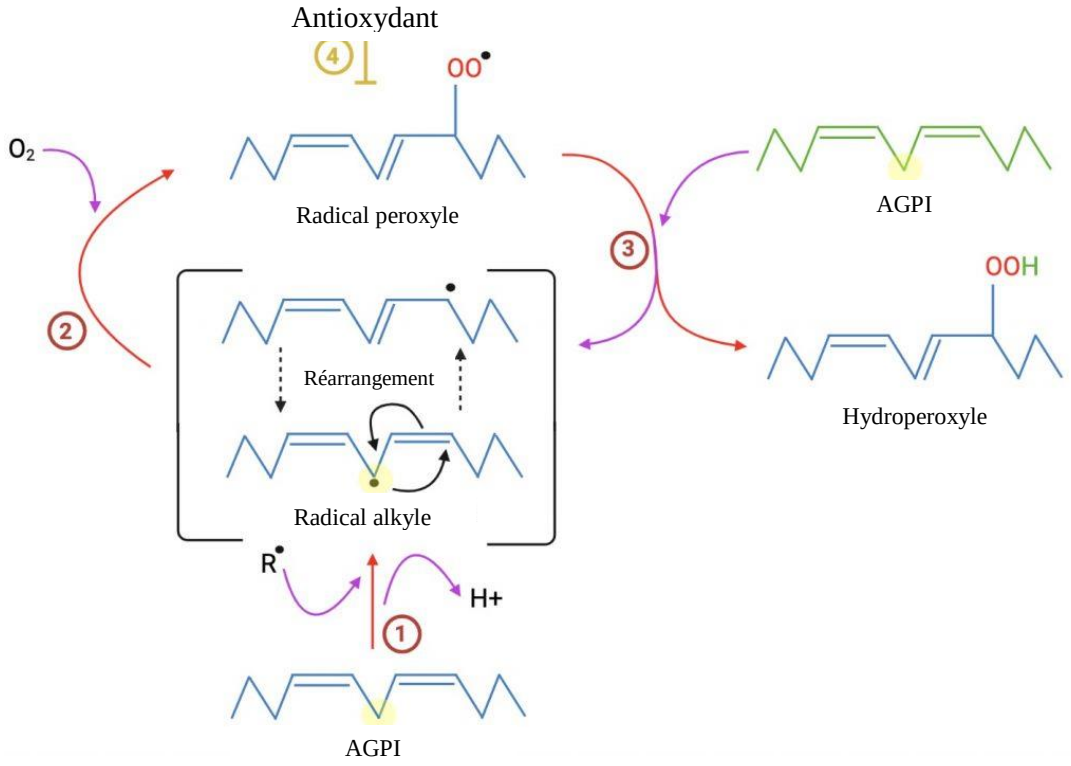


Figure 10 : Mécanisme de la peroxydation lipidique [72]

- **L'initiation (1)**

C'est l'abstraction d'un atome d'hydrogène ($H^{\cdot}$) de l'acide gras situé sur un carbone bis allylique (liaison hydrogène-carbone plus faible), ce qui conduit à la formation d'un radical alkyle. Les radicaux qui vont initier la peroxydation des acides gras polyinsaturés sont principalement les radicaux hydroxyles ($OH^{\cdot}$) et Hydroperoxyles ($HOO^{\cdot}$) ainsi que les radicaux lipidiques tels que les radicaux alkoxyle ($LO^{\cdot}$) et peroxyle ($LOO^{\cdot}$). Le radical hydroxyle est de loin celui qui a la vitesse de réaction la plus élevée [73].

- **La propagation (2)(3)**

Le radical alkyle formé dans l'étape d'initiation réagit très rapidement avec $^3O_2$ pour donner un radical peroxyle. Cette étape est très rapide comparée à la réaction suivante où il y a transfert d'un atome d'hydrogène d'une molécule d'acide gras voisine au radical peroxyle pour former un hydroperoxyde. C'est l'étape de propagation de la peroxydation car l'acide gras qui vient de donner son hydrogène est transformé en radical alkyle qui retourne dans le cycle pour réagir avec $^3O_2$ et donner un radical peroxyle. Il a été calculé que lorsqu'un radical initie la peroxydation, environ 25 molécules d'acides gras sont oxydées dans la phase de propagation [73].

- **La terminaison (4)**

Après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, celle-ci diminue par combinaison des radicaux lipidiques pour donner des produits non radicalaires. La réaction la plus fréquente est une réaction de dimérisation des radicaux peroxyles [73]. L'arrêt de la réaction peut également se faire par le transfert d'un atome d'hydrogène au radical peroxyle par un antioxydant, formant un hydroperoxyde [72].

$$LOO\bullet + LOO\bullet \rightarrow LOOL + {}^1O_2$$

produits non radicalaires

- **Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique**

Les hydroperoxydes lipidiques sont les premiers produits de la peroxydation lipidique. Parmi les différents aldéhydes qui peuvent être formés comme produits secondaires la

malondialdéhyde (MDA), le propanal, l'hexanal, le 4-hydroxynonénal sont les plus connus. La malondialdéhyde est le biomarqueur le plus utilisé en clinique pour évaluer les dommages liés au stress oxydatif. C'est un dérivé de la dégradation de l'acide arachidonique. Il est synthétisé par deux voies : l'une enzymatique utilisée dans les conditions physiologiques et l'autre non enzymatique empruntée au cours du stress oxydatif [71].

b) Atteinte de l'ADN

Les atteintes de l'ADN peuvent être classées en deux groupes : endogènes et exogènes. Les atteintes endogènes proviennent principalement d'agents chimiques engageant l'ADN dans une réaction d'oxydation avec les espèces réactives de l'oxygène [74]. Ces atteintes sont essentiellement l'oxydation des bases, la fragmentation de l'ADN, atteinte de l'ADN mitochondrial. La base la plus atteinte est la guanine. Son oxydation aboutit à la formation de 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine ou 8-oxo-2'-déoxyguanosine (8OHdG ou 8-oxodG) [75]. La correction d'une telle altération fait appel à la réparation par excision de base au cours de laquelle, la 8-oxoguanine glycosylase 1 (OGG1) coupe les liaisons N-glycosidique liant la 8-oxodG (ou 8OHdG) au désoxyribose générant un site apurique. Dans les cellules somatiques et les zygotes, l'endonucléase apurique 1 incise le squelette phosphaté (désoxyribose + phosphate) et insère un nouveau nucléotide. Chez le spermatozoïde, l'endonucléase apurique 1 est absente [76].

Les atteintes exogènes proviennent de facteurs environnementaux et physiques tels que les radiations ionisantes et les rayons ultraviolets.

c) Oxydation des protéines

L'électron non apparié des radicaux libres peut s'attaquer à la structure de certaines protéines, en particulier les protéines porteuses d'un groupement sulfhydryle (-SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et entraîner la formation de ponts entre protéines, une fragmentation ou une dénaturation de la protéine [77].

Les protéines sont sensibles à l'action du radical $HO^{\cdot}$, celui-ci peut, en effet, réagir avec différents acides aminés des chaines de protéines. Les plus sensibles à son action sont

les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, ou celui ayant un noyau imidazole comme l'histidine, sur lesquels le radical $HO^{\cdot}$ s'additionne et provoque un changement de conformation de la molécule de protéine [78].

1.3.2- Impact du stress oxydatif pathologique sur les paramètres spermatiques

La production excessive d'ERO est associée à une altération des paramètres spermatiques. Elle entraine une diminution de la concentration, la mobilité, la vitalité des spermatozoïdes, augmente les anomalies morphologiques et provoque une décondensation de la chromatine spermatique.

- **Concentration des spermatozoïdes**

La diminution de la concentration s'explique par l'apoptose cellulaire induite par les ERO. Une concentration élevée de peroxyde d'hydrogène entraine la destruction des cellules germinales [68].

- **Mobilité**

La mobilité des spermatozoïdes est un facteur déterminant dans la fonction reproductive du fait que le spermatozoïde doit parcourir les voies génitales féminines à la rencontre de l'ovocyte. La diminution de la mobilité des spermatozoïdes suite au stress oxydatif est liée à plusieurs facteurs. D'une part, la peroxydation lipidique induite par les ERO altère le fonctionnement de la chaine respiratoire mitochondriale. La mitochondrie est la source de production de l'ATP, ressource indispensable au voyage du spermatozoïde à la rencontre de l'ovocyte. Il s'en suit donc une diminution de la production d'ATP. Ce dernier intervient dans la mobilité en tant que substrat des bras de dynéine et de l'adényl cyclase (pour produire l'AMPc). D'autre part, les ERO à concentration élevée déphosphorylent les protéines de l'axonème [40, 79, 80].

- **Augmentation des anomalies morphologiques**

Elle est liée à la perturbation de la spermatogénèse en générale et de la spermiogénèse en particulier. Dans les conditions pathologiques, le stress oxydatif est associé à une augmentation des anomalies morphologiques [6, 81].

- **Décondensation de la chromatine spermatique**

Un excès d'ERO empêche le remplacement de l'histone par la protamine et la formation des ponts disulfures responsable de la condensation de l'ADN. La décondensation de la chromatine s'explique également par la fragmentation de l'ADN et l'oxydation des bases azotées [80, 82].

1.3.3- Les systèmes antioxydants

Un équilibre entre les ERO et les antioxydants est nécessaire pour maintenir le stress oxydant dans les conditions physiologiques. Une définition large du terme antioxydant donnée par Halliwell est « toute substance qui, présente à de faibles concentrations comparées à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat » [73].

Le spermatozoïde a un volume cytoplasmique réduit avec de faibles défenses antioxydantes. Le liquide séminal produit par les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales fournit aux spermatozoïdes la majeure partie de leurs antioxydantes. Ces derniers sont subdivisés en deux classes : les antioxydants enzymatiques (tels que la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase) et les non enzymatiques (qui peuvent être endogènes ou exogènes) [82].

1.3.3.1- Les antioxydants enzymatiques

a) La superoxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloprotéine qui capte l'anion superoxyde et catalyse sa dismutation en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. La réaction est la suivante :

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\textbf{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

Cette réaction a pour conséquence la réduction de la disponibilité de l'anion superoxyde et la limitation de la peroxydation lipidique. Chez l'homme, il existe trois isoformes : la SOD_1 (CuZn), qui est extracellulaire, se lie à la membrane cellulaire pour protéger les cellules et le plasma séminal contre le stress oxydatif, la SOD_2 (Mn) qui est situé dans la matrice mitochondriale pour lutter contre le stress oxydatif généré par la chaîne

respiratoire et la SOD_3 (CuZn) qui est cytosolique. Le niveau de SOD est influencé par l'intensité de stress oxydatif. On retrouve des taux élevés de SOD dans les pathologies où le stress oxydatif joue un rôle majeur [83].

De fortes concentrations de SOD sont retrouvées dans les cellules souches germinales et les cellules de Sertoli. Elle a également été identifiée dans la tête de l'épididyme et dans le plasma séminal [82].

b) La catalase (CAT)

La catalase est une oxydoréductase héminique retrouvée dans les peroxysomes, les mitochondries, le réticulum endoplasmique de diverses cellules et le liquide séminal. Elle contient 4 groupements héminiques qui réagissent avec le peroxyde d'hydrogène. Elle agit en facilitant la décomposition de deux molécules de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau et en oxygène. La réaction s'effectue en deux étapes [6, 84] :

1) Catalase (Fe III) + H_2O_2 → Catalase (Fe V) H_2O_2
2) Catalase (Fe V) H_2O_2 + H_2O_2 → Catalase (Fe III) + $2H_2O$ + O_2

La réaction catalysée par la catalase joue un rôle non seulement dans le maintien d'un niveau physiologique de stress oxydatif mais aussi dans la protection des spermatozoïdes contre le stress oxydatif pathologique. C'est l'un des antioxydants phare du système reproducteur ; ayant l'une des meilleures efficiences en termes d'activité catalytique. Une molécule de catalase peut catalyser la transformation d'un million de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène par seconde. Cette réaction prévient la transformation du peroxyde d'hydrogène en radical hydroxyle une ERO encore plus toxique. Des études ont montré une augmentation de l'activité de la catalase chez des patients sous antioxydant (pentoxifylline) [85]

c) Les glutathion peroxydases (GPx)

De fortes concentrations de GPx sont retrouvées dans les cellules de Sertoli, la tête de l'épididyme et dans le liquide séminal. Leur action sur la membrane du spermatozoïde confère une protection des constituants lipidiques, préservant ainsi la vitalité et la mobilité des spermatozoïdes. Le glutathion peroxydase est le principal protecteur

endogène contre les dégâts liés aux radicaux libres et maintient les antioxydants exogènes dans leur forme réduite [6, 82].

Il existe des glutathions séléno-dépendantes ayant au niveau de leur site catalytique une sélénocystéine : GPx1, GPx2, GPx3, GPx4. Les GPx5 et GPx6 ne présentent pas de sélénocystéine au niveau de leur site catalytique ; ils sont dits séléno-indépendants. Dans les voies génitales masculines on retrouve les GPx3, GPx4 et GPx5 [86].

Les glutathions peroxydases éliminent les peroxydes organiques et le H_2O_2 par réduction selon les réactions suivantes [87] :

$$1)\ 2GSH + ROOH \xrightarrow{\textbf{GPx}} G\text{-}S\text{-}S\text{-}G + ROH + H_2O$$

$$2)\ G\text{-}S\text{-}S\text{-}G + NADPH + H^+ \xrightarrow{\textbf{GR}} 2GSH + NADP^+$$

GSH : glutathion réduit

G-S-S-G : glutathion oxydé

GR : glutathion réductase

Les GPx utilisent le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le GSH est ensuite régénéré par le glutathion réductase en utilisant le NADPH, H+ comme cofacteur.

1.3.3.2- Les antioxydants non enzymatiques

- **La vitamine E**

C'est un antioxydant liposoluble qui agit sur la membrane du spermatozoïde en neutralisant les ERO. La vitamine E réduit le radical hydroxyle et l'anion superoxyde arrêtant ainsi la chaîne d'oxydation lipidique induite par les ERO [84]. La supplémentation en vitamine E a montré des résultats significatifs sur la numération, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes [88], ainsi que sur de la fragmentation de l'ADN [89], et même en terme d'amélioration du nombre de grossesses.

- **La vitamine C**

La vitamine C (acide ascorbique) est une vitamine hydrosoluble, cofacteur essentiel des réactions d'hydroxylation (elle réagit avec $OH^{\cdot}$, $O_2^{\cdot -}$ et H_2O_2 dans le fluide extracellulaire). C'est un agent réducteur et chélateur sous forme d'acide déhydro-L-

ascorbique (DHA), il réagit directement avec les radicaux libres et élimine H_2O_2 [87]. Elle est une excellente piégeuse des ERO ($OH^{\cdot}$ ou $O_2^{\cdot -}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire (α-tocophéryl) issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques [90].

Dans les études associant la vitamine C à d'autres nutriments (béta carotène, vitamine E, zinc) une amélioration des paramètres du sperme était observée [91].

- **Le zinc**

Le zinc est le second métal le plus retrouvé dans l'organisme après le Fer. Le Zinc intervient dans l'initiation de la spermatogenèse, la maturation des spermatozoïdes, la protection de l'épithélium séminifère et améliore la mobilité des spermatozoïdes. Il joue également un rôle antioxydant et intervient comme cofacteur de la SOD. La supplémentation en zinc, associée à la prise de vitamines C et E augmente la mobilité des spermatozoïdes, diminue le taux de radicaux libres et la fragmentation de l'ADN [6, 92].

Les antioxydants sont donc le traitement de choix pour la prise en charge de l'infertilité masculine idiopathique. Toutefois, certaines populations font recours à la médecine traditionnelle comme approche thérapeutique. Au Bénin, parmi les traitements à base de plantes disponibles, figure une recette traditionnelle à base de *Desmodium velutinum, Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca*, *Piper guineense* et *Vitellaria paradoxa*, faisant objet de notre étude. Dans les lignes à suivre, nous décrirons la monographie de chacune de ces plantes.

1.4- Monographie des plantes utilisées dans la recette

1.4.1- Monographie de *Aframomum melegueta*

1.4.1.1. Classification taxonomique

- **Noms en Français :** maniguette, poivre de Guinée, graine de paradis
- **Noms locaux**

Fon : atakoun

Mina: atakou

Goun : ata

- **Systématique**

Règne : Plantea

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Zingiberidae

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre et espèce : *Aframomum melegueta* (K. Schum, 1904)[94]

- **Synonymes :**

Amomum melegueta (Monandr. 1828)

Aframomum granum-paradisi (K. Schum, 1904)



Figure 11 : Fruits et graines de *Aframomum melegueta* [93]

1.4.1.2- Description botanique et distribution

- **Description botanique**

Aframomum melegueta est une plante herbacée dont la tige peut atteindre 2 m de haut à partir du rhizome rampant. Les feuilles sont sessiles, glabres, lancéolées de 18 à 22 cm de long. Les inflorescences sont des épis solitaires formés de quelques fleurs de 7 à 13 cm pourvues de bractées. Les corolles sont blanches, roses ou mauves avec un labelle arrondi, jaune à la base et rouge à l'apex. Les fruits sont des baies ovoïdes ou fusiformes

orangées puis rouges. Ils contiennent une pulpe incolore à saveur acidulée. Les graines dures et anguleuses luisantes, de couleur brun-rouge mesurent 3,5 mm de diamètre[94].

- **Distribution**

C'est une espèce soudano-guinéenne, rarement cultivée dans les jardins de case [94]. Au Bénin, c'est un fruit magique importé du Nigéria.

1.4.1.3- Usage ethnopharmacologique de *Aframomum melegueta*

Les graines de *Aframomum melegueta* sont utilisées dans la prise en charge des affections suivantes : affections gynécologiques (infertilité féminine, polyménorrhée), affections digestives (maladie hémorroïdaire, hernie), troubles psychiatriques (démence, folie), affections neurologiques (épilepsie), rhumatisme, parasitoses (ankylostomiase, gale), affections respiratoires (asthme, toux) [95]. Elles sont réputées aphrodisiaques.

1.4.1.4- Phytochimie et activité pharmacologique

Un criblage phytochimique qualitatif a été réalisé sur les échantillons de poudre de graine de *Aframomun melegueta*. Cette étude a révélé la présence des composés ci-après : alcaloïdes, tanins catéchiques, tanins galliques, leuco-anthocyanes, dérivés quinoniques, stéroides, mucilages, anthracéniques libres, O-hétérosides, C-hétérosides [9]. Les métabolites secondaires tels que les tanins, les alcaloïdes et les leucoanthocyanes identifiés dans l'extrait sont antioxydants et antiinflammatoires [96].

En 2014, Onoja *et al* ont réalisé une étude afin d'évaluer les effets antioxydants de l'extrait méthanolique de graines d'*A. melegueta*. Les effets antioxydants ont été évalués à l'aide d'un dosage photométrique *in vitro* de la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle et d'une méthode de dosage *in vivo* de la catalase sérique, de la superoxyde dismutase et de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique. L'extrait (concentration de 25 à 400 µg/mL) a présenté une activité antioxydante *in vitro*. L'extrait méthanolique de *Aframomum melegueta* a été administré à des groupes de rats Wistar à différentes doses

(100 mg/kg, 200 mg/kg et 400 mg/kg) pendant 21 jours. L'extrait (400 mg/kg) a montré une augmentation significative de l'activité de la catalase sérique et de la superoxyde dismutase par rapport au groupe témoin ayant reçu de l'eau distillée. L'extrait (400 mg/kg) a montré une diminution significative du taux sérique de malondialdéhyde. Ces résultats suggèrent que la graine de *A. melegueta* a une puissante capacité antioxydante qui peut être responsable de certaines de ses activités pharmacologiques rapportées et peut être utilisée comme supplément antioxydant [97].

1.4.1.5- Toxicité de *Aframomum melegueta*

Selon une étude réalisée par Nebojsa et al aux Etats-Unis en 2008, l'administration de l'extrait éthanolique des graines de *Aframomum melegueta* à la dose de 1500 mg/Kg à des rats Wistar pendant 28 jours entraîne une augmentation statistiquement significative des phosphatases alcalines, des aspartates aminotransférases (ASAT) et de la masse du foie avec absence d'augmentation de la bilirubine, suggérant un début de toxicité hépatique [98].

1.4.2- Monographie de *Desmodium velutinum*

1.4.2.1- Classification taxonomique

- **Noms locaux**

Fon : Têd'avowu

Xwla : Têd'ovowu

- **Systématique**

Règne : Plantae

Sous-règne : Viridaeplantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Magnoliidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Genre et espèce : *Desmodium velutinum* (Willd.) DC. 1825 [99]

- **Synonymes**

Hedysarum velutinum (Willd.) 1802

Desmodium lasiocarpum (P. Beauv.) DC. 1825



Figure 12 : Tige feuillée et fleurie de *Desmodium velutinum* [95]

1.4.2.2. Description botanique et distribution

- **Description botanique**

Semi ligneux, érigé, ayant une taille de 1 à 2 m ; les branches sont couvertes de nombreux poils bruns ; les feuilles sont de forme ovale, d'une longueur pouvant atteindre 15 cm de long pour 8 cm de large. Les fleurs sont de couleur rose à violette. La gousse mesure 1.8 cm de long, densément velue et ayant une profonde rainure sur une face [99, 100].

- **Distribution**

Cette plante est retrouvée dans les savanes, jachères tropicales d'Afrique et en Asie [100]. Au Bénin on le retrouve à Bassila, Bétérou, Pobè, Matéri, Boukoumbé, Soka.

1.4.2.3- Ethnopharmacologie de *Desmodium velutinum*

Desmodium velutinum est utilisé dans la prise en charge des affections gynécologiques (infertilité féminine et infections génitales), affections digestives (ankylostomiase et diarrhée) et infertilité masculine [95].

1.4.2.4- Phytochimie et activité pharmacologique

En 2022, Nkwocha *et al.* ont réalisé une étude dont le but était d'analyser et d'identifier les composés phytochimiques et les constituants bioactifs présents dans la tige de *Desmodium velutinum.* Les analyses phytochimiques ont montré la présence de tanins, de flavonoïdes, de composés phénoliques et d'alcaloïdes. Il a été rapporté que

ces composés phytochimiques identifiés dans la tige de *Desmodium velutinum* possèdent des propriétés antioxydantes [101].

En 2020, Abaniwo *et al.* ont réalisé une étude afin d'évaluer les potentiels spermatogéniques de l'extrait aqueux de feuilles de *Desmodium velutinum* (DVAE). L'étude des propriétés fertilisantes a été réalisée en utilisant 20 rats Wistar mâles adultes et 8 femelles. Les rats mâles ont été randomisés en 4 groupes de 5 rats. Le groupe 1 a servi de contrôle normal et reçu 20 ml/kg d'eau distillée ; les groupes 2 et 3 ont reçu respectivement 200 et 400 mg/kg de DVAE tandis que le groupe 4 a servi de standard témoin et a reçu 5 mg/kg de citrate de sildénafil. Tous les traitements ont été effectués par voie orale pendant 28 jours au cours desquels les fréquences d'accouplement ont été observées chez des rats mâles appariés avec des rats femelles en période d'œstrus. Vingt-quatre heures après le dernier traitement, les rats ont été euthanasiés et l'épididyme des rats a été réséqué et les effets de l'extrait sur le nombre, la mobilité, la morphologie des spermatozoïdes et poids de l'épididyme ont été évalués. L'extrait a produit, de manière dose-dépendante, une augmentation significative des fréquences d'accouplement, du nombre de spermatozoïdes, de la mobilité des spermatozoïdes, du pourcentage de spermatozoïdes normaux et du poids de l'épididyme. Il a été conclu que l'extrait de *Desmodium velutinum* possède des effets fertilisants [102].

1.4.2.5- Toxicité de *Desmodium velutinum*

L'évaluation de la toxicité orale aigüe de *Desmodium velutinum* sur des souris albinos Sweiss, faite par Isah *et al.* en 2014 au Nigéria a montré que l'administration d'une dose de 5000 mg/kg de l'extrait de *Desmodium velutinum* entraine la mort de la souris au bout de 24 h. La DL_{50} de *Desmodium velutinum* a été obtenue à 3807 mg/kg. La consommation de l'extrait de *Desmodium velutinum* est relativement sécurisée chez l'homme [103].

1.4.3- Monographie de *Musa paradisiaca*

1.4.3.1- Classification taxonomique

- **Noms en Français :** banane plantain
- **Noms locaux**

Fon : Kokwé aloga

Goun : Gunkokwé

Mina : Amadan

- **Systématique**

Règne : Plantea

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Spermatophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Commelinidae

Ordre : Zingiberales

Famille : Musaceae

Genre et espèce : *Musa paradisiaca* (L. 1753) [106, 154]

- **Synonymes :**

Musa sapientum (L. 1891)

Musa corniculata (Lour.)



Figure 13 : Fruits de *Musa paradisiaca* [104]

1.4.3.2- Description botanique et distribution

- **Description botanique**

Le bananier est une très grande plante, de 6 à 10 mètres de hauteur, à stolons et à feuilles pétiolées, pouvant atteindre 2 mètres de long. Ses feuilles enveloppantes forment le ” tronc ” de la plante. Son inflorescence pendante, jusqu'à 1,5 m de long, a des bractées lancéolées à oblongues ovales, rougeâtres à brunes. Ses fleurs blanc-jaunâtres, de 3 à 4 cm, ont un calice à cinq dents et un pétale libre ovale. La banane est un fruit cylindrique mesurant jusqu'à 30 cm, vert ou jaune selon le degré de maturité [105].

- **Distribution**

C'est une espèce cultivée [106].

1.4.3.3- Ethnopharmacologie de *Musa paradisiaca*

La décoction du fruit vert de *Musa paradisiaca* est utilisée dans les affections digestives (diarrhées et les dysenteries). On emploie la pulpe verte en cataplasme sur les plaies, les ulcères et les brûlures [105]. Les fruits verts de *Musa paradisiaca* sont utilisés dans la prise en charge de l'infertilité masculine.

1.4.3.4- Propriétés chimiques et pharmacologiques

Selon Victor *et al.* en 2023, l'extrait éthanolique du fruit vert de *Musa paradisiaca* contiendrait les composés ci-après : alcaloïdes, saponosides, tanins, flavonoïdes, terpènes et stérols [107].

En 2013, Alabi *et al.* ont réalisé une étude visant à déterminer les effets de l'administration de fruits verts de *Musa paradisiaca* sur la qualité de la semence de rats Wistar mâles adultes. Les animaux utilisés pour l'étude ont été regroupés en trois : le témoin groupe recevant 2 ml d'eau distillée, un groupe recevant 500 mg/kg/jour et un groupe recevant 1000 mg/kg/jour de fruits de plantain, qui ont été transformés en farine, et dissous dans 2 ml d'eau distillée pour une administration orale facile. Ce traitement a été fait pendant 28 jours. Une augmentation significative des paramètres du sperme a été remarquée chez les animaux qui ont reçu une dose plus faible de farine de plantain, mais les animaux qui ont reçu la dose élevée avaient des réductions de la concentration en spermatozoïdes et du pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux. *Musa paradisiaca* doit donc être consommé en quantité modérée pour en tirer ses effets bénéfiques sur l'amélioration des fonctions reproductives [13].

1.4.3.5- Toxicité de *Musa paradisiaca*

Musa paradisiaca n'aurait pas d'effets toxiques en administration orale aigüe à 5000 mg/kg selon Ugbogu *et al.* en 2018. Selon les mêmes auteurs, le test de toxicité subaiguë réalisé avec l'extrait aqueux de *M. paradisiaca* n'aurait pas révélé d'évènement indésirable [108]. Par contre, Victor *et al.* en 2023, auraient remarqué une toxicité rénale

et hépatique suite à une administration de fortes doses de l'extrait éthanolique *M. paradisiaca* à des rats Wistar pendant 14 jours (test de toxicité subaiguë) [107]. Cette discordance pourrait s'expliquer par la différence des solvants utilisés pour l'extraction.

1.4.4- Monographie de *Piper guineense*

1.4.4.1- Classification taxonomique

- **Noms en Français :** poivre des Achantis
- **Noms locaux**

Fon : lenlenkun

Goun : lenlenkun

Mina : ativikanlin

- **Systématique**

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Magnoliidae

Ordre : Piperales

Famille : Piperaceae

Genre et espèce : *Piper guineense* (Schumach. & Thonn. 1827)

- **Synonymes :**

Piper laurentii (De Wild. 1906)

Piper sclerocladum (C. DC. 1894)



Figure 14 : Tige feuillée de *Piper guineense* [109]

1.4.4.2. Description botanique et distribution

- **Description botanique**

Piper guineense est une liane dioïque, ligneuse à la base, s'agrippant sur les troncs des arbres par des racines crampons, atteignant 5 cm de diamètre et 23 m de haut. Les

feuilles alternes, elliptiques, de 16 cm de long et l'inflorescence est en épi de 3-5 cm de long, se transformant en grappes. Les fleurs sans calice ni corolle. Les fruits en grappes pendantes de 4-10 cm de long, constituées de 50-100 baies sphériques de 3-4 mm de diamètre, orangées à rouges, à pédicelles de 5–10 mm de long [110].

- **Distribution**

D'origine africaine, cette plante pousse en Afrique tropicale, du Sénégal à l'Angola et à l'Ouganda. Elle est largement répandue en zones forestières au Cameroun, y compris les galeries forestières et cordons littoraux ; elle est abondante en forêt semi-caducifoliée [110, 111].

1.4.4.3- Ethnopharmacologie de *Piper guineense*

Les fruits secs de *Piper guineense* sont utilisés dans la prise en charge de l'infertilité aussi bien masculine que féminine et dans les affections gynécologiques (troubles d'ovulation, infections sexuellement transmissibles, les fibromes utérins, aménorrhée) [8]. Ils sont également utilisés comme adjuvants dans le traitement du paludisme, des affections digestives (la diarrhée, des douleurs abdominales, de la maladie hémorroïdaire, de l'ulcère), de la sinusite, des maux d'yeux, de la toux, de la fatigue générale, des plaies superficielles et du manque d'appétit [112].

1.4.4.4- Propriétés chimiques et pharmacologiques

Un criblage phytochimique qualitatif a été réalisé sur les échantillons de poudre de graine de *Piper guineense*. Cette étude a révélé la présence des composés ci-après : alcaloïdes, tanins catéchiques, flavone, mucilages, composés réducteurs [9].

En 2003, Mbongue *et al.* ont étudié l'effet de l'extrait aqueux de *Piper guineense* sur la fonction reproductrice mâle chez des rats Wistar. Des rats mâles, âgés de 3 mois, pesant 180-210 g ont reçu (par intubation gastrique) l'extrait aqueux de fruits secs de *Piper guineense* à deux doses, 122,5 et 245 mg/kg pendant 8 jours et 122,5 mg/kg pendant 55 jours. Le groupe témoin a reçu de l'eau distillée pendant la même durée. Les animaux ont été sacrifiés et le sang, les testicules, l'épididyme, les vésicules séminales et la prostate ont été prélevés pour des analyses biochimiques. Il y a eu une augmentation

significative du taux de testostérone dans le sérum et les testicules, de cholestérol dans les testicules, d'α-glucosidase dans l'épididyme et de fructose dans les vésicules séminales après 8 jours de traitement, alors qu'avec 55 jours de traitement, les niveaux de cholestérol dans les testicules a augmenté de 75 %, tandis que les niveaux d'α-glucosidase dans l'épididyme et le fructose des vésicules séminales ont diminué de 24 et 21 % respectivement. En revanche, il y a eu une réduction de 20 % de la fertilité chez les rats traités avec *P. guineense* après 55 jours de traitement. On en déduit donc que, utilisé sur une courte durée, l'extrait aqueux du fruit sec de *Piper guineense* améliore les fonctions reproductives tandis qu'une utilisation prolongée pourrait avoir un impact négatif [113].

1.4.4.5- Toxicité de *Piper guineense*

Piper guineense n'a pas montré de toxicité orale aigüe, administré à 8000 mg/kg à des souris. Par contre, le test de toxicité subchronique a révélé des infiltras de cellules inflammatoires, une congestion vasculaire et un œdème interstitiel au niveau splénique, hépatique et rénal lorsque l'extrait est administré à 250 mg/Kg pendant 30 jours ; suggérant une toxicité hépatique et rénale [114].

1.4.5- Monographie de *Vitellaria paradoxa*

1.4.5.1- Classification taxonomique

- **Noms en Français :** karité
- **Noms locaux**

Fon : limutin

Bariba : sombu

Dendi : kayehi

- **Systématique**

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Dilleniidae

Ordre : Ebenales

Famille : Sapotaceae

Genre et espèce : *Vitellaria paradoxa* (C. F. Gaertn, 1807)

- **Synonymes :**

Butyrospermum paradoxum (C. F. Gaertn) Hepper, 1963

Butyrospermum parkii (G. Don) Kotschy, 1865



Figure 15 : Rameau feuillé de *Vitellaria paradoxa* [115]

1.4.5.2- Description botanique et distribution

- **Description botanique**

Vitellaria paradoxa est élevé entre 10 et 15 mètres, avec un tronc qui peut atteindre un mètre de diamètre. L'écorce est gris noirâtre, rugueuse, profondément crevassée en plaques plus ou moins rectangulaires. Feuilles alternes, rassemblées à l'extrémité des branches, étroitement oblongues, à bord ondulé, à sommet en coin, à base arrondie. Les jeunes feuilles sont rougeâtres et plus ou moins pubescentes, glabre. Nervures pennées, à 20-40 paires de nervures secondaires plus ou moins saillantes selon les arbres. Inflorescence ombelle compacte de 20-40 fleurs disposées à l'extrémité des rameaux. La fleur est blanc crème. Fruit drupe ovoïde, glabre ou pubescent, de 4-5cm de long, disposé au bout d'un pédicelle, portant le reste du style au sommet et le reste du calice à la base, vert et jaune à maturité, contenant une graine noyée dans une pulpe charnue et sucrée. Graine (noix de karité) brune, de 2,5-5cm de long, à coquille luisante et marquée d'une grande cicatrice beige, mate et elliptique occupant la hauteur de la graine [116].

- **Distribution**

Vitellaria paradoxa est indigène de la zone des savanes guinéennes et soudaniennes, du Sénégal jusqu'au Soudan, et à l'ouest de l'Ethiopie et en Ouganda, dans une bande de 500–700 km de large. On le trouve à l'intérieur des terres, séparé du Golfe de Guinée

par des forêts ; il n'y a qu'au Ghana et au Nigeria qu'on le trouve à moins de 50 km de la côte [116]. Au Bénin on le trouve dans le Zou, à Kandi et à Djidja.

1.4.5.3- Ethnopharmacologie de *Vitellaria paradoxa*

Vitellaria paradoxa est utilisé dans le traitement de la fièvre jaune, des crises épileptiques, des affections respiratoires (rhume, toux, tuberculose), des affections dermatologiques (gale, boutons, démangeaisons), des douleurs articulaires, de l'asthénie et des maladies infantiles [117].

1.4.5.4- Phytochimie et activité pharmacologique

Une étude réalisée en 2016 par Falana *et al*. a révélé la présence de plusieurs constituants phytochimiques dans les racines, les feuilles et l'écorce de *Vitellaria paradoxa*. Les constituants sont les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les stéroïdes, les terpènes, les glycosides cardiaques, phlobatanins et les anthraquinones[118]. L'extrait de *Vitellaria paradoxa* a présenté une inhibition de 50 % des radicaux libres DPPH à 0,008777 mg/ml, tandis que l'acide ascorbique utilisé comme standard avait une IC_{50} de 0,078777 mg/ml. Le principal constituant actif de l'échantillon purifié a été identifié comme étant l'acide 14-méthylhexadécanoïque. L'étude a conclu que l'extrait d'écorce de tige de *V. paradoxa* possède des propriétés antioxydantes.

1.4.5.5- Toxicité de *Vitellaria paradoxa*

Il existe peu de données sur la toxicité orale de *Vitellaria paradoxa*. Il lui a plutôt été démontré un effet hépatoprotecteur et néphroprotecteur [119].

1.5- Les métabolites secondaires des plantes

Le métabolisme peut être défini comme étant l'ensemble des réactions biochimiques effectuées par un organisme. Les métabolites sont les intermédiaires et les produits du métabolisme et sont généralement limités aux petites molécules. Le terme ''secondaire'' introduit en 1891 par Albrecht Kossel implique qu'il existe dans chaque cellule vivante, des métabolites primaires primordiaux pour son fonctionnement tandis que les métabolites secondaires ne sont pas indispensables [120].

1.5.1- Les métabolites primaires

Ce sont les oses, les acides aminés, les nucléotides et les acides gras. Il joue un rôle important dans la croissance et le développement de la plante, dans la transmission des signaux ainsi que dans la reproduction. La photosynthèse et la protéosynthèse sont des types de métabolisme primaire [121].

1.5.2- Les métabolites secondaires

Ils dérivent des métabolites primaires. Environ 80 % des métabolites secondaires proviennent des plantes et 20 % des microorganismes. Ce sont des molécules de défense chimiques, contribuant à l'adaptation de la plante à l'environnement et dont l'absence n'a pas d'effet délétère sur cette dernière. Ils jouent un rôle protecteur contre les rayons ultraviolets, les microbes, les insectes, les variations de température. Les métabolites secondaires sont classés en cinq grandes familles : les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes, les alcaloïdes et les saponosides. Les composés phénoliques sont une classe particulièrement intéressante de métabolites secondaires. Diverses études ont montré leur capacité antioxydante et leur utilité dans le traitement des pathologies impliquant les espèces réactives de l'oxygène dont l'infertilité idiopathique [120–123].

1.6- Phytothérapie et toxicité

1.6.1- Définitions

- **Médecine traditionnelle :** C'est la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques reposant sur les théories, croyances et expériences propres à différentes cultures, qu'elles soient explicables ou non, et qui sont utilisées dans la préservation de la santé, ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement de maladies physiques ou mentales [11].
- **La phytothérapie**

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « phyton » qui signifie « plante » et «therapein» qui signifie « soigner »[124].

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

On peut la distinguer en trois (3) types de pratiques [125]:

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- Une pratique de prophylaxie : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'Ail, du Thym ou du Gingembre. Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique.

1.6.2- Toxicité liée aux plantes

Certaines plantes utilisées à visée thérapeutique peuvent, à fortes doses, présenter une menace pour la santé de l'homme. C'est le cas par exemple de la Sauge, *Salvia oficinalis*, l'Armoise blanche, *Artemisia herba alba* et l'Absinthe *Artemisia arborescens*, toutes les trois sont des plantes médicinales à faible doses mais très toxiques à fortes doses[126]. Ainsi, afin d'évaluer la toxicité des plantes et déterminer leurs éventuelles répercussions sur l'organisme, des protocoles ont été établis par l'organisation de coopération et de développement économique (OCDE) : on parle de ligne directrice de l'OCDE. En effet, l'OCDE est une organisation internationale s'occupant de la sécurité chimique. Ces protocoles ne se limitent donc pas seulement aux plantes mais s'étendent à tout produit chimique. En ce qui concerne l'évaluation de la toxicité orale, l'OCDE propose des tests de toxicité aiguë et de toxicité à doses répétées (toxicité subchronique des 28 jours et toxicité des 90 jours) [127].

1.6.2.1- Test de toxicité orale aiguë (Ligne 423)[127, 128]

C'est la ligne directrice utilisée pour l'évaluation de la toxicité aiguë dans notre étude. Elle est basée sur l'administration d'une dose orale unique de la substance à tester à des rongeurs par gavage oral, l'observation des animaux sur une période de 14 jours

et la réalisation d'une autopsie. Les résultats obtenus au terme de cette étude permettent la classification de la substance selon le système général harmonisé.

1.6.2.2- Test de toxicité orale subchronique des 28 jours (Ligne 407)

La substance à tester est administrée quotidiennement par voie orale à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux, à raison d'un niveau de dose par groupe, pendant une période de 28 jours. Au cours de cette période, les animaux sont examinés soigneusement afin de déceler tout signe de toxicité. Au terme de l'essai, les animaux sont sacrifiés et autopsiés. Les paramètres hématologiques sont évalués et une analyse microscopique du foie et des reins est réalisée. Une étude de 28 jours permet de caractériser la toxicité de la substance d'essai, fournit des informations sur les effets d'une exposition répétée par voix orale et peut indiquer la nécessité d'études ultérieures plus longues [129].

1.6.2.3- Test de toxicité orale chronique des 90 jours (Ligne 408)

Différentes doses de la substance d'essai sont administrées quotidiennement par voie orale à plusieurs groupes d'animaux d'expérience, à raison d'une valeur de dose par groupe et ce durant au moins 90 jours. Pendant la période d'administration de la substance, on observe les animaux attentivement en vue d'y déceler d'éventuels symptômes de toxicité conformément aux recommandations de l'OCDE. A la fin de l'essai, les animaux sont sacrifiés et autopsiés. Les paramètres hématologiques et biochimiques sont également évalués afin d'étudier les principaux effets toxiques sur les tissus et des coupes histologiques sont réalisées pour un examen microscopique [130].

2. CADRE, MATERIEL ET METHODE D’ETUDE

2.1- Cadre d'étude

- Laboratoire d'Histologie Biologie de la Reproduction Cytogénétique et Génétique médicale de la Faculté des sciences de la santé de Cotonou (UAC)
- Laboratoire de Pharmacognosie et de Phytothérapie de la Faculté des Sciences de la Santé (UAC).

2.1- Matériel d'étude

Nous avons utilisé du matériel végétal, un modèle expérimental, des outils chimiques et des outils de laboratoire.

2.2.1- Matériel végétal

C'est l'objet de notre travail de recherche. Il est composé des drogues végétales suivantes :

- *Desmodium velutinum* (écorce de la racine)
- *Aframomum melegueta* (graines)
- *Musa paradisiaca* (pulpe du fruit vert)
- *Piper guineense* (fruit)
- *Vitellaria paradoxa* (écorce du tronc)

Desmodium velutinum a été collecté sur son site de développement naturel à Ouidah (coordonnées GPS 6° 21' 47.1'' Nord, 2° 5' 6.2'' Est). *Aframomum melegueta, Piper guineense, Musa paradisiaca* et *Vitellaria paradoxa* ont été achetés auprès de revendeuses de plantes médicinales au marché de Cococodji. Les différentes plantes ont été soumises à certification par l'Herbier National du Bénin. Le séchage des drogues a été faite dans une enceinte climatisée pendant 07 jours. Les drogues sèches ont ensuite été broyées en poudre grâce à un moulin électrique. Les poudres ont été conservées dans des bocaux en verre hermétiquement fermés.

2.2.2- Modèle expérimental

Le modèle expérimental utilisé était le rat Wistar. Notre choix s'est porté sur le rat Wistar parce que c'est un animal facile à manipuler, très sensible aux essais thérapeutiques. Il s'est agi de rats mâles de 8 à 12 semaines d'âge (sexuellement matures), de poids moyen égal à 150 ± 30g. Ces rats ont été obtenus à l'animalerie du Laboratoire d'Histologie, de Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique. Les rats ont été acclimatés aux conditions ambiantes d'élevage de l'animalerie. L'élevage s'est effectué dans une salle d'environ 40 m^2, bien aérée, avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité. Les animaux sont gardés dans des cages conventionnelles collectives en plastique tapissées de copeaux de bois (qui sont renouvelés toutes les 48h), munies de mangeoires et de biberons pour l'abreuvage. Les rats ont libre accès à l'eau de boisson et à la nourriture. Les cages d'élevage et la salle sont quotidiennement nettoyées pour garantir un développement optimal des animaux à l'abri de toute infection. La nourriture des animaux est une provende pour rongeurs commercialisée par le groupe Veto-Service. L'aliment sec a été distribué une fois par jour entre 13 h et 14 h.

2.2.3- Outils chimiques

- **L'anti-oxydant de référence**

Notre anti-oxydant de référence est Veliten, un médicament contenant de la vitamine E (50 mg), la vitamine C (200 mg) et de la rutine (200 mg) ; fabriqué par le laboratoire Zambon en France.

- **L'agent oxydant** [131]

Le peroxyde d'hydrogène est une espèce réactive d'oxygène non radicalaire. Elle présente une demi-vie d'environ 1 ms. C'est une espèce peu réactive mais ayant une forte capacité à diffuser dans les différents compartiments cellulaires. En présence des métaux de transition (fer, cuivre), le peroxyde d'hydrogène forme le radical hydroxyle qui possède une forte réactivité. Le choix de cet agent d'induction des troubles de la qualité du sperme repose sur des travaux antérieurs

qui ont montré la toxicité testiculaire du peroxyde d'hydrogène [14, 132]. L'exposition des rats au peroxyde d'hydrogène a été faite par leur eau de boisson. La teneur de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de boisson est de 0,5 %.

2.2.4- Outils de laboratoire :

- **Appareils**
  - Agitateur rotatoire magnétique (VWR, Belgique)
  - Bain marie (SW22, Allemagne)
  - Balance analytique (ESSE®, Italie)
  - Etuve (Memmert, Allemagne)
  - Rotavapor (VWR, Allemagne)
  - Spectrophotomètre (VWR, Chine)
  - Vortex (VWR, Amérique)
  - pH mètre (Modeol, Chine)
- **Consommables médicaux**
  - Tubes Falcon 50ml
  - Tubes Eppendorf
  - Tubes hématocrite
  - Cônes pour micropipette
  - Coton stérile
  - Gants stériles
  - Boite de dissection
  - Seringues de 5cc et de 1cc
- **Verrerie de laboratoire**
  - Béchers
  - Eprouvettes
  - Fioles
  - Potence
  - Spatules
  - Tube à essai

- Poire
- Verre de montre
- Ampoule à décanter

- **Réactifs et produits chimiques**
  - Peroxyde d'hydrogène
  - Eau distillée
  - Diméthylsulfoxide (DMSO) (JHD®, China)
  - Ethanol à 95 % (CPNG, Bénin)
  - Formol à 10 %
  - Ether médical (Cooper, Belgique)
  - Sérum physiologique (Atlantic Lifesciences limited, Ghana)
  - Réactifs du screening phytochimique
  - Réactifs de dosage des composés phénoliques
  - Réactifs du test de réduction de la DPPH

2.2- Méthode

2.3.1- Phase préparatoire

Empiriquement, la recette traditionnelle est faite à 77% de *Musa paradisiaca*, 14% de *Vitellaria paradoxa*, 6% de *Desmodium velutinum*, 2% de *Piper guineense* et 1% de *Aframomum melegueta* soit respectivement 385g, 70g, 30g, 10g et 5g pour 500g de poudre et 5 morceaux de sucre. Le tout a été macéré à 10% (poids/volume) avec un solvant hydroéthanolique. Pour ce faire, nous avons ajouté 50g de chaque poudre à 500ml de solvant hydroéthanolique (60/40). Le mélange, hermétiquement fermé, est laissé sous agitation continue à 180 tours/minute pendant 72 heures. Le macérat obtenu est filtré trois fois sur papier filtre, évaporé au Rotavapor puis séché à l'étuve à 40 °C. L'extrait sec obtenu a été conservé à 4°C dans des flacons opaques, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Le rendement (R) de chaque extraction a été calculé par la formule suivante :

$$R\ (\%) = \frac{\text{Masse d'extrait sec obtenu (g)}}{\text{Masse de poudre végétale utilisée (g)}} \times 100$$

2.3.2- Phase d'expérimentation *in vitro*

2.3.2.1- Analyse phytochimique

Le screening phytochimique permet d'identifier les métabolites secondaires présents dans une drogue végétale avec des réactifs spécifiques. Il a été effectué sur un extrait hydroéthanolique de notre drogue végétale. Il est basé sur les réactions de précipitation et de coloration, différentielles des principaux groupes de composés chimiques contenus dans les plantes selon la méthode de Houghton et Ramann [17].

2.3.2.2- Dosage des composés polyphénoliques

a) Les composés polyphénoliques totaux

- **Principe**

Les polyphénols totaux ont été dosés selon la méthode de Edoun *et al.* (2020). Elle consiste en la réduction des acides phosphomolybdique et phosphotungstique du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupements hydroxyles des polyphénols des extraits en un mélange d´oxydes bleus de molybdène et de tungstène.

- **Méthode**

On introduit dans un tube à essai 125 µl de DAMPI à 2 mg/ml auquel on ajoute 625 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 10ème. Après 5 minutes, on arrête la réaction par ajout de 500 µl d´une solution aqueuse de carbonate de sodium à 75 g/l. On ajoute ensuite 250 µl d'eau distillée. Le mélange est incubé à l´obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L´absorbance du mélange a été lue à

760 nm au spectrophotomètre. Les essais ont été réalisés en triplicat. L´acide gallique a été utilisé comme standard. La concentration de l´extrait en polyphénol est exprimée en mg Equivalents Acide Gallique (EAG)/g d´extrait.

b) Tanins condensés totaux

- **Principe**

Ce dosage a été fait par la méthode de la vanilline chlorhydrique décrite par Zemmouri *et al*. (2019). Il consiste en la quantification des adduits rougeâtres formés par la réaction entre la vanilline et le noyau flavanol des monomères de tanins condensés. L´intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la teneur en tanins condensés.

- **Méthode**

500 µl d´extrait (à 2 mg/ml) ou de standard (catéchine) est introduit dans un tube contenant 3 ml de vanilline méthanolique (4 %). Après homogénéisation, il a été ajouté 1,5 ml d´acide chlorhydrique concentré au mélange précédent. Le mélange a été incubé pendant 20 minutes au bain-marie à 30 °C. L'absorbance du mélange est ensuite lue au spectrophotomètre à 500 nm. Les concentrations en tannins condensés sont déterminées à partir d'une courbe étalon réalisée avec des concentrations connues de standard (catéchine) dans les mêmes conditions opératoires. Les concentrations en tannins catéchiques sont exprimés en mg Equivalents Catéchine (ECT)/g d´extrait.

c) Flavonoïdes totaux

- **Principe**

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait ont été quantifiées par la méthode du chlorure d´aluminium [122]. Elle se base sur la formation du complexe flavonosides-(Al^{3+},$3Cl^{-}$) qui confère au mélange une coloration jaune d´intensité proportionnelle à la concentration en flavonoïdes.

- **Méthode**

Dans un tube à essai, on prépare un mélange de 500 µl d´extrait à 2 mg/ml et 500 µl de chlorure d´aluminium. Le mélange a été incubé durant 10 minutes à l´obscurité et son absorbance a été mesurée á 420 nm. Les essais ont été réalisés en triplicat. La rutine a été utilisée comme standard. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en se servant de la rutine (15-500 µg/ml) comme standard. La concentration en flavonoïdes de l´extrait est exprimée en mg Equivalents Rutine (ERU)/g d'extrait.

2.3.2.3- Test de réduction de la DPPH

a. Principe

Le test de réduction du 2,2- Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante réalisée habituellement pour tester l'habileté des composés à neutraliser les radicaux libres ou leur capacité à céder un atome d'hydrogène.

La DPPH est un radical libre stable ayant un électron libre, de coloration violette foncée en solution. Elle a une absorbance maximale à 517 nm au spectrophotomètre. Lorsqu'un antioxydant cède un atome d'hydrogène à la DPPH, il réduit cette dernière en DPPH-H avec pour conséquence la décoloration de la solution (qui devient jaune) et une diminution de l'absorbance. La décoloration est fonction du nombre d'électrons capturés. Plus la décoloration est importante, plus l'activité antioxydante l'est également [135].

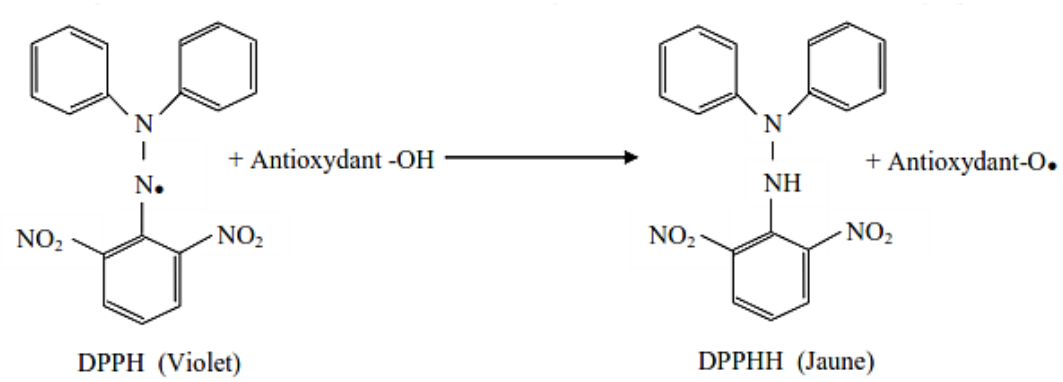


Figure 16 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH-H [136]

b. Méthode

Dans des tubes à essais ont été préparées des solutions éthanoliques de DAMPI à différentes concentrations (16 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,0625 ; 0,0312 mg/ml) de 0,5 ml par méthode de dilution. A ces solutions ont été ajoutés 2,5ml de DPPH à 0,04mg/ml. Les mélanges ont été homogénéisés au Vortex et gardés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. La décroissance de l'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 517 nm.

Le contrôle positif utilisé est le Veliten (vitamine C 200mg, Vitamine E 50mg, Rutine 200mg). La solution de Veliten a été préparée dans les mêmes conditions opératoires (0-10µg) de vitamine C. L'expérience a été faite en triplicat.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$I\% = [(Abs_{contrôle} - Abs_{test}) / Abs_{contrôle}] \times 100$$

Abs $_{contrôle}$: Absorbance de la DPPH lue contre l'éthanol comme blanc.

Abs $_{test}$: Absorbance du standard ou des échantillons

Une faible absorbance de l'échantillon indique une activité antioxydante élevée. L'IC_{50} est la concentration d'échantillon nécessaire pour réduire 50% de la DPPH.

2.3.3- Phase d'expérimentation *in vivo*

2.3.3.1- Etude de l'activité pharmacologique de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme induit par le H_2O_2 sur le rat Wistar

Cette étude a été menée sur vingt-cinq rats mâles adultes de poids moyen égal à 150±30g. Les rats ont été répartis de manière aléatoire en 5 groupes de 5 rats. Les traitements ont été administrés aux différents groupes suivant le schéma décrit par le tableau V.

Tableau V : Schéma du protocole pour l'activité pharmacologique

Groupes	Type	Substance administrée	Dose	Quantité administrée
1	Contrôle négatif	Eau distillée + DMSO	- 5%	*Ad libitum* 2ml
2	Contrôle positif	H_2O_2	0,5% (v/v)	*Ad libitum*
3	DAMPI 0,5g	H_2O_2 DAMPI (dissout dans la DMSO à 5%)	0,5% (v/v) 0,5g/kg	*Ad libitum* 2ml
4	DAMPI 1g	H_2O_2 DAMPI (dissout dans la DMSO à 5%)	0,5% (v/v) 1g/kg	*Ad libitum* 2ml
5	Veliten	H_2O_2 Veliten (dissout dans la DMSO à 5%)	0,5% (v/v) 50mg/kg (de Vit E)	*Ad libitum* 2ml

Les paramètres analysés étaient : l'évolution pondérale, le poids des organes reproducteurs, les paramètres spermatiques, les paramètres liés au stress oxydatif et l'histologie des testicules et de l'épididyme.

a) Évaluation de l'évolution pondérale

Les animaux ont été pesés de façon hebdomadaire à la même heure.

b) Poids relatif des organes reproducteurs

Les rats ont été sacrifiés à J60 après anesthésie à la kétamine à 75 mg/kg et à l'acépromazine à 1,5mg/kg. Les animaux ont été disséqués et les organes reproducteurs isolés, débarrassés de la graisse et des adhérences conjonctives puis pesés. Les organes pesés sont les testicules, les épididymes, la vésicule séminale, la prostate ventrale.

c) Paramètres spermatiques

L'évaluation des paramètres spermatiques a été faite à partir d'une suspension épididymaire. L´épididyme caudal droit de chaque animal est découpé dans 5 ml d´eau physiologique contenu dans une boite de pétri (NaCl à 0,9 %) après dissection. Le mélange est laissé au repos pendant 5 minutes au Bain-Marie à 37 °C pour libérer en solution les spermatozoïdes. Il s'agit ensuite d'évaluer les paramètres ci-après :

- **Numération**

La suspension épididymaire préalablement préparée est diluée au 1/10ème avec du méthanol à 50 % dans un tube à essai. Le mélange est incubé pendant au moins 5 minutes à température ambiante. On transfère 10 µl du mélange dans la cellule de numération (Malassez) pour le comptage à l´objectif (x 40). Lire dans 5 rectangles non consécutifs. Cette cellule est divisée en 100 rectangles de volume unitaire égal à **0,01 mm^3 ou 10^{-5}ml**. Le nombre de spermatozoïdes par ml est déterminé par la formule suivante N= Nombre de spermatozoïdes moyens comptés x facteur de dilution

Facteur de dilution = (Volume total de NaCl/volume de suspension transféré dans le tube) X (volume total de solution dans le tube/volume unitaire d´un rectangle de la cellule X 5)

- **Mobilité**

10 µl de la suspension épididymaire sont déposés sur une lame et recouverts d´une lamelle propre. Les spermatozoïdes mobiles et immobiles sont comptés dans chaque champ. La mobilité des spermatozoïdes doit être évaluée dans au moins 10 champs de lecture. Le comptage porte sur 200 spermatozoïdes à l´objectif (x 40). Le pourcentage de mobilité est déterminé par la formule suivante

Pourcentage de mobilité (%) = nombre de spermatozoïdes mobiles/200 spermatozoïdes x 100

- **Vitalité**

20 µl de la suspension épididymaire sont mélangés avec un volume égal d´éosine aqueuse à 1 %. Le mélange est homogénéisé pendant 2 minutes. Seuls les spermatozoïdes dont la membrane n´est pas colorée en rose sont comptés dans 10 champs de lecture. Ce comptage se fera sur 200 spermatozoïdes à l´objectif (x 40). **Pourcentage de vitalité (%) = nombre de spermatozoïdes non colorés/200 spermatozoïdes x 100**

- **Morphologie**

Les frottis ont été réalisés avec 10 µl de la suspension épididymaire (02 lames par animal) et séchés à l´air libre durant 30 minutes. Les lames ont été fixées dans une solution de méthanol pendant 2 minutes, rincées trois fois à l´eau distillée et séchées pendant 12 h. Les lames ont été colorées dans un bac contenant une solution aqueuse d´éosine à 1 % pendant 1h. Laver les lames à l´eau distillée et sécher à l´air libre. Elles ont été observées au microscope à l'objectif à immersion (x100).

d) Evaluation des paramètres liés au stress oxydatif

Les organes ont été broyés dans une solution de tampon phosphate (50 mM, pH : 7,4) additionnée de laurylsulfate de sodium (1 %) (50µl pour 50 ml de solution). La solution d'homogénat est préparée à 10 % (m/v). L'homogénat a été centrifugé pendant 30 minutes à 3000 tours/secondes. Le surnageant a été transféré dans des tubes et conservé à - 4 °C pendant au plus 48 h.

- **Taux de MDA**

Le taux de MDA a été dosé selon la méthode de Sahreen et al., 2013 [137]. Il a été introduit dans les tubes à essai, 0,58 ml de tampon phosphate (à pH 7,4 de concentration 0,1 M), 0,2 ml de solution d'acide ascorbique (à 100 mM), 0, 2 ml de solution de chlorure ferrique (100 mM) et 0,2 ml de solution d'homogénat. Le mélange a été incubé pendant une heure à 37 °C (bain-marie). La réaction a été

arrêtée par l'ajout de 1 ml d'une solution d'acide trichloroacétique à 10 % et de l'addition d'1 ml d'acide thiobarbiturique à 0,67 %. Les tubes à essai ont été placés dans un bain marie bouillant pendant 20 minutes. Les tubes ont été refroidis dans un bac à glace contenant de l'eau glacée. Le mélange a été centrifugé à 3500 tours pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant a été lue au spectrophotomètre à 535 nm contre un blanc (le tampon phosphate remplace la solution d'homogénat dans le mélange précédent).

La quantité de MDA formée est calculée sur la base du coefficient d'extinction molaire du MDA ($1,56*10^5$ $M^{-1}cm^{-1}$) et exprimée en nmol de MDA/minutes/mg de tissu à 37°C.

- **Taux de catalase**

La catalase a été dosée selon la méthode de Aebi et al., 1984 [138]. Il a été introduit dans un tube à essai, 100µl d'échantillon, 1ml de H_2O_2 à 0,2M. Le mélange a été homogénéisé au vortex puis incubé au bain marie pendant 3 minutes à 37 °C. Il a été additionné au mélange 2 ml d'une solution d'acétate dichromate/acide acétique glacial (1 : 3). Le tube a été incubé au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. Après refroidissement dans de l'eau glacée, le tube a été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant a été lue au spectrophotomètre à 570 nm.

L'activité de la catalase a été déterminée par la formule suivante :

Activité catalase

kU = 2,303/t * [log (S0/S-M)] * (Vt/Vs)

S^0 : Absorbance du tube standard

S : Absorbance du tube de l'échantillon

M : Absorbance du tube contrôle-test

Vt : Volume du mélange dans le tube test

Vs : Volume de l'échantillon dans le tube test

- **Taux de SOD**

Le dosage a été effectué selon la méthode de Li et al. 2012 [139]. Il a été mélangé dans un tube à essai 50µl de l'échantillon et 2900 µl de tampon phosphate à pH 7,4 (50 mM + 1 mM Na_2EDTA). Le mélange a été vortexé et maintenu à 37 °C dans un bain-marie. Celui-ci a été transféré dans la cuve de lecture, auquel a été ajouté 50µl de la solution de pyrogallol (60 mM). L'absorbance du mélange a été lue au spectrophotomètre durant 5 minutes par intervalle de 30 secondes contre un blanc (solution de tampon phosphate).

Le pouvoir d'inhibition de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est calculé par la formule **[(Δblanc-Δextrait) /Δ blanc] x 100**. Δ : augmentation de l'absorbance durant la lecture.

e) Coupes histologiques [140]

Les coupes histologiques ont été effectuées sur les testicules et épididymes des rats. L'étude histologique est faite en microscopie optique. Elle est le fruit d'un processus de préparation des échantillons s'effectuant en 5 étapes : la fixation, l'inclusion, les coupes, la coloration, le montage.

- **La fixation**

Elle a pour but la conservation des tissus et leur durcissement. Immédiatement après prélèvement, les organes sont immergés dans un grand volume de formol. Après durcissement, ils ont ensuite été découpés puis mis en casette et introduits dans un bain de formol à 10 % pendant 7 jours.

- **L'inclusion**

Elle a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Elle est rendue liquide par chauffage à 70°C. La paraffine n'étant pas miscible à l'eau, les organes doivent préalablement subir une déshydratation par immersion pendant une heure à chaque étape dans des

solutions d'éthanol à des degrés croissants (70 °C, 80 °C, 90 °C, 100 °C) puis dans une solution de xylène (immersion pendant trois heures).

Les échantillons ont été immergés dans un bain de paraffine (pendant 3 heures) avant d'être coulés dans une moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide. La paraffine infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se retrouve en présence d'un bloc de paraffine dur, à l'intérieur duquel la pièce est incluse.

- **Les coupes**

Les coupes des blocs de paraffine sont faites avec un microtome qui permet de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 µm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

- **La coloration**

Elle accentue les contrastes pour mieux reconnaître les structures de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (à la chaleur puis dans un bain de xylène) et immersion des lames dans de l'alcool à des degrés décroissants puis dans l'eau distillée. Les lames ont été colorées l'HE (Hématoxyline-Eosine). L'hématoxyline colore les noyaux en violet, l'éosine colore les cytoplasmes en rose.

- **Le montage**

Les coupes colorées ont été dallées entre lames et lamelles avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une préparation microscopique pouvant être observée au microscope optique. Les lames ont été observées avec un microscope photonique muni d'une caméra.

2.3.3.2- Evaluation de la toxicité orale aigüe de l'extrait (DAMPI)

La toxicité orale aigüe de DAMPI a été évaluée selon la ligne 423 de l'OCDE (Organisation de Coopération et Développement Economique).

a) Description de la ligne 423

Il s'agit d'un protocole d'évaluation de la toxicité aigüe par voie orale des produits chimiques. Il est basé sur l'administration d'une dose orale unique de la substance à tester à des rongeurs par gavage oral, l'observation des animaux sur une période de 14 jours et la réalisation d'une autopsie. Les résultats obtenus au terme de cette étude permettent la classification de la substance selon le système général harmonisé [127].

b) Schéma expérimental

Pour cette étude, nous avons choisi au hasard des rats Wistar mâles âgés de 8-12 semaines pesant 150 ± 30 g. Ces rats sont obtenus à l'animalerie du Laboratoire d'Histologie, de Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique. Nous avons constitué deux groupes de trois rats mâles qui ont reçu une dose unique de DAMPI à 2000 mg/kg et de DMSO. Ces rats ont ensuite été suivis pendant 14 jours.

Le traitement a été administré par gavage. Le comportement et la prise alimentaire des rats ont été relevés chaque jour. Le poids corporel a été déterminé de manière hebdomadaire. A la fin de l'étude, les animaux ont été mis à jeun la veille. Les rats ont été anesthésiés par le mélange kétamine-acépromazine en intrapéritonéal. Les organes suivants ont été isolés : cœur, poumons, reins, rate, foie, estomac, vésicules séminales, testicules, épididymes. Les organes ont été pesés et leurs poids relatifs déterminés. L'aspect macroscopique des organes a été observé. L'analyse microscopique de la structure du foie et des reins a été faite grâce à des coupes histologiques.

3. RESULTATS

Les résultats de nos travaux sont présentés comme suit :

- Etude phytochimique
- Dosage des composés polyphénoliques
- Test de réduction de la DPPH
- Evaluation du potentiel spermatogénique
- Test de toxicité aigue

3.1- Etude phytochimique

3.1.1- Rendement d'extraction

L'extraction hydroéthanolique de 50g de la poudre de DAMPI a permis d'obtenir un rendement de 64,62 % (p/p). La figure 17 montre l'extrait.

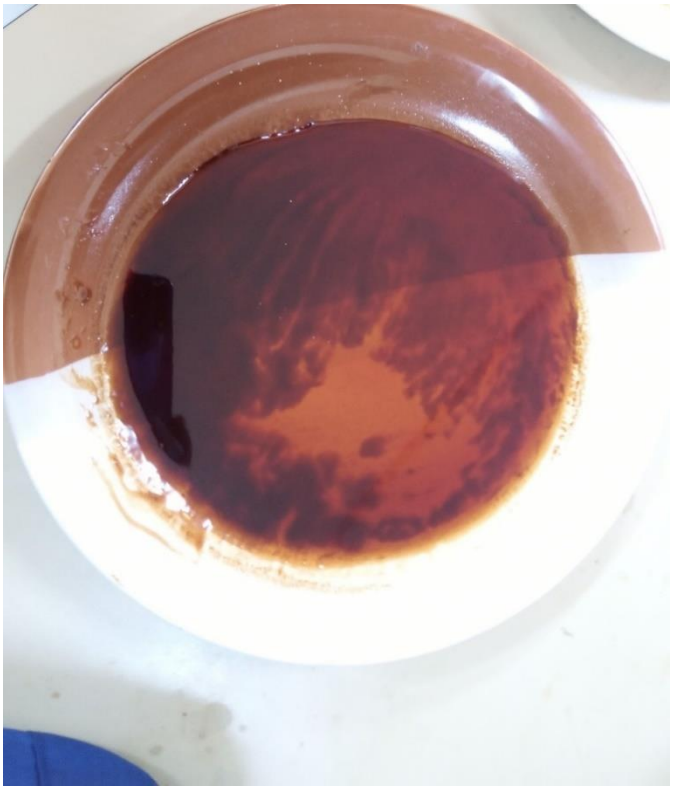


Figure 17 : Extrait hydro-éthanolique de la recette (DAMPI)

L'extrait obtenu était marron de couleur et coulant.

3.1.2- Screening phytochimique

Le résultat du criblage phytochimique de DAMPI est présenté dans le tableau ci-après. De ce tableau, on retient que l'extrait hydroéthanolique de DAMPI contient les métabolites secondaires suivants : Tanins catéchiques, flavonoïdes, alcaloïdes, leucoanthocyanes, composés réducteurs, stéroïdes et triterpènes.

Tableau VI : Screening phytochimique de DAMPI

GROUPES PHYTOCHIMIQUES	RESULTATS
Alcaloïdes	+
Tanins	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	-
Flavonoïdes	+
Coumarines	-
Leucoanthocyanes	+
Anthocyanes	-
Saponosides	-
Triterpènes et stéroïdes	+
Mucilages	-
Composés réducteurs	+
Hétérosides cardiotoniques	-
Anthracéniques libres	-
O-anthracéniques	-
O-anthracéniques à génine réduite	-
Dérivés cyanogéniques	-

+ : Positif **- : négatif**

Les tanins catéchiques et flavonoïdes étant des groupes connus pour leurs effets antioxydants, leur dosage quantitatif serait d'intérêt pour l'exploration des capacités antioxydantes de notre extrait.

3.2- Dosage des composés polyphénoliques

Les résultats du dosage quantitatif des composés polyphénoliques (flavonoïdes, tanins condensés et composés polyphénoliques totaux) sont récapitulés dans le tableau ci-après :

Tableau VII : Dosage quantitatif des composés polyphénoliques

Polyphénols totaux (mg EAG/g d´extrait)	**Tanins catéchiques (mg ECT/g d´extrait)**	**Flavonoïdes (mg ERU)/g d'extrait)**
11,229 ± 4,396	22,637 ± 14,310	4,769 ± 0,821

3.3- Test de réduction de la DPPH

Ce test a permis d'évaluer l'IC_{50} de DAMPI comparativement au VELITEN qui a été utilisé comme référence. Le tableau VII montre que l'extrait (DAMPI) présente un IC_{50} d'inhibition de la DPPH supérieur à celui du Veliten.

Tableau VIII : Test de réduction de la DPPH

IC 50	
VELITEN(µg/ml)	**DAMPI(µg/ml)**
0,155 ± 0,00028	376,917 ± 0,656

L'IC_{50} est la concentration d'échantillon nécessaire pour réduire 50% de la DPPH.

3.4- Etude de l'activité pharmacologique de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme induit par H_2O_2 sur le rat Wistar

3.4.1- Evolution pondérale

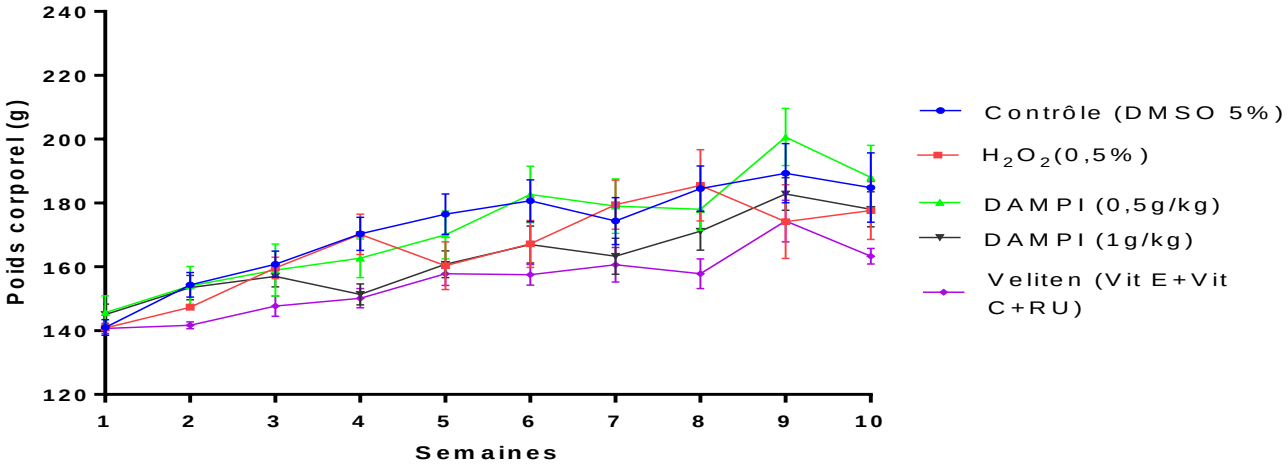


Figure 18 : Evolution du poids corporel

Cette figure nous montre des profils d'évolution pondérale similaires entre les groupes d'étude.

3.4.2- Poids relatif des organes

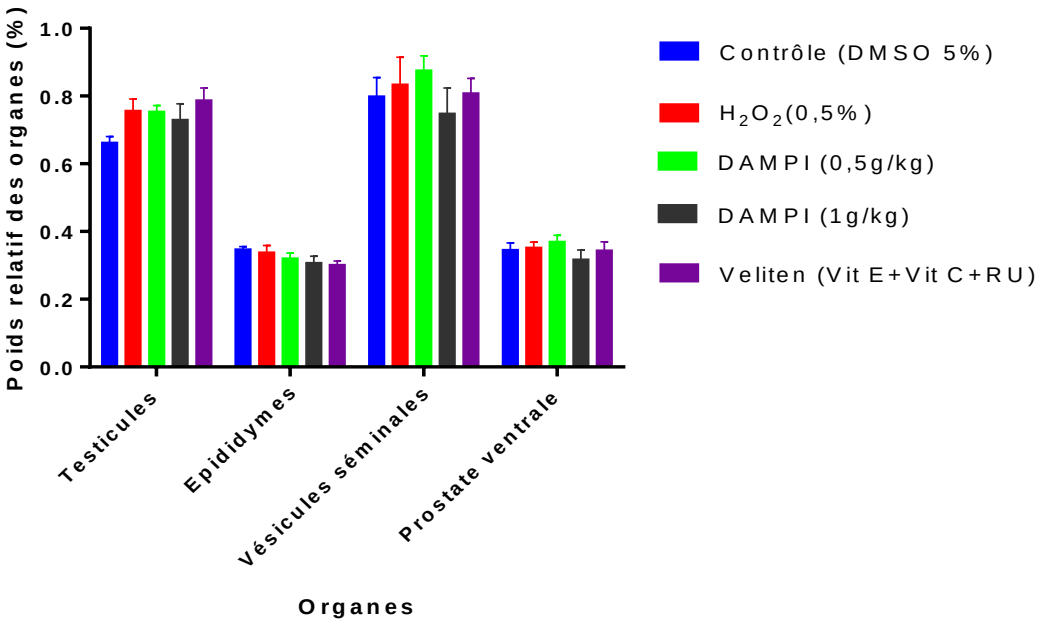


Figure 19 : Poids relatif des organes

Aucune différence significative du poids des organes reproducteurs n'a été observée entre les groupes d'étude.

3.4.3- Evaluation des paramètres spermatiques

Les paramètres spermatiques sont récapitulés dans le tableau IX ci-après.

Ce tableau montre d'une part que le H_2O_2 a entraîné une diminution de la numération (de plus de la moitié), la vitalité et la mobilité des spermatozoides ; avec des données statistiquement significatives. D'autre part, on constate une augmentation significative des anomalies morphologiques.

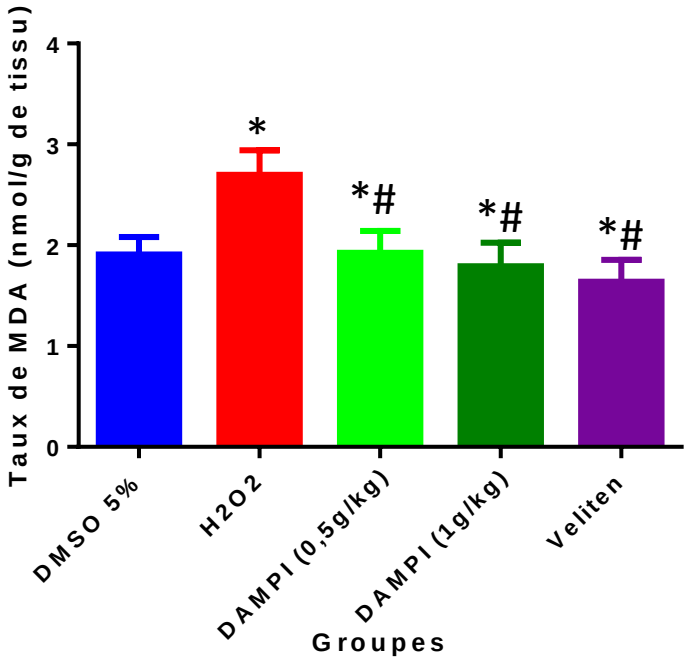
En ce qui concerne le groupe DAMPI 0,5 g, on remarque à une augmentation significative des paramètres spermatiques en termes de numération et de mobilité par rapport au groupe H_2O_2. On note une augmentation non significative de la vitalité mais les anomalies morphologiques restent peu modifiées par rapport au groupe H_2O_2. Ces résultats sont similaires à ceux des groupes Veliten. Cependant à 1g, DAMPI n'entraîne pas d'amélioration du nombre de spermatozoïdes.

Tableau IX : Paramètres spermatiques

Paramètres	**Ctrl**	**H_2O_2**	**DAMPI 0,5g**	**DAMPI 1g**	**Veliten**
Mobilité (%)	78,13±5,13	53,63±5,72*	77,25±1,20$^{\#}$	77,78±2,44$^{\#}$	75±2,31$^{\#}$
Viabilité (%)	87±4,62	53,83±2,77*	62,17±2,89*	56,50±2,75*	54,08±6,71*
Numération (10^6/ml)	53,30±2,98	22,47±3,17*	49,60±5,03$^{\#}$	36,70±5,03	48,10±7,82$^{\#}$
Anomalies morphologiques (%)	22,75±4,21	46,25±4,27*	40,25±4,01*	43±7,05*	44,25±3,96*

Les données sont exprimées sous la forme moyenne ± erreur sur la moyenne (n=5). * indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe Ctrl ; $^{\#}$ indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe H_2O_2.

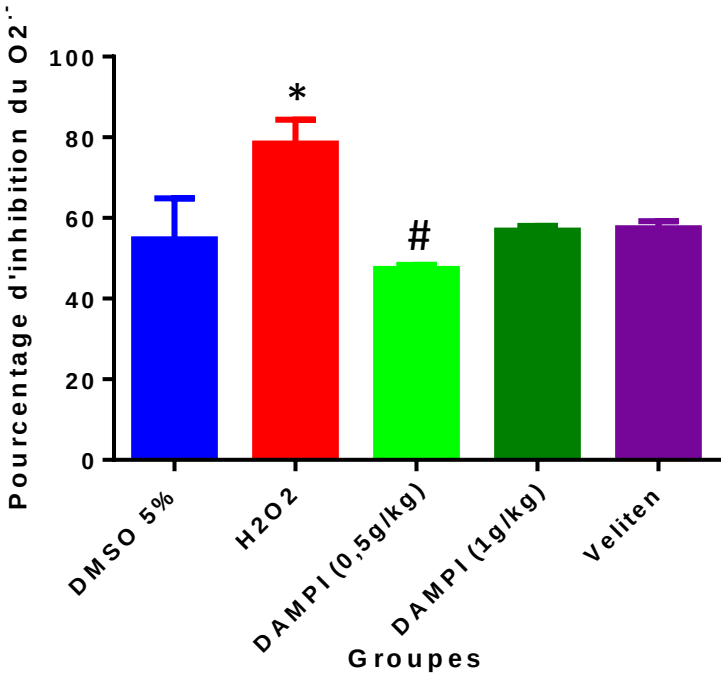
3.4.4- Paramètres liés au stress oxydatif



Les données sont exprimées sous la forme moyenne ± erreur sur la moyenne (n=5). * indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe Ctrl ; # indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe H_2O_2.

Figure 20 : Effet de DAMPI sur le taux de MDA

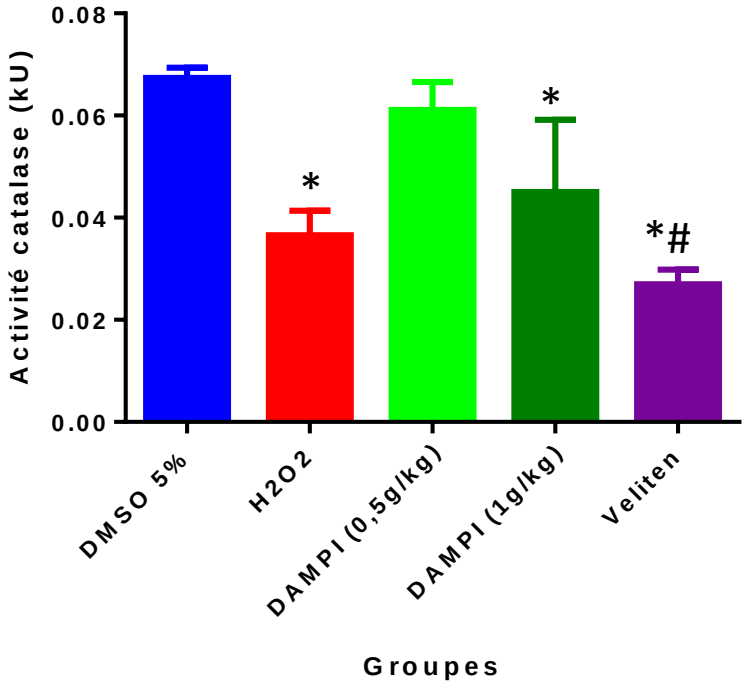
Sur cette figure, on remarque une augmentation significative du taux de MDA du groupe H_2O_2 comparé au groupe contrôle. En ce qui concerne les groupes DAMPI 0,5 g, DAMPI 1 g et VELITEN, leurs taux de MDA sont significativement bas par rapport au groupe H_2O_2.



Les données sont exprimées sous la forme moyenne ± erreur sur la moyenne (n=5). * indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe Ctrl ; # indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe H_2O_2.

Figure 21 : Effet de DAMPI sur l'activité de la SOD

Sur ce diagramme, on remarque d'une part que l'activité de la SOD est plus élevée dans le groupe H_2O_2 que le groupe contrôle avec une significativité statistique. D'autre part, on remarque une diminution significative de l'activité de la SOD uniquement dans le groupe DAMPI 0,5 g/kg.



Les données sont exprimées sous la forme moyenne ± erreur sur la moyenne (n =5). * indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe Ctrl ; # indique une différence significative ($p \leq 0,05$) par rapport au groupe H_2O_2.

Figure 22 : Effet de DAMPI sur l'activité de la catalase

La présente figure illustre l'activité de la catalase. Sur cette figure, on remarque une diminution significative de cette activité dans les groupes H_2O_2, DAMPI 1 g et Veliten par rapport au groupe contrôle. Concernant le groupe DAMPI 0,5 g, on note une activité nettement supérieure à celle du groupe H_2O_2. Ces différences sont statisquement significatives.

3.4.5- Etude histologique

3.4.5.1- Histologie des testicules

a) Groupe contrôle

Les figures 23 et 24 représentent les testicules des rats du groupe témoin à différents grossissements.

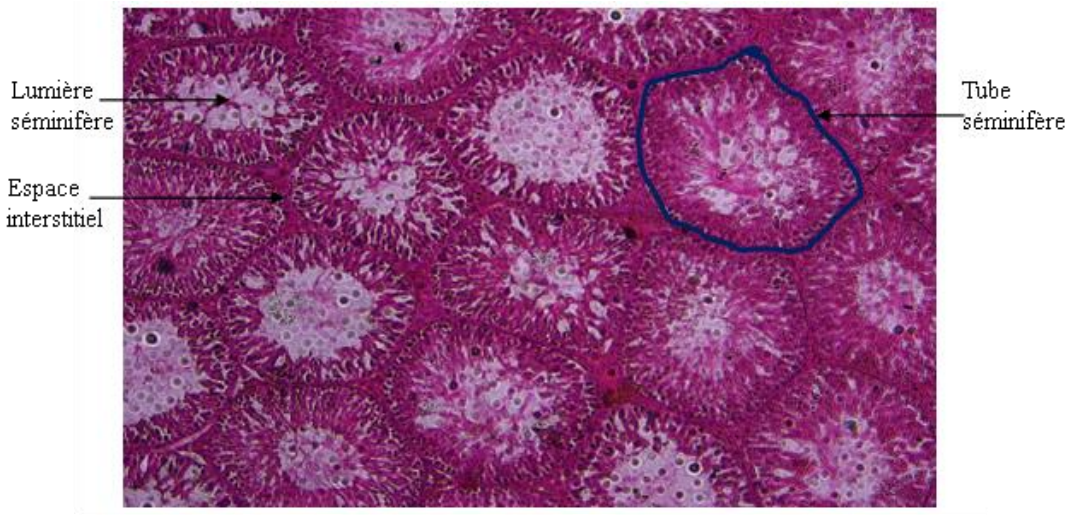


Figure 23 : Coupe histologique du testicule (groupe témoin ; HE x 100)

On note un aspect histologique normal avec une intégrité de l'épithélium séminifère.

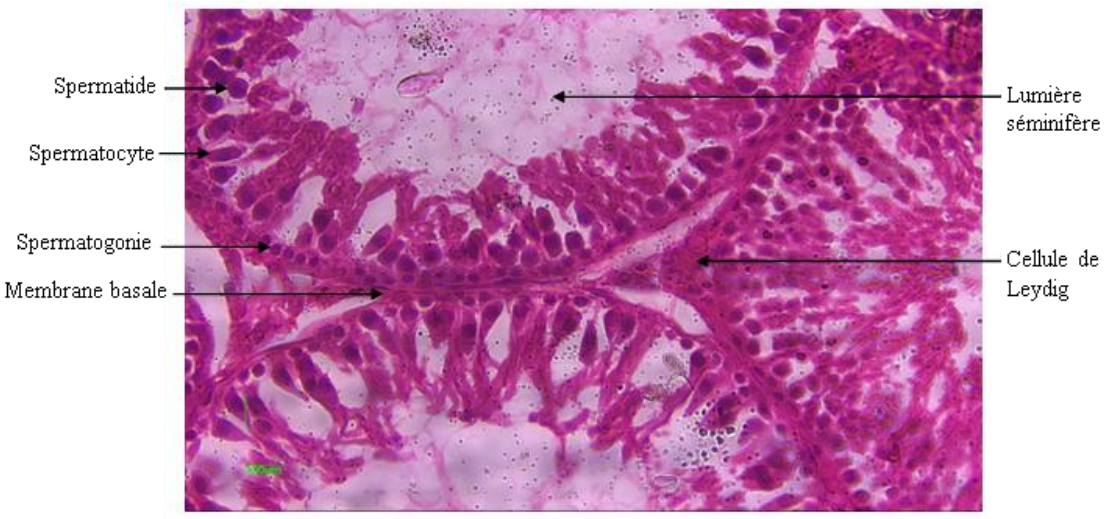


Figure 24 : Coupe histologique du testicule (groupe témoin ; HE x 400)

Au grossissement x 400, on note également un aspect histologique normal des tubes séminifères avec la présence des spermatogonies, des spermatocytes et des spermatides. Il y a également une intégrité de la membrane basale.

a) Groupe H_2O_2

Les figures suivantes montrent l'effet du H_2O_2 sur l'épithélium séminifère des rats.

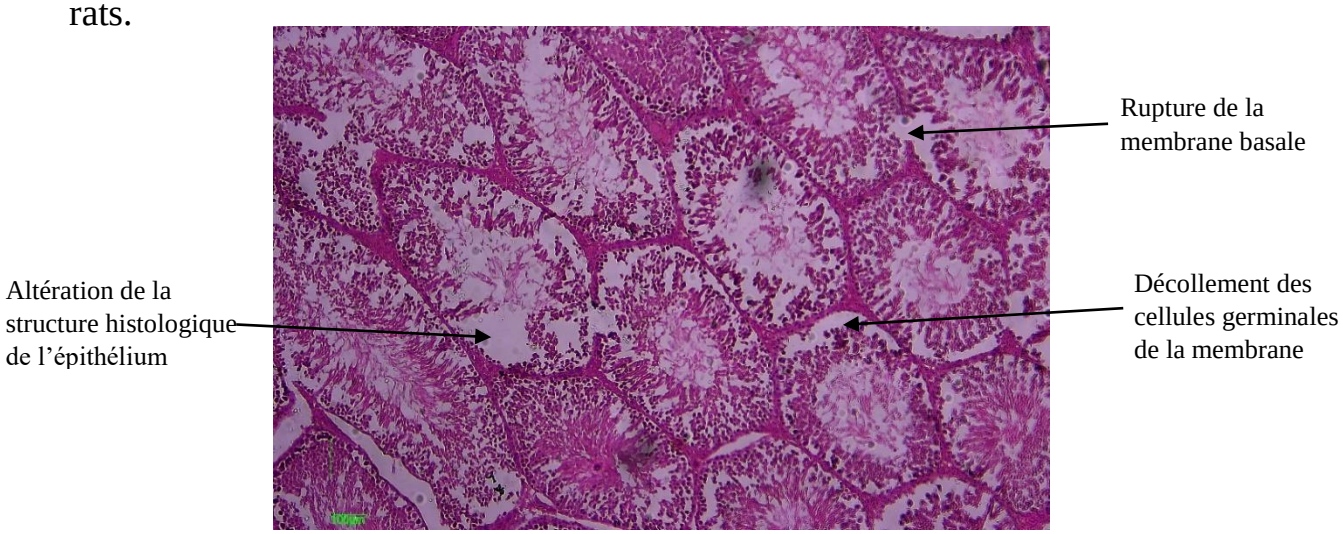


Figure 25 : Coupe histologique du testicule (groupe H_2O_2 ; HE x 100)

Sur cette coupe (x 100), on remarque une altération de la structure histologique de l'épithélium séminifère qui est décollé de la membrane basale avec une rupture par endroit de cette dernière. Notons que ces lésions se répètent sur plusieurs tubes séminifères.

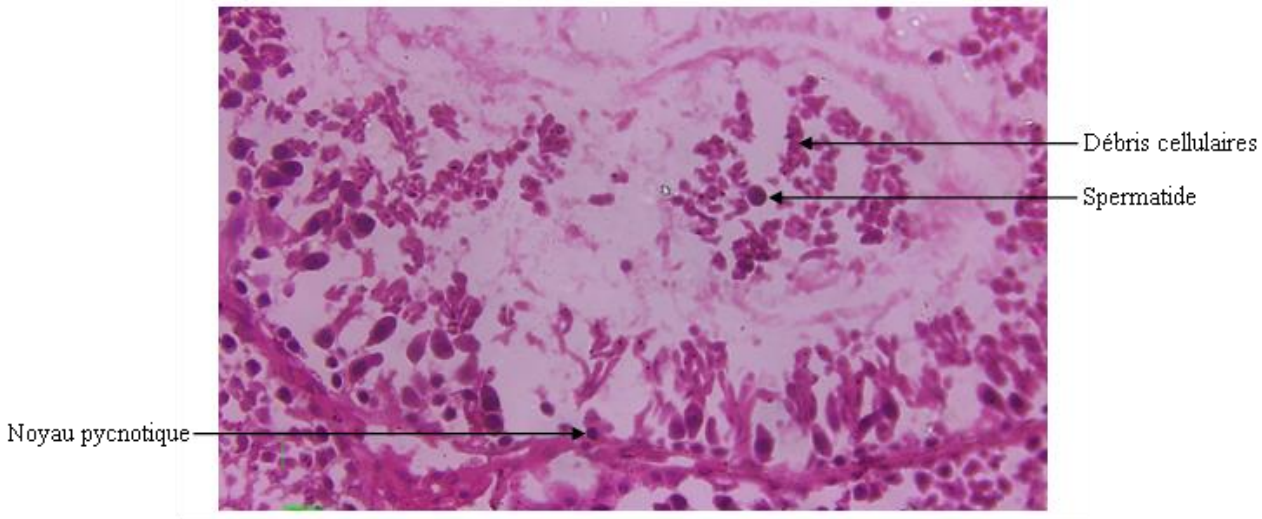


Figure 26 : Coupe histologique du testicule (groupe H_2O_2 ; HE x 400)

Les lésions sus-cités sont plus visibles au grossissement x 400 avec la destruction des cellules germinales dont certaines présentent un noyau pycnotique. On remarque également la présence de spermatides et de débris cellulaires dans la lumière séminifère ainsi qu'une destruction des cellules de Sertoli.

b) Groupe DAMPI 0,5 g

Les figures 27 et 28 montrent les effets de DAMPI sur l'épithélium séminifère.

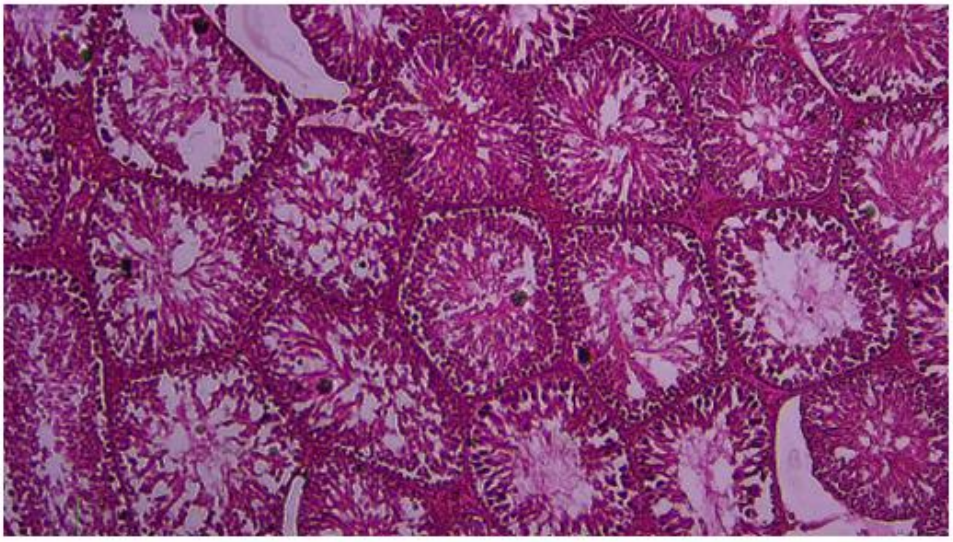


Figure 27 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 0,5 g ; HE x 100)

Sous DAMPI 0,5g (x 100), on constate des tubes séminifères d'aspect presque normal avec une richesse particulière des cellules germinales. L'espace interstitiel a également un aspect presque normal.

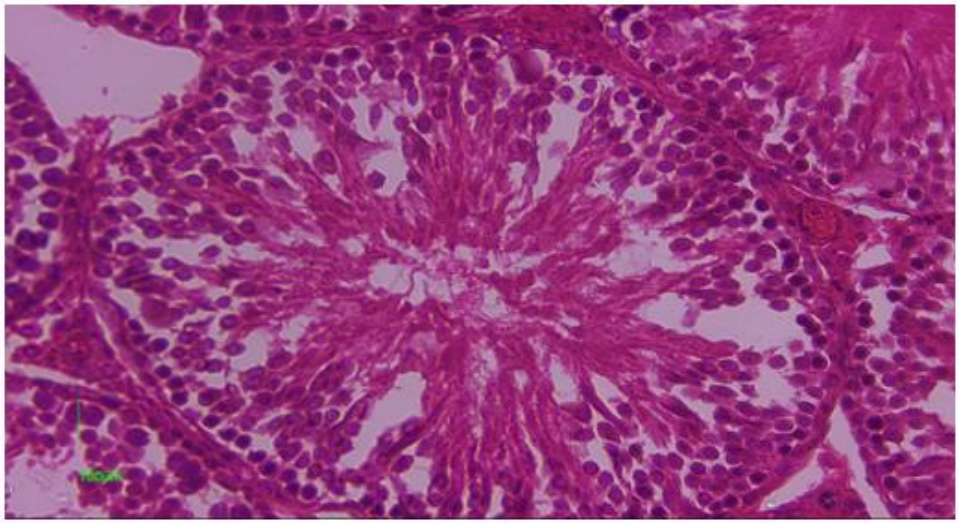


Figure 28 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 0,5 g ; HE x 400)

Sur ces coupes, on observe une amélioration des altérations induites par le H_2O_2. Les tubes séminifères présentent un aspect histologique proche de celui du groupe contrôle.

c) Groupe DAMPI 1 g

Les figures suivantes montrent les effets de DAMPI sur l'épithélium séminifère lorsqu'il est administré à 1g/kg.

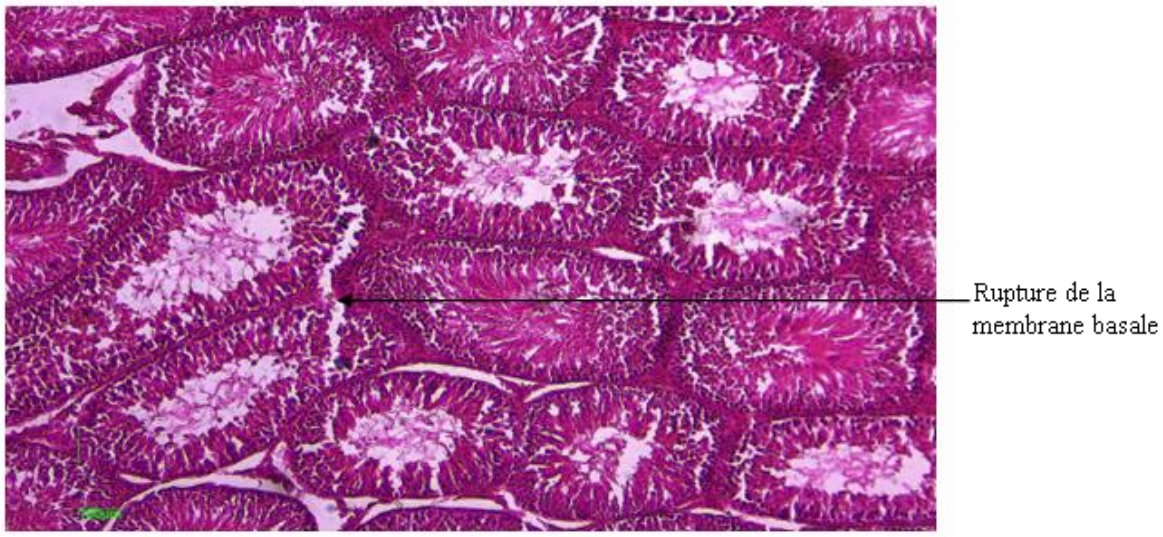


Figure 29 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 1 g ; HE x 100)

Les groupes rats présentent un aspect histologique avec une richesse en cellules germinales. Toutefois, il est noté par endroits une rupture de la lame basale.

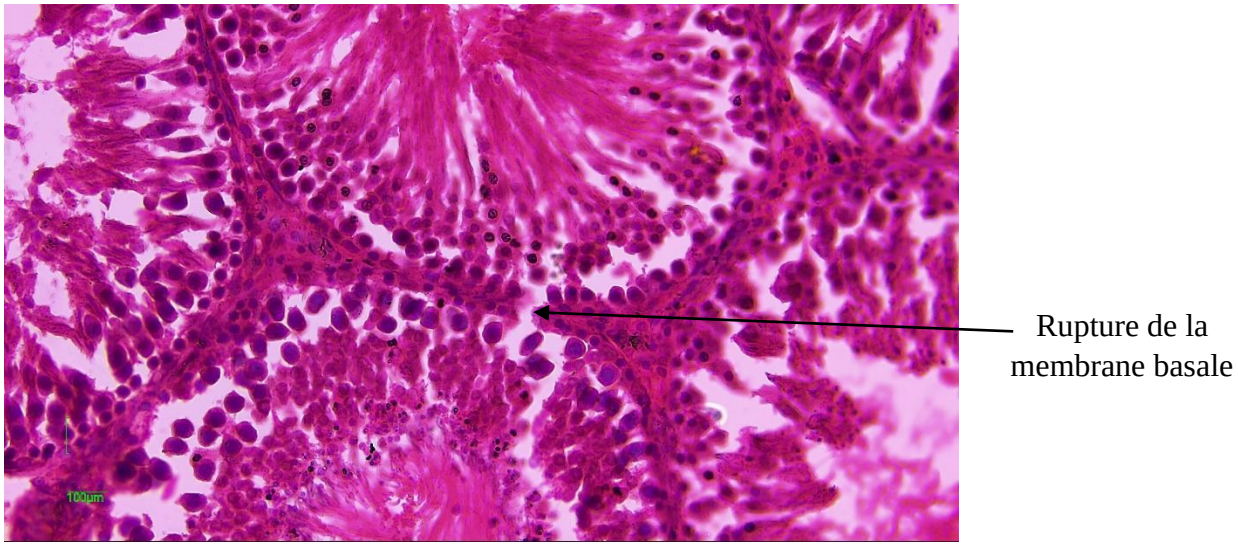


Figure 30 : Coupe histologique du testicule (groupe DAMPI 1 g ; HE x 400)

La rupture de la membrane est mieux visible sur cette figure.

d) Groupe VELITEN

Les figures suivantes montrent les effets du Veliten sur l'épithélium séminifère.

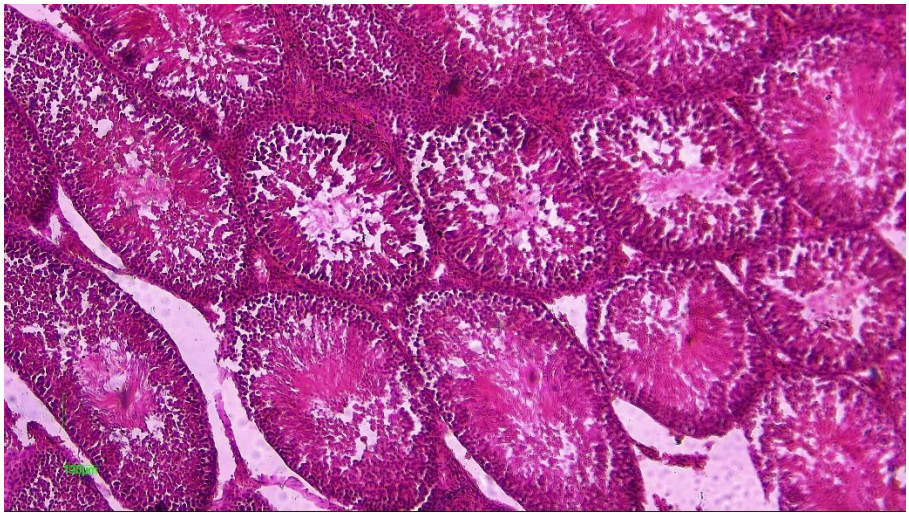


Figure 31 : Coupe histologique du testicule (groupe Veliten ; HE x 100)

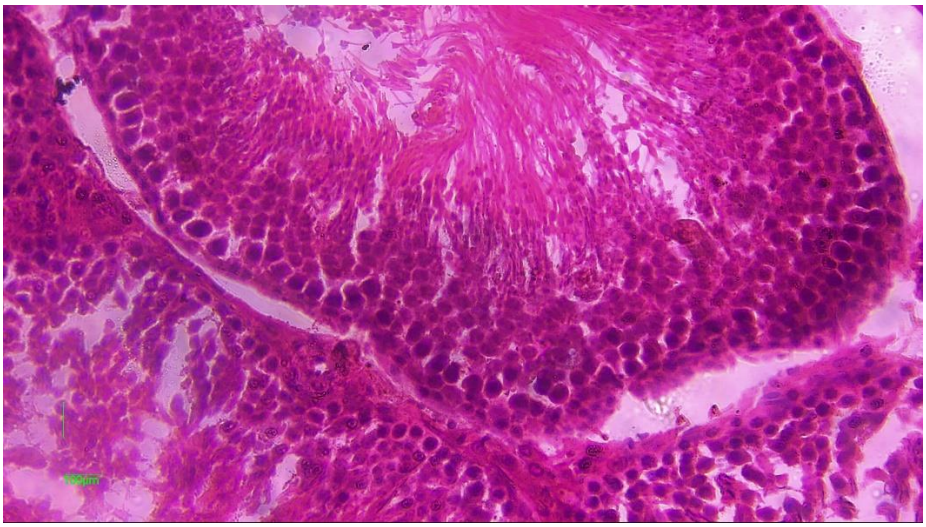


Figure 32 : Coupe histologique du testicule (groupe Veliten ; HE x 400)

Sous Veliten, le parenchyme testiculaire présente une architecture histologique normale avec une richesse en cellules germinales.

3.4.5.2- Histologie des épididymes

a) Groupe contrôle

Les figures 33 et 34 ci-dessous montrent l'aspect histologique de l'épididyme caudal dans le groupe témoin.

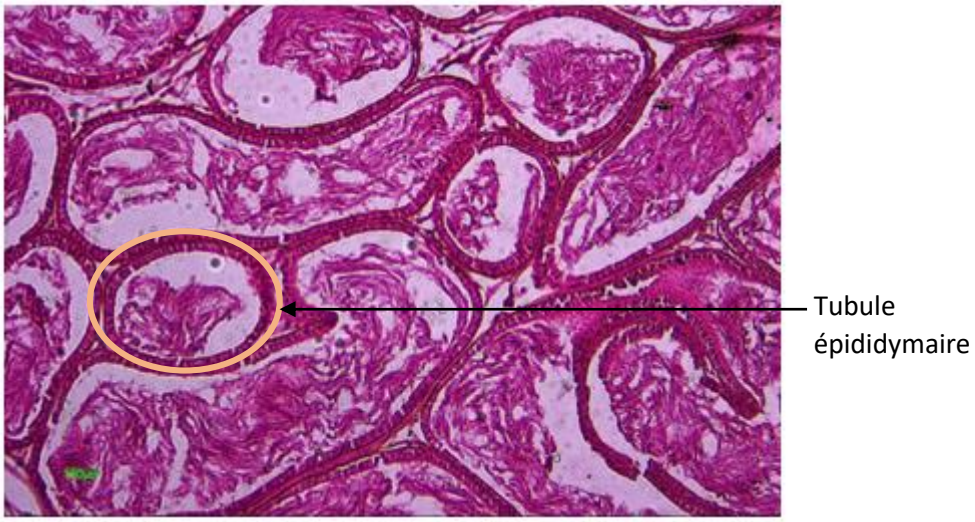


Figure 33 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe témoin, HE x 100)

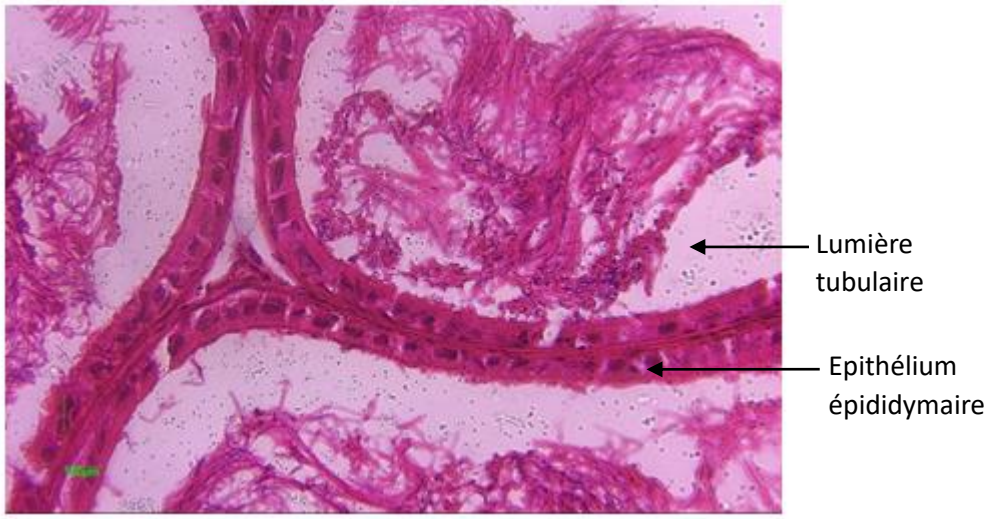


Figure 34 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe témoin, HE x 400)

Ces figures montrent des tubules épididymaires bien délimités avec un épithélium pseudostratifié stéréocilié intègre.

b) Groupe H_2O_2

Les figures 35 et 36 montrent l'aspect microscopique de l'épididyme caudal chez les rats ayant reçu du peroxyde d'hydrogène.

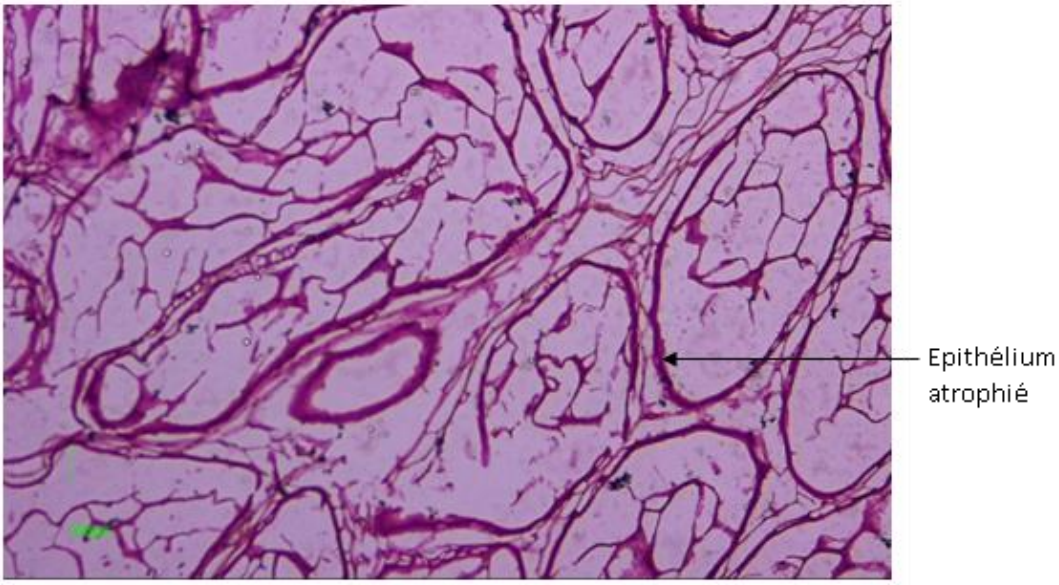


Figure 35 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe H_2O_2, HE x 100)

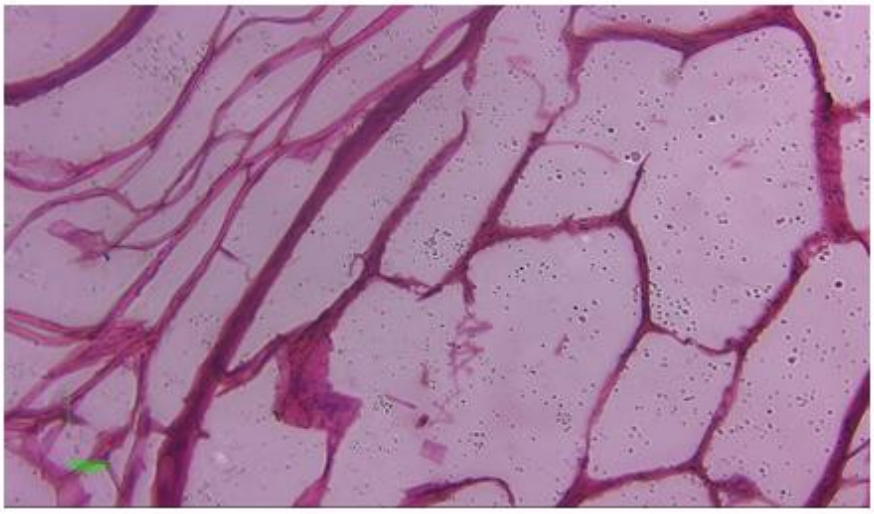


Figure 36 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe H_2O_2, HE x 400)

Sur les figures ci-dessus, on remarque une dilacération du tissu épididymaire avec un épithélium atrophié avec une vacuité des tubules.

c) Groupe DAMPI 0.5 g

Les coupes histologiques de l'épididyme caudal des rats du groupe ayant reçu l'extrait à 0,5 g/kg ont été observées différents grossissements.

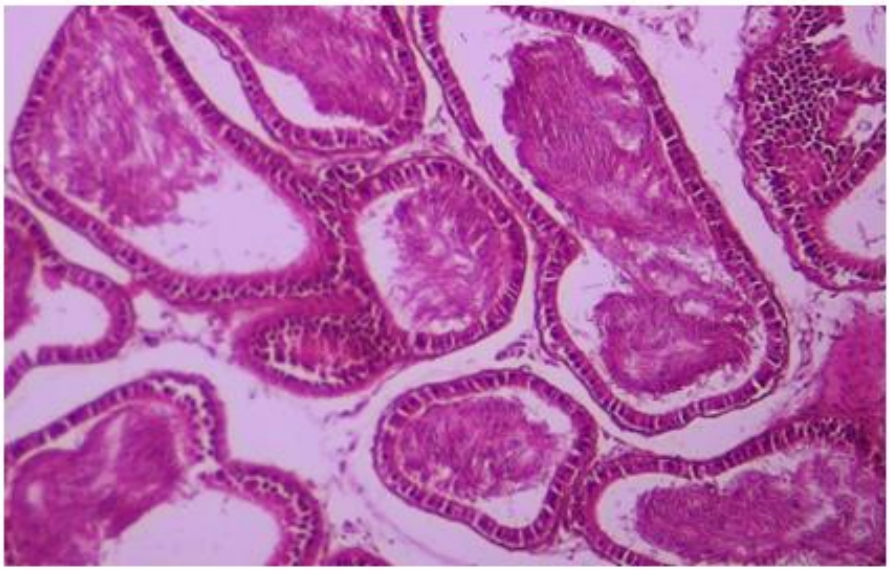


Figure 37 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 0.5 g, HE x 100)

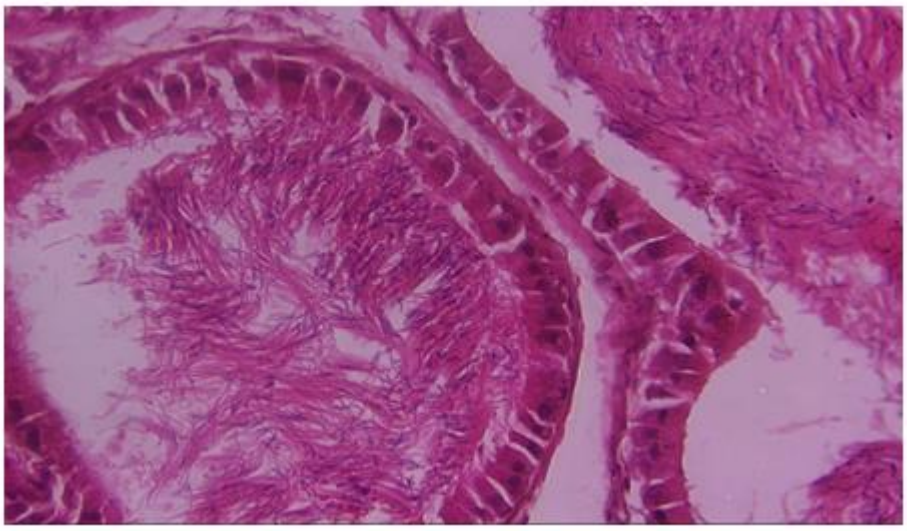


Figure 38 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 0.5 g, HE x 400)

Dans le groupe DAMPI 0,5g, le tissu épididymaire présente un aspect histologique normal similaire au groupe contrôle.

d) Groupe DAMPI 1 g

Sur les figures 39 et 40, on observe l'épididyme caudal des rats du groupe DAMPI 1g en microscopie optique.

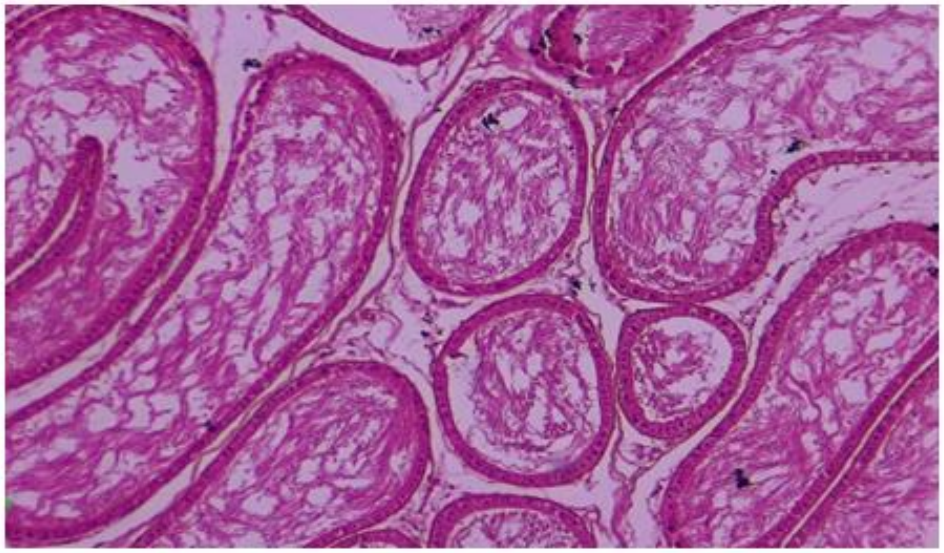


Figure 39 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 1 g, HE x 100)

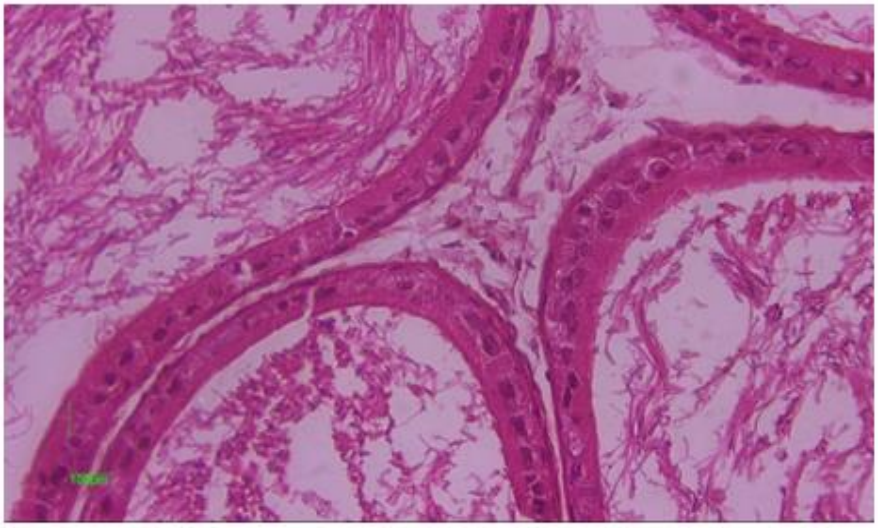


Figure 40 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe DAMPI 1 g, HE x 400)

Sur ces figures, on constate également un aspect histologique normale par rapport au groupe contrôle.

e) Groupe Veliten

Les figures 41 et 42 montrent l'aspect histologique de l'épididyme caudal dans les groupes Veliten.

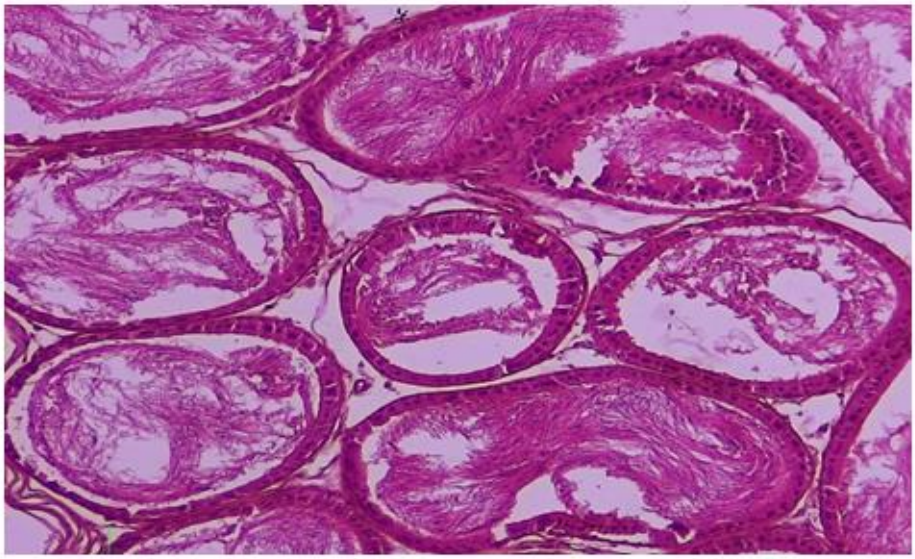


Figure 41 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe Veliten 1 g, HE x 100)

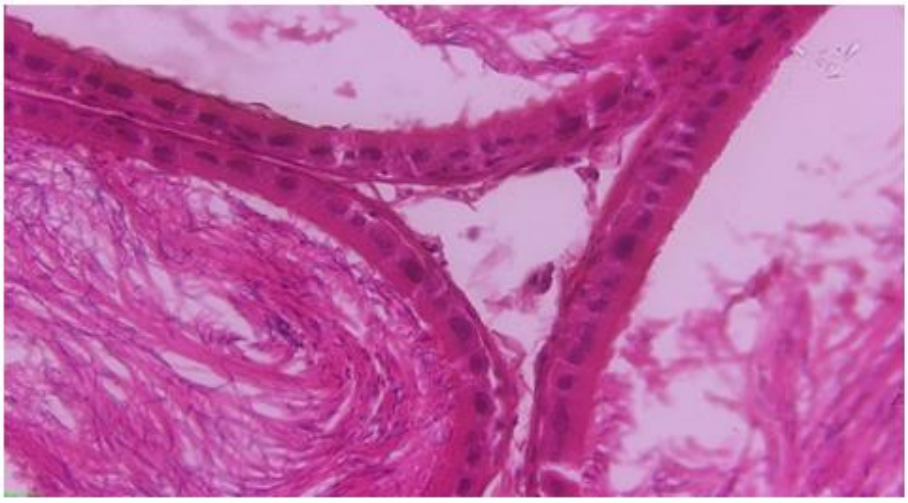


Figure 42 : Coupe histologique de l'épididyme caudal (Groupe Veliten 1 g, HE x 400)

Ces figures montrent également un tissu épididymaire normal.

3.5- Evaluation de la toxicité aigüe de DAMPI

3.5.1- Comportements des animaux

Aucune modification comportementale n'a été observée chez les rats ayant reçu l'extrait à 2000 mg/kg. Il n'y avait également pas de mort d'animal ou d'état moribond.

3.5.2- Consommation alimentaire

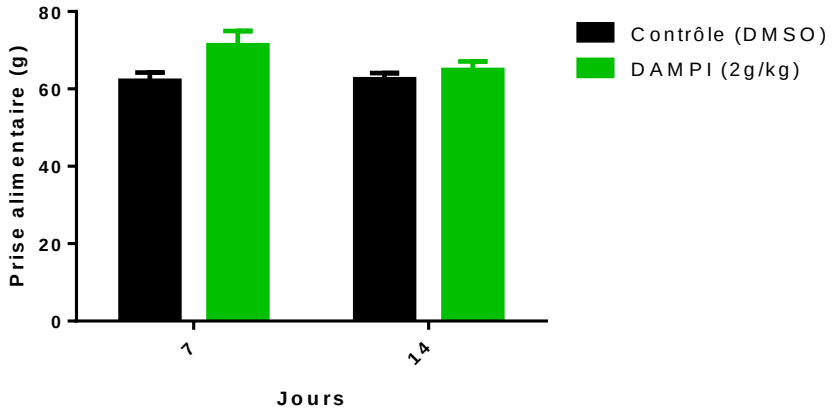


Figure 43 : Consommation alimentaire

Aucune différence significative n'a été observée dans la prise alimentaire entre les deux groupes.

3.5.3- Evaluation pondérale hebdomadaire

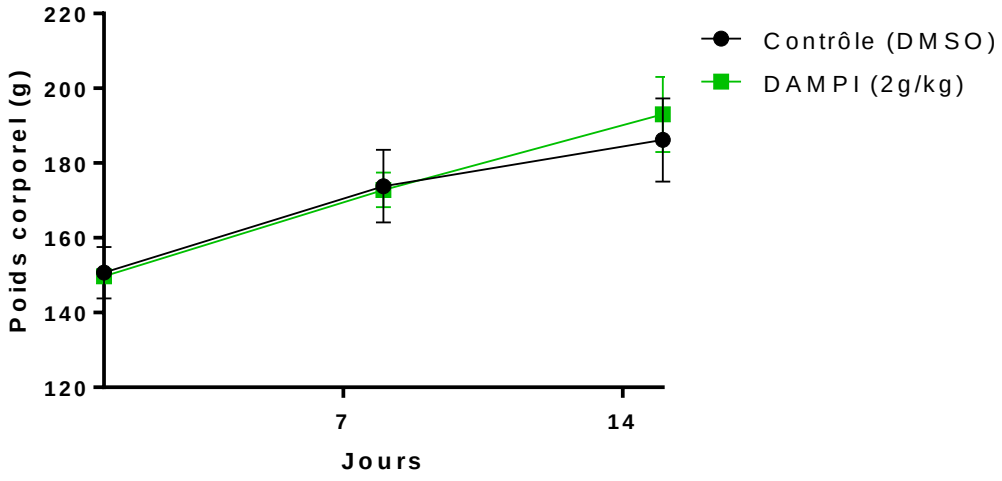


Figure 44 : Poids corporel

Le profil de l'évolution pondéral est similaire entre le groupe traité et le groupe contrôle.

3.5.4- Autopsie

L'aspect macroscopique des organes isolés était similaire entre les deux groupes.

3.5.5- Poids relatif des organes

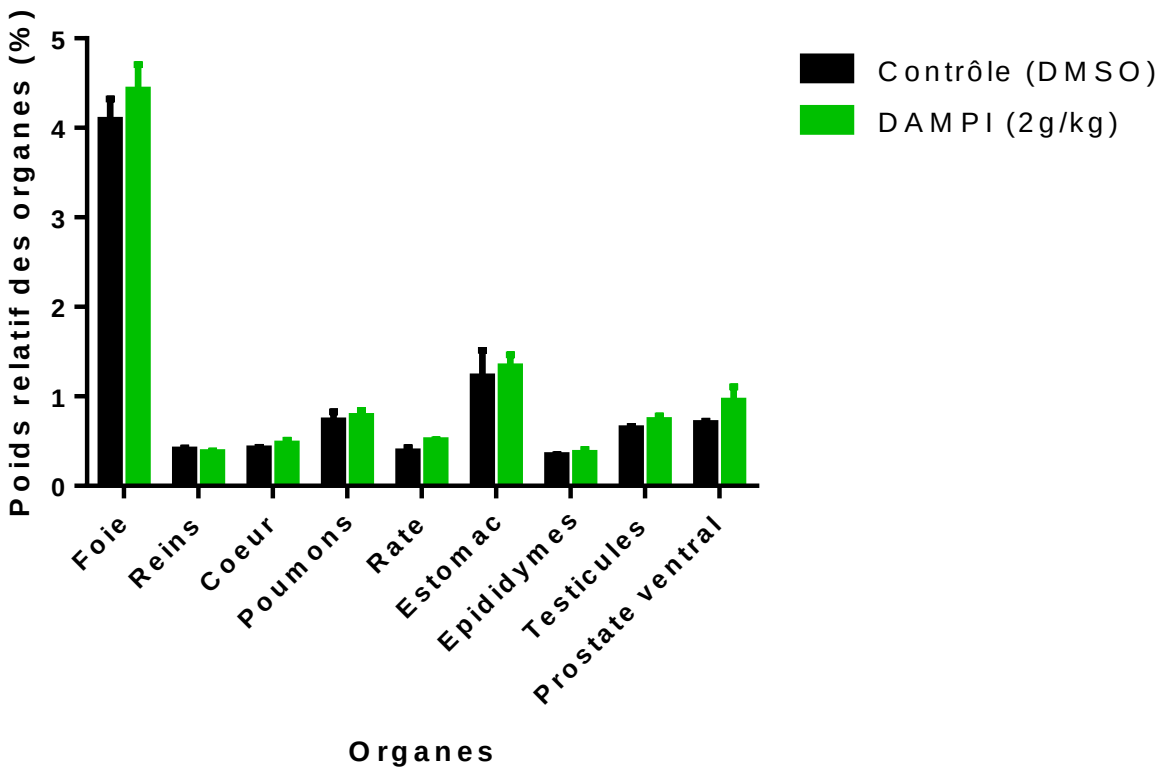


Figure 45 : Poids relatif des organes

La figure ci-dessus montre une similarité du poids relatif des organes dans les deux groupes d'étude.

3.5.6- Etude histologique

f) Aspect histologique du foie

Sur les figures 46 et 47 ci-dessous, on observe respectivement l'aspect histologique du foie dans le groupe témoin et après administration de DAMPI à 2000 mg/kg.

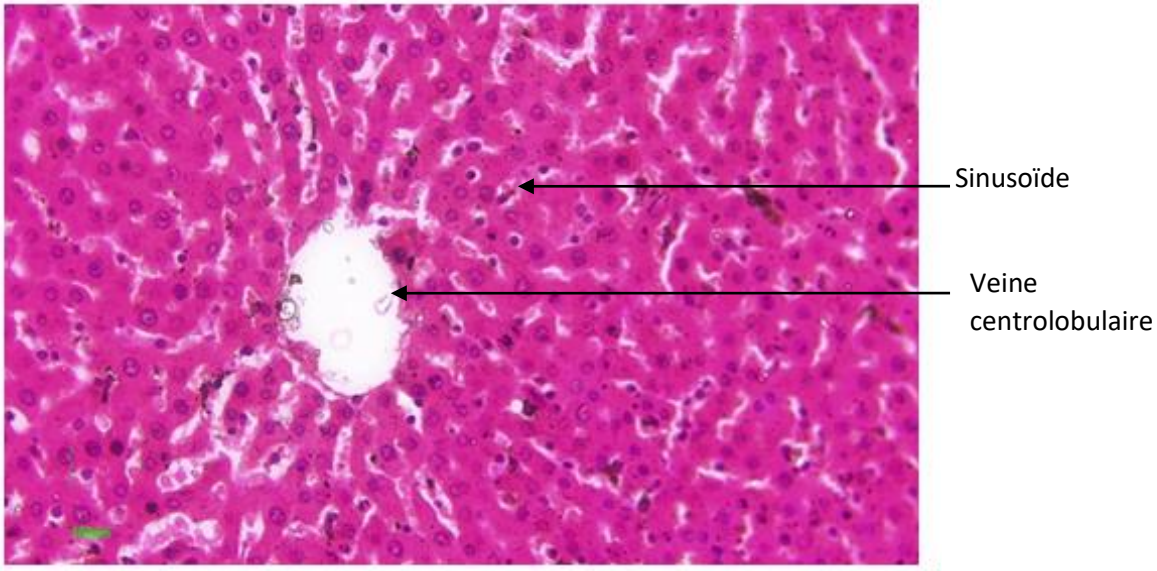


Figure 46 : Coupe histologique du foie (groupe témoin)

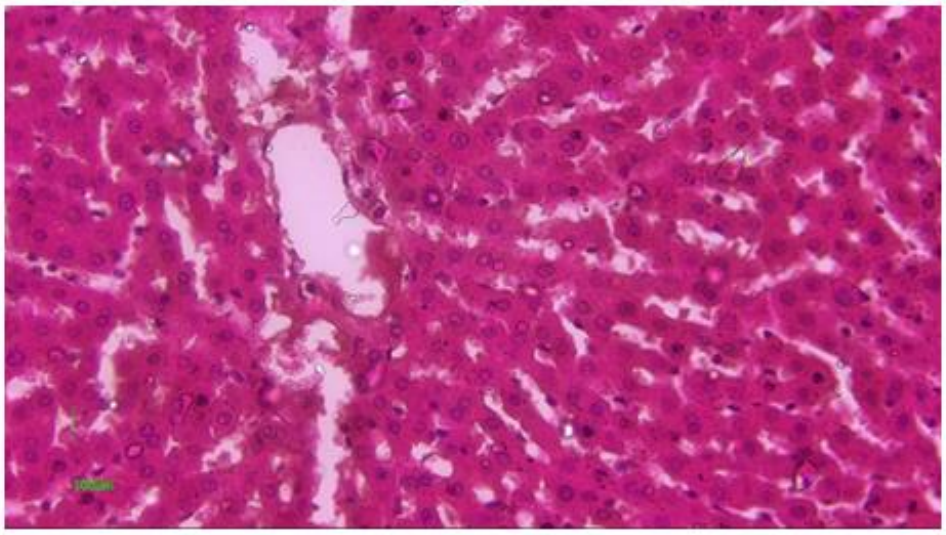


Figure 47 : Coupe histologique du foie (groupe DAMPI 2 g)

L'administration d'une dose unique de 2 g/kg de DAMPI n'a pas modifié l'aspect histologique du parenchyme hépatique des rats par rapport au groupe témoin.

g) Aspect du rein

Les figures 48 et 49 ci-dessous montrent les parenchymes des reins des rats du groupe témoin et ceux exposés au DAMPI à 2 g/kg.

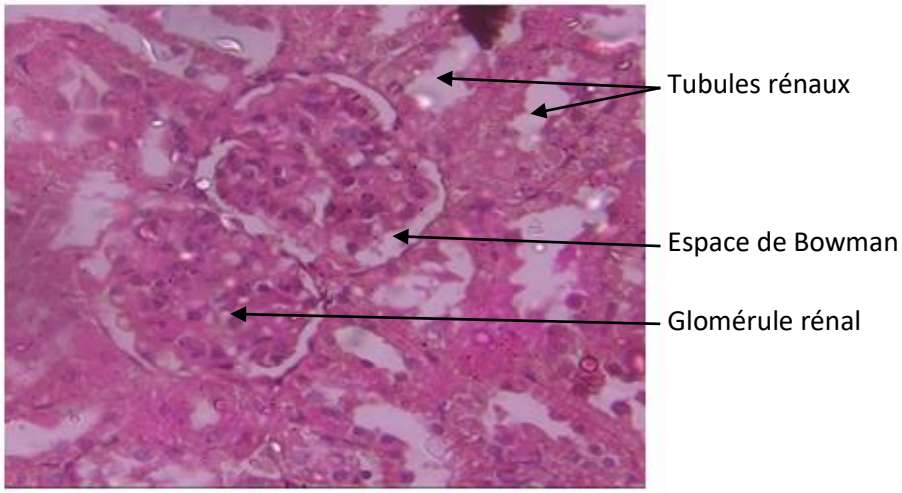


Figure 48 : Coupe histologique du rein (groupe témoin)

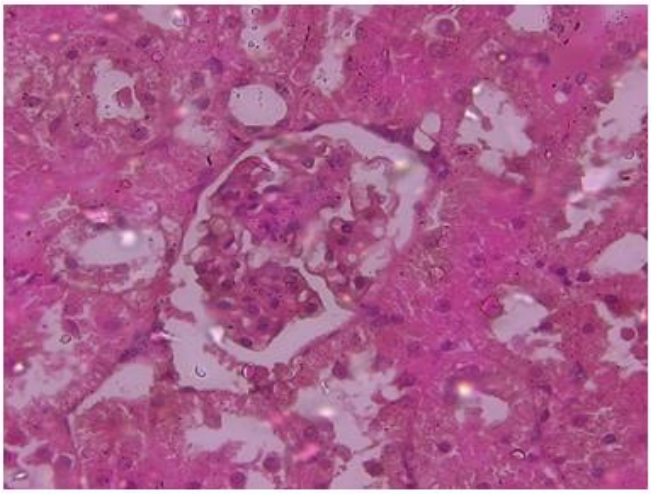


Figure 49 : Coupe histologique du rein (groupe DAMPI 2 g)

Le parenchyme rénal possède une architecture histologique dans les limites de la normale avec un glomérule normal et des tubes rénaux d'aspect normal.

4. DISCUSSION

Nous avons discuté nos résultats suivant le plan ci-après :

- Intérêt de l'étude
- Activité pharmacologique
- Test de toxicité aigue

4.1- Intérêt de l'étude

Dans un monde en perpétuelle évolution où l'espèce humaine est exposée à divers facteurs inducteurs de stress oxydatif, les troubles de la qualité du sperme deviennent de plus en plus croissants dans la population masculine [52]. L'infertilité touche environ 15 % des couples dans le monde avec une étiologie masculine impliquée dans 50 % des cas [3, 5, 6]. Il s'agit d'un véritable problème de santé publique et les plantes médicinales constituent le principal traitement vers lequel se retournent les populations des pays en voie de développement. Des études ethnobotaniques ont identifié plusieurs plantes utilisées traditionnellement pour traiter l'infertilité masculine. Cependant, très peu d'entre elles ont fait l'objet d'une étude scientifique visant à vérifier leur efficacité et leur innocuité. La présente étude est réalisée sur l'extrait hydroéthanolique d'une recette composée de plusieurs plantes en respectant les conditions empiriques d'utilisation de la recette. Le solvant hydroéthanolique permet d'extraire les composés organiques polaires et non organiques polaires. Le modèle expérimental étudié permet d'évaluer les effets protecteurs de la recette contre les troubles de la fertilité masculine provoqués par le peroxyde d'hydrogène. Le choix de cet agent d'induction des troubles de la qualité du sperme repose sur des travaux antérieurs qui ont montré la toxicité testiculaire du peroxyde d'hydrogène. C'est également une ERO capable de traverser les membranes biologiques [14, 132]. Ainsi, ce travail permet de valider scientifiquement l'usage de cette recette dans le traitement de l'infertilité masculine associé à des troubles de la qualité du sperme.

4.2- Etude de l'activité pharmacologique de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme induit par stress oxydatif chez le rat Wistar

Elle a porté sur l'analyse des effets de la recette sur les paramètres suivants chez le rat exposé au peroxyde d'hydrogène : l'évolution du poids corporel, le poids des organes reproducteurs, les paramètres spermatiques, les marqueurs du stress oxydatif et l'histologie des testicules et de l'épididyme.

4.2.1- Effets de DAMPI sur l'évolution pondérale

Le poids corporel est un paramètre important dans les études de reprotoxicité car c'est un indicateur de la santé générale des animaux.

Les administrations répétées du peroxyde d'hydrogène aux animaux n'ont pas affecté l'évolution de leur poids corporel. L'absence d'effets du traitement sur le poids corporel suggère donc que le traitement n'affecte pas la santé générale des animaux. Cette dose de peroxyde d'hydrogène (0,5%) est alors indiquée pour induire une toxicité sur l'appareil reproducteur mâle sans altérer la santé des animaux. De même, la similitude des profils d'évolution pondérale des rats traités au DAMPI et au Veliten souligne l'absence d'effets toxiques systémiques de ces derniers.

Le poids des organes reproducteurs est un indicateur précoce des organes cibles de la toxicité d'un xénobiotique. Dans notre étude, le poids des organes n'a pas montré de différence entre le groupe contrôle et les autres groupes expérimentaux. Ce résultat suggère que le peroxyde d'hydrogène n'a pas induit d'effets toxiques au niveau du système reproducteur des rats. Toutefois, le poids des organes reproducteurs étant un paramètre peu sensible, l'absence de variation significative de ce paramètre n'indique pas systématiquement une absence de toxicité [141].

4.2.2- Effets de DAMPI sur les paramètres spermatiques

Les paramètres spermatiques tels que le nombre, la mobilité, la vitalité et la morphologie sont des marqueurs de la capacité spermatogénique et de la

maturation fonctionnelle des spermatozoïdes de l'individu. L'exposition au peroxyde d'hydrogène a entrainé des baisses du nombre, de la mobilité, de la vitalité des spermatozoïdes et une augmentation des anomalies morphologiques.

- **Mobilité**

La mobilité est un paramètre crucial du profil spermatique car elle permet d'apprécier la capacité du spermatozoïde à atteindre l'oviducte (site de la fécondation). L'intoxication au peroxyde d'hydrogène a induit une chute significative de la mobilité des spermatozoïdes. Cet effet serait associé à l'induction de la peroxydation lipidique membranaire. Ce phénomène altère le fonctionnement de la chaine respiratoire mitochondriale. Il s'en suit donc une diminution de la production d'ATP. Ce dernier intervient dans la mobilité des spermatozoïdes en tant que substrat des bras de dynéine et de l'adényl cyclase (pour produire l'AMPc). De plus, la production excessive d'ERO au cours de la peroxydation lipidique déphosphoryle les protéines de l'axonème [40, 79, 80]. Tous ces évènements concourent à la chute de la mobilité des spermatozoïdes. Les traitements par le DAMPI et le Veliten ont amélioré la mobilité des spermatozoïdes. Ces résultats révèleraient la capacité des substances antioxydantes de ces traitements à inhiber la peroxydation lipidique. Nos résultats sont similaires à ceux de Fatma *et al.* en 2016 qui ont montré que *Thymus algeriensis* a des effets améliorateurs de la mobilité des spermatozoïdes du rat Wistar exposé au H_2O_2 grâce à sa capacité antioxydante [132].

- **Morphologie**

Conjointement à la mobilité, le peroxyde d'hydrogène a induit une hausse des anomalies morphologiques. Cette augmentation indiquerait que l'exposition continue au peroxyde d'hydrogène perturbe la spermiogénèse et/ou la maturation épididymaire. Cette suggestion est consolidée par la présence de régions nécrosées au niveau de l'épithélium germinal des tubules séminifères et l'atrophie de l'épithélium épididymaire, structure indispensable au déroulement normal de

la maturation. La nécrose de l'épithélium germinal témoigne de la toxicité du peroxyde d'hydrogène pour les cellules de Sertoli, véritable chef d'orchestre de la spermiogénèse. Ces résultats sont conformes à ceux de Rahim *et al*. en 2013 [14]. Les traitements n'ont pas eu d'effets positifs sur la morphologie des spermatozoïdes.

- **Numération**

La chute du nombre de spermatozoïdes induite par le peroxyde d'hydrogène serait associée à leur apoptose. En effet, selon Pujianto *et al.* en 2021, des taux élevés de peroxyde d'hydrogène stimulent l'activation des caspases effectrices (caspases 3) et inhibe la phosphorylation de la protéine Akt impliquée dans la survie des spermatozoïdes [142]. Selon Rahim *et al*. en 2013 et Baskaran *et al*. en 2020, une concentration élevée de peroxyde d'hydrogène induirait l'apoptose des cellules germinales [14, 68]. En effet, une forte concentration d'ERO entraine une augmentation de la perméabilité membranaire des mitochondries par induction d'une peroxydation lipidique avec la libération de cytochrome c qui active la cascade des caspases (une famille de protéases) induisant la mort cellulaire[69].

Administré à 500 mg/kg, DAMPI a amélioré la numération des spermatozoïdes. Ceci vient renchérir la suggestion sur les effets inhibiteurs de la peroxydation lipidique de l'extrait. A 1000 mg/kg, le DAMPI a présenté des effets protecteurs moins marqués sur la qualité du sperme. Le profil des effets de DAMPI sur la qualité du sperme rejoint celui d'Alabi *et al.* en 2013 qui ont montré que des doses élevées de *Musa paradisiaca* (1000 mg/kg) détériorent la qualité du sperme. La réduction des effets protecteurs de DAMPI à 1000 mg/kg serait secondaire à la plausible toxicité hépatique et rénale des fortes doses de *Musa paradisiaca* chez le rat selon les travaux de Victor *et al*. en 2023 [107].

4.2.3- Etude histologique

Le profil spermatique de la suspension reflète la qualité de la spermatogénèse et de la maturation épididymaire. L'histologie des testicules et de l'épididyme

consolide les données expérimentales sur le profil spermatique. En effet, l'exposition au peroxyde d'hydrogène a entrainé une désorganisation de l'épithélium germinal accompagné de la présence de spermatides dans la lumière des tubules. Aussi, il a été remarqué la présence de plusieurs tubules vides au niveau de l'épididyme caudal, signe d'une réduction de la réserve de spermatozoïdes. Les dommages de l'épithélium germinal suggèrent que le peroxyde d'hydrogène a réussi à franchir la barrière sang-testicule et à s'accumuler dans les tubules séminifères. L'accumulation du peroxyde d'hydrogène dans les testicules indique l'installation d'un état de déséquilibre de l'homéostasie redox. A 500 mg/kg, le DAMPI a permis de restaurer l'organisation histologique des testicules et des épididymes.

4.2.4- Composition phytochimique de DAMPI

Les effets de DAMPI à 500 mg/kg sur la mobilité et la concentration des spermatozoïdes sont similaires à ceux de *Cymbopogon citratus* chez le rat exposé au peroxyde d'hydrogène. Selon Rahim *et al.* en 2013, les effets bénéfiques de *C. citratus* sur la qualité du sperme seraient associés aux activités antioxydantes de ses composés phénoliques[14]. Le criblage phytochimique de DAMPI a révélé la présence des composés phénoliques en l'occurrence les tannins et les flavonoïdes. Ce profil phytochimique est similaire à ceux de *Desmodium velutinum* selon Nwochoka *et al*. 2022, de *Musa paradisiaca* selon Ajijolakewu *et al*. 2021 et *Vitellaria paradoxa* selon Megnanou *et al*. 2021 [143–145]. Cette recette a également des capacités antiradicalaires *in vitro* contre la DPPH, ce qui corrobore son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique par transfert d'un électron ou d'un atome d'hydrogène.

4.2.5- Effets de DAMPI sur les paramètres du stress oxydatif

Les paramètres du stress oxydatif permettent d'apprécier l'équilibre de la balance rédox au niveau de l'organe. Dans cette étude, nous avons montré que l'exposition au peroxyde d'hydrogène induit l'augmentation de la MDA et une baisse

d'activité de la catalase dans les testicules. Ces données suggèrent que le peroxyde d'hydrogène induit ses effets toxiques sur les testicules via le stress oxydatif.

Les effets de DAMPI contre le stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène découleraient non seulement de ses capacités antioxydantes d'inhibition radicalaire mais aussi et surtout de chélation des métaux de transition (Fe, Cu) et d'activation des systèmes des enzymes antioxydantes tels que la SOD et la catalase. DAMPI contient des tanins catéchiques et selon Soldado *et al.* en 2021 les tanins catéchiques, en dehors de leur activité antiradicalaire directe, exercent également leur activité antioxydante en augmentant la transcription du facteur Nrf2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2) impliqué dans l'expression des protéines du système antioxydant [146]. Selon Bawono *et al*. en 2023, le Nrf2 augmenterait l'activité de la catalase, la SOD et la glutathion peroxydase [147]. Par ailleurs, selon Yousefian *et al.* en 2018, les composés phénoliques inhiberaient la production d'anion superoxyde par la NADPH oxydase [148].

Le stress oxydatif est souvent accompagné d'une inflammation et de l'apoptose [149]. Les effets bénéfiques du DAMPI à 500 mg/ kg par rapport au Veliten seraient associés aux effets synergiques de groupes phytochimiques à activités antiinflammatoire et antioxydante [96, 150]. De plus, la présence de sels minéraux cofacteurs des enzymes antioxydantes tels que le zinc, le fer et le magnésium optimiserait les capacités antioxydantes *in vivo* de la recette. *Musa paradisiaca,* constituant majeur de notre recette contient les composés ci-après : sodium, potassium, calcium, magnésium, fer, zinc, phosphore, vitamines A, B1, B2, C, protéines, lipides, hydrates de carbone [144, 150, 151]. Cet apport en vitamines et minéraux vient renforcer l'effet de DAMPI sur la qualité du sperme.

Selon Asghar *et al*. en 2019 et Taniya *et al.* en 2022, le calcium intracellulaire interviendrait dans le passage de la phase de prolifération de la spermatogenèse à la phase de maturation et serait essentiel à la stimulation de la stéroïdogenèse par les cellules de Leydig. La mobilité est également associé à une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium [152, 153]. La Vitamine A (rétinol) est un acteur important dans l'initiation de la spermatogenèse et la différentiation des

spermatogonies [33]. La vitamine C quant à elle est connue pour son activité antioxydante. C'est une vitamine hydrosoluble qui agit comme un agent réducteur et chélateur des radicaux libres [6].

Ainsi, la synergie d'action entre ces différents constituants de DAMPI (groupes phytochimiques, vitamines et minéraux) concourt à l'amélioration de la qualité du sperme. L'efficacité de l'extrait étant prouvée, il est indispensable de s'assurer de son innocuité.

4.3- Test de toxicité

L'essai limite réalisé à 2000 mg/kg de DAMPI en administration orale unique n'a pas affecté la consommation alimentaire des rats ni leur évolution pondérale. Il n'y avait pas de mort d'animaux ni d'état moribond. L'autopsie réalisée a montré que les organes internes (foie, reins, cœur, poumons, estomac, vésicules séminales et prostate ventrale) ne présentaient pas d'anomalies macroscopiques. L'examen microscopique de l'histologie du foie et des reins n'a pas révélé d'anomalies particulières par rapport au lot contrôle. La recette peut être considérée comme non toxique pour un usage aigu. Elle appartient à la catégorie 5 du système global harmonisé (SGH) de l'OCDE [128].

Plusieurs travaux antérieurs réalisés sur les plantes composant la recette pris isolément corroborent les résultats. D'une part, le fruit de *Musa paradisiaca* qui est la drogue végétale la plus représentée (77%) dans cette recette, n'aurait pas d'effets toxiques en administration orale aigüe à 5000 mg/kg selon Ugbogu *et al.* en 2018. Selon les mêmes auteurs, le test de toxicité subaiguë réalisé avec l'extrait aqueux de *M. paradisiaca* n'aurait pas révélé d'évènement indésirable [108]. Par contre, Victor *et al.* en 2023, auraient remarqué une toxicité rénale et hépatique suite à une administration de fortes doses de l'extrait éthanolique de *M. paradisiaca* à des rats Wistar pendant 14 jours (test de toxicité subaiguë) [107]. Cette discordance pourrait s'expliquer par la différence des solvants utilisés pour l'extraction. D'autre part, il existe peu de données sur la toxicité orale aigue de *Vitellaria paradoxa* (qui est présent à 14% dans la recette). Il s'est plutôt avéré

être hépatoprotecteur et néphroprotecteur selon les travaux de Oyibo *et al.* en 2021 [119]. De plus, selon une étude réalisée par Isah *et al.* en 2014, la DL_{50} de *Desmodium velutinum* était de 3807 mg/kg. Par ailleurs, *Piper guineense* n'a pas montré d'effet toxique en administration orale aigue à 8000 mg/kg selon Abere *et al.* en 2020 [114]. Enfin, selon une étude réalisée par Nebojsa *et al* en 2008, l'administration de 1500 mg/kg de l'extrait éthanolique des graines de *Aframomum melegueta* à des rats Wistar pendant 28 jours entraine une toxicité hépatique [98]. L'absence de toxicité hépatique dans notre étude s'explique par la faible teneur en *Aframomum melegueta* de notre extrait (1 %) et la durée d'exposition. Ces différents résultats montrent que les plantes utilisées dans notre recette ont un bon profil d'innocuité en administration orale aigüe. Cependant, l'innocuité de la recette doit être étudiée sur une période plus longue en raison de son usage au long cours.

En résumé, DAMPI n'est pas toxique en administration orale aigue à 2000 mg/kg. Il est donc classé dans la catégorie 5 des substances toxiques selon le Système Global Harmonisé.

CONCLUSION

Notre étude a porté sur le potentiel pharmacologique d'une recette traditionnelle (à base de *Desmodium velutinum*, *Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca*, *Vitellaria paradoxa*, *Piper guineense*) à améliorer les troubles de la qualité du sperme liés au stress oxydatif chez le rat Wistar. L'analyse phytochimique de la recette a montré la présence de métabolites secondaires dont les propriétés antioxydantes pourraient expliquer l'efficacité de la recette.

L'administration de l'extrait hydro-éthanolique de la recette (DAMPI) pendant 60 jours à des rats exposés au peroxyde d'hydrogène a entraîné une augmentation de la numération, de la vitalité et de la mobilité des spermatozoides et à corriger les altérations induites par le peroxyde d'hydrogène au niveau des testicules et des épididymes.

De l'étude de toxicité effectuée, il ressort que DAMPI n'est pas toxique en administration orale aigüe à 2000 mg/kg de poids corporel.

Ces données valident toutes nos hypothèses et justifient l'utilisation traditionnelle de cette recette dans le traitement de l'infertilité masculine. Cependant, des études ultérieures sont nécessaires pour déterminer le mécanisme d'action moléculaire et le profil toxicologique à dose répétée de la recette.

PERSPECTIVES

Les résultats de notre étude et ceux de travaux antérieurs montrent l'importance des plantes médicinales dans la prise en charge de l'infertilité masculine. L'activité pharmacologique de l'extrait justifie l'utilisation de la recette ayant fait objet de notre étude dans le traitement de l'infertilité masculine associée aux troubles de la qualité du sperme. Cependant, l'insuffisance en matériel animal et la non disponibilité de certains réactifs ne nous ont pas permis de suivre la cinétique des paramètres spermatiques, d'évaluer la toxicité de l'extrait à long terme et de faire le test de décondensation de la chromatine spermatique. Ainsi, afin d'aboutir à un médicament traditionnel amélioré à base de notre recette pour le traitement de l'infertilité chez l'homme, nous envisageons d'articuler les études futures sur :

- L'identification du/des principes actifs de la recette
- La recherche des mécanismes d'action élucidant l'effet de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme liés au stress oxydatif
- L'étude de l'effet de l'extrait sur l'expression du Nrf2
- La réalisation de la FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et du test de chélation du Fer
- Le suivi de la cinétique des paramètres spermatiques après administration de l'extrait en faisant une étude de l'activité pharmacologique à J30, J60 et J90
- Le test de décondensation de la chromatine spermatique
- La réalisation des tests de toxicité à doses répétées afin de s'assurer de l'innocuité de DAMPI à long terme
- La mise en place d'un médicament thérapeutique amélioré à partir de la recette.

REFERENCES

REFERENCES

1. Haidara A. *Etude des causes génétiques de l'infertilité masculine chez les hommes azoospermes et oligo- astheno tératozoospermes sévères dans le service de cytogénétique et de biologie de la reproduction de l'INRSP de Bamako-coura [Thèse Médecine]*.Bamako, Mali :Université de Bamako, 2012,1-96.
2. Rebiha B, Silva M, Lynda A. *Exploration biologique de l'infertilité masculine [Thèse Pharmacie]*.Alger, Algérie:Uniiversité de Maameri Tizi-ouzou, 2021,1-174.
3. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Renee M. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*.2015;13:1–9.
4. Moufida L. *Evaluation des effets de l'extrait aqueux des épinards sur la fertilité masculine après intoxication par l'éthanol [Mémoire Master]*. Alger, Algérie : Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.2020;1-101.
5. Agarwal A, Parekh N, Kumar M, Selvam P, Henkel R, Shah R et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed terminology and clinical practice guidelines for management of idiopathic male infertility.*World J Mens Health*.2019;37:296–312.
6. Methorst C, Huyghe E. Stress oxydant et infertilité masculine : physiopathologie et intérêt thérapeutique des antioxydants.*Progrès en Urol*.2014;24:4–10.
7. Agarwal A. Role of oxidative stress in male infertility and antioxidant supplementation. 2005;122–5 et 999–1002.
8. Akim A, William D, Emmanuel B, et al. Enquête ethnobotanique sur la prise en charge traditionnelle de l'infertilité féminine dans La région sanitaire des savanes au Togo.*Eur Sci J*.2018;14:357–383.
9. Adjatin A, Assogba F, Gbenou J, Akpovi A. Etude phytochimique et de cytotoxicité de quelques plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine au sud-Bénin.*Eur Sci J*.2018;6:157–71.

10. Houmènou V, Adjatin A, Assogba F, Yedomonhan H, Dansi A, Gbenou J, et al. Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine dans les départements de l'Ouémé et du plateau au Sud Bénin. *Int J Biol Chem Sci* 2017;11:1851–1871.
11. Anitchehou R. *Etude ethnopharmacologique et ethnobotanique des plantes entrant dans le traitement de l'infertilité du couple dans la commune d'Abomey Calavi au Bénin en 2022 [Thèse Médecine]*. Cotonou, Bénin : Université d'Abomey Calavi.2022;1-206.
12. Azonbakin S, Dangbemey P, Osseni R, Yode S, Kora F, Adovoekpe D, et al. Enquête ethnobotanique sur les plantes utilisées dans le traitement de l'infertilité masculine au Benin. *Int J Biol Chemiical Sci*.2021;15:1667–1677.
13. Alabi A, Omotoso G, Enaibe B, Akinola O, Tagoe C. Beneficial effects of low dose *Musa paradisiaca* on the semen quality of male Wistar rats. *Niger Med J*.2013;54:92–5.
14. Rahim S, Taha E, Mubark Z, Salam A, Simon K, Mazlan A. Protective effect of Cymbopogon citratus on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in the reproductive system of male rats. Systems Biology in Reproductive Medecine 2013;1–8.
15. KAMINA P. *Petit bassin et périnée tome 1*.Maloine. Paris,1995.
16. Houssein ME. *Infertilité masculine : Profl épidémiologique et clinique [Thèse Médecine]*. Rabat, Maroc : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.2017;1-205.
17. Faouziath K. *Analyse floristique et ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de l'infertilité masculine au Bénin [Thèse Médecine]*. Cotonou, Bénin : Université d'Abomey Calavi;2018,1-196.
18. Elfgen V, Mietens A, Mewe M, Hau T, Middendorff R. Contractility of the epididymal duct: function, regulation and potential drug effects. *Soc Reprod Fertil*.2018;125–141.
19. Sullivan R, Légaré C, Lamontagne-Proulx J, Breton S, Soulet D. Revisiting

structure / functions of the human epididymis. *Am Soc Androl Eur Acad Androl*.2019;7:748–757.

20. Young J. Infertilité masculine : mécanismes, causes et exploration. *Mced*.2016;80:29–36.
21. Nouaman K. *Les infections spermatiques: Aspects cliniques et bactériologiques [Thèse Médecine]*. Bamako, Mali : Université de Bamako.2006;1-131.
22. Marieb. *Anatomie et Physiologie*. Renouveau.1998,1-1204.
23. Lennox A, Bauck L. Basic Anatomy, Physiology, Husbandry, and Clinical Techniques.Paris.2012;338–9.
24. Greene E. *Anatomy of the Rat*. Hafner Pub. New York: American Philosophical Society;1955,1-376.
25. Knoblaugh S, True L. *Male reproductive system : Comparative Anatomy and Histology*. New York:Elsevier Inc.285–308.
26. Boron W, Boulpaep E. *Medical Physiology*. 1st ed. Paris: Elsevier.2012,1-3487.
27. Holstein A, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol*.2003;1:1–16.
28. Su L, Mruk D, Cheng Y. Drug transporters, the blood-testis barrier, and spermatogenesis. *J Endocrinol* 2011;208:207–23.
29. Mruk D, Cheng Y. Sertoli-sertoli and sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev*.2004;25:747–806.
30. Creasy D, Chapin R. *Male reproductive system : Handbook of Toxicologic Pathology*. Elsevier.2013;2493–2598.
31. Ying S. Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev* 1988;9:267–293.
32. Imbeaud S, Carré-Eusèbe D, Rey R, Belville C, Josso N, Picard J. Molecular genetics of the persistent müllerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum Mol Genet*.1994;3:125–131.

33. Hogarth C, Griswold M. The key role of vitamin A in spermatogenesis. *J Clin Investig* 2010;120:956–62.
34. Kierszenbaum A. *Histologie et biologie cellulaire*. 1ère. Paris: Mobsy.2002,1-118.
35. Akmal M, Aulanni'am A, Widodo A, Sumitro B, Basuki B, Widodo. The important role of protamine in spermatogenesis and quality of sperm : A mini revew. *Asian Pacific J Reprod* 2016,5:357–60.
36. Sharma R. *Physiology of Male gametogenesis*.2007,73–84.
37. Bergmann M. Physiology of Spermatogenesis. In: *Unterstanding anatomy and function*.2006,272–281.
38. Muciaccia B, Boitani C, Berloco B, Francesco N, Gustavo S, Mario S, et al. Novel stage classification of human spermatogenesis based on acrosome. *Biol Reprod*.2013;89:1–10.
39. Vijayaraghavan S, Jo M, Fardilha M. Signaling mechanisms in mammalian sperm motility. *Biol Reprod*.2017;96:2–12.
40. Jouannet P, Serres C. Mouvement normal et pathologique du spermatozoïde humain. *Médecine/Sciences*.1995;11:555–62.
41. Ishikawa T. Axoneme structure from motile cilia. *Cold Spring Harb Perspect Biol*.2016;1–17.
42. Sullivan R, Mieusset R. The human epididymis : its function in sperm maturation. *Hum Reprod Update*.2016;22:574–587.
43. Robert S. Levels of P34H , a sperm protein of epididymal origin , as a predictor of conventional in vitro fertilization. *Am Soc Reprod Med*.2006;85:1557–9.
44. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Eur Soc Hum Reprod Embryol*.2014;20:485–500.
45. Matsuda F, Ohkura S, Magata F, Munetomo A, Jing C, Marimo S, et al. Role of kisspeptin neurons as a GnRH surge generator : Comparative aspects in rodents and non-rodent mammals. *J Obstet Gyneacology*

Res.2019;1–12.

46. Setchell B. Blood-Testis Barrier, junctional and transport proteins and spermatogenesis. In: Cheng CY (ed) *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*.2008;212–3.
47. Comhaire F, Mahmoud A. Approche , basée sur le consensus , du diagnostic et de la prise en charge standardisés de l'homme infécond. In: *Facteurs masculins des troubles de la fécondité*.2004;29–84.
48. OMS. Selon l'OMS, dans le monde, une personne sur six est touchée par l'infertilité. *Organisation Mondiale de la Santé* 2023;1(consulté le 15/11/2023).
49. Njagi P, Groot W, Arsenijevic J, Silke D, Gitau M, James K. Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low- and middle-income countries: a systematic review. *Hum Reprod Open*.2023;1–16.
50. Kikpade J. *Etude de l'impact du poids corporel sur la fertilite masculine a l'ex -hopital d'instruction des armees centre hospitalier universitaire de cotonou [Thèse Médecine]*.UAC.2023;1-120.
51. Nykolaichuk RP, Fedoruk O, Vizniuk V. Impact of environmental factors on male reproductive health. *Aluna Publ*.2020;1011–15.
52. Kumar N, Singh A. Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility : a narrative review. *Environ Sci Eur*.2022;34:1–13.
53. Mwembo N, Muenze P, Kalenga K. Exposition de l'homme aux éléments traces métalliques et altérations du sperme : étude menée dans les zones minières du Haut-katanga en République Démocratique du Congo. *PanAfrican Med J*.2018;8688:1–12.
54. Emojevwe V, Nwangwa E, Naiho A, Oyovwi O, Ben-Azu B. Toxicological outcome of phthalate exposure on male fertility : Ameliorative impacts of the co- administration of N-acetylcysteine and zinc sulfate in rats. *Middle East Fertil Soc J*.2022;27:2022.
55. Paul C, Murray AA, Spears N, Philippa T. A single, mild, transient scrotal

heat stress causes DNA damage, subfertility and impairs formation of blastocysts in mice. *Reprod Res*.2007;136:73–84.

56. Wang C, Mcdonald V. Effect of increased scrotal temperature on sperm production in normal men. *Fertil Steril*.1997;68:334–9.
57. Wu W, Zhang J, Zhang J, Rong F, Mu L. Environmental Environmental Factors Factors and and Male Male Infertility.2018;159–171.
58. Committee of the ASRM P. Smoking and infertility : a committee opinion. *Elservier*.2018;110:611–618.
59. Sansone A, Dato C, Angelis C, Manefra D, Pozza C, Pivonello R, et al. Smoke , alcohol and drug addiction and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol*.2018;16:1–11.
60. Collège Français des U. Conduite de la première consultation. Paris, 2014,1–9.
61. Huyghe E, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Pierre F, William A, et al. Recommandations de l'AFU et de la SALF concernant l ' évaluation de l ' homme infertile. *Elsevier*.2020;31:131–144.
62. Tavousi SA, Behjati M. Psychological assessment in infertility : A systematic review and meta-analysis. *Front Psychol*.2022;13:1–13.
63. Organization WH. *Examination and processing of human semen*. 6th ed. 2010;1-286.
64. Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, et al. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis : A Critical Review and SWOT Analysis. *Life*.2021;11:1–13.
65. Saïdi R, Rives N, Gruel E, Mazurier S, Simeon N, Macé B, et al. High magnification spermatozoa morphology evaluation. *Med Ther Med la Reprod Gynecol Endocrinol*.2008;10:315–324.
66. Edmund Y, Edmund S, Agarwal A. Male infertility testing : reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril*.2014;102:1518–27.
67. Koppers A, De Iuliis N, Finnie M, Eileen A, Aitken J, et al. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress

in spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab*.2008;93:3199–3207.

68. Baskaran S, Finelli R, Agarwal A. Reactive oxygen species in male reproduction : A boon or a bane ? *Fisrt Int J Androl*.2020;1–12.
69. Asadi A, Ghahremani R, Abdolmaleki A. Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility : A narrative review. *Interhational J Reprod Biomed*.2021;19:493–504.
70. Bibov M, Kuzmin A, Alexandrova A, Vladimir A, Natalia M, Oxana L, et al. Role of the reactive oxygen species induced DNA damage in human spermatozoa dysfunction. *AME Med J*.2018;3:1–12.
71. Ayala A, Munoz M, Argüelles S. Lipid Peroxidation : Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Publ Corp*.2014;2014:1–32.
72. Szalay K, Silberman J, Larson A, Goldstein E, Corbet S. Lipid Peroxidation. *Lead poisoning;*2023;1-3.
73. Cillard P, Cillard J. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL*.2006;3:24–9.
74. Nimrat C, Walker G. Mecanisme of DNA damage. *Physiol Behav*.2017;176:139–48.
75. Assidi M. Infertility in Men: Advances towards a Comprehensive and Integrative Strategy for Precision Theranostics. *Cells*.2022;11:1–29.
76. Gunes S, Al-sadaan M, Agarwal A. Spermatogenesis , DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. *Reprod Biomed Online* 2015;31:309–319.
77. Lacolley, P, Babuty, D, Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G, Pinet, F, Samuel J. Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. *Ed John Libbbey Eurotext*.2007;2493-2598.
78. Pasquier C. Stress oxydatif et inflammation. *Rev française des Lab*.1995;276:87–92.
79. Alomar, M ; Zarkawi, M. and Alzoabi M. Effects of hydrogen peroxide and oxidase substrates on ram sperm motility. *Arch Zootec*.2018;67:13–20.

80. Cocuzza M, Sikka S, Athayde K, Agarwal A. Clinical Relevance of Oxidative Stress and Sperm Chromatin Damage in Male Infertility : An Evidence Based Analysis. *Int Braz J Urol*.2007;33:603–21.
81. Mannucci A, Argento F, Fini E, Coccia M, Taddei N, Beccati M. The Impact of Oxidative Stress in Male Infertility.2022;8:1–9.
82. Wagner H, Cheng J, Edmund Y. Role of reactive oxygen species in male infertility : An updated review of literature role of reactive oxygen species in male infertility : An updated review of literature. *Arab J Urol*.2019;16: 35–43.
83. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases : Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*.2018;217:1915–28.
84. Kowalczyk A. The Role of the natural antioxidant mechanism in sperm cells. *Reprod Sci*.2022;29:1387–94.
85. Rubio-riquelme N, Huerta-retamal N. Catalase as a molecular target for male infertility diagnosis and monitoring : An Overview. *MDPI*.2020;9:1–18.
86. Chabory E. *Caractérisation fonctionnelle de la glutathione peroxydase 5 murine [PhD Physiologie]*. Clemont-Fernand, France : Université Blaise Pascal.2012;1-379.
87. Ayoub Bensakhria. Toxicologie générale - Le stress oxydatif. *Liverpool John Moores Univ*.2018;70–86.
88. Eskenazi B, Kidd A, Mark R, Sloter E, Block A. Antoxidant intake is associated with semen quality in healthy man. *Hum Reprod*.2005;20: 1006–12.
89. Greco E, Iacobelli M, Rienzi L, et al. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *J Androl*.2005;26:349–53.
90. Haleng J, Pincemail J, Defraigne J, Charlier C, Chapelle J. Le stress oxydant. *Rev Med Liege*.2007;62:628–38.

91. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarassamy A, et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online*.2010;20:711–723.
92. Cheah Y, Yang W. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Adv Biosci Biotechnol* 2011; 2: 182–97.
93. NutraGreen. *Aframomum melegueta*. *NutraGreen Biotechnology*.2023;1(consulté le 28/09/2023).
94. Alike S. *Aframomum melegueta* (Fruitiers du Cameroun). *PlantUse*.2016;1(consulté le 27/09/2023).
95. Kembelo K. *Quelques plantes médicinales du Bas-Congo et leurs usages*.1-198.
96. Vercauteren J. *Cours de pharmacognosie*. 2019th ed. Montpellier.2019;1-325.
97. Onoja S, Omeh Y, Ezeja M, Chukwu M. Evaluation of the *in vitro* and *in vivo* antioxidant potentials of *Aframomum melegueta* methanolic seed extract. *J Trop Med*.2014;2014:1–7.
98. Schum K, Ilic N, Schmidt M, Poulev A, Raskin I. Toxicological evaluation of grains of paradise. *J Ethnopharmacol*.2010;127:352–6.
99. Wold flora onine. *Desmodium velutinum* (Willd.). *WFO*.2022;1(consulté le 27/09/2023).
100. Mojisola A. *Desmodium velutinum*, une autre espèce bienfaisante du genre Desmodium sp. *La Nouv Trib*.
101. Nkwocha C, Ogugofor M, Chukwuma I. Identification and Characterization of phytochemicals and constituents in *Desmodium Velutinum* stem using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *SSRN Electron J*.Epub ahead of print.2022;3:1-6.
102. Mafo AR, Otaru OW, Ajuma SF, Momoh T, Idakwoji P. Evaluation of the Fertility activity of aqueous leaf extract of *Desmodium velutinum* in Male Wistar Rats. *Int J Adv Res Biol Sci* 2020; 7: 1–8.
103. Isah O, Agunu A, Danmalam U. Evaluation of analgesic property of

Desmodoum velutinum. *Eur J Bot Plant Sci Phytol*.2016;3:10–4.

104. IStock. Banane plantain. *iStockphoto*.2023;1(consulté le 27/09/2023).
105. Monde J du. *Musa paradisiaca*. *Jardin du monde*.2016;1.
106. Alike S. *Musa paradisiaca*. *PlantUse*.2022;1(consulté le 27/09/2023).
107. Victor P, Ordu S, Ajie C, Okpara E, Ogari T, Reuben E, et al. The effect of ethanolic extract of premature *Musa Paradisiaca* (plantain) pulp on the histology of the liver and kidneys of female Wistar rats. *Int J Res Med Sci*.2023;11:808–812.
108. Ugbogu A, Ude C, Elekwa I, Uche O, Chikesie U, Chinedu N. Toxicological profile of the aqueous-fermented extract of *Musa paradisiaca* in rats. *Avicenna J phytomedicine*.2018;8:478–87.
109. Fern K. *Piper guineense* - Useful Tropical Plants. *Useful Tropical Plants*.2022;1(consulté le 27/09/2023).
110. Alike S. *Piper guineense*. *PlantUse*.2016;1(consulté le 27/09/2023).
111. Tecchno-Science. Piper (genre). *Tecchno-Science.net*.2022;1(consulté le 27/09/2023).
112. Gnagbo A, Kouadio K, Djaha K, Gone Bi Z. Valeurs d'usage et importance socio-économique de *Piper guineense* chez les populations riveraines du Parc national d'Azagny (Côte d'Ivoire). *ResearchGate*.2018;2:31-41.
113. Mbongue, Kamtchouing, Essame. Effect of the aqueous extract of dry fruits of *Piper guineense* on the reproductive function of adult male rats. *Indian J Pharmacol*.2005;37:30–32.
114. Abere T, Sumaila M, Stephanie O. Pharmacognostic and toxicological evaluation of the leaves of *Piper guineense* Schum and Thonn (Piperaceae). *African J Pharm Pharmacol*.2020;14:229–39.
115. Alike S. *Vitellaria paradoxa* - PlantUse. *PlantUse*.2022;1(consulté le 27/09/2023).
116. Alike S. *Vitellaria paradoxa*. *PlantUse*.2015;1(consulté le 27/09/2023).
117. Gning N, Sarr O, Akpo E. Richesse de la pharmacopée malinké : rôle médicinal de l'arbre à Khossanto : (Kédougou , Sénégal

oriental).2014;6043–6058.

118. Falana B, Bankole M, Ojo A, Omemu A. Comparative Phytochemical Investigation of the Various Parts of *Vitellaria Paradoxa*. *J Nat Sci Res*.2016;6:74–80.
119. Oyibo A, Gbadegesin M, Odunola A. Ethanol extract of *Vitellaria paradoxa* (Gaertn , F) leaves protects against sodium arsenite - induced toxicity in male wistar rats. *Toxicol Reports*.2021;8:774–784.
120. Cholarajan A, Cholarajan A, Thirumurugan D. An introductory chapter : secondary metabolites. In: *Secondary metabolites : sources and applications*.2018;3–22.
121. Dhaniaputri R, Suwono H, Amin M, Betty L. Introduction to plant metabolism , secondary metabolites biosynthetic pathway , and In-Silico molecular docking for determination of plant medicinal compounds : An Overview. *Atl Press Int*.2022;22:373–382.
122. Osagie-eweka S, Orhue N, Ekhaguosa D. Comparative phytochemical analyses and in-vitro antioxidant activity of aqueous and ethanol extracts of *Simarouba glauca*. *European J Med Plants*.2016;13:1–11.
123. Hussein R, El-Anssary A. The secondary metabolites : the key drivers of the pharmacological action of medicinal plants. In: *Herbal medicine*.2018,11–30.
124. Vacheron S. La phyto-aromathérapie à l'officine.
125. Clément R. Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1re partie). *Springer*.2005;4:171–175.
126. Centre antipoison du Maroc. *Le centre antipoison et de pharmacovigilance du maroc face a la pandemie du covid-19*. Rabat.2020;1-16.
127. OCDE. Environment directorate joint meeting of the chemicals committee and the working party on chemicals, pesticides and biotechnology. *ENV/JM/MONO*.2001;4:1–24.
128. OCDE. *Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*.2001;9:1-14.

129. OCDE. Lignes directrices de l'ocde pour les essais de produits chimiques : toxicité orale sub-chronique.2008;11:1-14.
130. OCDE. Etude de toxicité orale à dose répétée sur les rongeurs.2018;1–16.
131. Bonnard, Falcy, Jargot. Peroxyde d'hydrogène et solutions aqueuses. *Institution National de Recherche et de Sécurité*, 2022,1–10.
132. Mouhoub R Ben, Bellamine H, Landoulsi A. Rat Testis by Thymus algeriensis. *Biomed Environ Sci*.2016;29:275–85.
133. Edoun F, Tchuente B, Dibacto R, Mouafo H, Tchuenchieu A, Ndzana A, et al. Phytochemical screening and antioxidant potential of aqueous extracts of *Millettia laurenti* , *Lophira alata* and *Milicia excelsa* , commonly used in the Cameroonian Pharmacopoeia. *European J Med Plants*.2020;31:11–23.
134. Zemmouri H, Ammar S, Boumendjel A. Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis*. *Arab J Chem*.2019;12:1954–1963.
135. Tailor C, Goyal A. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides*. *ResearchGate*.2014;244–9.
136. Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa*. *JMES*.2015;6:1111–7.
137. Sahreen S, Khan M, Khan R, Shah A. Effect of *Carissa opaca* leaves extract on lipid peroxidation , antioxidant activity and reproductive hormones in male rats. *Bio Med Cent*.2013;12:1–10.
138. Properties K. Catalase in vitro. *Acad Press*.1984;105:121–126.
139. Li X. Improved Pyrogallol Autoxidation Method: A Reliable and Cheap Superoxide-Scavenging Assay Suitable for All Antioxidants. *J Agric Food Chem*.2012;60:6418–6424.
140. Julien. *Les techniques de MO et de ME*. Valence.1-7.
141. Environmental Protection Agency. *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment*. 1st ed. Washington: Federal Register.1996;61:1-143.
142. Pujianto D, Oktarina M, Sharaswati A, Yulhasri. Hydrogen peroxide has

adverse effects on human sperm quality parameters, induces apoptosis, and reduces survival. *J Hum Reprod Sci*.2021;14:121–128.

143. Nkwocha C, Ogugofor M, Chukwuma F, Njoku O. Identification and characterization of phytochemicals and constituents in *Desmodium velutinum* stem using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Pharmacol Res - Mod Chinese Med*.2022;3:1–6.
144. Ajijolakewu A, Ayoola S, Agbabiaka O, Rahmat Z, Ahmed N, Oyedele J, et al. A review of the ethnomedicinal , antimicrobial , and phytochemical properties of *Musa paradisiaca* (plantain). *Bull Natl Res Cent*.2021;45:86:1-17.
145. Megnanou R, Kouakou A, Élisée A. Antioxidant efficacy of *Vitellaria paradoxa* nuts derivative products. *Int J Pharm Res 2021*.2021;6:16–18.
146. Soldado D, Bessa B. Condensed tannins as antioxidants in ruminants-effectiveness and action mechanisms to improve animal antioxidant status and oxidative stability of products. *MDPI*.2021;11:1–25.
147. Bawono L, Khairinisa A, Jiranusornkul S, Jutti L. The role of catechins of Camellia sinensis leaves in modulating antioxidant enzymes : A review and case study. *Jounal Appl Pharm Sci*.2023;0:1–14.
148. Yousefian M, Shakour N, Hosseinzadeh H, Hayes A, Farzin H, Karimi G. The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. *Phytomedicine*.2018;1–39.
149. Mayola E. *Etudes des mécanismes de mort cellulaire et résistance des cellules cancéreuses pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques : modèle du mélanome [Thèse Médecine]*.Paris,France : Université de Paris.2011;1-202.
150. Adeolu T, Enesi D. Assessment of proximate , mineral , vitamin and phytochemical compositions of plantain (*Musa paradisiaca*) bract – an agricultural waste. *Int Res J Plant Sci*.2013;4:192–197.
151. Bernardin L, Enoch A. *Notes, Documents et trvaux réalisés sur les Bananiers et plantains au Bénin : Besoins de recherches et options pour un*

développement de la production Bananière. Cotonou.2000;1-23.

152. Harchegani A, Mahdiyeh M, Irandoost A, Rahmani H, Eisa H, Alireza S. Possible mechanisms for the effects of calcium deficiency on male infertility. *Intternational J Fertil Steril*.2019;12:267–272.
153. Naz T, Chakraborty S, Saha S. Reproductive and role of fatty acids and calcium in male reproduction. *Reprod develpmental Med*.2022;6:57–64.
154. Rana A, Goel A, Yadav S, Praveen S, Kumar T. A review on pharmacological activities of banana (*Musa Paradisiaca*). *Int J Pharm Res Appl*.2023;8:2901–2910.

ANNEXES

Annexe 1 : Protocole de recherche des groupes phytochimiques

Ce protocole de criblage chimique des plantes médicinales est basé sur les réactions de colorations et de précipitations différentielles d'Houghton et Raman. Il a été modifié en vue de l'adapter à l'analyse des médicaments traditionnels commercialisés sous forme d'extraits fluides. Il présente une phase pré-analytique et la phase analytique consistant à la recherche des groupes chimiques proprement dits.

I- Phase préanalytique

L'extrait fluide est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et sécher à siccité à l'étuve (40°C). Peser 2 g d'extrait sec dans un erlenmeyer et solubiliser avec 50 mL d'un mélange éthanol/eau (60 :40). Placer sous agitation l'erlenmeyer sous agitation durant 08 heures.

II- Criblage phytochimique

Les groupes chimiques recherchés sont les suivants : les tannins, les tannins catéchiques, les tannins galliques, les anthocyanes, les leucoanthocyanes, les flavonoïdes, les coumarines, les saponosides, les triterpénoïdes/stéroïdes, les cardénolides, les dérivés cyanogéniques, les mucilages, les dérivés anthracéniques

1- Les tannins

Dans un tube à essai, on introduit 1 mL d'extrait et on ajoute 3 à 4 gouttes de solution de chlorure ferrique à 1 %. La formation d'une teinte bleu-foncée, verte ou noire indique la présence de tannins

2- Les tannins saponifiables et condensés

On ajoute dans un tube à essai 0,75 ml d'extrait et 1,875 ml de réactif de Stiasny. Le tube est placé au bain-marie à 90 °C pendant 15 minutes. L'apparition d'un précipité témoigne de la présence de tannins condensés (catéchiques).

Les tannins saponifiables ou galliques sont recherchés en filtrant le mélange précédent sur du coton. Le filtrat est introduit dans un tube à essai. Il est ensuite neutralisé par l'acétate sodique. On ajoute 3 à 4 gouttes de solution de chlorure ferrique à 1 %. L'absence de précipité ou de coloration indique que l'extrait contient uniquement des tannins condensés. L'apparition d'une coloration ou d'un précipité noir signifie que la plante contient des tannins condensés et des tannins saponifiables.

3- Anthocyanes

On mélange dans un tube 0,5 ml d'extrait, 3 gouttes de HCl (5%) et 3 gouttes d'ammoniac diluée au ½. L'apparition d'une coloration rouge, bleu-violacé ou verdâtre.

4- Leucoanthocyanes

Dans un tube à essai, on introduit 0,5 ml d'extrait et 0,5 ml du réactif de Shinoda. Le mélange est porté à chaud dans un bain-marie (90 °C) durant 15 minutes. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée témoigne de la présence de leucoanthocyanes

5- Flavonoïdes

On ajoute dans un tube à essai, 1 ml d'extrait + 0, 25 ml de HCl concentré + quelques rognures de magnésium. Une coloration rouge cerise indique la présence de flavonols, orange, celle des flavones tandis qu'une couleur rouge violacée montre la présence de flavanones.

6- Coumarines

On introduit dans une ampoule à décanter 5 ml d'extrait fluide auquel on ajoute 10 ml d'éther éthylique. Le mélange est agité et laissé en décantation. La phase éthérée est recueillie sur du sulfate sodique anhydre dans un bécher. Cette phase est ensuite séchée à siccité à l'aide d'un sèche-cheveux. On additionne dans les tubes 2 mL d'eau chaude. On répartit des volumes égaux du mélange du bécher

dans deux tubes à essai. Au tube test, on ajoute de l'ammoniaque dilué au ¼. Les tubes sont ensuite observés avec la lampe UV. La présence d'une fluorescence dans le tube test indique la présence de coumarines.

7- Saponosides

2 ml d'extrait sont introduits dans un tube à essai avec 2 ml d'eau distillée. Le mélange est agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse qui persiste pendant au moins 15 minutes indique la présence de saponosides.

8- Triterpénoïdes/stéroïdes

On extrait dans une ampoule à décanter 8 ml d'extrait avec 20 ml de chloroforme ou de dichlorométhane. L'extrait chloroformique est séché sur du sulfate sodique anhydre. A 1 mL d'extrait chloroformique introduit dans un tube à essai, on ajoute 1 ml d'anhydride acétique. Le mélange est ensuite porté à ébullition puis refroidi. On ajoute ensuite 1 ml d'acide sulfurique concentré contre la paroi du tube. L'apparition d'une coloration verte indique la présence de stéroïdes tandis qu'une coloration violette montre la présence de triterpénoïdes.

9- Les cardénolides

On introduit dans un erlenmeyer 5 ml d'extrait auquel on ajoute 10 ml d'éthanol (70°). Après 10 minutes d'agitation, on ajoute au mélange, la moitié du volume en eau. Le mélange est porté à ébullition au bain-marie pendant 10 minutes. Après refroidissement, le mélange résultant est introduit dans une ampoule à décanter et extrait à deux reprises avec 10 ml de chloroforme. On dépose sur deux verres de montre, 5 ml d'extrait qu'on laisse sécher à l'air ambiant. Sur les bords opposés des parois du premier verre de montre, on ajoute 0,5 ml d'une solution de Kedde et 0,5 ml de NaoH (10 %). L'apparition d'une coloration rouge ou violet au centre du verre de montre indique la présence de cardénolides. On recommence l'opération précédente en ajoutant 0,5 ml de solution de Baljet et 0,5 ml de NaOH

(10 %). L'apparition d'une coloration jaune orangé ou orange au centre du verre témoigne de la présence de cardénolides

10- Dérivés cyanogéniques

On introduit dans un erlenmeyer (Pyrex) à essai 5 ml d'extrait auquel on ajoute 2,5 ml d'eau distillée. Le col de l'erlenmeyer est recouvert de papier parafilm ou de papier aluminium. Le mélange est incubé et agité à faible vitesse (90 tours/minutes) pendant 1 heure. Après incubation, le col est recouvert par un papier imbibé d'une solution aqueuse d'acide picrique à 10 %. L'erlenmeyer est chauffé avec précaution. L'apparition de tâche marron sur le papier imbibé d'acide picrique indique la présence de dérivés cyanogéniques.

11- Mucilages

Dans un tube à essai, on mélange 1 ml d'extrait liquide + 5 ml d'éthanol (96 °C). La formation après 20 minutes d'un précipité floconneux montre la présence de mucilages.

12- Dérivés anthracéniques

a- Dérivés anthracéniques libres

On introduit dans un tube à essai 2 ml d'extrait et 5 ml de chloroforme qu'on incube à 50 °C pendant 3 minutes. Le mélange est renversé dans une ampoule à décanter. L'extrait chloroformique est recueilli dans un tube à essai. On ajoute dans le tube 1 ml d'une solution d'ammoniaque dilué au ½. La phase aqueuse (en haut) prend une teinte rose ou rouge indiquant la présence de dérivés anthracéniques libres dans l'extrait.

b- Dérivés anthracéniques combinés (O-H)

On ajoute successivement dans erlenmeyer 4 ml d'extrait fluide, 5 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange est placé dans un bain marie à chaud (90°C) pendant 15 minutes. L'hydrolysat est extrait dans une ampoule à décanter avec 5 ml de chloroforme (**Veillez conserver la phase**

aqueuse). On recueille dans 2 ml de l'extrait chloroformique dans un tube à essai. On ajoute dans le tube 1 ml d'ammoniaque dilué au ½. L'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence d'O hétérosides anthracéniques.

c- O-hétérosides à génine réduite

On additionne l'hydrolysat 3 à 4 gouttes d'une solution aqueuse de chlorure ferrique à 10 %. Le mélange est chauffé durant 5 minutes au bain-marie à 90 °C. L'hydrolysat obtenu est extrait dans une ampoule à décanter avec 5 ml de chloroforme. On recueille dans un tube à essai 2 ml d'extrait chloroformique auquel on ajoute 1 ml d'ammoniaque dilué au ½. L'obtention d'une coloration rouge intense indique la présence d'hétérosides à génine réduite.

d- C-hétérosides

La phase aqueuse conservée plus haut est transférée dans un erlenmeyer. On y ajoute 1 ml de chlorure ferrique à 10 %. Le mélange est chauffé durant 30 minutes. L'hydrolysat est extrait avec 5 ml de chloroforme dans une ampoule à décanter. A 2 ml d'extrait chloroformique recueilli dans un tube on ajoute 1 ml d'ammoniaque dilué au ½. L'apparition d'une coloration rouge intense de la phase aqueuse indique la présence de C-Hétérosides.



Annexe 2 : Poudre des plantes constituant la recette



Annexe 3 : Agitateur magnétique rotatoire



Annexe 4 : Dispositif de filtration



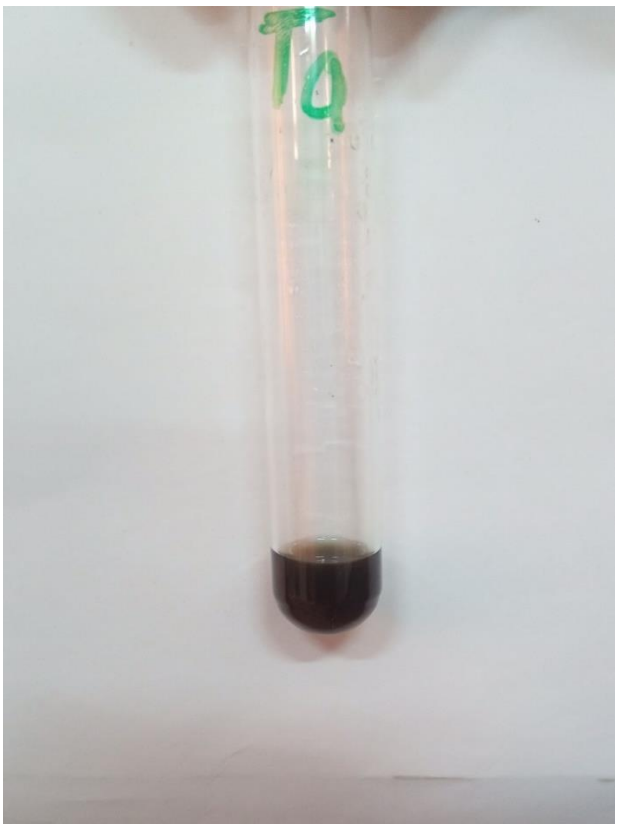
Annexe 5 : Rotavapor



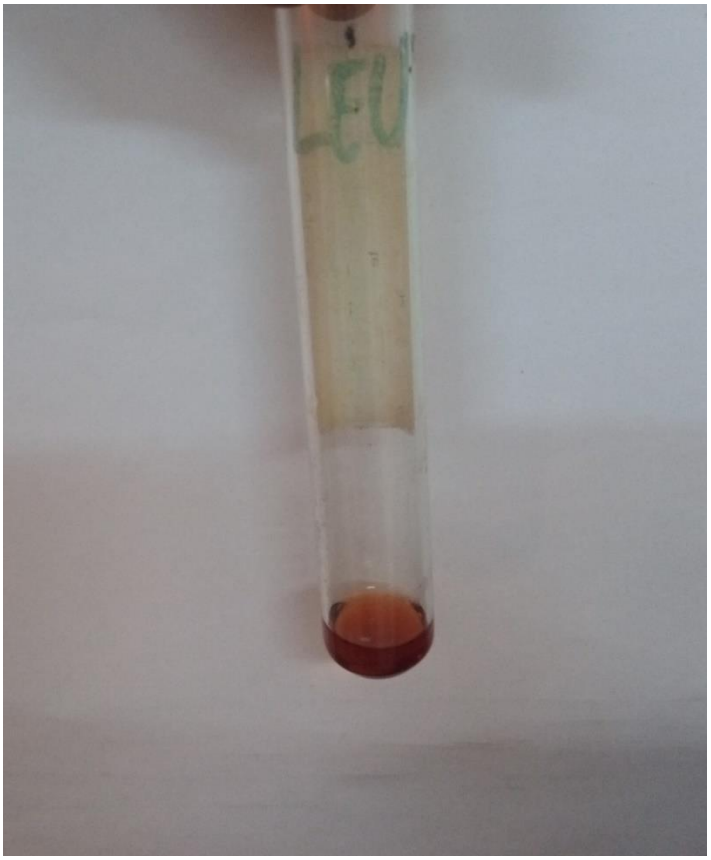
Annexe 6 : Etuve



Annexe 7 : Test positif au Tanins catéchiques



Annexe 8 : Test positif aux tanins



Annexe 9 : Test positif aux Leucoanthocyanes



Annexe 10 : Rats Wistar en cage



Annexe 11 : Spermatozoïdes du rat Wistar en microscopie optique après coloration à l'éosine



Herbier National du Bénin
HNB

Université d'Abomey-Calavi
==========
Faculté des Sciences et Techniques
==========
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE VEGETALE
==========
LABORATOIRE DE BOTANIQUE ET ECOLOGIE VEGETALE
==========
HERBIER NATIONAL DU BENIN

CERTIFICAT D'IDENTIFICATION

Le Conservateur de l'Herbier National du Bénin, soussigné, certifie que les plantes récoltées par **Monsieur AMOUSSOU Dossou Mariano** dans le cadre de ses travaux de recherche au Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, sont identifiées sous :

N° Identification	Nom scientifique	Famille
YH 779/HNB	*Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum.,	Zingiberaceae
YH 780/HNB	*Desmodium velutinum* (Willd.) De.	Fabaceae
YH 781/HNB	*Musa paradisiaca* L.	Musaceae
YH 782/HNB	*Piper guineense* Schumach. & Thonn.	Piperaceae
YH 783/HNB	*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn.	Sapotaceae

En foi de quoi, le présent certificat lui est délivré pour servir et valoir ce que de droit.

Abomey-Calavi, le 21 septembre 2023

Le Conservateur,

HERBIER NATIONAL DU BENIN
Le Conservateur
FAST/UAC

Professeur Hounnankpon YEDOMONHAN

Campus Universitaire d'Abomey-Calavi, 01 BP : 4521 Cotonou. Tél : 93 02 38 75 / 95 56 40 54

Annexe 12 : Certificat d'identification

Certificat d'analyse

Date d'émission: 22/11/2023
Compte évaluateur: Dossou Mariano AMOUSSOU

AUTEUR DU DOCUMENT : AMOUSSOU Dossou Mariano
TITRE DU DOCUMENT : Evaluation de l'effet d'une recette traditionnelle sur un modèle animal d'infertilité masculine

e-Plagiat est un évaluateur certifié de prévention et de détection de plagiat intelligent et autonome basé sur l'IA

Type de document	Nombre de mots	Nombre de pages (approximatif)	Taux de plagiat
Thèse	40182	161	8.87%

M. Pierre ROUAN

Ce document est signé électroniquement et certifié.
Le fichier constitue un original électronique de valeur probatoire, il est enregistré sous la référence suivante :

578a21edbdbb032d76924a88ce721db3cb6d

e-plagiat.online, 1er évaluateur de plagiat en Afrique basé sur l'Intelligence artificielle

Annexe 13 : Certificat d'analyse

TABLES DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

DEDICACE vii
REMERCIEMENTS ix
HOMMAGES xix
SOMMAIRE xxii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS xxiii
LISTE DES TABLEAUX xxvi
LISTE DES FIGURES xxviii
LISTE DES ANNEXES xxxi
INTRODUCTION 1
1. GENERALITES 5
1.1- Rappel anatomo-physiologique et histologique 4
1.1.1- Anatomie de l'appareil reproducteur mâle 4
1.1.2- Particularités du système reproducteur chez le rat mâle 8
1.1.3- Histologie du testicule 10
1.1.4- La spermatogenèse 13
1.1.5- Régulation de la spermatogenèse 22
1.2- Infertilité masculine 24
1.2.1- Définitions 24
1.2.2- Épidémiologie de l'infertilité masculine 25
1.2.3- Facteurs de risque de l'infertilité masculine 25
1.2.4- Exploration du sujet infertile 29
1.2.5- Diagnostic différentiel 36
1.2.6- Etiologies de l'infertilité masculine 36
1.2.7- Infertilité idiopathique 38
1.3- Stress oxydatif et infertilité masculine 38
1.3.1- Le stress oxydatif 38
1.3.2- Impact du stress oxydatif pathologique sur les paramètres spermatiques 44
1.3.3- Les systèmes antioxydants 45
1.4- Monographie des plantes utilisées dans la recette 49
1.4.1- Monographie de *Aframomum melegueta* 49
1.4.2- Monographie de *Desmodium velutinum* 51
1.4.3- Monographie de *Musa paradisiaca* 54
1.4.4- Monographie de *Piper guineense* 56
1.4.5- Monographie de *Vitellaria paradoxa* 58

1.5- Les métabolites secondaires des plantes 60
1.5.1- Les métabolites primaires 61
1.5.2- Les métabolites secondaires 61
1.6- Phytothérapie et toxicité 61
1.6.1- Définitions 61
1.6.2- Toxicité liée aux plantes 62
2. CADRE, MATERIEL ET METHODE D'ETUDE 91
2.1- Cadre d'étude 64
2.1- Matériel d'étude 64
2.2.1- Matériel végétal 64
2.2.2- Modèle expérimental 65
2.2.3- Outils chimiques 65
2.2.4- Outils de laboratoire : 66
2.2- Méthode 67
2.3.1- Phase préparatoire 67
2.3.2- Phase d'expérimentation *in vitro* 68
2.3.3- Phase d'expérimentation *in vivo* 71
3. RESULTATS 107
3.1- Etude phytochimique 79
3.1.1- Rendement d'extraction 79
3.1.2- Screening phytochimique 80
3.2- Dosage des composés polyphénoliques 81
3.3- Test de réduction de la DPPH 81
3.4- Etude de l'activité pharmacologique de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme induit par H_2O_2 sur le rat Wistar 82
3.4.1- Evolution pondérale 82
3.4.2- Poids relatif des organes 82
3.4.3- Evaluation des paramètres spermatiques 83
3.4.4- Paramètres liés au stress oxydatif 84
3.4.5- Etude histologique 86
3.5- Evaluation de la toxicité aigüe de DAMPI 97
3.5.1- Comportements des animaux 97
3.5.2- Consommation alimentaire 97
3.5.3- Evaluation pondérale hebdomadaire 97
3.5.4- Autopsie 98
3.5.5- Poids relatif des organes 98
3.5.6- Etude histologique 98

4. DISCUSSION 131

4.1- Intérêt de l'étude 101

4.2- Etude de l'activité pharmacologique de DAMPI sur les troubles de la qualité du sperme induit par stress oxydatif chez le rat Wistar 102

4.2.1- Effets de DAMPI sur l'évolution pondérale 102

4.2.2- Effets de DAMPI sur les paramètres spermatiques 102

4.2.3- Etude histologique 104

4.2.4- Composition phytochimique de DAMPI 105

4.2.5- Effets de DAMPI sur les paramètres du stress oxydatif 105

4.3- Test de toxicité 107

CONCLUSION 139

PERSPECTIVES 141

REFERENCES 143

ANNEXES ..... A

TABLE DES MATIERES ..... M

SERMENT D'HIPPOCRATE ..... P

Résumé ..... R

SERMENT D'HIPPOCRATE

Devant le peuple béninois et en présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires. Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me sont confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception. Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers les maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs parents. Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure

VU LE PRESIDENT DU JURY

VU LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR DE L'UNIVERSITÉ D'ABOMEY-CALAVI

Résumé

Thème : Evaluation de l'effet d'une recette à base de *Desmodium velutinum, Aframomum melegueta, Musa paradisiaca, Piper guineense* et *Vitellaria paradoxa* sur un modèle animal d'infertilité masculine.

L'infertilité du couple est un véritable problème de santé publique touchant environ 15 % de couples dans le monde selon l'OMS avec une étiologie masculine dans 50 % des cas. Les traitements proposés par la médecine moderne étant parfois inaccessibles géographiquement et financièrement pour certaines populations, ces dernières font recours aux plantes médicinales. La présente étude a évalué l'efficacité et l'innocuité d'une recette traditionnelle utilisée dans le traitement de l'infertilité masculine au Bénin sur un modèle animal d'infertilité.

Objectif : Etudier l'efficacité et l'innocuité d'une recette de la médecine traditionnelle (à base de *Desmodium velutinum*, *Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca*, *Piper guineense* et *Vitellaria paradoxa*) utilisée dans le traitement de l'infertilité masculine sur le rat Wistar.

Méthodes : Après un screening phytochimique et un dosage quantitatif des composés phénoliques, l'activité pharmacologique de l'extrait hydro-éthanolique de la recette (DAMPI) a été évaluée sur les troubles de la qualité du sperme induit par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) chez le rat Wistar. Vingt-cinq (25) rats ont été répartis en cinq groupes de cinq rats. Le groupe contrôle a reçu de l'eau distillée. Le groupe H_2O_2 a reçu du H_2O_2 à 0,5 %. Les groupes DAMPI ont reçu du H_2O_2 à 0,5 % et du DAMPI (à 500 mg/kg et 1 g/kg). Au groupe Veliten utilisé comme référence, nous avons administré du H_2O_2 à 0,5 % et du Veliten (Vit E (50 mg/kg) + Vit C (200 mg/kg) + Rutine (200 mg/kg)). Le traitement a été administré pendant 60 jours. Le test de toxicité orale aigue a été effectué sur deux groupes de trois rats chacun ; l'un ayant reçu de la DMSO (diméthylsulfoxyde) et l'autre du DAMPI à 2000 mg/kg.

Résultats : Le screening phytochimique a montré la présence de tanins catéchiques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, leucoanthocyanes, composés réducteurs, de stéroïdes et de triterpènes. Le dosage quantitatif a révélé une quantité modérée de composés phénoliques. Le groupe H_2O_2 a présenté une altération des paramètres spermatiques, une destruction de l'épithélium séminifère, une augmentation du taux de MDA (malondialdéhyde) et une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes. Les groupes DAMPI et Veliten ont présenté une amélioration des paramètres spermatiques et de l'épithélium séminifère ainsi qu'une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes. Le test de toxicité a permis de classer l'extrait dans la catégorie 5 du Système Global Harmonisé avec un IC_{50} > 2000 mg/kg. Ces résultats ont permis de montrer l'efficacité de l'extrait sur les altérations des paramètres spermatiques liées au stress oxydatif.

Mots clés : infertilité masculine, stress oxydatif, peroxyde d'hydrogène, recette traditionnelle, antioxydant, rat Wistar.

Abstract

Topic: Evaluation of the effect of a recipe based on *Desmodium velutinum*, *Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca, Piper guineense* and *Vitellaria paradoxa* on an animal model of male infertility.

Infertility is a public health threat affecting around 15% of couples worldwide according to the WHO, and 50% of cases are caused by men. As the treatment offered by conventional medicine are sometimes geographically and financially inaccessible for some populations, they resort to medicinal plants. This study assessed the efficacy and safety of a traditional recipe used in the treatment of male infertility in Benin in an animal model of infertility.

Objective: To study the efficacy and safety of a traditional medicine recipe (based on *Desmodium velutinum*, *Aframomum melegueta*, *Musa paradisiaca*, *Piper guineense* and *Vitellaria paradoxa*) used in the treatment of male infertility in the Wistar rat.

Methods: After phytochemical screening and quantitative assay of phenolic compounds, the pharmacological activity of the hydroethanol extract of the recipe (DAMPI) was evaluated on disorders of sperm quality induced by hydrogen peroxide (H_2O_2) in Wistar rats. Twenty-five rats were randomly divided into five groups of five rats each. The control group received distilled water. The H_2O_2 group received 0.5% H_2O_2 while the DAMPI groups received 0.5% H_2O_2 and DAMPI (at 500 mg/kg and 1 g/kg). The Veliten group used as a reference received H_2O_2 0,5% and Veliten (Vit E (50 mg/kg) + Vit C (200 mg/kg) + Rutin (200 mg/kg)). Treatment was administered for 60 days. The acute oral toxicity test was performed on two groups of three rats; one receiving DMSO (dimethyl sulfoxide) and the other a single dose of DAMPI at 2000 mg/kg.

Results: Phytochemical screening showed the presence of catechic tannins, flavonoids, alkaloids, leucoanthocyanins, reducing compounds, steroids and triterpenes. Quantitative assay revealed a moderate quantity of phenolic compounds. The H_2O_2 group showed altered sperm parameters, destruction of the seminiferous epithelium, increased MDA (malondialdehyde) levels and reduced antioxidant enzyme activity. The DAMPI and Veliten groups showed an improvement in sperm parameters and seminiferous epithelium, as well as an increase in antioxidant enzyme activity. The toxicity test classified the extract in category 5 of the Globally Harmonised System, with an IC_{50} > 2000 mg/kg. These results demonstrated the efficacy of the extract in altering sperm parameters linked to oxidative stress.

Key words: male infertility, oxidative stress, hydrogen peroxide, traditional recipe, antioxidant, Wistar rat.