



Evaluation *in vivo* de l'activité FSH et de l'oestrogénicité de l'extrait aqueux du mélange de feuilles d'*Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* et *Justicia insularis* chez la rate immature

Phelix B. TELEFO^{1*}, M.T. PELLICER RUBIO², Paul MOUNDIPA³, Félicité M. TCHOUANGUEP¹, B. MALPAUX², C. TCHOUANGUEP¹

¹Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Dschang, B.P: 67, Dschang, Cameroun

²Station de Physiologie de la Reproduction et du Comportement, Laboratoire de Neurobiologie et de Maîtrise des Fonctions Saisonnières. INRA de Tours, 37380 Nouzilly, France

³Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, B.P : 812, Yaoundé, Cameroun

* Pour toute correspondance: LABPMAN, Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Dschang : B.P: 67 Dschang Cameroun. E-mail: bphelix@yahoo.co.uk

RESUME

L'activité FSH (test de Steelman et Pohley) et l'effet oestrogénique de l'extrait aqueux du mélange de feuilles d'*Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* et *Justicia insularis*, localement utilisé pour régulariser le cycle menstruel et traiter des cas de dysménorrhées et d'infertilité chez la femme, ont été évalués chez la *rate immature*.

L'extrait des plantes, aux doses comprises entre 0,104 et 6,67 mg/kg induit une augmentation linéaire et significative ($p < 0,001$) du poids des ovaires lorsqu'il est co-administré, pendant 3 jours consécutifs (2 injection par jour), avec l'hCG. En absence d'hCG, le poids des ovaires augmente significativement à la dose de 3,33 mg/kg ($p < 0,05$). Aucune augmentation significative du poids de l'utérus des animaux traités en présence ou non d'hCG n'a été observée. L'administration sous cutanée, pendant une semaine à des rates immatures ovariectomisées, de différentes concentrations d'extrait aqueux du mélange des plantes médicinales (en présence ou non d'oestradiol) n'induit pas de variation significative du poids utérin des animaux.

Ces résultats démontrent que l'extrait de plantes est dépourvu d'effet oestrogénique direct sur l'utérus et que son effet inducteur sur le développement folliculaire ou la stéroïdogénèse ovarienne se ferait de manière indirecte via l'hypophyse ou l'hypothalamus.

Mots clés : FSH, hCG, utérus, ovaire, plantes médicinales

ABSTRACT

The "FSH-like" activity (test of Steelman and Pohley) and the estrogenic effect of the aqueous extract of the mixture of leave of *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* and *Justicia insularis*, locally used to regulate the menstrual cycle and to treat cases of dysmenorrhoea and infertility in women, were evaluated in immature female rat.

The plant extract, within doses ranging from 0.104 to 6.67 mg/kg, linearly and significantly ($p < 0,001$) increased rat ovarian weights when co administered, during three successive days (two injection per day), with hCG. In the absence of hCG, there was a significant increase in the ovarian weight at the dose of 3.33 mg/kg ($p < 0.05$). No significant increase of uterine weight, in the presence or not of hCG, was observed. Sub cutaneous administration, during one week, of various concentrations of the aqueous extract of the mixture of medicinal plants (in presence or not of estradiol) to ovariectomized immature rat did not induce significant variation of the uterine weight of the animals.

These results show that extract of these plants has no direct estrogenic effect on the uterus and that its observed inductive effect on the follicular development or ovarian steroïdogenesis would proceed through an indirect mechanism, via the pituitary gland or the hypothalamus.

Key words: FSH, hCG, uterus, ovary, medicinal plants

INTRODUCTION

L'usage par l'homme des produits de son environnement (les plantes médicinales en particulier) pour se soigner remonte à l'antiquité. En matière de santé de la reproduction, plusieurs études ont démontré l'implication des substances issues des plantes médicinales dans le traitement

de certains troubles de la fonction de reproduction humaine [1, 2,3].

Ainsi, des études menées par Telefo et al. [4,5] ont démontré que l'extrait aqueux (ADHJ) du mélange de feuilles d'*Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* et *Justicia insularis*, utilisé en médecine traditionnelle

camerounaise pour normaliser le cycle menstruel et accroître la fertilité chez la femme, augmente le poids de l'utérus, des ovaires ainsi que le taux d'oestradiol ovarienne de rates immatures traitées pendant 20 jours avec des doses croissantes de cet extrait. Ces augmentations étaient couplées à la baisse du taux de cholestérol ovarien. L'ensemble de ces observations traduirait un effet inducteur de certains constituants de l'extrait du mélange de feuilles des plantes dans le développement folliculaire et la stéroïdogénèse ovarienne chez la rate immature.

La croissance des follicules ovariens chez les mammifères est un processus physiologique assez complexe où interviennent de manière directe ou indirecte les hormones stéroïdes (oestradiol principalement) ; les gonadotrophines (FSH, LH) et certains facteurs de croissance. Parmi ces régulateurs endogènes de la folliculogénèse, la FSH constitue l'hormone clef du recrutement des follicules ovariens, de l'activation de l'aromatase et du développement ultérieur (en synergie avec l'oestradiol) de ceux ayant atteint le stade préantral [6]. Cet effet inducteur de la FSH sur le développement folliculaire a été mis en évidence chez la rate hypophysectomisée par Evans et al. [7]. Par la suite, Steelman et Pohley [8] ont pour la première fois démontré qu'une co-injection sous-cutanée pendant 3 jours consécutifs (2 injections par jour) de FSH et d'hCG (20 UI) augmentait linéairement, jusqu'à une certaine gamme de dose de FSH (0,05 à 0,20 UI/ml), le poids d'ovaires de rate immature âgée de 25 jours. Ce test biologique *in vivo* de Steelman et Pohley est jusqu'à ce jour le plus utilisé pour l'évaluation de l'activité FSH dans les préparations biologiques (extraits d'organes, de tissus, de plantes....).

S'agissant de l'extrait aqueux d'ADHJ, les résultats antérieurs indiquent que les constituants chimiques impliqués dans son activité ovarienne agiraient soit directement sur les cellules ovariennes à travers leur activité oestrogénique et/ou "FSH-like" soit indirectement en stimulant la production de gonadotropines par l'axe hypothalamo-hypophysaire. Des essais *in vitro* effectués par Telefo et al.[9] ont permis d'établir partiellement le type de réponse biologique qui résulterait de l'effet direct de certains constituants chimiques de l'extrait aqueux du mélange (ADHJ) des 4 plantes sur la synthèse et la sécrétion *in vitro* de

l'oestradiol. A cet effet les hypothèses ci-après avaient été formulées :

- soit ces constituants étaient doués d'activité oestrogénique auquel cas ils inhiberaient l'activité de l'aromatase et ainsi réduiraient la production *in vitro* d'oestradiol ;
- soit ils étaient doués d'activité FSH-like et ainsi activeraient la catalyse de certains androgènes par l'aromatase et par extension l'augmentation de la production d'oestradiol.

A l'issu de cet essai *in vitro*, l'induction de la sécrétion d'oestradiol par certains constituants chimiques de l'extrait aqueux d'ADHJ a été notée. Elle résulterait de l'activité FSH-like de certains constituants chimiques de l'extrait aqueux des plantes.

Dans le cadre de la présente étude, la potentialité FSH-like de l'extrait aqueux d'ADHJ a cette fois été évaluée *in vivo*, à partir d'une nouvelle approche expérimentale. Ainsi, l'activité FSH (selon la méthode de Steelman et Pohley) et l'oestrogénicité ou non de l'extrait aqueux d'ADHJ a été vérifiée en évaluant ses effets d'une part sur le poids des ovaires de rates immatures en coadministration ou non avec l'hCG et d'autre part sur le poids d'utérus de rates immatures ovariectomisées.

MATERIEL ET METHODES

Préparation de l'extrait aqueux de plantes médicinales

Les feuilles d'*Aloe buettneri* A. berger (Liliacées), *Dicliptera verticillata* G.J.H. Amshoff (Acanthacées), *Hibiscus macranthus* Hochst ex A. Rich (Malvacées) et *Justicia insularis* T. Anders (Acanthacées) utilisées dans la préparation de l'extrait ont été récoltées en Août 2002 dans les village Fontsa-Toula et Batoufam (Province de l'Ouest du Cameroun) et identifiées à l'Herbier National (IRA, CAMEROUN) sous les références Nos 52232, 20387, 41881 et 34997 respectivement.

Elles ont été séchées séparément à l'air libre et à l'abri du soleil pendant deux semaines puis finement broyées. Ensuite, 12,5 g de poudre de feuilles de chaque plante ont été mélangés et introduit dans un récipient contenant un litre d'eau distillée bouillante. Le mélange a été maintenu pendant trente minutes à ébullition puis centrifugé pendant 20 minutes à 3500 rpm. L'extrait a ensuite été lyophilisé et la poudre vert grisâtre

obtenue (rendement = 28%) a été conservée à 4°C.

Traitement des animaux

Activité "FSH-like" de l'extrait aqueux des plantes

Les études ont été menées sur des rates immatures de race albinos Wistar, âgées de 25 jours et de poids variant entre 75-85 g. Elles ont été élevées à l'animalerie de la station de physiologie de la Reproduction et du Comportement de l'INRA de Tours (Nouzilly, France) sous un éclairage contrôlé (cycle de 12 heures) et à une température de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. Elles ont reçu une alimentation standard et de l'eau *ad libitum*.

Dans une première phase, quarante rates ont été réparties en 2 lots de 20 animaux chacun. Dans chaque lot, elles étaient réparties en 4 groupes de 5 rates chacun. Elles ont été traitées par voie sous cutanée pendant 3 jours (injection de 0,2 ml de solution ; deux fois par jour) avec des solutions de FSH de concentrations comprises entre 0 et 0,20 UI/ml soit en absence (lot 1) ou alors en présence (lot 2) d'hCG (3,33 UI/injection soit au total 20 UI pour toute la durée de traitement).

Durant la deuxième phase expérimentale, cent trente-deux rates ont été réparties en 2 lots de 66 animaux chacun. Dans chaque lot, elles étaient réparties en 11 groupes de 6 rates chacun puis traitées par voie sous cutanée pendant 3 jours (injection 2 fois par jour de 0,2 ml d'extrait) avec des doses d'extrait des plantes comprises entre 0 et 106 mg/kg ; en absence (lot 1) et en présence (lot 2) d'hCG (3,33 UI/injection soit au total 20 UI pour toute la durée de traitement).

A l'issue de chaque phase de traitement, les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale, l'ouverture de leur orifice vaginale vérifiée ; leurs ovaires et utérus prélevés, nettoyés et pesés.

Oestrogénicité et anti-oestrogénicité de l'extrait aqueux de plante

Des rates immatures de race albinos Wistar issues de l'animalerie de la station de physiologie de la Reproduction et du Comportement de l'INRA de Tours (Nouzilly, France), âgées de 25 jours et de poids variant entre 75-85 g ont été anesthésiée au mélange de

solutions Kétamine 10% + Xylazine 2%(v/v) puis ovariectomisées. Après une semaine de repos, elles ont été réparties en 2 lots de 30 animaux chacun. Dans chacun des lots, les animaux ont été distribués dans cinq groupes de six animaux chacun puis traités par voie sous cutanée (pendant une semaine) avec des doses d'extrait aqueux d'ADHJ comprises entre 0 et 333,33 mg/kg ; en absence (lot 1) et en présence (lot 2) d'oestradiol (0,1 $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{jour}$). Avant le début de toute nouvelle injection, les animaux étaient pesés et l'ouverture de leur vagin vérifiée. Vingt et quatre heures après la dernière injection, les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale, leur utérus prélevés, nettoyés et pesés.

Analyses statistiques

L'analyse de l'effet de différentes doses (effet dose) d'extrait de plantes sur les poids corporel, ovarien et utérin en présence ou non d'hCG (effet hCG) chez la rate immature, a été réalisée par analyse de variance à deux facteurs (activité FSH-like) ou à un facteur (oestrogénicité). La linéarité entre le poids des ovaires et la dose d'extrait a été vérifiée par le test de régression linéaire. Le test de Fischer (ppds : plus petite différence significative) a été utilisé pour la comparaison entre 2 moyennes après que le test de l'ANOVA ait été significatif. La comparaison des données sur le pourcentage d'ouverture vaginale s'est faite à l'aide du test de χ^2 . Toute analyse de probabilité $p < 0,05$ est significative [10].

RESULTATS

Activité "FSH-like" de l'extrait aqueux de plante :

Effet sur le gain de poids corporel :

Le gain de poids corporel a été observé dans l'ensemble des groupes expérimentaux, excepté les animaux traités (en absence d'hCG) soit avec 0,20 UI/ml de FSH (Tableau 1) ; soit avec des doses d'ADHJ supérieure à 3,33 mg/kg (Tableau 2).

L'utilisation de l'hCG de même que les interactions (hCG x FSH ou hCG x ADHJ) n'ont pas eu d'effet sur la croissance corporel des animaux.

Tableau 1 : Variation de poids corporel (ΔP_c), du poids relatif ovarien (Povrel) et utérin (Putrel) de rates immatures traitées pendant 3 jours par injection sous cutanée (2 injections/jour) avec des doses croissantes de FSH, en présence ou non d'hCG.

| hCG | FSH (UI/ml) | ΔP_c (%) | Povrel. (mg/100 g Pcf) | Putrel. (mg/100 g Pcf) |
|-----|-------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| - | 0,00 | 112,97 \pm 1,36 | 24,74 \pm 0,42 | 33,93 \pm 4,30 |
| | 0,05 | 113,10 \pm 1,52 | 31,49 \pm 1,47 * | 96,95 \pm 6,02 *** |
| | 0,10 | 111,51 \pm 0,85 | 40,11 \pm 2,07 *** | 108,00 \pm 10,74 *** |
| | 0,20 | 108,40 \pm 0,78 * | 55,30 \pm 2,21 *** | 105,62 \pm 6,94 *** |
| + | 0,00 | 110,74 \pm 1,37 | 57,55 \pm 3,49 | 138,24 \pm 8,02 |
| | 0,05 | 109,32 \pm 0,80 | 143,26 \pm 4,69 *** | 109,06 \pm 6,09 * |
| | 0,10 | 110,35 \pm 1,13 | 138,86 \pm 8,67 *** | 114,93 \pm 9,03 * |
| | 0,20 | 107,66 \pm 1,68 | 139,00 \pm 9,26 *** | 121,31 \pm 5,96 |

Chaque valeur représente la Moyenne \pm Erreur Standard de la Moyenne de 5 animaux par groupe. Valeurs significativement différentes de celle du groupe témoin respectif à : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (test de Fisher-ppds). (-) Absence d'hCG (+) Présence d'hCG

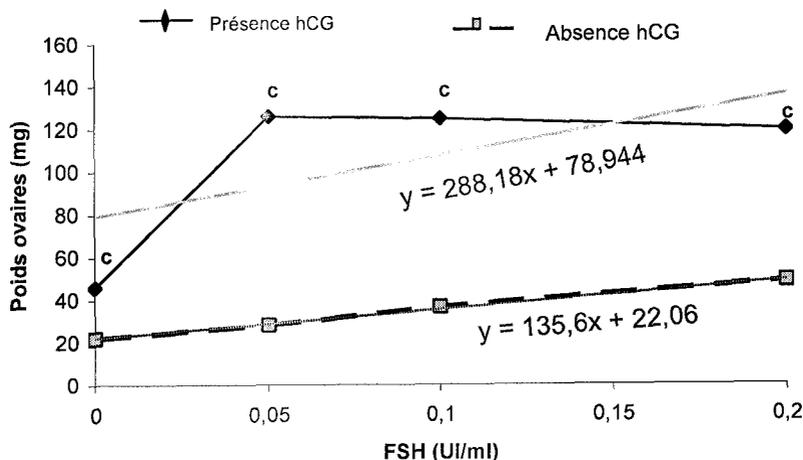


Figure 1 : Poids des ovaires de rates immatures traitées pendant 3 jours par injection sous cutanée (2 injections/jour) avec des concentrations croissantes de FSH, en présence ou non d'hCG. Chaque point représente la moyenne \pm écart-type de 5 animaux. Valeurs significativement différentes de celle traitée avec la même dose d'ADHJ mais en absence d'hCG : * $p < 0,001$ (test de Fisher-ppds).

Effet sur le poids des ovaires et de l'utérus :

En absence d'hCG, l'injection successive pendant trois jours de concentrations croissantes de FSH aux rates immatures augmente significativement et de manière concentration dépendante ($r=0,935$; $p < 0,001$) le poids vif (Fig.1) ou relatif (Tableau 1) des ovaires. Il en est de même du poids relatif utérin dont la colinéarité s'estompe à la concentration de 0,10 UI/ml de FSH. Dans les mêmes conditions, l'injection de doses croissantes d'extrait aqueux d'ADHJ

n'affecte pas les poids vifs d'ovaires des rates immatures ; excepté celles traitées à la dose de 3,33 mg/kg dont le poids vif ovarien augmente de 28 % comparativement à celui du groupe témoin ($p < 0,001$) (Fig.2). En absence d'hCG, on observe jusqu'à la dose de 3,33 mg/kg une corrélation significative entre le poids des ovaires et les doses d'ADHJ (Tableau 3).

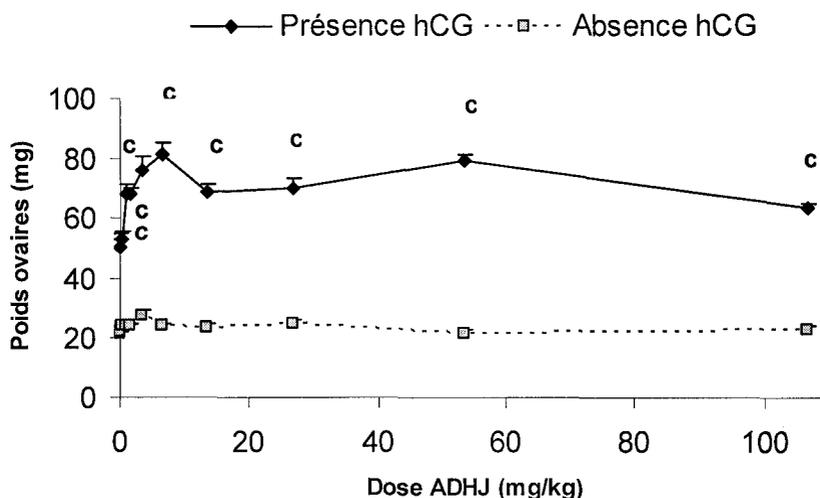


Figure 2 : Poids des ovaires de rates immatures traitées pendant 3 jours par injection sous cutanée (2 injections/jour) avec des doses croissantes d'extrait aqueux (ADHJ) du mélange de feuilles de quatre plantes médicinales, en présence ou non d'hCG. Chaque point représente la moyenne \pm écart-type de 6 animaux. Valeurs significativement différentes de celle traitée avec la même dose d'ADHJ mais en présence d'hCG : $^c p < 0,001$ (test de Fisher-ppds).

Tableau 2 : Variation de poids corporel (ΔP_c), du poids relatif utérin (Putrel) et du pourcentage d'ouverture vaginale (O.V) de rates immatures traitées pendant 3 jours par injection sous cutanée (2 injections/jour) avec des doses croissantes d'extrait aqueux (ADHJ) du mélange de feuilles de quatre plantes médicinales, en présence ou non d'hCG.

| | Absence hCG | | | Présence hCG | | | |
|--------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|---------------------|
| | ΔP_c (%) | Putrel (mg/100g Pcf) | O.V (%) | ΔP_c (%) | Putrel (mg/100 g Pcf) | O.V (%) | |
| Doses ADHJ (mg/kg) | 0,00 | 120,42 \pm 1,73 | 40,89 \pm 4,95 | 0,00 | 116,90 \pm 2,07 | 137,10 \pm 10,25 | 16,70 |
| | 0,104 | 118,34 \pm 1,76 | 58,35 \pm 10,57 | 0,00 | 114,92 \pm 1,63 | 145,05 \pm 7,37 | 66,67 ^b |
| | 0,417 | 117,77 \pm 1,16 | 44,20 \pm 2,55 | 0,00 | 119,70 \pm 1,92 | 137,26 \pm 8,43 | 66,67 ^b |
| | 0,833 | 117,07 \pm 1,62 | 49,61 \pm 4,83 | 0,00 | 121,72 \pm 2,63 | 131,86 \pm 8,16 | 33,30 |
| | 1,67 | 117,07 \pm 1,32 | 53,19 \pm 5,76 | 0,00 | 116,04 \pm 2,19 | 128,84 \pm 10,01 | 66,67 ^b |
| | 3,33 | 119,20 \pm 2,77 | 79,91 \pm 18,09 ^{***} | 50,00 ^b | 117,29 \pm 2,49 | 125,35 \pm 5,41 | 66,67 ^b |
| | 6,67 | 115,87 \pm 0,97 [*] | 46,00 \pm 4,06 | 0,00 | 116,36 \pm 1,52 | 118,20 \pm 7,38 | 100,00 ^c |
| | 13,34 | 115,58 \pm 1,21 [*] | 47,79 \pm 6,28 | 0,00 | 116,89 \pm 1,49 | 122,45 \pm 7,54 | 100,00 ^c |
| | 26,68 | 113,95 \pm 0,53 ^{**} | 52,21 \pm 2,96 | 0,00 | 116,23 \pm 1,17 | 129,08 \pm 8,17 | 100,00 ^c |
| | 53,36 | 113,75 \pm 0,92 ^{**} | 34,18 \pm 2,08 | 0,00 | 111,02 \pm 1,70 [*] | 126,60 \pm 4,01 | 83,30 ^c |
| | 106,7 | 111,5 \pm 0,94 ^{***} | 40,77 \pm 2,72 | 0,00 | 113,63 \pm 1,11 | 131,47 \pm 8,76 | 100,00 ^c |

Chaque valeur représente la Moyenne \pm Erreur Standard de la Moyenne de 6 animaux par groupe. Valeurs significativement différentes de celle du groupe témoin respectif à : ^{*} $p < 0,05$; ^{**} $p < 0,01$; ^{***} $p < 0,001$ ((test de Fisher-ppds) ou à : ^b $p < 0,01$, ^c $p < 0,001$ (test de Chi-deux pour les données sur l'ouverture vaginale).

Tableau 3 : Données statistiques sur l'analyse de régression linéaire des poids des ovaires et d'utérus de rates immatures traitées pendant 3 jours avec des doses croissantes d'extrait aqueux des plantes en présence (+) ou en absence (-) d'hCG.

| hCG | | Ovaires | | | | | | Utérus | | | |
|----------------------------------------------|-----------|---------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| | | + | | | - | | | + | | - | |
| | | r | p | a* | r | p | a* | r | p | r | p |
| Gamme des doses d'extrait de plantes (mg/kg) | 0 - 106,7 | 0,56 | <0,001 | 0,061 | 0,014 | 0,456 | -0,016 | -0,204 | 0,051 | -0,11 | 0,176 |
| | 0 - 6,67 | 0,80 | <0,001 | 4,582 | 0,415 | 0,003 | 1,514 | -0,355 | 0,01 | 0,25 | 0,055 |
| | 0 - 3,33 | 0,76 | <0,001 | 7,83 | 0,535 | <0,001 | 1,514 | -0,26 | 0,012 | 0,42 | 0,005 |

* a représente la pente de l'équations de droite du poids des ovaires en fonction d'une gamme de dose d'ADHJ donnée.

En présence d'hCG, le poids vif des ovaires de rates immatures traitées ou non avec la FSH (Fig.1) ou l'extrait aqueux d'ADHJ (Fig.2) augmentent significativement ($p < 0,001$) comparativement à ceux des animaux traités avec les mêmes extraits mais en absence d'hCG. De plus, l'augmentation du poids des ovaires des animaux traités simultanément à l'hCG et aux doses croissantes d'extrait des plantes est positivement corrélé aux doses administrées ($r = 0,56$; $p < 0,001$). Cette corrélation est par ailleurs plus accentuée aux doses comprises entre 0 et 6,67 mg/kg ($r = 0,8$; Tableau 3).

Effet sur l'ouverture vaginale :

Le pourcentage d'animaux présentant en fin de traitement une ouverture vaginale est plus élevé ($p < 0,001$) chez les animaux traités aux différentes doses d'ADHJ mais en présence d'hCG (Tableau 2). En absence d'hCG, aucune ouverture vaginale n'est observée dans l'ensemble des groupes expérimentaux, excepté les rates traitées à la dose de 3,33 mg/kg dont la moitié (50%) présentent une ouverture vaginale à la fin de la période de traitement.

Oestrogénicité et anti-oestrogénicité de l'extrait aqueux d'ADHJ

Les variations des poids utérin, corporel ainsi que du pourcentage d'ouverture vaginale de rates immatures ovariectomisées puis traitées pendant une semaine avec des doses croissantes d'extrait aqueux d'ADHJ, en présence ou non d'oestradiol, sont présentées au tableau 4. Il en ressort que la croissance des animaux, pendant la

période de traitement, est significativement ralentie chez ceux traités à la dose de 333,33 mg/kg ($p < 0,001$). Ce ralentissement se retrouve chez l'ensemble des animaux traités simultanément avec l'oestradiol et les différentes doses d'ADHJ.

L'ouverture du vagin à l'issue du traitement n'a été possible que chez les animaux simultanément traités avec l'oestradiol et les différentes doses d'extrait aqueux d'ADHJ.

En absence d'oestradiol, les différentes doses d'ADHJ n'affectent pas le poids vif utérin des animaux ovariectomisés. Cependant, lorsque ce poids est exprimé relativement au poids corporel final des animaux, on note une augmentation significative du poids utérin des animaux traités à la dose de 333,33 mg/kg ($p < 0,05$). En présence d'oestradiol, les poids utérin (vif ou relatif) des animaux augmentent significativement ($p < 0,001$) comparativement à ceux des animaux traités avec la même dose d'ADHJ mais en absence d'oestradiol. Par ailleurs, les animaux traités simultanément avec l'oestradiol et la dose de 333,33 mg/kg d'ADHJ présente un poids (vif ou relatif) utérin supérieur à celui des animaux traités uniquement avec l'oestradiol.

DISCUSSION

Dans le cadre de cette étude, l'activité FSH (test de Steelman et Pohley) et l'oestrogénicité (chez la rate immature ovariectomisée) de l'extrait aqueux d'ADHJ ont été évalués.

Il ressort des résultats obtenus que l'hCG accroît significativement l'effet inducteur de la FSH ou de l'extrait des plantes sur l'augmentation du poids des ovaires de rates immatures. En effet, on note une augmentation linéaire du poids des ovaires de rates immatures traitées pendant 3 jours (en présence d'hCG) avec des doses d'ADHJ comprises entre 0,104 et 6,67 mg/kg. Aux doses plus élevées, ces poids sont négativement corrélés aux doses d'extrait administré. Toutefois, pour une même gamme de doses d'ADHJ, le degré d'augmentation du poids des ovaires est plus élevé en présence d'hCG qu'en son absence.

Cette augmentation linéaire du poids des ovaires, après administration simultanée de l'extrait de plantes et de l'hCG, est semblable à celle obtenue par plusieurs auteurs [8, 12, 13]

avec la FSH (en co-administration avec l'hCG également). Cela traduirait la présence dans l'extrait aqueux du mélange de feuilles de plantes médicinales de composés chimiques dont le mécanisme d'action serait similaire à celui de la FSH. Cependant, la pente de la droite de régression linéaire de la courbe dose réponse d'ADHJ ($a = 7,83$; Fig.3) qui est très petite relativement à celle de la courbe dose réponse de la FSH ($a = 283,18$; Fig.1), traduirait la faiblesse du potentiel FSH-like de l'extrait aqueux d'ADHJ [potentiel d'activité = $(7,83/283,18) \times 100 = 2,73\%$]. Un fractionnement de l'extrait aqueux d'ADHJ en vue de la caractérisation chimique et biologique de son principe actif augmenterait probablement sa potentialité FSH-like.

Tableau 4 : Poids corporels initial et final, variation de poids corporel (ΔP_c), poids vif et relatif ovarien utérin et pourcentage d'ouverture vaginale (O.V) de rates immatures ovariectomisées traitées pendant 7 jours par injection sous cutanée avec des doses croissantes d'extrait aqueux (ADHJ) du mélange de feuilles de quatre plantes médicinales, en présence ou non d'estradiol.

| | Absence Oestradiol | | | | | | Présence Oestradiol (0,1 $\mu\text{g}/\text{rate}/\text{jour}$) | | | | | | |
|-------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----|
| | Poids corporel (g) | | ΔP_c (%) | Poids utérin | | O.V (%) | Poids corporel (g) | | ΔP_c (%) | Poids utérin | | O.V (%) | |
| | initial | final | | Vif (mg) | Relatif (mg/100 g Pcf) | | initial | final | | Vif (mg) | Relatif (mg/100 g Pcf) | | |
| Dose ADHJ (mg/kg) | 0 | 143,17 \pm 4,83 | 179,83 \pm 4,55 | 125,80 \pm 1,22 | 26,42 \pm 0,80 | 14,72 \pm 0,49 | 0 | 139,17 \pm 6,95 | 169,67 \pm 9,86 | 121,71 \pm 1,39 | 142,50 \pm 8,49 | 84,59 \pm 4,55 | 100 |
| | 0,33 | 144,00 \pm 4,04 | 177,67 \pm 6,04 | 123,28 \pm 1,15 | 25,72 \pm 0,82 | 14,55 \pm 0,67 | 0 | 145,17 \pm 3,29 | 168,83 \pm 2,91 | 116,39** \pm 0,99 | 154,27 \pm 3,20 | 91,41 \pm 1,67 | 100 |
| | 3,33 | 139,17 \pm 2,33 | 177,17 \pm 3,61 | 127,29 \pm 1,33 | 27,52 \pm 1,19 | 15,52 \pm 0,53 | 0 | 144,00 \pm 2,46 | 169,33 \pm 3,28 | 117,59* \pm 0,92 | 152,63 \pm 5,84 | 90,05 \pm 2,40 | 100 |
| | 33,33 | 146,33 \pm 2,43 | 180,00 \pm 4,02 | 122,96 \pm 0,95 | 28,20 \pm 1,55 | 15,70 \pm 0,90 | 0 | 141,00 \pm 5,21 | 164,17 \pm 5,24 | 116,54** \pm 0,71 | 163,93 \pm 11,06 | 99,30 \pm 3,86 | 100 |
| | 333,33 | 148,33 \pm 1,43 | 160,00** \pm 2,52 | 107,87*** \pm 1,46 | 26,77 \pm 1,26 | 16,70* \pm 0,56 | 0 | 155,83 \pm 3,22 | 159,67 \pm 3,83 | 102,49*** \pm 1,58 | 184,83* \pm 14,86 | 116,36*** \pm 10,66 | 100 |
| ANOVA | NS | P<0,05 | P<0,001 | NS | NS | / | NS | NS | P<0,001 | P<0,05 | P<0,01 | / | |

Chaque valeur représente la Moyenne \pm Erreur Standard de la Moyenne de 6 animaux par groupe. Valeurs significativement différentes de celle du groupe témoin respectif à : *p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 ((test de Fisher-ppds ou de Chi-deux pour les données sur l'ouverture vaginale).

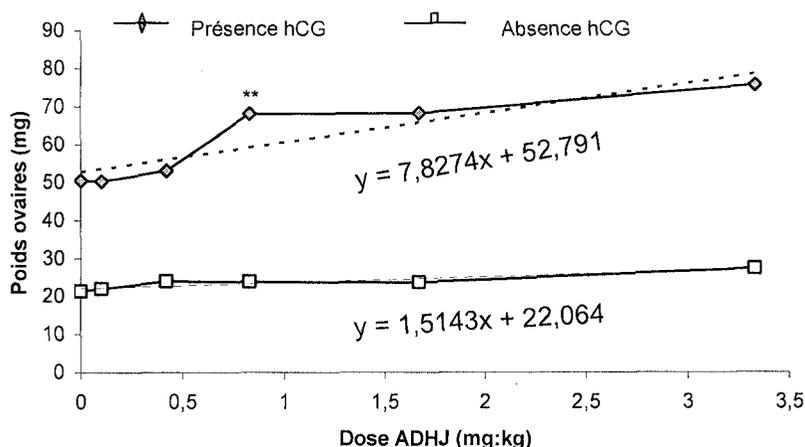


Figure 3: Effet dose-réponse d'extrait aqueux (ADHJ) du mélange de feuilles de quatre plantes médicinales, administrés pendant 3 jours par voie sous cutanée (2 injections/jour) et en présence ou non d'hCG, sur le poids des ovaires de rates immatures. Chaque point représente la moyenne \pm écart-type de 6 animaux. Valeurs significativement différentes de celle du groupe témoin respectif à : *** $p < 0,001$ (test de Fisher-ppds).

Par ailleurs, il a été noté que l'administration orale pendant 5 jours consécutifs de différentes doses d'extrait aqueux d'ADHJ à des rates immatures (âgées de 22 jours en début de traitement) ne présentait certes aucun effet sur le poids des ovaires mais augmentait significativement le taux d'oestradiol ovarien et le poids utérins des animaux traités [4, 14]. Dans le cadre de cette étude, des augmentations significatives des poids relatifs ovariens et utérins des animaux traités, par voie sous-cutanée, pendant 3 jours à la dose de 3,33 mg/kg d'extrait aqueux des plantes (en l'absence de l'hCG) ont été notées. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux d'ADHJ induit à court terme, indépendamment de la voie d'administration utilisée (orale ou sous-cutanée), l'augmentation du poids utérin des rates immatures. Compte tenu d'une part de l'effet direct de la FSH dans le développement des follicules ovariens et la production d'oestradiol et d'autre part de l'effet inducteur de cette hormone stéroïde sur la multiplication et la croissance des cellules utérines, l'augmentation du poids utérins des animaux traités résulterait soit d'un effet indirect de composés FSH-like de l'extrait aqueux d'ADHJ, soit de l'effet direct de ses constituants oestrogéniques.

L'utilisation de la rate ovariectomisée dans cette étude démontre que l'extrait aqueux

d'ADHJ ne renferme pas de composés chimiques présentant un pouvoir oestrogénique direct sur l'utérus. En effet, aucune variation du poids vif utérin des rates ovariectomisées, quelle que soit la dose d'extrait administrée, n'est observée. Seule la dose de 333,33 mg/kg d'extrait aqueux d'ADHJ, administrée seule ou simultanément avec l'oestradiol, augmente significativement le poids relatif utérin. Cette augmentation résulterait plus de l'effet de l'extrait du mélange ADHJ sur la baisse significative du poids corporel des animaux et non sur l'augmentation du poids utérin. En effet, le poids vif utérin des animaux traités à la dose de 333,33 mg/kg ne varie pas comparativement à celui des animaux du groupe témoin. De plus, aucune ouverture vaginale n'a été observée chez les rates traitées, en absence d'oestradiol, à la dose de 333,33 mg/kg.

En conclusion, cette étude suggère que l'effet biologique de l'extrait aqueux d'ADHJ sur l'ovaire résulterait davantage de l'activité FSH-like de certains de ses constituants chimiques. Elle confirme les hypothèses et conclusion des essais effectués avec le même extrait des plantes sur la production *in vitro* d'oestradiol par les morceaux d'ovaires de rates en proestrus [9]. Néanmoins, des études supplémentaires des effets de cet extrait sur la production d'AMPc par les cellules de granulosa, sur les récepteurs de LH et sur

l'aromatase cytochrome P₄₅₀ élucideraient davantage son mécanisme d'action.

REFERENCES

1. Butenandt A. and Jacobi H (1933). Female sexual hormone preparation from plant tokokinin and its identification with α follicular hormone. *Zeitschrift für Physiologische Chemie* **218** : 104-112.
2. Gupta K. (1972). Aloes compound (α herbal drug) and functional sterility. XVI Indian Obstetrics and Gynaecology Congress, New Dehli.
3. Moundipa F.P., Kamtchoung P., Koueta N., Mbiapo F. and Tantchou J. 1993. Effects of aqueous extracts of *Hibiscus macranthus* and *Basella alba* Linn. In mature rat testis function. *Andrology in the nineties (Book of abstract)*. International Symposium on male infertility and assisted reproduction April 21-24, 1993, Gent, Belgium.
4. Telefo P.B., Moundipa F.P., Tchouanguep M.F. and Tchana A. 1998. Effect of an aqueous extract of *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Hibiscus macranthus*, *Dicliptera verticillata*, on some physiological and biochemical parameters of reproduction in immature female rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **63** (3) : 193-200
5. Telefo P.B., Moundipa F.P., Tchouanguep M.F. 2002. Oestrogency and effect on hepatic metabolism of the aqueous extract of the leaf mixture of *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* and *Justicia insularis*. *Fitoterapia*, **73** : 472 – 478.
6. Wang X.N. and Greenwald G.S. 1993. Hypophysectomy of the cyclic mouse II. Effects of Follicle Stimulating hormone (FSH) and Luteinizing Hormone on Folliculogenesis, FSH and Human Chorionic Gonadotrophin Receptors and steroidogenesis. *Biology of Reproduction* **48**: 595 – 605.
7. Evans H. M., Simpson M. E., Tolksdorf S. and Jensen H. 1939. Biological studies of the gonadotropic principles in sheep pituitary substances. *Endocrinology* **25**: 529 – 546.
8. Steelman S.L. and Pohley F.M. 1953. Assay of the Follicle Stimulating hormone based on the augmentation with human Chorionic Gonadotropin. *Endocrinology* **53**: 604 - 616.
9. Telefo P.B., Moundipa F.P. and Tchouanguep M.F. 2004. Inductive effect of the leaf mixture extract of *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Dicliptera verticillata* and *Hibiscus macranthus* on in vitro production of estradiol. *Journal of Ethnopharmacology*. **91** (2-3): 225 – 230.
10. Schwartz D. (1991). Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3^e Ed.. Flammarion, Médecine, Sciences. Paris. 306p.
11. Telefo P.B., Moundipa F.P. and Tchouanguep M.F. 2001. Influence de l'extrait aqueux de feuilles d' *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Hibiscus macranthus*, et *Dicliptera verticillata* sur la fertilité et quelques paramètres biochimiques de la reproduction chez la rate. *Journal of the Cameroon Academy of Science*. **1** (3): 144 – 150.
12. Rippel R.H. and Johnson E.S. 1976. Inhibition of hCG-induced ovarian and uterine weight augmentation in the immature rat by analogs of GnRH (39413). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **152**: 432 – 436.
13. Christiansen P. 1972. Studies on the rat ovarian augmentation method for Follicle Stimulating Hormone. *Acta Endocrinologica* **70** : 636 – 646.
14. Telefo P.B. 1998. Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cameroun : Influence de l'extrait aqueux du mélange de feuilles d'*Aloe buettneri* A. Berger (LILIACEES), *Dicliptera verticillata* G.J.H. Amshoff (ACANTHACEES), *Hibiscus macranthus* Hoscht ex. A. Rich (MALVACEES) et *Justicia insularis* T. Anders (ACANTHACEES) sur certains paramètres biochimiques et physiologiques de la fonction de la reproduction chez la ratte. *Thèse de Doctorat 3^e Cycle-Biochimie*. Université de Yaoundé I.. 159 p.