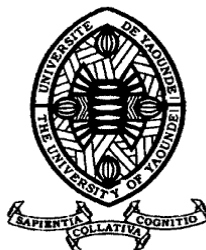


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING IN GRADUATE STUDIES IN
LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

DEPARTMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE

LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

**Effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis*
Benth. (Asteraceae) sur l'hypertension artérielle induite par la N^G-Nitro-L-
arginine-méthyl ester chez le rat mâle de souche Wistar**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des

Organismes Animaux

Option : Physiologie Animale

Par :

TSAFACK TAMBAKOUO Loïc Francel

Matricule: 21U2473

Licencié ès-sciences

Sous la Direction de :

ATSAMO Albert Donatien

Chargé de Cours (UY1)



Année 2023

DEDICACE

A mes parents

M. TSAFACK François Clotaire et Mme MIHITANG Marthe

REMERCIEMENTS

Je remercie le Dieu tout puissant de m'avoir donné la santé, la force, le courage et surtout la capacité d'accomplir ce travail.

La réalisation de ce travail a été possible grâce au concours de plusieurs personnes. Il me ravit également d'exprimer mes sincères remerciements :

Au Docteur **ATSAMO Albert Donatien**, mon directeur de recherche qui a proposé ce sujet, pour la confiance placée en moi, la documentation ainsi que la rigueur et le suivi tout au long de la réalisation de ce travail. Monsieur, trouvez en ces mots toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude ;

Aux Professeurs **KAMTCHOUING Pierre** et **DIMO Théophile** pour le plateau technique mis à notre disposition et les conseils scientifiques qui ont contribué à l'édification de ce travail ;

Au Professeur **BILANDA Danielle Claude** pour ses conseils et ses recommandations constructives ;

Au Docteur **METCHI DONFACK Mireille Flaure**, pour sa disponibilité et son assistance malgré ses multiples occupations. Merci pour votre gentillesse mais également pour vos recommandations constructives, votre rigueur au travail qui ont occupé une place de choix dans la réalisation de ce travail ;

Au Docteur **NGOUATEU Omer Bébé** pour ses conseils et encouragements ;

Aux enseignants du Département de Biologie et de Physiologie Animales pour les enseignements reçus ;

A **M. TCHAMBA** qui m'a aidé pour la récolte de la plante dans la localité de Bangangté ;

A tous mes aînés de laboratoire en particulier **M SONGMENE**, **M KAHOU Rivaldo**, **Mme KENGNE Ségolène**, **M TCHEUTCHOUA Yannick**, **M FIFEN Rodrigue**, **M MBOLANG Lohik**, **M TSAKEM Jaures**, **M OWONA Pascal**, **M. FOTSO Victor**, **AKONO Harold** pour leurs regards avisés et recommandation apportées tout au long de ce travail ;

A tous mes camarades de promotions principalement : **NOUKATE Antoine**, **TAYO Gabriel**, **PENDA Margueritte**, **MEKA'A ZANG Luc**, **TOUNKEU Duchelle**, **ATEUFACK Livana**, **FOTSING Igor**, **Ntep Jordan**, **AHMAT Mahamat**, **BOUYAP Josette**, **NZIE Marie**, **WAKOU Clément**, **TCHEUDI Balthazar**, **Mimosette**, **Sandrine**, **ADINGA Dilane**, **BADOUANA Jessey**, pour leurs aides et assistances à chaque étape de ma manipulation ;

A ma tante **Lekane Elisabeth** pour son soutien spirituel moral et matériel ;

A mes amis et particulièrement **NGOUFACK Steve, ZANGUE Romeo, ASAHAFUO Junior et MEKOUGUEM Miriam** qui n'ont eu de cesse de m'encourager.

A mes frères sœurs, **Leonel, Harrys, Leslie, Dylan, Nadia, Mégane, Estelle et Gwladys** pour le soutien moral qu'ils n'ont cessé de m'apporter ;

A toute ma famille et tous ceux qui ne sont pas cités ici pour le soutien et les encouragements tout au long de mon parcours académique.

SOMMAIRE

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE.....	iv
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES ABREVIATIONS	ix
RESUME	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1- Organisation du système cardiovasculaire	3
I.1.1- Le cœur	3
I.1.2- Les vaisseaux sanguins	3
I.1.3- Le sang	5
I.1.5- Notion de pression artérielle	6
I.1.5- Régulation de la pression artérielle	6
I.2- Hypertension artérielle.....	9
I.2.1- Définition et prévalence.....	9
I.2.2- Etiologie de l'hypertension artérielle	9
I.2.3- Facteurs de risques	10
I.2.4- Complications de l'hypertension artérielle	10
I.3- Modèles expérimentaux de l'hypertension artérielle	11
I.3.1- Modèles génétiques de l'hypertension artérielle	11
I.3.2- Modèles chirurgicaux d'hypertension	11
I.3.3- Modèles pharmacologiques d'hypertension	11

I.3.4-Modèles nutritionnelles d’hypertension	11
I.4.1- L-NAME et dysfonction endothéliale.....	12
I.4.2- L-NAME et stress oxydatif	12
I.4.3-L-NAME et fonction cardiaque.....	13
I.4.4- L-NAME et fonction rénale	13
I.4.5- L-NAME et dyslipidémie	13
I.5- Prise en charge de l’hypertension artérielle	14
I.5.1-Traitement non pharmacologique : mesures hygiéno-diététiques	14
I.5.2- Traitement pharmacologique	14
I.6- Phytothérapie et hypertension artérielle	15
I.7- Plantes : <i>Vernonia guineensis</i>	15
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	17
II.1- Matériel	17
II.1.1- Matériel animal	17
II.1.2- Matériel végétal	17
II.2- Méthodes	17
II.2.1- Préparation de l’extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i>.....	17
II.2.2- Préparation des solutions d’extrait de <i>Vernonia guineensis</i>	18
II.2.3- Préparation des différentes solutions	18
II.2.4-Protocole expérimental	18
II.2.5- Collecte des urines.....	19
II.2.6- Evaluation de la variation pondérale des animaux et de la masse relative des organes	19
II.2.7- Enregistrement des paramètres hémodynamiques	20
II.2.8- Evaluation des effets de l’extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques paramètres biochimiques sériques	22
II.2.9- Evaluation des effets de l’extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques paramètres biochimiques urinaires.....	27

II.2.10- Evaluation des effets de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques paramètres biochimiques tissulaires du statut oxydant	29
II.2.11-Analyse histologique.....	31
II.2.12- Analyse statistique des résultats	33
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	34
III.1- Résultats	34
III.1.1- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur la variation du poids corporel	34
III.1.2- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque	34
III.1.3- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur les marqueurs de la fonction rénale....	35
III.1.4- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur les quelques marqueurs de la fonction hépatique	36
III.1.5- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques les paramètres du profile lipidique.....	37
III.1.6- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques marqueurs tissulaires du statut oxydant	38
III.1.7- Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur l'histologie du foie, des reins, du cœur et de l'aorte	40
III.2- Discussion	41
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	44
REFERENCES.....	45
ANNEXES	a

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coupe longitudinale du cœur : vue antérieure interne .	3
Figure 2: Structure de la paroi vasculaire	4
Figure 3: Organisation schématique de l'appareil circulatoire	5
Figure 4: Rôle du système rénine-angiotensine-aldostérone dans la régulation de la pression artérielle	8
Figure 5: Equilibre entre facteurs vasoactifs de l'endothélium	12
Figure 6: Photographies de la plante entière (A) et des racines (B) de <i>Vernonia guineensis</i>	17
Figure 7: Dispositif des cages métaboliques	19
Figure 8: Dispositif d'enregistrement de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque	21
Figure 9: Effets de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i> sur la variation de poids corporel	34
Figure 10: Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque	35
Figure 11: Effets de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques marqueurs du statut oxydant	39
Figure 12: Photographies du foie, du rein, du cœur (ventricule gauche) et de l'aorte (X250) ; Coloration à l'hématoxyline-éosine	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Protocole de dosage des transaminases.....	22
Tableau II : Protocole de dosage de Lactate déshydrogénase.....	23
Tableau III : Protocole de dosage du cholestérol total.....	23
Tableau IV : Protocole de dosage des triglycérides	24
Tableau V : Protocole de dosage du HDL-Cholestérol	25
Tableau VI: Protocole de dosage de la bilirubine.	26
Tableau VII : Protocole de dosage de la créatinine.....	26
Tableau VIII: Protocole de dosage des ions sodium.....	28
Tableau IX: Protocole de dosage du potassium	28
Tableau X: Batterie de déparaffinage.....	33
Tableau XI: Etapes de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine	33
Tableau XII : Effets de l'extrait de <i>Vernonia guineensis</i> sur les marqueurs de la fonction rénale.....	36
Tableau XIII : Effets de l'extrait de <i>Vernonia. guineensis</i> sur les marqueurs de la fonction hépatique	37
Tableau XIV : Effets de <i>Vernonia guineensis</i> sur quelques les paramètres du profile lipidique	38

LISTE DES ABREVIATIONS

CA :	Coefficient athérogène
CAPTO	Captopril
DC :	Débit cardiaque
DFG :	Débit de filtration glomérulaire
DOCA :	Désoxycorticostérone
EHVG :	Extrait hydro-éthanolique de <i>Vernonia guineensis</i>
EROs :	Espèces réactives oxygénées
FC :	Fréquence cardiaque
GMPC :	Guanosine monophosphate cyclique
GSH :	Glutathion réduit
HDL :	« <i>Hight density lipoprotein</i> »
HTA :	Hypertension artérielle
IC :	Index athérogène
IRC :	Index du risque coronarien
LDH	Lactate déshydrogénase
LDL:	“ <i>Low density lipoprotein</i> ”
L-NAME:	N ^G -Nitro-L-arginine-methyl ester
LNMA :	N ^G monométhyl L’arginine
MDA :	Malondialdéhyde
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NO :	Monoxyde d’azote
NOS :	Monoxyde synthase
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PA :	Pression artérielle
PAD :	Pression artérielle diastolique
PAM :	Pression artérielle moyenne
PAS :	Pression artérielle systolique
RVP :	Résistances vasculaires périphériques
SRAA :	Système rénine-angiotensine-aldostérone
T Nor :	Témoin normal
TC :	Cholestérol total
TG :	Triglycérides
VD :	Ventricule droit
VG. :	Ventricule gauche
VLDL:	“ <i>Very low densiy lipoprotein</i> ”
VS:	Volume systolique

RESUME

L'hypertension artérielle (HTA) est reconnue comme premier facteur de risque de survenue de plusieurs maladies cardiovasculaires. La prise en charge de l'HTA est très délicate du fait de plusieurs comorbidités qui l'accompagnent. Les médicaments utilisés dans le contrôle de l'HTA sont de moins en moins tolérés par les patients. De plus, l'inaccessibilité de ces médicaments et leur efficacité mitigée sont des motivations qui poussent les populations à se tourner vers de nouvelles alternatives thérapeutiques telles que la phytothérapie dans la prise en charge de l'HTA. *Vernonia guineensis* est une plante traditionnellement utilisée dans l'Ouest du Cameroun pour le traitement de plusieurs maladies parmi lesquelles l'hypertension artérielle. La présente étude avait pour but d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* (EHVG) sur l'hypertension induite par la N^G-Nitro-L-arginine-méthyl ester (L-NAME). Pour ce faire, trente-quatre rats mâles de souche Wistar ont été randomisés et répartis en cinq lots et traités quotidiennement pendant vingt-un jours de la manière suivante : un lot témoin normal recevant la solution saline (5 mL/kg,*ip* et 10 mL/kg,*p.o*); un lot négatif recevant en plus de la solution saline (10 mL/kg,*p.o*), une dose intrapéritonéale de L-NAME (25 mg/kg,*ip*) ; un lot témoin positif traité simultanément au captopril (20 mg/kg,*p.o*) et à la L-NAME. Les deux autres lots recevaient quotidiennement par voie orale, l'extrait hydro-éthanolique de racines aux dose de 125 mg/kg et de 250 mg/kg respectivement en plus de la L-NAME (25 mg/kg,*ip*). Au dix-huitième jour du traitement, les animaux ont été placés dans les cages métaboliques pour une durée d'acclimatation de 72 heures et les urines des 24 dernières heures ont été recueillies pour les analyses biochimiques. Le vingt-deuxième jour, la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats ont été enregistrées par la méthode invasive directe. Les animaux ont par la suite été sacrifiés, le sang ainsi que les organes tels que le cœur, l'aorte le foie et les reins ont été prélevés. Le sang recueilli a servi pour les analyses biochimiques. Les organes prélevés ont été utilisés pour l'analyse histologique et le dosage des marqueurs du stress oxydant. L'administration de l'extrait de *Vernonia guineensis* aux différentes doses a prévenu de façon significative l'augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle systolique, diastolique et moyenne en comparaison au groupe L-NAME. L'EHVG a prévenu la dyslipidémie et l'augmentation des taux sériques des marqueurs de la fonction hépatique observée dans le groupe traité à la L-NAME uniquement. L'extrait de *Vernonia guineensis* a empêché aussi bien la baisse du débit de filtration glomérulaire que celle de la natriurèse et de la diurèse. L'administration de l'extrait de *V. guineensis* a empêché l'installation du stress oxydant et des altérations histologiques observés chez les rats traités uniquement à la L-NAME. Ces résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* possède des effets antihypertenseurs sur l'hypertension induite par la L-NAME. Ces effets seraient liés à leurs propriétés antioxydante, hypolipémiante et néphroprotectrice. Ceci justifierait donc utilisation des racines de *Vernonia guineensis* en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle.

Mots clés : *Vernonia guineensis*, Hypertension, L-NAME, Dysfonction endothéliale, Stress oxydant

ABSTRACT

Arterial hypertension (AH) is recognized as the leading risk factor for the onset of several cardiovascular diseases. The management of hypertension is very delicate, due to the many comorbidities that accompany it. The drugs used to control hypertension are less and less tolerated by patients. What's more, the inaccessibility of these drugs and their mixed efficacy are motivating people to turn to new therapeutic alternatives such as phytotherapy in the management of hypertension. *Vernonia guineensis* is a plant traditionally used in West Cameroon for the treatment of several diseases, including arterial hypertension. The aim of the present study was to evaluate the effects of the hydroethanolic extract of *Vernonia guineensis* roots (EHVG) on hypertension induced by N^G-Nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME). Thirty-four male Wistar rats were randomized into five batches and treated daily for twenty-one days as follows: a normal control batch received saline (5 mL/kg,*ip* and 10 mL/kg,*p.o*); a negative control batch received, in addition to saline (10 mL/kg,*p.o*), an intraperitoneal dose of L-NAME (25 mg/kg,*ip*); a positive control batch was treated simultaneously with captopril (20 mg/kg,*p.o*) and L-NAME. The other two batches received daily oral hydroethanolic root extract at doses of 125 mg/kg and 250 mg/kg respectively, in addition to L-NAME (25 mg/kg,*ip*). On the eighteenth day of treatment, the animals were placed in the metabolic cages for a 72-hour acclimatization period, and urine from the previous 24 hours was collected for biochemical analysis. On the twenty-second day, the rats' blood pressure and heart rate were recorded using the direct invasive method. The animals were then sacrificed, and blood and organs such as the heart, aorta, liver and kidneys were removed. The blood collected was used for biochemical analysis. The harvested organs were used for histological analysis and the determination of oxidative stress markers. Administration of *Vernonia guineensis* extract at different doses significantly prevented increases in heart rate and systolic, diastolic and mean arterial pressure compared with the L-NAME group. EHVG prevented dyslipidemia and the increase in serum levels of liver function markers observed in the L-NAME group only. *Vernonia guineensis* extract prevented a fall in glomerular filtration rate, natriuresis and diuresis. Administration of *V. guineensis* extract prevented the onset of oxidative stress and histological changes observed in rats treated with L-NAME alone. These results show that the hydroethanolic extract of *Vernonia guineensis* roots has antihypertensive effects on L-NAME-induced hypertension. These effects are linked to their antioxidant, lipid-lowering and nephroprotective properties. This would justify the use of *Vernonia guineensis* roots in traditional medicine for the treatment of arterial hypertension.

Key words: *Vernonia guineensis*, Hypertension, L-NAME, Endothelial dysfunction, Oxidative stress

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle (HTA) est définie comme une élévation permanente de la pression artérielle systolique/diastolique supérieure ou égale à 140/90mmHg (OMS, 2021). Selon l'OMS, environ 1,3 milliard de personnes adultes dans le monde souffre d'hypertension artérielle et ce chiffre d'après les prévisions devrait passer à 1,5 milliard d'ici 2025 (Elnaem *et al.*, 2022) si rien n'est fait. La prévalence de l'hypertension artérielle est sans cesse grandissante en Afrique et plus particulièrement dans les pays d'Afrique sub-saharienne où elle affecte 46 % des personnes adultes (Keith *et al.*, 2020). Au Cameroun, une étude menée par Defo *et al.*, 2019 a montré que près de 30,9 % de la population souffrait d'hypertension artérielle. Les causes de l'HTA peuvent être connues et bien définies : on parle d'hypertension artérielle secondaire, représentant 10% des cas d'HTA. Elles peuvent également être mal connues et le développement de la maladie se fait le plus souvent de manière asymptomatique : c'est le cas de l'HTA dite « essentielle » que l'on retrouve chez 90% des sujets hypertendus (Borel., 1999). Cette dernière est à l'origine de la survenue de 60% des accidents vasculaires cérébraux, 47 % des ischémies cardiaques, et également des complications rénales (Jordan *et al.*, 2018 ; Wajngarten et Silva, 2019). L'HTA est responsable de la mort d'environ neuf millions de personnes dans le monde chaque année (Elnaem *et al.*, 2022). La grande majorité des patients souffrants d'hypertension artérielle essentielle présentent une dysfonction endothéliale impliquant une baisse de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO). Le NO joue un rôle important dans le maintien du tonus vasculaire et de l'homéostasie du système cardiovasculaire (Bernatova, 2014). L'inhibition de sa synthèse est à l'origine d'un déséquilibre entre la production des facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs en faveur des derniers, ce qui est responsable d'une élévation de la pression artérielle. Ainsi, l'inhibition de la synthèse du NO par un analogue de la L-arginine comme la N^G-Nitro-L-arginine méthyl-ester (L-NAME) constitue un modèle expérimental d'étude de l'hypertension artérielle et d'évaluation des effets antihypertenseurs de nouvelles molécules (Leong *et al.*, 2015). A ce jour, plusieurs classes de médicaments sont utilisés dans la prise en charge de l'HTA au premier rang desquelles les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, ensuite les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, les antagonistes calciques, les diurétiques et enfin les bêtabloquants (Kichou *et al.*, 2019). Les patients souffrant d'HTA sont soumis à la prise de ces médicaments tout au long de leur vie, ce qui est à l'origine de plusieurs effets secondaires tels que l'hyperkaliémie, l'apparition des œdèmes périphériques et le risque d'hypotension artérielle (Jordan *et al.*, 2018). Dès lors, il devient important de se tourner vers des molécules alternatives largement tolérées par les populations, plus accessibles et plus efficaces dans le contrôle et la prise en charge de l'hypertension artérielle et de ses complications. Face à ce défi, l'OMS conscient du fait que 80 % des populations sont tributaires de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie en particulier pour leur besoin de santé primaire, prescrit l'adoption de nouvelles stratégies thérapeutiques dont la recherche

sur les plantes médicinales, afin de promouvoir leur utilisation (OMS, 2013). La flore africaine regorge de plusieurs plantes utilisées traditionnellement dans le traitement des maladies cardiovasculaires. Plusieurs extraits de ces plantes à l'exemple de *Bidens pilosa* (Bilanda *et al.*, 2017), *Fagara tessmannii* (Fouda *et al.*, 2020) et *Vitex cienkowski* (Metchi *et al.*, 2021) ont montré des effets antihypertenseurs dans le modèle d'inhibition de la synthèse du monoxyde d'azote. *Vernonia guineensis* communément appelée « Ginseng » est une plante de la famille des Asteraceae largement répandue dans l'Ouest du Cameroun. Les plantes du genre *Vernonia* (*Vernonia amygdalina* et *Vernonia adoensis*) se sont révélées être des sources importantes de phytostérols, flavonoïdes, polyphénols et de glycosides cardiaque (Asaolu *et al.*, 2010 ; Thangiah et Obey, 2013). De même, une étude phytochimique a révélée dans l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* la présence des flavonoïdes, des polyphénols et des tanins (Nana *et al.*, 2023) ; des phytostérols (β -sitostérols, stigmastérol, β -sitostérol 3-O- β -D-glucoside et stigmastérol 3-O- β -D-glucoside), des triterpénoides et d'anthraquinones (Donfack *et al.*, 2012 ; Wouamba *et al.*, 2019). Ces composés sont connus pour leurs effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire, en améliorant la biodisponibilité du monoxyde d'azote (Witkowska *et al.*, 2022). Au vu de ce qui précède, il se pose la question de savoir si *Vernonia guineensis* pourrait avoir des propriétés bénéfiques contre des maladies cardiovasculaires impliquant une baisse de la biodisponibilité du NO comme l'hypertension artérielle ? De cette question de recherche découle l'hypothèse selon laquelle l'extrait hydro-éthanolique des racines possèderaient des effets antihypertenseurs sur l'hypertension induite par la L-NAME.

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* sur l'hypertension artérielle induite par la L-NAME chez le rat.

Il était plus spécifiquement question d'évaluer les effets de cet extrait sur :

- les paramètres hémodynamiques (pression artérielle, fréquence cardiaque) chez le rat hypertendus ;
- quelques paramètres biochimiques (profil lipidique, stress oxydant, marqueurs de la fonction hépatique et rénale) ;
- la microarchitecture du cœur, de l'aorte, des reins et du foie des rats hypertendus.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1- Organisation du système cardiovasculaire

Le système cardiovasculaire est principalement constitué du cœur, des vaisseaux sanguins et du sang. Sa fonction principale est d'approvisionner les cellules en nutriments et d'éliminer les déchets issus du métabolisme cellulaire (Guyton et Hall, 2006). Le système cardiovasculaire est également couplé à un système de conduction participant activement à la bonne marche de l'organisme. Il s'agit du système lymphatique comportant un réseau vasculaire lymphatique important et de la lymphe (Marieb, 1999).

Dans le système cardiovasculaire, le cœur se trouve au centre. Les vaisseaux sanguins (artères, artérioles, veinules et veines) servent de conduits au passage du sang (Marieb, 1999).

I.1.1- Le cœur

Le cœur est un organe musculaire creux dont la taille est à peu près celle d'un poing fermé. Il est situé dans la cavité thoracique plus précisément dans le médiastin antérieur. Il est divisé en deux parties (droite et gauche) constituées chacune de deux cavités (oreillettes et ventricules) dans laquelle le sang circule (Figure 1). La paroi du cœur comprend trois couches tissulaires de l'extérieur vers l'intérieur : l'épicarde, le myocarde et l'endocarde. Le cœur est spécialisé dans la propulsion du sang à travers les vaisseaux sanguins, qui servent de conduit au passage du sang (Marieb, 1999).

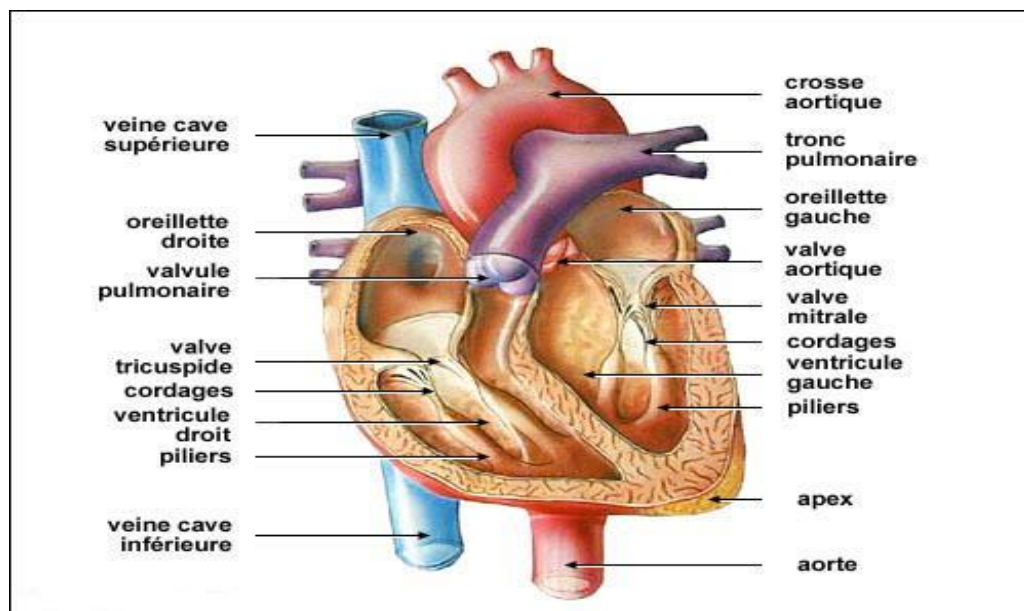


Figure 1: Coupe longitudinale du cœur : vue antérieure interne (Guyton et Hall, 2006).

I.1.2- Les vaisseaux sanguins

Les vaisseaux sanguins forment un système clos (Figure 2) de conduit qui transportent le sang loin du cœur, l'acheminent jusqu'aux tissus de l'organisme (artères) puis le retournent au cœur

(veines). Le réseau vasculaire comporte les artères, les artérioles, les capillaires, les veinules et les veines (Guyton et Hall, 2006).

➤ Les artères

Les artères sortent du cœur et transportent le sang oxygéné vers les tissus. Ils sont constitués de 3 couches que sont de l'intérieur vers la périphérie l'intima (couche interne) : elle constitue l'épithélium des vaisseaux (endothélium) et ses cellules reposent sur une membrane. La média (couche moyenne) : elle confère aux vaisseaux deux propriétés importantes à savoir la contractilité et l'élasticité. Cette couche a la particularité d'être innervée par les fibres du système sympathique. Et l'adventice (couche externe) : elle est constituée de tissus fibreux et de fibres de collagènes qui recouvrent et protègent les vaisseaux. (Guyton et Hall, 2006).

➤ Les veines

Les veines sont composées essentiellement des mêmes couches que les artères (Figure 2), mais l'épaisseur relative de ces couches varie extrêmement. La tunique interne tout comme la tunique moyenne est mince alors que la tunique externe est beaucoup plus épaisse en comparaison aux couches des artères (Guyton et Hall, 2006).

➤ Les capillaires

Les capillaires sont les plus petits vaisseaux sanguins et le siège des échanges de nutriments et de gaz entre le sang et les tissus (Marieb, 1999).

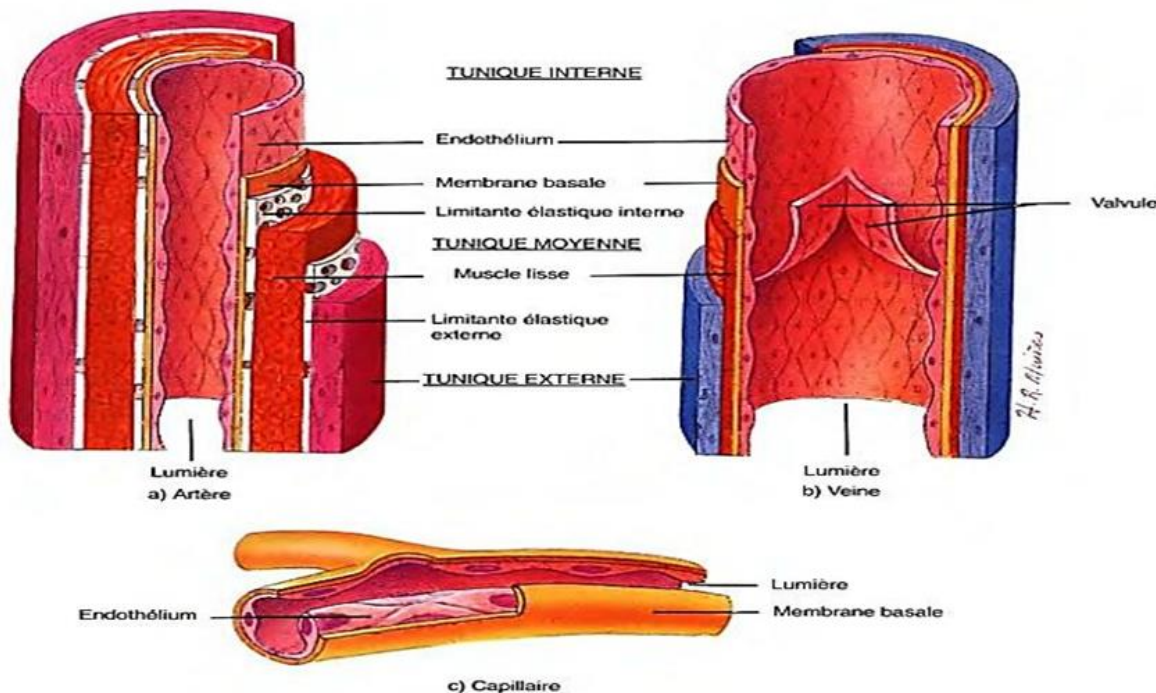


Figure 2: Structure de la paroi vasculaire (Tortora et Grabowski, 1994)

I.1.3- Le sang

Le sang est un tissu conjonctif circulant composé de plasma, dans lequel baignent les cellules (globules rouges, globules blancs et plaquettes). Le sang est le moyen de transport du corps utilisé pour transporter des éléments (nutriments et gaz respiratoires) d'un endroit à un autre au moyen des vaisseaux sanguins (Guyton et Hall, 2006).

I.1.4- Circulation sanguine

La circulation sanguine est composée d'une circulation systémique et d'une circulation pulmonaire (Figure 3). La circulation pulmonaire, issue du cœur droit, permet les échanges respiratoires avec les poumons. Le sang (pauvre en oxygène et riche en gaz carbonique) quitte le cœur par l'artère pulmonaire, passe dans les réseaux des capillaires pulmonaires, où il y a des échanges de gaz avec l'air contenu dans les alvéoles pulmonaires puis retourne au cœur gauche par les veines pulmonaires.

La circulation systémique, issue du cœur gauche, permet les échanges avec tous les autres organes. Le sang (riche en oxygène et pauvre en gaz carbonique) quitte le cœur par l'artère aorte, il est conduit dans les capillaires de tous les organes du corps, puis retourne au cœur droit par les veines caves (Sherwood, 2006).

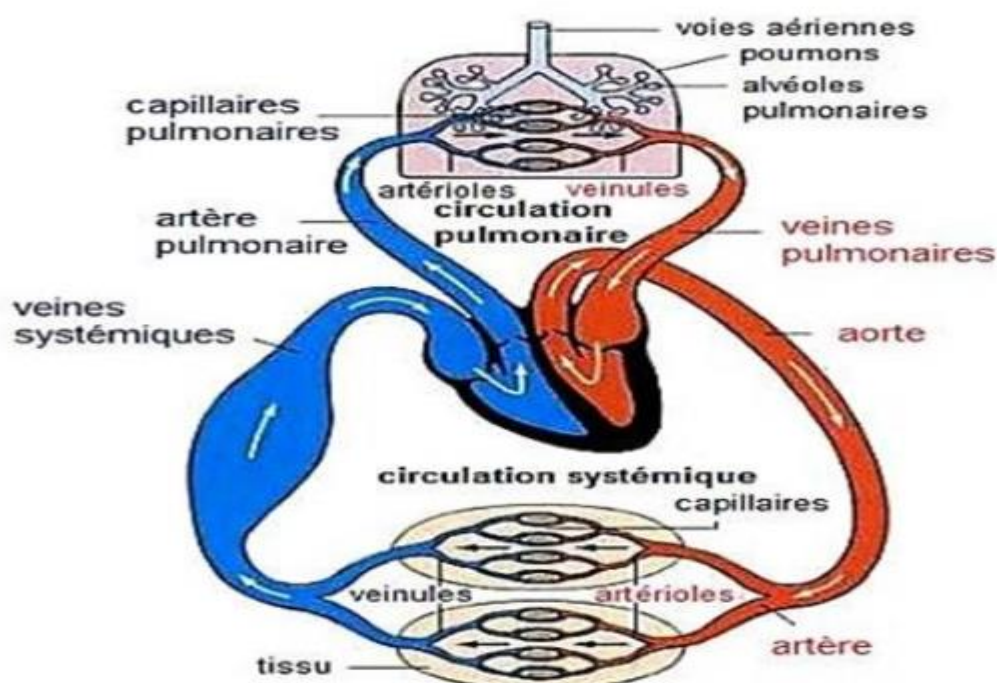


Figure 3: Organisation schématique de l'appareil circulatoire (Sherwood, 2006)

Au cours de son passage à travers les vaisseaux sanguins (artères), le sang exerce une force (pression) sur les parois artérielles. Cette pression est appelée pression artérielle.

I.1.5- Notion de pression artérielle

La pression artérielle (PA) est la force par unité de surface que le sang exerce sur la paroi des artères (Marieb, 1999). Elle atteint son point le plus élevé dans l'aorte et les grosses artères systémiques lors de la systole (contraction ventriculaire) et chute à son point le plus bas lors de la diastole (relaxation ventriculaire) (Therrien, 2005). Deux facteurs fondamentaux déterminent la PA selon l'équation ci-dessous : le débit cardiaque (DC) et la résistance périphérique (RVP).

$$PA = DC \times RVP \text{ (Marieb, 1999).}$$

- **Le débit cardiaque**

Le débit cardiaque est la quantité de sang propulsée par le ventricule gauche en une minute (5,5L en moyenne). Il équivaut au volume systolique (VS), qui est la quantité de sang expulsée par la contraction du ventricule gauche à chaque systole (70-80 mL), multiplié par la fréquence cardiaque (FC), c'est-à-dire le nombre de battements cardiaques par minutes.

$$DC \text{ (mL/min)} = VS \text{ (mL/battement)} \times FC \text{ (battements/min)} \text{ (Marieb, 1999).}$$

- **La résistance périphérique**

La résistance périphérique est la force que les vaisseaux sanguins systémiques opposent à l'écoulement du sang. Les plus petits vaisseaux tels que les artérioles sont ceux qui offrent le plus de résistance. En changeant de diamètre, ils jouent un rôle important dans la régulation de la résistance périphérique, de la pression artérielle et du débit sanguin tissulaire (Therrien, 2005).

La pression artérielle au repos est l'une des grandeurs hémodynamiques les plus stables : elle varie rarement de plus de ± 10 mmHg autour de la valeur moyenne. Elle est donc étroitement régulée par des mécanismes efficaces qui interfèrent entre et en déterminent sa valeur définitive

I.1.5- Régulation de la pression artérielle

La régulation de la pression artérielle se fait en deux phases : à court terme et à long terme.

I.1.5.1- Régulation à court terme

La régulation à court terme de la pression artérielle est contrôlée par le système nerveux autonome (Therrien, 2005). Les changements de pression artérielle sont détectés par les barorécepteurs

I.1.5.1.1- Mécanisme nerveux

Le système nerveux central joue un rôle important dans le contrôle de la pression artérielle. En régulant l'activité du système nerveux autonome et la relâche d'hormones dans le sang, le système nerveux central modifie rapidement la pression artérielle ainsi que la fréquence cardiaque maintenant

l'homéostasie cardiovasculaire. Le centre réflexe de son contrôle est situé dans le noyau réticulaire rostral ventro-latéral (RVL) de la *medulla oblongata*, parfois appelé centre de contrôle vasomoteur et est associé aux barorécepteurs et aux chimiorécepteurs (Therrien, 2005).

➤ **Barorécepteurs**

Les barorécepteurs carotidiens et aortiques agissent aux variations de la PA pour stimuler ou inhiber la décharge sympathique ou parasympathique. Lorsque la pression artérielle baisse, les barorécepteurs s'étirent moins et émettent leurs influx nerveux plus lentement vers le RVL. Ce dernier réagit en diminuant la stimulation parasympathique du cœur et en augmentant la stimulation sympathique conduisant à l'élévation de la fréquence cardiaque et donc de la pression artérielle (Therrien, 2005).

➤ **Chimiorécepteurs**

Les chimiorécepteurs surveillent la composition chimique du sang et peuvent également modifier l'homéostasie cardiovasculaire. Ils sont situés près des barorécepteurs du sinus carotidien et de l'arc aortique. Ils ont pour fonction de détecter les variations de la concentration sanguine d'O₂, de CO₂ et d'ions H⁺. Ainsi, l'hypoxie (baisse du taux d'O₂), l'acidose (augmentation de la concentration d'ions H⁺) ou l'hypercapnie (excès de CO₂) stimulent les chimiorécepteurs pour qu'ils transmettent des influx au RVL. Ce dernier réagit en augmentant la stimulation sympathique du cœur et augmentant ainsi la PA (Therrien, 2005).

I.1.5.1.2- Mécanismes hormonaux

Certains facteurs hormonaux contribuent également à la régulation de la pression artérielle et du débit sanguin en modifiant le débit cardiaque, la résistance périphérique ou le volume sanguin total (Therrien, 2005).

- Adrénaline et noradrénaline

L'adrénaline et la noradrénaline sont deux hormones de la médullosurrénale qui accroissent le débit cardiaque en augmentant la fréquence et la force des contractions cardiaques (Therrien, 2005).

- Hormone antidiurétique

L'hormone antidiurétique est produite par l'hypothalamus et libérée par la neurohypophyse. Nommée également vasopressine, l'hormone antidiurétique favorise la rétention d'eau (anti diurèse), l'augmentation du volume circulant contribuant ainsi à l'élévation de la PAS (Therrien, 2005).

- Peptide natriurétique auriculaire

Le peptide natriurétique auriculaire est libéré par des cellules dans les oreillettes du cœur, le peptide natriurétique auriculaire abaisse la pression artérielle en causant une vasodilatation et en favorisant l'excrétion de sodium et d'eau dans l'urine, ce qui réduit le volume sanguin (Therrien, 2005).

I.1.5.2- Régulation à long terme

Le système rénine-angiotensine-aldostérone est l'un des systèmes majeurs de régulation de la pression artérielle. Si la pression artérielle baisse, la pression dans l'artère afférente du glomérule, en réponse, va diminuer. Cette diminution est détectée par le système juxta-glomérulaire, ce qui entraîne une sécrétion de rénine. La rénine va transformer l'angiotensinogène produite par le foie en angiotensine I (figure 4). C'est ensuite l'enzyme de conversion produite par les poumons qui va transformer l'angiotensine I (molécule inactive) en angiotensine II (molécule active) et qui d'autre part inactive les bradykinines (système vasodilatateur). L'angiotensine II va agir au niveau rénal, qui va permettre d'augmenter la rétention hydrosodée et d'élever la PA, ce qui, par feedback négatif, va alors diminuer la sécrétion de rénine (Disarbois, 2021).

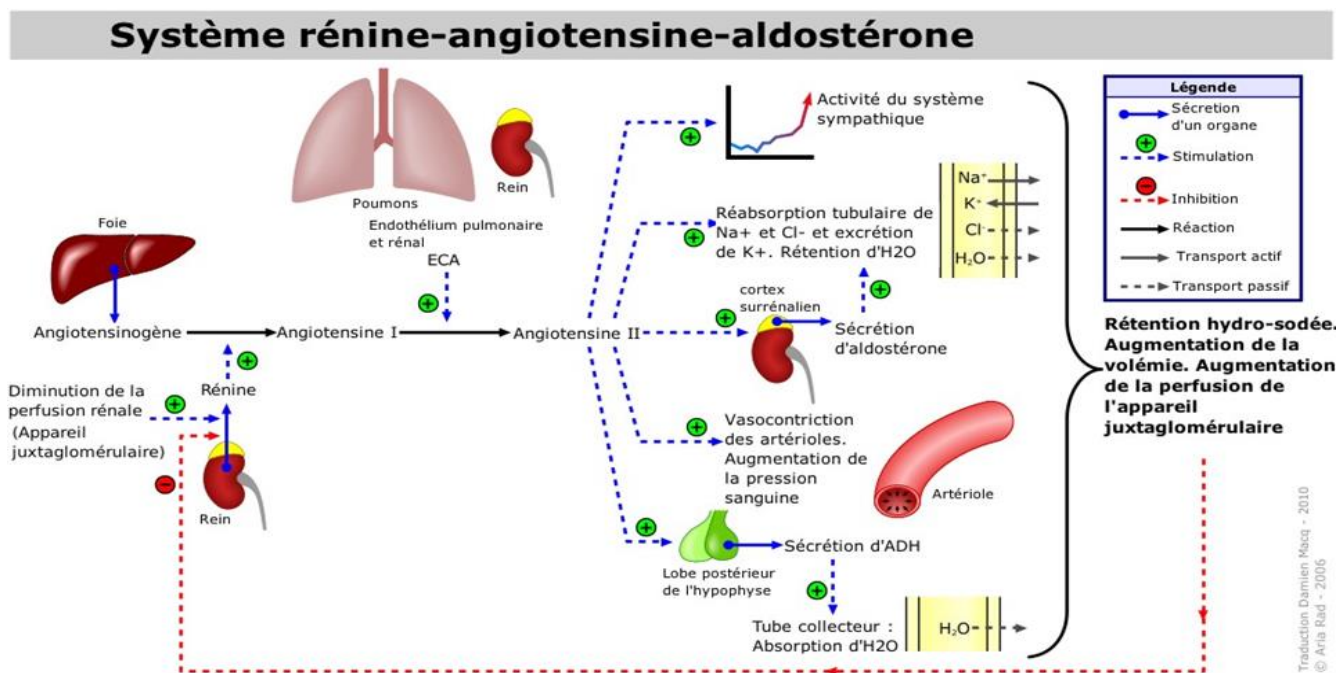


Figure 4: Rôle du système rénine-angiotensine-aldostérone dans la régulation de la pression artérielle (Disarbois, 2021).

Un dysfonctionnement des mécanismes de régulation de la pression artérielle peut entraîner une élévation anormale des valeurs tensionnelles, et conduire à la survenue de l'hypertension artérielle.

I.2- Hypertension artérielle

I.2.1- Définition et prévalence

L'hypertension artérielle (HTA) est définie par élévation permanente de la pression artérielle systolique (PAS) supérieure à 140 mmHg et de la pression artérielle diastolique (PAD) supérieure à 90 mmHg (OMS, 2021).

L'hypertension artérielle est une maladie largement répandue dans le monde. Selon l'OMS, elle touche à peu près 1,3 milliard de la population mondiale adulte. Ce chiffre d'après les prévisions devrait passer à 1,5 milliard d'ici 2025 si rien n'est fait (Elnaem *et al.*, 2022). L'HTA, généralement associée aux complications cardiovasculaires comme l'insuffisance cardiaque, les accidents vasculaires cérébraux et les maladies rénales, serait responsable chaque année de la mort de plus de 9 millions de personnes à travers le monde (Keith *et al.*, 2020). Elle est très présente en Afrique notamment dans les pays d'Afrique sub-saharienne où elle touchait environ 46 % des personnes adultes. Au Cameroun, elle est beaucoup plus importante en milieu urbain avec près de 30, 9 % de la population adulte touchée (Defo *et al.*, 2019).

I.2.2- Etiologie de l'hypertension artérielle

On distingue selon l'étiologie deux types d'hypertension artérielle : l'hypertension artérielle essentielle et l'hypertension artérielle secondaire (Borel, 1999).

I.2.2.1- Hypertension artérielle primaire ou essentielle

L'hypertension artérielle dite « essentielle » se développe la plupart du temps de manière asymptomatique et représente 90 % des cas d'hypertension (Goïta *et al.*, 2020). Bien que les causes soient mal connues, certaines études suggèrent que l'HTA dite essentielle est caractérisée par une dysfonction endothéliale marquée par une réduction de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) avec pour conséquence l'augmentation chronique de la pression artérielle (Leong *et al.*, 2015).

I.2.2.2- Hypertension artérielle secondaire

L'hypertension artérielle dite « secondaire » correspond à moins de 10 % des cas d'hypertension. Les causes d'HTA secondaire sont multiples, regroupant des pathologies endocriniennes, rénales, vasculaires, respiratoires, tumorales, médicamenteuses ou toxiques (Disarbois, 2021).

Bien que l'hypertension artérielle soit d'origine peu connue, plusieurs facteurs augmentent le risque de développer une hypertension artérielle.

I.2.3- Facteurs de risques

I.2.3.1- Facteurs de risques non modifiables

La pression artérielle ainsi que la prévalence de l'HTA augmentent en fonction de certains facteurs non contrôlables comme :

- **l'âge** : il se caractérise par un durcissement des parois artérielles en raison du remplacement progressif des fibres élastiques par des fibres de collagène pendant le vieillissement;
- **le sexe** : l'HTA est plus fréquente chez l'homme que chez la femme non ménopausée en raison de la présence chez cette dernière d'un bagage oestrogénique qui la protège des maladies cardiovasculaires. Toutefois cette tendance tend à s'équilibrer après la ménopause avec la chute du taux d'œstrogènes chez la femme ;
- **les antécédents familiaux** : une histoire familiale d'hypertension artérielle ou de maladie cardiovasculaire prédispose à un risque de développer une hypertension artérielle (Disarbois, 2021).

I.2.3.1- Facteurs de risques modifiables

- **La consommation d'alcool** : une consommation chronique d'alcool favorise la prise de poids et active le système nerveux sympathique. L'alcool diminue l'efficacité de la plupart des traitements antihypertenseurs ;
- **Le tabagisme** : à long terme, le tabac conduit à une détérioration des artères, d'autant plus rapide s'il est associé à un autre risque cardio-vasculaire ;
- **Le régime alimentaire** : éviter l'excès de sel dans l'alimentation ;
- **La sédentarité** : Pour réguler et faire baisser la tension artérielle, il est recommandé de pratiquer régulièrement une activité physique d'intensité faible à modérée et de longue durée (Disarbois, 2021).

I.2.4- Complications de l'hypertension artérielle

L'HTA est un des principaux facteurs de risque de mortalité ou de morbidité cardiovasculaire. Les conséquences de l'HTA non contrôlée à moyen/long terme sont multiples et graves (Jordan *et al.*, 2018). Elle serait responsable de plusieurs atteintes notamment : les atteintes cardiaques, les atteintes des gros vaisseaux, les atteintes cérébro-vasculaires et les atteintes rénales (Jordan *et al.*, 2018 ; Wajngarten et Silva, 2019).

- **Complications cardiaques** : L'hypertension artérielle est responsable de la survenue de 40 % des cas d'hypertrophie ventriculaire gauche et 47 % des cas d'ischémies cardiaques (Jordan *et al.*, 2018).
- **Complications cérébro-vasculaires** : L'HTA est la première cause d'accidents vasculaires cérébraux : 60% des accidents vasculaires cérébraux sont attribuables à l'HTA. Les hypertendus ont un risque de

faire un accident vasculaire cérébral 3 à 4 fois supérieure aux sujets normotendus (Wajngarten et Silva, 2019).

- **Complications rénales :** L'élévation de la PA est un facteur de risque indépendant de développer une insuffisance rénale chronique. La diminution de la PA ralentit la progression de la maladie rénale chronique et les événements cardiovasculaires qui l'accompagnent (Wajngarten et Silva, 2019).

Plusieurs modèles expérimentaux ont été mis sur pieds pour étudier la physiopathologie de l'hypertension artérielle.

I.3-Modèles expérimentaux de l'hypertension artérielle

I.3.1-Modèles génétiques de l'hypertension artérielle

Ces modèles ont pour but d'étudier l'influence des facteurs génétiques sur la pression artérielle. On peut citer le modèle du rat spontanément hypertendu (SHR), le modèle du rat Dahl sensible au sel et le modèle des rats hypertendus de Milan (Leong *et al.*, 2015)

I.3.2- Modèles chirurgicaux d'hypertension

Le modèle de Goldblatt consiste en une néphrotomie unilatérale ou bilatérale avec constriction partielle de l'un ou des deux artères rénales chez le rat. Ceci stimule la production de la rénine par les cellules juxtaglomérulaires entraînant la formation de l'angiotensine II et l'augmentation de la pression artérielle. Ce modèle est caractérisé par une augmentation importante du volume plasmatique et de la pression artérielle (Leong *et al.*, 2015).

I.3.3- Modèles pharmacologiques d'hypertension

- **Modèle L-NAME :** l'administration chronique d'un inhibiteur de la synthèse de monoxyde d'azote (NO), le N^w-nitro-L-arginine méthyl ester (L-NAME), induit une augmentation de la pression artérielle chez le rat (Leong *et al.*, 2015).
- **Modèle LNMA :** l'inhibition de la synthèse du NO avec le N^G-monométhyl-L-arginine (LNMA), induit une forte augmentation de la pression artérielle (Michel et Arnal, 1993)
- **Modèle DOCA :** Il s'agit de l'HTA induite par l'acétate de désoxycorticostérone (DOCA). L'HTA induite par le DOCA est dépendant du sel. Le DOCA est implanté en sous-cutané, et l'eau de boisson est remplacé par du NaCl à 1%. Il y a augmentation de la réabsorption hydrosodée et donc, de la volémie ; et augmentation de la sécrétion de la vasopressine entraînant une élévation de la rétention de l'eau et la vasoconstriction (Michel et Arnal, 1993 ; Leong *et al.*, 2015)

I.3.4-Modèles nutritionnelles d'hypertension

Une diète riche en fructose induit l'hypertension artérielle. L'administration de fructose 60% provoque une élévation significative de la pression artérielle chez les rats *sprague Dawley* à partir de la 3eme semaine (Leong *et al.*, 2015).

I.4- Physiopathologie de L'HTA : rôle de l'inhibition de la synthèse du NO par la N^G-Nitro-L-arginine méthyl-ester

Le monoxyde d'azote joue un rôle essentiel dans le maintien du tonus vasodilatateur et de l'intégrité de l'endothélium. Ce composé est synthétisé par les NO-synthases (NOS). Le NO agit en stimulant une guanylate cyclase soluble des cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire, et son effet est donc relayé par l'augmentation de la concentration intracellulaire de GMP cyclique entraînant une cascade de phosphorylation des protéines impliquées dans le recaptage et l'extrusion du calcium, induisant la relaxation de la cellule musculaire lisse. (Michel et Arnal, 1993). La voie de régulation NO-GMP cyclique pourrait être perturbée dans certains types d'hypertension artérielle. Expérimentalement, il est établi qu'une inhibition chronique de la NOS par la L-NAME conduit à une déficience en monoxyde d'azote (NO) à l'origine d'une hypertension artérielle associée à une dysfonction endothéliale, une dyslipidémie, un stress oxydatant, et des altérations de la fonction cardiaque et rénale (Pechanova *et al.*, 2020).

I.4.1- L-NAME et dysfonction endothéliale

L'endothélium vasculaire peut être considéré comme le plus important « organe » endocrine du corps humain. Les cellules endothéliales vasculaires produisent de nombreux facteurs vasoactifs qui jouent un rôle crucial dans la régulation du tonus vasculaire (Therrien, 2005). L'inhibition NO par la L-NAME conduit un déséquilibre entre la production des facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs (figure 5) en faveur des facteurs vasoconstricteurs due à une biodisponibilité réduite du NO (Leong *et al.*, 2015)

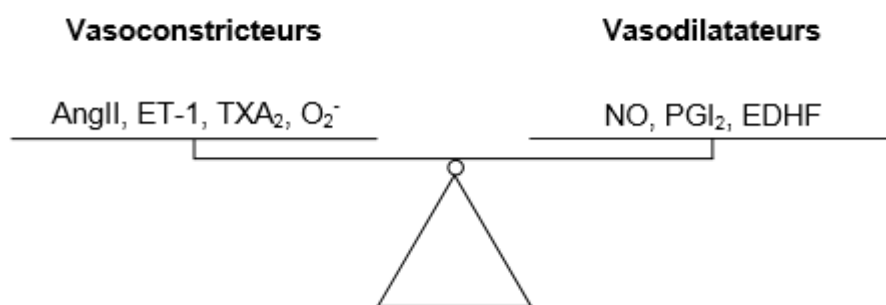


Figure 5: Equilibre entre facteurs vasoactifs de l'endothélium (Therrien, 2005)

Ang II: Angiotensine II; **ET-1:** Endothéline; **TXA₂:** Thromboxane A₂; **O²⁻** : anion superoxyde

I.4.2- L **NO:** Monoxyde d'azote; **PGI₂** : Prostaglandine, **EDHF** : Endothelium-derived hyperplarizing factor

Le stress oxydatif est un terme définissant les états de niveau élevés d'espèces réactives de l'oxygène (EROs). Normalement les EROs contrôlent plusieurs processus physiologiques comme la défense de l'hôte, la biosynthèse des hormones et la signalisation cellulaire (Elnakish *et al.*, 2013). Cependant, le stress oxydatif a été impliqué dans diverses pathologies dont l'hypertension artérielle essentielle où lorsqu'il n'en est pas à la cause, joue un rôle permissif dans son maintien et son développement (Selemidis *et al.*, 2007). En effet, le NO régule directement l'activité du NADPH oxydase

et module ainsi le stress oxydant. Dans ce modèle, l'inhibition du NO par la L-NAME conduit à une augmentation l'activité de la NADPH oxydase responsable de la formation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), précurseurs de plusieurs EROs (Selemidis *et al.*, 2007). Ceci a pour conséquence une dysfonction endothéliale, et une altération structurelle et fonctionnelle des organes comme le cœur et les reins (Selemidis *et al.*, 2007 ; Kukongviriyapan *et al.*, 2015).

I.4.3-L-NAME et fonction cardiaque

L'administration de L-NAME induit une vasoconstriction coronaire à l'origine d'une nécrose étendue du myocarde (infarctus du myocarde) localisée préférentiellement dans la région sous endocardique du ventricule gauche (El-Mosallamy *et al.*, 2012). L'activation du système rénine-angiotensine –aldostérone (SRAA) dans ce model entraine une hypertrophie marquée par une augmentation de la masse cardiaque (Simko *et al.*, 2018). La fixation de l'angiotensine II sur son récepteur affecte également la transcription de gènes et l'activation de protéines, conduisant à la croissance et la prolifération des cardiomyocytes, à la production du *transforming growth facteur β* (TGF- β), de la fibronectine et du, collagène de type 1. Ces molécules sont impliquées dans l'expansion de la matrice extracellulaire à l'origine d'une fibrose et d'une de l'hypertrophie cardiaque (Maneesai *et al.*, 2016 ; Simko *et al.*, 2018).

I.4.4- L-NAME et fonction rénale

Les reins sont un des premiers organes à être affectés par la baisse de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (Paredes *et al.*, 2018). Le NO intervient dans la régulation aussi bien de l'hémodynamique rénale que de la pression artérielle. Chez les rats hypertendus à la L-NAME, on observe une altération de la fonction rénale marquée par une diminution du débit de filtration glomérulaire, une réduction de la diurèse et de l'excrétion urinaire de sodium. On note également une augmentation de l'activité du SRAA avec pour conséquence une élévation de pression artérielle (Singh *et al.*, 2016 ; Abdel-Rahman *et al.*, 2017)

I.4.5- L-NAME et dyslipidémie

La dyslipidémie est connue pour être étroitement associée à une baisse de la biodisponibilité du NO chez l'hypertendu (Wakabayashi et Daimon, 2019). Le NO joue un rôle important dans le métabolisme lipidique. En condition physiologique, le NO permet l'activation du *sterol regulatory element binding protein* (SREBP)-2, un facteur de transcription du métabolisme du cholestérol et de l'expression des récepteurs LDLs (Noda *et al.*, 2015).

Ces modèles expérimentaux sont utilisés dans la découverte de nouveaux médicaments pour une meilleur prise en charge de l'hypertension et ses complications.

I.5- Prise en charge de l'hypertension artérielle

La prise en charge de l'hypertension artérielle repose principalement sur des traitements pharmacologiques et des traitements non pharmacologiques.

I.5.1-Traitement non pharmacologique : mesures hygiéno-diététiques

En première intention, lorsque l'HTA est suspectée ou diagnostiquée chez un patient, la mise en place des mesures hygiéno-diététiques ayant montré leur bénéfice dans le control de la pression artérielle est recommandée (Steichen *et* Plouin, 2013). Ces mesures sont entre autres : limitation de consommation de sel, d'alcool et de tabac ; une réduction du poids en cas de surcharge pondérale ; la pratique régulière d'une activité physique et d'un régime alimentaire riche en légumes, fruits et pauvre en graisse saturée (Blacher *et al.*, 2013).

Ces mesures sont généralement associées à la prise de différentes classes de médicaments pharmacologiques.

I.5.2- Traitement pharmacologique

Cinq classes d'antihypertenseurs recommandées en première intention dans l'HTA essentielle au premier rang desquelles les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ensuite, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, les antagonistes calciques, les diurétiques et enfin les bêtabloquants (Kichou *et al.*, 2019).

- **Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion** : Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion inhibent l'enzyme de conversion et donc diminuent les concentrations d'angiotensine II. La vasoconstriction diminue, de même que la sécrétion d'aldostérone et donc la rétention hydrosodée diminue (Steichen *et* Plouin, 2013).
- **Les antagonistes de l'angiotensine II** : Les antagonistes du récepteur de l'angiotensine II agissent en bloquant le récepteur à l'angiotensine II et ont des effets quasi similaires à ceux des IEC (Blacher *et al.*, 2013).
- **Les inhibiteurs calciques** : Les inhibiteurs calciques bloquent l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire et dans les cellules myocardiques. Ce blocage entraîne une diminution du « signal calcique » et donc une diminution de toutes les réponses cellulaires qui y sont liées.
- **Les bêtabloquants** : ils agissent en bloquant les effets de l'adrénaline et de la noradrénaline, deux hormones qui augmentent la fréquence cardiaque et la pression artérielle. Les bêta-bloquant sont particulièrement utiles chez les personnes hypertendues qui présentent une fréquence cardiaque élevée au repos.

- **Les diurétiques thiazidiques :** Les diurétiques thiazidiques agissent dans le tube contourné distal en inhibant le transporteur Na/Cl. On va avoir une augmentation de sodium et de chlore dans l'urine (actions natriurétique et chlorurétique) et donc l'effet diurétique recherché pour traiter l'hypertension artérielle (Kichou *et al.*, 2019).

Les objectifs tensionnels sont généralement de faire baisser la PA à des valeurs inférieures à 140/90mmHg. Ainsi, Le choix de la stratégie médicamenteuse sera fonction des situations cliniques particulières telles que l'efficacité du médicament, la tolérance du patient au médicament et les comorbidités associées à l'HTA. On peut débiter par l'utilisation d'un seul médicament (monothérapie) puis par une association de deux (bithérapie) voir trois (trithérapie) classes d'antihypertenseurs si l'objectif tensionnel du traitement n'est pas atteint (Kichou *et al.*, 2019).

La prise de ces médicaments est généralement associée à des effets secondaires néfastes. C'est l'une des raisons pour lesquelles certaines populations se tournent de plus en plus vers d'autres alternatives thérapeutiques telle que : la phytothérapie.

I.6- Phytothérapie et hypertension artérielle

Dans le monde en général et particulièrement en Afrique, la phytothérapie est largement utilisée pour la prise en charge des problèmes de santé. Ainsi plusieurs plantes sont utilisées pour la prise en charge des maladies cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle. Au Cameroun, diverses plantes se sont avérées actives dans la prise en charge de l'hypertension artérielle à l'exemple de *Bidens pilosa* (Bilanda *et al.*, 2017), *Fagara tessmannii* (Fouda *et al.*, 2020) et *Vitex cienkowski* (Metchi *et al.*, 2021). *Vernonia guineensis* communément appelée « Ginseng » qui fait l'objet de cette étude est une plante de la famille des Asteraceae largement répandue dans l'Ouest du Cameroun ou elle est utilisée traditionnellement pour la prise en charge des maladies cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle.

I.7- Plantes : *Vernonia guineensis*

➤ Classification botanique (APG IV, 2016)

• Règne	:	Plantae
• Embranchement	:	Tracheophyta
• Classe	:	Magnoliopsida
• Ordre	:	Magnoliales
• Famille	:	Annonaceae
• Genre	:	Vernonia
• Espèce	:	<i>Vernonia guineensis</i> benth. (Burkil)

➤ Description botanique

Vernonia guineensis est une plante géophyte. Elle est constituée d'un appareil végétatif souterrain (racines) et d'un appareil végétatif aérien (tiges et feuilles) (Duviard, 1969). Ce dernier est fait d'une ou

plusieurs tiges ramifiées et dressées, atteignant une hauteur qui dépasse rarement 1 mètre. Les tiges et les rameaux sont couverts d'une abondante pilosité grise qui forme un feutrage à la surface de ces organes. Les feuilles sont ovalaires, de formes assez variables, mais toujours denticulées. Leur face supérieure est luisante et lisse ; leur face inférieure est couverte d'un épais feutrage pileux, comme les tiges. La partie souterraine, composée par les racines plus ou moins tubérisées (d'autant plus nombreuses que la plante est âgée) et une courte tige souterraine, assure par la présence de nombreux bourgeons, le maintien et le développement ultérieur de chaque pied considéré (Duviard, 1969).

➤ **Utilisation empirique**

Les racines de *Vernonia guineensis* sont utilisées par les populations en médecine traditionnelle pour leurs activités antihelminthiques et antimicrobiennes, mais également pour leurs propriétés aphrodisiaques et anti-plasmodiales, comme antidote pour poison et pour le traitement de la jaunisse et des maladies vénériennes (Donfack *et al.*, 2012 ; Ditchou *et al.*, 2019). Des enquêtes ethnobotaniques ont révélé que certaines populations d'Afrique centrale (Cameroun) utilisent les feuilles et racines de *Vernonia guineensis* pour le traitement des maladies cardiovasculaires telles que les palpitations cardiaques, le diabète et l'hypertension artérielle (Yapi *et al.*, 2016 ; Tankeu *et al.*, 2021).

➤ **Phytochimie et études phytopharmacologiques des racines de *Vernonia guineensis***

Les investigations chimiques sur l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* ont décelé la présence de plusieurs métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et polyphénols (Nana *et al.*, 2023).

Des études phytochimiques menées par Wouamba *et al.* en 2019 ont permis l'isolation d'une nouvelle céramide (vernoguinaïde) avec 15 autres composés parmi lesquels 3 dérivés d'acides gras, 3 triterpénoïdes, 3 anthraquinones 6 stéroïdes (vernoguinoside A, vernoguinoside B, β -sitostérol 3-O- β -D-glucoside et stigmastérol 3-O- β -D-glucoside, stigmastérol et β -sitostérol). Une étude bio-guidée par l'activité antibactérienne de l'extrait du chlorure méthanol des racines de *V. guineensis* a montré que des composés comme : vernoguinoside A, stigmastérol 3-O- β -D-glucoside ont des activités antibactérienne et antifongiques contre certaines (*Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*) (Donfack *et al.*, 2012).

Une étude pharmacologique a montré des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* (Nana *et al.*, 2023).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- Matériel

II.1.1- Matériel animal

Les rats mâles de souches Wistar âgés entre 12-14 semaines et pesant en moyenne entre 180 et 220g ont été utilisés pour cette étude. Ces rats ont été obtenus à l'animalerie du Département de Biologie et de Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I. Ils y ont été logés dans des cages en plastique à température ambiante, exposés à une aération suffisante et sous un cycle lumineux naturel. Les animaux ont été élevés avec un libre accès à l'eau de robinet comme eau de boisson et une alimentation constituée de 22 kg de maïs, 5 kg de son de blé, 9 kg de poisson, 1 kg de poudre d'os, 6 kg d'arachide et 7 kg de palmiste et 2 sachets de 15 g d'Olivitasol (complexe vitaminé).

II.1.2- Matériel végétal

Le matériel végétal (Figure 6) était constitué de racines de *Vernonia guineensis*, récoltées en avril 2022 dans la localité de Bangangté, région Ouest au Cameroun. La plante a été initialement identifiée par le Professeur ZAPFACK du Département de Biologie et de Physiologie Végétales. Les racines ont été identifiées à l'herbier national en comparaison avec l'échantillon N° 11133SRF/Cam.



Figure 6: Photographies de la plante entière (A) et des racines (B) de *Vernonia guineensis* (prise par Tsafack en Avril 2022)

II.2- Méthodes

II.2.1- Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis*

La Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* s'est faite suivant le procédé utilisé par Wouamba *et al.* en 2019 illustré en annexe 1. Les racines de *Vernonia guineensis* ont été lavées, découpées et séchées à l'air libre puis réduites en poudre. 1,1 kg poudre de racines ont été macérées à température ambiante dans un solvant hydro-éthanolique dans des proportions 70% éthanol

et 30% eau pendant 48h puis filtrés à l'aide du papier Whatman N°3. Les solvants utilisés ont par la suite été évaporés sous vide (70°C) dans un évaporateur rotatif sous vide (HEIDOLPH). La pâte de couleur marrone obtenue, a été séchée à 40°C dans une étuve ventilée et a permis d'obtenir 66,29 g d'extrait brut de racines, soit un rendement d'extraction de 6,02 %.

II.2.2- Préparation des solutions d'extrait de *Vernonia guineensis*

Le choix de l'extraction hydro-éthanolique et des doses (125 et 250 mg/kg) utilisées a été fait sur la base des travaux récemment menés par Nana *et al.* en 2023 sur les propriétés anti-inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis*.

Les solutions d'extrait administrées aux rats ont été préparées par solubilisation de 125 et 250 mg d'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* dans 10 mL de solution saline, de façon à obtenir des solutions de concentration de 12,5 et 25 mg/mL.

Connaissant la dose D (mg/kg) à administrer, le poids P (kg) de l'animal et les concentrations C (mg/mL) de solution à administrer aux rats, le volume V (mL) de l'extrait à administrer a été calculé par la formule suivante :

$$Volume (mL) = \frac{Dose (mg/kg) \times Poids (kg)}{Concentration (mg/mL)}$$

II.2.3- Préparation des différentes solutions

Les protocoles de préparations des différentes solutions sont présentés en annexe 2.

II.2.4-Protocole expérimental

Dans le but d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur l'hypertension induite par la L-NAME chez des rats mâles, 34 rats ont été utilisés. L'hypertension a été induite (Annexe 3) par administration par voie intrapéritonéale d'une dose journalière de 25 mg/kg de L-NAME durant 3 semaines (Fouda *et al.*, 2020). Ces rats ont été randomisés selon leur poids et répartis en 5 lots traités quotidiennement de la manière suivante :

- un lot contrôle normal ou groupe TNor (n=6) constitué des rats recevant la solution saline (NaCl 0,9%) à 10 mL/kg par voie orale et 5 mL/kg par voie intrapéritonéale (T Nor.) ;
- un lot contrôle négatif ou groupe L-NAME (n=8) constitué des rats recevant la solution saline (NaCl 0,9%) à 10mL/kg par voie orale et 25 mg/kg de L-NAME (L-NAME) par voie intrapéritonéale;

- un lot contrôle positif ou groupe CAPTO (n=6) constitué des rats recevant du Captopril (inhibiteur de l'enzyme de conversion) à la dose de 20 mg/kg par voie orale et 25 mg/kg de L-NAME par voie intrapéritonéale;
- un lot test 1 (n=7) constitué des rats traités à l'extrait de racines de *Vernonia guineensis* à la dose de 125 mg/kg (EHVG 125) et 25 mg/kg de L-NAME par voie intrapéritonéale;
- un lot test 2 (n=7) constitué des rats traités à l'extrait de racines de *Vernonia guineensis* à la dose de 250 mg/kg (EHVG 250) et 25 mg/kg de L-NAME par voie intrapéritonéale;

Durant le traitement, le poids corporel des animaux a été mesuré tous les deux jours. Au dix-huitième jour de traitement, les animaux ont été mis dans les cages métaboliques pour une durée d'acclimatation de 72 heures et les urines des dernières 24 heures ont été recueillies.

II.2.5- Collecte des urines

Trois jours avant la fin de la période expérimentale, les animaux ont été placés dans les cages métaboliques (Figure 7) pendant 72 h. Les urines des derniers 24 h ont été prélevées et centrifugées à 3500 tr/min pendant 25 min à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse de marque GR412. Le surnageant a été recueilli dans des tubes Ependorf puis conservés à -20°C pour le dosage des paramètres tels que la créatinurie et la concentration des ions sodium (Na⁺) et potassium (K⁺).

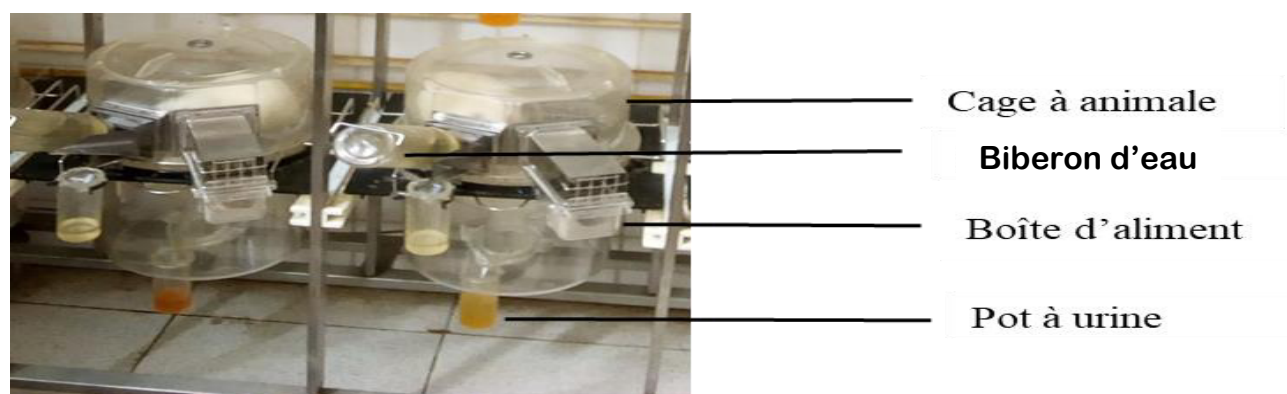


Figure 7: Dispositif des cages métaboliques (photo prise par Tsafack en aout 2022)

II.2.6- Evaluation de la variation pondérale des animaux et de la masse relative des organes

➤ Evaluation de la variation pondérale des animaux

Le poids des rats a été pris à intervalle de deux jours. La variation pondérale (VP) en pourcentage de masse initiale a été calculée suivant la formule :

$$\text{Pourcentage de gain pondéral} = \frac{(m_i - m) \times 100}{m}$$

m_i = masse au jour i (g) ; **m** = masse initiale (g)

➤ Évaluation de la masse relation des organes

Le poids relatif (Pr en %) des organes a été déterminé par la formule suivante :

$$\text{Pr} = (m/m_o) \times 100$$

Avec m la masse de l'organe (g) et m_o la masse de l'animal (g).

II.2.7- Enregistrement des paramètres hémodynamiques

La pression artérielle et la fréquence cardiaque ont été évaluées dans cette étude par la méthode invasive directe. Elle consiste à introduire dans la carotide d'un rat anesthésié, un cathéter connecté à un système de transduction et d'enregistrement de pression (Fouda *et al* ; 2020).

➤ Préparation des animaux

Au terme du traitement (21^{ème} jour) et après un jeûne non hydrique de 12 heures, les animaux des différents groupes ont été anesthésiés par injection intra-péritonéale de l'uréthane 15 % à la dose de 1,5 g/kg. Ces animaux ont été fixés en décubitus dorsal sur une plaque de liège. Une incision médiane et longitudinale de la région du cou a été pratiquée, les muscles sterno-mastoïdiens et la trachée ont été écartés. La trachée a été écartée pour faciliter la respiration spontanée. La carotide gauche a été délicatement dégagée.

➤ Enregistrement de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque

Après identification de la carotide, elle a été mise à nu et une injection de Mac Even hépariné (10 %) a été effectuée dans la veine fémorale afin d'éviter la coagulation du sang. Par la suite, une ligature a été effectuée du côté céphalique et un clamp vasculaire a été placé le plus bas possible vers le cœur, proche d'un fil d'attente. Une incision a été réalisée entre la première ligature et le second fil d'attente. L'embout libre du cathéter, relié au transducteur lui-même relié à l'enregistreur hémodynamique (Biopac Student Lab) de type MP 35, a été introduit dans la carotide en direction du cœur et maintenu en place par la deuxième ligature. Le dôme du transducteur était rempli de liquide physiologique (solution de Mac Even hépariné 1 %), de même que la canule fixée à la carotide du rat. Après ouverture du robinet reliant la carotide au transducteur, le clamp a été enlevé, les variations de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque étaient transmises à l'enregistreur, connecté à un ordinateur afin de visualiser les différents tracés enregistrés (Figure 8). La pression artérielle ainsi que la fréquence cardiaque ont par la suite été enregistrées simultanément pendant une période de stabilisation de 30 minutes. La pression artérielle moyenne (PAM) est la moyenne de la pression au cours d'un cycle cardiaque. Elle a été calculée en utilisant la formule suivante :

PAM (mmHg) = (2PAD+ PAS) /3, avec **PAS** = pression artérielle systolique (mmHg) et
PAD = pression artérielle diastolique (mmHg) (Pelletier, 1998).

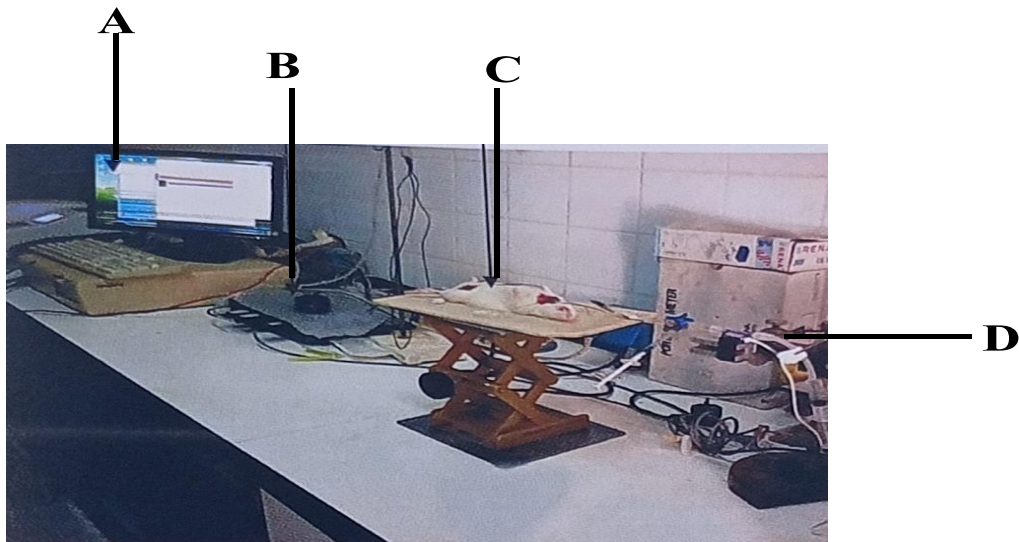


Figure 8: Dispositif d'enregistrement de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque (photo prise par Tsafack en 2022 au laboratoire 168/UYI) A = Ecran ; B = Enregistreur biopac ; C= Animal anesthésié ; D= Transducteur de signal

II.2.7- Sacrifice des animaux et préparation des échantillons

Après enregistrement des paramètres hémodynamiques, les rats ont été déconnectés du système d'enregistrement. Les animaux ont été sacrifiés par section de la carotide et le sang a aussitôt été recueilli dans des tubes secs. Le sang récolté a été centrifugé à 3000 trs/min pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse du modèle GR412. Le surnageant (sérum) a été collecté dans des tubes eppendorfs (préalablement étiquetés) et conservé à -20 °C au congélateur, pour le dosage ultérieur de quelques paramètres sériques (transaminases, lactate déshydrogénase, bilirubine, créatinémie, protéines totales et les marqueurs biochimiques du profile lipidique). Les animaux ont ensuite été disséqués et les organes tels que le foie, les reins, le cœur, l'aorte ont été prélevés, rincés dans du NaCl 0,9 %, essorés puis pesés. Des portions de 0,4 g pour les reins, le foie et le cœur, et 0,2 g pour l'aorte ont été broyées séparément dans un mortier en céramique, et homogénéisées à 20% dans une solution tampon de Tris-HCl pour les reins et le foie, et dans une solution tampon de Mc Even pour le l'aorte et le cœur. Les homogénats obtenus ont été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 25 minutes à 4 °C à l'aide d'une centrifugeuse de marque GR412. Les surnageants obtenus ont été collectés dans des tubes Eppendorfs et conservé à -20 °C au congélateur, pour le dosage de quelques paramètres du statut oxydant. Des échantillons d'organes (rein, foie, cœur et aorte) de 3 animaux de chaque lot ont été immédiatement fixés dans du formol 10 % tamponné pour les coupes histologiques.

II.2.8- Evaluation des effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur quelques paramètres biochimiques sériques

a) Dosage des transaminases

• Principe

L'Alanine Aminotransférase (ALAT) et l'Aspartate Aminotransférase (ASAT) catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine sur l' α -cétoglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'Aspartate vers l' α -cétoglutarate pour former l'Oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate et l'oxaloacétate réagissent avec le NADH respectivement en présence de la LDH (Lactate Déshydrogénase) et de la MDH (Malate Déshydrogénase) pour former respectivement le lactate et le malate.



• Mode opératoire

Le dosage des transaminases a été réalisé à l'aide du kit *LABKIT* et les tubes ont été remplis et traités comme l'indique le tableau I.

Tableau I : Protocole de dosage des transaminases

Echantillon (µL)	100
Réactif de travail (µL)	1000
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé dans un bain-marie pendant 1 min à 37 °C. Les absorbances des échantillons ont ensuite été lues contre l'eau distillée à 0, 1, 2 et 3 min avec un spectrophotomètre de marque URIT 810 à 340 nm.	

L'activité de l'ALAT et de l'ASAT a été déterminée par la formule suivante :

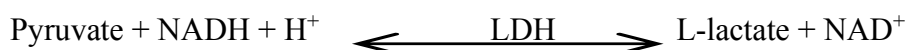
$$\text{Act. ALAT ou ASAT} = \Delta A \times 1750$$

Act. ALAT ou ASAT = Activité de l'ALAT ou de l'ASAT (UI/L) ; 1750 = Coefficient donné par le kit ; ΔA = Variation de l'absorbance ; $\Delta A = [(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)] / 3$.

b) Dosage de la lactate déshydrogénase

• Principe

La lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du Pyruvate par le NADH, selon la réaction suivante :



Le taux de diminution de la concentration de NADPH, mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration catalytique de LDH présente dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la LDH a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT*.

Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le tableau ci-dessous

Tableau II : Protocole de dosage de Lactate déshydrogénase.

Echantillon (µL)	50
Réactif de travail (µL)	3.0

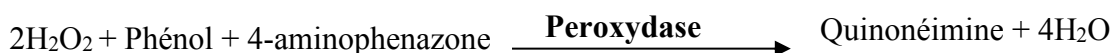
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé dans un bain-marie pendant 1 min à 37 °C. Les absorbances des échantillons ont ensuite été lues contre l'eau distillée à 0, 1, 2 et 3 min avec un spectrophotomètre de marque URIT 810 à 340 nm.

$$\text{LDH (U/L)} = (\Delta A/\text{min} \times 9690)$$

c) Dosage du cholestérol total

- **Principe**

Le cholestérol est présent dans le sérum sous forme d'ester de cholestérol et de cholestérol libre. L'ester de cholestérol est hydrolysé par le cholestérol oxydase pour former le peroxyde d'hydrogène qui réagit avec le phénol et le 4-aminoantipyrine formant ainsi la quinonéimine. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle au taux de cholestérol présent dans l'échantillon.



➤ **Mode opératoire**

Le protocole de dosage a été fourni par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été remplis et traités tel que présenté dans le tableau III.

Tableau III : Protocole de dosage du cholestérol total

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

Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000
-------------------------	------	------	------

Après agitation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à 500 nm

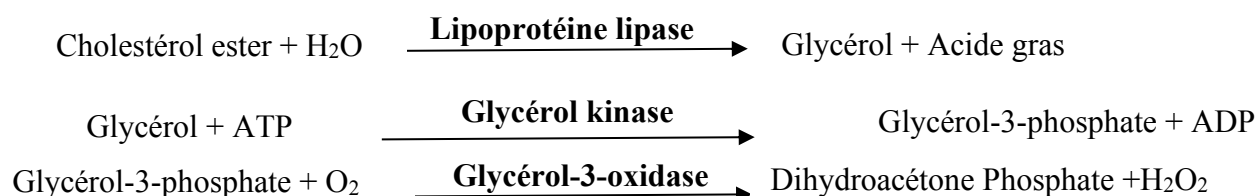
$$[\text{Chol} - \text{T}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

Chol-T] = Concentration de cholestérol total (mg/dL) ;
Abs = Absorbance ;
C = Concentration du standard (200 mg/dL).

d) Dosage des triglycérides

• Principe

Sous l'action des lipases, les triglycérides (TG) sont hydrolysés en glycérol et acides gras. Le glycérol sera ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène sous l'action successive de la glycérol kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase.



• Mode opératoire

Le protocole suivi pour le dosage est celui proposé par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été préparés suivante tableau IV.

Tableau IV : Protocole de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000
Les tubes ont été homogénéisés et incubés à température ambiante pendant 10 minutes puis les densités optiques ont été lues contre le blanc à 546 nm.			

La concentration en triglycéride a été déterminée par la formule ci-dessous.

$$[\text{TG}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

TG] = Concentration de triglycérides (mg/dL) ;
Abs = Absorbance ;
C = Concentration du standard (200 mg/dL).

e) Dosage du HDL-cholestérol

- **Principe**

En présence d'ions Mg^{2+} , les LDL, les VLDL et les chylomicrons précipitent quantitativement par addition d'acide phosphotungstique et le HDL-cholestérol est dosé dans le surnageant selon le même principe que le cholestérol total.

- **Mode opératoire**

Le dosage du HDL-Cholestérol s'est déroulé en deux étapes : une phase de précipitation et une phase de dosage. Pour la précipitation, 100 μ L de sérum ont été additionnés à 1000 μ L de précipitant du kit *LABKIT*. L'ensemble a été laissé au repos pendant 10 minutes à température ambiante puis centrifugé pendant 20 minutes à 4000 tours/minutes. Le surnageant obtenu après centrifugation a été ensuite prélevé. Pour le dosage, les différents tubes ont été complétés et traités suivant le tableau V.

Tableau V : Protocole de dosage du HDL-Cholestérol

➤ Précipitation des VLDL et LDL-Cholestérol

	Echantillon
Echantillon (μ L)	1000
Précipitant dilué (μ L)	100
Le mélange a été agité et laissé à température ambiante pendant 10 minutes. Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 4000 tours/min pendant 20 min à 37 °C. Le surnageant (échantillon) a été pipeté pour le dosage du HDL-Cholestérol.	

➤ Quantification du HDL-Cholestérol

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (μ L)	10	-	-
Standard (μ L)	-	10	-
Echantillon (μ L)	-	-	10
Réactif de travail (μ L)	1000	1000	1000
Après agitation, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc réactif au spectrophotomètre à la longueur d'onde 500 nm.			

La concentration de HDL-Cholestérol a été déterminée suivant la formule :

$$[\text{HDL} - \text{Chol}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[HDL-Chol] = Concentration de HDL-Cholestérol (mg/dL) ; Abs = Absorbance ; Con = Concentration du standard (50 mg/dL).

Les indices athérogènes et les concentrations de LDL-chol et de VLDL-chol ont été calculés suivant la méthode de Ikewuchi *et al.*, 2012.

f) Dosage de la bilirubine

- **Principe :**

La bilirubine est convertie en azobilirubine coloré par l'acide sulfanilique diazoté et est photométriquement mesurée. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration en bilirubine présente dans l'échantillon. L'absorbance de l'azobilirubine ainsi produite est lue au spectrophotomètre à 546 nm.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la bilirubine a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT*. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le tableau VI.

Tableau VI: Protocole de dosage de la bilirubine.

	Blanc	Bilirubine Totale	Blanc	Bilirubine. Directe
R 1 (D) (mL)	-	-	1,5	1,5
R 2 (T) (mL)	1,5	1,5	-	-
R 1 (mL)	-	50	-	50
Echantillon/Standard	100	100	100	100
Le mélange a été agité à l'aide du vortex puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. L'absorbance des tubes échantillons a été lue contre le blanc échantillon à 546 nm.				

La concentration de la bilirubine totale dans les échantillons a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Bilirubine}] = [\text{Abs Echantillon} - \text{Abs blanc}] \times F$$

[Bilirubine] = Concentration de bilirubine (mg/dL) ; F = Facteur fourni par le kit : 9 mg/dL ; Abs = absorbance.

g) Dosage de la créatinine

- **Principe**

La créatinine réagit en milieu alcalin avec le picrate pour donner un composé coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la créatinine a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT*. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le tableau VII.

Tableau VII: Protocole de dosage de la créatinine.

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	100	-	-

Standard (μL)		100	-
Echantillon (μL)	-	-	100
Réactif de travail (μL)	1000	1000	1000

Le mélange a été agité et incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 30 secondes. Les absorbances des échantillons et du standard ont ensuite été lues à 510 nm contre le blanc eau distillée, immédiatement après incubation (A₀) et 120 secondes après la première lecture (A₁₂₀).

La concentration de créatinine dans chaque échantillon a été calculée comme suit :

$$[\text{Créatinine}] = \frac{A_{\text{échantillon}} - \text{Abs Blanc}}{A_{\text{Standard}} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[Créatinine] = Concentration de créatinine (mg/dL) ;
Abs = Absorbance ;
C = Concentration du standard (2 mg/dL) ;
ΔA. = Variation de l'absorbance ; **ΔA** = A₁₂₀-A₀.

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) a été calculé à partir de la formule de Cockcroft :

$$\text{DFG} = (U \times V) / (P \times 1440)$$

U : taux de créatinine urinaire, V : volume urinaire et P : taux de créatinine plasmatique

h) Dosage des protéines totales

• Principe

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

• Mode opératoire

Le dosage des protéines totales a été réalisé suivant la méthode de Biuret. Le protocole de dosage est présenté en annexe 4.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de la droite d'équation $y = 0,2708x$ (annexe 5).

II.2.9- Evaluation des effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur quelques paramètres biochimiques urinaires

a) Dosage des ions sodium

• Principe

Le sodium est précipité avec le complexe magnésium-uranyl acetate. L'ion uranyl obtenu forme un complexe jaune-marron avec l'acide thioglycolique. La différence le blanc (sans précipitation du sodium) et l'échantillon analysé est proportionnelle à la concentration de sodium.

- **Mode opératoire**

Le dosage du sodium a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie LABKIT. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le tableau VIII.

Tableau VIII: Protocole de dosage des ions sodium

- **Précipitation du sodium**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (µL)		20	-
Echantillon (µL)		-	20
Précipitant (µL)		1000	1000

- **Dosage du sodium**

	Blanc	Standard	Echantillon
Précipitant (µL)	20	-	-
Surnageant (µL)	-	20	-
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été mélangés et incubés à température ambiante pendant 30 minutes. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre de marque URIT-810 contre le blanc à 410 nm.

La concentration en sodium a été calculée par la formule suivante :

$$[\text{Na}^+] = \frac{\text{Abs Blanc} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs Blanc} - \text{Abs standard}} \times C$$

$[\text{Na}^+] = \text{mmol/L} = \text{mEq/L}$ de sodium dans l'échantillon ;

C= concentration du standard 150 (150 mmol/L)

b) Dosage des ions potassium

➤ **Principe**

L'ion potassium réagit en milieu alcalin avec le sodium-tetraphénylboron pour produire une suspension turbidité de potassium tetraphénylboron. La turbidité obtenue est proportionnelle à la concentration de l'ion potassium.

➤ **Mode opératoire**

Le dosage du potassium a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie LABKIT. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le tableau IX

Tableau IX: Protocole de dosage du potassium

Echantillon (µL)	50
------------------	----

Précipitant (µL)	500
-------------------------	-----

Les tubes ont été agités puis centrifugés pendant 10 minutes à 4000 tr/min, le surnageant a été pipeté pour le dosage.

	Standard	Echantillon
Surnageant (µL)	100	-
Standard (µL)	-	100
Réactif de travail (µL)	1000	1000

Les tubes ont été mélangés et incubés à température ambiante pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre de marque URIT-810 contre le blanc à 578 nm

La concentration en sodium a été calculée par la formule suivante :

$$[K] = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs standard}} \times C$$

[K] = Concentration du potassium (mmol/L) ;
Abs = Absorbance ;
C = Concentration du standard (5 mmol/L).

II.2.10- Evaluation des effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur quelques paramètres biochimiques tissulaires du statut oxydant

a) Dosage du Malondialdéhyde

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

Dans les tubes à essais, ont été introduits 1 mL d'homogénat et dans le tube témoin, 1 mL de tampon Tris- HCl (50 mM, pH 7,4). Dans chaque tube, a été ajouté 1mL d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 2 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.

Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre et incubés pendant 10 minutes à 90°C au bain marie. Ils ont été ensuite refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 minutes à 25°C. Le surnageant a été décanté et la DO a été lue à 530 nm contre le blanc.

Après lecture de la DO, la concentration en malondialdéhyde est déterminée par la formule suivante :

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

[MDA] = Concentration de Malon dialdéhyde en mmol/g d'organe

ΔDO = DO échantillon – DO blanc

L = Trajet optique (1cm)

ϵ = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol⁻¹. cm⁻¹)

m = Masse de l'organe (g)

b) Dosage du Glutathion réduit

• Principe

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

• Mode opératoire

Dans les tubes à essai ont été introduits 100 µL du surnageant d'homogénat d'organe (tubes tests) et 100 µL de tampon Tris-HCl (tube témoin). Ensuite ont été ajoutés 1500 µL de réactif d'Ellman. Le mélange a été incubé pendant 60 minutes à température ambiante. L'absorbance été lue au spectrophotomètre (URIT-180) à 412 nm, contre le blanc. Le taux de glutathion réduit (GSH) dans chaque échantillon a été déterminée par la formule suivante :

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

[GSH] = Concentration de GSH (mol/g de tissu) ;

ΔDO = DO essai - DO blanc;

L = Trajet optique (1 cm) ;

ϵ = Coefficient d'extinction molaire (13600 mol⁻¹. cm⁻¹) ;

m = Masse de l'organe (g).

c) Dosage des Nitrites

• Principe

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

• Mode opératoire

Le dosage des nitrites a été réalisé suivant le protocole présenté en annexe 2.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la concentration de NaNO₂ (annexe 3).

. a) Dosage Catalases

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

Pour doser la catalase, 12,5 µL d'homogénat et 187,5 µL de tampon phosphate (0,1M, pH 7,5) ont été introduits dans les tubes tests. Le chronomètre a été ensuite déclenché après ajout de 50 µL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 500 µL de solution de dichromate/acide acétique glacial. Les tubes ont été portés à 100°C dans un bain marie pendant 10 minutes et après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été lue à 570 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Urit-810.

- **Réalisation de la courbe d'étalonnage**

Le protocole utilisé pour la réalisation de la courbe d'étalonnage est décrit dans le tableau de l'annexe 4.

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂ (annexe 5).

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

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

Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g de tissu)

ΔDO = DO échantillon – DO blanc

a = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0029)

t = Durée de la réaction (1 minute)

m = Masse de l'organe (g)

II.2.11-Analyse histologique

L'analyse histologique est la technique de préparation des tissus et/ou organes en vue de leur observation au microscope. Elle comprend différentes étapes dont la fixation, la recoupe ou «trimming», la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

❖ **Fixation**

L'objectif de la fixation est de maintenir les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Après le sacrifice des animaux, le foie, les reins le cœur et l'aorte ont été prélevés et conservés immédiatement dans du formol 10 % tamponné.

❖ **Recoupe**

Une fois les organes fixés, ils ont été « trimmés ». À cette étape, il a été question de couper l'organe de manière à lui donner une épaisseur inférieure à celle des cassettes de déshydratation. Les tissus coupés

ont été déposés dans des cassettes étiquetées et ont été plongés pour une durée de 1 heure, dans un premier bain d'alcool 70°, première étape du processus de déshydratation.

❖ **Déshydratation**

La déshydratation, s'est déroulée en trois étapes successives. La déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

❖ **Déshydratation proprement dite**

Cette étape a eu pour but de débarrasser les échantillons de toute trace d'eau avant leur inclusion dans de la paraffine. Elle a consisté à laisser les tissus dans des bains d'alcool de concentrations croissantes respectives de 70 % (1 h), 95 % (1 h), 95 % (1 h 30), 100 % (1 h), 100 % (1 h 30), 100 % (2 h).

❖ **Éclaircissement**

L'éclaircissement a consisté à remplacer la solution de déshydratation qui est l'alcool par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. Les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène consécutifs. Un premier bain de deux heures et un deuxième bain "over night".

❖ **Imprégnation**

Cette étape a consisté à introduire les organes dans un bain de paraffine en fusion pendant 4 h 30 min dans la station d'enrobage de marque Microm Heidelberg.

❖ **Inclusion**

L'inclusion est le procédé qui fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation de fines coupes au microtome. Les tissus ont été placés selon une orientation précise (en diagonale) dans des moules en inox qui ont par la suite été remplis de paraffine en fusion. L'ensemble a été mis à solidifier sur une plaque réfrigérée pour en obtenir des blocs.

❖ **Coupe**

La coupe des blocs de paraffine contenant les tissus a été réalisée à l'aide d'un microtome de marque Reichert-Jung 2030. L'épaisseur des rubans après coupe était de 7 µm. Une fois coupées, les sections de rubans ont été mises à déplier dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée à environ 45°C. Elles ont été récupérées sur des lames de verre étiquetées et séchées à l'étuve à 45°C, pendant 24 heures avant coloration.

❖ **Coloration**

La coloration a pour but de mettre en évidence les différents éléments tissulaires et de les différencier entre eux afin de permettre l'étude de leur structure, de leur morphologie et des éventuelles modifications pathologiques. Avant l'étape de la coloration, les coupes ont d'abord été déparaffinées. Le protocole de

déparaffinage est consigné dans le tableau X. Immédiatement après l'étape de déparaffinage, les lames portant les coupes de tissus ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Les étapes de cette coloration sont résumées dans le tableau XI.

Tableau X:Batterie de déparaffinage

Ordre	Solution	Temps de séjour	Ordre	Solution	Temps de séjour
1	Xylène	10 minutes	5	Ethanol 100°	3 minutes
2	Xylène	10 minutes	6	Ethanol 100°	3 minutes
3	Xylène	10 minutes	7	Eau distillée 10 minutes	
4	Ethanol 100°	3 minutes			

Tableau XI: Etapes de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine

Ordre	Solution	Temps de séjour	Ordre	Solution	Temps de séjour
1	Hématoxyline de Mayer	10 minutes	7	Ethanol 100%	1 minute
2	Rinçage à l'eau courante	10 minutes	8	Ethanol 100%	1 minute
3	Carbonate de sodium 0,5 %	15 secondes	9	Xylène	5 minutes
4	Rinçage à l'eau distillée	5 minutes	10	Xylène	5 minutes
5	Eosine à l'alcool 0,5 %	5 minutes	11	Xylène	5 minutes
6	Ethanol 100%	1 minute	12	Montage sous résine	

❖ Montage

L'étape de montage entre lame et lamelle a directement suivi la coloration. Pour ce faire, quelques gouttes de résine synthétique de marque Eukit ont été déposées sur la lame portant la coupe colorée avant apposition d'une lamelle. Les coupes de tissus sur les lames ont ainsi été protégées et conservées. Les lames colorées à l'hématoxyline et à l'éosine puis montées ont été observées à différents grossissement, à l'aide d'un microscope optique de marque Scientico STM-50 muni d'une caméra digitale de marque Celestron 44421 connectée à un ordinateur pour la prise des microphotographies.

II.2.12- Analyse statistique des résultats

Les analyses statistiques des moyennes obtenues ont été réalisées à l'aide du logiciel Graphpad Prism 8.0.1. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne $\pm$ erreur standard sur la moyenne (ESM) et les différentes valeurs ont été comparées à l'aide du test d'analyse des variances "one-way ANOVA", suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. Les différences étaient considérées comme significatives à partir de $p < 0,05$.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Résultats

III.1.1- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur la variation du poids corporel

Les effets de *Vernonia guineensis* sur la variation du poids corporel et les masses relatives des organes pendant 3 semaines de traitement simultanément avec la L-NAME et le captopril ou l'extrait d'EHVG sont présentés sur la figure 9. Il en ressort qu'il y a eu une croissance progressive du poids corporel des animaux des différents groupes pendant la durée du traitement. On note toutefois que cette croissance a été significativement moindre ($p < 0,001$) dans le groupe L-NAME par rapport au témoin normal. Ainsi le pourcentage de gain pondéral était de 1,56 % pour le groupe L-NAME contre 21,46 % pour le témoin normal. En comparaison au groupe L-NAME, l'administration simultanée du captopril et de la dose de 250 mg/kg de EHVG a permis une évolution significative du poids corporel respectivement de 9,64 % et de 9,84 %. La dose de 125 mg/kg de EHVG a également permis une évolution pondérale supérieure à celle du groupe L-NAME quoique non significative.

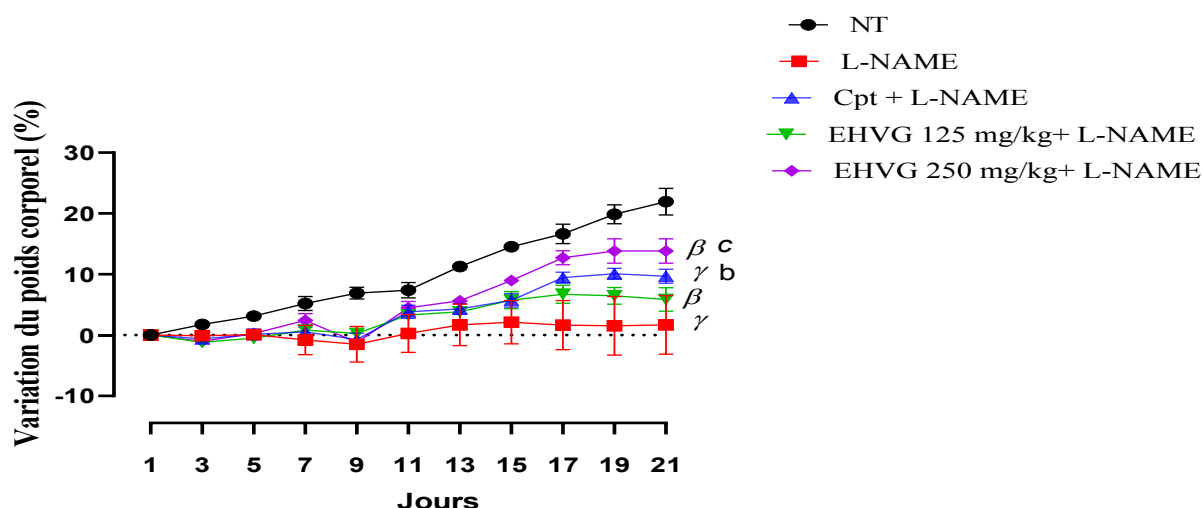


Figure 9: Effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur la variation de poids corporel

Chaque courbe représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. $\beta p < 0,01$; $\gamma p < 0,001$: différence significative comparée au témoin normal, $^b p < 0,01$, $^c p < 0,001$: différence significative par rapport au groupe L-NAME ; NT = groupe témoin normal, L-NAME = N^ω-Nitro-L-arginine méthyl-ester CPT = animaux recevant 20 mg/kg (*p.o*) de Captopril, EHVG 125 et EHVG 250 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 125 et de 250 mg/Kg.

III.1.2- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

La figure 10 montre les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* sur la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD), moyenne (PAM) et la fréquence cardiaque après 21 jours de traitement. Il en ressort une augmentation significative de la pression artérielle systolique (PAS), de la pression artérielle diastolique (PAD), et de la pression artérielle

moyenne (PAM) de 65,17 %, 50,35 % 55,93 % respectivement, ainsi qu'une augmentation de la fréquence cardiaque (FC) de 10,98 % chez les animaux du groupe L- NAME traités uniquement avec la L-NAME par rapport au témoin normal qui recevait uniquement de la solution saline. Ces différentes augmentations de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque ont été significativement prévenu de manière dose dépendante par l'administration de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* (EHVG 125 et 250 mg/kg). Les pourcentages de baisses respectifs étaient de (30.08 % et 41.30 %) pour la PAS (6.08 % et 17.60 %) pour la PAD ; (7.62 % et 17.01 %) pour la PAM et (5.55 % et 10. 65 %) la fréquence cardiaque. Aucune différence significative n'a été observée entre les animaux des groupes recevant l'extrait de *V. guineensis* et ceux du groupe témoin normal recevant uniquement la solution saline.

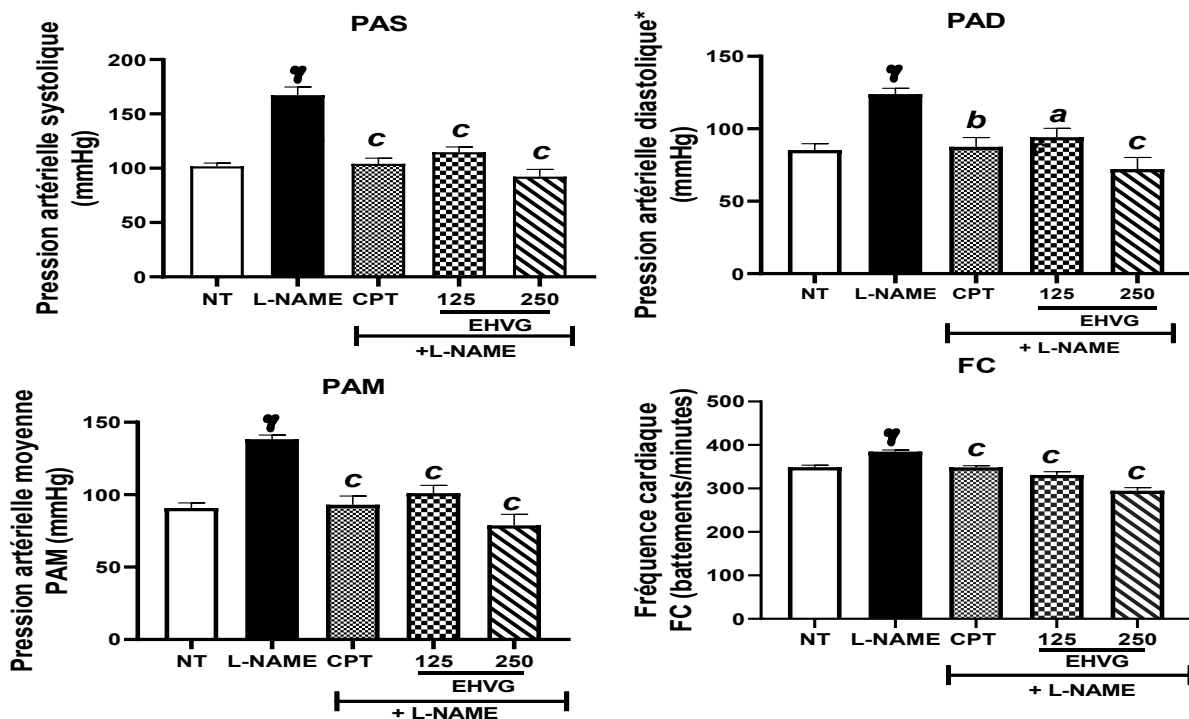


Figure 10: Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

Chaque bande représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. [†] $p < 0,01$; [‡] $p < 0,001$ = différence significative comparée au témoin normal ; ^a $p < 0,05$, ^b $p < 0,01$, ^c $p < 0,001$ = différence significative par rapport au groupe L-NAME. NT = groupe témoin normal, L-NAME= N ω -Nitro-L-arginine méthyl-ester, CPT = animaux recevant 20 mg/kg (*p.o*) de Captopril, EHVG 125 et EHVG 250 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 125 et de 250 mg/Kg. PAS= pression artérielle systolique, PAD= pression artérielle diastolique, PAM= pression artérielle moyenne, FC=fréquence cardiaque.

III.1.3- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur les marqueurs de la fonction rénale

Comme présenté dans le tableau XII, la L-NAME a entraîné chez les animaux du témoin négatif, traités uniquement à la L- NAME, une augmentation de la créatinémie significative de 78,62 % ($p < 0,001$) et une baisse du débit de filtration glomérulaire de 69,82 % ($p < 0,001$), comparativement au groupe témoin normal qui recevait uniquement la solution saline. L'administration du captopril (20

mg/kg) ou de l'extrait de *V. guineensis* a significativement prévenu l'augmentation de la créatinémie de 25,57 % pour le captopril, de 34,11% et de 22,47 % pour EHVG aux doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg respectivement par rapport au groupe traité uniquement à la L-NAME. La diminution du débit de filtration glomérulaire a été empêché de manière significative, avec une réduction de 3,46 fois pour le captopril et de 3,08 et 3,19 fois respectivement pour les doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg de l'extrait de racines.

Le traitement avec la L-NAME uniquement a entraîné une réduction significative de l'excrétion urinaire du sodium ($p < 0,01$) et du volume d'excrétion urinaire ($p < 0,001$) respectivement de 38,91 % et de 42,86 % en comparaison au témoin normal traité à la solution saline. La baisse de la natriurèse et la diurèse ont été prévenues chez les rats recevant concomitamment la L-NAME et du captopril ou de l'extrait de *V. guineensis*. La baisse de la natriurèse a été prévenue significativement de 64,40 % pour le captopril ($p < 0,01$), et de 53,92 % pour la dose de 250 mg/kg de EHVG ($p < 0,05$). On note également une amélioration quoique non significative de la natriurèse de 27,17 % pour la dose de 125 mg/kg de l'extrait.

Tableau XII : Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur les marqueurs de la fonction rénale

Groupes	NT	L-NAME	CPT	EHVG 125 + L-NAME	EHVG 250
Paramètres					
Créatinémie (μmol/L)	67,99 ± 3,79	121,44 ± 5,43 ^γ	90,38 ± 4,78 ^b	80,01 ± 5,06 ^C	89,7 ± 47,40 ^b
Créatinurie (μmol/L)	30,09 ± 2,55	28,90 ± 1,87	53,72 ± 2,80 ^C	31,73 ± 3,42	44,93 ± 4,81 ^a
DFG (mL/min)*10 ³	4,32 ± 0,35	1,30 ± 0,07 ^β	4,46 ± 0,71 ^C	4,11 ± 0,34 ^b	4,38 ± 0,54 ^C
Vol urinaire (mL)	14,00 ± 0,32	8,00 ± 0,71 ^γ	10,66 ± 1,49	15,33 ± 1,74 ^b	12,33 ± 0,48 ^a
[Na⁺] (mEq/L)	160,92 ± 9,26	98,30 ± 1,53 ^β	161,61 ± 9,52 ^b	125,01 ± 13,05	151,31 ± 15,36 ^a
[K⁺] (mEq/L)	2,54 ± 0,04	4,21 ± 0,20 ^γ	3,76 ± 0,23	2,91 ± 0,28 ^C	3,28 ± 0,10

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, n = 6. ^βp < 0,01, ^γp < 0,001 = différence significative comparée au témoin normal ; ap < 0,05, bp < 0,01, Cp < 0,001 = différence significative par rapport au groupe L-NAME. NT = groupe témoin normal, L-NAME = Nω-Nitro-L-arginine méthyl-ester CPT = animaux recevant 20 mg/kg (p.o) de Captopril, EHVG 125 et EHVG 250 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg... Vol urinaire = volume urinaire en 24H, DFG = débit de filtration glomérulaire.

III.1.4- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur les quelques marqueurs de la fonction hépatique

Le tableau XIII est un aperçu des effets de l'extrait des racines de *V. guineensis* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique. Il en ressort une augmentation significative des activités de l'ALAT ($p < 0,001$) et de l'ASAT ($p < 0,01$), ainsi que des taux sérique de LDH ($p < 0,01$), de bilirubine ($p < 0,001$) et de protéines totales ($p < 0,05$) chez les rats d groupe L-NAME traités à la L-NAME uniquement, par rapport aux rats du groupe témoin normal traités à la solution saline. La dose de 125 mg/kg de l'extrait a prévenu significativement ($p < 0,05$) l'augmentation des niveaux sériques

de l'ASAT et de la LDH respectivement de 19,16 % et de 24,40 % par rapport au groupe L-NAME. L'élévation de l'ALAT, de la bilirubine et des protéines totales a été empêchée significativement par la dose 250 mg/kg de EHVG. Les pourcentages de baisses par rapport au groupe L-NAME respectifs étaient de 30,92 %, 34,98 % et de 13,35 %.

Tableau XIII : Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur les marqueurs de la fonction hépatique

Groupes	NT	L-NAME	CPT	EHVG 125	EHVG 250
Paramètres			+ L-NAME		
ASAT (U/L)	130,43 ± 6,01	171,75 ± 2,01 ^β	156,33 ± 9,30	138,83 ± 6,87 ^a	159,58 ± 6,37
ALAT (U/L)	8,24 ± 0,49	14,53 ± 0,74 ^γ	8,94 ± 0,25 ^c	11,34 ± 0,76	10,03 ± 0,80 ^b
LDH (U/L)	1719,4 ± 161,7	2094,2 ± 124,1 ^β	902,6 ± 99,4 ^c	1575,7 ± 69,2 ^a	1761,0 ± 125,2
Bilirubine (mg/dL)	0,102 ± 0,01	0,155 ± 0,02 ^γ	0,149 ± 0,01	0,115 ± 0,01 ^a	0,101 ± 0,01 ^c
Protéines totales (mg/dL)	0,71 ± 0,03	0,78 ± 0,02 ^a	0,69 ± 0,03 ^b	0,74 ± 0,05	0,68 ± 0,02 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, n = 6. ^{ap} < 0,05, ^{βp} < 0,01, ^{γp} < 0,001 = différence significative comparée au témoin normal ; ^{ap} < 0,05, ^{bp} < 0,01, ^{Cp} < 0,001 = différence significative par rapport au groupe L-NAME ; NT = groupe témoin normal, , L-NAME= Nω-Nitro-L-arginine méthyl-ester CPT = animaux recevant 20 mg/kg (*p.o*) de Captopril, EHVG 125 et EHVG 250 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 125 et de 250 mg/Kg.. ASAT= aspartate aminotransférase, ALAT= alanine aminotransférase ; LDH= lactate déshydrogénase

III.1.5- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur quelques les paramètres du profile lipidique

L'administration de la L-NAME a induit en comparaison au groupe témoin normal une dyslipidémie (Tableau XIV) marquée par une augmentation significative ($p < 0,001$) du cholestérol total, des triglycérides et du VLDL-cholestérol respectivement de 28,07 %, 19,69 % et de 19,69 %. Une, double élévation du LDL-cholestérol ($p < 0,001$), et une baisse non significative ($P > 0,05$) HDL-cholestérol ont également été observé dans le groupe traité à la L-NAME uniquement. L'élévation des triglycérides et du VLDL-cholestérol a été prévenu de 22,54 % à la dose de 125 mg/kg et de 25,32 % à la dose 250 mg/kg de l'extrait de *Vernonia guineensis*, en comparaison au groupe L-NAME. L'augmentation du cholestérol total et du LDL-cholestérol a été empêché par la plus petite dose de cet extrait avec des pourcentages de baisse respectifs de 15,84 % et de 31,68% pour le cholestérol total et le LDL-cholestérol.

L'index du risque coronarien (CRI) et le coefficient athérogènes (CA) ont significativement ($p < 0,001$) augmenté de 18,53 % et de 24,13 % respectivement dans le groupe L-NAME comparé au groupe témoin normal. Le captopril et l'extrait de *V. guineensis* ont significativement prévenu l'élévation de ces indices par rapport au groupe L-NAME. L'index athérogénique (IA) n'a par contre significativement pas varié avec l'administration du captopril, ou de l'extrait groupe L-NAME.

Tableau XIV : Effets de *Vernonia guineensis* sur quelques les paramètres du profile lipidique

Groupes	NT	L-NAME	CPT	EHVG 125	EHVG 250
Paramètres				+ L-NAME	
Chol Total (mg/dL)	62,30 ± 2,11	79,79 ± 0,65 ^y	74,39 ± 1,43	67,15 ± 1,01 ^c	71,52 ± 0,94 ^b
Triglycérides (mg/dL)	116,98 ± 1,6	140,02 ± 3,9 ^y	118,75 ± 1,7 ^c	108,45 ± 4,0 ^c	104,56 ± 2,5 ^c
HDL-Chol (mg/dL)	27,43 ± 0,28	27,52 ± 1,68	30,32 ± 0,66	28,82 ± 1,12	26,27 ± 0,60
LDL-Chol (mg/dL)	11,39 ± 2,97	24,35 ± 0,93 ^y	20,32 ± 1,70	16,64 ± 1,89	24,33 ± 0,95
VLDL-Chol (mg/dL)	23,40 ± 0,31	28,00 ± 0,78 ^y	23,75 ± 0,34 ^c	21,69 ± 0,81 ^c	20,91 ± 0,49 ^c
CRI	4,31 ± 0,19	5,11 ± 0,15 ^y	3,92 ± 0,09 ^c	3,77 ± 0,09 ^c	3,99 ± 0,11 ^c
CA	3,31 ± 0,19	4,11 ± 0,15 ^y	2,92 ± 0,09 ^c	2,77 ± 0,09 ^c	2,99 ± 0,11 ^c
IA	0,63 ± 0,02	0,71 ± 0,01	0,59 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,60 ± 0,01

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM, n = 6. ***p < 0,001 = différence significative comparée au témoin normal ; bp < 0,01, Cp < 0,001 = différence significative par rapport au groupe L-NAME ; NT = groupe témoin normal, L-NAME = N^o-Nitro-L-arginine méthyl-ester CPT = animaux recevant 20 mg/kg (p.o) de Captopril, EHVG 125 et EHVG 250 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg. HDL-Chol : HDL-cholestérol, LDL-Chol : LDL-cholestérol, VLDL-chol : VLDL-cholestérol, CRI = Index du risque coronarien CA = coefficient athérogène ; IA = index athérogène

III.1.6- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur quelques marqueurs tissulaires du statut oxydant

La figure 11 montre les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* (EHVG) sur quelques marqueurs du stress oxydant dans l'aorte, le cœur, les reins et le foie. Il en ressort que le taux de nitrites a significativement (p < 0,001) été réduit de 47,83 %, 37,11 %, 39,13 % et de 48,63 % respectivement dans l'aorte le cœur, les reins et le foie, des rats du groupe L-NAME traités à la L-NAME uniquement par rapport au du groupe témoin normal. L'administration concomitante de la L-NAME et du captopril, ou de l'extrait de *Vernonia guineensis* a significativement prévenu cette baisse. Les doses 125 et 250 mg/kg de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* ont limités cette réduction aussi bien dans d l'aorte, le cœur et le foie (p < 0,001) que dans les reins (p < 0,01). Il a été observé une diminution significative (p < 0,001) des taux de glutathion dans l'aorte de 22,11 %, dans le cœur de 28,24 %, dans les reins de 34,73 %, et dans le foie de 45,67 %. L'administration de EHVG aux différentes doses a empêché de manière significative (p < 0,05) cette réduction dans le cœur. Comparativement au groupe traité à la L-NAME uniquement, le traitement concomitant EHVG 125 et EHVG 250 ont respectivement limité cette réduction de 82,95 % et de 50,53 % dans les reins (p < 0,001), mais également de 66,58 % dans l'aorte (p < 0,001) pour la dose de 250 mg/kg de EHVG.

L'activité de la catalase a baissé de façon significative (p < 0,001) de 13,43 %, 20,37 % et de 22,53 % respectivement dans l'aorte, le cœur et les reins des animaux du groupe L-NAME par rapport à ceux

du groupe normal. En comparaison au groupe L-NAME, les doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg ont prévenu respectivement la réduction de l'activité de la catalase de 16,20 % et de 19,66 % dans l'aorte ($p < 0,001$), de 27,06 % et de 26,71 % dans le cœur ($p < 0,001$). La dose de 125 mg/kg de EHVG a également prévenue la baisse de l'activité de la catalase dans les reins ($p < 0,05$) et le foie ($p < 0,001$) respectivement de 27,93 % et de 68,15 %.

Dans le groupe témoin négatif qui recevait uniquement la L-NAME, les taux de MDA ont significativement ($p < 0,001$) augmentés dans le l'aorte, le cœur et le foie respectivement de 41,72 %, 59,68 % et de 59,55 %, et également dans les reins ($p < 0,05$) de 46,11 % en comparaison au groupe témoin normal qui recevait uniquement de la solution saline. L'administration de EHVG aux doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg a empêché l'élévation des taux tissulaires de MDA respectivement de 11,66 % et de 30,60 % dans le cœur ($p < 0,001$), de 24,81 % et de 33,64 % dans le foie ($p < 0,001$), mais également de 63,07 % dans l'aorte à la dose de 250mg/kg de EHVG par rapport au groupe L-NAME. De même, il a été observé une diminution significative ($p < 0,05$) des taux dans les reins de MDA de 35,15 % et de 30,41 % respectivement pour EHVG 125 et EHVG 250.

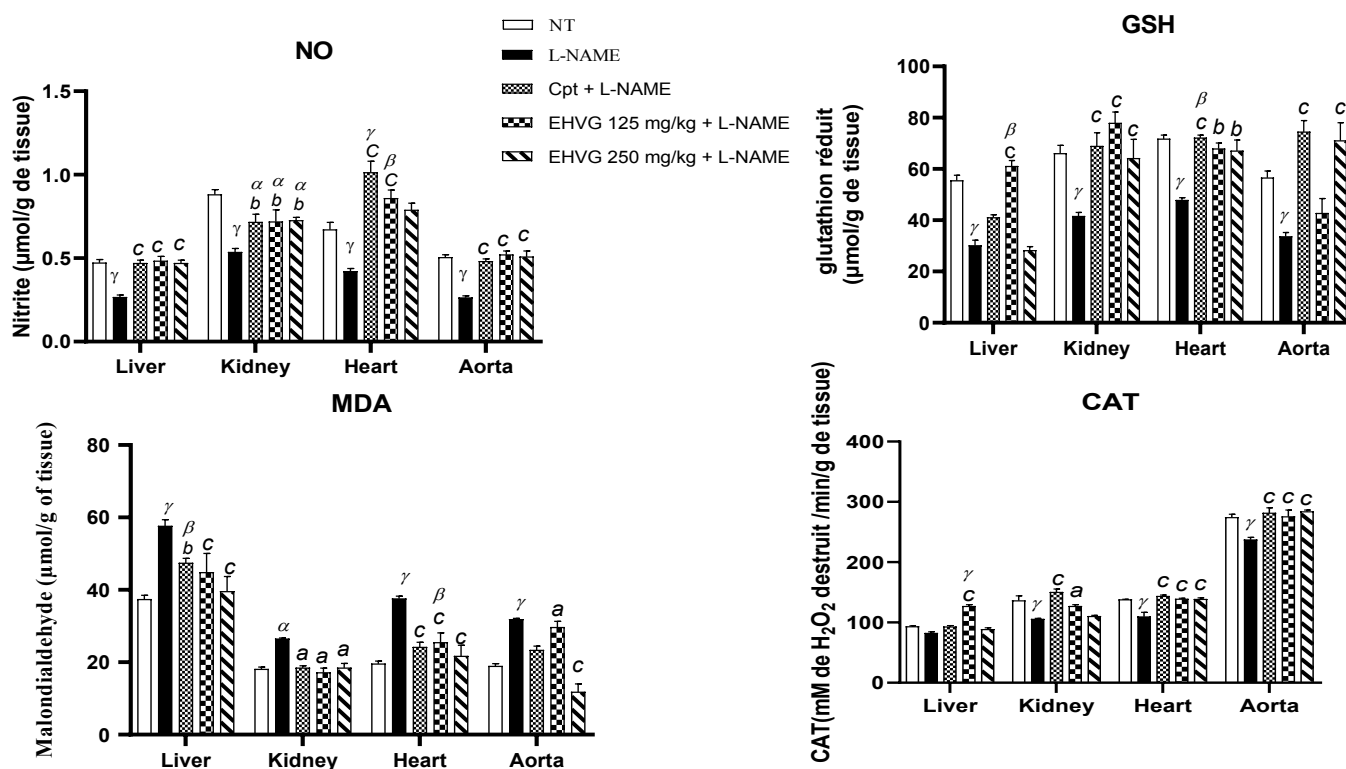


Figure 11: Effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* sur quelques marqueurs du statut oxydant

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ESM, $n = 6$. $^{\alpha}p < 0,05$, $^{\beta}p < 0,01$, $^{\gamma}p < 0,001$ = différence significative comparée au témoin normal ; $^ap < 0,05$, $^bp < 0,01$, $^cp < 0,001$ = différence significative par rapport au groupe L-NAME. NT = groupe témoin normal, L-NAME = N^ω-Nitro-L-arginine methyl-ester Cpt = animaux recevant 20 mg/kg (p.o) de Captopril, EHVG 150 et EHVG 300 = animaux recevant l'extrait hydro-éthanolique des racines de *V. guineensis* aux doses de 150 et de 300 mg/Kg. NO : Monoxyde

III.1.7- Effets de l'extrait de *Vernonia guineensis* sur l'histologie du foie, des reins, du cœur et de l'aorte

L'analyse histologique (Figure 12) a montré chez le témoin normal, une structuration normale des parenchymes hépatique, rénal, et aortique. Comparativement aux normaux, les animaux du groupe L-NAME ont présenté plusieurs altérations histopathologiques hépatiques (Infiltrations leucocytaires), rénales (Infiltrations leucocytaires, sécrétion éosinophile, dilatation tubulaire et expansion mésangiale), cardiaques (Infiltrations leucocytaires) et aortiques (Epaississement de la média). Ces différentes altérations histopathologiques ont été prévenue par l'administration de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis*.

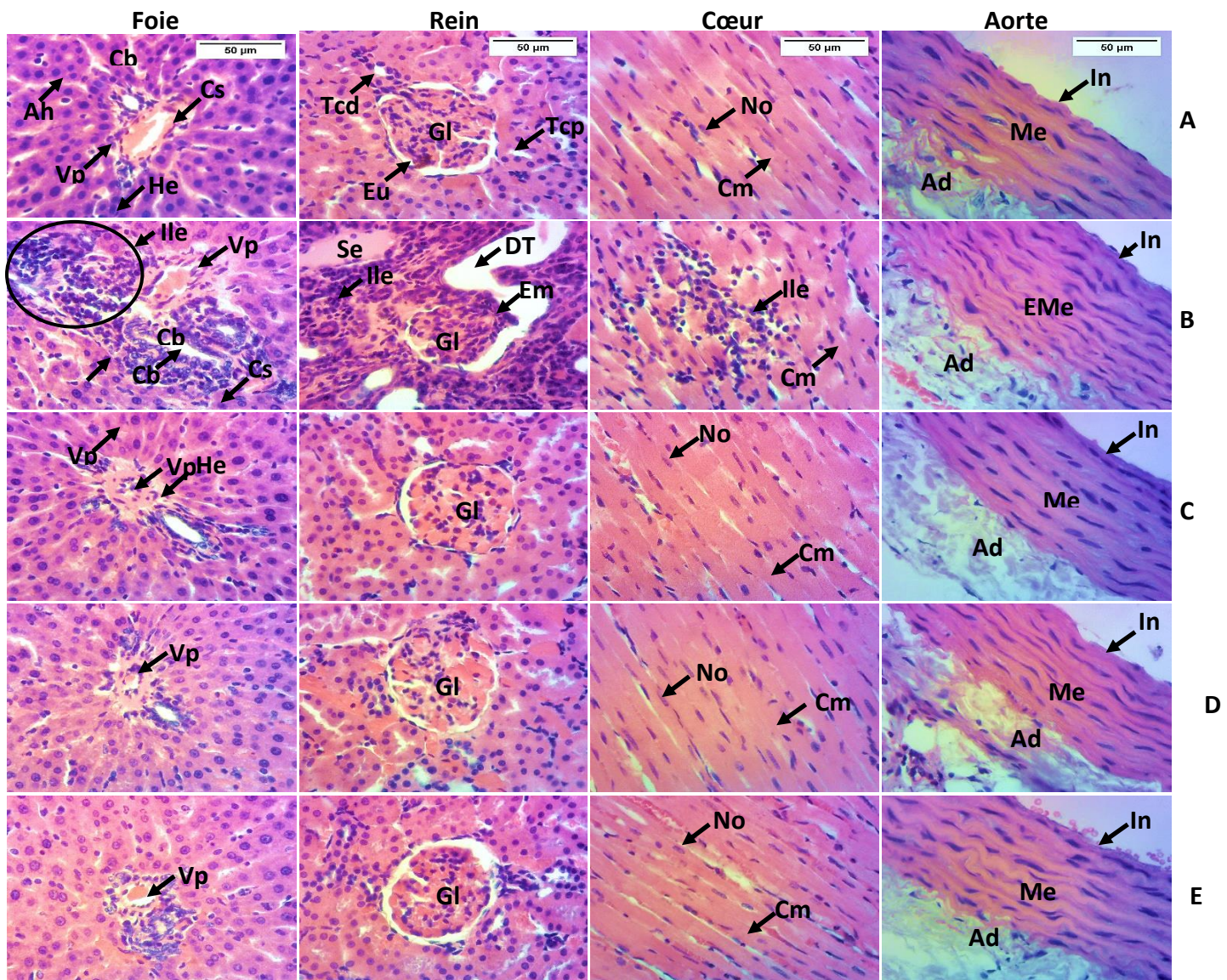


Figure 12: Photographies du foie, du rein, du cœur (ventricule gauche) et de l'aorte (X250) ; Coloration à l'hématoxyline-éosine

A = Témoin normal ; B = Témoin négatif ; C = Témoin positif ; D, E = Lots recevant l'extrait aux doses respectives de 125 et de 250 mg/kg ; **Foie** ; Vp = Veine porte hépatique ; He = Hépatocyte ; Cs = Capillaire sinusoïde ; Cb = Canalicule biliaire ; Ile = Infiltration leucocytaire ; **Rein** ; Gl = Glomérule ; Eu = Espace urinaire ; Tcd = Tubule contourné distal ; Tcd = Tubule contourné proximal ; Ile = Infiltration leucocytaire ; **Cœur** ; No = Noyau ; Cm = Cardiomyocyte ; DMF = Dégénérescence myofibrillaire ; **Aorte** ; Lu = Lumière ; In = Intima ; Me = Média ; Ad = Adventice ; EMe = Epaississement de la média.

III.2- Discussion

L'hypertension artérielle essentielle est une pathologie complexe associée à plusieurs désordres cardiovasculaires. L'induction de l'hypertension par la L-NAME est généralement utilisée comme modèle expérimental dans la découverte de nouveaux médicaments contre l'hypertension et ses complications (Leong *et al.*, 2015). C'est ainsi que la présente étude a été menée dans le but d'étudier les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* (EHVG) sur l'hypertension artérielle induite par la L-NAME chez le rat mâle de souche Wistar.

Dans cette étude, l'administration intrapéritonéale de L-NAME (25 mg/kg) pendant 21 jours a induit chez les animaux traités uniquement à la L-NAME, une augmentation significative de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque. La solution de L-NAME a également provoquée l'installation d'un stress oxydatif, ainsi que des altérations au niveau des organes comme les reins avec une hausse significative de la créatinémie, une réduction significative du débit de filtration glomérulaire (DFG) et de la natriurèse.

L'augmentation de la pression artérielle après administration de L-NAME est consécutive à une baisse de la biodisponibilité NO entraînant une réduction de l'activité de la voie NO-GMPc (Michel et Arnal, 1993 ; Adadope *et al.*, 2020). Il s'en suit un déséquilibre entre la production des facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs en faveur des facteurs vasoconstricteurs (Leong *et al.*, 2015). La cascade d'évènements résultant de ce déséquilibre aboutit à une augmentation des résistances vasculaires périphériques, une activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et du système nerveux sympathique, conduisant à une élévation de la pression artérielle (Pechanova *et al.*, 2020). L'administration aussi bien du Captopril (20 mg/kg) que de l'extrait hydro-éthanolique de racines (EHVG) aux doses de 125 mg/kg et de 250 mg/kg a significativement prévenue l'augmentation de la pression artérielle observée dans le groupe traité à la L-NAME uniquement. Des études phytochimiques réalisées sur l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis*, ont révélé la présence de plusieurs composés phytostérols dont les β -sitostérols, stigmastérol, β -sitostérol-3-O- β -D-glucoside et stigmastérol-3-O- β -D-glucoside (Donfack *et al.*, 2012 ; Wouamba *et al.*, 2019). Ces composés sont connus pour leur capacité à améliorer la fonction vasculaire, en augmentant la biodisponibilité du monoxyde d'azote qui est un puissant vasodilatateur (Sykes *et al.*, 2016). Et leur présence dans l'extrait de *V. guineensis* aurait contribué à prévenir l'élévation de la pression artérielle et donc la survenue de l'hypertension artérielle.

Le maintien de l'équilibre électrolytique est un facteur déterminant dans la régulation de la pression artérielle. Une perturbation de cet équilibre par l'administration de L-NAME chez les rats normotendus conduit à une réduction de la diurèse et de l'excrétion urinaire de sodium (natriurèse)

(Singh *et al.*, 2016 ; Paredes *et al.*, 2018). Des résultats similaires ont été obtenus dans cet étude. L'inhibition de la synthèse du NO par la L-NAME conduit à une production accrue d'aldostérone, l'expression des pompes Na^+/K^+ -ATPase et de l'échangeur Na^+/H^+ entraînant une augmentation de la réabsorption du sodium et une diminution du volume d'excrétion urinaire. Ceci concourt à une augmentation de la volémie avec pour conséquence une élévation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque (Kim *et al.*, 2006 ; Maneesai *et al.*, 2016). L'administration de l'extrait hydro-éthanolique de *Vernonia guineensis* a prévenu la réduction de la diurèse et de l'excrétion urinaire de sodium observé chez les animaux hypertendus. Ces résultats nous amènent à penser que les effets antihypertenseurs des racines de *Vernonia guineensis* seraient également médié par des propriétés diurétiques ou natriurétiques.

. Le NO est une molécule de signalisation dans les neurones du noyau dorso-médian de l'hypothalamus qui stimule l'appétit et donc la prise alimentaire chez de nombreuses espèces (Han *et al.*, 2013). Les récentes études ont montré que l'inhibition du NO par la L-NAME entraînerait une diminution de l'appétit et de l'apport alimentaire, à l'origine d'une perte du poids corporel (McGavin *et al.*, 2019). Ceci pourrait expliquer la réduction pondérale observée chez les animaux hypertendus de cette étude. Le traitement des animaux avec EHVG aux différentes doses a empêché cette perte pondérale.

L'augmentation de la pression artérielle entraîne des modifications microvasculaires à l'origine des dommages tissulaires au niveau des organes tels que le foie et les reins. Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est le moyen optimal d'évaluer la fonction rénale. Dans cette étude, il a été observé dans le groupe traité uniquement à la L-NAME, une réduction significative du débit de filtration glomérulaire, couplée une augmentation significative de la créatinémie. Ces résultats sont en accord avec ceux de Singh *et al.*, 2016 et de Ndjenda *et al.*, 2021 qui ont montré que l'inhibition du NO par la L-NAME induit des modifications microvasculaires qui conduisent à des lésions cellulaires et une perturbation de la perfusion rénale. De même, ces lésions cellulaires conduisent à la libération d'enzymes mitochondriales hépatique. Comparativement aux animaux du groupe normotendu, il a été observé chez les animaux du groupe traité à la L-NAME une augmentation des niveaux sériques des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique comme les transaminases (ALAT et ASAT), la lactate déshydrogénase (LDH), la bilirubine et les protéines totales. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Bilanda *et al.*, 2017 et par Metchi *et al.*, 2021 sur ce modèle, qui ont montré que l'inhibition de la synthèse du NO est associée à une nécrose cellulaire au niveau hépatique. Ces différentes modifications biochimiques sont corroborées par l'analyse de la microarchitecture de ces organes (reins et foie) qui a montré des altérations matérialisées par des infiltrations leucocytaires au niveau

des reins et du foie et une expansion mésangiale au niveau des reins. L'administration de l'extrait hydro-éthanolique de *V. guineensis* aurait empêcher la survenue de ces altérations par sa capacité à prévenir la diminution des taux de NO dans le foie et dans les reins.

. La dyslipidémie est connue pour son rôle majeur dans le développement de l'athérosclérose qui est un facteur permissif dans l'évolution de l'hypertension artérielle. (Wakabayashi et Daimon, 2019). En effet, l'inhibition de la synthèse du NO induit une augmentation significative des taux sériques de cholestérol total, des triglycérides, du LDL-cholestérol, du VLDL-cholestérol et une diminution du HDL-cholestérol. L'élévation des taux sériques de ces lipoprotéines conduit à une rigidification des artères et une athérosclérose, matérialisées au niveau histologique par un épaississement du média aortique. Ceci contribue donc significativement à une élévation de la pression artérielle dans le modèle L-NAME (Ntchapda *et al.*, 2020 ; Tcheutchoua *et al.* 2022). L'extrait de *V. guineensis* a prévenu l'installation d'une dyslipidémie. La présence des phytostérols dans l'extrait pourrait être responsables de l'amélioration du profile lipidique, et permettrait par conséquent une réduction de l'athérosclérose et des complications liées à celle-ci.

L'un des évènements majeurs associés à l'hypertension artérielle est l'altération du statut oxydant. Dans cette étude il a été observé dans le groupe L-NAME, une augmentation tissulaire des taux de malondialdéhyde (MDA) et une diminution des taux tissulaires de glutathion réduit (GSH), de monoxyde d'azote (NO) et de catalase (CAT). Ces résultats sont en droite ligne avec ceux de Ntchapda *et al.*, 2020 qui ont montré que l'inhibition de la synthèse du NO la L-NAME conduit à une augmentation l'activité de la NADPH oxydase qui est responsable de la formation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), précurseurs de plusieurs espèces réactives de l'oxygène. Ceci entraine un déséquilibre entre les processus oxydatifs et antioxydants en faveur des processus oxydatifs. L'extrait des racines de *V. guineensis*, a prévenu l'augmentation des taux de MDA dans les tissus comme le cœur et l'aorte et empêché la chute des taux tissulaires de GSH, de NO et de catalases telle qu'observée dans le groupe L-NAME. Des travaux antérieurs ont montré le rôle protecteur des β -sitostérols et du β -sitostérol-3-O- β -D-glucoside contre le stress oxydatif grâce à leur capacité à activer les récepteurs oestrogéniques (Shi *et al.*, 2013 ; Affi *et al.*, 2022). La présence de ces phytostérols dans l'extrait de *V. guineensis* suggère que cet extrait posséderait des propriétés antioxydantes et pourrait de ce fait protéger le système cardiovasculaire des altérations structurelles et fonctionnelles induites par la L-NAME.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail dont l'objectif était d'évaluer les effets de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* sur l'hypertension induite par la L-NAME chez le rat, il en ressort que :

✓ L'administration concomitante de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis* et de la L-NAME a prévenue l'augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle systolique, diastolique et moyenne induites par la L-NAME.

✓ *Vernonia guineensis* a prévenu la dyslipidémie et l'augmentation des taux sériques des marqueurs de la fonction hépatique, et également l'extrait de *Vernonia guineensis* a empêché aussi bien la baisse du débit de filtration glomérulaire que celle de la natriurèse et de la diurèse.

✓ L'installation du stress oxydant a été limitée par l'administration simultanée de l'extrait de *Vernonia guineensis* et de la L-NAME, permettant ainsi de prévenir les organes comme l'aorte, du cœur, des reins et du foie, des altérations structurelles et fonctionnelles induites par la L-NAME.

L'ensemble de ces observations montrent que *Vernonia guineensis* aurait des propriétés antioxydantes, hypolipémiants, diurétiques et antihypertensives résultant probablement des métabolites bioactifs, ce qui justifierait son utilisation en médecine traditionnelle pour la prise en charge de l'hypertension artérielle.

Dans les travaux futurs, les aspects suivants feront l'objet d'études complémentaires

- Evaluer les effets curatifs de cet extrait sur l'hypertension artérielle induite par la L-NAME
- Evaluer les effets de cet extrait sur la vasomotricité
- Evaluer les effets de cet extrait sur d'autres modèles d'hypertension artérielle
- Faire des études phytochimiques approfondies afin d'isoler et de caractériser les principes actifs responsables des effets anti-hypertenseurs de *Vernonia guineensis*

REFERENCES

- Abdel-Rahman R. F., Alyaa F. H., Marwan A., Hanan A. O., Reham M. & Salah M. (2017).** Antihypertensive effects of Roselle-Olive combination in L-NAME-Induced Hypertensive Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-24
- Adedapo, A. D., Ajayi A. M., Ekwunife N. L., Falayi O. O., Oyagbemi A., Omobowale T. O., & Adedapo, A. A. (2020).** Antihypertensive effect of *Phragmanthera incana* (Schum) Balle on NG-nitro-L-Arginine methyl ester (L-NAME) induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 257.
- Afifi S. M., Ammar N. M., Kamel R., Esatbeyoglu T., & Hassan H. A. (2022).** β -Sitosterol glucoside-loaded nanosystem ameliorates insulin resistance and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Antioxidant*. 11(5).
- Almanca C. C., Saldanha S. v., Sousa D. R., Trivilin L. O., Nunes L. C., Porfirio L. C., & Marinho B. G. (2011).** Toxicological evaluation of acute and sub-chronic ingestion of hydroalcoholic extract of *Solanum cernuum* Vell. in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 138(2): 508–512.
- Aluko E. O., Omobowale T. O., Oyagbemi A. A., Adejumobi O. A., Ajibade T. O., & Fasanmade A. A. (2018).** Reduction in nitric oxide bioavailability shifts serum lipid content towards atherogenic lipoprotein in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 101: 792–797.
- Asaolu M, Asaolu S. S., & Adanlawo (2010).** Evaluation of phytochemicals and antioxidants of four botanicals with antihypertensive properties. *www.ijpbs.net Medicinal chemistry 1*. www.ijpbs.net
- Bernatova I. (2014).** Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: Cause or consequence? In *BioMed Research International* (Vol. 2014). Hindawi Publishing Corporation.
- Bilanda D. C., Dzeufiet P. D. D., Kouakep L., Aboubakar B. F. O., Tedong L., Kamtchouing P., & Dimo T. (2017).** *Bidens pilosa* ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17(1).
- Blacher J., Halimi M., Hanon O., Mourad J., Pathak A., Schnebert B., & Girerd X. (2013).** Prise en charge de l'hypertension artérielle de l'adulte. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 25(5), 297–305.
- Borel J-P. (1999).** Biochimie pour le clinicien, mécanisme moléculaires et chimiques à l'origine des maladies. Frison-Roch, paris : Maclean Hunter editions. P. 394
- Ch'ng Y. S., Loh Y. C., Tan C. S., Ahmad M., Asmawi M. Z., Omar W. W., & Yam M. F. (2017).** Vasorelaxant properties of *Vernonia amygdalina* ethanol extract and its possible mechanism. *Pharmaceutical Biology*. 55(1): 2083–2094.
- Contreras-Zentella M. L., & Hernández-Muñoz R. (2016).** Is liver enzyme release really associated with cell necrosis induced by oxidant stress? In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2016). Hindawi Publishing Corporation.
- Cottart C. H., Nivet-Antoine V., Do L., Al-Massarani G., Descamps G., Xavier-Galen F., & Clot J. P. (2003).** Hepatic cytoprotection by nitric oxide and the cGMP pathway after ischaemia-reperfusion in the rat. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*. 9(2): 57–63.

- Defo B. K., Mbanya J. C., Kingue S., Tardif J. C., Choukem S. P., Perreault S., Fournier P., Ekundayo O., Potvin L., D'Antono B., Emami E., Cote R., Aubin M. J., Bouchard M., Khairy P., Rey E., Richard L., Zarowsky C., Mampuya W. M., ... Dubois C. A. (2019).** Blood pressure and burden of hypertension in Cameroon, a microcosm of Africa: A systematic review and meta-analysis of population-based studies. In *Journal of Hypertension*. 37(11) : 2190–2199
- Disarbois M. (2021).** Hypertension artérielle primaire : les alternatives phytothérapeutiques pour la réduire. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03365818>
- Ditchou Nganso Y. O., Kahouo Doutsing A., Mala Opono M. T. G., Nyasse B. (2019).** Evaluation of antimicrobial and antifungal activity of chemical constituents isolated from *Vernonia guineensis* roots (Asteraceae). *Journal of Natural Products and Resources*. 5(1): 204-20
- Donfack A. R. N., Toyang N. J., Wabo H. K., Tane P., Awouafack M. D., Kikuchi H., Tamokou J. D. D., Kuiate J. R., & Oshima Y. (2012).** Stigmastane derivatives from the roots of *Vernonia guineensis* and their antimicrobial activity. *Phytochemistry Letters*. 5(3) : 596–599.
- Duviard D. (1969).** Importance de *vernonia guineensis* Benth. dans l'alimentation de quelques fourmis de savane. *Insectes Sociaux, Paris*. 15(2): 115-134
- Ellman G. (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 7077.
- El-Mosallamy A. K., Sleem A. A., Abdel-Salam O. M. E., Shaffie N., & Kenawy S. A. (2012).** Antihypertensive and cardioprotective effects of pumpkin seed oil. *Journal of Medicinal Food*. 15(2): 180–189.
- Elnaem M. H., Mosaad M., Abdelaziz D. H., Mansour N. O., Usman A., Elrggal, M. E., & Cheema E. (2022).** Disparities in prevalence and barriers to hypertension control: a systematic review. In *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19 (21).
- Elnakish M. T., Hassanain H. H., Janssen P. M., Angelos M. G., & Khan M. (2013).** Emerging role of oxidative stress in metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Important role of Rac/NADPH oxidase. *Journal of Pathology*. 231(3): 290–300.
- Fermor B., Weinberg J., Pisetsky J., Musikonis D., Banes A., Guilak F. (2001).** The effect of static and intermittent compression of nitric oxide production in articular cartilage explants. *Journal of Orthopaedic research*. 19, 729-737
- Fouda B. Y., Dimo T., Tom E. L., Aboubakar O. B. F., Mbolang L. N., Tegah Kuissu A. M-N., Dzeufiet D. P. D., & Dimo T. (2020).** Aqueous extract of *Fagara tessmannii* Engl. (Rutaceae) exhibits antihypertensive activity in NO synthase inhibitor-induced hypertensive rats. *Journal of Integrative Cardiology Open Access*. 1–9.
- Gornall A., Bradwill C., David M. (1949).** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biology and chemistry*. 77: 167-182.
- Guyton A. C. & Hall (2006).** Médical physiology textbook writing. *Adv Physiol* Ed 11: s1–s5

- Han C., Zhao Q., & Lu B. (2013).** The role of nitric oxide signaling in food intake; insights from the inner mitochondrial membrane peptidase 2 mutant mice, *Redox Biology*. (1)1: 498-507.
- Ikewuchi C. C. (2012).** Hypcholesterolemic effect of an aqueous extract of *Sansevieria senegambica* baker leaves on plasma lipid profile and atherogenic indices of rats fed egg yolk-supplemented diet. *EXCLI Journal*. 11: 346-356.
- Jordan J., Kurschat C., & Reuter H. (2018).** Arterial hypertension-diagnosis and treatment. *Deutsches Arzteblatt International*. 115(33–34): 557–558.
- Keith F. C. (2020).** Uncontrolled hypertension in sub-Saharan Africa: Now is the time to address a looming crisis. In *Journal of Clinical Hypertension*. 22 (11): 2111–2113.
- Kichou B., Henine N., Himeur Y., Kichou L., Ait-Said M., Mazeghrane A., & Hammouche A. (2019).** Assessment of adherence to antihypertensive drugs in patients with resistant hypertension receiving optimal treatment. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 68(4) : 264–268.
- Kim J. S., Choi K. C., Jeong H., Kim S. W., Oh Y. & Lee J., (2006).** Increased expression of sodium transporters in rats chronically inhibited of nitric oxide synthesis. *J Korean Med Sci*. 21:1-4.
- Kukongviriyapan U., Kukongviriyapan V., Pannangpetch P., Donpunha W., Sripui J., Sae-Eaw A., & Boonla O. (2015).** *Mamao pomace* extract alleviates hypertension and oxidative stress in nitric oxide deficient Rats. *Nutrients*. 7(8): 6179–6194.
- Leong, X. F. & Jaarin K. (2015).** Animal models in cardiovascular research: hypertension and atherosclerosis. In *BioMed Research International* (Vol. 2015). Hindawi Publishing Corporation.
- Maneesai P., Prasarttong P., Bunbupha S., Kukongviriyapan U., Kukongviriyapan V., Tangsucharit P., Prachaney P., & Pakdeechote P. (2016).** Synergistic antihypertensive effect of *carthamus tinctorius* L. extract and captopril in L-NAME-induced hypertensive rats via restoration of eNOS and AT1R expression. *Nutrients*. 8(3).
- Marieb E. (1999).** Anatomie et physiologie Humaines. 4^{ème} édition, *De Boeck Université, Paris, Bruxelles*; pp. 972-1007.
- McGavin J. L., Cochkanoff E. I. Poole & Crosby M. K. (2020).** Nitric oxide acts in the rat dorsomedial hypothalamus to increase high fat food intake and glutamate transmission. *Neuroscience*. 440 : 277–289.
- Metchi D. F., Atsamo A. D., Temdié G. R. J., Ngouateu K. O. B., Dongmo A. B., & Dimo T. (2021).** Antihypertensive effects of the *Vitex cienkowskii* (Verbenaceae) stem-bark extract on L-NAME-Induced hypertensive rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Michel J.-B., Arnal J.-F. (1993).** Monoxyde d'azote et hypertension artérielle. *Médecine/Sciences*. 9 : 1061-7
- Mount P. F., & Power D. A. (2006).** Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. In *Acta Physiologica*. 187 (4): 433–446

- Nana Y. W., Billong M. J. R., Atsamo A. D., Tsafack E. G., Djuichou Nguemnang S. F., Fagni Njoya Z. L., Matah Marthe V. M., Madjo Kouam Y. K., Mbiatcha M., & Ateufack G. (2023).** In vitro and in vivo anti-inflammatory properties of the hydroethanolic extract of the roots of *Vernonia guineensis* (Asteraceae). *International Journal of Inflammation*. 2023: 1–16.
- Ndjenda M. K., Nguелеfack-Mbuyo E. P., Atsamo A. D., Fofie C. K., Fodem C., Nguemo F., & Nguелеfack T. B. (2021).** Antihypertensive Effects of the Methanol Extract and the Ethyl Acetate Fraction from *Crinum zeylanicum* (Amaryllidaceae) Leaves in L-NAME-Treated Rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021.
- Noda K., Godo S., Tsutsui M., & Shimokawa H. (2015).** Opposing roles of nitric oxide and rho-kinase in lipid metabolism in mice. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 235(3), 171–183.
- Ntchapda F., Bonabe C., Atsamo A. D., Kemeta Azambou D. R., Bekono Fouda Y., Imar Djibrine S., Seke Etet P. F., & Théophile D. (2020).** Effect of Aqueous Extract of *Adansonia digitata* Stem Bark on the development of hypertension in L-NAME-induced hypertensive Rat Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020.
- Olaiya C. O., Michael O., & B., N. A. (2013).** Nutraceuticals from Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) Nutraceuticals from Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) Protects against Cadmium Chloride induced hypertension in albino rats. In *Nature and Science*. 11(6).
- Olaiya C. O., Omolekan T. O., Esan A. M., & Adediran B. J. (2015).** Renal, Cardiac and Osteo-protective effects of beta-sitosterol glycoside in hypertensive rats. . 39 Online. www.iiste.org
- OMS (2013).** Traditional medicine strategy 2014-2023. World Health Organisation, Geneva, Switzerland, 72 p
- OMS (2021).** Hypertension. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> (accessed on 21 August 2021).
- Paredes M. D., Romecín P., Atucha N. M., O'Valle F., Castillo J., Ortiz M. C., & García-Estañ J. (2018).** Beneficial effects of different flavonoids on vascular and renal function in L-NAME hypertensive rats. *Nutrients*. 10(4).
- Pechanova O., Vrankova S., & Cebova M. (2020).** Chronic L-NAME-Treatment Produces hypertension by different mechanisms in peripheral tissues and brain: role of central eNOS. *Pathophysiology*. 27(1): 46–54.
- Poli A., Marangoni F., Corsini A., Manzato E., Marrocco W., Martini D., Medea G., & Visioli F. (2021).** Phytosterols, cholesterol control, and cardiovascular disease. In *Nutrients*. 13 (8).
- Selemidis S., Dusting G. J., Peshavariya H., Kemp-Harper B. K., & Drummond G. R. (2007).** Nitric oxide suppresses NADPH oxidase-dependent superoxide production by S-nitrosylation in human endothelial cells. *Cardiovascular Research*. 75(2): 349–358.
- Sherwood L. (2006).** Physiologie Humaine. 2e édition De Boeck, Bruxelles, Paris. 241 - 242.

- Shi C., Wu F., Zhu X., & Xu J. (2013).** Incorporation of β -sitosterol into the membrane increases resistance to oxidative stress and lipid peroxidation via estrogen receptor-mediated PI3K/GSK3 β signaling. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 1830(3): 2538–2544.
- Simko F., Baka T., Poglitsch M., Aziriova S., Krajcirovicova K., Zorad, S., Adamcova M., & Paulis L. (2018).** Effect of ivabradine on a hypertensive heart and the renin-angiotensin-aldosterone system in l-name-induced hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(10).
- Singh R. R., Easton L. K., Booth L. C., Schlaich M. P., Head G. A., Moritz K. M., & Denton, K. M. (2016).** Renal nitric oxide deficiency and chronic kidney disease in young sheep born with a solitary functioning kidney. *Scientific Reports*. 6.
- Sinha K. (1972).** Colorimetric essay of catalase. *Analyze biochemistry*. 47: 389-394.
- Steichen O., & Plouin P. F. (2014).** Prise en charge actuelle de l'hypertension artérielle. In *Revue de Medecine Interne*. 35(4) : 235–242.
- Sykes B. G., van Steyn P. M., Vignali J. D., Winalski J., Lozier J., Bell W. E., & Turner J. E. (2016).** The relationship between estrogen and nitric oxide in the prevention of cardiac and vascular anomalies in the developing zebrafish (Danio Rerio). *Brain Sciences*. 6(4).
- Talas S., Selamoglu, Z., Gogebakan, A., & Orun, I. (2018).** Effects of propolis on blood biochemical and hematological parameters in nitric oxide synthase inhibited rats by N ω -Nitro-L-arginine methyl ester. In *International Congress on Biological and Medical Science*. 26 (5).
- Tankeu S. E., Gisèle M. M. E., Simone V. F., Yemeda C. F., L., Foze T. N., Hans D. B. & Din, N. (2021).** Ethnobotanical studies of plants with antihypertensive properties in the city of Nkongsamba. Cameroon. *Saudi J Med Pharm Sci*. 7(6): 251–261.
- Tchinda A. T., Tsopmo A., Tane P., Ayafor J. F., Connolly J. D., & Sterner O. (2003).** Vernoguinoesterol and vernoguinoside, trypanocidal stigmastane derivatives from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). www.elsevier.com/locate/phytochem
- Thangiah A. S., & Obey J. (2013).** Phytochemical analysis of Vernonia adoensis leaves and roots used as a traditional medicinal plant in Kenya Anticancer View project. In *Article in International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. www.ijpbsonline.com
- Therrien F. (2005).** Effet de l'inhibition chronique de la synthèse du monoxyde d'azote sur la pression artérielle et l'apparition des dommages cardiovasculaires et rénaux chez le rat *Harlan sprague-dawley* 100p
- Tcheutchoua Y. N., Bilanda D. C., Dzeufiet P. D. D., Owona P. E., Bidingha R. G., Ngapout F. R., Mbolang L. N., Dimo T. & Kamtchouing P (2022).** Preventive potential of aqueous extract of mixture of aerial parts of *Bidens Pilosa* (Asteraceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on hypertension induced by chronic salt and alcohol consumption in rats. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. (2022): 18p

- Tortora G. J. & Grabowski S. R. (1994).** Principes d'anatomie et de physiologie. 2e édition française De Boeck University, pp 630-66
- Wajngarten M., & Sampaio S. G. (2019).** Hypertension and stroke: Update on treatment. *European Cardiology Review*. 14(2): 111–115.
- Wakabayashi I., & Daimon T. (2019).** Comparison of discrimination for cardio-metabolic risk by different cut-off values of the ratio of triglycerides to HDL cholesterol. *Lipids in Health and Disease*. 18(1).
- Wilbur K., Bernhein F., Shapiro O. (1949).** Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 24: 3959-3964.
- Witkowska A. M., Waśkiewicz A., Zujko M. E., Cicha-mikołajczyk A., Mironczuk-chodakowska I., & Drygas W. (2022).** Dietary plant sterols and phytosterol-enriched margarines and their relationship with cardiovascular disease among polish men and women: The WOBASZ II Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 14(13).
- Wouamba S. C. N., Happi G. M., Lenta B. N., Sewald N., & Kouam S. F. (2019).** Vernoguinaamide: A new ceramide and other compounds from the root of *Vernonia guineensis* Benth. and their chemophenetic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 88.
- Yapi A. B., Kassi N. J., Fofie N. B. Y., & Zirihi G. N. (2016).** Etude ethnobotanique des Asteraceae médicinales vendues sur les marchés du district autonome d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(6): 2633.

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Schéma des étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis*

Annexe 2 : préparation des différentes solutions de travail

Annexe 3 : Schéma synoptique du protocole expérimental

Annexe 4 : protocole de dosage des protéines

Annexe 5 : courbe d'étalonnage des protéines

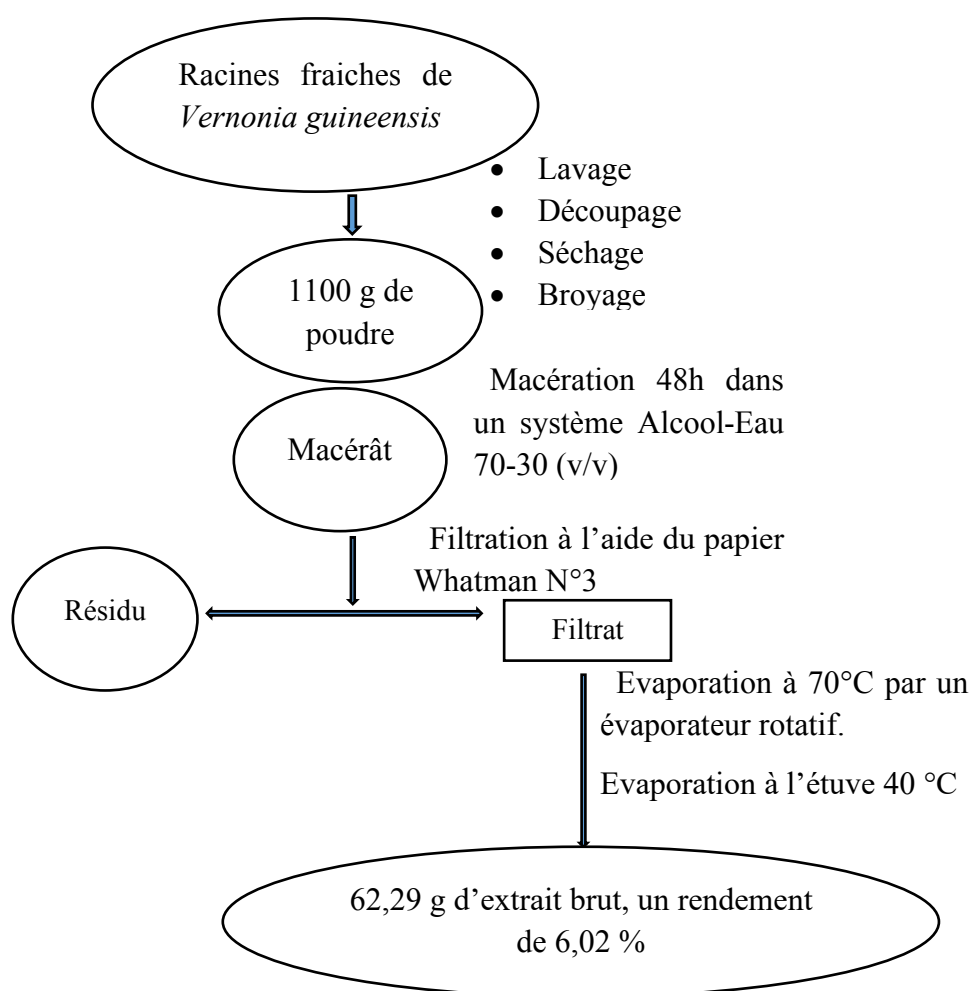
Annexe 6 : Protocole de dosage des nitrites

Annexe 7 : Courbe d'étalonnage des nitrites

Annexe 8 : protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la Catalase

Annexe 9 : Courbe d'étalonnage de la Catalase

Annexe 1 : Schéma des étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Vernonia guineensis*



Annexe 2 : Préparations des différentes solutions

➤ **Solution inductrice (L-NAME)**

La solution de L-NAME était administrée à une dose de 25 mg/kg, pour un volume d'administration de 0,5 mL pour 100g de poids corporel. La solution de L-NAME de concentration 5 mg/mL était préparée par solubilisation d'une quantité de 1,5 g de L-NAME dans une solution de 30 mL de NaCl 0,9 %.

➤ **Solution de captopril**

Le Captopril 25 mg/kg en comprimé produit par le Laboratoire Denk Pharma a été utilisé. Pour l'administration d'une dose de 20 mg/kg aux rats, une solution de 2 mg/mL de Captopril a été obtenue en dissolvant un comprimé de 25 mg de principe actif dans du NaCl 9% pour un volume final de 12,5 mL.

➤ **Solution de NaCl 0,9%**

Neufs grammes de cristaux de NaCl ont été dissout dans 1000 mL d'eau distillée pour obtenir une solution de NaCl 0,9 %

➤ **Solution d'uréthane 15 %**

Pour préparer la solution d'uréthane 15 %, 15 g d'uréthane ont été introduits dans une fiole jaugée de 100 mL contenant 50 mL d'eau distillée. Après agitation, l'eau distillée a été ensuite ajoutée jusqu'au trait de jauge.

➤ **Solution de Mac Even**

Pour la préparation de la solution de Mc Even, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH_2PO_4 , 1 g de CO_3NaH , 0,03 g de MgCl_2 et 2 g de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ont été dissouts dans 500 mL d'eau distillée (solution A). Par ailleurs, 0,28 g de CaCl_2 ont été dissouts dans 50 mL d'eau distillée (solution B). Après dissolution totale, les solutions A et B ont été mélangées et le volume final porté à 1000 mL par ajout d'eau distillée.

➤ **Solution de Mac Even hépariné 1 %**

La solution de Mac Even hépariné 1% a été obtenue en mélangeant 1mL d'héparine à 99 mL de Mac Even.

➤ **Solution de Mac Even hépariné 10 %**

L'héparine choay (5000 UI/mL, Sanofi Aventis, Allemagne) a été diluée au 1/10 (v/v) avec le Mac Even.

➤ **Solution de formol 10 % tamponné**

Pour cette solution, 6,5 g de phosphate disodique hydraté (Na_2HPO_4 ; H_2O_2) et 4 g de phosphate monosodique hydraté (NaH_2PO_4 ; H_2O_2) ont été ajoutés à 100 mL de formaldéhyde (HCHO) 37 %. La solution obtenue a été complétée à 1000 mL par ajout de 900 mL d'eau distillée

➤ **Tampon tris-HCl 50 mM (pH 7,4)**

Le tampon tris-HCl a été préparé en dissolvant 1,21 g de Tris base et 2,79 g de chlorure de potassium dans 250 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté avec du HCl 11,8 N, pour un volume final de 500 mL.

➤ **Tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,5)**

Deux solutions ont été initialement préparées. 8,91 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate disodique hydraté ont été ajoutés 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté, puis goutte à goutte de la même solution jusqu'à obtention d'un pH de 7,5.

➤ **Tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5)**

Le tampon phosphate a été préparé en faisant dissoudre 8,9 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dans 500 mL d'eau distillée (solution A). 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans 500 mL d'eau distillée (solution B). Le pH de la solution B a été ajusté à 6,5 avec la solution A.

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

Le tampon carbonate a été préparé en faisant dissoudre 4,5 g de carbonate de sodium ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$) et 4,2 g de carbonate monosodique (NaHCO_3) dans 500 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ramené à 10,2 avec de la soude (1N) et le volume complété à 1000 mL avec de l'eau distillée.

➤ **Solution de dichromate de potassium 5 % et acide acétique glacial**

La solution de dichromate de potassium 5 % a été préparée par dissolution de 2,5 g de dichromate de potassium dans 50 mL d'eau distillée. La solution de dichromate/acide acétique a été obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial pour obtenir volume final de 200 mL.

➤ **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

La solution de peroxyde d'hydrogène a été obtenue en diluant 243 μL de peroxyde d'hydrogène 35 % dans 50 mL d'eau distillée.

➤ **Solution d'adrénaline 0,3 mM**

La solution d'adrénaline a été obtenue en dissolvant 0,006 g (6 mg) d'adrénaline dans 100 mL d'eau distillée.

➤ **Solution d'acide trichloro-acétique 20 %**

Pour préparer la solution d'acide trichloro-acétique (TCA) 20 %, 20 g de TCA ont été introduits dans un erlenmeyer de 100 mL contenant 50 mL d'eau distillée. Après agitation, l'eau distillée a été ensuite ajoutée jusqu'au trait de jauge.

➤ **Solution d'acide thiobarbiturique 0,67%**

La solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % a été obtenue en dissolvant 0,67 g de TBA dans 100 mL d'eau distillée.

➤ **Solution de Sérum Albumine Bovin**

La solution de Sérum Albumine Bovin (SAB) (3 mg/mL) a été préparée en dissolvant 150 mg de SAB dans 50 mL d'eau distillée.

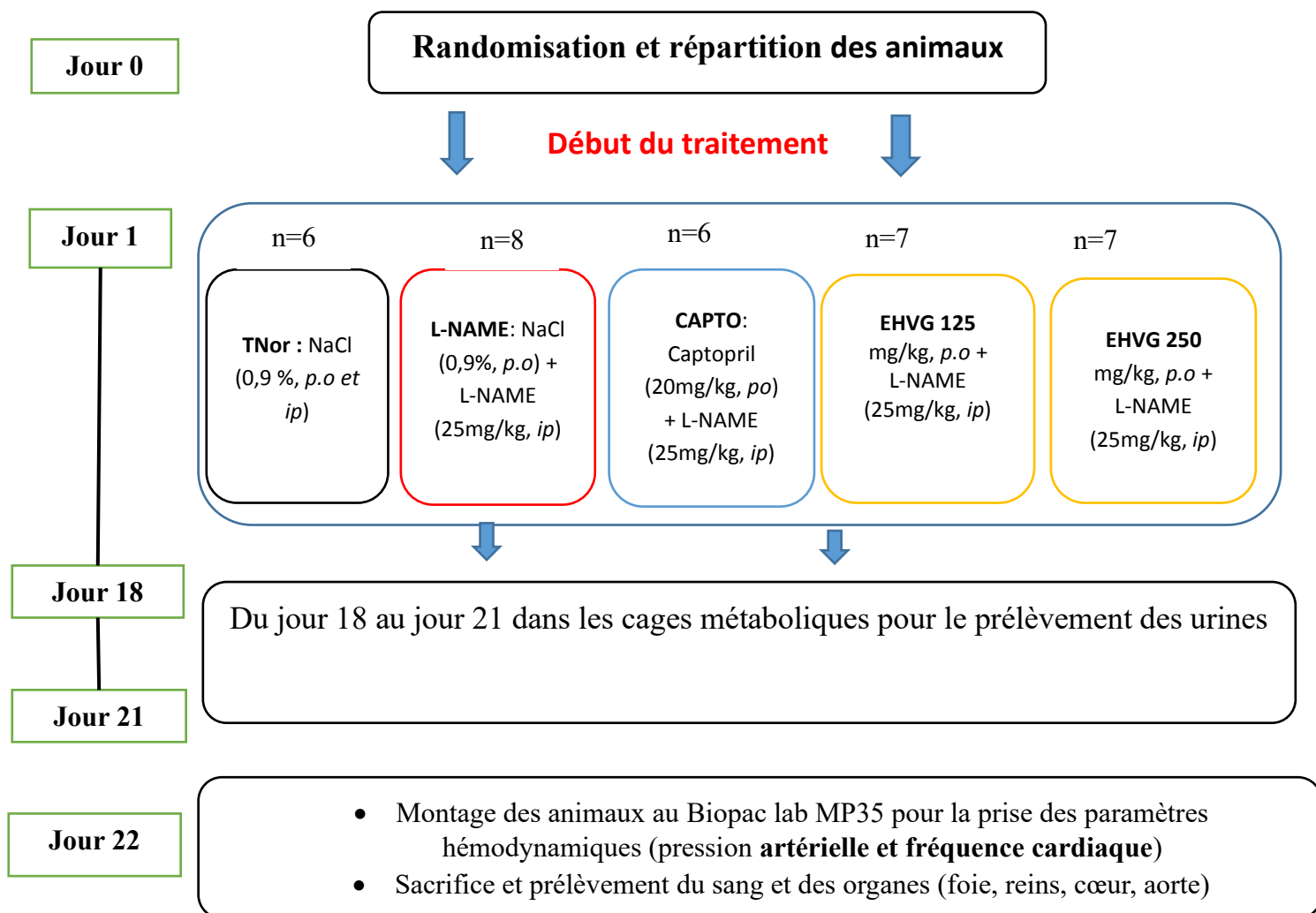
➤ **Préparation du Réactif d'Ellman**

Le réactif a été obtenu en faisant dissoudre 5 mg d'acide 2,2-dithio-5,5'- dinitrobenzoïque (DTNB) dans 250 mL du tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5.

➤ **Réactif de Biuret**

Le réactif de Biuret a été préparé en dissolvant 0,75 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 100 mL d'eau distillée (solution A). Ensuite, 15 g d'hydroxyde de sodium ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée (solution B). Les solutions A et B ainsi obtenues ont été mélangées et le volume final complété à 500 mL avec de l'eau distillée

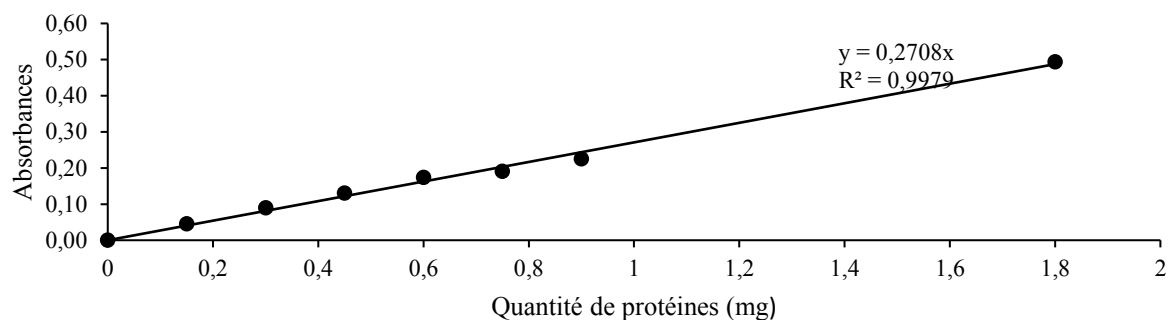
Annexe 3 : Schéma synoptique du protocole expérimental



Annexe 4 : Protocole de dosage des protéines totales

	Blanc	Étalons							Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	X ₁ X _n	
SAB (µL)	0	50	100	150	200	250	300	600	-	-
Eau distillée (µL)	600	550	500	450	400	350	300	0	590	590
Réactif de Biuret (µL)	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,16	0,3	0,46	0,6	0,78	0,0	1,8	-	-
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc au spectrophotomètre Urit-810 à 540 nm.										
Absorbances obtenues	0	0,05	0,10	0,15	0,18	0,20	0,22	0,45	?	?

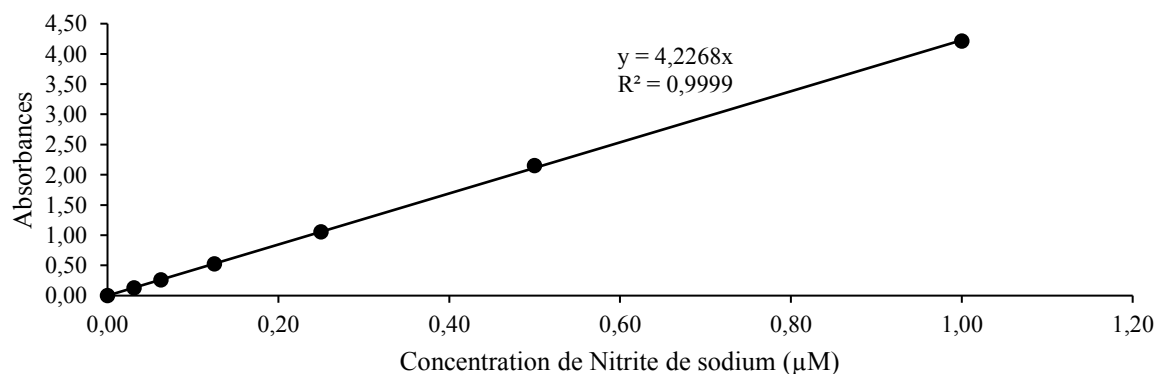
Annexe 5 : Courbe d'étalonnage des protéines



Annexe 6 : protocole de dosage des nitrites

	Blanc	Etalons						Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	$X_1 \dots X_n$	
Concentration de NaNO_2 (μM)	0	0,20	0,40	0,60	0,80	0,50	1,00	-	-
Volume de NaNO_2 (μL)	-	100	100	100	100	100	100	-	-
Echantillons (μL)	-	-	-	-	-	-	-	100	100
Eau distillée (μL)	500	400	400	400	400	400	400	400	400
Réactif de Griess (μL)	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc au spectrophotomètre à 546 nm.									
Absorbances obtenues	0	0,50	1	1,50	2,00	2,50	4,50	-	-

Annexe 7 : Courbe d'étalonnage des nitrites



Annexe 8 : protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H ₂ O ₂ (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Concentration de H ₂ O ₂ (mM)	0	2	4	8	16
Absorbances obtenues	0	0,010	0,020	0,030	0,040

Annexe 9 : Courbe d'étalonnage de la catalase

