



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي

Lakdhar- EL OUED- Université d'Echahid Hamma

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

Évaluation du potentiel thérapeutique de *Salvia rosmarinus* contre les atteintes induites par le nitrate de sodium : étude comparative avec la vitamine C sur les organes cardiaque et pulmonaire

Présenté Par :

SIAD Reguia

DOUA Chaima

FADEL Messaouda

Devant le jury:

Président	Dr. LANEZ El Hafnaoui	M.C.A	Université d'El Oued.
Examinatrice	Dr. ZAIEM Sihem	M.A.A	Université d'El Oued.
Promoteur	Dr. GHANIA Ahmed	M.A.A	Université d'El Oued.

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux. Louange à Allah qui nous a accordé son aide et sa bénédiction pour mener à bien ce travail modeste, fruit de plusieurs années d'études et de recherches. Nous Le remercions pour Ses innombrables bienfaits et prions sur notre Prophète Mohammed, ainsi que sur sa famille et ses compagnons. Nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadrant, le Dr. **Ghania Ahmed**, pour ses précieux conseils, son accompagnement constant et son implication tout au long des étapes de la préparation de ce mémoire. Son soutien scientifique, son souci de la rigueur méthodologique et son suivi attentif ont été des piliers essentiels ayant contribué à la réussite de ce travail. Après ce témoignage de reconnaissance envers notre honorable encadrant, nous adressons nos vifs remerciements aux membres du jury, qui ont accepté de juger ce travail et nous ont accordé de leur temps et de leur expertise. Leurs observations pertinentes et leurs orientations scientifiques ont grandement enrichi ce mémoire et élargi nos horizons en tant que jeunes chercheurs. Nous tenons également à remercier chaleureusement la **Dr. BOURAS Bia**, qui a joué un rôle déterminant au début de notre parcours universitaire. Elle a su nous soutenir face aux premières difficultés avec un esprit bienveillant et un sens élevé de responsabilité, ce qui nous a beaucoup encouragés. Nos remerciements s'adressent aussi au **Dr. TELILI Mohamed El-Aid**, chef du département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour son comportement exemplaire, sa compréhension de nos besoins et ses conseils judicieux, qui ont grandement facilité les aspects administratifs et scientifiques de ce travail. Nous n'oublions pas la précieuse contribution de la **Dr. Iman Ghilani**, spécialiste en anatomopathologie, pour sa supervision rigoureuse et son accompagnement scientifique lors de l'analyse histologique, ainsi que le personnel médical des centres de santé de la ville d'El Oued, pour leur collaboration professionnelle et leur disponibilité à réaliser les analyses dans les meilleures conditions. Nous adressons également nos sincères remerciements au personnel administratif, technique et de laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour leur soutien logistique et leur aide précieuse dans la réalisation des travaux pratiques. Nous tenons enfin à exprimer notre reconnaissance envers tous les enseignants et docteurs qui nous ont formés et accompagnés tout au long de notre cursus, pour leur savoir, leur enseignement et leur inspiration. Recevez nos plus profonds remerciements et notre fidèle gratitude. En conclusion, nous louons Allah et Le remercions de nous avoir comblés de Sa grâce, donné la force et la patience nécessaires pour achever ce mémoire, que nous considérons comme une source de fierté et une première étape sur le chemin de la recherche scientifique. **Et c'est à Allah que revient le succès.**

Dédicace

« Et dites : “Agissez ! Allah verra votre action, ainsi que Son Messager et les croyants.” »
(Sourate At-Tawbah, verset 105)

Louange à Allah par la grâce duquel les bonnes œuvres s'accomplissent, et que la paix et les bénédictions soient sur notre Prophète Mohammed ﷺ, ainsi que sur sa famille et ses compagnons. Je dédie ce travail modeste à mon cher père, **Abdelrazak Doua**, mon soutien et ma force, dont les prières m'accompagnent à chaque pas. Qu'Allah l'aide et le bénisse. Et à ma tendre mère, **Nacira Doua**, source de sérénité et compagne des jours difficiles, dont les prières furent ma provision sur le chemin. Je demande à Allah qu'Il t'accorde la visite de Sa Maison sacrée, comme tu l'as tant souhaitée. Je le dédie également à mes frères, sœurs et proches, ces soldats de l'ombre dont l'aide inestimable et le soutien indéfectible ne seront jamais oubliés. Qu'Allah vous récompense abondamment. À mon honorable directeur de mémoire, Monsieur **Ghaniya Ahmed**, toute ma gratitude et ma reconnaissance pour ses précieux conseils et son accompagnement bienveillant. Et à mes deux chères collègues : **Reguiia Siad**, qui fut comme une seconde encadrante par sa détermination, ses conseils et sa présence malgré ses propres difficultés — qu'Allah te soutienne, chère amie —, et **Messaouda Fadel**, pour son esprit de persévérance et de coopération qui nous a unies. Merci sincèrement à vous deux. Je lève aussi mon chapeau à moi-même... à celle qui a persévéré, résisté et enduré, malgré tous les défis de cette année, croyant en ses capacités, convaincue que toute fatigue a une fin lumineuse. Merci à moi-même d'avoir été mon propre soutien, sans jamais abandonner mes rêves, même dans les moments les plus difficiles. Et en ce moment de joie, je n'oublie pas nos **frères en Palestine** meurtrie, symbole de dignité et de résistance. Je prie Allah de les raffermir, de leur accorder la victoire, de faire miséricorde à leurs martyrs, et d'être un soutien pour leurs résistants.

Rédigé par : **Chaïma Doua**

Dédicace

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Louange à Lui, pour Ses innombrables bienfaits, pour la force qu'Il insuffle aux cœurs, et pour la lumière de la science qu'Il déverse sur les esprits en quête de savoir.

Je dédie ce travail, avec toute l'émotion que peuvent contenir les mots, à ceux qui ont été les piliers de mon cheminement...

À **mes parents** bien-aimés, qui ont semé en moi, dès les premiers souffles de la vie, l'amour du savoir et la soif de réussite.

À **mon père**, source de sagesse et d'exemple silencieux, dont les prières m'ont portée plus que je ne saurais l'exprimer.

À **ma mère**, refuge de tendresse infinie, dont l'amour inconditionnel et les sacrifices sont gravés en moi à jamais.

À **mon époux Ahmed**, mon soutien indéfectible, compagnon de mes luttes et catalyseur de mes réussites, je t'adresse toute ma gratitude et mon amour.

À **mes trois enfants**, joyaux de ma vie, votre seule présence suffit à illuminer mes journées et à donner un sens profond à mes efforts.

À **Monsieur Ghania Ahmed**, notre encadrant estimé, dont la bienveillance, la disponibilité et les conseils avisés ont été pour nous une lumière précieuse tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

À **mes frères et sœurs**, piliers de mon équilibre, toujours présents, toujours encourageants.

À **Razika**, ma sœur de cœur offerte par la vie, ta présence et ton soutien inlassable ont fait de toi un repère inestimable. Que Dieu te comble comme tu m'as comblée.

À **ma belle-mère et à ma belle-sœur Wafa**, pour leur disponibilité sans faille, leur aide discrète mais précieuse. Vous avez été là, toujours prêtes à tendre la main.

À **mes deux compagnes** de parcours, avec qui cette aventure a pris une dimension unique:

À **Chaïma**, ton sourire persistant et ta détermination contagieuse m'ont inspirée chaque jour.

À **Messaouda**, ton calme apaisant et ta constance m'ont été d'un réconfort inestimable.

Enfin, à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, par un mot, un geste, un regard, ont contribué à la réalisation de ce rêve... Recevez ici l'écho sincère de ma reconnaissance.

Rédigé par :SIAD Reguia

Dédicace

À Dieu tout d'abord, louange à Lui autant que les cieux et la terre peuvent contenir, une louange digne de Sa majesté et de l'immensité de Ses bienfaits. C'est par Sa grâce que j'ai atteint ce but et que le chemin du savoir m'a été facilité. Gloire et gratitude Lui reviennent à jamais.

À mon honorable enseignant, modèle de dévouement et de persévérance, qui n'a épargné aucun effort pour nous guider et nous soutenir. Qu'Allah le récompense généreusement.

À mes chers parents, ma couronne et mon pilier dans cette vie, qui m'ont entourée d'un amour inestimable, de prières sincères et d'une patience infinie tout au long de ces dix-huit années d'apprentissage.

À mes deux sœurs bien-aimées, mon appui après Dieu, mes compagnes fidèles dans chaque moment de doute ou de force. Que Dieu vous protège et vous comble de Sa bénédiction.

À mes précieuses amies, complices de ce parcours et de ce mémoire, je vous remercie pour votre sincérité et votre présence constante à mes côtés.

À tous ceux qui m'ont tendu la main, par un mot, un acte ou une prière... cette réussite est aussi la vôtre.

Et enfin, à moi-même... merci pour la patience, l'endurance malgré la douleur, et la constance malgré les épreuves. Je prie pour que ce travail soit béni, et que ce succès soit un pas vers la réalisation de mes aspirations, au service de Dieu et de Ses créatures.

Rédigé par : Massouda Fadel



Abstract

This study falls within an experimental research approach aimed at exploring the effectiveness of natural alternatives in preventing and mitigating the harmful effects induced by pro-oxidant agents, using sodium nitrate (NaNO_3) as a representative example of these compounds, which are widely used as food additives and known to generate systemic oxidative stress, particularly affecting the lungs, heart, liver, and kidneys.

The main objective of this work is to evaluate the therapeutic and preventive potential of the crude extract of *Salvia rosmarinus* (rosemary), in comparison with vitamin C, a reference antioxidant, against the biochemical, hematological, and histopathological imbalances induced by NaNO_3 exposure.

In vitro analysis results revealed that the *S. rosmarinus* extract possesses notable antioxidant activity ($\text{IC}_{50} = 3.3$ mg/ml in the DPPH test), comparable to that of ascorbic acid, as well as significant anti-inflammatory effects, with 88% inhibition of protein denaturation at 5 mg/ml.

On a biochemical level, NaNO_3 induced a marked imbalance in oxidative status, evidenced by a significant decrease in GSH, catalase (CAT), and GST, along with an increase in MDA levels in lung and liver tissues. These disruptions reflect intense lipid peroxidation and a failure of endogenous enzymatic defenses. Administration of *Salvia rosmarinus*, either preventively or curatively, significantly restored antioxidant parameters, rebalanced the redox status, and reduced lipid damage—sometimes showing higher efficacy than vitamin C.

Hematologically, NaNO_3 exposure led to anemia and marked leukocytosis, indicative of an acute inflammatory response. Treatment with *S. rosmarinus* corrected these anomalies, demonstrating strong hematoprotective effects. Multi-organ histopathological examination confirmed the severe lesions induced by NaNO_3 , with characteristic damage in the lungs (congestion, infiltrates, alveolar rupture), kidneys (tubular dilation, glomerular congestion, focal necrosis), liver (hepatocyte degeneration, portal congestion), and heart (disorganized myocardial fibers and necrotic foci). The groups treated with *S. rosmarinus* showed remarkable morphological improvements, indicating clear cytoprotection, particularly in curative groups, thereby revealing regenerative potential post-injury.

In summary, this study highlights *Salvia rosmarinus* as a promising natural alternative to vitamin C, with a wide range of biological activities: antioxidant, anti-inflammatory, hematoprotective, and cytoprotective. Its application as a natural agent for preventing and repairing oxidative stress-related damage of dietary origin appears both relevant and scientifically substantiated.

Keywords: *Salvia rosmarinus*, sodium nitrate, oxidative stress, antioxidants, GSH, GST, catalase, MDA, inflammation, hematology, histology, heart, lungs, liver, kidneys, vitamin C, phytotherapy, cytoprotection.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans une démarche de recherche expérimentale visant à explorer l'efficacité d'alternatives naturelles dans la prévention et l'atténuation des effets délétères induits par des agents pro-oxydants, en prenant le nitrate de sodium (NaNO_3) comme exemple représentatif de ces composés, largement utilisés comme additifs alimentaires et connus pour générer un stress oxydatif systémique, affectant particulièrement les poumons, le cœur, le foie et les reins.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le potentiel thérapeutique et prophylactique de l'extrait brut de *Salvia rosmarinus* (romarin), en comparaison avec la vitamine C, antioxydant de référence, face aux déséquilibres biochimiques, hématologiques et histopathologiques induits par l'exposition au NaNO_3 .

Les résultats des analyses in vitro ont révélé que l'extrait de *S. rosmarinus* possède une activité antioxydante notable ($\text{IC}_{50} = 3,3$ mg/ml au test DPPH), comparable à celle de l'acide ascorbique, ainsi qu'un effet anti-inflammatoire significatif, avec 88 % d'inhibition de la dénaturation des protéines à 5 mg/ml.

Sur le plan biochimique, le NaNO_3 a provoqué un déséquilibre marqué du statut oxydatif, se traduisant par une baisse significative du GSH, de la catalase (CAT) et de la GST, accompagnée d'une élévation du MDA dans les tissus pulmonaires et hépatiques. Ces perturbations traduisent une peroxydation lipidique intense et une défaillance des défenses enzymatiques endogènes. L'administration de *Salvia rosmarinus*, en mode préventif ou curatif, a permis une restauration significative des paramètres antioxydants, rééquilibrant le rapport redox et réduisant les dommages lipidiques, avec une efficacité parfois supérieure à celle de la vitamine C.

Au niveau hématologique, l'exposition au NaNO_3 a entraîné une anémie et une leucocytose marquée, indicatrices d'une réponse inflammatoire aiguë. Le traitement par *S. rosmarinus* a corrigé ces anomalies, témoignant d'un effet hématoprotecteur robuste. L'examen histopathologique multi-organes a confirmé les atteintes sévères induites par le NaNO_3 , avec des lésions caractéristiques au niveau des poumons (congestion, infiltrats, rupture alvéolaire), des reins (dilatation tubulaire, congestion glomérulaire, nécrose focale), du foie (dégénérescence hépatocytaire, congestion portale), et du cœur (désorganisation des fibres myocardiques et foyers nécrotiques). Les groupes traités par *S. rosmarinus* ont présenté une amélioration morphologique remarquable, traduisant une cytoprotection manifeste, surtout dans les groupes curatifs, révélant ainsi un potentiel régénérateur post-agression. En somme, cette étude met en évidence que *Salvia rosmarinus* représente une alternative naturelle prometteuse à la vitamine C, avec un large spectre d'activités biologiques : antioxydante, anti-inflammatoire, hématoprotectrice et cytoprotectrice. Son application en tant qu'agent naturel de prévention et réparation des dommages liés au stress oxydatif d'origine alimentaire apparaît pertinente et scientifiquement fondée.

Mots-clés : *Salvia rosmarinus*, nitrate de sodium, stress oxydatif, antioxydants, GSH, GST, catalase, MDA, inflammation, hématologie, histologie, cœur, poumons, foie, reins, vitamine C, phytothérapie, cytoprotection.

ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار بحث تجريبي يهدف إلى استكشاف فعالية البدائل الطبيعية في الوقاية من التأثيرات السامة والتخفيف منها، الناتجة عن العوامل المؤكسدة، مع اتخاذ نترات الصوديوم (NaNO_3) كنموذج تمثيلي لهذه المركبات المؤكسدة، نظرًا لاستعماله الواسع كمضاف غذائي وقدرته المثبتة على إحداث إجهاد تأكسدي شامل يمس بشكل خاص الرئتين، القلب، الكبد والكلية.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم الفعالية الوقائية والعلاجية للمستخلص الخام لنبات *Salvia rosmarinus* (إكليل الجبل)، مقارنةً بـفيتامين C كمضاد أكسدة مرجعي، في مواجهة الاختلالات البيوكيميائية، الدموية والنسجية التي يسببها التعرض لنترات الصوديوم.

أظهرت التحاليل الفيتو-كيميائية والاختبارات المخبرية خارج الجسم الحي (in vitro) أن هذا المستخلص يتمتع بنشاط مضاد للأكسدة مهم ($\text{IC}_{50} = 3.3$ ملغ/مل) وفق اختبار (DPPH)، إضافة إلى فعالية قوية مضادة للالتهاب، حيث بلغت نسبة تثبيط التمسُّخ البروتيني 88% عند تركيز 5 ملغ/مل، وهي نتائج مقاربة لتلك المسجلة بالنسبة لفيتامين C.

على المستوى البيوكيميائي، سبب التعرض لنترات الصوديوم اختلالاً واضحاً في التوازن التأكسدي تمثل في انخفاض تركيز كل من GSH، أنزيم الكاتالاز (CAT) و GST، مع ارتفاع ملحوظ في مستوى MDA في أنسجة الرئة والكبد، وهو ما يعكس ارتفاعاً في شدة البيروكسدة الدهنية وفقدان الفعالية الذاتية للأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة. وقد مكّن العلاج بمستخلص *Salvia rosmarinus*، سواء بصفة وقائية أو علاجية، من تحسن معتبر لهذه المؤشرات واستعادة التوازن الخلوي للحالة المؤكسدة/المختزلة، مع تسجيل فعالية مكافئة أو حتى متفوقة أحياناً على فيتامين C.

أما على المستوى الدموي (الهيماتولوجي)، فقد تم تسجيل فقر دم (anémie) وارتفاع في عدد الكريات البيضاء (leucocytose) نتيجة الالتهاب الجهازى الحاد الناتج عن نترات الصوديوم، وهي اضطرابات تم تصحيحها بشكل واضح بعد استعمال مستخلص النبات، ما يدل على خصائص واقية للدم (hématoprotectrices) فعالة.

وقد دعمت التحاليل الهيستولوجية متعددة الأعضاء هذه النتائج، حيث كشفت المقاطع النسيجية تحت تأثير نترات الصوديوم عن احتقان، تسرب التهابي وتمزق في الحويصلات الهوائية بالرئة، واتساع في الأنابيب البولية، نخر بؤري واحتقان في الكبيبات على مستوى الكلية، إلى جانب تنكس في الخلايا الكبدية واحتقان بوابة الكبد، وأخيراً تفكك في ألياف عضلة القلب وظهور بؤر نخرية واضحة. أما في المجموعات التي تلقت العلاج بـ *Salvia rosmarinus*، فقد لوحظت تحسينات نسيجية ملحوظة وتقارب مع المظهر الطبيعي للأنسجة، مما يعكس حماية خلوية فعالة (cytoprotection)، خصوصاً في المجموعات العلاجية بعد التسمم، ما يدل على قدرة تجديدية معتبرة للنبات.

وبشكل عام، تُبين هذه الدراسة أن *Salvia rosmarinus* يُعد بديلاً طبيعياً واعدًا لفيتامين C، بفضل فعاليته المضادة للأكسدة، المضادة للالتهاب، الواقية للدم، والحامية للخلايا، مما يجعله مرشحاً جاداً للاستعمال في الوقاية والعلاج من الأضرار النسيجية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي الناتج عن ملوثات غذائية مثل نترات الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل، نترات الصوديوم، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، GSH، GST، الكاتالاز، MDA، الالتهاب، التحاليل الدموية، التحاليل النسيجية، القلب، الرئتان، الكبد، الكلية، فيتامين C، العلاج بالنباتات، الحماية الخلوية.

Liste des abréviations

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

Ach : Acétylcholine

AV : Auriculo-Ventriculaire

SA : Sino-Auriculaire

ECG : Électrocardiogramme

P : Dépolarisation auriculaire

QRS : Dépolarisation ventriculaire

T : Repolarisation ventriculaire

UV : Ultraviolet

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50%

DTNB : Acide 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque

TBA : Acide Thiobarbiturique

FNS : Formule Numération Sanguine

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

Na⁺ : Ion sodium Cation monovalent Régulation du volume hydrique, transmission de l'influx nerveux.

K⁺ : Ion potassium Cation monovalent Fonctionnement musculaire (surtout cardiaque), équilibre acido-basique.

Cl⁻ : Ion chlorure

ND : Non daté

Min : minute

. T_{1/2} → Demi-vie biologique

Kel → Constante d'élimination

p (pression) → Pression partielle

. FAO → Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

OMS → Organisation mondiale de la santé

ECG → Électrocardiogramme

ST → Segment ST

QT → Intervalle QT

S. d → Sans date

Liste des figures

Figure 01: romarin (<i>Salvia rosmarinus</i>)	6
Figure 02 : A-Fleurs, B-Feuilles, C-Graines <i>Salvia rosmarinus</i>	8
Figure 03: Phytocompounds present in <i>Salvia rosmarinus</i>	11
Figure 04: Carte montrant les points de répartition du romarin en Algérie (01, 02,03 désignent les plaines orientales ; K1, K3 désignent l'Atlas Tellien ; H1, H2 désignent les Hauts Plateaux ; SM désigne les régions sahariennes)	12
Figure 05 : Carte montrant la répartition du romarin dans le monde.....	13
Figure 6 : Nitrate de sodium.....	15
Figure 7 : Structure chimique du nitrate de sodium.....	16
Figure 8: Mécanismes toxiques des nitrates de sodium	23
Figure 9: Organes principaux du système respiratoire	30
Figure10 : Structures formant le septum nasal	31
Figure 11 : Paroi latérale de la cavité nasale droite	32
Figure12 : Les voies respiratoires supérieures	34
Figure 13 : Régions du pharynx	35
Figure 14 : LarynxLe larynx s'étend du laryngopharynx et de l'os hyoïde jusqu'à la trachée.	37
Figure 15 : Cordes vocalesLes vraies cordes vocales et les plis vestibulaires du larynx sont vus par le bas depuis le laryngopharynx	37
Figure 16 : Anatomie du larynx, de la trachée et de l'arbre bronchique	39
Figure 17 : Organisation histologique de la trachée. a) représentation schématique, b) coupe histologique après coloration des tissus	40
Figure 18 : Histologie de la trachée, coupe histologique après coloration des tissus	40
Figure 19: Le système muco-ciliaire	41
Figure 20: Division de l'arbre bronchique.....	43
Figure 21: Schéma des alvéoles pulmonaires.....	44
Figure22: Poumons	45
Figure 23: Poumons in situ - vue antérieure.	46
Figure 24: Plèvres pariétale et viscérale des poumon.	47
Figure 25 : A-schéma anatomique du cœur .B-La forme du cœur	53
Figure 26 : Anatomie du cœur.....	53
Figure 27: Anatomie de l'oreillette droite du cœur.....	54

Figure 27 :A-Anatomie du ventricule droit du cœur. B-Coupe frontale et latérale droite du cœur.....	55
Figure 28: A- Schéma anatomique de la partie gauche du cœur . B- Coupe transversale de la partie gauche du cœur en vue supérieure	57
Figure 29: Valve tricuspide en vue supérieure.	58
Figure 30: A-Valve pulmonaire en vue supérieure. B-Anatomie de la valve pulmonaire	58
Figure 31 : Schéma anatomique de la valve mitrale	59
Figure 32 : A- Vue supérieure en imagerie 3D de trois variantes anatomiques de la valve aortique B-Schéma de la localisation de la valve aortique dans le cœur.	60
Figure 33 :A-Le trajet des artères dans le corps humain.B-La structure de la paroi artérielle.	61
Figure34 :A-Le trajet des veines dans le corps humain.B-Les valvules veineuses.	62
Figure 35 : La forme des capillaires sanguins.....	63
Figure36 :Les membranes péricardiques et les couches de la paroi du cœur.	64
Figure 37: La musculature cardiaque	65
Figure 38:A-La circulation sanguine du cœur. B-Relation entre le cycle cardiaque et l'ECG. C- Suivi du cycle cardiaque à l'aide de l'ECG.	66
Figure 39 : contrôle nerveux de l'activité cardiaque.....	67
Figure 40: L'angine de poitrine est une douleur thoracique due à une réduction du flux sanguin dans les artères coronaires, ce qui empêche le muscle cardiaque de recevoir suffisamment d'oxygène.....	69
Figure 41 : Les conditions d'élevage des rats	72
Figure 42 : La localisation de la wilaya de Tébessa.....	73
Figures 43/44 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Préparation du matériel végétal et conditionnement de la drogue dans un flacon en verre ambré.....	74
Figure 45/46 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Étapes de préparation de l'extrait végétal par décoction.	76
Figures 47/48 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Étapes de concentration préalable, séchage et broyage du matériel végétal.	77
Figure 49 : (A) et (B) Organigramme et schéma pour la préparation des infusions en utilisant la décoction	78
Figure 50 :Réaction de réduction du radical DPPH· par les antioxydants : un indicateur spectrophotométrique de l'activité antioxydante.....	83

Figure 51 : Réduction du complexe Fe ³⁺ -TPTZ par des antioxydants : Formation du complexe Fe ²⁺ -TPTZ et développement d'une coloration bleue intense à 595 nm.....	84
Figure 52 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Illustration représentant l'administration thérapeutique chez les rats par voie orale à l'aide d'une canule gastrique (gavage),	90
Figure 53 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.).....	91
Figures 54/55 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.).....	98
Collecte du sang total chez le rat après décapitation.....	98
Figures 56/57 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Ouverture de la cavité thoraco-abdominale chez le rat pour le prélèvement des organes.	99
Figures 58/59 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.).....	100
Figure 60 : Réaction du malondialdéhyde (MDA) avec l'acide thiobarbiturique (TBA) formation du complexe coloré MDA-TBA utilisé dans l'évaluation du stress oxydatif.....	101
Figure 61 : Réaction de réduction du DNB ²⁻ en TNB ²⁻ : base du dosage de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST)	102
Figure 62 : Mécanisme réactionnel du GST (PARKER et WILICE, 1994).....	104
Figures 63/64/65 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Prélèvement et dissection des organes pour les analyses toxicologiques et biochimiques Après le sacrifice des animaux expérimentaux par décapitation selon les normes éthiques en vigueur,	106
Figures 66 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Déshydratation des tissus biologiques à l'aide d'un appareil histologique automatisé.....	106
Figures 67/68 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.) Infiltration et inclusion des tissus biologiques en paraffine	107
Figure 70 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Lames histologiques montées sur lame porte-objet.	108
Figure 71 Comparaison des valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de <i>Salvia rosmarinus</i> dans le test DPPH.....	114
Figure 72 : Comparaison des valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de <i>Salvia rosmarinus</i> dans le test d'inhibition de l'hémolyse.....	118
Figure73 Comparaison des valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) du diclofénac et de l'extrait de <i>Salvia rosmarinus</i> dans le test d'inhibition de l'inflammation in vitro.....	120
Figure 74 Comparaison des valeurs de l'IC ₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de <i>Salvia rosmarinus</i> dans le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	123

Figure 75 : Effet des différents traitements sur le taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus pulmonaires des rats (exprimé en $\mu\text{mol/g}$ de tissu).....	139
Figure 76 : Effet des différents traitements sur le taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus hépatique des rats (exprimé en $\mu\text{mol/mg}$ de tissu).....	140
Figure 77: Activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) au niveau pulmonaire selon les groupes expérimentaux(Unité : $\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine).....	142
Figure 79 : Variation de l'activité de la catalase (CAT) dans le tissu pulmonaire selon les groupes expérimentaux.(Unité : $\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine).....	145
Figure 80 : Variation de l'activité de la catalase (CAT) dans le tissu hépatique selon les groupes expérimentaux.(Unité : $\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine).....	145
Figure 81 : Évolution des concentrations en malondialdéhyde (MDA) dans les tissus pulmonaires (P) des rats soumis à différents traitements expérimentaux.:(Unité : $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	147
Figure 82 : Évolution des concentrations en malondialdéhyde (MDA) dans les tissus hépatiques (F)des rats soumis à différents traitements expérimentaux.:(Unité : $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	148
Figure 83 : P.2 : G2 — NaNO_3 : Atteinte pulmonaire sévère : destruction des septats alvéolaires , emphysème, signe d'alvéolite hémorragique, congestion vasculaire.....	151
Figure 84 : P.3 :G3 — NaNO_3 + Extrait : Effet protecteur pulmonaire de <i>S. rosmarinus</i> : diminution de l'inflammation, légère destruction alvéolaires.	151
Figure 85 : P.4 :G4 — NaNO_3 + Vit C : Protection pulmonaire partielle par la vitamine C : 1. diminution de l'inflammation, une destruction alvéolaires+lésions hémorragiques	151
Figure 86 : P.6 :G6 — NaNO_3 + Vit C: diminution de l'inflammation avec une destruction des septats alvéolaires focale.....	152
Figure 87 : P.7 :G7 — Traitement par Vit C : Diminution légère +alvéolite hémorragiques+destruction des alvéoles en général les dommages sont plus sévères	152
Figure 89 : C.3 :G3 : NaNO_3 + Extrait : Effet cardioprotecteur de <i>S. rosmarinus</i> : légère congestion vasculaire et absence de nécrose.....	153
Figure 90 : C.4 :G4 : NaNO_3 + Vit C : Protection partielle du tissu myocardique par la vitamine C. congestion vasculaire.....	153
Figure 91 : C.7 :G7 : Traitement par Vit C : Amélioration tissulaire limitée par la vitamine C.nécrose et absence totale des noyveaux et des fibres	153
Figure 92 : F.3 :G3 : NaNO_3 + Extrait : Effet hépatoprotecteur manifeste de <i>S. rosmarinus</i> +	154

Figure 93 :F.4 :G4 : NaNO ₃ + Vit C :Effet protecteur modéré de la vitamine C contre la toxicité hépatique : légère congestion.	154
Figure 94 :R.2 :G2 : NaNO ₃ . une inflammation modérée avec congestion vasculaire et structurale, absence de nécrose.	155
Figure 95 :R.3 :G3 : NaNO ₃ + Extrait : Protection rénale notable par S. rosmarinus : structures préservées et inflammation minimale.	155
Figure 96 :R.4 :G4 : NaNO ₃ + Vit C :Effet protecteur modéré de la vitamine C sur le tissu rénal.	155
Figure 97 :R.6 :G6 : NaNO ₃ + Vit C : Réparation avancée de la structure rénale avec une légère congestion vasculaire après traitement au romarin.	155

Liste des tableaux

Tableau 01: Classification du romarin	7
Tableau 02 : Composition des Huiles Essentielles de romarin	10
Tableau 03: Propriétés physiques et chimiques du nitrate de sodium.....	16
Tableau 04 : Produits chimiques utilisés dans les expérimentations (données personnelles). 74	
Tableau 05 : Dilutions des concentrations préparées pour l'élaboration de la gamme d'étalonnage.	82
Tableau 06 : Screening phytochimique de S.Rosmarinus.....	113
Tableau07 : comparatif des variations de poids des rats par groupe.....	126
Tableau 08 : récapitulatif des paramètres biochimiques sériques	128
Tableau 09. Paramètres hématologiques des différents groupes expérimentaux	131
Tableau 10: Effet des traitements sur les concentrations plasmatiques de Na ⁺ , K ⁺ et Cl ⁻ chez les différents groupes expérimentaux.....	134

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Dédicace	
Dédicace	
Abstract.....	
Résumé	
ملخص.....	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction:	1

Partie 1:Revue bibliographique

Chapitre 1:*Salvia rosmarinus*

1. Salvia rosmarinus:	6
1-1 Origine du nom:	6
1-2 Caractéristique	7
1-3 Description botanique :	8
1-4 Domaines d'application du romarin	9
1.4.1 Utilisations alimentaires	9
1-4-2 Utilisations Cosmétiques :	9
1-4-3 Utilisations du romarin en médecine traditionnelle et moderne:	9
1-5 Composant actifs	10
1-5-1. Huiles essentielles :	10
1-5-2 Acides phénoliques :	10
1-5-3. Composés phénoliques diterpéniques :	11
1-5-4. Autres constituants :	11
1-6 Répartition du romarin en Algérie :	11
1-7 Répartition mondiale du romarin :	12

Chapitre 2:du nitrate de sodium

1- Définition du nitrate de sodium:	15
2- La dose létale du nitrate de sodium :	15

3 - Représentation de la structure chimique	16
4- Nitrate de sodium synthétique.....	17
5- Sources et utilisations du nitrate de sodium	19
6- Toxicocinétique des nitrates dans l'organisme.....	20
7- Métabolisme / Métabolites	21
8-Mécanisme d'action	22
9- Symptômes	23
10-L'effet toxique du nitrate de sodium sur les poumons.....	24
11- Effet toxique du nitrate de sodium sur le cœur.....	26

Chapitre 03: SYSTEME RESPIRATOIRE

1. Systeme Respiratoire :	29
I. Definition et Importance de L'appareil Respiratoire :	29
II. Anatomie et Histologie du Systeme Respiratoire :	29
III . Les Voies Aeriennes Superieures :	30
1.Nez et cavité nasale :	30
1.1 Situation et structure :	30
1.2 Les os formant la cavité nasale :	31
1.3 Muqueuse de la cavité nasale:	32
1.4 Orifices de la cavité nasale:	32
1.5 Fonctions :	33
1.6 Sens de l'odorat :	33
2.Pharynx :	34
3. Larynx	36
IV .Les Voies Aériennes Inférieures :	38
1. La trachée :	38
1.1 Anatomie de la trachée :	38
1.2 histologie de la trachée :	39
1.3 muqueuse trachéale:	40
2.Arbre bronchique :	41
2.1 Du haut vers le bas :	41
3 . Les alvéoles pulmonaires :	43
4. Poumon :	44
4.1 Définition et fonction du poumon:	44
4.2 Anatomie macroscopique des poumons	45

4.3 Plèvre :	46
4.4. Cavité pleurale :	47
4.5 Défenses des Poumons :	47
4.6 Échange gazeux :	49

Chapitre 04: Le cœur

Anatomie du cœur :	52
1-Description générale du cœur:	52
2-L'anatomie du cœur :	53
2-1 Oreillette droite.....	53
2-2 Le ventricule droit :	54
2-3 L'oreillette gauche	56
2-4 Ventricule gauche :	56
2-5.Les valves cardiaques:	57
2-5-1. La valve tricuspide :	57
2-5-2. La valve pulmonaire:	58
2-5-3 .La valve mitrale	59
2-5-4. La valve aortique :	59
2-6 Les vaisseaux sanguins :	60
2-6-1 .Les artères :	60
2-6-2 Les veines :	61
2-6-3Les capillaires sanguins :	63
3. Structure externe et stratifiée du cœur :	63
3.1 Le péricarde :	63
3-2 Les couches de la paroi du cœur :	64
3-3 Les cloisons cardiaques :	65
4- Le cycle cardiaque :	65
5-Le contrôle nerveux de l'activité cardiaque:	66
6- Les maladies cardiovasculaires:	67

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Cadre et objectifs de l'étude.....	72
2. Matériels	72
2.1.Matériels biologique	72
2.2.Matériels végétal.....	73

2.3. Appareillage et matériel chimiques :	74
2.3.1. Appareillage :	74
2.3.2. Matériel chimique :	74
3. METHODES :	75
3.1. Méthode in-vitro :	75
3.1.1 Méthode d'extraction du romarin par décoction suivie d'un séchage à l'étuve pour l'obtention d'un extrait sec.	75
3.1.1.1. Principe général :	75
3.1.1.2. Protocole expérimental :	76
3.1.1.3. Objectif de la méthode :	77
3.1.1.4. Le rendement d'extraction :	78
3.1.2. Les analyses photochimiques de la plante :	78
3.1.3. Dosage des polyphénols totaux :	81
3.1.4. Les activités biologiques in vitro	82
3.2. Méthode in-vivo :	89
3.2.1. Protocole de traitement expérimental des rats	89
3.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes	90
3.2.3. Analyses biochimiques	91
3.2.5. Analyse de la formule sanguine complète (FNS)	95
3.2.6. Analyse de l'ionogramme	96
3.2.7. Analyse des paramètres du stress oxydatif :	98
3.2.7.1. Préparation des échantillons biologiques et des homogénats tissulaires	98
3.2.7.2. Dosage des protéines tissulaires	100
3.2.7.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	100
3.2.7.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)	101
3.2.7.5. Dosage du glutathion S-transférase (GST)	103
3.2.7.6. Dosage de la catalase (CAT)	104
3.2.8. Prélèvement et traitement histologique des biopsies tissulaires	105
3.2.8.1. Prélèvement et fixation des tissus	105
3.2.8.2. Déshydratation	106
3.2.8.3. Claircissement (diaphanisation)	106
3.2.8.4. Infiltration et inclusion en paraffine	106
3.2.8.5. Microtomie	107
3.2.8.6. Coloration (Héματοxyline-éosine)	107

3.2.8.7.Montage et observation	108
3.3. Analyse statistique	108
3.4. Analyse comparative des résultats et interprétation	109

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination du rendement d'extraction :	112
2. Les analyses photochimiques de la plante :	112
Tests biochimiques préliminaires	112
3. Analyse des activités biochimiques et antioxydantes des extraits de <i>Salvia rosmarinus</i> :	114
3.1. Analyse des résultats du test DPPH :	114
3.2. Analyse des résultats du dosage des polyphénols totaux (TPC) selon la méthode de Folin–Ciocalteu :	116
3.3 Analyse des résultats de l'essai d'inhibition de l'hémolyse :	118
3.4. Analyse des résultats de l'activité anti-inflammatoire :	120
3.5. Analyse de l'activité antioxydante par le test FRAP	123
3.6. Analyse et discussion des résultats – TP et TCK	125
4. Variation du poids corporel des rats	125
5. Présentation des résultats des paramètres biochimiques sériques:	127
6. Résultats des paramètres hématologiques	131
7. Analyse de l'ionogramme plasmatique	134
8. Résultats des tests de stress oxydatif	139
8.1. Analyse des résultats du glutathion réduit (GSH) :	139
8.1.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)	140
8.2. Analyse des résultats de la Glutathion S-Transférase (GST)	141
8.2.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)	142
8.2.2. Au niveau hépatique (Échantillon F)	143
8.3. Analyse des résultats de la catalase (CAT) :	145
8.3.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)	145
8.3.2 Au niveau hépatique (Échantillon F)	146
8.4. Analyse des résultats du malondialdéhyde (MDA)	147
8.4.1. Au niveau pulmonaire (Échantillon P)	148
8.4.2 Au niveau hépatique (Échantillon F)	148
9. Analyse histopathologiques des organes vitaux :	150
Conclusion	157

Références 160
ANNEXE 182

Introduction

Introduction:

La santé humaine demeure constamment exposée à une multitude de facteurs pathogènes d'origine chimique, biologique ou environnementale. Parmi ceux-ci, le déséquilibre oxydatif représente un mécanisme central dans la genèse de nombreuses affections aiguës ou chroniques, touchant particulièrement les organes vitaux tels que les poumons et le cœur (Valko *et al.*, 2007).

L'accumulation excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) engendre un stress oxydatif susceptible de rompre l'homéostasie cellulaire, entraînant ainsi des altérations moléculaires majeures et irréversibles (Sies, 2015).

Dans cette optique, plusieurs agents pathogènes et substances toxiques — notamment les métaux lourds (tels que le nickel et le cadmium), les pesticides, les polluants atmosphériques (comme les particules fines et l'ozone), ainsi que certaines infections virales respiratoires sévères (à l'instar du SARS-CoV-2) sont reconnus comme de puissants inducteurs du stress oxydatif, affectant en particulier les tissus pulmonaires et cardiaques (Miller *et al.*, 2020 ; Jaeschke *et al.*, 2003).

Parmi les composés toxiques fréquemment rencontrés, le nitrate de sodium (NaNO_3), utilisé couramment comme additif alimentaire et agent de conservation, constitue une source préoccupante d'exposition chronique. Son ingestion prolongée ou à fortes doses a été associée à divers effets toxiques systémiques, notamment à travers l'induction d'un stress oxydatif, responsable de perturbations structurelles et fonctionnelles au niveau du foie, des reins, du cœur et des poumons (L'hirondel *et al.*, 2002 ; Ali *et al.*, 2020).

Dans le cadre de cette étude, le nitrate de sodium est utilisé comme modèle de toxine environnementale afin d'évaluer ses effets délétères sur les organes vitaux et d'examiner les effets protecteurs potentiels d'un extrait végétal.

Face à de telles agressions, l'intérêt scientifique croissant se porte sur l'utilisation de solutions thérapeutiques d'origine naturelle, notamment les extraits de plantes médicinales riches en composés bioactifs dotés de propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cytoprotectrices. Parmi ces plantes, *Salvia rosmarinus* — plus connue sous le nom de romarin — attire une attention particulière. Cette espèce aromatique, largement distribuée dans le bassin méditerranéen, se distingue par sa richesse en polyphénols, flavonoïdes, et diterpènes

phénoliques, tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique, conférant à la plante un potentiel pharmacologique considérable (Baba Aissa, 1999 ; López-Jiménez *et al.*, 2020).

De nombreuses études expérimentales ont confirmé l'efficacité du romarin dans la modulation des processus oxydatifs, la réduction de la peroxydation lipidique, ainsi que dans la préservation de l'intégrité des tissus soumis à divers agents toxiques ou infectieux (Yesil-Celiktas *et al.*, 2010).

Ces propriétés font de *Salvia rosmarinus* un candidat thérapeutique prometteur, aussi bien en prévention qu'en intervention curative contre les atteintes oxydatives multiorganiques.

Dans cette perspective, le présent travail vise à évaluer le potentiel protecteur et curatif de l'extrait de *Salvia rosmarinus* contre les effets pathologiques induits par le nitrate de sodium, en mettant l'accent sur les altérations observées au niveau des poumons et du cœur. L'étude se divise en deux parties complémentaires : une partie théorique et une partie expérimentale, ayant pour objectif l'analyse des effets bioactifs de l'extrait végétal contre les atteintes toxiques liées au stress oxydatif.

- Partie théorique

Cette section comprend :

Une monographie botanique de *Salvia rosmarinus*, mettant en évidence sa composition phytochimique et ses propriétés pharmacologiques.

Une fiche toxicologique détaillée du nitrate de sodium, incluant sa structure chimique, ses voies d'exposition, ainsi que ses effets pro-oxydants.

Une synthèse physiopathologique des organes cibles de l'étude, à savoir le cœur et les poumons, en insistant sur leur sensibilité particulière au stress oxydatif.

- Partie expérimentale

Cette section présente :

Les matériaux et méthodes utilisés, incluant les substances chimiques, l'extrait végétal, les modèles biologiques, ainsi que les outils techniques mis en œuvre.

Introduction

Le protocole expérimental, intégrant l'induction de la toxicité par le nitrate de sodium, l'administration de l'extrait de romarin, et les différentes méthodes d'évaluation biochimique.

L'analyse des résultats expérimentaux, avec une interprétation détaillée des données montrant l'action antioxydante et cytoprotectrice de l'extrait végétal face aux dommages induits par le stress oxydatif.

À travers cette recherche, nous aspirons à contribuer à la valorisation des ressources phytothérapeutiques locales, en les considérant comme des alternatives prometteuses dans le champ de la médecine préventive et réparatrice, notamment dans le traitement des pathologies liées au stress oxydatif.

Partie 1

Revue bibliographique

Chapitre 1

Salvia rosmarinus

1. Salvia rosmarinus:

Le romarin (*Salvia rosmarinus*) est une plante aromatique vivace de la famille des Lamiaceae, originaire de la région méditerranéenne, mais aujourd'hui largement répandue à travers le monde. Cette plante en forme d'arbuste, pouvant atteindre deux mètres, est reconnue pour son parfum caractéristique. Elle est utilisée en cuisine comme épice, dans l'industrie alimentaire comme conservateur naturel, ainsi que comme plante ornementale et médicinale (de Oliveira *et al.*, 2019). L'intérêt scientifique pour *Salvia rosmarinus* s'est accru ces dernières années, en raison de ses propriétés thérapeutiques et de l'amélioration des techniques d'extraction de ses composés bioactifs. Ces derniers possèdent diverses activités biologiques : anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses potentielles, neuroprotectrices, et régulatrices des troubles métaboliques (Meziane *et al.*, 2024). En 2017, sa classification botanique a été révisée, passant du genre *Rosmarinus* à *Salvia*, sur la base d'études génétiques et moléculaires confirmant son appartenance phylogénétique à ce dernier (Drew *et al.*, 2017).



Figure 01: romarin (*Salvia rosmarinus*) (Drew *et al.*, 2017).

1-1 Origine du nom:

Le romarin est connu dans le monde arabe sous plusieurs appellations vernaculaires. Sur le plan scientifique, il porte les noms suivants : *Salvia rosmarinus* Schleid., et *Rosmarinus angustifolius* Mill. (Aboelhamd *et al.*, 2025). Parmi ses noms communs figurent : Romarin, Encensier, Herbe aux couronnes ou Compass plant (The Herb Society of America, 2009). Le nom scientifique *Salvia* est dérivé du mot latin *salveo*, qui signifie « guérir » ou « soigner », en référence aux propriétés médicinales attribuées à certaines plantes de ce genre. L'épithète

spécifique *rosmarinus* signifie « rosée de la mer », en lien avec l'habitat naturel de cette espèce, généralement situé à proximité des zones côtières (**Drew *et al.*, 2017**).

-Nom en arabe : اكليل الجبل

-Nom en français (nom scientifique) : *Salvia rosmarinus*

-Nom en anglais : Rosemary

- Nom en amazigh : Azir, Ayazir ou Touzala (**Hakim, Aziz & Karmo, 2013**).

1-2 Caractéristique

Le romarin est classé selon le tablea01

Tableau 01: Classification du romarin (Andrade *et al.*,2018).

Regna	Plantae
Divisions	Magoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	Salvia rosmarinus
Période de floraison	Février à Avril
Couleur des fleurs	Bleu/Mauve
Exposition	Soleil
Hauteur	150 cm
Habitat et origine	<i>Salvia rosmarinus</i> , communément appelé romarin, est une espèce arbustive vivace appartenant à la famille des Lamiaceae. Originaire des zones arides et rocheuses du bassin méditerranéen, il s'adapte particulièrement aux sols bien drainés et aux expositions ensoleillées. Grâce à sa tolérance modérée à la

	<p>sécheresse et à sa préférence pour les climats tempérés, il est aujourd'hui largement cultivé dans plusieurs régions du monde présentant des hivers doux.</p> <p>Cependant, dans les zones à hiver rigoureux, notamment dans les climats nordiques, sa culture est généralement annuelle ou confinée à des pots protégés, en raison de sa faible résistance au gel.</p>
--	--

1-3 Description botanique :

Le romarin est un arbuste vivace qui atteint généralement une hauteur de 0,6 à 2 mètres (soit environ 2 à 6,5 pieds). Ses feuilles vert foncé, brillantes, sont nombreuses, opposées, sessiles et linéaires, mesurant environ 3,5 cm de long et 2 à 4 mm de large. Elles sont coriaces et présentent des bords enroulés. Les petites fleurs bleuâtres apparaissent en grappes axillaires et attirent les abeilles. Le romarin est relativement résistant à la plupart des ravageurs et maladies des plantes, bien qu'il soit sensible à l'oïdium, en particulier dans les climats humides, et qu'il serve souvent d'hôte aux cicadelles mousseuses (Shylaja & Peter, 2021). Ses graines sont de couleur brune. Le romarin (*Salvia rosmarinus*) se reproduit sexuellement par les graines, qui sont semées en automne. Il se reproduit également de manière végétative par bouturage des extrémités ou des segments moyens, ainsi que par marcottage, généralement au printemps ou en automne (Hawa, 2013).



A.



B.



C.

Figure 02 : A-Fleurs, B-Feuilles, C-Graines *Salvia rosmarinus* (Drew et al., 2017).

1-4 Domaines d'application du romarin

1.4.1 Utilisations alimentaires

Le romarin (*Salvia rosmarinus*) joue un rôle important dans la cuisine traditionnelle méditerranéenne (Veenstra & Johnson, 2021). où ses feuilles sont largement utilisées pour la préparation de tisanes. La saveur amère et astringente de ses feuilles fraîches ou séchées permet de rehausser le goût d'une grande variété d'aliments, notamment : poissons, viandes, volailles, soupes, ragoûts, sauces, vinaigrettes, conserves et confitures. De plus, lorsque les feuilles de romarin sont brûlées, elles dégagent une odeur caractéristique semblable à celle de la moutarde, ce qui en fait un choix populaire pour aromatiser les aliments lors des barbecues. Dans un contexte plus moderne, le potentiel du romarin est actuellement exploré pour le contrôle des amines biogènes dans les matériaux d'emballage alimentaire, ce qui reflète l'évolution de ses usages vers des solutions plus innovantes en matière de conservation des aliments. Le romarin se distingue également par son efficacité en tant que composé antioxydant et antimicrobien, contribuant ainsi à prévenir l'oxydation des lipides, ce qui permet de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires tout en préservant leur qualité (Meziane *et al.*, 2024).

1-4-2 Utilisations Cosmétiques :

Le romarin est utilisé dans l'industrie des cosmétiques, notamment dans la fabrication de savons, shampoings et parfums. Il entre également dans la composition de crèmes cutanées anti-rides et de produits de protection solaire. Ces applications sont principalement attribuées à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires remarquables (Meziane *et al.*, 2024).

1-4-3 Utilisations du romarin en médecine traditionnelle et moderne:

Le romarin est d'une grande importance dans le domaine médical. Il est utilisé comme carminatif et stimulant de la circulation sanguine (Pardo-de-Santayana *et al.*, 2020). Ses feuilles sont traditionnellement employées pour leurs propriétés antibactériennes et antispasmodiques. Elles sont administrées par voie orale pour traiter les troubles digestifs, et en application externe pour soulager les douleurs rhumatismales et les troubles circulatoires (Abu-Janah & Al-Mihishi, 2020). L'huile essentielle de romarin peut également améliorer les fonctions cognitives. Elle est utilisée comme cholagogue, diaphorétique, digestive, diurétique, régulatrice du cycle menstruel, laxative et tonique général. Elle est aussi indiquée dans le

traitement des céphalées, des troubles menstruels, de la fatigue, de la faiblesse de mémoire, des entorses et des ecchymoses (Hameed& Mohammed,2017). Le romarin montre aussi une capacité à réduire la formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) lors de l'exposition aux rayons ultraviolets (UV), et il est utilisé dans le traitement de l'alopecie , la cicatrisation des plaies, l'hépatotoxicité, les maladies cardiovasculaires et le cancer (Macedo *et al.*, 2020).

1-5 Composant actifs

1-5-1. Huiles essentielles :

Les huiles essentielles de Salvia rosmarinus sont extraites des feuilles et des sommités fleuries (El Aghouani,2024). l'aide de différentes techniques telles que le dioxyde de carbone supercritique, l'hydrodistillation, ou l'extraction assistée par micro-ondes, entre autres. La quantité d'huile extraite varie selon l'âge de la plante et la saison de récolte. Le volume d'huile essentielle est généralement exprimé en 10 ml/kg de plante sèche. Les principaux constituants de l'huile essentielle sont : 1,8-Cinéole (Eucalyptol), Camphre, α -Pinène, Bornéol, α -Terpinéol, β -Pinène .Camphène(Aziz *et al.*, 2021).

Tableau 02 : Composition des Huiles Essentielles de romarin

"Sachant que ces proportions sont susceptibles de varier en fonction des conditions."(Elyemni *et al.*, 202).

La composé	La concentration de (nom du composé) %
1,8-Cinéole	12.2
Camphre	14.6
Bornéol	10.6
α -Terpinéol	5.2
α -Pinène	5.4
Camphène	7.2
β -Pinène	8.5

1-5-2 Acides phénoliques :

Le romarin est une source riche en acides phénoliques. Parmi les composés les plus importants figurent l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide carnosique, connus pour

leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (GhasemzadehRahbardar & Hosseinzadeh, 2020).

1-5-3. Composés phénoliques diterpéniques :

Également appelés lactones diterpéniques, ces composés constituent une fraction bioactive majeure du romarin. Parmi les plus importants figurent : *l'acide carnosique, le carnosol, l'acide rosmarinique, l'acide ursolique, l'acide oléanolique et l'épirosmanol*. Ces molécules sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires remarquables (Ghasemzadeh Rahbardar & Hosseinzadeh, 2020).

1-5-4. Autres constituants :

Le romarin contient également d'autres composés tels que les tannins, saponines et résines, ainsi que des substances inorganiques comme les ions de sodium, calcium, potassium, magnésium, chlorure, nitrate, phosphate et sulfate (Meziane *et al.*, 2024).

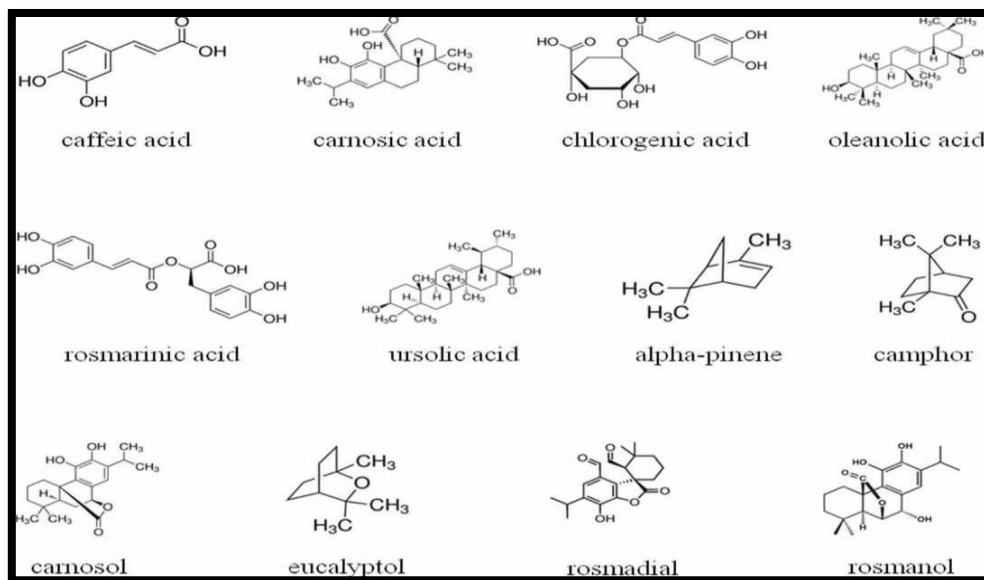


Figure 03: Phytocompounds present in Salvia rosmarinus(de oliveira *et al.*, 2019).

1-6 Répartition du romarin en Algérie :

Le romarin (*Salvia rosmarinus*) est une espèce originaire de la région méditerranéenne, largement répandue en Algérie, notamment dans les zones semi-arides et arides. Il pousse naturellement dans les régions montagneuses et rocheuses, en particulier dans les monts des Aurès comme Batna et Khenchela, ainsi que dans l'Atlas tellien (Tébessa, Blida) et l'Atlas saharien (El Bayadh, Laghouat). On le retrouve également sur les Hauts Plateaux, tels que

Sétif et M'Sila, ainsi que dans le Nord-Est algérien comme Jijel et Béjaïa, et dans le Sud-Ouest du pays, notamment à Béchar et Tindouf. Cette abondance est due à sa grande capacité d'adaptation aux sols pauvres et aux conditions climatiques rigoureuses, ce qui en fait l'une des espèces aromatiques et médicinales dominantes en Algérie. Sa flexibilité écologique et sa large répartition soutiennent son utilisation traditionnelle dans la médecine populaire à travers les différentes régions du pays (Mostefai, A., Meziane, H., & Bouazza, M., 2015).

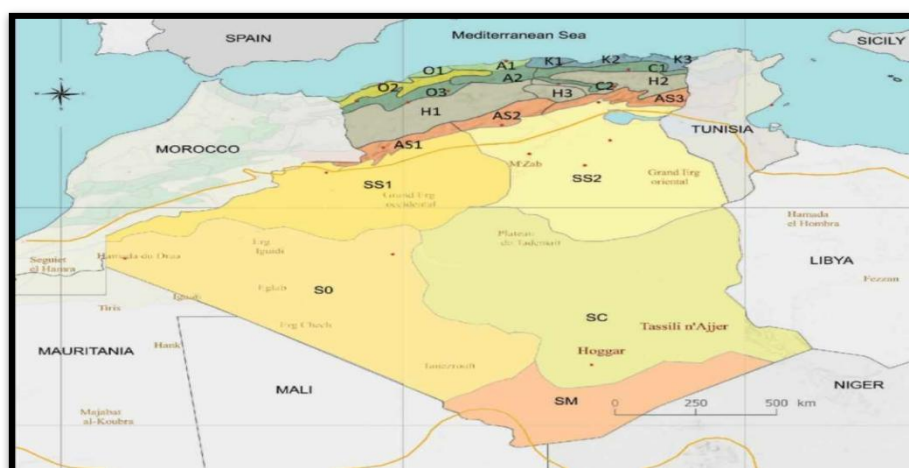


Figure 04: Carte montrant les points de répartition du romarin en Algérie (01, 02, 03 désignent les plaines orientales ; K1, K3 désignent l'Atlas Tellien ; H1, H2 désignent les Hauts Plateaux ; SM désigne les régions sahariennes) (Quézel & Santa, 1962–1963).

1-7 Répartition mondiale du romarin :

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante d'origine méditerranéenne, poussant spontanément dans le bassin méditerranéen, depuis le Portugal et l'Espagne à l'ouest jusqu'à la Turquie à l'est, et du Maroc oriental, en passant par l'Algérie, la Tunisie et la Libye, jusqu'à la Cyrénaïque au sud (Makhloufi, 2009 ; Zaouali *et al.*, 2003). En raison de ses multiples utilisations médicinales, aromatiques et culinaires, cette espèce s'est largement diffusée en dehors de son aire d'origine, et est aujourd'hui cultivée dans de nombreuses régions du monde bénéficiant d'un climat tempéré ou semi-aride similaire à celui du bassin méditerranéen (Quézel & Médail, 2003 ; Madadori, 1982). La culture du romarin est également présente en Europe centrale et septentrionale (comme le Royaume-Uni et la Bulgarie), dans les îles de l'Atlantique (Açores, Madère, Canaries), ainsi qu'aux États-Unis, en Amérique centrale et du Sud, et en Australie. On retrouve également sa culture dans certaines régions de l'Asie du Sud, notamment dans les zones montagneuses de l'Inde

(Messaili, 1995 ; Makhloufi, 2009). Sa large capacité d'adaptation s'explique par ses caractéristiques écologiques, qui lui permettent de croître dans des sols pauvres et rocailleux, et de résister à la sécheresse ainsi qu'aux températures élevées.

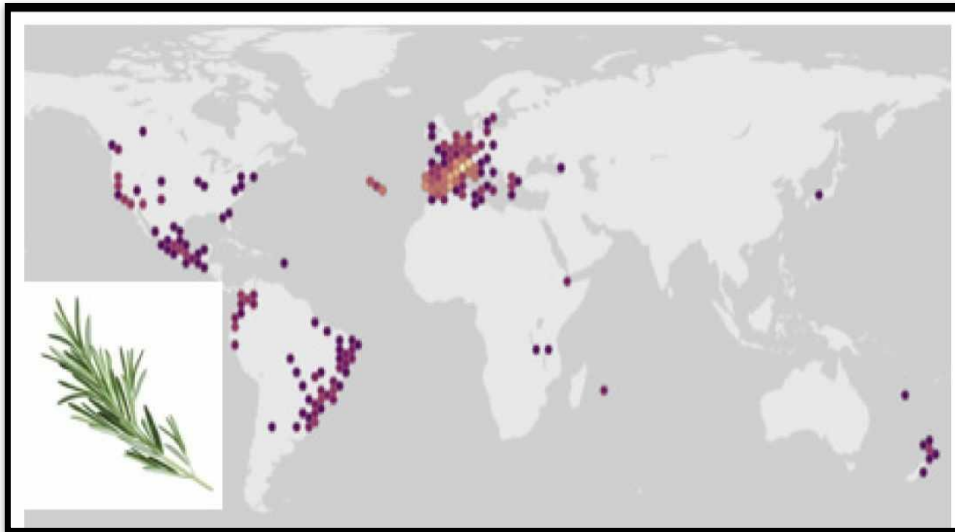


Figure 05 : Carte montrant la répartition du romarin dans le monde (González-Minero *et al.*, 2020).

Chapitre 2

du nitrate de sodium

1- Définition du nitrate de sodium:

Le E251 (nitrate de sodium) est le composé chimique de formule NaNO_3 . Ce sel de nitrate de métal alcalin est également connu sous le nom de salpêtre du Chili (dont de grands gisements ont été historiquement exploités au Chili) pour le distinguer du salpêtre ordinaire, le nitrate de potassium. La forme minérale est également connue sous le nom de nitratine, nitratite ou nitre de soude. Le E251 (nitrate de sodium) est un solide blanc déliquescent très soluble dans l'eau. Le E251 (nitrate de sodium) est une source facilement disponible de l'anion nitrate (NO_3^-), qui est utile dans plusieurs réactions réalisées à l'échelle industrielle pour la production d'engrais, de produits pyrotechniques, de bombes fumigènes et d'autres explosifs, d'émaux de verre et de poterie, de conservateurs alimentaires (en particulier les viandes) et du propergol solide pour fusée. Le E251 (nitrate de sodium) a été largement extrait à ces fins (ATAMAN CHEMICALS, n.d). Le Comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires a fixé une dose journalière acceptable à un maximum de 3,7 mg d'ion nitrate (NO_3^-) ou 5 mg de nitrate de sodium/kg de poids corporel. (World Health Organization, 1995)



Figure 6 : Nitrate de sodium

2- La dose létale du nitrate de sodium :

La dose létale (DL) est définie comme la quantité d'une substance susceptible de provoquer la mort d'un organisme vivant. Elle est le plus souvent exprimée par la DL_{50} , représentant la dose induisant le décès de 50 % des sujets expérimentaux, et constitue un paramètre clé dans l'évaluation de la toxicité aiguë d'un composé. Ainsi, plus la DL_{50} est faible, plus la toxicité de la substance est élevée (OECD, 2001).

Dans le cas du nitrate de sodium (NaNO_3), la DL_{50} orale varie selon l'espèce, la voie d'administration et les conditions expérimentales. Chez le rat, elle est estimée à environ 1 267 mg/kg, bien que d'autres sources rapportent des valeurs comprises entre 343 et 3 500 mg/kg selon les souches animales testées (TOXNET ; Gosselin *et al.*, 1984 ; OECD, 2001). Ces valeurs traduisent une toxicité modérée, justifiant le recours à des doses sublétales dans les expérimentations animales, afin d'éviter une létalité aiguë tout en induisant des altérations physiopathologiques mesurables, telles que le stress oxydatif.

Il convient de noter que la valeur souvent citée de 150 mg/kg/jour pour le nitrate de sodium ne correspond pas à une dose létale, mais plutôt à la limite maximale d'addition autorisée dans certains produits alimentaires transformés. Cette quantité, bien que potentiellement préoccupante à long terme, ne représente pas une dose mortelle en soi (OECD, 2001).

3 - Représentation de la structure chimique

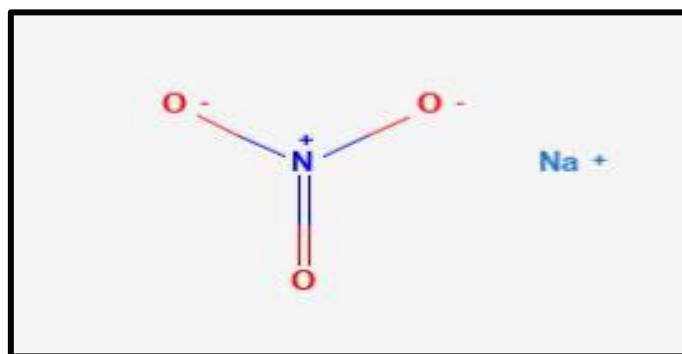


Figure 7 : Structure chimique du nitrate de sodium (PubChem, n.d.)

Tableau 03: Propriétés physiques et chimiques du nitrate de sodium (Laue *et al.*, 2012)

Propriétés	Valeur / Donnée
Nom chimique	Nitrate de sodium (Sodium Nitrate)
Formule chimique	NaNO_3
Masse molaire	85.00 g/mol
Propriété	7631-99-4
Autres noms	Salpêtre du Chili, Nitrate chilien (Chile saltpeter, Chilean nitrate)
Enthalpie de formation ΔH_f	-466.8 kJ/mol
Enthalpie de fusion ΔH_{fus}	+15.7 kJ/mol

Point de fusion	306.8 °C
Transition de phase cristalline	Vers le groupe D _{53d} vers ~275 °C
Phase cristalline	Cristaux trigonaux incolores
Groupe d'espace (à 25 °C)	D _{63d}
Densité à 25 °C	2.261 g/cm ³
Capacité calorifique Cp(298K)	93.1 J/mol·K
Indice de réfraction (à 589 nm)	n _w = 1.587 , n _e = 1.336
Hydratation	Ne forme pas de phases hydratées
Hygroscopicité	Hygroscopique
Solubilité dans l'eau (à 25 °C)	92.1 g/100 g d'eau
Enthalpie de dissolution à dilution infinie	+20.5 kJ/mol
Solubilité dans l'ammoniac liquide	Forme NaNO ₃ ·4NH ₃ en dessous de -42 °C
Solubilité dans le méthanol anhydre (à 25 °C)	2.8% en poids
Stabilité thermique du nitrate fondu dans l'air	Stable jusqu'à 500 °C
Libération d'oxygène et formation de nitrite de sodium	Entre 600 et 750 °C, avec atteinte de l'équilibre
Décomposition thermique du nitrite	Se décompose après formation
Formation de nitrite dans les nitrates alcalins	Présente à partir de 300 °C
Pouvoir oxydant en solution aqueuse	Faible ; réduit en ammoniac par hydrogène naissant

4- Nitrate de sodium synthétique

La méthode la plus importante pour la production de nitrate de sodium synthétique est la réaction des gaz résiduels provenant des installations d'acide nitrique avec une solution d'hydroxyde de sodium ou de carbonate de sodium. Cette méthode vise cependant principalement à l'épuration des gaz résiduels (élimination des oxydes d'azote) plutôt qu'à la production de nitrate et de nitrite.

L'absorption des gaz résiduels donne initialement un peu de nitrate de sodium et des quantités plus importantes de nitrite de sodium. Les réactions qui produisent uniquement du nitrite :



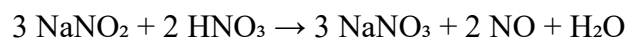


Progressent plus rapidement que les réactions qui produisent à la fois nitrite et nitrate :



Le processus d'absorption à contre-courant a lieu dans des colonnes en acier inoxydable 18–8 connectées en série. Dans l'absorption avec le carbonate de sodium, les colonnes sont remplies d'anneaux en céramique ; des anneaux en fer sont utilisés pour l'absorption avec l'hydroxyde de sodium. Une solution alcaline fraîche est introduite dans la dernière colonne. Le liquide est transféré par lots dans les colonnes successives, et finalement retiré avec une teneur d'environ 500 g/L de nitrate et de nitrite de sodium. Le liquide produit contient à la fois du nitrate et du nitrite, même si l'élimination du nitrite est appliquée.

Le nitrite est décomposé par inversion avec de l'acide nitrique à 50 °C dans une colonne en acier 18–8 avant la récupération du nitrate :



Le monoxyde d'azote hautement concentré peut être utilisé pour synthétiser d'autres composés (par exemple, l'hydroxylamine) ou peut être renvoyé à l'installation d'acide nitrique. Le monoxyde d'azote résiduel est éliminé de la solution inversée avec de la vapeur ou de l'air à environ 100 °C. La solution est ensuite neutralisée avec du carbonate de sodium ou de l'hydroxyde de sodium, passée à travers un filtre pré-couché, et concentrée par lots dans des évaporateurs en fer à plusieurs étages. Le premier étage fonctionne à 100–120 °C (p = 120–150 kPa dans l'espace vapeur). La solution obtenue ne doit pas cristalliser et doit encore dissoudre les dépôts salins formés dans le second étage. Le second étage fonctionne sous vide (p = 10–20 kPa) à 65–75 °C ; le produit est concentré pour former une boue contenant environ 20 % de nitrate de sodium précipité. Les cristaux sont séparés dans une centrifugeuse sans refroidissement. Selon la qualité requise, ils sont lavés plus ou moins intensément à l'eau froide. Le nitrate de sodium issu de la centrifugeuse a une teneur en humidité de 2–3 % en masse et est séché à environ 0,1 % d'humidité dans des tambours chauffés par des gaz de combustion. Le produit est séché, refroidi et stocké dans des silos.

La liqueur mère provenant de la centrifugation est recyclée vers le premier étage d'évaporation avec l'eau de lavage. Le rejet de la liqueur n'est nécessaire que si l'alcali utilisé contient plus de chlorure que ce qui est permis par les normes de qualité du nitrate de sodium. En conséquence, le processus ne produit généralement pas d'eaux usées (Laue *et al.*, 2012).

5- Sources et utilisations du nitrate de sodium

Le nitrate est le contaminant chimique le plus courant dans les aquifères souterrains du monde (Spalding & L'aner, 1993). La majorité de l'apport en nitrate chez l'individu provient des légumes, en particulier des épinards, de la laitue et de la betterave rouge (Susin *et al.*, 2006; Tamme *et al.*, 2006).

Les engrais azotés utilisés dans les zones agricoles constituent la source principale ; cependant, l'azote issu des déchets humains semble être la source la plus importante dans les zones urbaines dépourvues de systèmes centralisés d'approvisionnement en eau et d'assainissement adéquats (Ward *et al.*, 2005). Le nitrate peut s'infiltrer dans le sol et persister dans les eaux souterraines pendant plusieurs décennies (Spalding & Exner, 1993).

Les effets nocifs sur l'organisme peuvent être causés par :

- les aliments contenant des additifs alimentaires (colorants, conservateurs) ;
- les produits ou substances alimentaires individuelles (protéines, acides aminés) obtenus par synthèse chimique ou microbiologique ;
- les produits agricoles issus de l'utilisation irrationnelle d'engrais ou d'eaux d'irrigation ;
- les produits d'élevage (bétail et volaille) obtenus à partir d'aliments, d'additifs alimentaires ou de conservateurs mal utilisés (additifs azotés minéraux ou non protéiques, stimulants de croissance, antibiotiques, préparations hormonales, etc.) ;
- les substances nocives ayant migré vers les aliments à partir d'équipements alimentaires, d'ustensiles, d'inventaires, d'emballages, etc. ;
- les substances nocives formées dans les produits alimentaires (appelées impuretés d'origine endogène) en raison d'un traitement thermique, ébullition, rôtissage, etc. ;

- les produits contenant des métabolites de champignons microscopiques (mycotoxines), formés en raison du non-respect des exigences sanitaires liées aux technologies de production et de stockage des produits ;
- les produits contenant des substances nocives ayant migré de l'air atmosphérique, du sol ou de l'eau (Yerucham *et al.*, 1997).

6- Toxicocinétique des nitrates dans l'organisme

Absorption, distribution et excrétion

Chez l'homme, le nitrate ingéré est rapidement absorbé au niveau de l'intestin grêle proximal et distribué dans tout le corps. Il atteint ensuite le côlon via la circulation sanguine, où il est rapidement transformé en nitrite, un composé très réactif, en partie par les micro-organismes fécaux. Le nitrite formé est réabsorbé dans le sang et réagit avec le fer ferreux (Fe^{2+}) de la désoxyhémoglobine, formant de la méthémoglobine contenant du fer ferrique (Fe^{3+}), incapable de transporter l'oxygène (ATSDR, 2001).

Les nitrates sont rapidement métabolisés dans le foie en métabolites dénitrés et en nitrites inorganiques, qui sont ensuite excrétés dans les urines. Environ 60 à 70 % de la dose de nitrate ingérée est éliminée par voie urinaire dans les 24 premières heures. Environ 25 % sont excrétés dans la salive par un système actif de transport du nitrate sanguin, et peuvent être réabsorbés. La demi-vie des nitrates est généralement inférieure à une heure, tandis que celle de leurs métabolites varie entre 1 et 8 heures (HSDB, 2001).

Le nitrate est concentré dans la salive, où une partie est réduite en nitrite par les nitrate-réductases bactériennes. Des chercheurs ont examiné si l'ingestion de nitrate inorganique influençait les niveaux de nitrite et de S-nitrosothiols, considérés comme des réservoirs circulants de NO. Après ingestion de nitrate de sodium (10 mg/kg), les concentrations de nitrate ont fortement augmenté dans la salive, le plasma et l'urine. Les niveaux salivaires de S-nitrosothiols ont aussi augmenté, mais ceux du plasma sont restés stables. Une multiplication par quatre du nitrite plasmatique a été observée, mais cette augmentation a été évitée lorsque les sujets n'avalèrent pas leur salive, ce qui montre l'origine salivaire du nitrite plasmatique. Ces résultats suggèrent que le nitrate est un substrat pour la génération systémique de nitrite, et qu'il existe des voies pour la réduction de celui-ci en NO (Lundberg et Govoni, 2004).

Chez les moutons, le nitrite est rapidement éliminé du plasma ($T_{1/2} = 0,49$ h). Trois heures après administration, l'ion nitrite a disparu du plasma, tandis que du nitrate est apparu. Après administration intraveineuse de nitrite ou de nitrate, les paramètres cinétiques étaient similaires ($K_{el} \approx 0,15$ h⁻¹). L'excrétion urinaire du nitrite représentait environ $0,29 \% \pm 0,22$ de la dose administrée, tandis que celle du nitrate était de $13,80 \% \pm 5,78$ (après nitrite) et $16,12 \% \pm 6,95$ (après nitrate). L'élimination rapide du nitrite semble due à sa conversion en nitrate, confirmé par des paramètres cinétiques similaires dans les deux cas (Lewicki *et al.*, 1994).

Le nitrate de sodium est pour l'essentiel rapidement absorbé et excrété inchangé après ingestion orale (Gosselin *et al.*, 1984).

7- Métabolisme / Métabolites

La transformation des nitrates en nitrites se produit généralement dans le tractus digestif. Le nitrite constitue un produit intermédiaire dans la réduction des nitrates en ammoniac dans le rumen des moutons et des bovins. Il semble qu'au-delà d'une certaine concentration de nitrate, la vitesse de réduction du nitrite en ammoniac devient limitante, entraînant une accumulation de nitrite. Le risque d'intoxication par les nitrates est considéré comme faible si les nitrates sont rapidement réduits en ammoniac dans le rumen (Clarke *et al.*, 1981).

Une réduction bactérienne des nitrates en nitrites dans l'estomac humain a été rapportée, et la N-nitrosodiphénylamine a été identifiée dans le contenu gastrique de 31 sujets humains ayant reçu du nitrate de sodium et de la diphénylamine par voie intragastrique (Searle, 1976).

Lorsque des bactéries sont présentes et que l'environnement est anaérobie, les nitrates peuvent être réduits en nitrites. Ce processus se déroule principalement dans la bouche et l'estomac, mais la formation de nitrites dans le gros intestin et la vessie (en cas d'infection urinaire) peut également présenter un intérêt toxicologique. Dans certaines conditions, les bactéries peuvent ensuite réduire le nitrite en azote. Dans le sang, le nitrite transforme l'hémoglobine en méthémoglobine, tout en étant oxydé en nitrate. Normalement, la méthémoglobine est reconvertie progressivement en hémoglobine par des réactions enzymatiques. Le nitrite possède aussi des propriétés vasodilatatrices, probablement par conversion en oxyde nitrique (NO) ou en une molécule contenant du NO jouant un rôle de

signal dans la relaxation du muscle lisse. Le nitrite se transforme facilement en agent nitrosant dans un milieu acide, et peut réagir avec divers composés, tels que l'acide ascorbique, les amines et les amides. La nitrosation peut également être médiée par des bactéries, notamment dans l'estomac. Certains produits de réaction sont cancérigènes, comme la plupart des nitrosamines et nitrosoamides (IPCS, 1996).

Les sels de nitrate, en tant que tels, ne sont pas plus toxiques que d'autres sels neutres, mais s'ils ne sont pas rapidement absorbés, ils peuvent être réduits en nitrites par des bactéries intestinales (Gosselin *et al.*, 1984).

L'ingestion d'une certaine quantité de nitrates et de nitrites fait naturellement partie du cycle de l'azote chez l'humain. La conversion des nitrates en nitrites peut se produire *in vivo* dans le tractus gastro-intestinal sous des conditions appropriées, ce qui augmente considérablement leur potentiel toxique. La voie métabolique principale des nitrates consiste en leur conversion en nitrites, puis en ammoniac. Les nitrates, nitrites et leurs métabolites sont éliminés par voie urinaire (T3DB, L1137).

8-Mécanisme d'action

Il existe chez l'homme un cycle azoté endogène actif impliquant le nitrate et le nitrite, deux composés interconvertibles *in vivo* (IARC, 2010). Des agents nitrosants (Nitrosating agents) sont produits à partir du nitrite dans des conditions gastriques acides ; ils réagissent facilement avec des composés nitrosables, en particulier les amines secondaires et les amides, pour former des composés N-nitrosés (N-nitroso compounds). Ces conditions nitrosantes sont renforcées après l'ingestion de quantités supplémentaires de nitrate, de nitrite ou de composés nitrosables. Certains des composés N-nitrosés pouvant se former chez l'humain dans ces conditions sont reconnus comme cancérigènes (IARC, 2010).

Le principal mécanisme de toxicité du nitrite réside dans sa capacité à oxyder le fer ferreux (Fe^{2+}) de l'hémoglobine désoxygénée en fer ferrique (Fe^{3+}), conduisant à la formation de méthémoglobine (Methemoglobin), une forme incapable de transporter l'oxygène (ATSDR, 2001).

Les principales préoccupations liées à une exposition chronique au nitrate et au nitrite sont associées à la formation de composés nitrosés, dont la majorité sont cancérigènes. Ces réactions peuvent avoir lieu dans tout site où coexistent nitrite et composés nitrosables, mais

elles sont favorisées par un environnement acide ou la présence de certaines bactéries. Le tractus gastro-intestinal, et en particulier l'estomac, est considéré comme le principal site de formation, mais des réactions de nitrosation peuvent également se produire dans la vessie en cas d'infection (IPCS, 1996).

Les nitrates peuvent être réduits en nitrites, lesquels peuvent ensuite réagir avec des amines ou des amides pour former des composés N-nitrosés, contenant le groupe fonctionnel (=N-N=O). Ces composés sont connus pour être cancérigènes chez un large éventail d'espèces animales, la plupart étant mutagènes dans des systèmes d'essai, et certains ayant montré des effets tératogènes chez les animaux. Il est fortement probable que ces composés soient également cancérigènes chez l'homme. Par conséquent, l'exposition aux composés N-nitrosés et à leurs précurseurs (nitrite, amines et amides) devrait être réduite autant que possible (European Chemicals Bureau, 2000).

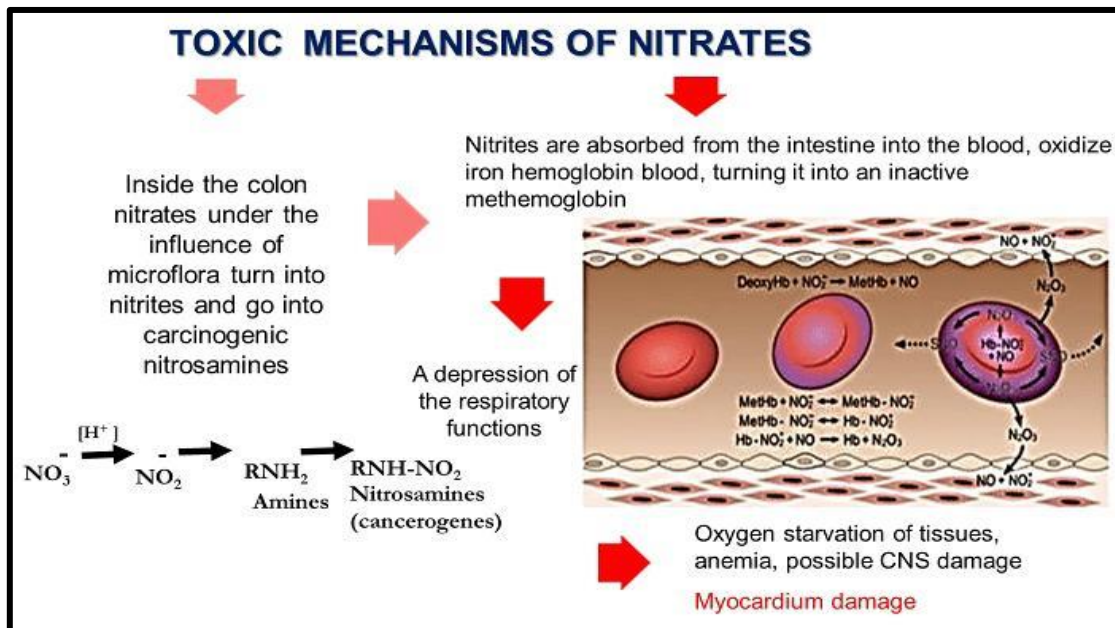


Figure 8: Mécanismes toxiques des nitrates de sodium (Sataieva *et al.*, 2018)

9- Symptômes

1. Exposition par inhalation

Toux. Irritation de la gorge.

2. Exposition cutanée

Rougeur.

3. Exposition oculaire

Rougeur. Douleur.

4. Exposition par ingestion

Douleurs abdominales. Cyanose des lèvres, des ongles et de la peau. Convulsions. Diarrhée. Étourdissements. Céphalées. Difficultés respiratoires. Confusion. Nausées. Perte de conscience. L'intoxication par les nitrates et les nitrites provoque une méthémoglobinémie. Les symptômes incluent la cyanose, les troubles du rythme cardiaque, l'insuffisance circulatoire et des effets progressifs sur le système nerveux central. Ces effets neurologiques peuvent aller d'un simple étourdissement et une léthargie jusqu'au coma et aux convulsions (ICSCs, 2001 ; T3DB, 2024).

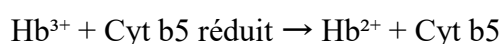
10-L'effet toxique du nitrate de sodium sur les poumons

Lorsqu'ils sont ingérés, les nitrates sont convertis en nitrites dans le système digestif, puis absorbés dans le sang, ce qui conduit à la formation de la méthémoglobinémie. Certaines études récentes ont indiqué une prévalence élevée (de 40 % à 82 %) des cas d'infections aiguës des voies respiratoires chez les enfants consommant de l'eau contenant une concentration élevée en nitrates.

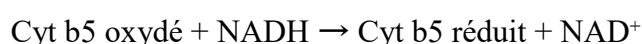
L'action essentielle dans la formation de la méthémoglobine est l'oxydation de l'ion ferreux (Fe^{2+}) en ion ferrique (Fe^{3+}). Cette oxydation peut survenir de l'une des manières suivantes : par l'action directe d'un oxydant, par l'action d'un donneur d'hydrogène en présence d'oxygène, ou par auto-oxydation.

En présence de nitrites, l'ion ferreux de l'hémoglobine est directement oxydé à l'état ferrique.

Normalement, la méthémoglobine formée est réduite selon la réaction suivante :



Le cytochrome b5 réduit est généré par l'enzyme cytochrome b5 réductase selon la réaction suivante :



Ainsi, l'enzyme cytochrome b5 réductase joue un rôle fondamental dans la neutralisation des effets de l'ingestion de nitrates.

L'étude expérimentale menée sur des lapins a démontré que la consommation chronique de nitrate entraîne une augmentation du rythme respiratoire et du rythme cardiaque, accompagnée d'une perte de poids.

Une hyperplasie sévère accompagnée d'une desquamation de l'épithélium respiratoire, avec une infiltration inflammatoire marquée au niveau des alvéoles et une hypertrophie des pneumocytes de type II ont été observées. Les résultats ont montré que les lésions du tissu pulmonaire augmentent progressivement avec l'élévation de la concentration en nitrates (Sharma, Sharma & Bapna, 2011).

sur le (3n)els de la toxicité du nitrate de sodium (NaNO)Effets histologiques et fonction tissu pulmonaire

peut induire des (3L'exposition chronique ou aiguë au nitrate de sodium (NaNO altérations profondes au niveau du système respiratoire, notamment au niveau du parenchyme raison de sa forte solubilité et de sa capacité à générer des espèces réactives pulmonaire. En peut traverser les 3de l'azote (RNS) après conversion en nitrite dans l'organisme, le NaNO .(barrières épithéliales et interférer avec l'intégrité cellulaire (Dawson, 2021

niveau histopathologique, des études expérimentales ont montré que Au entraîne une congestion vasculaire alvéolaire, une nécrose des 3l'administration de NaNO cellules épithéliales bronchiques, ainsi qu'un œdème interstitiel marqué. Des zones focales de alvéolaires et une perte d'architecture alvéolaire normale sont -se, des hémorragies intrafibro -également rapportées, suggérant une atteinte structurelle sévère du tissu pulmonaire (El fibroblastes, Wessemy, 2020). Ces lésions sont souvent accompagnées d'une hyperplasie des f .d'un épaississement septal et d'une distension emphysémateuse dans les zones périphériques

perturbe l'homéostasie 3Sur le plan fonctionnel, le stress oxydatif induit par le NaNO u stress oxydatif, tels que le redox pulmonaire. Il en résulte une élévation des biomarqueurs d nitrotyrosine et la myéloperoxydase (MPO). Simultanément, -malondialdéhyde (MDA), le 3 une diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde hion peroxydase (GPx1) a été observée, ce qui dismutase extracellulaire (SOD3) et la glutat .(compromet la capacité du tissu à neutraliser les radicaux libres (Patel, 2019

En cas d'exposition prolongée, ces déséquilibres biochimiques sont à l'origine d'une réponse inflammatoire chronique, caractérisée par une infiltration massive de polynucléaires neutrophiles, d'éosinophiles et de mastocytes dans les voies respiratoires distales. Cette inflammation est médiée par la surexpression de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-8 et l'interleukine-1β, le facteur de nécrose tumorale (TNF-α) et l'interleukine-1β, favorisant le développement d'une bronchiolite oblitérante ou d'une fibrose pulmonaire localisée (Kim, 2022). La conséquence fonctionnelle est une altération de la diffusion alvéolaire, une hypoxémie persistante et une dégradation progressive des capacités ventilatoires.

11- Effet toxique du nitrate de sodium sur le cœur

Le cœur est l'un des organes vitaux les plus affectés par l'hypoxie induite par une intoxication chronique au nitrate de sodium. L'analyse morphologique du myocarde révèle des altérations au niveau de l'appareil contractile des cardiomyocytes, se manifestant par une atrophie et une lyse des myofibrilles. Ces modifications sont particulièrement marquées à la périphérie des cellules myocardiques, à proximité des capillaires. Un tel état de la microvasculature accompagne tous les types de cardiomyopathies, indépendamment de leur étiologie. Les interactions cellule-stroma dans un contexte d'ischémie myocardique chronique entraînent des processus destructeurs dans le remodelage tissulaire du myocarde. L'issue morphologique finale des lésions cardiaques dues à l'hypoxie prolongée se traduit par une dystrophie focale du myocarde, conduisant au développement d'une insuffisance cardiaque chronique et à l'apparition d'arythmies potentiellement mortelles. (Sataieva *et al.*, 2018)

Effets de la toxicité du nitrate de sodium (NaNO_3) sur le tissu myocardique et la fonction cardiaque

L'exposition prolongée au nitrate de sodium (NaNO_3) a été associée à des altérations cardiaques structurelles et fonctionnelles significatives, en grande partie médiées par un déséquilibre redox systémique et une réponse inflammatoire exacerbée. Une fois ingéré, le nitrate peut être réduit en nitrite, puis en monoxyde d'azote (NO), ce qui, en excès, peut contribuer à un stress nitrosatif, altérant les structures myocardiques sensibles à l'oxydation (Ben Said *et al.*, 2021).

Au niveau histologique, des études sur modèle animal ont révélé une dégénérescence myofibrillaire, une perte de striation transversale, ainsi qu'une infiltration inflammatoire périvasculaire et interstitielle. On observe également une fibrose myocardique focale, marquée par une accumulation de collagène autour des capillaires et entre les fibres musculaires cardiaques, suggérant un remaniement pathologique du tissu conjonctif cardiaque (Farouk *et al.*, 2022).

Ces lésions tissulaires sont souvent corrélées à une altération des enzymes cardiaques telles que la créatine kinase MB (CK-MB), la lactate déshydrogénase (LDH) et la troponine T, indiquant une souffrance myocardique. Le stress oxydatif induit par NaNO₃ se manifeste par une augmentation du malondialdéhyde (MDA) et une diminution des défenses antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPx), compromettant la viabilité des cardiomyocytes (Hashem *et al.*, 2020).

Fonctionnellement, ces modifications se traduisent par une dysfonction cardiaque diastolique et systolique, caractérisée par une baisse de la fraction d'éjection, un épaississement pariétal asymétrique et une altération de la conduction électrique, avec des anomalies à l'ECG telles que des troubles du segment ST ou de l'intervalle QT. L'exposition chronique peut ainsi favoriser le développement d'une cardiomyopathie dilatée ou hypertrophique, selon le niveau de dommage cellulaire et de remodelage tissulaire (Al-Fartosy & Talib, 2020).

Chapitre 03: SYSTEME RESPIRATOIRE

1. Systeme Respiratoire :

I. Definition et Importance de L'appareil Respiratoire :

Le système respiratoire, un système organique impliqué dans la respiration. Chez l'humain, le diaphragme et, dans une moindre mesure, les muscles entre les côtes génèrent une action de pompage, déplaçant l'air dans et hors des poumons à travers un système de conduits (voies aériennes conductrices), (**Encyclopaedia Britannica, 2024**).

Le système respiratoire a pour principale fonction de fournir du dioxygène (O₂) à l'ensemble des cellules de l'organisme et de les débarrasser du dioxyde de carbone (CO₂), déchet de leur activité métabolique. Comme nous le verrons progressivement, la respiration est un phénomène complexe mettant en jeu à la fois le système respiratoire et le système circulatoire, deux systèmes étroitement liés. Le système respiratoire, à l'origine de déplacements d'air, est également impliqué dans l'olfaction et la parole (**Éditions EP&S, 2022**).

II. Anatomie et Histologie du Systeme Respiratoire :

Le système respiratoire est composé des voies respiratoires et des deux poumons. Les voies respiratoires, également appelées voies aériennes, sont divisées en voies aériennes supérieures et inférieures et comprennent les éléments suivants :

- voies aériennes supérieures : cavités nasales, pharynx et larynx ;
- voies aériennes inférieures : trachée et arbre bronchique.

Fonctionnellement, on distingue deux parties au sein du système respiratoire :

- La zone de conduction de l'air, portée par les cavités nasales, le pharynx, le larynx, la trachée et une grande partie de l'arbre bronchique. Cette zone de conduction est à la fois extra et intrapulmonaire.

- La zone des échanges gazeux : retrouvée au sein du poumon, à l'extrémité terminale de l'arbre bronchique, au niveau de zones spécialisées, les alvéoles pulmonaires (**Éditions EP&S, 2022**).

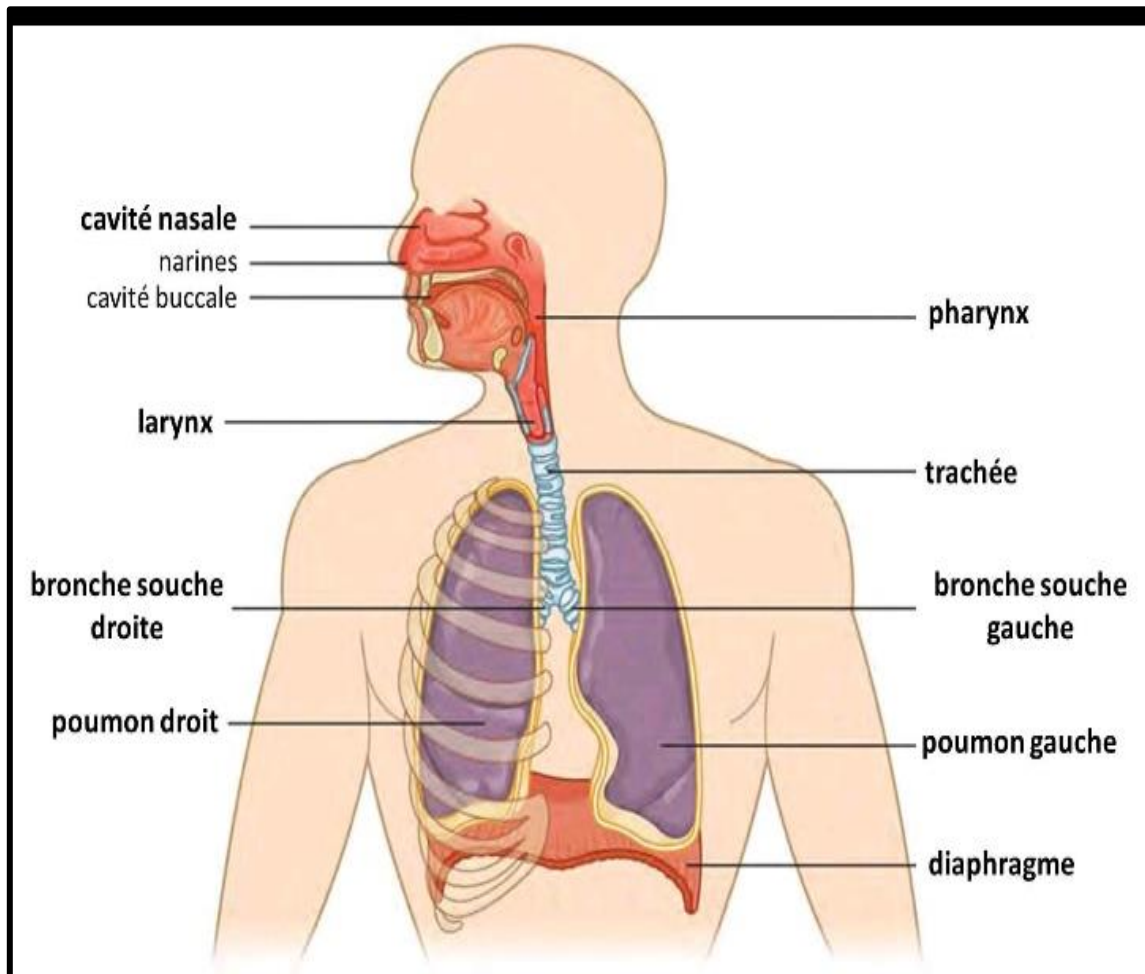


Figure 9: Organes principaux du système respiratoire (Éditions EP&S, 2022)

III . Les Voies Aériennes Supérieures :

Outre leur rôle dans la conduction de l'air, les voies aériennes supérieures

permettent d'humidifier l'air, de le réchauffer et de le purifier (Éditions EP&S, 2022)

1.Nez et cavité nasale :

1.1 Situation et structure :

Les narines sont les orifices dans le nez et elles constituent la Principale voie d'entrée de l'air dans le système respiratoire. Derrière chaque narine, il existe une grande cavité dont les Parois sont formées par plusieurs os de la face. Les cavités Nasales droite et gauche sont séparées par le septum nasal (fig.2) (Ross & Wilson, 2023)

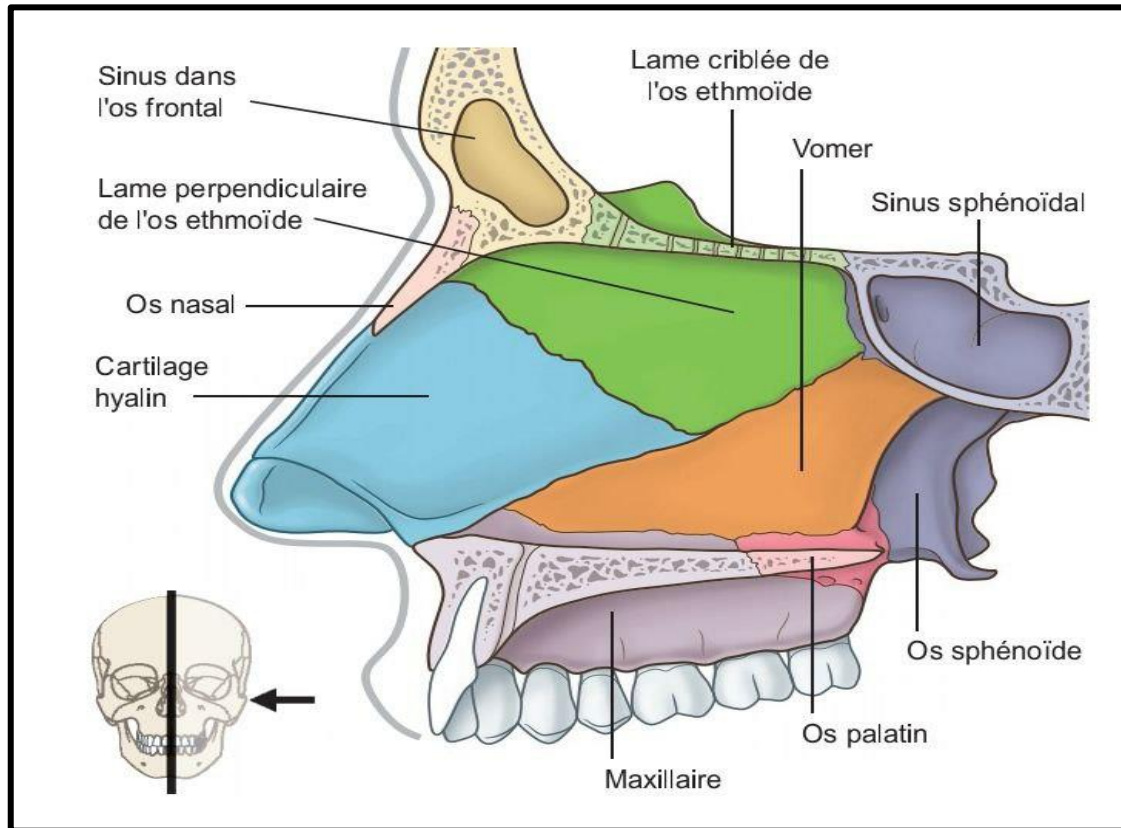


Figure10 : Structures formant le septum nasal (**Ross & Wilson, 2023**)

1.2 Les os formant la cavité nasale :

Le toit est formé par la lame criblée de l'os ethmoïde, l'os sphénoïde (avec le sinus sphénoïdal) en arrière, l'os frontal (avec le sinus frontal) et les os nasaux en avant.

Le plancher est constitué par le toit de la cavité buccale, fait du palais dur en avant (comportant lui-même en avant le processus palatin de l'os maxillaire, en arrière la lame horizontale de l'os palatin) et du palais mou en arrière (fait de muscle lisse).

La paroi médiale est représentée par le septum nasal, une lame perpendiculaire, composée d'os et de cartilage, formée par les os vomer et ethmoïde ainsi que le cartilage formant la partie antérieure du nez.

Les parois latérales sont constituées par le maxillaire, l'ethmoïde et le cornet nasal inférieur (fig.3). La paroi postérieure est formée par la paroi postérieure du pharynx (**Ross & Wilson, 2023**)

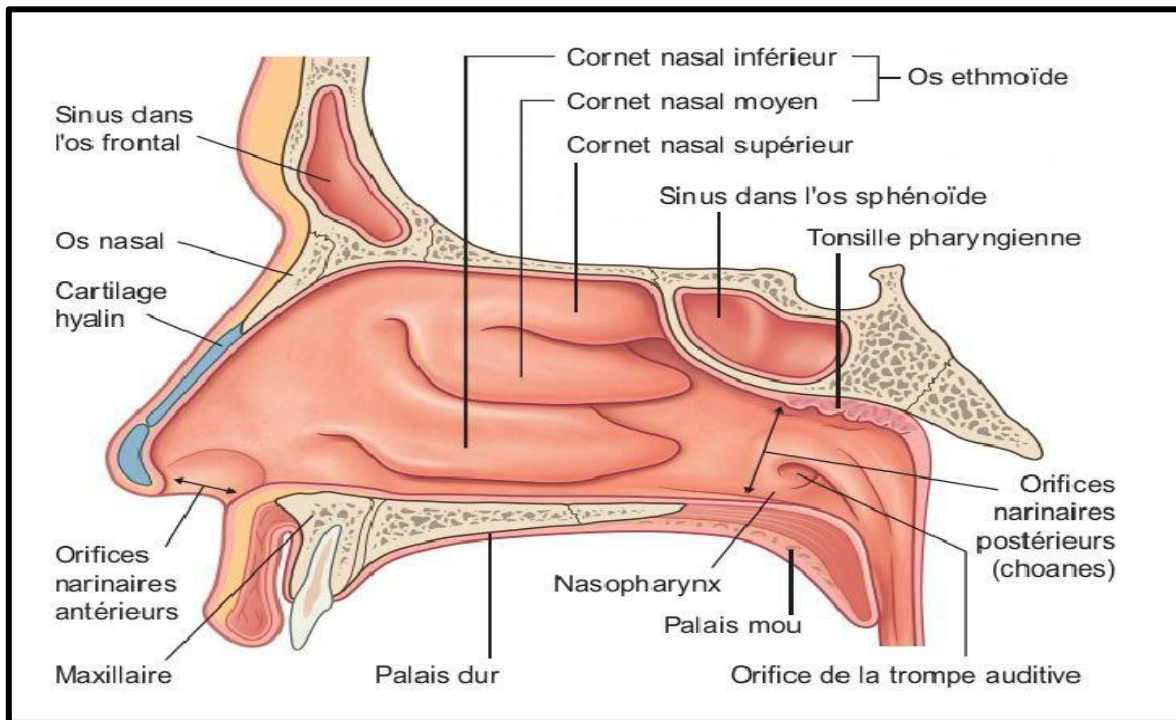


Figure 11 : Paroi latérale de la cavité nasale droite (Ross & Wilson, 2023).

1.3 Muqueuse de la cavité nasale:

La cavité nasale est bordée par un épithélium cylindrique cilié très vascularisé, qui contient des cellules caliciformes sécrétant du mucus. Cet épithélium s'unit à la peau au niveau des narines, et il s'étend en arrière dans la partie nasale du pharynx (nasopharynx). En avant, l'épithélium comporte des poils épais, recouverts de mucus collant (Ross & Wilson, 2023).

1.4 Orifices de la cavité nasale:

Les orifices narinaux antérieurs sont, en avant, les ouvertures de la cavité nasale vers l'extérieur. Les orifices narinaux postérieurs (ou choanes), en arrière, font communiquer la cavité nasale avec le pharynx (fig.3). Les sinus paranasaux sont quatre groupes de petites cavités remplies d'air dans des os de la face et du crâne. Ils communiquent avec la cavité nasale et sont bordés par une muqueuse ciliaire en continuité avec celle de la cavité nasale. Les principaux sont :

- le sinus maxillaire dans chaque partie latérale ;
- les deux sinus frontaux et le sinus sphénoïdal dans le toit;

- le sinus ethmoïdal à la partie supérieure de chaque paroi latérale.

Les sinus jouent un rôle dans la phonation et ils allègent le crâne. Le canallacrymonasal va, de chaque côté, du sac lacrymal à la cavité nasale, où il s'ouvre par un orifice situé au-dessous de l'implantation du cornet nasal inférieur. Il draine les larmes (Ross & Wilson, 2023).

1.5 Fonctions :

• Fonction respiratoire du nez :

Le nez est la première des voies respiratoires suivies par l'air inspiré. Dans la cavité nasale, l'air est réchauffé, humidifié et filtré.

Les trois cornets, saillants (fig 3 et 4), accroissent la surface muqueuse, et ils entraînent des turbulences faisant que l'air inspiré est en contact avec la totalité de la surface de la cavité nasale. L'étendue de cette surface maximise le réchauffement, l'humidification et la filtration de l'air.

• Réchauffement:

La muqueuse nasale est très vascularisée et réchauffe rapidement le flux aérien à sa surface. Cela explique aussi l'importance de la perte de sang quand un saignement nasal (épistaxis) se produit.

❖ Filtration et nettoyage:

Les poils des orifices narinaux piègent de grosses particules. Les petites particules telles que la poussière et les bactéries adhèrent au mucus. Celui-ci protège l'épithélium sous-jacent de l'irritation, et il empêche son dessèchement. Les battements synchronisés des cils transportent le mucus vers la gorge, où il est dégluti ou expectoré (toussé).

• Humidification:

L'humidification se produit quand l'air passe sur la muqueuse humide, et qu'il devient saturé en vapeur d'eau. L'irritation de la muqueuse nasale entraîne l'éternuement, phénomène réflexe expulsant de force un irritant.

1.6 Sens de l'odorat :

Le nez est l'organe de l'odorat (olfaction). Des chémorécepteurs spécialisés localisés dans le toit de la cavité nasale, au niveau de la lame criblée de l'ethmoïde et du cornet nasal

supérieur, détectent l'odeur (fig.4). Ils sont stimulés par des molécules de substances chimiques odoriférantes dissoutes dans la muqueuse revêtant la cavité nasale. Les signaux nerveux qui en résultent sont transportés par les nerfs olfactifs, et ils atteignent le cerveau, où la sensation d'odeur est perçue (Ross & Wilson, 2023).

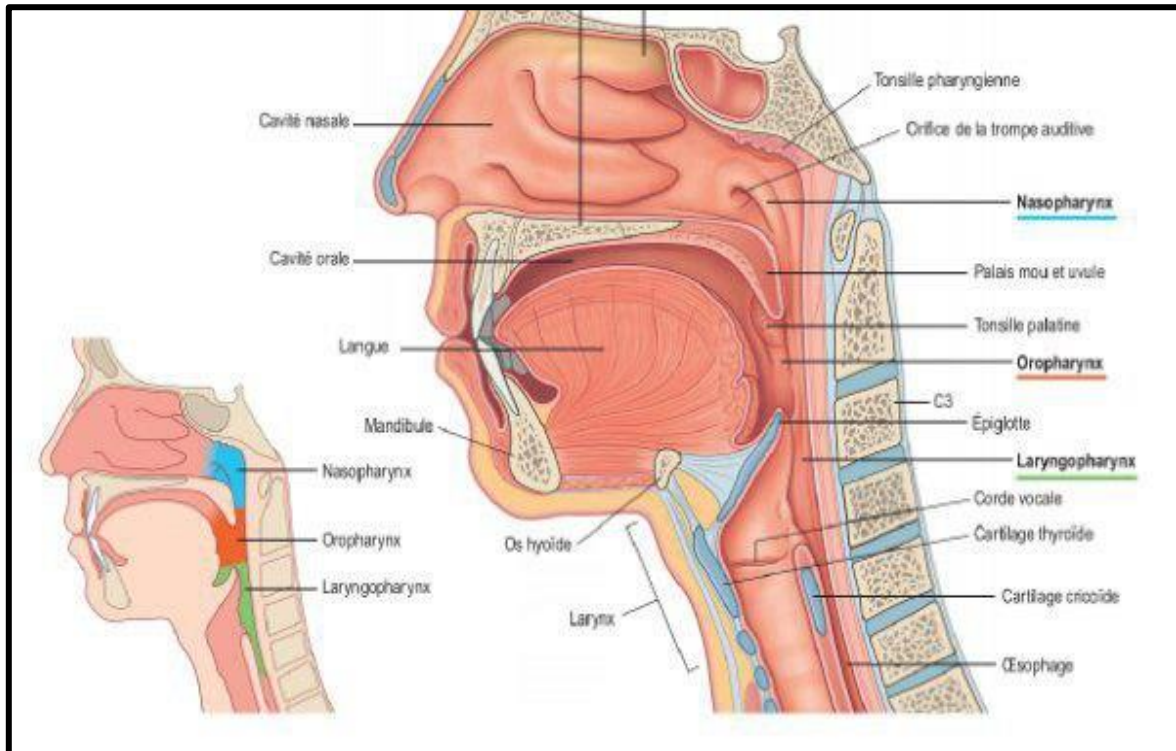


Figure12 : Les voies respiratoires supérieures (Ross & Wilson, 2023)

2.Pharynx :

Le pharynx, communément appelé la gorge, est divisé en trois régions principales : le nasopharynx, l'oropharynx et le laryngopharynx. Voir la figure 5 (OpenStax College, n.d.) pour une illustration des régions du pharynx (Ernstmeier & Christman, 2024).

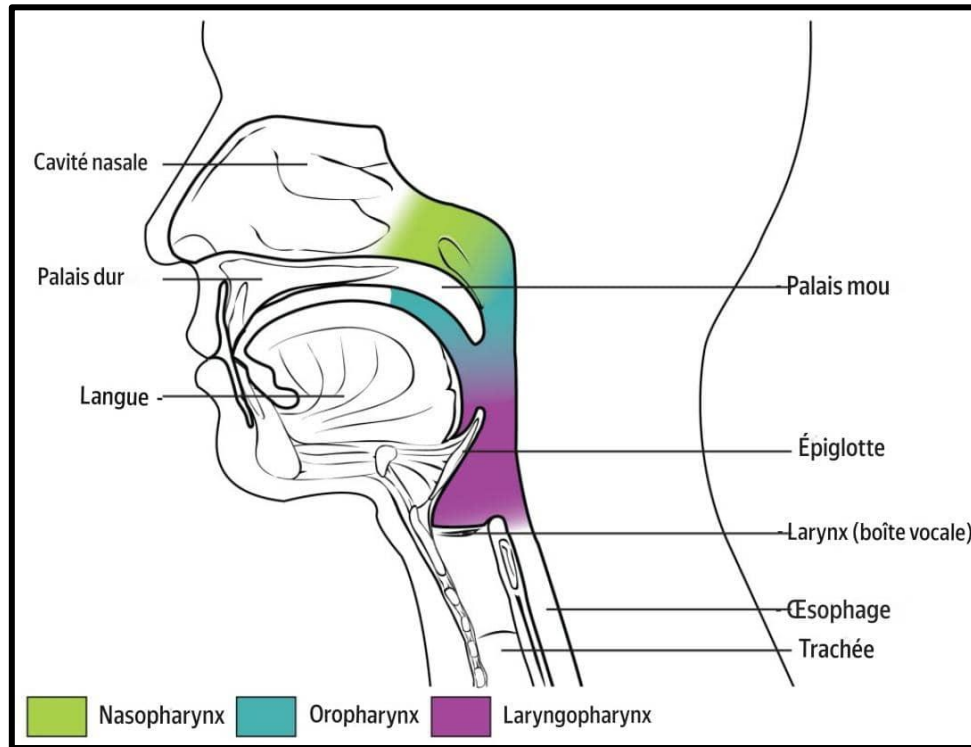


Figure 13 : Régions du pharynx (OpenStax College,n.d.)

Au sommet du nasopharynx se trouve l'amygdale pharyngienne, également appelée végétation adénoïde. La fonction de l'amygdale pharyngienne est de piéger et de détruire les agents pathogènes envahissants qui pénètrent dans les voies respiratoires lors de l'inhalation. La pharyngite est une inflammation du pharynx, et la tonsillite est une inflammation des amygdales (Ernstmeyer & Christman, 2024).

Le palais mou et une structure bulbeuse appelée la luette se soulèvent vers le haut pendant la déglutition pour fermer le nasopharynx, empêchant ainsi les matières ingérées de pénétrer dans la cavité nasale. Les trompes d'Eustache relient les cavités de l'oreille moyenne au nasopharynx. Cette connexion explique pourquoi les infections des voies respiratoires supérieures entraînent souvent des infections de l'oreille (Ernstmeyer & Christman, 2024).

L'oropharynx est délimité supérieurement par le nasopharynx et antérieurement par la cavité buccale. L'oropharynx contient deux groupes distincts d'amygdales appelés les amygdales palatines et les amygdales linguales, qui piègent et détruisent également les agents pathogènes entrant dans le corps par les cavités buccale ou nasale. Les végétations adénoïdes sont des tissus lymphatiques situés entre l'arrière de la cavité nasale et le pharynx. L'adénoïdite désigne une inflammation des végétations adénoïdes, une affection médicale

courante chez les jeunes enfants qui peut gêner la parole et la respiration (**Ernstmeyer & Christman, 2024**).

Le laryngopharynx se trouve juste en dessous de l'oropharynx. C'est une partie du pharynx (la gorge) située derrière le larynx. Le laryngopharynx se divise en la trachée (le tube allant vers le larynx) et l'œsophage (le tube allant vers l'estomac). L'épiglotte empêche les aliments et les liquides de pénétrer dans la trachée pendant la déglutition (**Ernstmeyer & Christman, 2024**)

3. Larynx

Le larynx est une structure cartilagineuse située en dessous du laryngopharynx qui relie le pharynx à la trachée et aide à réguler le volume d'air entrant et sortant des poumons (Figure 6). La structure du larynx est formée par plusieurs pièces de cartilage. Trois grandes pièces cartilagineuses—le cartilage thyroïde (antérieur), l'épiglotte (supérieur) et le cartilage cricoïde (inférieur)—forment la structure principale du larynx. Le cartilage thyroïde est la plus grande pièce de cartilage qui compose le larynx. Le cartilage thyroïde se compose de la proéminence laryngée, ou « pomme d'Adam », qui a tendance à être plus proéminente chez les hommes. Le cartilage cricoïde épais forme un anneau, avec une région postérieure large et une région antérieure plus mince. Trois cartilages plus petits, appariés les aryténoïdes, les corniculés et les cunéiformes s'attachent à l'épiglotte ainsi qu'aux cordes vocales et aux muscles qui aident à déplacer les cordes vocales pour produire la parole (**OpenStax, 2023**).

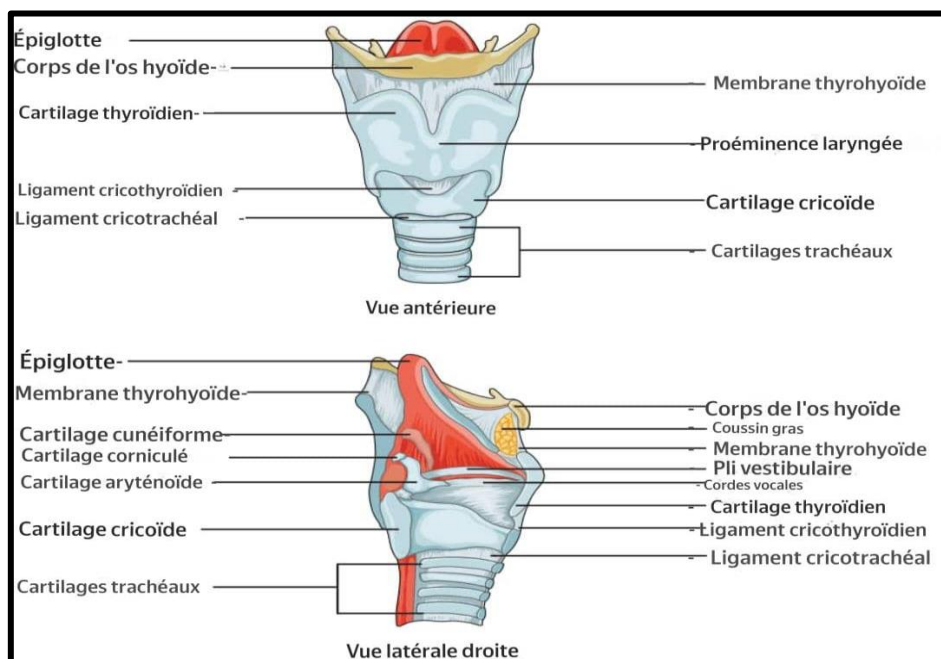


Figure 14 :LarynxLe larynx s'étend du laryngopharynx et de l'os hyoïde jusqu'à la trachée (**OpenStax, 2023**).

L'épiglotte, attachée au cartilage thyroïde, est une pièce très flexible de cartilage élastique qui couvre l'ouverture de la trachée . En position « fermée », l'extrémité non attachée de l'épiglotte repose sur la glotte. La glotte est composée des plis vestibulaires, des vraies cordes vocales, et de l'espace entre ces plis (Figure 22.8). Un pli vestibulaire, ou fausse corde vocale, est l'un des deux segments repliés de la membrane muqueuse. Une vraie corde vocale est l'un des plis blancs et membraneux attachés par des muscles aux cartilages thyroïde et aryténoïdes du larynx sur leurs bords externes. Les bords internes des vraies cordes vocales sont libres, permettant l'oscillation pour produire le son. La taille des plis membraneux des vraies cordes vocales varie selon les individus, produisant des voix avec des gammes de hauteurs différentes. Les plis chez les hommes tendent à être plus grands que ceux chez les femmes, ce qui crée une voix plus grave. L'acte de déglutition provoque une élévation du pharynx et du larynx, permettant au pharynx de s'élargir et à l'épiglotte du larynx de basculer vers le bas, fermant l'ouverture de la trachée. Ces mouvements créent une zone plus large pour le passage des aliments, tout en empêchant les aliments et les boissons d'entrer dans la trachée (**OpenStax, 2023**).

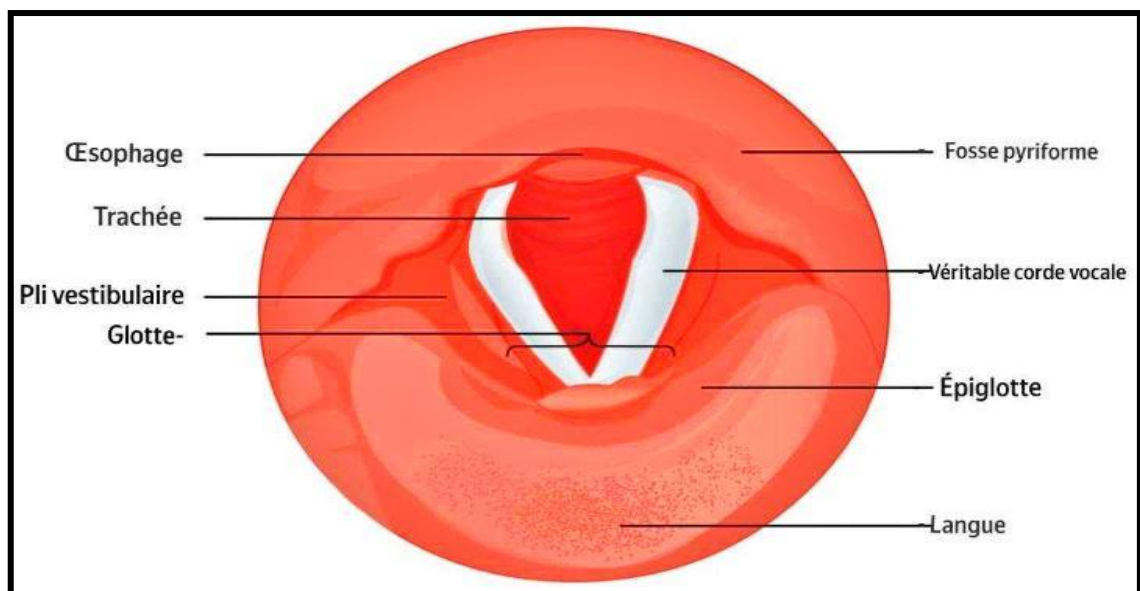


Figure 15 : Cordes vocalesLes vraies cordes vocales et les plis vestibulaires du larynx sont vus par le bas depuis le laryngopharynx (**OpenStax, 2023**).

La partie supérieure du larynx, en continuité avec le laryngopharynx, est tapissée d'un épithélium pavimenteux stratifié, qui se transforme en un épithélium cylindrique pseudostratifié cilié contenant des cellules caliciformes. Semblable à la cavité nasale et au nasopharynx, cet épithélium spécialisé produit du mucus afin de piéger les débris et les agents pathogènes lors de leur entrée dans la trachée. Les cils propulsent le mucus vers le haut en direction du laryngopharynx, où il peut être avalé dans l'œsophage (OpenStax, 2023).

IV .Les Voies Aériennes Inférieures :

1. La trachée :

La trachée relie le larynx à l'arbre bronchique et constitue la première partie des voies aériennes inférieures.

1.1 Anatomie de la trachée :

La trachée a la forme d'un cylindre d'une longueur d'environ 12 cm sur un diamètre d'environ 2cm. Elle traverse ainsi le cou et la partie supérieure du thorax et est disposée en avant de l'œsophage. À son extrémité inférieure, appelée carène, la trachée se divise en deux bronches principales, l'une destinée au poumon droit, l'autre au poumon gauche (Éditions EP&S, 2022).

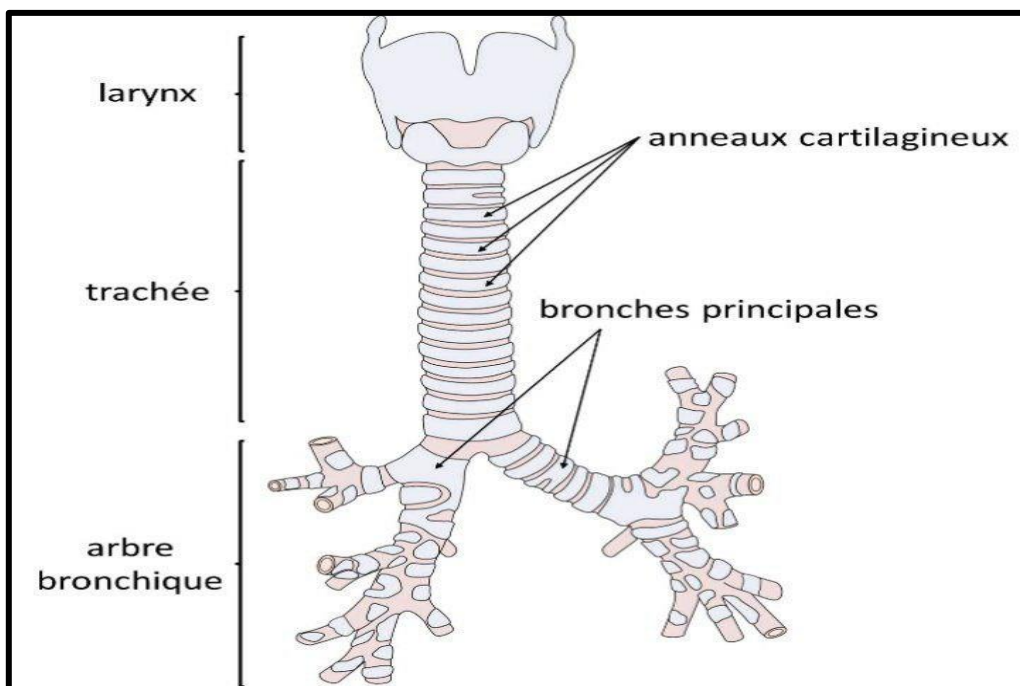


Figure 16 : Anatomie du larynx, de la trachée et de l'arbre bronchique (Servier Medical Art, s.d.)

1.2 histologie de la trachée :

La trachée est formée de 16 à 20 anneaux cartilagineux incomplets en forme de fer à cheval empilés les uns sur les autres et unis entre eux par du tissu conjonctif fibro-élastique. La partie postérieure de la trachée est fermée par une membrane transversale constituée de fibres musculaires lisses, ou muscle trachéal, associées à du tissu conjonctif fibreux, reliant les extrémités postérieures des anneaux cartilagineux. La présence du muscle trachéal permet notamment de faire varier, en partie, la lumière trachéale.

Sa paroi est composée de trois tuniques différentes. On distingue ainsi, de l'intérieur vers l'extérieur:

- Une tunique interne, la muqueuse
- Une tunique moyenne fibro-musculo-cartilagineuse
- Une tunique externe, l'adventice, constituée de tissu conjonctif riche en vaisseaux sanguins et en fibres nerveuses (Éditions EP&S, 2022)

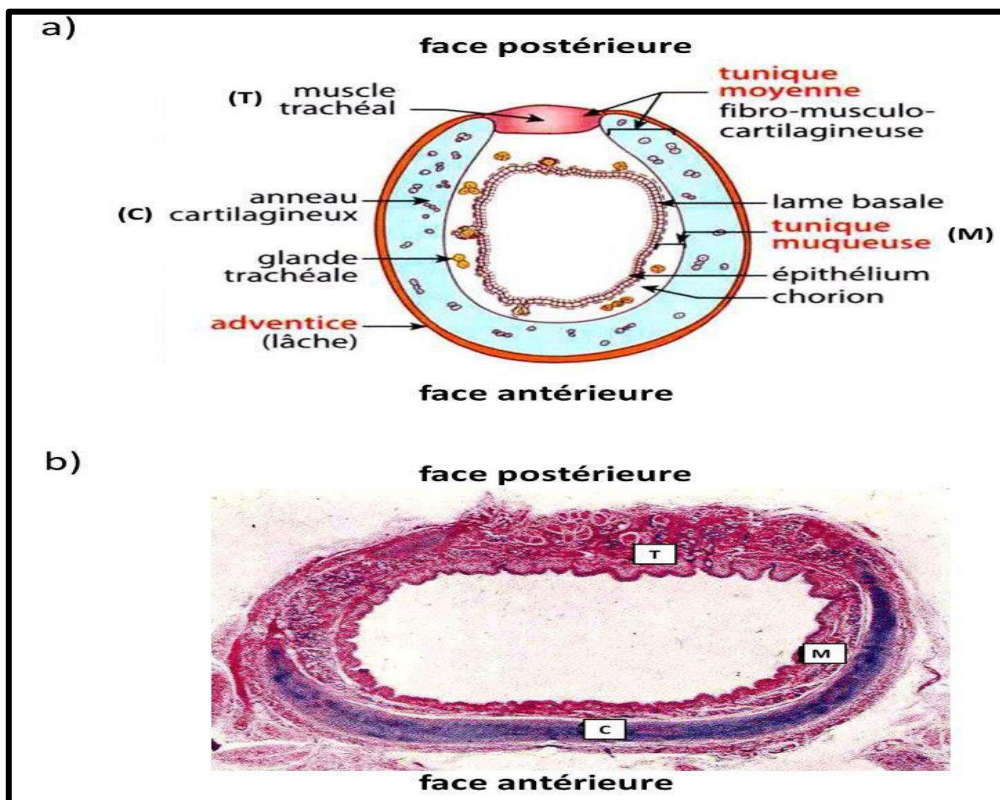


Figure 17 : Organisation histologique de la trachée. a) représentation schématique, b) coupe histologique après coloration des tissus (**adapté de Nathan, 2010 ; Medsi, 1979**)

1.3 muqueuse trachéale:

La muqueuse trachéale est formée d'un épithélium prismatique pseudo-stratifié, cilié, riche en cellules caliciformes sécrétrices de mucus. Cet épithélium est séparé par une lame basale du tissu conjonctif sous-jacent (chorion), riche en fibres élastiques, en tissu lymphoïde et en glandes séro-muqueuses. Ces glandes séro-muqueuses, appelées glandes trachéales, sont formées de cellules glandulaires qui s'enfoncent en grappe dans le chorion et qui libèrent du mucus dans la lumière trachéale (**Éditions EP&S, 2022**).

*La tunique moyenne :

La tunique moyenne est formée d'une couche de sous-muqueuse qui se confond avec le périchondre des anneaux de cartilage sous-jacent, des anneaux de cartilage, du muscle trachéal et également du tissu fibro-élastique qui relie les anneaux entre eux (dans les portions où il n'y a pas d'anneaux de cartilage) (**Éditions EP&S, 2022**).

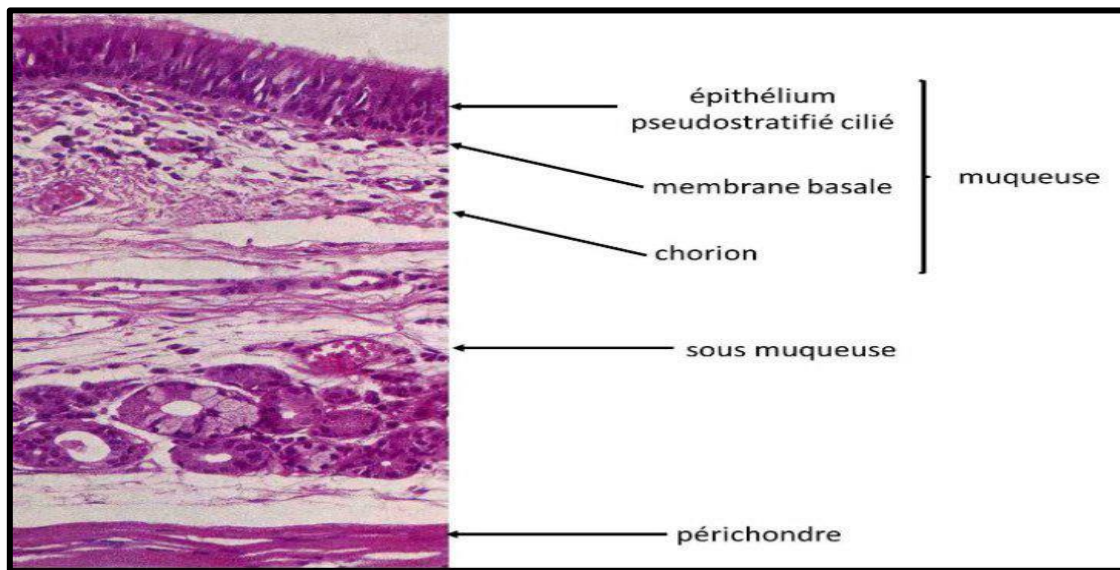


Figure 18 : Histologie de la trachée, coupe histologique après coloration des tissus (**adapté de Medsi, 1979**)

1.4 Le système muco-ciliaire :

Les voies aériennes ont un rôle important dans le contrôle de la qualité (en termes de propreté) de l'air parvenant aux alvéoles pulmonaires. Les particules ou poussières

indésirables provenant de l'air inspiré sont continuellement piégées par la couche de mucus qui tapisse la muqueuse des voies aériennes. Grâce aux cils de l'épithélium respiratoire, le mucus et les particules piégées sont véhiculés de manière continue en direction du pharynx afin d'y être éliminés (notamment déglutis) (Éditions EP&S, 2022).

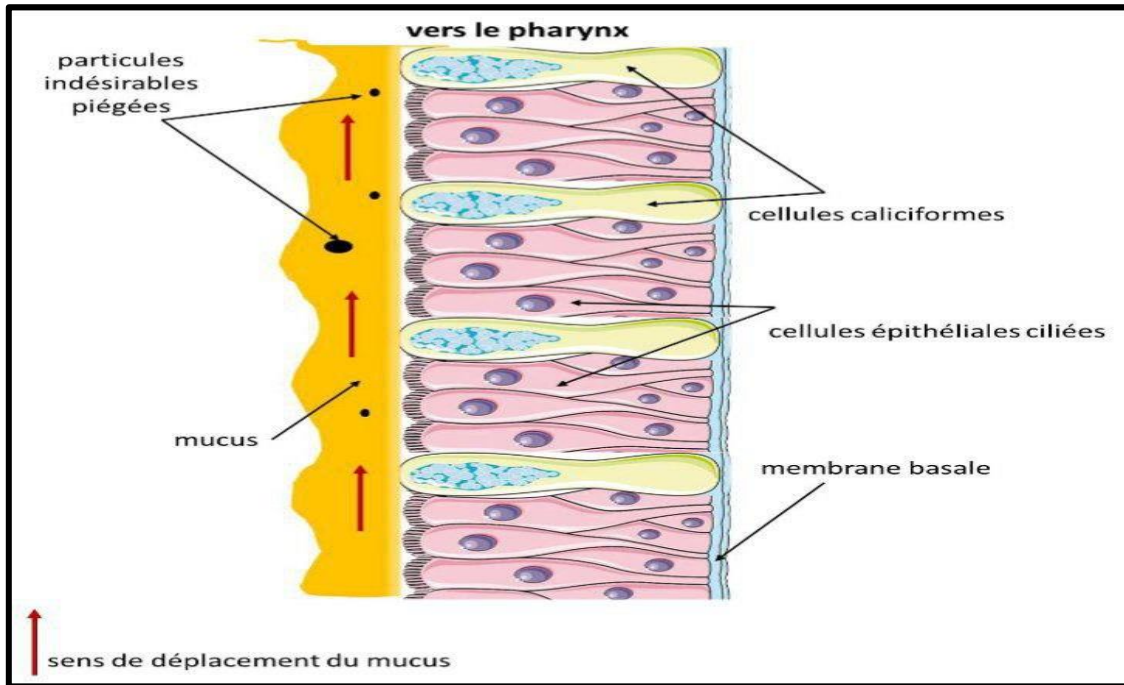


Figure 19: Le système muco-ciliaire (Éditions EP&S, 2022)

2. Arbre bronchique :

La trachée se divise en bronches primaires droite et gauche, lesquelles pénètrent respectivement dans les poumons droit et gauche. Les bronches se ramifient en voies respiratoires de plus en plus petites et nombreuses jusqu'à atteindre les alvéoles – il s'agit de l'extrémité de l'arbre respiratoire et de la plus petite structure des voies respiratoires, où se produit l'échange gazeux avec le système cardiovasculaire.

2.1 Du haut vers le bas :

La bronche principale droite et la bronche principale gauche ⇒ bronches secondaires ⇒ bronches tertiaires ⇒ bronchioles ⇒ bronchioles terminales ⇒ bronchioles respiratoires ⇒ conduits alvéolaires, qui se terminent en amas appelés alvéoles.

Les alvéoles sont de minuscules sacs aériens tapissés d'un épithélium squameux mince. Elles sont entourées à 90 % de capillaires, où s'effectuent les échanges de O_2 et de CO_2 .

À partir des bronches principales droite et gauche (1°), les bronches secondaires (2°) sont des voies plus petites qui se ramifient à partir des bronches principales.

La bronche principale droite (1°) se divise en trois bronches secondaires (2°) (car il y a trois lobes dans le poumon droit), et la bronche principale gauche (1°) se divise en deux bronches secondaires (2°) (car il y a deux lobes dans le poumon gauche).

Les bronches secondaires (2°) se ramifient en bronches tertiaires (3°), qui se ramifient ensuite en bronchioles plus petites.

Au niveau des bronchioles, les plaques de cartilage hyalin qui étaient présentes dans les bronches tertiaires (3°) ont maintenant disparu, et les bronchioles sont désormais constituées d'un épithélium respiratoire au niveau du revêtement interne et possèdent une couche externe épaisse de muscle lisse, capable de se contracter et de se dilater, ce qui modifie de manière significative le flux d'air à travers ces voies respiratoires.

Le système nerveux autonome (SNA) régule le diamètre des bronchioles : la division parasympathique provoque une constriction du diamètre (↓ flux d'air), tandis que la division sympathique entraîne une dilatation du diamètre (↑ flux d'air).

Les bronchioles offrent la plus grande résistance au flux d'air dans la portion conductrice du système respiratoire (**San Diego Miramar College, 2024**).

Les bronchioles se ramifient en bronchioles terminales plus petites, qui représentent la « fin » de la zone de conduction des voies respiratoires. Celles-ci se ramifient ensuite en bronchioles respiratoires plus petites, qui représentent le « début » de la zone respiratoire des voies respiratoires. C'est à ce niveau que le revêtement interne commence à passer de l'épithélium respiratoire (épithélium pseudostratifié cilié) à un épithélium cubique simple, permettant le début réel des échanges gazeux à travers un revêtement plus mince. La dernière section des voies aériennes est constituée des conduits alvéolaires menant aux sacs alvéolaires qui contiennent de nombreuses alvéoles individuelles. Le revêtement dans l'alvéole est un épithélium squameux simple, une couche aplatie idéale pour les échanges gazeux (**San Diego Miramar College, 2024**).

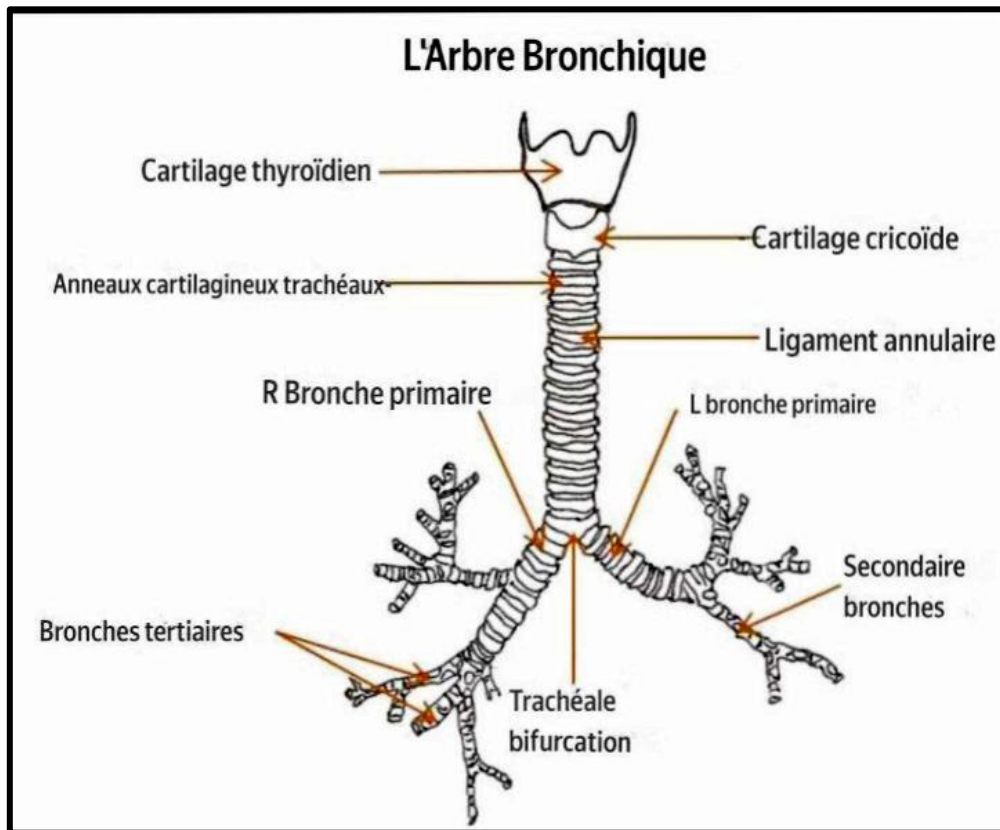


Figure 20: Division de l'arbre bronchique(San Diego Miramar College, 2024)

3 . Les alvéoles pulmonaires :

Les alvéoles pulmonaires représentent la structure qui, au sein des poumons, permet les échanges air/sang. Ce sont de petits sacs où débouche l'air amené par les voies respiratoires et où ont lieu les échanges gazeux (O_2 , N_2 , CO_2). Leur paroi est élastique et tapissée de liquide et de surfactant. Le rôle de ce liquide est de dissoudre les gaz avant leur diffusion au travers des parois. Quant au surfactant, il est sécrété par certaines cellules de la paroi alvéolaire, afin d'éviter que les alvéoles ne s'affaissent sur elles-mêmes et collapsent lors d'une expiration forcée. Les fibres de la paroi d'une alvéole étant élastiques, le diamètre de celle-ci peut passer à 0,1 mm en cas d'expiration forcée et atteindre 0,3 à 0,5 mm lors d'une inspiration forcée. Les deux poumons comptent en moyenne 700 millions d'alvéoles toutes en contact étroit avec les capillaires pulmonaires. En effet, la surface de contact dans les alvéoles est d'environ 100 à 150 m² et l'épaisseur de la paroi alvéolo-capillaire est inférieure à 1 μm (figure 8) Toutefois, chez l'homme, seulement les deux tiers des alvéoles sont fonctionnelles.

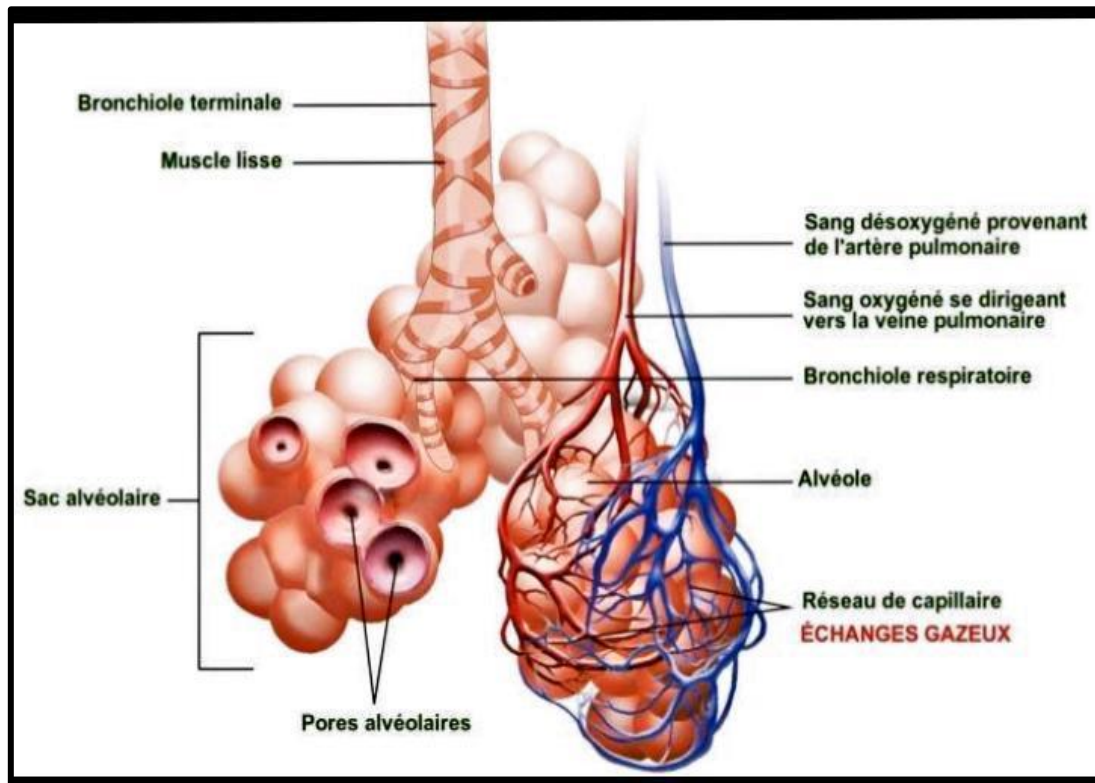


Figure 21: Schéma des alvéoles pulmonaires(Blausen gallery, 2014)

4. Poumon :

4.1 Définition et fonction du poumon:

Les poumons jouent un rôle primordial dans le système respiratoire. Par des cycles d'inspiration et d'expiration, ils permettent l'oxygénation sanguine mais également l'élimination du dioxyde de carbone. Par ailleurs, les poumons étant directement en contact avec l'extérieur, ils sont pourvus de nombreuses cellules inflammatoires qui ont pour rôle de protéger l'organisme(Bessaguet & Desmoulière, 2020) .

La fonction principale des poumons est de faciliter les échanges gazeux. L'oxygène entre dans la circulation sanguine depuis l'environnement à travers les alvéoles. Le dioxyde de carbone issu du métabolisme des tissus quitte le corps par les poumons. La vascularisation pulmonaire est organisée pour soutenir ces fonctions (Sun *et al.*, 2021).

Les poumons sont protégés par la cage thoracique à l'intérieur de la cavité thoracique, flanquant le cœur de chaque côté. Des membranes pleurales à double couche recouvrent chaque poumon. Le parenchyme pulmonaire se forme à partir du ramification complexe des

voies aériennes. Le contrôle neural complexe dans les poumons assure une régulation appropriée de la fonction respiratoire, y compris le calibre des voies respiratoires, la ventilation et les réflexes de protection(Chaudhry, Omole, & Bordini, 2024).

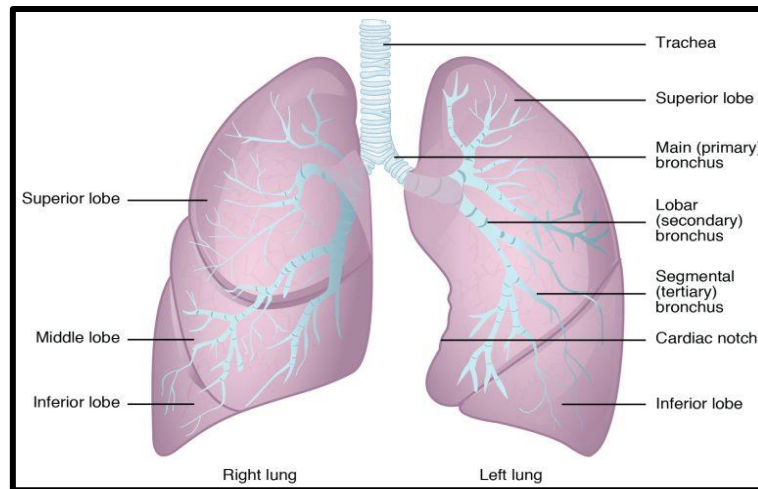


Figure22: Poumons(Wisconsin Technical College System, n.d.)

4.2 Anatomie macroscopique des poumons

Les poumons sont des organes appariés en forme de pyramide qui sont reliés à la trachée par les bronches droite et gauche ; à leur surface inférieure, les poumons sont bordés par le diaphragme. Le diaphragme est un muscle plat en forme de dôme situé à la base des poumons et de la cavité thoracique. Les poumons sont entourés par les plèvres, qui sont attachées au médiastin. Le poumon droit est plus court et plus large que le poumon gauche, et le poumon gauche occupe un volume plus petit que le poumon droit. L'incisure cardiaque est une indentation sur la surface du poumon gauche, permettant de laisser de la place pour le cœur (Figure 10). L'apex du poumon est la région supérieure, tandis que la base est la région opposée, proche du diaphragme. La surface costale du poumon est en contact avec les côtes. La surface médiastinale est tournée vers la ligne médiane (**Lumen Learning, n.d.**) .

Chaque poumon est constitué d'unités plus petites appelées lobes. Des scissures séparent ces lobes les uns des autres. Le poumon droit est composé de trois lobes : les lobes supérieur, moyen et inférieur. Le poumon gauche est composé de deux lobes : les lobes supérieur et inférieur. Un segment broncho-pulmonaire est une division d'un lobe, et chaque lobe contient plusieurs segments broncho-pulmonaires. Chaque segment reçoit de l'air via sa propre bronche tertiaire et est alimenté en sang par sa propre artère. Certaines maladies pulmonaires affectent généralement un ou plusieurs segments broncho-pulmonaires, et dans

certain cas, les segments malades peuvent être retirés chirurgicalement sans grande conséquence sur les segments voisins. Un lobule pulmonaire est une subdivision formée lorsque les bronches se ramifient en bronchioles. Chaque lobule reçoit une grande bronchiole qui comporte plusieurs ramifications. Un septum interlobulaire est une paroi composée de tissu conjonctif qui sépare les lobules les uns des autres (**Lumen Learning, n.d.**).

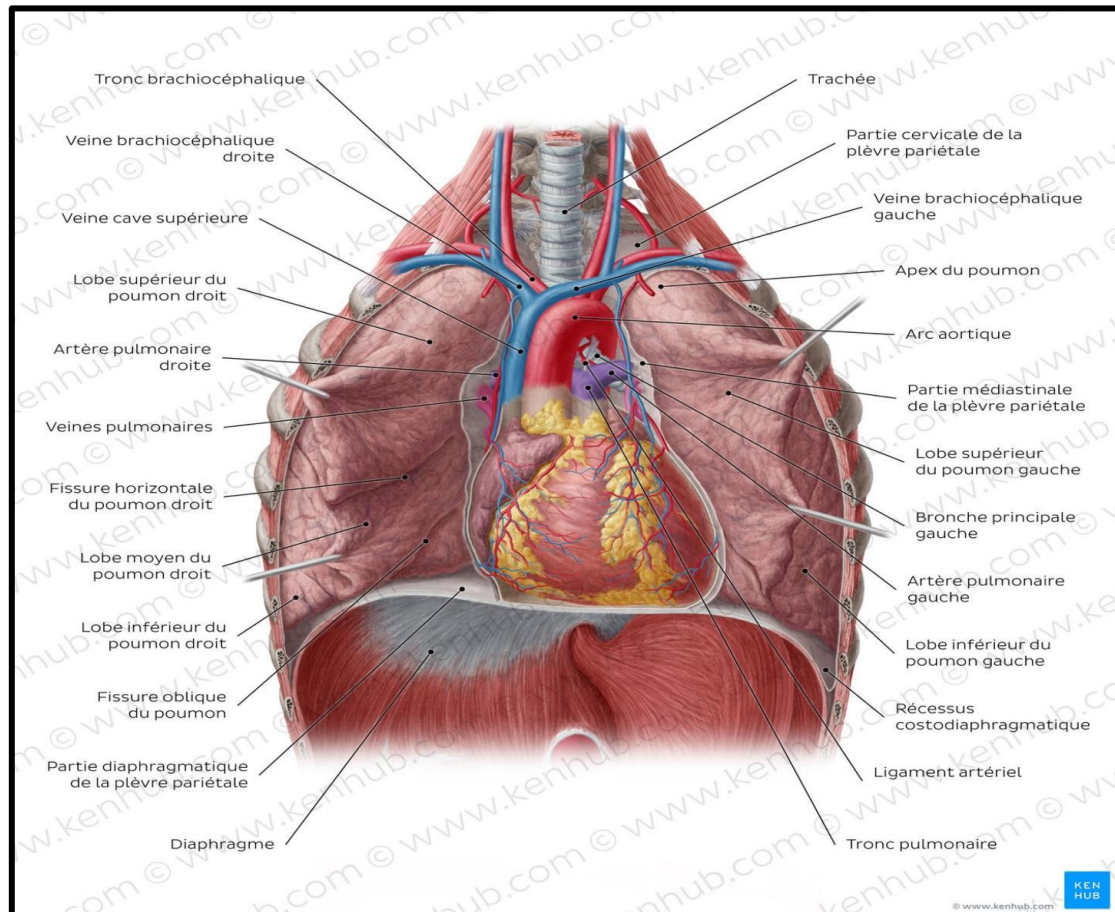


Figure 23: Poumons in situ - vue antérieure(Kenhub, n.d.).

4.3 Plèvre :

Chaque poumon est enveloppé et contenu dans un sac pleural séreux qui se compose de deux membranes continues.

- La plèvre viscérale ou pulmonaire enveloppe les poumons.
- La plèvre pariétale tapisse les cavités pulmonaires et adhère à la paroi thoracique, au médiastin et au diaphragme.
- La plèvre pariétale se compose de quatre parties :

la plèvre costale, qui tapisse la surface interne de la paroi thoracique, la plèvre médiastinale, qui tapisse la face latérale du médiastin, la plèvre diaphragmatique, qui recouvre la face supérieure du diaphragme de chaque côté du médiastin, la plèvre cervicale, qui s'étend à travers l'ouverture thoracique supérieure jusqu'à la base du cou, formant un dôme en forme de coupe au-dessus de l'apex du poumon (Drake *et al.*, 2010).

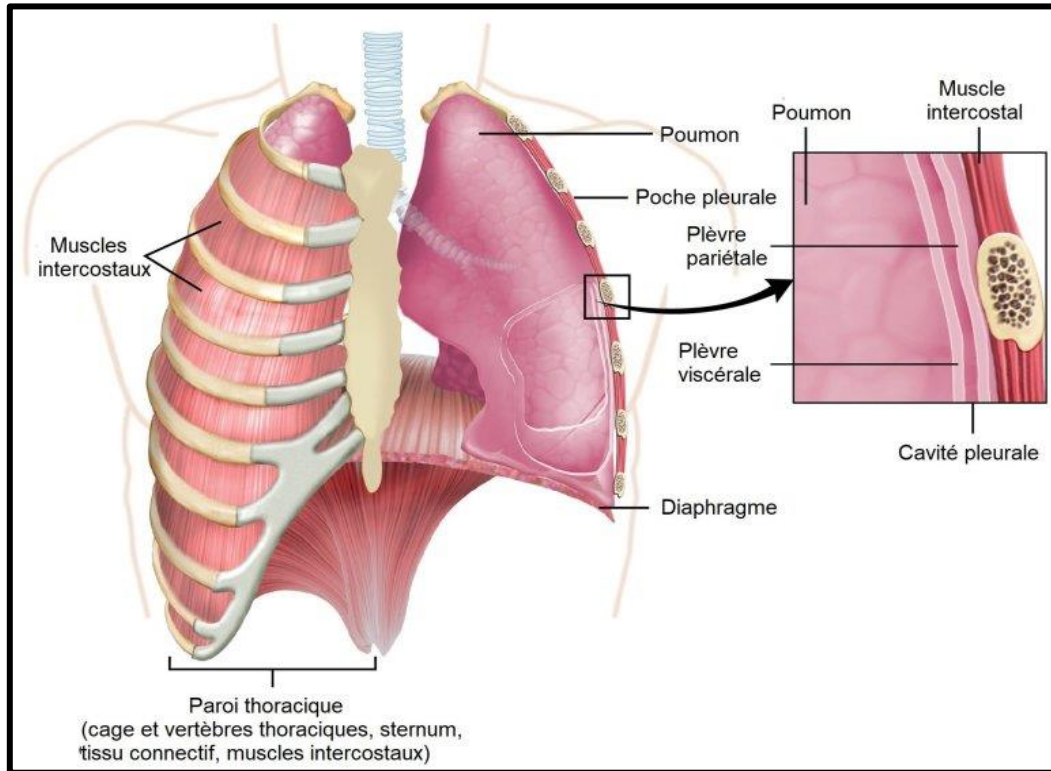


Figure 24: Plèvres pariétale et viscérale des poumons (Lumen Learning, n.d.)

4.4. Cavité pleurale :

La cavité pleurale est l'espace potentiel situé entre les feuillets viscéral et pariétal de la plèvre. Elle contient une fine couche capillaire de liquide séreux pleural, qui lubrifie les surfaces pleurales et permet aux deux feuillets de glisser en douceur l'un contre l'autre pendant la respiration. La tension de surface créée au sein de la cavité pleurale assure la cohésion maintenant la surface pulmonaire en contact avec la paroi thoracique (Scanlon & Anders, 2011).

4.5 Défenses des Poumons :

Il existe plusieurs structures qui protègent les poumons des organismes et des particules inhalées :

1. Muqueuse nasale et poils : réchauffent et humidifient l'air inhalé et filtrent les particules.

2. Cellules caliciformes et glandes séromuqueuses bronchiques : produisent du mucus qui contient des immunoglobulines A, des cytokines et d'autres substances cytolytiques, avec une production extensive de monoxyde d'azote par le nez et les sinus paranasaux ; tous ces éléments ont une activité antimicrobienne puissante, pour protéger les tissus sous-jacents et piéger les organismes et les particules. Les bactéries sont détruites par la lysozyme dans le mucus. De plus, une protection supplémentaire contre les bactéries est fournie par les lymphocytes qui peuplent en grand nombre la lamina propria. La lamina propria contient de grands vaisseaux sanguins qui aident à réchauffer l'air(**Gaga et al., 2001**)

3. De plus, la concha inférieure possède un plexus veineux particulièrement large appelé le tissu érectile. Toutes les 30 à 60 minutes, le tissu érectile d'un côté se gorge et restreint le flux d'air à travers cette fosse, ce qui permet à l'air de se rediriger à travers les autres narines et fosses, permettant ainsi au côté gorgé de se récupérer du dessèchement. Le flux d'air se déplace entre les narines droite et gauche une à deux fois par heure. La production de mucus est augmentée par l'inflammation (par exemple dans des conditions comme l'asthme et la bronchite) et sa composition peut être modifiée par des maladies(**Gaga et al., 2001**).

4. Cils : les structures déplacent le noyau vers la carène et la gorge via le transport mucociliaire. Le transport mucociliaire est altéré par l'inhalation de gaz toxiques (par exemple, la fumée de cigarette et la pollution de l'air), l'inflammation aiguë, l'infection, l'anesthésie, etc (**Gaga et al., 2001**).

5. Pneumocytes de type II : produisent du surfactant qui protège les tissus sous-jacents et répare l'épithélium alvéolaire endommagé

6. Macrophages alvéolaires : englobent des matières étrangères et des bactéries. Leur activité peut être entravée par la fumée de cigarette, la pollution de l'air, l'hypoxie alvéolaire, les radiations, la thérapie par corticostéroïdes et la consommation d'alcool

7. Lymphocytes B : produisent des gamma-globulines pour la production d'anticorps afin de résister aux infections.

• Leucocytes polymorphonucléaires : englobent et tuent les organismes gram-négatifs transportés par le sang (**Gaga et al., 2001**).

4.6 Échange gazeux :

Le pharynx, ou gorge, reçoit l'air par la bouche ou le nez et le transfère immédiatement vers le pharynx. Après avoir traversé le larynx, ou larynx, il pénètre ensuite dans la trachée. La trachée est un tube robuste, protégé par des anneaux cartilagineux. Elle se divise en bronches gauche et droite, situées dans les poumons. Ces dernières sont elles-mêmes divisées en bronchioles, des ramifications plus petites. Les plus petites bronchioles se terminent par de minuscules sacs aériens, appelés alvéoles. À l'inspiration, elles se dilatent et à l'expiration, elles se dégonflent. L'oxygène est transféré des poumons à la circulation sanguine lors des échanges gazeux. Le dioxyde de carbone est transporté simultanément de la circulation sanguine vers les poumons. Cela se produit dans les poumons, entre les alvéoles et un réseau d'artères sanguines microscopiques, les capillaires, situées dans les parois des alvéoles. On observe le passage des globules rouges dans les capillaires. Les parois alvéolaires et capillaires partagent une membrane. Cela permet à l'oxygène et au dioxyde de carbone de passer facilement du système respiratoire à la circulation sanguine. Les molécules d'oxygène se lient aux globules rouges lors de leur retour au cœur. Parallèlement, lors de l'expiration, les molécules de dioxyde de carbone présentes dans les alvéoles sont expulsées du corps. L'organisme utilise les échanges gazeux pour réapprovisionner en oxygène et éliminer le dioxyde de carbone. Ces deux processus sont essentiels à la survie (**Chaurasia, 2010**)

Maladies pulmonaires :

Il existe de nombreuses affections pulmonaires différentes. Certaines sont mineures et temporaires, tandis que d'autres sont chroniques et plus graves.

- **Asbestose** : L'inhalation de fibres d'amiante provoque des cicatrices sur les poumons et les tissus pleuraux.
- **Asthme** : Le rétrécissement des voies respiratoires rend la respiration difficile.
- **Bronchectasie** : Des bronches enflammées provoquent une toux avec production de mucus et des difficultés respiratoires.
- **Bronchite** : Cette affection se caractérise principalement par une toux. La bronchite peut être aiguë ou chronique.
- **Maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC)** : Il s'agit d'un trouble respiratoire progressif qui ne peut pas être inversé.

- COVID-19 : Cette infection peut provoquer une maladie respiratoire légère ou sévère.
- Laryngotrachéite (croup) : Cette infection respiratoire survient chez les enfants de moins de 5 ans.
- Mucoviscidose : Cette maladie héréditaire provoque une accumulation de mucus épais dans les poumons et d'autres organes.
- Grippe (Influenza) : Cette maladie pulmonaire, connue sous le nom de grippe, est causée par un virus.
- Cancer du poumon : Un facteur de risque majeur du cancer du poumon est le tabagisme.
- Mésothéliome : Ce type de cancer est principalement causé par l'inhalation de fibres d'amiante.
- Pneumonie : Cette infection pulmonaire entraîne une accumulation de liquide dans les poumons et peut nécessiter une hospitalisation.
- Fibrose pulmonaire : La formation de cicatrices dans les poumons provoque des difficultés respiratoires. Elle est incurable.
- Nodules pulmonaires : Ces masses dans les poumons sont principalement bénignes (non cancéreuses).
- Virus respiratoire syncytial (VRS) : Cette infection respiratoire peut affecter aussi bien les enfants que les adultes.
- Tuberculose : Cette infection affecte les poumons, mais peut également toucher d'autres parties du corps. **(Cleveland Clinic, n.d.)**

Chapitre 04: Le cœur

Anatomie du cœur :

1-Description générale du cœur:

Le cœur est un organe musculaire creux de forme conique .ressemblant à une pomme de pin, avec une base large située en haut et un rétrécissement progressif vers l'apex(Gray, 1918). Il constitue l'élément fondamental responsable de la propulsion du sang dans l'ensemble de l'organisme(Green& Chiaramida, 2014, p. 4). Sa taille moyenne équivaut approximativement à celle d'un poing. Il mesure environ 12 cm de longueur, 8 cm de largeur et 6 cm d'épaisseur. Le poids du cœur varie selon le sexe : chez la femme, il oscille entre 250 et 300 grammes, alors qu'il se situe entre 300 et 350 grammes chez l'homme. Chez les athlètes, ce poids peut être nettement plus élevé en raison de l'augmentation des myofilaments, induite par l'exercice physique, entraînant une hypertrophie des cellules musculaires sans augmentation de leur nombre, un processus connu sous le nom d'hypertrophie. Une hypertrophie pathologique peut également survenir, notamment dans les cas de cardiomyopathie hypertrophique. Le cœur est logé dans la cavité thoracique, entre les deux poumons, au sein d'une région appelée médiastin. Il est séparé des autres organes par une membrane fibreuse résistante appelée péricarde (ou sac péricardique), et il repose dans une cavité spécifique connue sous le nom de cavité péricardique. La face postérieure du cœur est en contact avec la colonne vertébrale, tandis que sa face antérieure est située derrière le sternum et les cartilages costaux. La partie supérieure du cœur, appelée base, est le point de connexion des grandes veines (veine cave supérieure et inférieure) et des principales artères telles que l'aorte et le tronc pulmonaire. Cette base se projette approximativement au niveau du troisième cartilage costal. Quant à la partie inférieure, elle est appelée apex et se situe à gauche du sternum, entre les quatrième et cinquième côtes, près des cartilages costaux. Le côté droit du cœur est orienté vers l'avant, tandis que le côté gauche est dirigé vers l'arrière, ce qui crée une légère dépression dans le lobe inférieur du poumon gauche, connue sous le nom d'incisure cardiaque (**Betts et al., 2022**).

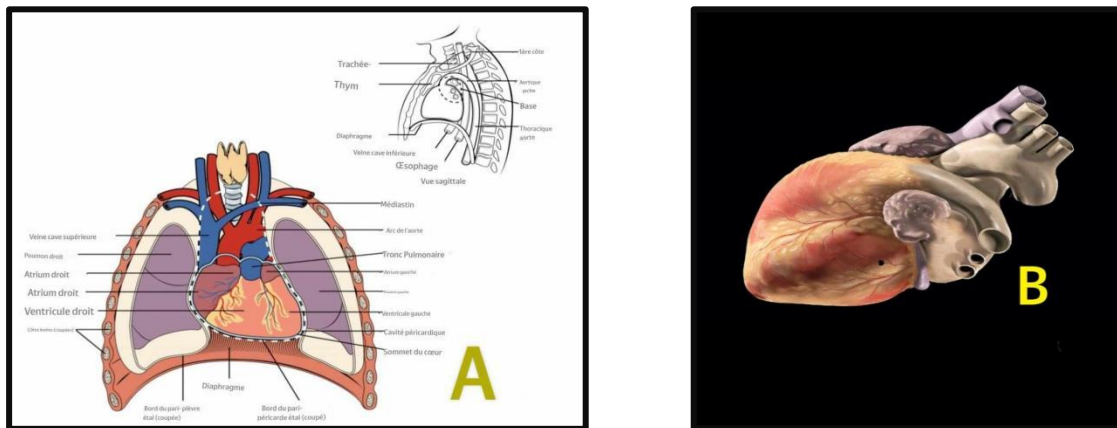


Figure 25 : A-schéma anatomique du cœur .B-La forme du cœur (Betts *et al.*, 2022).

2-L'anatomie du cœur :

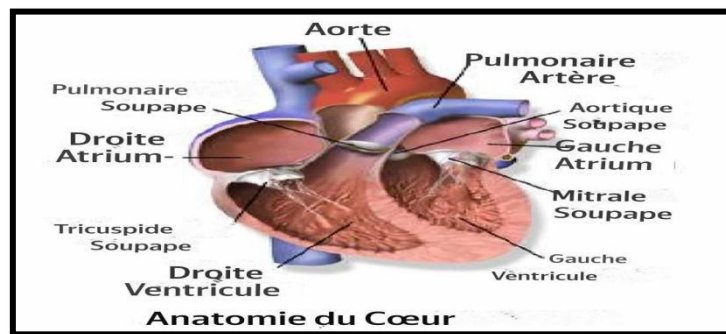


Figure 26 : Anatomie du cœur (Aptekar, 2025)

Le cœur humain est un muscle à quatre cavités creuses (Green & Chiaramida, 2014, p. 4). une oreillette droite et une oreillette gauche situées à la base du cœur, et un ventricule droit et un ventricule gauche situés à l'apex du cœur, en plus de diverses structures valvulaires et des vaisseaux sanguins (Mori & Shivkumar, 2022).

2-1 Oreillette droite

L'oreillette droite constitue l'une des quatre cavités du cœur, en occupant la position supérieure droite. Sa fonction principale est la réception du sang veineux systémique (c'est-à-dire provenant de l'ensemble des organes), un sang riche en dioxyde de carbone (CO_2) et pauvre en oxygène (O_2). Trois principaux vaisseaux sanguins se jettent dans l'oreillette droite : La veine cave supérieure, qui draine le sang de la partie supérieure du corps (tête, cou, membres supérieurs et région thoracique) ; La veine cave inférieure, qui draine le sang de la partie inférieure du corps (membres inférieurs, abdomen et pelvis) ; Le sinus coronaire, une

veine spécifique qui recueille le sang provenant du myocarde lui-même (car le cœur nécessite également une irrigation propre). Ce dernier s'ouvre dans l'oreillette droite, juste au-dessus de l'orifice de la veine cave inférieure, avec une légère inclinaison médiale. La paroi interne de l'oreillette droite est globalement lisse, à l'exception de la paroi antérieure où l'on observe des muscles pectinés (ressemblant à un peigne ou à des ondulations). L'auricule droite, qui est une extension en forme de poche, présente également ces mêmes structures musculaires. Sur la paroi médiale interne, on note la présence de la fosse ovale, reliquat d'un orifice embryonnaire essentiel à la circulation fœtale. Lors de la systole auriculaire, l'oreillette droite se contracte pour propulser le sang dans le ventricule droit, à travers la valve tricuspide, qui empêche le reflux sanguin vers l'oreillette droite durant la contraction ventriculaire (Betts *et al.*, 2022).

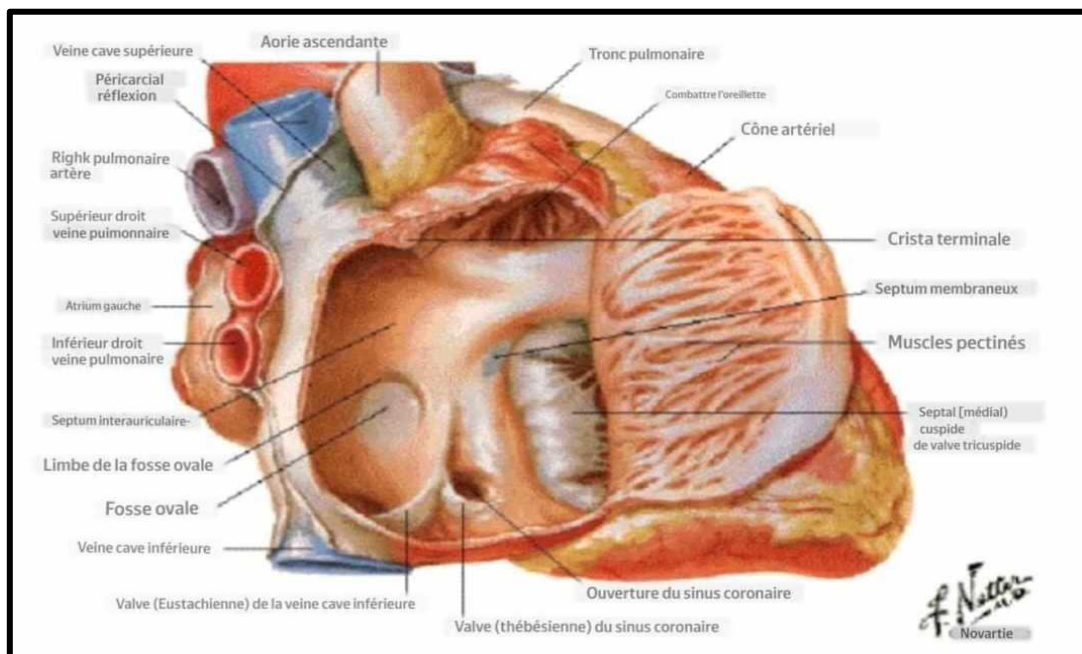


Figure 27: Anatomie de l'oreillette droite du cœur (Netter, 2018).

2-2 Le ventricule droit :

Le ventricule droit représente la cavité inférieure droite du cœur. De forme triangulaire, il s'étend de l'extrémité inférieure de l'oreillette droite jusqu'à l'apex du cœur. Sa face antéro-supérieure, convexe, constitue la majeure partie de la surface sternocostale, tandis que sa face inférieure, aplatie, repose sur le diaphragme, formant une petite portion de la surface diaphragmatique. La paroi postérieure est formée par le septum interventriculaire, qui fait saillie dans la lumière ventriculaire, donnant à celle-ci un aspect semi-lunaire en

coupe transversale. Dans l'angle supérieur gauche, on retrouve le conus arteriosus, une poche conique d'où émerge le tronc pulmonaire. Ce conus est relié à l'aorte par une bande fibreuse appelée le tendon du conus arteriosus. La paroi du ventricule droit est notablement plus fine que celle du ventricule gauche, dans un rapport d'environ 1 pour 3, avec une épaisseur maximale à la base qui diminue progressivement vers l'apex. Sa capacité volumique est estimée à environ 85 ml de sang. Sur le plan interne, le ventricule droit présente plusieurs structures caractéristiques. Il contient trois muscles papillaires — antérieur, postérieur et septal — qui sont reliés aux cuspidés de la valve tricuspide par des cordages tendineux (*Chordae tendineae*), jouant un rôle essentiel dans la prévention du reflux sanguin vers l'oreillette droite lors de la systole. De plus, les parois internes sont tapissées de trabécules charnues (*Trabeculae carneae*), des reliefs musculaires irréguliers qui facilitent la contraction sans accolement des parois. Une structure spécifique au ventricule droit est la bande modératrice (ou *trabecula septomarginalis*), qui relie le septum interventriculaire au muscle papillaire antérieur. Elle contient des fibres du système de conduction cardiaque, permettant une transmission rapide de l'influx électrique, garantissant ainsi une tension adéquate des cordages tendineux pendant la contraction ventriculaire (Betts *et al*,2022).

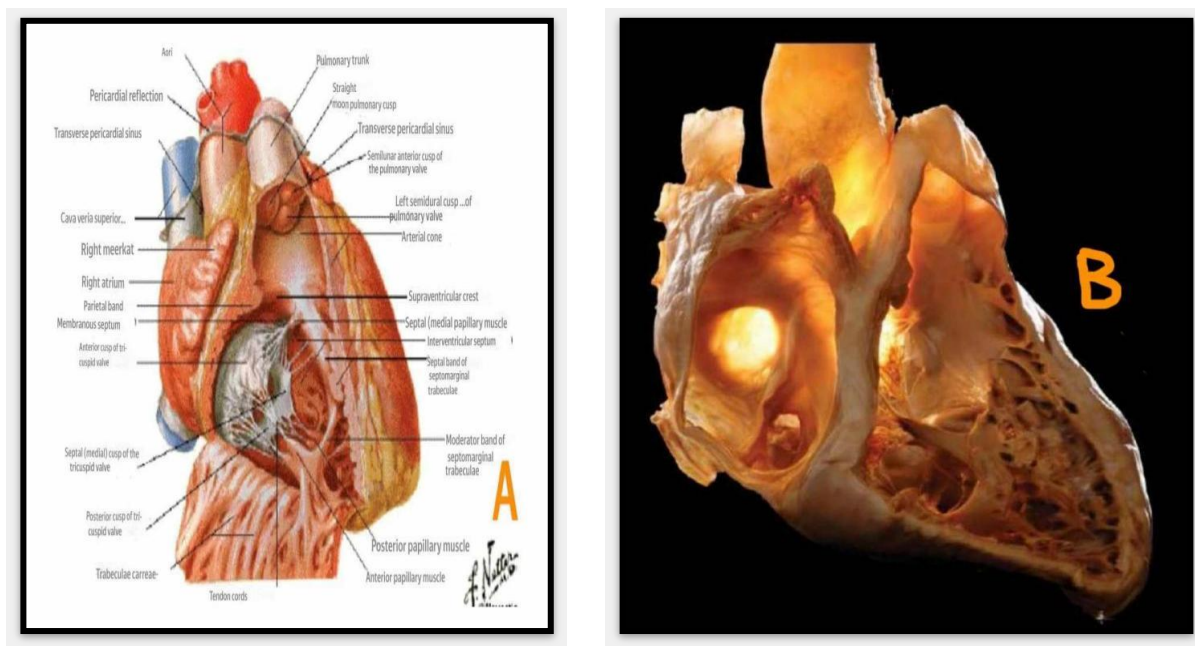


Figure 27 :A-Anatomie du ventricule droit du cœur(Netter,2018). B-Coupe frontale et latérale droite du cœur (Moir & Shivkumar,2022).

2-3 L'oreillette gauche

L'oreillette gauche est l'une des quatre cavités du cœur, située dans la partie supérieure gauche. Sa fonction principale est de recevoir le sang riche en oxygène (O₂) provenant des poumons via les quatre veines pulmonaires. Le sang passe ensuite vers le ventricule gauche à travers la valve mitrale (**Gray,1918**). L'oreillette gauche est plus petite que l'oreillette droite, mais ses parois sont plus épaisses, mesurant environ 3 mm. Elle se compose de deux parties principales : la cavité principale et l'auricule (auricule gauche). La cavité principale, de forme cubique, est située derrière le tronc pulmonaire et l'aorte, et séparée de l'oreillette droite par le septum interauriculaire à l'avant droit. Deux veines pulmonaires s'ouvrent de chaque côté dans cette cavité. Quant à l'auricule gauche, c'est une extension en forme de poche, plus longue, plus étroite et plus courbée que celle du côté droit, avec des bords plus dentelés ; elle est orientée vers l'avant et la droite, recouvrant la racine de l'artère pulmonaire (**Aptekar,2025**).

2-4 Ventricule gauche :

Ventricule gauche C'est la cavité inférieure gauche du cœur, dont les parois sont beaucoup plus épaisses que celles du ventricule droit. Le ventricule gauche contient des trabécules charnues, mais ne possède pas de bande modératrice. La valve mitrale est reliée aux muscles papillaires par des cordages tendineux. Du côté gauche, il n'y a que deux muscles papillaires : antérieur et postérieur «contrairement au côté droit qui en possède trois. Le ventricule gauche constitue la principale chambre de pompage de la circulation systémique ; il éjecte le sang dans l'aorte à travers la valve sigmoïde aortique pour l'envoyer vers tous les organes du corps(**Better et al.,2022**).

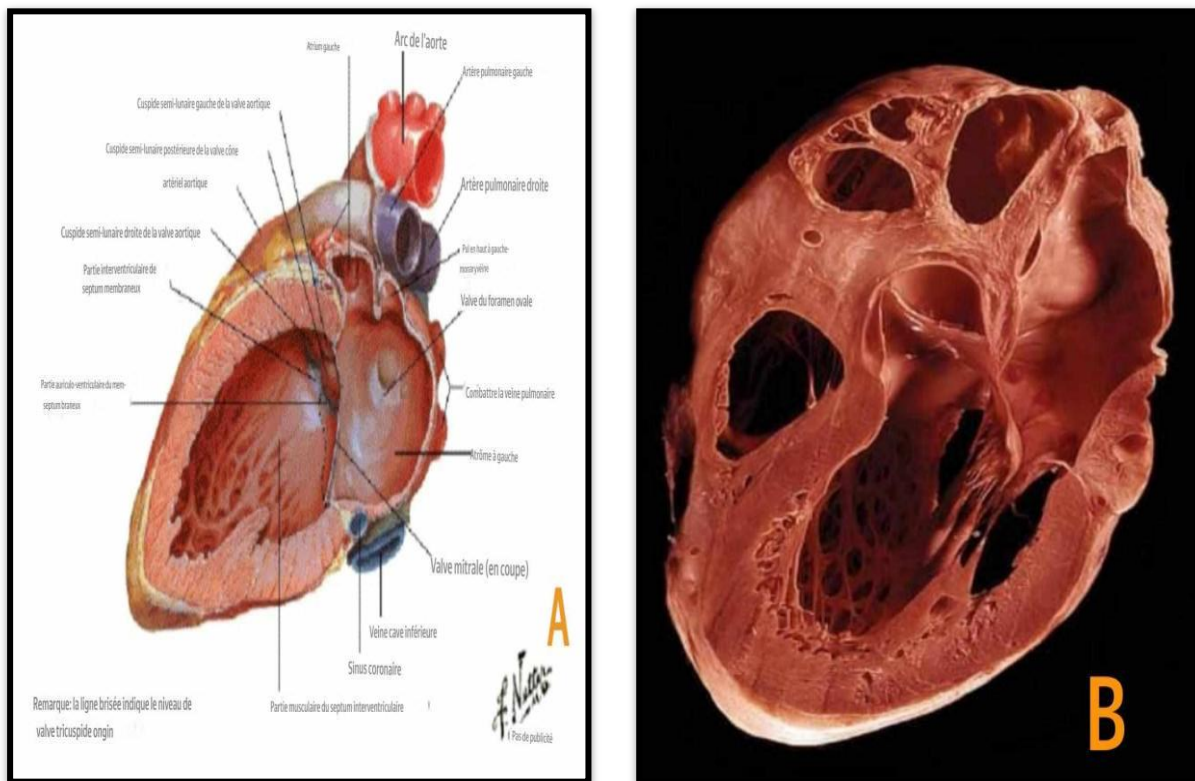


Figure 28: A- Schéma anatomique de la partie gauche du cœur (Netter,2018). **B-** Coupe transversale de la partie gauche du cœur en vue supérieure (Mori & Shivkumar ,2022)

2-5. Les valves cardiaques:

2-5-1. La valve tricuspide :

Elle est située entre l'oreillette droite et le ventricule droit du cœur. Elle est constituée de trois cuspidés ou feuillets souples ressemblant à de petites portes, formés par l'endocarde et renforcés par du tissu conjonctif supplémentaire. Ces feuillets sont reliés aux cordages tendineux, lesquels sont eux-mêmes attachés aux muscles papillaires qui contrôlent l'ouverture et la fermeture de la valve. La valve s'ouvre pour permettre le passage du sang de l'oreillette droite vers le ventricule droit pendant la diastole (relaxation du cœur). Elle se ferme hermétiquement grâce aux cordages tendineux et aux muscles papillaires afin d'empêcher le reflux du sang vers l'oreillette droite lors de la systole (contraction du cœur)(Aptekar,2025).

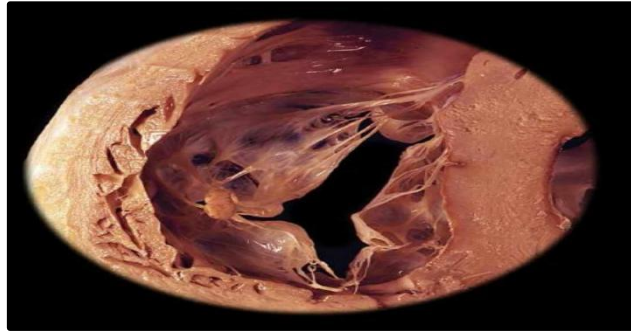


Figure 29: Valve tricuspide en vue supérieure(Mori & Shivkumar,2022).

2-5-2. La valve pulmonaire:

La valve pulmonaire : Cette valve est située du côté droit du cœur, entre le ventricule droit et le tronc pulmonaire, une grande artère qui émerge du cœur et se divise ensuite en artères pulmonaires gauche et droite, lesquelles transportent le sang non oxygéné vers les poumons. Elle est également connue sous le nom de valve sigmoïde droite(Tan & Harley,2013). Elle est constituée de trois cuspidés (ou valvules) formées d'endothélium, renforcées par du tissu conjonctif. Lors de la relaxation du ventricule droit, la différence de pression entraîne un reflux du sang depuis le tronc pulmonaire vers le ventricule(Aptekar,2025). Ce reflux remplit les poches en forme de croissant des cuspidés, provoquant ainsi la fermeture hermétique de la valve, ce qui génère un son audible. Contrairement aux valves atrioventriculaires, la valve pulmonaire ne possède ni muscles papillaires ni cordages tendineux(Betts *et al.*,2022).

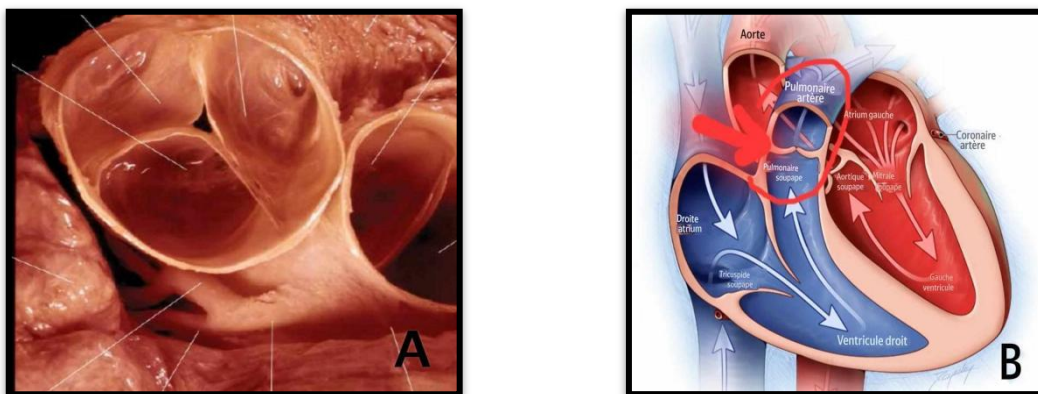


Figure 30: A-Valve pulmonaire en vue supérieure(Mori & Shivkumar,2022). B-Anatomie de la valve pulmonaire (Mayo Clinic.n,d).

2-5-3 .La valve mitrale

La valve mitrale (valve bicuspide) , également appelée valve bicuspide ou valve atrioventriculaire gauche, se situe entre l'oreillette gauche et le ventricule gauche. Elle permet au sang oxygéné de passer de l'oreillette vers le ventricule tout en empêchant son reflux lors de la systole. Cette valve est constituée de deux cuspidés triangulaires, formées par des replis de l'endothélium renforcés par un tissu conjonctif fibreux et contenant un faible nombre de fibres musculaires. Les cuspidés sont de tailles inégales, plus grandes, plus épaisses et plus résistantes que celles de la valve tricuspide. La cuspide antérieure, également appelée cuspide aortique, se situe à l'avant et à droite, entre les orifices atrioventriculaire et aortique. La cuspide postérieure, plus petite, se trouve à l'arrière et à gauche de l'orifice. Deux petites cuspidés supplémentaires peuvent parfois être observées aux angles de jonction des cuspidés principale (**StatPearls, 2023**). Les cuspidés sont reliées par des cordages tendineux aux muscles papillaires, qui émergent de la paroi du ventricule gauche. Ces cordages sont similaires à ceux du côté droit, mais sont plus épais, plus solides et moins nombreux (**McAlpine WA, 1975**).

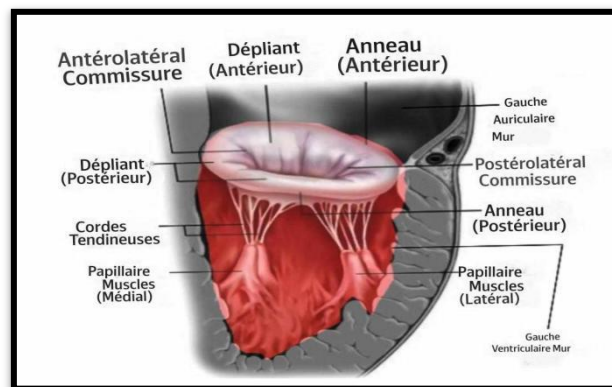


Figure 31 : Schéma anatomique de la valve mitrale (**StatPearls,2023**).

2-5-4. La valve aortique :

La valve aortique est une structure anatomique essentielle située entre le ventricule gauche et l'aorte ascendante. Elle est constituée de trois cuspidés épaisses et robustes : la cuspide droite, la cuspide gauche, et la cuspide non coronaire. Ces valves s'ouvrent pendant la systole pour permettre l'éjection du sang vers l'aorte, et se ferment pendant la diastole pour empêcher tout reflux vers le ventricule. Chaque cuspide est associée à un sinus de Valsalva, et

l'ensemble de ces sinus avec les cuspidés forme ce qu'on appelle la racine aortique. Cette racine présente une architecture tridimensionnelle complexe, comprenant plusieurs structures clés : L'anneau basal virtuel, un plan imaginaire reliant la base des trois cuspidés, servant de référence pour les mesures anatomiques. La zone centrale de coaptation, où les cuspidés se rejoignent pour assurer une fermeture étanche de la valve. La jonction sino-tubulaire, qui marque la transition entre les sinus de Valsalva et l'aorte ascendante. Cette organisation anatomique précise permet d'assurer une fonction valvulaire optimale et un flux sanguin unidirectionnel efficace (Mori *et al.*, 2019).

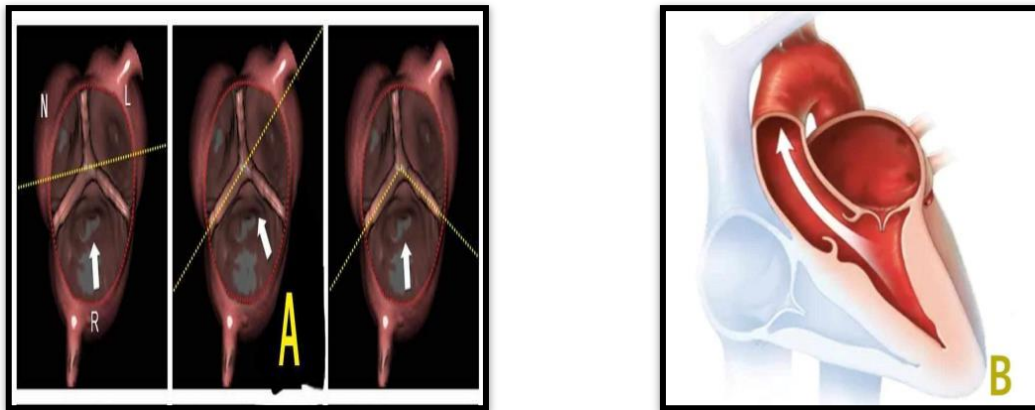


Figure 32 : A- Vue supérieure en imagerie 3D de trois variantes anatomiques de la valve aortique (Mori *et al.*, 2019). **B-** Schéma de la localisation de la valve aortique dans le cœur (Mayo Clinic .n,d).

2-6 Les vaisseaux sanguins :

Les vaisseaux sanguins font partie du système cardiovasculaire. Ils assurent le transport du sang depuis le cœur vers l'ensemble du corps, ou son retour vers le cœur. Il existe trois types principaux de vaisseaux sanguins : les artères, les veines et les capillaires.

2-6-1 .Les artères :

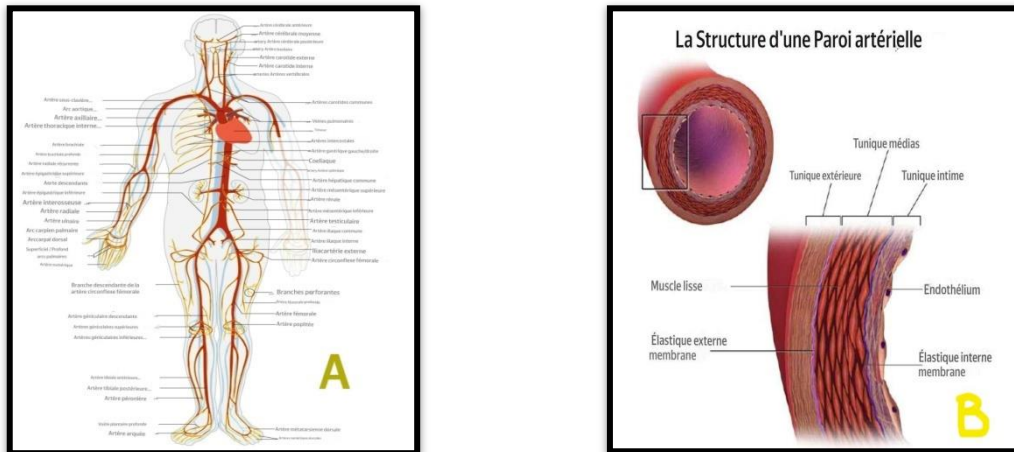


Figure 33 :A-Le trajet des artères dans le corps humain.B-La structure de la paroi artérielle (Aptekar,2025).

Les artères sont définies comme des vaisseaux sanguins qui transportent le sang du cœur vers les différents tissus et organes du corps. Le sang y circule sous une pression élevée générée par la contraction du muscle cardiaque, ce qui permet un écoulement efficace. En général, le sang artériel est riche en oxygène, à l'exception de l'artère pulmonaire, qui transporte le sang non oxygéné du ventricule droit vers les poumons, où s'effectue l'échange gazeux (élimination du dioxyde de carbone et absorption de l'oxygène). La paroi des artères est constituée de trois couches principales, chacune ayant une structure et une fonction spécifiques : La tunica intima (couche interne) : fine et lisse, elle est composée de cellules endothéliales spécialisées qui réduisent la friction du sang contre la paroi vasculaire, facilitant ainsi son écoulement. La tunica media (couche moyenne) : c'est la couche la plus épaisse, composée de fibres élastiques et de muscles lisses, permettant aux artères de se contracter et de se dilater pour réguler la pression et le débit sanguins. La tunica externa (ou adventitia, couche externe) : formée de tissu conjonctif, elle assure la protection et le soutien structural du vaisseau, tout en le reliant aux tissus environnants. L'aorte est la plus grande artère du corps humain. Elle émerge du ventricule gauche du cœur et distribue le sang oxygéné à l'ensemble de l'organisme. Elle se ramifie progressivement en artères plus petites, puis en artérioles, qui assurent la distribution du sang au niveau des capillaires. Dans ce contexte, on distingue également les artères coronaires, responsables de l'irrigation du muscle cardiaque lui-même. Ces vaisseaux parcourent la surface externe du cœur et n'interviennent pas dans le trajet du sang à l'intérieur des cavités cardiaques (Betts *et al.*, 2022).

2-6-2 Les veines :

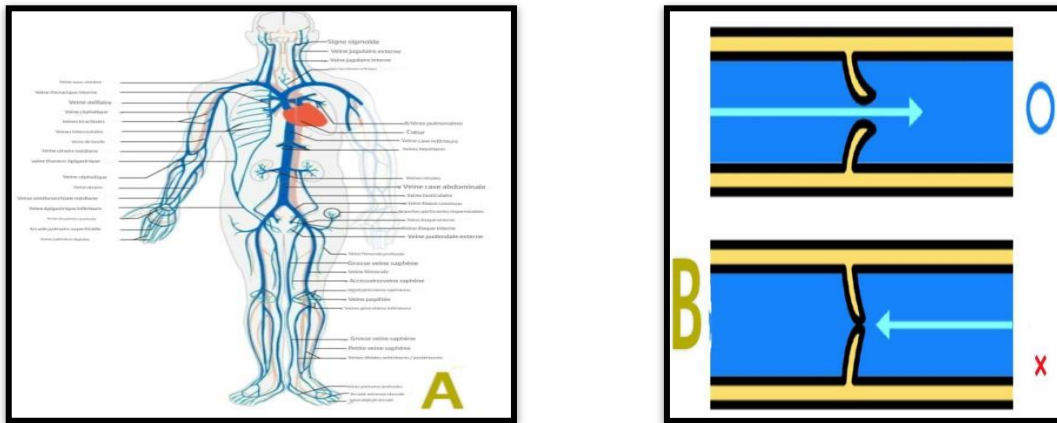


Figure34 :A-Le trajet des veines dans le corps humain.B-Les valvules veineuses(Aptekar,2025).

Les veines sont des vaisseaux sanguins qui ramènent le sang depuis les différents tissus de l'organisme vers le cœur. Contrairement aux artères, le flux sanguin veineux ne dépend pas directement de la pression des contractions cardiaques, mais résulte plutôt de la compression des muscles squelettiques lors de la marche ou de la respiration, ce qui engendre une pression relativement basse. Afin de garantir l'écoulement unidirectionnel du sang vers le cœur et d'empêcher son reflux, les veines sont munies de valvules unidirectionnelles. La paroi veineuse est constituée de trois couches similaires à celles des artères, mais qui diffèrent en termes d'épaisseur et de fonction : La tunica intima (couche interne) : fine et tapissée d'un endothélium, elle est généralement plus mince que celle des artères. La tunica media (couche moyenne) : moins épaisse que dans les artères, elle contient une quantité réduite de fibres musculaires lisses et élastiques, ce qui limite la capacité de contraction des veines. La tunica externa (ou adventitia, couche externe) : souvent la plus épaisse des trois, elle est composée de tissu conjonctif offrant un soutien structurel et une protection, et contient de petits vaisseaux sanguins ainsi que des nerfs. Dans la majorité des cas, les veines transportent du sang désoxygéné vers le cœur, comme la veine cave supérieure et la veine cave inférieure. Une exception notable est représentée par les veines pulmonaires, qui ramènent le sang oxygéné des poumons vers l'oreillette gauche. Les veines peuvent être classées en plusieurs types, parmi lesquels figurent les veines cardiaques et les veines coronaires. Les premières participent au drainage du sang provenant des organes et des muscles, tandis que les secondes assurent l'évacuation du sang désoxygéné de la paroi externe du cœur vers le sinus coronaire (sinus coronarius)(Aptekar,2025).

2-6-3 Les capillaires sanguins :

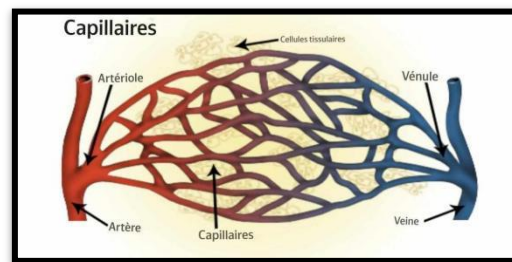


Figure 35 : La forme des capillaires sanguins(Aptekar,2025).

Les capillaires sanguins sont les plus petits vaisseaux du système cardiovasculaire. Ils sont si fins qu'un seul globule rouge peut y passer à la fois, et cela nécessite même que la cellule se déforme légèrement pour pouvoir traverser. Les capillaires relient les artérioles aux petites veines (les veinules), comme illustré dans l'image (). Les capillaires forment souvent un réseau ramifié de vaisseaux appelé lit capillaire, qui offre une grande surface permettant les échanges de substances entre le sang et les tissus environnants (Aptekar,2025).

3. Structure externe et stratifiée du cœur :

3.1 Le péricarde :

Le cœur est entouré d'une membrane à double couche appelée péricarde (Pericardium), composée du péricarde fibreux et du péricarde séreux(Gray,1918). Le péricarde fibreux représente la couche externe ; il est épais, résistant et formé de tissu conjonctif dense. Sa fonction principale est de protéger le cœur contre les chocs et de le maintenir en position dans la cavité thoracique afin d'éviter tout déplacement. Quant au péricarde séreux, il constitue la couche interne, plus fine et plus délicate, et se divise en deux parties : la couche pariétale, qui est adhérente au péricarde fibreux, et la couche viscérale, également appelée épicaarde (Epicardium), qui est directement attachée au cœur et constitue une partie de sa paroi. Entre ces deux couches se trouve la cavité péricardique, un espace rempli d'un liquide séreux agissant comme lubrifiant, ce qui permet de réduire les frottements entre les couches lors des mouvements du cœur, notamment durant la contraction (systole) et la relaxation (diastole)(Betts *et al.*,2022).

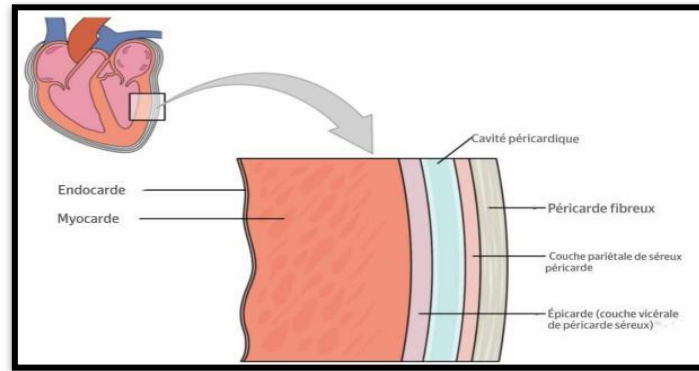


Figure36 : Les membranes péricardiques et les couches de la paroi du cœur (**Bettset al.,2022**).

3-2 Les couches de la paroi du cœur :

La paroi du cœur est constituée de trois couches d'épaisseurs inégales, disposées de l'extérieur vers l'intérieur : l'épicarde, le myocarde et l'endocarde. L'épicarde, également appelé péricarde viscéral, forme la couche externe de la paroi cardiaque et, en même temps, la couche interne du péricarde. Il joue un rôle protecteur et contient des vaisseaux sanguins ainsi que des fibres nerveuses qui irriguent la surface du cœur. Le myocarde, qui est la couche la plus épaisse, est composé principalement de cellules musculaires cardiaques responsables de la contraction du cœur. Il repose sur un réseau de fibres collagéniques, accompagné de vaisseaux sanguins et de fibres nerveuses qui régulent son activité. L'endocarde, la couche la plus interne, tapisse les cavités et les valvules du cœur. Il est constitué d'un épithélium pavimenteux simple soutenu par un tissu conjonctif fin, ce qui facilite l'écoulement du sang, réduit les frottements et prévient la formation de caillots. Le myocarde présente une structure musculaire complexe : ses cellules musculaires s'enroulent en spirale autour des cavités du cœur, formant un motif en forme de chiffre 8 autour des oreillettes et à la base des gros vaisseaux. Les fibres profondes des ventricules suivent le même motif et convergent vers l'apex du cœur, tandis que les couches superficielles entourent les deux ventricules. Cette disposition hélicoïdale complexe permet au cœur de pomper le sang plus efficacement qu'un agencement linéaire simple (**Betts et al.,2022**).

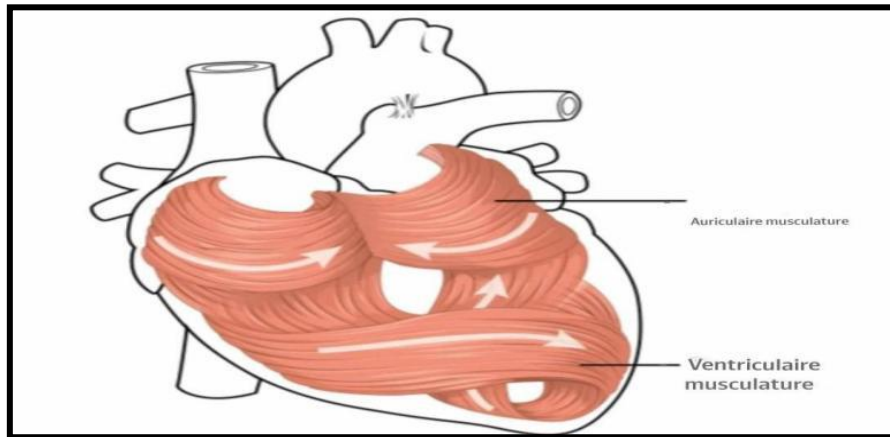


Figure 37: La musculature cardiaque(Betts *et al.*,2022).

3-3 Les cloisons cardiaques :

Les cloisons cardiaques sont des parois musculaires qui séparent les côtés droit et gauche du cœur, empêchant ainsi le mélange du sang oxygéné avec le sang pauvre en oxygène. On distingue principalement deux types de cloisons : le septum interauriculaire, qui est plus mince et composé d'un tissu musculaire relativement fin en raison de la faible pression sanguine dans les oreillettes. Ce septum présente des vestiges embryonnaires, tels que la fosse ovale (Fossa ovalis), résidu de l'ouverture fœtale qui liait les deux oreillettes pendant la vie intra-utérine. En revanche, le septum interventriculaire est beaucoup plus épais et robuste, constitué de muscle cardiaque puissant, car les ventricules, en particulier le ventricule gauche, doivent générer une force importante pour propulser le sang vers la circulation pulmonaire et systémique (Gray,1918).

4- Le cycle cardiaque :

Le cycle cardiaque correspond à l'intervalle de temps qui commence par la contraction des oreillettes et se termine par la relaxation des ventricules. Il comprend une série d'événements électriques et mécaniques coordonnés permettant une circulation efficace du sang à travers le cœur et vers le reste du corps. Il se divise en deux phases principales : la systole, durant laquelle les cavités cardiaques se contractent pour éjecter le sang, et la diastole, pendant laquelle elles se relâchent pour se remplir à nouveau (Betts *et al.*,2022). Au début du cycle, les oreillettes et les ventricules sont en diastole, permettant au sang de passer des veines vers les oreillettes puis vers les ventricules à travers les valvules atrioventriculaires ouvertes. L'onde P de l'électrocardiogramme (ECG) représente la dépolarisation auriculaire, déclenchant leur contraction et entraînant l'éjection d'un volume supplémentaire de sang vers

les ventricules, appelé « coup de pied auriculaire » (atrial kick). La systole ventriculaire suit, illustrée par le complexe QRS, débutant par une contraction isovolumétrique durant laquelle la pression intraventriculaire augmente sans ouverture des valves, suivie de la phase d'éjection, où le sang est propulsé vers l'artère pulmonaire (ventricule droit) et l'aorte (ventricule gauche) à travers les valvules sigmoïdes (pulmonaire et aortique), une fois que la pression ventriculaire dépasse celle des artères. Ensuite, la diastole ventriculaire commence, coïncidant avec l'onde T, par la fermeture des valvules sigmoïdes, suivie d'une phase de relaxation isovolumétrique, puis d'un remplissage passif lorsque les valvules atrioventriculaires s'ouvrent à nouveau, marquant le début d'un nouveau cycle. Cette coordination précise entre les événements électriques et mécaniques témoigne de la régulation fine de l'activité cardiaque à chaque battement (Aptekar,2025).

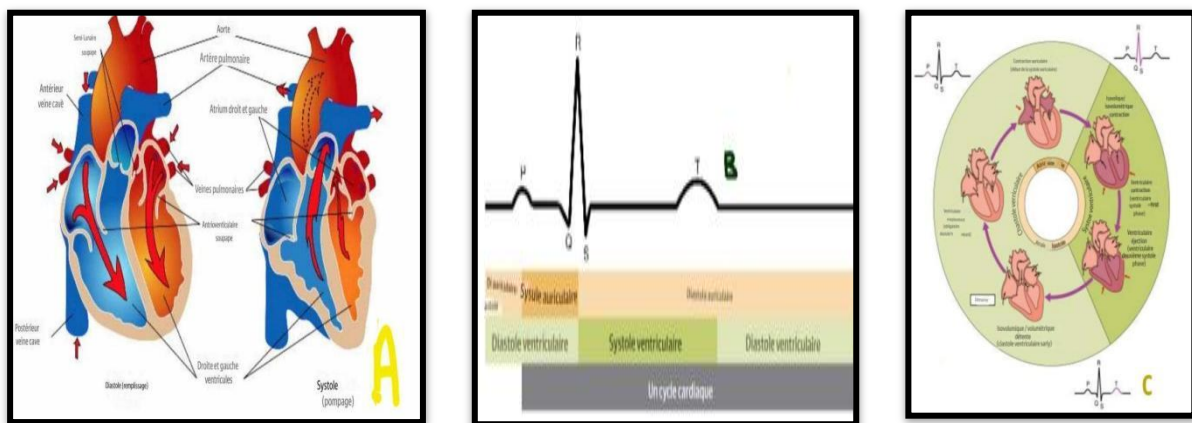


Figure 38:A-La circulation sanguine du cœur. B-Relation entre le cycle cardiaque et l'ECG. C- Suivi du cycle cardiaque à l'aide de l'ECG(Betts *et al.*,2022).

5-Le contrôle nerveux de l'activité cardiaque:

Le cœur est un organe musculaire capable de générer spontanément des impulsions, mais son activité est finement modulée par le système nerveux autonome, composé de deux branches: le système sympathique et le système parasympathique. La stimulation parasympathique provient du centre cardio-inhibiteur situé dans le cerveau, et les impulsions sont transmises par le nerf vague (nerf crânien X) vers le nœud sino-auriculaire (SA), le nœud auriculo-ventriculaire (AV), ainsi que vers certaines parties des oreillettes et des ventricules(Aptekar,2025). Ce système libère le neurotransmetteur acétylcholine (ACh), qui ouvre les canaux potassiques et ralentit la dépolarisation spontanée, prolongeant ainsi la repolarisation et réduisant la fréquence cardiaque. En l'absence de toute stimulation nerveuse, le nœud SA établirait un rythme sinusal d'environ 100 battements par minute. Le fait que les

fréquences cardiaques au repos soient nettement inférieures à cette valeur montre bien l'effet inhibiteur du parasympathique. Cela peut être comparé à un conducteur maintenant son pied sur la pédale de frein pour ralentir la voiture. Lorsque la stimulation parasympathique diminue, la libération d'ACh diminue également, ce qui permet à la fréquence cardiaque d'augmenter jusqu'à son niveau intrinsèque. Pour toute augmentation au-delà de ce seuil, une activation du système sympathique est nécessaire. Cette régulation nerveuse illustre parfaitement la coordination entre le cerveau et le cœur dans le maintien de l'équilibre physiologique du corps (Betts *et al.*,2022).

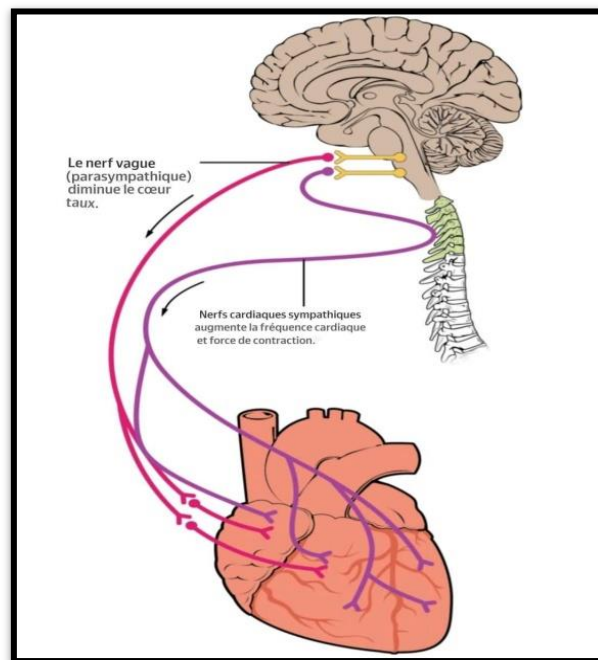


Figure 39 : contrôle nerveux de l'activité cardiaque(Betts *et al.*,2022).

6- Les maladies cardiovasculaires:

Les maladies cardiovasculaires représentent l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde, et se déclinent en plusieurs formes aux mécanismes physiopathologiques variés. La cardiopathie ischémique est l'une des plus fréquentes ; elle résulte du rétrécissement ou de l'obstruction des artères coronaires par accumulation de lipides, entraînant une ischémie myocardique, pouvant se manifester par une angine de poitrine ou un infarctus du myocarde (Libby *et al.*, 2019 ; Braunwald,2013). L'insuffisance cardiaque est une autre affection majeure, correspondant à l'incapacité du cœur à pomper efficacement le sang. Elle peut toucher le côté gauche ou droit du cœur, et être systolique ou diastolique (Ponikowski *et al.*,2016). Les troubles du rythme cardiaque sont également

fréquents, incluant la tachycardie, la bradycardie et les arythmies telles que la fibrillation auriculaire (**Zipes et Jalife, 2013**). Par ailleurs, les valvulopathies affectent le bon fonctionnement des valves cardiaques, causant un rétrécissement (sténose) ou une régurgitation (insuffisance valvulaire) (**Nishimura et al., 2014**). Les cardiomyopathies, qui altèrent la structure ou la fonction du muscle cardiaque, se présentent sous différentes formes : dilatée, hypertrophique ou restrictive (**Maron et al., 2006**). En outre, les inflammations cardiaques (ou cardites) regroupent des affections telles que la myocardite, la péricardite et l'endocardite, généralement d'origine infectieuse (**Kindermann et al., 2012**). Les cardiopathies congénitales, quant à elles, sont des malformations présentes dès la naissance, allant des communications interauriculaires ou interventriculaires à des anomalies complexes comme la tétralogie de Fallot (**Hoffman & Kaplan, 2002**). On distingue également la cardiopathie hypertensive, due à une pression artérielle élevée chronique, entraînant souvent une hypertrophie du ventricule gauche (**Drazner, 2011**). Les cardiopathies rhumatismales, résultant de complications d'un rhumatisme articulaire aigu, endommagent durablement les valves, surtout chez l'enfant (**Carapetis et al., 2005**). Enfin, certaines maladies cardiaques sont secondaires à d'autres pathologies systémiques telles que le diabète, les troubles thyroïdiens ou l'insuffisance rénale, soulignant ainsi la complexité multifactorielle des maladies cardiaques (**Kannel, 1998 ; Boudina & Abel, 2007**).

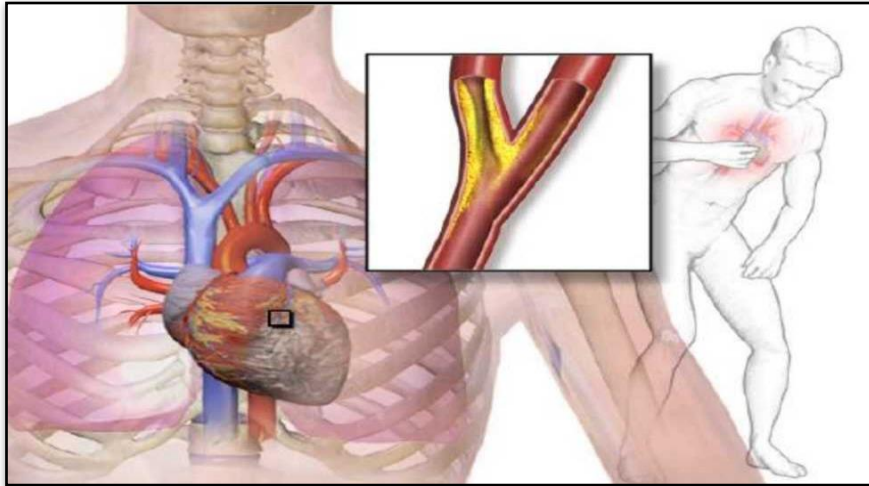


Figure 40: L'angine de poitrine est une douleur thoracique due à une réduction du flux sanguin dans les artères coronaires, ce qui empêche le muscle cardiaque de recevoir suffisamment d'oxygène (Aptekar, 2025).

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a été réalisée entre février et mai 2025 au niveau du laboratoire de toxicologie de l'université echahid Hamma lakhder d' Eloued .

Au cours de cette étude , nous sommes intéressés à évaluer l'effet thérapeute et protecteur d'extrait de Rosmarinus sur la pneumo toxicité et la cardio toxicité induite par le Nitrate de sodium.

2. Matériels

2.1. Matériels biologique

Il s'agit des souches de rats wistar albinos de sexe mâle, et dont le poids est de 250 à 300 g, ils ont presque le même âge /3mois/ ,ils ont été fourni de l'animalerie de docteur Guehef Ali , un médecin vétérinaire exerçant dans sa clinique privée dans la commune de Guemar sous son numéro d'agrément vétérinaire national :171094.

Les rats obtenus ont été répartis en six rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours dans l'animalerie de notre faculté , dont les conditions d'élevage sont les suivants :

Les cages utilisés sont spéciaux en polyéthylène tapissés de litière constituée par des copeaux du bois renouvelés chaque jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, équipés par des biberons d'eau et un accès libre à la nourriture, la température de l'animalerie voisine de 25°C, une photopériode naturelle de 12/12h.



Figure 41 : Les conditions d'élevage des rats (Photo personnelle).

2.2. Matériels végétal

Dans cette étude, on a utilisé des feuilles de *Salvia rosmarinus*, qui ont été collecté sur les hauteurs de la montagne de Bourommane, située dans la commune de Bekkarya, wilaya de Tébessa, au nord-est de l'Algérie.

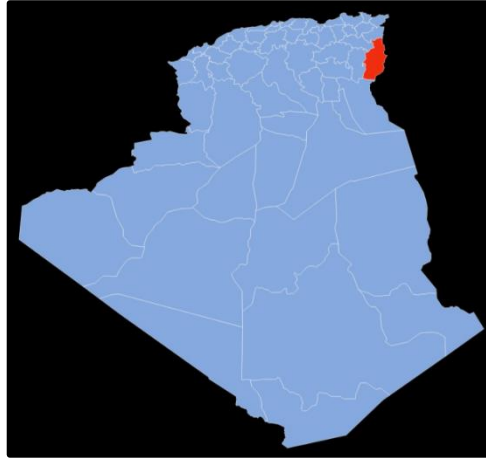


Figure 42 : La localisation de la wilaya de Tébessa (Wikipédia)

Après le transport du matériel végétal dans des sacs en tissu jusqu'à la wilaya d'El oued et identifié par Dr CHARRADA Nizar botaniste à l'université d'El oued, ont immédiatement été préparées pour le séchage et les analyses. Elles ont d'abord été soigneusement rincées à l'eau du robinet afin d'éliminer les impuretés superficielles, puis étalées en fines couches dans un espace bien aéré pendant deux semaines.

Une fois le séchage complet, les feuilles ont été broyées manuellement pour obtenir une poudre homogène, prête à être utilisée. Cette poudre végétale, appelée « drogue », a ensuite été conservée à l'abri de la lumière dans des flacons en verre ambré jusqu'aux expérimentations.



Figures 43/44 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l’expérimentation.)
Préparation du matériel végétal et conditionnement de la drogue dans un flacon en verre
ambré.

2.3. Appareillage et matériel chimiques :

2.3.1. Appareillage :

Étuve ; balance de précision ; spectrophotomètre ; des tubes a essais en verre et en plastique ; des portoirs ; des béchers ; des fioles ; agitateur magnétiques ; centrifugeuse ; bain marie ; réfrigérateur ; des bains de glace, congélateur, ph mètre, thermomètre, pipette, automate histologique , appareil d’inclusion , microtome , bac de coloration , microscope , lame bistouris , lames porte –objet et lamelles couvre- objet , boite à instruments de dissection (pinces , ciseau , aiguilles,...), canule ou sonde de gavage , flacons ambrés , les gants .

2.3.2. Matériel chimique :

Tableau 04 : Produits chimiques utilisés dans les expérimentations (données personnelles).

Substances chimiques utilisées :	Formules chimiques :
Acide ascorbique	$C_6H_8O_6$
Chlorure ferrique	$FeCl_3$
Acide chlorhydrique	HCl 1%
Acide acétique	CH_3COOH
Acide sulfuriqu e	H_2SO_4
Chloroforme	$CHCl_3$
Tris-HCl (Tampon tris hydrochloride)	Tris-HCl
Albumine sérique bovine (BSA)	—
Chlorure ferrique (solution à 0,1%)	$FeCl_3$ 0,1%
Tampon phosphate (pH 6,6)	—
Ferricyanure de potassium (1%)	$K_3[Fe(CN)_6]$ 1%
TSA (Tryptic Soy Agar) 10%	—
Carbonate de sodium	Na_2CO_3
Acide gallique	$C_7H_6O_5$
DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)	—

Méthanol	CH ₃ OH
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Tampon phosphate (pH 6,0 ; 0,1 mol/L)	—
CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzène)	C ₆ H ₃ Cl(NO ₂) ₂
GSH (Glutathion réduit)	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S
Éthanol	C ₂ H ₅ OH
Tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,1 mol/L)	—
Acide phosphorique	H ₃ PO ₄
Chlorure de sodium	NaCl
Acide trichloroacétique (TCA)	CCl ₃ COOH
Acide thiobarbiturique (TBA)	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ S
BHT (Butylhydroxytoluène)	C ₁₅ H ₂₄ O
Acide salicylique (solution à 25%)	C ₇ H ₆ O ₃ (25%)
EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique)	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈
DTNB (Ellman's reagent)	C ₁₄ H ₈ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂ (0,01mol/L)
Eau distillée	H ₂ O
Réactif de Folin-Ciocalteu	— (mélange complexe)
PBA . (phosphate buffered saline)	—
Formaldehyde	CH ₂ O
Trichloromethane	CHCl ₃
Serum physiologique	Na Cl 0.9%
Diclofinac	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NNaO ₂
Nitrate de sodium	NaNO ₃

3. METHODES :

3.1. Méthode in-vitro :

3.1.1 Méthode d'extraction du romarin par décoction suivie d'un séchage à l'étuve pour l'obtention d'un extrait sec.

3.1.1.1. Principe général :

L'extraction par décoction consiste à faire bouillir le matériel végétal dans l'eau afin d'extraire les composés hydrosolubles tels que les polyphénols, flavonoïdes et antioxydants

naturels. Cette méthode est simple, économique et particulièrement adaptée aux plantes médicinales comme *Salvia rosmarinus*. [Bouterfas *et al.*, 2010 ; Nieto *et al.*, 2013].

3.1.1.2. Protocole expérimental :

A. Préparation de la décoction :

Matériel végétal : Feuilles séchées de *Salvia rosmarinus*.

Quantité : 50 g de feuilles finement broyées.

Solvant : 500 mL d'eau distillée.

Étapes :

1. Introduire les feuilles dans l'eau froide dans un bécher en verre.
2. Porter à ébullition et maintenir l'ébullition pendant 20 à 30 minutes.
3. Laisser refroidir à température ambiante.
4. Filtrer à l'aide d'un papier filtre (Whatman n°1) ou d'une gaze stérile pour éliminer les résidus végétaux. [Nieto *et al.*, 2013]



Figure 45/46 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)
Étapes de préparation de l'extrait végétal par décoction.

B. Concentration et séchage du filtrat :

Concentration préalable (optionnelle) :

Le filtrat peut être légèrement concentré dans un bain-marie à 50 °C afin de réduire le volume sans altérer les composés actifs. [Souza *et al.*, 2007]

Séchage final à l'étuve :

1. Verser le filtrat (ou le concentré) dans des coupelles en verre ou en aluminium.
2. Placer les coupelles dans une étuve ventilée réglée à 45–50 °C.
3. Laisser sécher jusqu'à évaporation complète de l'eau (24–48 heures en moyenne).
4. Récupérer la matière sèche obtenue (extrait brut sec), la broyer si nécessaire et la conserver dans un flacon opaque et hermétique à l'abri de la lumière et de l'humidité. [Souza *et al.*, 2007]



Figures 47/48 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)
Étapes de concentration préalable, séchage et broyage du matériel végétal.

3.1.1.3. Objectif de la méthode :

L'objectif est d'obtenir un extrait aqueux sec standardisé, stable et facile à manipuler pour des applications biologiques, pharmacologiques ou toxicologiques, notamment dans les études évaluant l'effet protecteur ou curatif contre la toxicité induite par le nitrate de sodium. [Zeggwagh *et al.*, 2007]

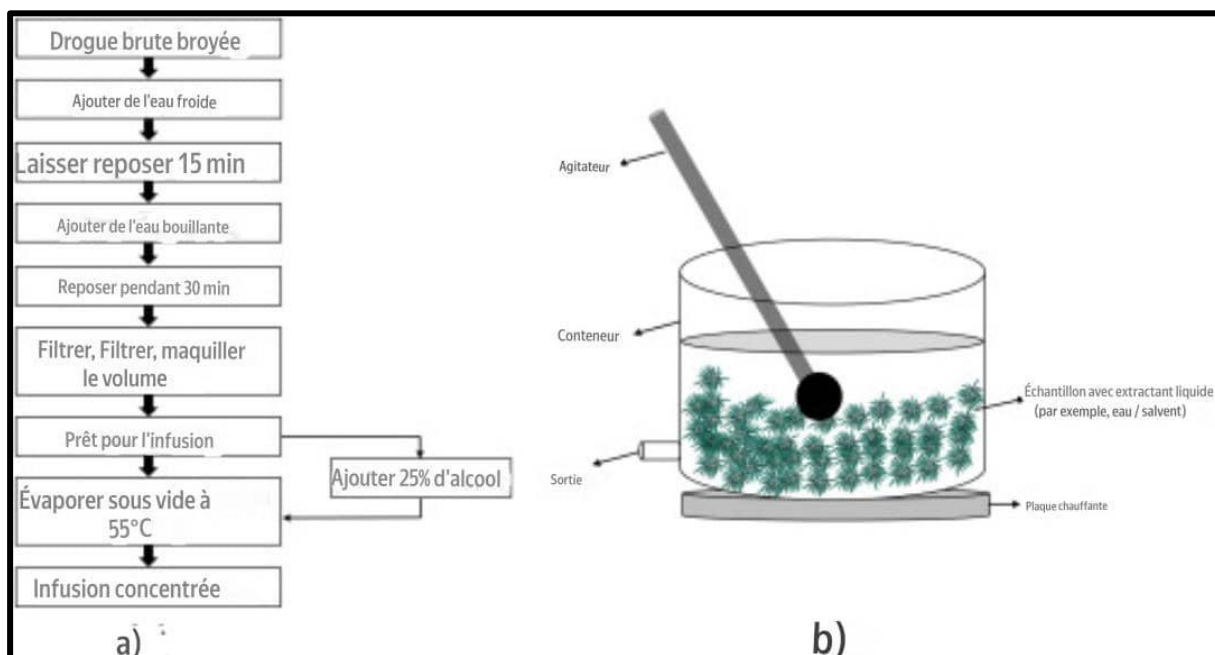


Figure 49 : (A) et (B) Organigramme et schéma pour la préparation des infusions en utilisant la décoction (Miralrio & Vázquez, 2020).

3.1.1.4. Le rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction a ensuite été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{masse d'extrait sec} / \text{masse de plante sèche initiale}) \times 100$$

Ce paramètre permet d'évaluer l'efficacité du procédé d'extraction dans des conditions données, et peut servir à comparer différents protocoles ou solvants. Plusieurs facteurs peuvent influencer ce rendement, notamment la température, la durée de décoction, la granulométrie de la plante, ainsi que la nature du solvant utilisé (Stalikas, 2007).

Les données rapportées dans ce travail sont issues de nos expérimentations personnelles, réalisées dans des conditions contrôlées de laboratoire .

3.1.2. Les analyses photochimiques de la plante :

Tests biochimiques préliminaires

- Recherche des Saponosides

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions

déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec et broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 mn. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. Dans une série de 10 tubes à essai, répartir 1 ml de l'extrait dans le tube n° 1, 2 ml dans le tube n° 2, ..., 10 ml dans le tube n° 10.

Le volume final dans chaque tube étant de nouveau réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. (Dahou *et al.*,2023).

Les tubes sont agités fortement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le X^e tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm) dans le } x^{\text{e}} \text{ tube} \times 5}{0.0x}$$

I : Indice de mousse

La présence des saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dahou *et al.*, 2003)

* Recherche des tanins

- on prend 5 ml de l'infusé, aux quelle on ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl₃) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiqes, bleu noirâtre, tanins galliques.

- A 30 ml de l'infusé, on ajoute 15ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl concentré 3-1 v/v). Après chauffage de 30 mn au bain marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tanins catéchiqes. (Harborne , 1998).

*Recherche des anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH :

On ajoute quelques gouttes d'HCl, puis quelques gouttes d'Ammoniac (NH₄OH). Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.(Mabry *et al.* ;1970).

*** Recherche des leuco anthocyanes**

Un volume de 5 ml de l'infusé est mélangé à 4 ml d'alcool chlorhydrique (Ethanol/ HCl pur 3/1 v/v). Après chauffage au bain marie à 50°C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leuco anthocyanes (Solfo, 1973).

*** Recherche des flavonoides :**

La recherche des flavonoides débute par une macération de 10g de drogue pulvérisée dans 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl 1 %) pendant 24h.

Après filtration, on récupère 10 ml du filtrat auquel on ajoute une solution basique de (NH₄OH), si après 3h, il y a apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube, ceci indique la présence de flavonoides (Markham, 1982).

*** Recherche des alcaloïdes :**

Après macération de 5g de feuilles séchées et broyées dans 50 ml d'HCl à 1 %, on filtre la solution obtenue et on lui ajoute quelques gouttes de réactif de Mayer qui provoque un précipité blanc indiquant la présence des alcaloïdes (Bouquet, 1972).

*** Recherche des Terpènes et des Stérols**

5 g de la poudre sont macérés dans 20 ml d'éther de pétrole, Après filtration, la phase organique est évaporée dans un bain de sable à une 0°C de 90°C. Le résidu est dissout dans 0.5 ml d'acide acétique (CH₃COOH) en ajoutant 1 ml d'Acide Sulfurique (H₂SO₄) concentré, dans la zone de contact entre les deux liquides.

S'il y a apparition d'un cercle violé ou marron devenant gris par la suite, ceci indique la présence des terpènes et stérols.(Trease & Evans , 1989).

*** Recherche des Cardinolides :**

On réalisé le macération de la drogue pulvérisée (1g) dans de l'eau distillée (20 ml), pendant 3h, après filtration du macérat, on prélève 10 ml auxquels on ajoute 10 ml du mélange de la solution (Chloroforme (CHCl₃), Ethanol (C₂H₅OH)).

L'évaporation de la phase organique dans un bain de sable à une 0°C de 90°C. le précipité est ensuite dissout dans 3 ml de l'acide acétique glacial (CH₃COOH), enfin, on

ajoute quelques gouttes de Chlorure Ferrique (Fe Cl₃) puis 1 ml d'H₂SO₄ concentré sur les parois de tube.

L'apparition d'une couleur verte bleue dans la phase acide indique la présence des Cardinolides. (Sofowora 1993)

3.1.3. Dosage des polyphénols totaux :

Principe :

Les composées phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PW₀₁₂O₄₀) qui se réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). Cette réaction développe une coloration bleu qui est proportionnelle au taux des composées phénoliques qui peut être dosée par spectrophotométrie UV – VIS de type .[Singleton & Rossi, 1965; Ainsworth & Gillespie, 2007]

Mode opératoire :

À 1 ml de chaque extrait sont ajoutés 1 ml de Folin – Cicalteau's, après 5 min de repos, 10 ml de carbonate de sodium (7 %) est additionné, et finalement 25 ml d'eau distillée sont ajoutée.

Après 1 heure de la réaction, à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 750 nm. La teneur en composés phénoliques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (EAG) par 100 g d'échantillon.[Waterhouse, 2002; Prior *et al.*, 2005]

Préparation de la gamme d'étalonnage :

- On pèse 200 mg d'acide gallique.
- Les dissoudre dans 100 ml d'éthanol, soit une solution (S1) avec une concentration de 2 mg/ml.
- Diluer la solution mère comme suit :

-Prélever 5 ml de la solution mère puis ajouter 5 ml d'eau distille et l'on obtient la dilution S/2.

-Prélever 5 ml de la solution S/2 puis rajouter 5 ml d'eau distille et l'on obtient la dilution S/4.

-Refaire la même procédure pour les autres dilutions. (Velioglu *et al.*, 1998).

Tableau 05 : Dilutions des concentrations préparées pour l'élaboration de la gamme d'étalonnage. (Velioglu *et al.*, 1998).

Dilution	S	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32	S/64
Concentration (mg/ml)	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06	0.03

3.1.4. Les activités biologiques in vitro

- **L'activité anti-oxydante** (anti-radicalaire)

Principe :

Du point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH groupes (Salah *et al.*, 1995). Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong *et al.*, 2006 ; Hatzidimitriou *et al.*, 2007).

L'activité antiradicalaire des différents extraits à tester a été déterminée selon la méthode de Sanchez-Moreno (2002) qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde λ de 517 nm. La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (extrait brut méthanolique, extrait flavonoïdique, extrait tannique) va être réduit et virer vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance. La réaction de DPPH est représentée dans la figure suivante : (Juin 2022 Ghassan M. Sonji, Mohammed Ahmad Assi, Nada M Sonji[...], Mohammed Rahal)

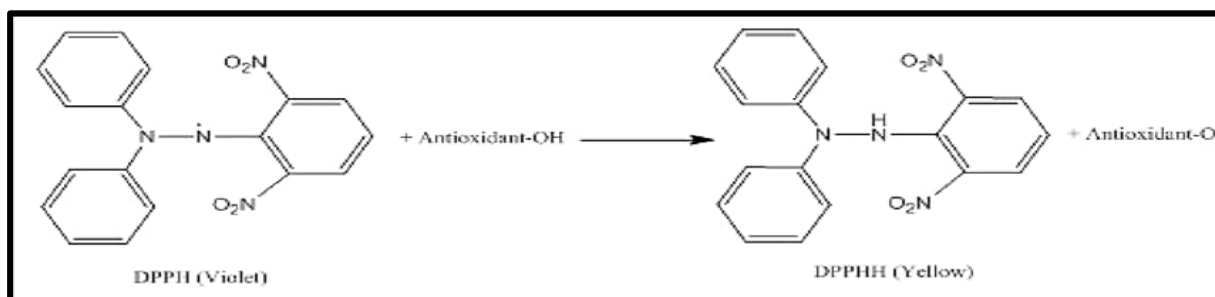


Figure 50 : Réaction de réduction du radical DPPH· par les antioxydants : un indicateur spectrophotométrique de l'activité antioxydante (Blois, 1958).

Mode opératoire :

La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 25 µl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 975 µl de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence ou acide ascorbique sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif.

Le témoin négatif est constitué uniquement de DPPH et du méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm.

Pourcentage de l'activité antiradicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ de l'activité antiradicalaire} = [(A1 - A2) / A1] * 100$$

A1 : Absorbance du témoin négatif sans extrait

A2 : Absorbance en présence de l'extrait.

- **Évaluation de l'activité antioxydante des extraits :**

. Pouvoir réducteur du fer :

Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power):

Le test FRAP repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) contenu dans le complexe ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction se manifeste par un changement de couleur, passant du jaune pâle (Fe^{3+}) à un bleu-vert intense (Fe^{2+}), dont l'intensité est proportionnelle à la capacité réductrice de l'échantillon. L'absorbance de cette coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur

d'onde de 700 nm, ce qui permet d'évaluer indirectement le potentiel antioxydant de l'extrait testé.[Yildirim *et al.*, 2001]

Le mécanisme réactionnel impliqué dans ce test est illustré par la réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine [Fe(III)-TPTZ] en complexe ferreux [Fe(II)-TPTZ], en présence d'un donneur d'hydrogène tel qu'un antioxydant (AH). Ce changement d'état d'oxydation est accompagné d'une variation spectrale mesurable, traduisant le degré d'activité réductrice de l'extrait.[Yildirim *et al.*, 2001]

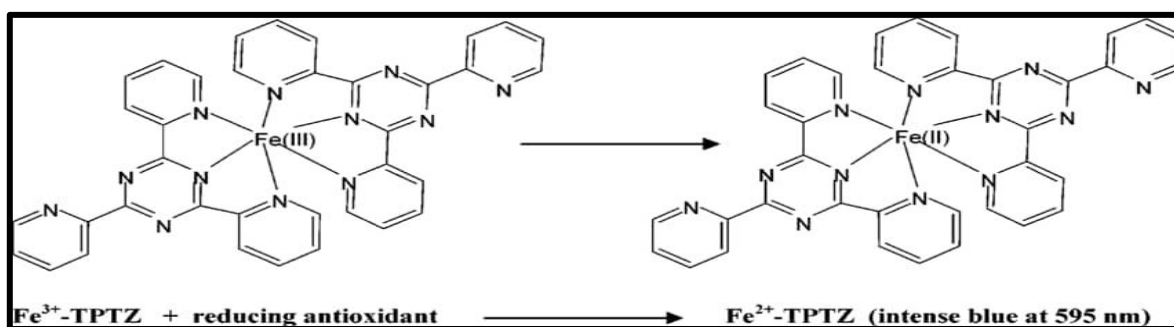


Figure 51 : Réduction du complexe Fe³⁺-TPTZ par des antioxydants : Formation du complexe Fe²⁺-TPTZ et développement d'une coloration bleue intense à 595 nm (Prior *et al.*, 2005)

Pour la mise en œuvre expérimentale du test FRAP, nous avons suivi le protocole décrit par Yildirim et collaborateurs (2001). Ce protocole consiste à mélanger 0,5 ml d'extrait (brut méthanolique, flavonoïdique ou tannique) avec 1,25 ml d'un tampon phosphate 0,2 M (pH = 6,6) et 1,25 ml d'une solution de K₃Fe(CN)₆ à 1 %. Après incubation à 50 °C pendant 20 minutes, les échantillons sont refroidis, puis 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10 % sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Ensuite, 1,25 ml du surnageant est combiné avec 1,25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de FeCl₃·6H₂O à 0,1 %.

L'absorbance est mesurée à 700 nm. Des contrôles positifs contenant de l'acide ascorbique sont utilisés comme référence.[Yildirim *et al.*, 2001].

• **Test de l'hémolyse des globules rouges :**

L'objectif de ce test est d'évaluer la capacité protectrice de l'extrait végétal *Anabasis articulata* contre les substances oxydantes et les radicaux libres responsables de la lyse des

globules rouges, en déterminant le pourcentage d'hémolyse. La méthode adoptée est celle décrite par Abirami *et al.* (2014).

Un volume de sang de rat est prélevé puis dilué dans un volume équivalent de solution saline tamponnée (NaCl 0,9 %). Les globules rouges sont ensuite isolés par centrifugation à 3000 tours/min pendant 15 minutes.

Le culot obtenu est lavé trois fois avec une solution saline isotonique et resuspendu dans un volume adapté.

Pour chaque test, 2 mL de suspension de globules rouges sont incubés avec différentes concentrations de l'extrait d'*Anabasis articulata* pendant 5 minutes à 37°C. (Abirami et collaborateurs, 2014)

Ensuite, on ajoute à chaque échantillon 40 µL de solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂, 30 mM), 40 µL de chlorure ferrique (FeCl₃, 80 mM) et 40 µL d'acide ascorbique (50 mM). Le mélange est incubé pendant une heure à 37°C. (Abirami *et al.*, 2014)

Après incubation, les échantillons sont centrifugés à 700 tours/min pendant 10 minutes. L'absorbance des surnageants est mesurée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre pour évaluer l'intensité de l'hémolyse. (Abirami et collaborateurs, 2014)

Le pourcentage d'hémolyse est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Hémolyse \%} = \frac{\text{Abs contrôle}}{\text{Abs échantillon}} \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance de l'échantillon sans extrait.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon contenant l'extrait végétal.

• évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

Test de la dénaturation thermique des protéines

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro a été réalisée à l'aide du test de dénaturation thermique des protéines, selon la méthode décrite par Karthik *et al.* (2013).

Ce test repose sur la capacité des extraits à inhiber la dénaturation des protéines soumises à une température élevée (72 °C), un phénomène impliqué dans les mécanismes

inflammatoires chroniques, tels que la production de médiateurs pro-inflammatoires (Karthik *et al.*, 2013).

Préparation des solutions

1. Tampon Tris-HCl 0,05 M, pH = 6,8

Le tampon a été préparé en dissolvant une quantité appropriée de Tris dans 200 mL d'eau distillée, puis le pH a été ajusté à 6,8 à l'aide d'HCl concentré. Ce tampon assure un environnement stable pour le maintien de la structure protéique.

2. Préparation des blancs

Deux types de blancs ont été utilisés :

*Blanc a : 1 mL d'extrait végétal dans le tampon Tris-HCl, sans BSA (permet de corriger l'absorbance spécifique des extraits).

*Blanc b : 1 mL de BSA à 0,2 % dans le tampon Tris-HCl, sans extrait (sert de contrôle négatif, représentant la dénaturation naturelle sans inhibition).

3. Préparation de la solution de BSA (0,2 %)

Dissolution de 0,2 g de BSA dans 100 mL de tampon Tris-HCl (pH 6,8). La BSA (Albumine Sérique Bovine) est souvent utilisée comme modèle de protéine sensible à la chaleur dans les essais *in vitro*.

4. Préparation des extraits végétaux

Les extraits ont été préparés à une concentration de 10 mg/mL, dissous dans le solvant approprié (aqueux ou hydroalcoolique), selon le protocole d'extraction établi.

5. Préparation du standard : Diclofénac sodique

Une solution standard de diclofénac sodique a été préparée à une concentration de 0,5 mg/mL. Ce composé est largement reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires et utilisé comme contrôle positif dans ce type de test.

Protocole expérimental

Dans un tube à essai, 1 mL de chaque concentration d'extrait végétal est mélangé à 1 mL de BSA (0,2 %). Le mélange est incubé à 72 °C pendant 15 minutes, ce qui induit une dénaturation thermique des protéines. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé selon la formule:

$$\text{Hémolyse \% } 1 - = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs blanc extrait}}{\text{Abs BSA} - \text{Abs blanc BSA}} \times 100$$

Un pourcentage élevé d'inhibition reflète une meilleure capacité anti-inflammatoire de l'extrait testé.

• Analyse des paramètres de la coagulation sanguine : TP et TCK

Dans le cadre de cette étude, des analyses hématologiques ont été réalisées afin d'évaluer l'effet potentiel de l'extrait de *Salvia rosmarinus* sur les paramètres de la coagulation sanguine. Plus précisément, les temps de prothrombine (TP) et de céphaline kaolin (TCK) ont été mesurés selon des méthodes standardisées couramment utilisées en hémostase (Tavares *et al.*, 2010; Owumi *et al.*, 2020).

L'analyse du TP permet d'apprécier l'intégrité de la voie extrinsèque et commune de la coagulation, tandis que le TCK explore la voie intrinsèque. Ces deux paramètres sont essentiels pour détecter d'éventuels effets anticoagulants ou procoagulants induits par des substances naturelles. Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un coagulomètre semi-automatique, après incubation du plasma riche en plaquettes avec les réactifs spécifiques correspondants (Doualla-Bell *et al.*, 2013).

L'évaluation de ces temps de coagulation vise à détecter toute interférence de l'extrait végétal avec les facteurs plasmatiques de la coagulation, en particulier les facteurs II, V, VII, VIII, IX, X, XI et XII, dans le but de mieux comprendre ses propriétés biologiques et thérapeutiques potentielles (Omeregie & Pal, 2016).

Méthodes de protocole des Analyses des paramètres de la coagulation sanguine : TP et TCK

1. Méthodes de Dosage du Temps de Prothrombine (TP)

Principe :

Le temps de prothrombine (TP) est un test hémostatique fondé sur l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation. Il évalue la capacité du plasma à former un caillot après l'ajout de thromboplastine tissulaire (facteur III) et de calcium, ce qui permet d'explorer les facteurs de coagulation II, V, VII et X ainsi que la fibrinogénémie (Doualla-Bell *et al.*, 2013 ; Owumi *et al.*, 2020).

Protocole expérimental :

Un échantillon de sang total a été prélevé sur un tube contenant du citrate de sodium à 3,2 % (rapport 1:9) pour prévenir la coagulation. Après centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 minutes, le plasma pauvre en plaquettes a été séparé. Dans un tube de réaction, 100 µL de plasma ont été incubés à 37 °C pendant 2 minutes, puis 200 µL de thromboplastine préchauffée contenant du calcium ont été ajoutés. Le temps écoulé jusqu'à la formation du caillot a été mesuré à l'aide d'un coagulomètre semi-automatique (Tavares *et al.*, 2010).

2.1. Dosage du Temps de Céphaline Kaolin (TCK)

Principe :

Le TCK, ou temps de céphaline activé avec du kaolin, est un test d'évaluation de la voie intrinsèque de la coagulation. Il repose sur l'activation de la coagulation par un agent de contact (le kaolin) en présence de céphaline (source de phospholipides) et de calcium. Il permet d'analyser l'intégrité des facteurs VIII, IX, XI et XII, ainsi que des voies communes (Omoregie & Pal, 2016).

Protocole expérimental :

Comme pour le TP, le sang a été prélevé dans un tube contenant du citrate de sodium. Après centrifugation, le plasma a été récupéré.

Dans un premier temps, 100 µL de plasma ont été incubés avec 100 µL de réactif céphaline-kaolin à 37 °C pendant 3 minutes. Ensuite, 100 µL de solution de chlorure de

calcium (CaCl_2 0,025 M) préchauffée ont été ajoutés, et le temps de formation du caillot a été immédiatement mesuré à l'aide du coagulomètre (Doualla-Bell *et al.*, 2013 ; Owumi *et al.*, 2020).

3.2. Méthode in-vivo :

3.2.1. Protocole de traitement expérimental des rats

Un total de 30 rats mâles adultes a été réparti aléatoirement en six groupes expérimentaux (n = 6 par groupe), comme suit :

***Groupe 1 (Témoin sain):** Rats non traités, servant de groupe contrôle négatif [Bouzenna *et al.*, 2017].

***Groupe 2 (NaNO_3):** Rats traités par nitrate de sodium (NaNO_3) administré par voie orale à une dose de 150 mg/kg/jour pendant 24 jours, afin d'induire un stress oxydatif systémique [Di Stasi *et al.*, 2004 ; Hassan *et al.*, 2012].

***Groupe 3 (NaNO_3 + Extrait):** Rats ayant reçu une co-administration par voie orale de NaNO_3 (150 mg/kg/jour) et de l'extrait végétal étudié (100 mg/kg/jour) pendant 24 jours, en vue d'évaluer l'effet préventif de l'extrait contre la toxicité induite par les nitrates [Bouaziz *et al.*, 2018].

***Groupe 4 (NaNO_3 + Vitamine C):** Rats ayant reçu par voie orale une association de NaNO_3 (150 mg/kg/jour) et de vitamine C (acide ascorbique, 75 mg/kg/jour) pendant 24 jours, ce qui permet de comparer l'efficacité antioxydante de la vitamine C comme référence [Sánchez-González *et al.*, 2005].

***Groupe 5 (Extrait seul):** Ce groupe a reçu exclusivement l'extrait végétal étudié à une dose de 100 mg/kg/jour par voie orale pendant 24 jours, sans administration concomitante de nitrate de sodium. Ce protocole vise à évaluer l'effet potentiel bénéfique, neutre ou toxique de l'extrait administré seul, ainsi que son profil d'innocuité in vivo [Bouaziz *et al.*, 2018 ; OECD, 2008].

***Groupe 6 (Traitement curatif par extrait végétal):** Deux rats issus du groupe 2, ayant été préalablement exposés au nitrate de sodium (150 mg/kg/jour) pendant 24 jours, ont été affectés à ce groupe en vue d'évaluer l'effet curatif d'un extrait de *Salvia rosmarinus*

administré à la dose de 100 mg/kg/jour pendant 21 jours [Bouaziz *et al.*, 2018]. Les animaux ont été maintenus dans les mêmes conditions expérimentales que les autres groupes.

***Groupe 7 (Traitement curatif par vitamine C) :** Deux autres rats provenant également du groupe 2 ayant subi la même exposition au NaNO₃ (150 mg/kg/jour, 24 jours) ont été affectés à ce groupe pour recevoir un traitement à base de vitamine C, administrée par voie orale à la dose de 75 mg/kg/jour durant 21 jours [Sánchez-González *et al.*, 2005]. Le protocole d'élevage et de suivi a été identique à celui des autres groupes

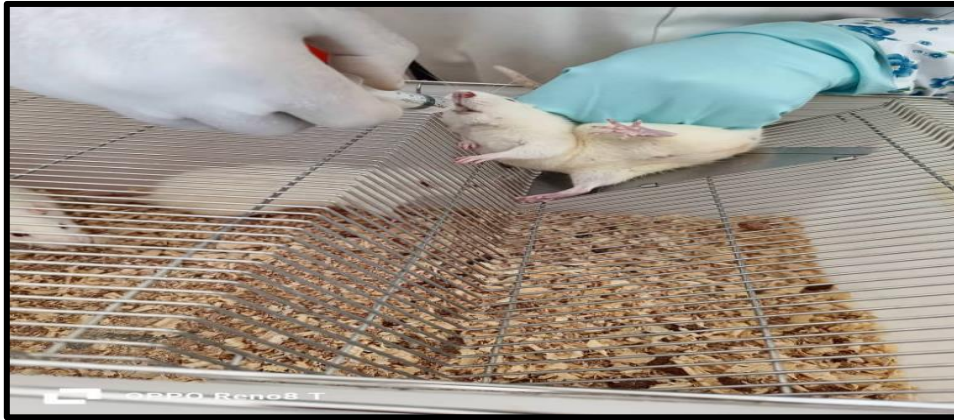


Figure 52 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Illustration représentant l'administration thérapeutique chez les rats par voie orale à l'aide d'une canule gastrique (gavage),

Parallèlement à l'administration des traitements, le poids corporel des rats ainsi que la consommation alimentaire et hydrique ont été rigoureusement surveillés de manière périodique tout au long de la période expérimentale. Ces paramètres ont été enregistrés afin d'évaluer l'état général des animaux et de détecter d'éventuelles variations physiopathologiques induites par les substances administrées. (OECD, 2008 ; Turner *et al.*, 2011)

3.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

À la fin de la période expérimentale (soit 24 jours pour les groupes 1 à 5, et 21 jours supplémentaires pour les groupes 6 et 7), les rats ont été sacrifiés par décapitation, conformément aux recommandations éthiques pour les expérimentations animales [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition, NRC, 2011].

Les organes suivants ont été soigneusement prélevés pour analyses ultérieures : poumons, cœur, reins et foie.



Figure 53 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.)

Méthode de sacrifice des rats par décapitation, réalisée conformément aux normes éthiques en vigueur.

Après l'euthanasie des rats par décapitation, un prélèvement sanguin a été réalisé individuellement chez chaque animal pour des examens biochimiques ultérieurs. (Diehl *et al.*, 2001 ; OECD, 2008).

Les analyses hématologiques et sériques :

Dans le cadre de cette étude expérimentale, des échantillons sanguins ont été prélevés chez les rats immédiatement après le sacrifice, afin d'évaluer certains paramètres biochimiques indicateurs de l'état physiopathologique des animaux. Le sang a été recueilli dans des tubes adaptés contenant un anticoagulant (EDTA ou héparine selon les analyses visées), puis transporté rapidement et dans des conditions adéquates de température (4 °C) vers les laboratoires spécialisés pour effectuer les analyses biochimiques. Ces conditions de collecte et de conservation visent à préserver l'intégrité des constituants sanguins et à garantir la fiabilité des résultats analytiques obtenus (Benmehdi *et al.*, 2021 ; Derouiche *et al.*, 2018).

3.2.3. Analyses biochimiques

• Analyses biochimiques sériques

Les analyses biochimiques ont été réalisées sur le sérum afin d'évaluer les fonctions métaboliques, rénales et hépatiques.

Les paramètres mesurés incluent :

*Glycémie (GLY) : taux de glucose sanguin.

*Urée (UREA) et créatinine (CREA) : indicateurs de la fonction rénale.

*Acide urique (AU) : marqueur du métabolisme des purines.

*Cholestérol total (CTH), triglycérides (TRI), HDL et LDL : indicateurs du profil lipidique.

*Transaminases (TGO/AST, TGP/ALT) et phosphatase alcaline (PAL) : enzymes hépatiques indicatrices d'éventuelles cytolyses ou cholestases.

*Lactate déshydrogénase (LDH ou λ -LDH) : enzyme non spécifique reflétant les dommages cellulaires.

* les analyses des Électrolytes (Na^+ , K^+ , Cl^-) : essentiels à l'équilibre hydro-électrolytique et à la fonction cellulaire (Kaneko *et al.*, 2008 ; Tietz, 2006).

Méthodes de Dosages biochimiques sur sérum:

Principe :

Les dosages sériques mesurent des marqueurs métaboliques, hépatiques et rénaux dans le sérum, par le biais de réactions colorimétriques ou enzymatiques spécifiques. Chacun de ces dosages repose sur un substrat qui, en présence de l'enzyme cible, provoque une réaction mesurable par spectrophotométrie .

Méthode expérimentale :

1. Préparation du sérum : Les tubes de sang coagulé ont été centrifugés à $3\,000 \times g$ pendant 10 minutes, recueillant le surnageant clair.

2. Dosages réalisés : Glycémie, urée, créatinine, acide urique, cholestérol total, triglycérides, HDL, LDL, transaminases (AST/TGO, ALT/TGP), phosphatase alcaline, lactate déshydrogénase (LDH), ainsi que les électrolytes (Na^+ , K^+ , Cl^-).

3. Protocoles standards : Chaque dosage s'est appuyé sur un kit commercial validé, suivant les instructions du fabricant, et effectué en double exemplaire.

4. Lecture spectrophotométrique : Les absorbances ont été enregistrées aux longueurs d'onde spécifiées, avec étalonnage sur courbe standard.

5. Expression des résultats : Résultats exprimés en unité standard (mg/dL ou U/L) [Kaneko *et al.*, 2008].

- Analyses hématologiques : Les paramètres hématologiques ont été déterminés à l'aide d'un analyseur automatique à partir du sang total recueilli avec EDTA. Ces paramètres comprennent :
 - *Globules blancs (GB) : cellules de la défense immunitaire.
 - *Globules rouges (GR), hémoglobine (HGB), hématocrite (HCT) : paramètres liés à l'oxygénation des tissus.
 - *Plaquettes (PLT) : impliquées dans l'hémostase et la coagulation sanguine (Jain, 1993).

L'ensemble de ces analyses a été effectué selon les protocoles standards des laboratoires de biochimie clinique et d'hématologie expérimentale .

Méthodes de Analyses hématologiques du sang total

Principe :

Les analyses hématologiques quantifient les éléments figurés du sang (globules blancs, globules rouges, hémoglobine, hématocrite et plaquettes) à l'aide d'un compteur automatique fondé sur des principes d'impédance ou optiques.

Méthode expérimentale :

1. Collecte du sang : Prélèvement sanguin dans des tubes contenant EDTA, en évitant toute hémolyse.
2. Homogénéisation : Les tubes ont été mélangés 10 fois doucement pour assurer la dispersion des cellules.
3. Analyseur utilisé : Appareil hématologique automatique calibré selon les spécifications constructeur.
4. Paramètres mesurés : Nombre de leucocytes (GB), érythrocytes (GR), concentration en hémoglobine (HGB), hématocrite (HCT) et nombre de plaquettes (PLT).
5. Qualité et contrôle : Étapes de contrôle interne validées avant et après chaque série d'analyse [Jain, 1993]. Dosages des enzymes hépatiques.

3.2.4. Dosages des enzymes hépatiques

Les enzymes hépatiques représentent des biomarqueurs essentiels de l'intégrité fonctionnelle du foie. Dans cette étude, les activités sériques de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP), de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la lactate déshydrogénase (LDH) ont été quantifiées afin d'évaluer les atteintes hépatiques potentielles induites par la toxicité ou modulées par les traitements administrés [Burtis *et al.*, 2012].

Méthodes de Dosages des enzymes hépatiques :

Principe :

Les enzymes hépatiques, notamment les transaminases (ALT/TGP et AST/TGO), la phosphatase alcaline (PAL) et la lactate déshydrogénase (LDH), sont des biomarqueurs sensibles des altérations hépatiques. Leur activité enzymatique est mesurée par voie spectrophotométrique à partir de réactions catalytiques spécifiques, dans lesquelles la formation ou la consommation d'un substrat est proportionnelle à l'activité enzymatique dans l'échantillon [Burtis *et al.*, 2012].

Méthode expérimentale :

1. Échantillons : Le sérum a été extrait à partir du sang total coagulé après centrifugation à 3 000 rpm pendant 10 minutes.

2. Technique : Les dosages ont été effectués en utilisant des kits enzymatiques commerciaux conformes aux normes IFCC (International Federation of Clinical Chemistry).

3. Dosages réalisés :

- ALT (Alanine Aminotransférase) : Mesurée par la conversion de l'alanine et l' α -cétoglutarate en pyruvate et glutamate.
- AST (Aspartate Aminotransférase) : Mesurée via la transformation de l'aspartate et de l' α -cétoglutarate en oxaloacétate et glutamate.
- PAL (Phosphatase Alcaline) : Activité mesurée à pH alcalin par la libération de phosphate à partir d'un substrat coloré.
- LDH (Lactate Déshydrogénase) : Détection basée sur la conversion du lactate en pyruvate, couplée à la réduction du NAD^+ en NADH.

4. Lecture : Les absorbances ont été lues à 340 nm (LDH), 405 nm (PAL), et 546 nm (transaminases), selon les recommandations du fabricant.

5. Contrôle de qualité : Inclusion de témoins internes pour valider la reproductibilité des mesures.

6. Résultats : Exprimés en unités internationales par litre (UI/L) [Tietz, 2006].

3.2.5. Analyse de la formule sanguine complète (FNS)

Dans le cadre de notre étude, une analyse hématologique approfondie a été réalisée sur les échantillons sanguins prélevés des rats appartenant à l'ensemble des groupes expérimentaux. Cette analyse, couramment appelée formule sanguine complète (FNS), a permis de quantifier plusieurs paramètres clés reflétant l'état physiologique et hématologique des animaux. Les paramètres évalués incluaient notamment le nombre total de globules blancs (WBC), de globules rouges (RBC), la concentration en hémoglobine (HGB), l'hématocrite (HCT) ainsi que le nombre total de plaquettes (PLT), à l'aide d'un analyseur hématologique automatisé.

Ces données sont essentielles pour détecter d'éventuelles altérations hématopoïétiques, inflammatoires ou hémorragiques induites par l'exposition expérimentale ou modulées par les traitements administrés (Zhou *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2017). En effet, la FNS constitue un outil de diagnostic incontournable en toxicologie expérimentale, permettant d'évaluer l'impact systémique d'un agent toxique ou protecteur sur l'hématopoïèse et la fonction immunitaire (Teixeira *et al.*, 2020).

Méthodes deAnalyse hématologique (FNS) : Principe et protocole expérimental

Principe :

L'analyse de la formule sanguine complète (FNS) constitue une méthode de référence en hématologie expérimentale permettant d'évaluer les principaux paramètres cellulaires du sang périphérique, notamment les globules blancs (WBC), les globules rouges (RBC), l'hémoglobine (HGB), l'hématocrite (HCT) et les plaquettes (PLT). Cette analyse repose sur la cytométrie d'impédance couplée à la spectrophotométrie pour la quantification des cellules

et la mesure de la concentration en hémoglobine (Teixeira *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2017). Ces mesures offrent des indices sensibles de l'état inflammatoire, de l'oxygénation tissulaire et de l'intégrité de l'hématopoïèse chez les animaux de laboratoire.

Protocole expérimental :

À la fin de la période expérimentale, les animaux ont été anesthésiés légèrement, puis un prélèvement sanguin a été effectué par ponction intracardiaque à l'aide de seringues héparinées afin d'éviter la coagulation. Environ 1 à 2 mL de sang total ont été recueillis et immédiatement transférés dans des tubes contenant de l'EDTA (1 mg/mL) comme anticoagulant (Zhou *et al.*, 2018). Les échantillons ont été maintenus à 4°C et analysés dans les deux heures suivant le prélèvement. L'analyse a été réalisée à l'aide d'un automate d'hématologie vétérinaire (par exemple : Mindray BC-2800Vet ou équivalent), calibré selon les spécifications du fabricant pour les rongeurs. Tous les paramètres hématologiques standards ont été mesurés automatiquement selon les courbes d'étalonnage prédéfinies pour les rats de laboratoire (Teixeira *et al.*, 2020).

3.2.6. Analyse de l'ionogramme

Dans le cadre de cette étude, une analyse de l'ionogramme plasmatique a été effectuée afin d'évaluer les concentrations des principaux électrolytes circulants, notamment le sodium (Na⁺), le potassium (K⁺) et le chlorure (Cl⁻). Ces ions jouent un rôle fondamental dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, l'excitabilité neuromusculaire, l'équilibre hydrique et la régulation acido-basique (Sabatier *et al.*, 2011 ; He *et al.*, 2016). Toute perturbation de leur niveau peut indiquer une atteinte rénale, une déshydratation, ou un désordre métabolique secondaire à une exposition toxique. L'ionogramme s'impose ainsi comme un outil biochimique indispensable pour interpréter les effets systémiques de traitements ou substances testées sur l'équilibre ionique des organismes expérimentaux (Carli *et al.*, 2018).

Méthodes de Ionogramme : Principe et protocole expérimental

Principe :

L'ionogramme plasmatique est un examen biochimique fondamental permettant de mesurer les concentrations des principaux électrolytes circulants, tels que le sodium (Na⁺), le potassium (K⁺), le chlorure (Cl⁻), le calcium (Ca²⁺) et parfois le magnésium (Mg²⁺). Ces ions

jouent un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre hydrique, l'activité neuromusculaire, la régulation acido-basique et les fonctions enzymatiques cellulaires (Sabatier *et al.*, 2011 ; He *et al.*, 2016). Toute perturbation de leur concentration peut traduire un dysfonctionnement rénal, métabolique ou cardiovasculaire, souvent induit par des substances toxiques ou des déséquilibres physiopathologiques.

Protocole expérimental :

Après euthanasie des animaux selon un protocole éthique validé, des échantillons sanguins ont été prélevés par ponction intracardiaque et recueillis dans des tubes secs (sans anticoagulant). Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 minutes à 4°C afin d'obtenir le plasma. Ce dernier a été soigneusement transféré dans des tubes Eppendorf stériles et conservé à -20°C jusqu'à l'analyse. Les concentrations plasmatiques des électrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻) ont été déterminées à l'aide d'un analyseur d'électrolytes automatisé basé sur la méthode de l'électrode sélective d'ions (ISE : Ion Selective Electrode), technique de référence pour sa précision et sa sensibilité dans les matrices biologiques (He *et al.*, 2016 ; Carli *et al.*, 2018).



Figures 54/55 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)

Collecte du sang total chez le rat après décapitation.

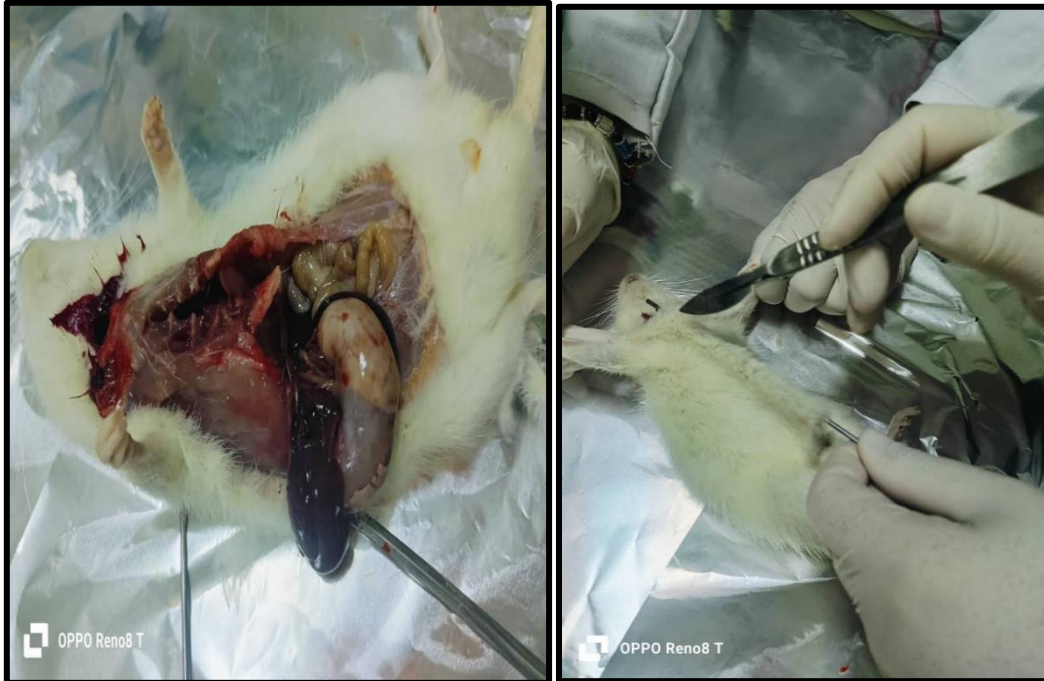
3.2.7. Analyse des paramètres du stress oxydatif :

3.2.7.1. Préparation des échantillons biologiques et des homogénats tissulaires

Une dissection longitudinale thoraco-abdominale a ensuite été effectuée avec rigueur, permettant l'extraction des organes vitaux : le cœur, les poumons, le foie et les reins. Chaque organe a été immédiatement rincé avec une solution physiologique stérile à 0,9 % de NaCl pour éliminer les résidus sanguins

. Les organes ont ensuite été sectionnés en deux parties : la première a été fixée dans du formol tamponné à 10 % et conservée à 4 °C à des fins d'analyse histopathologique, tandis

que la seconde a été congelée à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en vue des dosages biochimiques des marqueurs de stress oxydatif (Weckbeker & Cory, 1988).



Figures 56/57 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)
Ouverture de la cavité thoraco-abdominale chez le rat pour le prélèvement des organes.

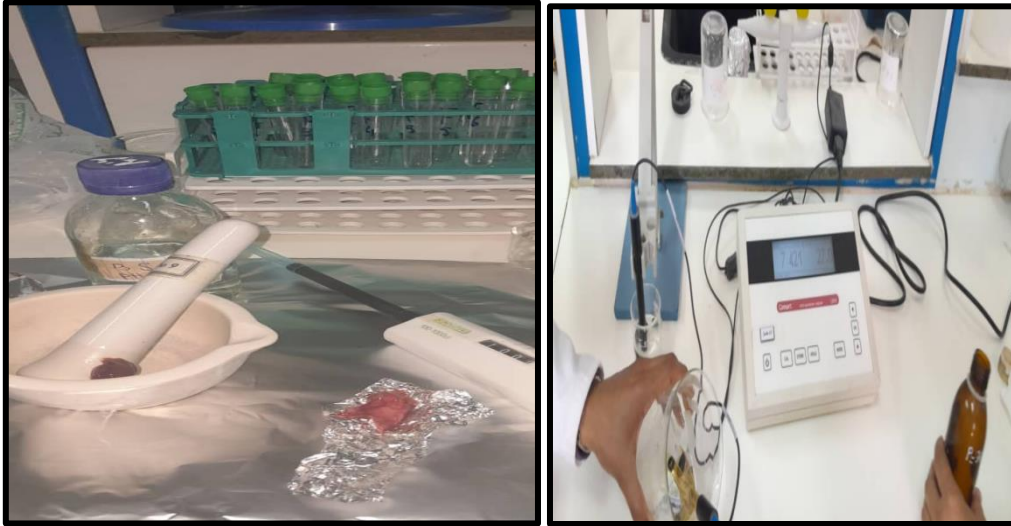
Préparation des homogénats des organes

*** Principe**

L'homogénéisation des tissus est une étape essentielle pour libérer les constituants cellulaires, permettant l'analyse des biomarqueurs du stress oxydatif. Elle doit être réalisée dans un tampon physiologique à pH contrôlé, afin de préserver l'activité enzymatique et prévenir l'oxydation prématurée des composants intracellulaires (Habig *et al.*, 1974).

*** Protocole expérimental**

Un gramme de tissu provenant de chaque organe vital (foie, rein, cœur, poumon, cerveau) est homogénéisé à froid dans 9 ml de solution Tris-Buffered Saline (TBS) (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). Après homogénéisation, la suspension est centrifugée à 3000 tr/min pendant 15 minutes à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Le surnageant est collecté et conservé à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'aux dosages biochimiques (Habig *et al.*, 1974).



Figures 58/59 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)

Étapes de préparation des homogénats tissulaires : broyage et ajustement du pH .

3.2.7.2. Dosage des protéines tissulaires

***Principe**

Le dosage des protéines par la méthode de (Bradford,1976) permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique, qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif qui s'associe au groupement amine (-NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

L'absorption est mesurée à 595nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200. (Bradford, 1976).

***Protocole expérimental**

100 µl d'homogénat tissulaire sont mélangés à 5 ml de réactif de Bradford. Après agitation douce et incubation de 5 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La concentration est calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'albumine sérique bovine (Bradford, 1976).

3.2.7.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

*** Principe**

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200 (Yagi, 1976).

***Mode opératoire**

Prélever 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif TBA (Thiobarbiturique) dans les tubes à essai en verre et à vis, et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie de type MEMMERT à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifuger par centrifugeuse horizontale de type SIGMA à 3000 tours/minutes pendant 5minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de type SHIMADZU AA-6200.

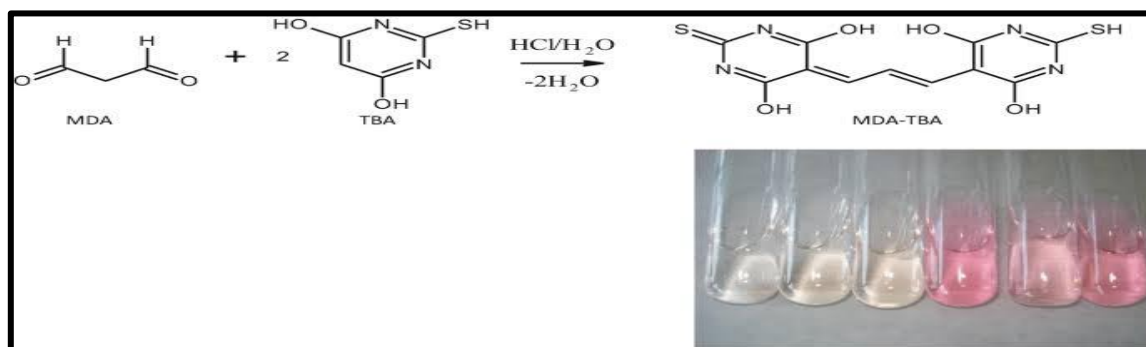


Figure 60 : Réaction du malondialdéhyde (MDA) avec l'acide thiobarbiturique (TBA) formation du complexe coloré MDA-TBA utilisé dans l'évaluation du stress oxydatif (Ohkawa *et al.*, 1979 ; Draper et Hadley, 1990)

***Expression des résultats**

La concentration de TBARS (Thiobarbiturique Substance Réactif) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^5) / \text{mg de protéine. (Yagi, 1976).}$$

3.2.7. 4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

*** Principe**

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique de Wechberker et Cory (1988). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5,5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm .

***Mode opératoire**

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiol du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Après agitation, le mélange est plongé dans un bain de glace pendant 15 min, puis centrifugé à 1000 trs/min (Centrifugeuse SIGMA 6k15) pendant 5 min. Une partie aliquote de 500 µl de surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm (Spectrophotomètre GENENSYS 8) après 5 min de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où le surnageant est remplacé par de l'eau distillée.

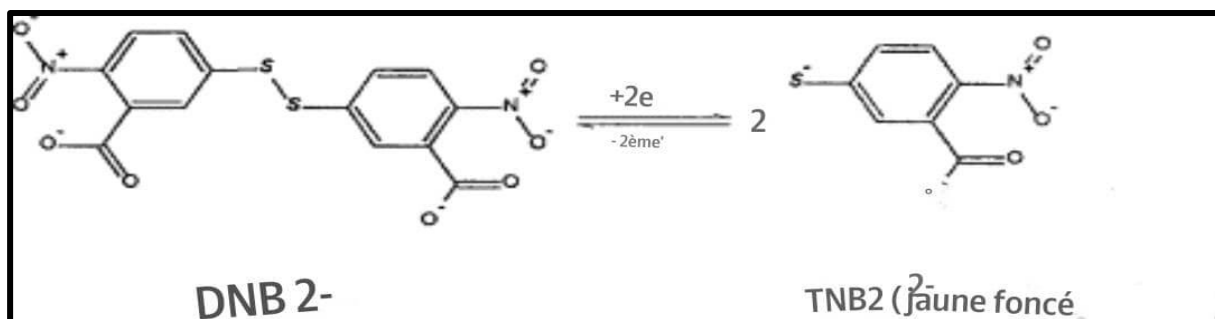


Figure 61 : Réaction de réduction du DNB²⁻ en TNB²⁻ (Habig *et al.*, 1974) : base du dosage de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST)

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : Micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

ΔDo : Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : Coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : Volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : Volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : Volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

3.2.7.5. Dosage du glutathion S-transférase (GST)

*Principe

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.*, (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm par spectrophotométrie visible/UV.

*Mode opératoire

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6), puis centrifugé à 14000 trs/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 200 μ l du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GST (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 min à une longueur d'onde de 340 nm (Spectrophotomètre GENENSYS 8) contre un blanc contenant 200 μ l d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

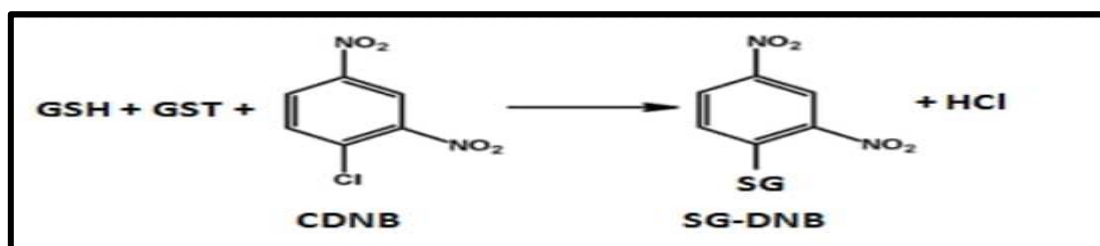


Figure 62 : Mécanisme réactionnel du GST (PARKER et WILICE, 1994).

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH]

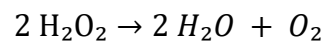
Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

3.2.7.6. Dosage de la catalase (CAT)

***Principe**

L'activité enzymatique de la catalase est évaluée selon la méthode décrite par Clairborne (1985). Cette méthode repose sur la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène sous l'action de la catalase, à une température de 25 °C. La réaction enzymatique s'exprime comme suit :

Catalase



La diminution de la concentration en H_2O_2 est suivie par la baisse de l'absorbance à 240 nm, ce qui permet de quantifier l'activité catalasique dans l'échantillon biologique. (Clairborne, 1985)

***Mode opératoire**

Le mélange réactionnel est préparé en ajoutant successivement : 750 μl de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), 200 μl de H_2O_2 fraîchement préparé (500 mM), et 50 μl de l'homogénat tissulaire contenant l'enzyme à doser. L'évolution de l'absorbance est mesurée à 240 nm toutes les 15 secondes pendant une durée définie à l'aide d'un spectrophotomètre de type GENESYS 8.

L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en micromoles de H_2O_2 dégradées par minute et par milligramme de protéines totales ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéines), en utilisant le coefficient d'extinction molaire du H_2O_2 à 240 nm, qui est de $0,040 \text{ cm}^{-1}\cdot\mu\text{mol}^{-1}\cdot\text{ml}$. (Clairborne, 1985).

3.2.8. Prélèvement et traitement histologique des biopsies tissulaires

Protocole général de préparation des coupes histologiques des organes (cœur, reins, poumons, foie)

3.2.8.1. Prélèvement et fixation des tissus

Après le sacrifice des animaux expérimentaux selon les normes éthiques, les organes (cœur, reins, poumons et foie) sont rapidement prélevés, rincés à l'aide d'une solution saline tamponnée (PBS, pH 7,4) pour éliminer le sang, puis immédiatement fixés dans une solution de formol tamponné à 10 % pendant 24 à 48 heures à température ambiante. Cette étape permet de préserver les structures cellulaires et tissulaires en inhibant l'autolyse et la putréfaction.

(Carson, F. L., & Hladik, C. (2009). Histotechnology: A Self-Instructional Text. ASCP Press).



Figures 63/64/65 : (Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)
Prélevement et dissection des organes pour les analyses toxicologiques et biochimiques Après le sacrifice des animaux expérimentaux par décapitation selon les normes éthiques en vigueur,

3.2.8.2.Déshydratation

Les tissus fixés sont ensuite déshydratés progressivement à travers une série croissante de bains d'éthanol (70 %, 90 %, 95 %, puis 100 %) afin d'éliminer complètement l'eau. Chaque bain dure environ 1 heure, selon la taille et la densité de l'organe. (Kiernan, J. A. (2008). *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Scion Publishing).



Figures 66 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.)
Déshydratation des tissus biologiques à l'aide d'un appareil histologique automatisé.

3.2.8.3Claircissement (diaphanisation)

Les échantillons déshydratés sont ensuite immergés dans un solvant organique compatible avec la paraffine, généralement du xylène ou du toluène, pendant deux bains successifs d'environ 30 minutes chacun. Cette étape rend les tissus translucides et permet l'infiltration de la paraffine. (Prophet, E. B., Mills, B., Arrington, J. B., & Sobin, L. H. (1992). *Laboratory Methods in Histotechnology*. AFIP).

3.2.8.4.Infiltration et inclusion en paraffine

Les tissus clarifiés sont ensuite immergés dans de la paraffine fondue à 58–60 °C pendant plusieurs heures (2 à 4 h) pour permettre l'imprégnation complète du tissu. Par la suite, les échantillons sont inclus dans des blocs de paraffine à l'aide d'un moule métallique, en veillant à orienter l'échantillon de manière à obtenir des coupes optimales selon la

structure de chaque organe. (Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2008). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone).



Figures 67/68 :(Images personnelles réalisées dans le cadre de l'expérimentation.)

Infiltration et inclusion des tissus biologiques en paraffine

3.2.8.5.Microtomie

Les blocs de paraffine sont sectionnés à l'aide d'un microtome rotatif pour obtenir des coupes fines de 4 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont ensuite étalées sur une lame de verre enduite d'adhésif (comme la poly-L-lysine) après flottage sur un bain d'eau chaude à 40 °C pour assurer leur déplissement. (Titford, M. (2009). *The long history of hematoxylin*. *Biotechnic & Histochemistry*, 84(4), 159–165).

3.2.8.6Coloration (Hématoxyline-éosine)

Les coupes sont déparaffinées (par xylène), réhydratées (par une série décroissante d'éthanol), puis colorées à l'hématoxyline de Harris pour révéler les noyaux (bleus), suivie d'une contre-coloration à l'éosine pour marquer le cytoplasme et les structures extracellulaires (roses). Après rinçage, les lames sont déshydratées à nouveau, clarifiées, puis montées à l'aide d'un baume de montage.

(Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Elsevier).



Figures 69 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Coloration des coupes histologiques à l'Hématoxyline-Éosine.

3.2.8.7. Montage et observation

Les lames préparées sont recouvertes d'une lamelle et laissées à sécher. Elles sont ensuite prêtes pour l'observation microscopique à différents grossissements selon les objectifs de l'analyse histopathologique. (Culling, C. F. A., Allison, R. T., & Barr, W. T. (1985). Cellular Pathology Technique. Butterworth-Heinemann).

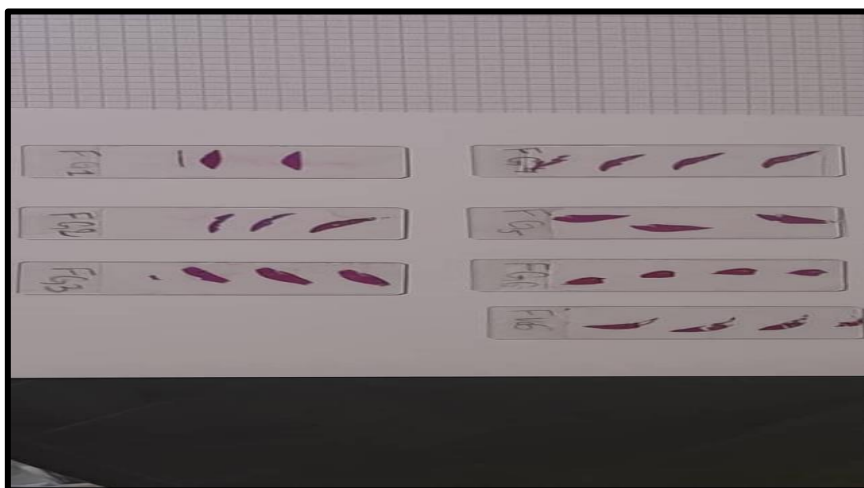


Figure 70 : (Image personnelle réalisée dans le cadre de l'expérimentation.) Lames histologiques montées sur lame porte-objet.

3.3. Analyse statistique

Afin de garantir la fiabilité scientifique des résultats obtenus, une analyse statistique rigoureuse a été appliquée. L'ensemble des données expérimentales a été traité à l'aide du

logiciel SPSS (version XX), conformément aux standards pédagogiques enseignés à l'Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type (mean \pm SD).

Pour comparer les moyennes entre les groupes, nous avons utilisé le test d'ANOVA unifactorielle, qui permet de détecter des différences significatives globales. En cas de différence significative, un test post-hoc de Tukey a été réalisé afin d'identifier précisément les groupes concernés. Le seuil de signification statistique a été fixé à $p < 0,05$, ce qui correspond au niveau de confiance généralement accepté dans les études biologiques expérimentales.

Cette approche statistique vise à renforcer la crédibilité des résultats et à assurer une interprétation objective et reproductible des effets observés au cours des traitements. (SPSS, version XX; Motulsky, 2018)

3.4. Analyse comparative des résultats et interprétation

Cette étape méthodologique cruciale vise à évaluer l'efficacité prophylactique et thérapeutique de l'extrait de *Salvia rosmarinus* face au stress oxydatif induit par le nitrate de sodium (NaNO_3), agent utilisé ici comme modèle expérimental représentatif des diverses expositions oxydatives auxquelles l'organisme humain est quotidiennement confronté (Gangolli *et al.*, 1994 ; Sindelar & Milkowski, 2012).

Les analyses biochimiques ont révélé une perturbation significative de l'homéostasie redox chez les sujets exposés au NaNO_3 , caractérisée par une augmentation marquée du malondialdéhyde (MDA) et une inhibition des systèmes enzymatiques antioxydants (GSH, GPx, CAT, GST), avec une atteinte prédominante des tissus cardiaque et pulmonaire, témoignant de leur vulnérabilité face à l'oxydation (Patel *et al.*, 2014).

Le traitement concomitant à l'extrait de *Salvia rosmarinus* a démontré une restauration significative du profil antioxydant, surpassant l'efficacité de la vitamine C en termes de réduction du stress oxydatif et de récupération enzymatique. Cet effet est attribuable à la richesse phytochimique en polyphénols (acide rosmarinique, carnosol, flavonoïdes), dotés de puissantes propriétés antiradicalaires et cytoprotectrices (Boukhatem *et al.*, 2014 ; Rašković *et al.*, 2014).

Ces résultats confirment le potentiel remarquable de cet extrait végétal en tant qu'agent naturel capable d'atténuer et de prévenir les dommages oxydatifs, particulièrement dans des organes critiques tels que le cœur et les poumons, soulignant son intérêt thérapeutique dans la gestion des toxicités oxydatives.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement de l'extraction par décoction de l'extrait brut de *Salvia rosmarinus* a permis d'obtenir 1,8 g d'extrait à partir de 10 g de poudre végétale, ce qui correspond à un rendement d'extraction de 18 %. Ce rendement est supérieur à ceux rapportés dans la littérature, notamment ceux de Redempta *et al.* (2020) (13,18 %) et Balouiri (2011) (15,8 %), et largement au-dessus des valeurs rapportées dans d'autres études telles que celles de El-Kamli *et al.* (2017) (2,14 %), Karimi *et al.* (2014) (1,5 %) et Fadili *et al.* (2015) (13,6 %). Cela met en évidence l'efficacité notable de notre protocole d'extraction.

Il est important de souligner que le rendement d'extraction peut être modulé par plusieurs facteurs, tels que la durée d'extraction, la température, les caractéristiques géographiques de la plante, ainsi que la période de récolte et les conditions climatiques (Su *et al.*, 2006). De plus, la durée de stockage, la nature du solvant utilisé (Zhao *et al.*, 2006) et la méthode d'extraction appliquée (Wojdylo *et al.*, 2007) peuvent également influencer ce rendement.

En outre, de nombreuses études ont démontré que les extraits de *Salvia rosmarinus*, ou certains de leurs constituants bioactifs, possèdent des propriétés thérapeutiques prometteuses, telles que des effets antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux. Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle *Salvia rosmarinus* pourrait jouer un rôle majeur dans la prévention et le traitement de l'oxydation cellulaire, en particulier au niveau cardiaque et pulmonaire. Ainsi, cette plante pourrait constituer un remède naturel potentiel contre les effets délétères du stress oxydatif, qui sont reconnus comme des facteurs clés dans la pathologie cardiovasculaire et respiratoire.

2. Les analyses photochimiques de la plante :

Tests biochimiques préliminaires

Conformément au protocole expérimental décrit dans la section « Matériel et Méthodes », une analyse phytochimique qualitative a été menée sur la partie aérienne verte de *Salvia rosmarinus*. Ce dépistage phytochimique s'est appuyé sur des réactions de coloration et de précipitation spécifiques, permettant d'identifier la présence ou l'absence de différentes familles de métabolites secondaires.

DISCUSSION DES RESULTATS

Les résultats obtenus, présentés dans le Tableau n°06, mettent en évidence une richesse remarquable en composés bioactifs, notamment les saponosides, tanins, anthocyanes, leuco-anthocyanes, terpènes et stéroïdes, cardénolides, flavonoïdes et composés phénoliques. En revanche, certains groupes métaboliques comme les alcaloïdes se sont révélés absents ou très faiblement représentés. Ces résultats confirment les données de la littérature, qui soulignent la diversité chimique de cette espèce et son potentiel biologique significatif (Yesil-Celiktas *et al.*, 2007 ; Boutekedjiret *et al.*, 2003 ; Bouhdid *et al.*, 2010).

Cette diversité métabolique pourrait être à l'origine des nombreuses propriétés pharmacologiques attribuées à *S. rosmarinus*, notamment ses activités antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, telles que fréquemment rapportées dans des travaux antérieurs (Rafieian-Kopaei, 2014 ; Karimi *et al.*, 2014). Nos résultats concordent avec ceux de Fadili *et al.* (2015), qui ont identifié chez cette espèce la présence de composés phénoliques, flavonoïdes, tanins et stérols. D'autres études, comme celle de Kalinda *et al.* (2020), ont rapporté la détection de saponines, bien que ce résultat n'ait pas été systématiquement confirmé dans nos conditions expérimentales.

Tableau 06 : Screening phytochimique de *S.Rosmarinus*

Principes actifs	Présence ou absence
Saponosides	+++
Tanins	+++
Anthocyanes	+++
leuco-anthocyanes	+
Alcaloïdes	-
terpènes et stéroïdes	+
Cardinolides	+
Flavonoïdes	++

(+) Présence faible ; (+++) Présence forte ; (++) Présence moyenne ; (-) Absence.

Les variations observées dans les profils phytochimiques d'une étude à l'autre peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, notamment la période de récolte, l'origine géographique de la plante, la partie analysée, la nature du solvant utilisé, ou encore la méthode d'extraction (Whitehead *et al.*, 2022).

Sur le plan pharmacologique, les composés phénoliques identifiés dans notre extrait sont largement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, capables de neutraliser les radicaux libres et de réduire les dégâts oxydatifs, notamment au niveau du cœur et des poumons, deux organes particulièrement vulnérables au stress oxydatif (Marouf & Reynaud, 2008). Les anthocyanes, bien que faiblement représentées, exercent des effets vasoprotecteurs par inhibition des enzymes de dégradation du collagène, contribuant ainsi à la préservation de l'intégrité vasculaire (Bruneton, 1999). Par ailleurs, la présence de flavonoïdes, riches en phytoestrogènes, renforce le potentiel anti-inflammatoire, antiviral et antibactérien de l'extrait, (Kansole *et al.*, 2015).

Ces résultats confortent l'objectif central de cette étude, à savoir : l'évaluation du potentiel de *Salvia rosmarinus* dans la prévention et le traitement du stress oxydatif, en particulier au niveau des tissus cardiopulmonaires, soulignant ainsi la pertinence de son utilisation comme source naturelle de molécules bioactives à visée thérapeutique.

3. Analyse des activités biochimiques et antioxydantes des extraits de *Salvia rosmarinus* :

3.1. Analyse des résultats du test DPPH :

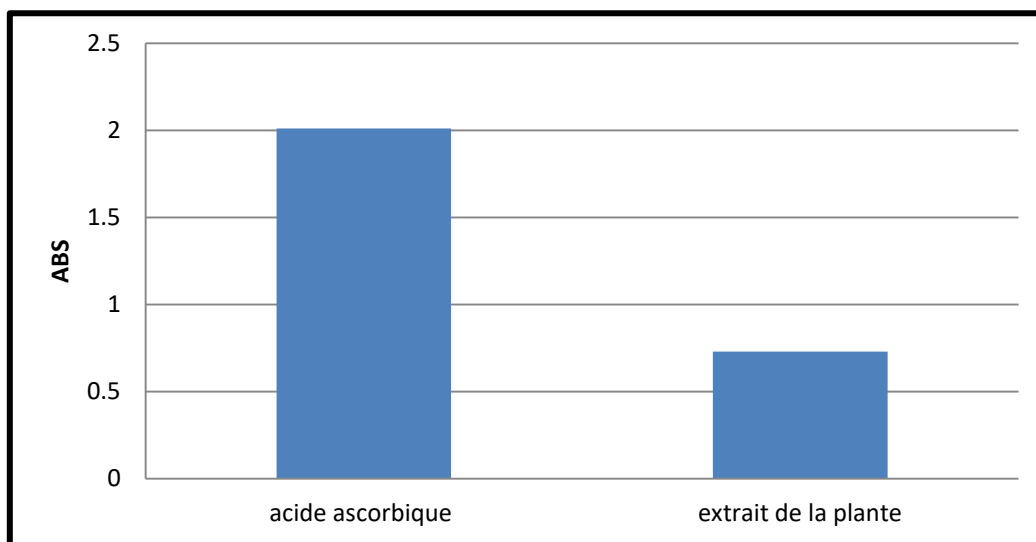


Figure 71 Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de *Salvia rosmarinus* dans le test DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a révélé des résultats significatifs pour les deux substances testées. La courbe obtenue pour l'acide ascorbique

DISCUSSION DES RESULTATS

montre une relation linéaire étroite entre la concentration et le pourcentage d'inhibition, décrite par l'équation : $y = 17,8345x + 14,0868$, avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,9411$, indiquant une homogénéité et une fiabilité élevées des données.

Quant à l'extrait de *Salvia rosmarinus*, une linéarité comparable a été observée, avec l'équation : $y = 18,9144x + 17,2634$ et un coefficient de détermination $R^2 = 0,8577$. Bien que ce dernier soit légèrement inférieur, la pente plus marquée de la droite suggère un pouvoir inhibiteur supérieur à concentration croissante

Les valeurs d'IC₅₀, calculées pour chaque échantillon, sont les suivantes

*Acide ascorbique : IC₅₀ ≈ 2,01 mg/ml

*Extrait de *Salvia rosmarinus* : IC₅₀ ≈ 1,73 mg/ml

Ces résultats indiquent que l'extrait végétal parvient à inhiber 50 % des radicaux libres à une concentration plus faible que le composé de référence, témoignant ainsi de sa forte efficacité en tant qu'antioxydant naturel.

Discussion scientifique des résultats

Les données issues du test DPPH confirment le potentiel élevé de l'extrait de *Salvia rosmarinus* à neutraliser les radicaux libres. La valeur plus basse de l'IC₅₀, comparée à celle de la vitamine C, met en évidence la présence de composés bioactifs efficaces même à faible concentration, ce qui renforce l'intérêt pharmacologique de cet extrait.

L'extrait a été obtenu selon une méthode hydroalcoolique optimisée, favorisant l'extraction des composés phénoliques et terpéniques actifs, notamment :

L'acide rosmarinique, connu pour son activité antioxydante puissante via l'inhibition de la peroxydation lipidique.

Le carnosol et l'acide carnosique, aux effets antioxydants et anti-inflammatoires synergiques démontrés.

Les extraits de *Salvia rosmarinus* montrent une capacité inhibitrice remarquable, parfois équivalente voire supérieure à celle de certains antioxydants synthétiques (Nieto *et al.*, 2018).

Sur le plan expérimental, ces résultats sont cohérents avec l'objectif du protocole visant à évaluer l'efficacité de l'extrait dans un contexte de stress oxydatif induit par les nitrates. La performance légèrement supérieure à celle de l'acide ascorbique appuie l'hypothèse selon laquelle *Salvia rosmarinus* pourrait représenter une alternative naturelle sûre, ou un complément thérapeutique potentiel, pour atténuer les dommages oxydatifs, notamment au niveau hépatique et pulmonaire.

Ces observations soulèvent également des questions pertinentes :

L'effet antioxydant est-il attribuable à un seul composé dominant ou à une synergie de plusieurs constituants ?

Dans quelle mesure cette activité se maintient-elle in vivo, en comparaison aux résultats obtenus in vitro ?

Toutefois, le test DPPH a ici clairement démontré l'efficacité supérieure de l'extrait testé par rapport au standard, ce qui renforce sa valeur dans la prévention des dommages oxydatifs causés par les nitrates et d'autres agents pro-oxydants.

3.2. Analyse des résultats du dosage des polyphénols totaux (TPC) selon la méthode de Folin–Ciocalteu :

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux a été réalisée selon la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu, qui repose sur la réaction d'oxydoréduction entre les composés phénoliques et le réactif, aboutissant à la formation d'un complexe coloré mesurable à 765 nm (Singleton & Rossi, 1965). Les courbes obtenues illustrent la relation entre l'absorbance (ABS) et la concentration (mg/ml) pour l'extrait de *Salvia rosmarinus* d'une part, et pour le standard de référence, l'acide gallique, d'autre part.

Extrait de *Salvia rosmarinus* :

La droite d'étalonnage correspondant à l'extrait présente l'équation suivante : $y = 0,2626x + 0,4629$, avec un coefficient de détermination $R^2=0,7669$, indiquant une corrélation modérée mais exploitable entre la concentration et l'absorbance.

Acide gallique (standard) :

La courbe de référence a été décrite par l'équation : $y = 0,2931x + 0,5701$, avec $R^2 = 0,726$, ce qui montre également une linéarité acceptable permettant le calcul des équivalents en acide gallique.

Calcul de l'équivalent en acide gallique (mg EAG/ml)

À partir de l'absorbance moyenne de l'extrait, par exemple 1,2, et en utilisant l'équation de la courbe de calibration de l'acide gallique, la concentration en équivalents d'acide gallique (EAG) peut être estimée comme suit :

$$x = \frac{1,2 - 0,5701}{0,2931} \approx \frac{0,6299}{0,2931} \approx 2,15 \text{ mg EAG/ml}$$

Ainsi, la teneur en polyphénols totaux de l'extrait est estimée à environ 2,15 mg EAG/ml.

Contrairement aux tests d'activité antioxydante (comme le DPPH), cette méthode ne permet pas de calculer une valeur d'IC₅₀, car elle ne repose pas sur une inhibition, mais sur la mesure directe des composés phénoliques présents.

Discussion scientifique des résultats du dosage des polyphénols totaux (TPC) de l'extrait de *Salvia rosmarinus*

Les résultats du dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin–Ciocalteu ont mis en évidence une teneur appréciable en composés phénoliques dans l'extrait de *Salvia rosmarinus*. La courbe de calibration obtenue a montré une relation linéaire entre la concentration de l'extrait et l'absorbance, traduisant une réponse analytique proportionnelle à la quantité de composés réducteurs présents. Cette linéarité, bien que légèrement inférieure à celle de l'acide gallique utilisé comme standard de référence, reste suffisamment significative pour valider la fiabilité de la méthode employée.

La valeur estimée de 2,15 mg EAG/ml confirme que l'extrait est riche en substances phénoliques, connues pour leurs propriétés antioxydantes marquées. Ces composés jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) via des mécanismes de transfert d'électrons et de chélation des ions métalliques pro-oxydants (Gülçin, 2011). Plusieurs travaux ont souligné que des molécules comme l'acide

DISCUSSION DES RESULTATS

rosmarinique, l'acide carnosique et la lutéoline, majoritairement présentes dans *Salvia rosmarinus*, contribuent activement à l'effet antioxydant global de la plante (Yeşil-Celiktas *et al.*, 2007 ; Borgi *et al.*, 2008).

Ces résultats soutiennent la pertinence du protocole d'extraction appliqué, qui semble avoir préservé les constituants bioactifs sensibles à la chaleur et à l'oxydation. De plus, la concentration mesurée corrobore les données rapportées dans la littérature pour des extraits similaires obtenus dans des conditions d'extraction comparables.

Sur le plan fonctionnel, cette richesse en polyphénols renforce l'hypothèse selon laquelle l'extrait de *Salvia rosmarinus* pourrait jouer un rôle protecteur contre le stress oxydatif induit, notamment dans des modèles biologiques soumis à des agents pro-oxydants tels que les nitrates.

3.3 Analyse des résultats de l'essai d'inhibition de l'hémolyse :

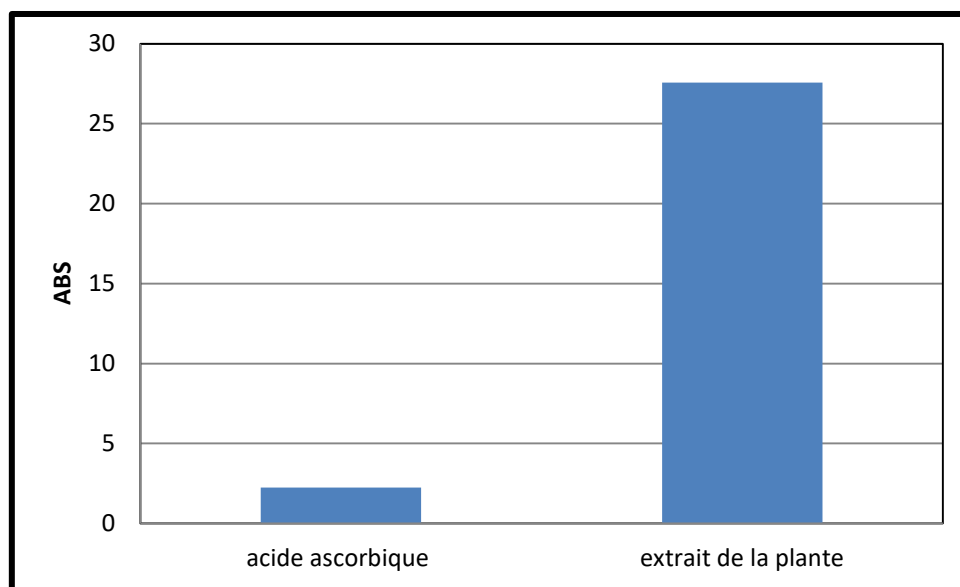


Figure 72 : Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de *Salvia rosmarinus* dans le test d'inhibition de l'hémolyse

La courbe initiale illustre la relation entre la concentration de l'extrait de *Salvia rosmarinus* (romarin) et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse. Cette courbe suit une équation linéaire : $y = 1,6722x + 3,8237$, avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,6516$, indiquant une corrélation modérée entre la concentration et l'activité inhibitrice. Le pourcentage d'inhibition augmente progressivement de 0 % à environ 13 % à la concentration maximale de 5 mg/ml. À partir de cette équation, la valeur de IC₅₀ (concentration inhibant 50

% de l'hémolyse) a été estimée à 27,57 mg/ml, ce qui reflète une activité anti-hémolytique modérée à faible de l'extrait.

En comparaison, la courbe de l'acide ascorbique (substance de référence) suit l'équation : $y = 12,9998x + 20,7554$, avec un coefficient $R^2 = 0,7813$, indiquant une corrélation forte. Le taux d'inhibition atteint environ 85 % à la concentration de 5 mg/ml. La IC_{50} correspondante est estimée à 2,24 mg/ml, révélant ainsi une activité inhibitrice puissante et rapide contre l'hémolyse. Ces résultats suggèrent que l'extrait végétal agit comme stabilisateur de membrane, bien que son efficacité soit moindre comparée à celle de l'antioxydant de référence (Shinde *et al.*, 1999).

Discussion et analyse comparative de l'essai d'inhibition de l'hémolyse

Les résultats obtenus lors du test d'inhibition de l'hémolyse révèlent que l'extrait de *Salvia rosmarinus* (romarin) présente une activité modérée dans la prévention de la lyse des érythrocytes. Le taux d'inhibition maximal atteint environ 13 % à la concentration de 5 mg/ml, avec une valeur de IC_{50} estimée à 27,57 mg/ml. Ce profil traduit une capacité stabilisatrice membranaire mesurée, permettant de limiter les effets oxydatifs et inflammatoires sur les globules rouges, bien que de façon modérée (Tung *et al.*, 2010).

En revanche, l'acide ascorbique utilisé comme référence antioxydante démontre une efficacité nettement supérieure, avec un taux d'inhibition atteignant 85 % au même dosage et une IC_{50} de 2,24 mg/ml, traduisant une action rapide et puissante contre la lyse cellulaire.

Malgré cette différence marquée, l'intérêt pharmacologique de l'extrait végétal réside dans sa richesse en composés phénoliques et terpéniques, qui agissent comme un système de défense endogène contre le stress oxydatif. En effet, des travaux antérieurs ont montré que les extraits de *Salvia rosmarinus* peuvent inhiber l'hémolyse à hauteur de 20 à 25 % dans des conditions comparables (Tung *et al.*, 2010), ce qui situe les résultats de notre étude dans une plage attendue, en tenant compte de facteurs tels que la méthode d'extraction, la concentration en polyphénols, ou encore le type de matrice biologique (Yesil-Celiktas *et al.*, 2007).

D'autres études ont également souligné la capacité de cet extrait à renforcer la stabilité membranaire des hématies, notamment via une réduction de la perméabilité membranaire et une limitation de la formation des radicaux libres responsables de la cytolyse (Yesil-Celiktas *et al.*, 2007 ; Lopez-Jimenez *et al.*, 2021).

DISCUSSION DES RESULTATS

Cette activité peut être attribuée à la présence de composés bioactifs tels que l'acide rosmarinique et le carnosol, reconnus pour leur rôle dans la protection des membranes biologiques contre les altérations oxydatives, ce qui pourrait expliquer, au moins en partie, l'effet inhibiteur observé malgré des concentrations plus élevées requises par rapport à l'antioxydant standard.

Ainsi, bien que l'efficacité de l'extrait de *Salvia rosmarinus* soit inférieure à celle de la molécule de référence, il représente néanmoins une alternative naturelle prometteuse, notamment dans une approche synergique ou préventive face aux conditions impliquant un stress oxydatif et des dommages cellulaires.

3.4. Analyse des résultats de l'activité anti-inflammatoire :

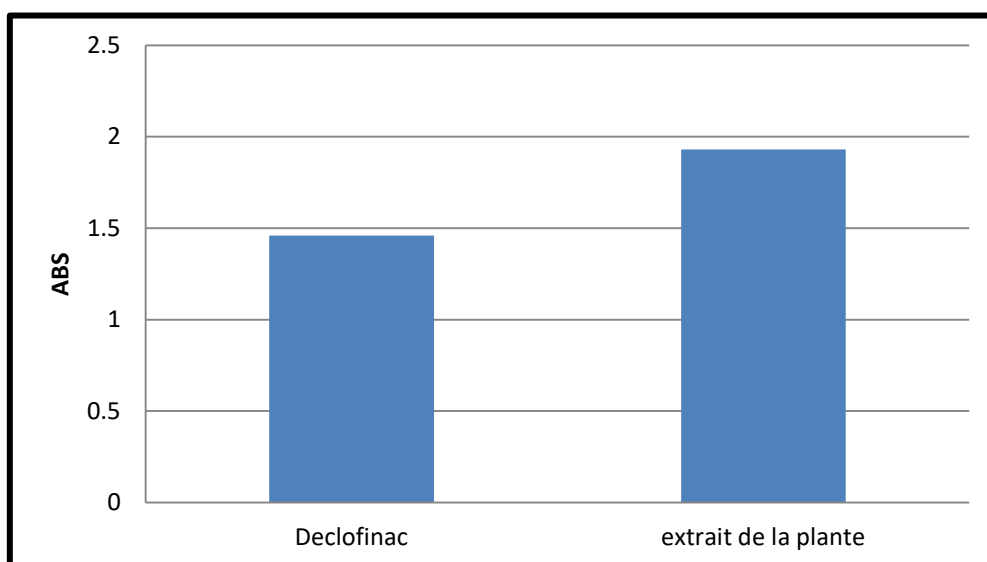


Figure73 Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) du diclofénac et de l'extrait de *Salvia rosmarinus* dans le test d'inhibition de l'inflammation in vitro.

Activité anti-inflammatoire du diclofénac (référence)

Le modèle linéaire obtenu pour le diclofénac, utilisé comme anti-inflammatoire de référence, est exprimé par l'équation : $y = 16,4385x + 26,053$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,7423$, traduisant une corrélation solide entre la concentration et l'effet inhibiteur. Le pourcentage d'inhibition maximal a dépassé 108 % à la concentration de 5 mg/mL, tandis que la valeur de l'IC₅₀ a été estimée à environ 1,46 mg/mL, confirmant l'efficacité marquée de ce médicament anti-inflammatoire de synthèse. Ces résultats sont en accord avec les données rapportées par Tung *et al.* (2010), qui ont souligné la puissance du

DISCUSSION DES RESULTATS

diclofénac dans la suppression des réponses inflammatoires via l'inhibition des enzymes COX.

Activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Salvia rosmarinus*

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait brut de *Salvia rosmarinus* a révélé une réponse dose-dépendante claire. L'équation de régression linéaire correspondante est : $y = 12,4504x + 25,8458$, avec $R^2 = 0,686$, indiquant une corrélation statistiquement significative. À la concentration maximale de 5 mg/mL, l'extrait a induit une inhibition de 88 %, et la valeur de l'IC₅₀ a été évaluée à 1,93 mg/mL, traduisant une activité anti-inflammatoire appréciable. Ce potentiel peut être attribué à la présence abondante de composés phénoliques et diterpéniques comme l'acide rosmarinique et le carnosol, connus pour leur capacité à bloquer les enzymes pro-inflammatoires telles que COX-2 et 5-LOX (Yesil-Celiktas *et al.*, 2007 ; Nunes *et al.*, 2017).

Discussion de l'activité anti-inflammatoire

Le test d'inhibition de la dénaturation des protéines a permis de démontrer l'efficacité anti-inflammatoire marquée de l'extrait de *Salvia rosmarinus*, avec une inhibition de 88 % à 5 mg/mL et une IC₅₀ de 1,93 mg/mL, modélisée par l'équation $y = 12,4504x + 25,8458$ ($R^2 = 0,686$). En comparaison, le diclofénac a montré une inhibition supérieure (108 %), avec une IC₅₀ plus faible (1,46 mg/mL), confirmant sa puissance comme référence pharmaceutique.

Malgré cette différence, l'extrait végétal se distingue par sa nature naturelle et son profil métabolique riche, combinant des flavonoïdes, phénols, et diterpènes. Ces substances agissent en synergie pour moduler l'inflammation, notamment par l'inhibition des voies de signalisation des prostaglandines et des cytokines pro-inflammatoires (Ghasemi *et al.*, 2019 ; Nunes *et al.*, 2017). Les résultats obtenus sont ainsi en cohérence avec ceux de Ghasemi *et al.* (2019), qui ont observé une inhibition de près de 85 % avec un extrait de romarin à 2 mg/mL, soit une performance voisine de la nôtre.

En conclusion, bien que le diclofénac reste plus puissant en termes d'efficacité brute, l'extrait de *Salvia rosmarinus* représente une alternative phytothérapeutique prometteuse, potentiellement valorisable en tant qu'anti-inflammatoire naturel, surtout en tenant compte de sa sécurité et de ses effets secondaires moindres.

3.5. Analyse de l'activité antioxydante par le test FRAP

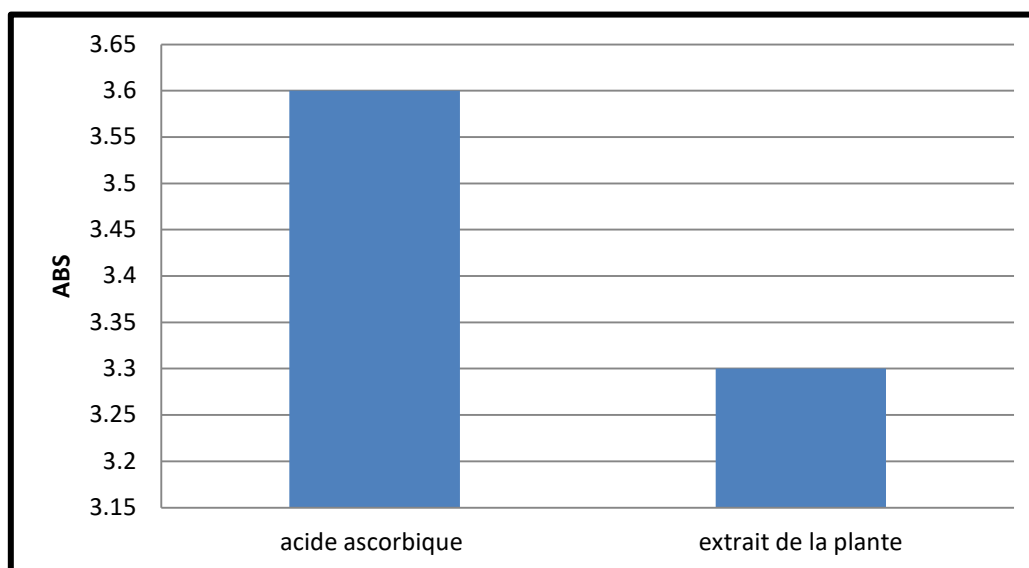


Figure 74 Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) de l'acide ascorbique et de l'extrait de *Salvia rosmarinus* dans le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a permis d'évaluer la capacité réductrice de l'extrait de *Salvia rosmarinus* en comparaison avec un standard de référence, l'acide ascorbique. Ce test repose sur la réduction du complexe ferrique (Fe³⁺-TPTZ) en complexe ferreux (Fe²⁺-TPTZ) par les antioxydants présents dans l'échantillon, traduite par une augmentation de l'absorbance mesurée à 593 nm.

Le profil dose-réponse de l'acide ascorbique a révélé une relation linéaire bien définie, décrite par l'équation : $y = 0,1507x + 0,1294$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,8544$. La concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) a été estimée à 3,6 mg/ml, ce qui témoigne d'une bonne capacité réductrice du composé de référence.

De manière intéressante, l'extrait de *Salvia rosmarinus* a affiché une courbe de régression tout aussi linéaire, représentée par l'équation :

$y = 0,1332x + 0,1125$, avec un $R^2 = 0,8962$, et une IC₅₀ calculée à 3,3 mg/ml. Ces résultats indiquent que l'extrait végétal présente une capacité de réduction du fer comparable, voire légèrement supérieure à celle de l'acide ascorbique, bien que la pente du modèle soit légèrement inférieure.

Cette performance peut être attribuée à la richesse de l'extrait en composés phénoliques et flavonoïdes, bien connus pour leur pouvoir donneur d'électrons et leur aptitude à réduire les métaux de transition, contribuant ainsi à la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Zhang *et al.*, 2015).

Ainsi, les données obtenues suggèrent que l'extrait de *Salvia rosmarinus* possède une activité antioxydante notable dans le système FRAP, confirmant son potentiel en tant qu'agent réducteur naturel, potentiellement utile dans les formulations antioxydantes alimentaires ou pharmaceutiques.

Discussion des résultats du test FRAP

L'essai FRAP, utilisé pour évaluer la capacité antioxydante des composés bioactifs à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), a permis de démontrer que l'extrait de *Salvia rosmarinus* possède une activité réductrice notable. En effet, la valeur de l' IC_{50} observée (3,3 mg/ml) était légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique (3,6 mg/ml), indiquant une meilleure efficacité de l'extrait dans ce système (Benzie & Strain, 1996).

Cette capacité antioxydante peut être attribuée à la richesse de l'extrait en phénols totaux, flavonoïdes et autres métabolites secondaires, connus pour leur aptitude à transférer des électrons et à neutraliser les radicaux libres (Zheng & Wang, 2001). Plusieurs études antérieures ont confirmé cette corrélation directe entre la teneur en composés phénoliques et l'intensité de l'effet réducteur, suggérant une synergie entre les différents constituants de l'extrait (Prior *et al.*, 2005).

Par ailleurs, la valeur élevée du coefficient de détermination ($R^2 = 0,8962$) obtenue pour la courbe de l'extrait reflète non seulement une relation linéaire solide entre la concentration et l'absorbance, mais également une constance dans la réponse antioxydante en fonction de la dose. Cette stabilité suggère un comportement pharmacologique fiable et reproductible, favorable à un éventuel usage thérapeutique ou nutraceutique.

En comparaison avec l'acide ascorbique – standard bien établi dans le domaine des antioxydants hydrosolubles – l'extrait étudié a démontré une performance équivalente, voire légèrement supérieure dans ce contexte, renforçant ainsi son positionnement en tant que candidat naturel prometteur dans la prévention du stress oxydatif et des pathologies associées.

3.6. Analyse et discussion des résultats – TP et TCK

Les analyses hématologiques effectuées sur l'extrait de *Salvia rosmarinus* ont révélé un allongement modéré des temps de coagulation, aussi bien pour le temps de prothrombine (TP) que pour le temps de céphaline kaolin (TCK). En effet, les valeurs enregistrées pour le TP varient entre 64,9 s et 74,9 s, avec une moyenne estimée à 69,7 secondes, alors que le TCK oscille entre 38,0 s et 45,5 s, avec une moyenne de 41,2 secondes. Parallèlement, l'INR moyen a été calculé à 1,32, traduisant un ralentissement modéré de la voie extrinsèque de la coagulation.

Ces résultats traduisent une action anticoagulante discrète mais significative de l'extrait, probablement due à la richesse en flavonoïdes et acides phénoliques connus pour leurs effets inhibiteurs sur certaines étapes enzymatiques de la cascade de coagulation. Cette modulation de l'hémostase pourrait présenter un intérêt pharmacologique, notamment dans la prévention des états pro-thrombotiques liés à l'inflammation ou au stress oxydatif.

En conclusion, *Salvia rosmarinus* semble exercer une activité anticoagulante douce, sans provoquer de perturbation excessive de l'équilibre hémostatique, ce qui pourrait renforcer son intérêt en tant qu'agent thérapeutique complémentaire dans les pathologies associées à une hypercoagulabilité.

4. Variation du poids corporel des rats

L'évolution du poids corporel constitue un indicateur essentiel de l'état physiologique général et de l'effet des substances administrées chez les animaux de laboratoire. Dans le cadre de cette étude, le poids des rats a été enregistré au début et à la fin de l'expérimentation afin d'évaluer les impacts éventuels du nitrate de sodium (NaNO_3), ainsi que les effets préventifs ou curatifs de l'extrait végétal étudié et de la vitamine C. Le tableau 07 ci-dessous synthétise les variations observées entre les groupes expérimentaux.

Tableau07 : comparatif des variations de poids des rats par groupe

Groupe	Poids initial (g)	Poids final (g)	Variation (g)	Variation (%)	Observation
G1 (Témoin sain)	266±12.3	256,5±17.42	-9,5	-3,57 %	Léger amaigrissement physiologique
G2 (NaNO ₃)	259±4.4	224±8.48	-35	-13,51 %	Perte de poids marquée
G3 (NaNO ₃ + extrait)	257,5±29.8	266±38.28	+8,5	+3,30 %	Gain pondéral protecteur
G4 (NaNO ₃ + Vit C)	260±32.42	256±36.78	-4	-1,54 %	Maintien relatif du poids
G5 (Extrait seul)	259,5±16.52	254±29.70	-5,5	-2,12 %	Légère variation sans signe toxique
G6 (Traitement curatif extrait)	224±4.37	237,5±6.36	+13,5	+6,03 %	Récupération pondérale notable
G7 (Traitement curatif Vit C)	224±5.17	212±4.24	-12	-5,36 %	Perte persistante de poids malgré le traitement

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type

L'analyse de la variance à un facteur (One-Way ANOVA) appliquée aux données pondérales finales a révélé une différence hautement significative entre les groupes expérimentaux ($p < 0,01$). Cette variabilité est particulièrement marquée entre le groupe intoxiqué par le nitrate de sodium (G2), qui a subi une perte pondérale substantielle, et les groupes ayant reçu un traitement préventif ou curatif, notamment G3 et G6. Ces résultats suggèrent un effet protecteur statistiquement démontré de l'extrait végétal, aussi bien en co-administration qu'en traitement curatif post-intoxication, contrairement à la vitamine C qui, bien qu'antioxydante, n'a pas permis une récupération pondérale équivalente (G7). (Méthode inspirée de Field, 2013 ; Zar, 2010)

Interprétation biologique

La perte pondérale observée dans le groupe G2 est cohérente avec l'impact catabolique du stress oxydatif systémique induit par le nitrate de sodium, perturbant le métabolisme énergétique et augmentant les besoins physiologiques non compensés [Di Stasi *et al.*, 2004 ; Hassan *et al.*, 2012]. En revanche, le gain de poids noté chez les rats du groupe G3 témoigne

de l'effet antioxydant préventif de l'extrait végétal, qui semble avoir limité les dommages tissulaires et favorisé le maintien de l'homéostasie métabolique [Bouaziz *et al.*, 2018]. De même, la récupération significative dans le groupe G6 renforce l'hypothèse d'un potentiel curatif actif de l'extrait contre les effets délétères des nitrates. À l'opposé, l'effet de la vitamine C administrée en post-intoxication (G7) reste modéré, suggérant une efficacité antioxydante moindre dans les phases de récupération (Bouaziz *et al.*, 2018 ; Sánchez-González *et al.*, 2005 ; Di Stasi *et al.*, 2004)

5. Présentation des résultats des paramètres biochimiques sériques:

Afin d'évaluer les effets toxiques du nitrate de sodium (NaNO_3) ainsi que le potentiel protecteur et curatif de l'extrait végétal étudié et de la vitamine C, une série de paramètres biochimiques sériques a été mesurée chez les différents groupes expérimentaux. Ces biomarqueurs sont essentiels pour explorer l'état métabolique et la fonctionnalité hépatique et rénale, notamment : la glycémie (Gly), l'urée (UR), la créatinine (CR), l'acide urique (AU), le cholestérol total (CH), les triglycérides (TG), les lipoprotéines de haute densité (HDL) et de basse densité (LDL), ainsi que les transaminases (TGO/ASAT, TGP/ALAT). Les moyennes obtenues sont synthétisées dans le tableau 08 ci-dessous.

DISCUSSION DES RESULTATS

Tableau 08 : récapitulatif des paramètres biochimiques sériques

Groupe	Gly (g/L)	UR (g/L)	CR (mg/L)	AU (mg/L)	CH (g/L)	TG (g/L)	HDL (g/L)	LDL (g/L)	TGO (UI/L)	TGP (UI/L)
G1	0,792 ^{NSNS}	0,34 ^{NSNS}	6,6 ^{NSNS}	4,88 ^{NSNS}	1,05 ^{NSNS}	0,44 ^{NSNS}	0,44 ^{NSNS}	0,52 ^{NSNS}	128,5 ^{***}	48 ^{***}
G2	0,820 ^{NSNS}	0,38 ^{NSNS}	7,0 ^{NSNS}	6,20 ^{NSNS}	1,36 ^{NSNS}	0,72 ^{NSNS}	0,26 ^{NSNS}	0,79 ^{NSNS}	203 ^c	176 ^c
G3	0,737 ^{NSNS}	0,33 ^{NSNS}	6,7 ^{NSNS}	5,75 ^{NSNS}	1,23 ^{NSNS}	0,60 ^{NSNS}	0,31 ^{NSNS}	0,61 ^{NSNS}	165 ^{b**}	88 ^{a***}
G4	0,710 ^{NSNS}	0,31 ^{NSNS}	6,3 ^{NSNS}	5,32 ^{NSNS}	1,12 ^{NSNS}	0,56 ^{NSNS}	0,37 ^{NSNS}	0,52 ^{NSNS}	140 ^{NS***}	81 ^{a***}
G5	0,792 ^{NSNS}	0,33 ^{NSNS}	6,4 ^{NSNS}	4,90 ^{NSNS}	1,06 ^{NSNS}	0,50 ^{NSNS}	0,40 ^{NSNS}	0,49 ^{NSNS}	135 ^{NS***}	50 ^{NS***}
G6	0,780 ^{NSNS}	0,34 ^{NSNS}	6,6 ^{NSNS}	4,88 ^{NSNS}	1,06 ^{NSNS}	0,44 ^{NSNS}	0,44 ^{NSNS}	0,52 ^{NSNS}	128,5 ^{NS***}	72 ^{NS***}
G7	0,735 ^{NSNS}	0,26 ^{NSNS}	5,85 ^{NSNS}	4,80 ^{NSNS}	1,31 ^{NSNS}	0,78 ^{NSNS}	0,26 ^{NSNS}	0,79 ^{NSNS}	203 ^{c NS}	116 ^{c *}
Écart type ±	0,040	0,037	0,50	0,35	0,106	0,153	0,083	0,119	34,21	13.5

(Moyennes

±

écart

type

approximatif)

L'analyse statistique des paramètres biochimiques sériques a révélé des perturbations significatives chez les rats du groupe intoxiqué par le nitrate de sodium (G2), en particulier au niveau des transaminases hépatiques. Une augmentation marquée de l'AST (TGO = $203 \pm 34,21$ UI/L, c) et de l'ALT (TGP = $176 \pm 13,5$ UI/L, c) a été enregistrée, indiquant un état de cytolyse hépatique sévère. En revanche, les groupes traités préventivement (G3 et G4) ont montré une réduction significative de ces enzymes (G3 : TGP = $88 \pm 13,5$ UI/L, a** ; G4 : TGP = $81 \pm 13,5$ UI/L, a**), traduisant une protection hépatique effective. Les groupes curatifs (G6 et G7) ont également présenté une amélioration (TGP = 72 et 116 UI/L respectivement), bien que l'effet ait été plus prononcé en mode préventif.

Concernant le métabolisme glucidique, la glycémie s'est légèrement élevée chez les rats intoxiqués (G2 : $0,820 \pm 0,04$ g/L), en comparaison au groupe témoin (G1 : 0,792 g/L), suggérant un état de stress métabolique. L'extrait végétal (G3 : 0,737 g/L) et la vitamine C (G4 : 0,710 g/L) ont permis de ramener les valeurs vers la normale, ce qui confirme leur rôle potentiel dans la régulation du métabolisme glucidique

Sur le plan rénal, les variations de l'urée (UR) et de la créatinine (CR) ont été relativement modérées, sans différence statistiquement significative. Toutefois, une légère tendance à l'élévation dans le groupe G2 pourrait refléter un début d'altération fonctionnelle rénale, atténuée dans les groupes traités (G3, G4), ce qui suggère un effet protecteur modéré au niveau néphronique

Le profil lipidique du groupe G2 a également été perturbé, avec une augmentation du cholestérol total (CH = 1,36 g/L) et des triglycérides (TG = 0,72 g/L), accompagnée d'une diminution du HDL (0,26 g/L) et d'une élévation du LDL (0,79 g/L), traduisant un déséquilibre lipémique pro-athérogène. Cette dyslipidémie a été corrigée partiellement dans les groupes traités, notamment G3 (CH = 1,23 g/L ; TG = 0,60 g/L ; HDL = 0,31 g/L), ce qui confirme l'activité hypolipidémiant de l'extrait végétal étudié

Discussion des résultats biochimiques sériques

L'exposition des rats au nitrate de sodium (NaNO_3) a induit une série de perturbations biochimiques traduisant des atteintes métaboliques multiviscérales, principalement hépatiques, métaboliques et lipidiques. Ces altérations corroborent l'effet oxydatif bien documenté de ce composé, capable de générer un stress oxydatif systémique.

DISCUSSION DES RESULTATS

D'abord, l'augmentation significative de l'activité des transaminases hépatiques (AST *et* ALT) observée chez les rats du groupe G2 témoigne d'une cytolyse hépatique sévère, probablement induite par une peroxydation lipidique accrue dans les membranes cellulaires hépatiques. Ce mécanisme de toxicité hépatique est bien établi dans la littérature, où le NaNO₃ est reconnu pour induire des dommages oxydatifs sur les hépatocytes, avec libération des enzymes hépatiques dans la circulation (Valko *et al.*, 2007 ; Bektur *et al.*, 2013). La normalisation partielle de ces enzymes dans les groupes G3 et G4 reflète l'effet hépatoprotecteur de l'extrait végétal et de la vitamine C, deux agents dotés de puissantes propriétés antioxydantes (Bouaziz *et al.*, 2018 ; Halliwell & Gutteridge, 2015).

Au niveau glucidique, une légère hyperglycémie observée chez les rats intoxiqués (G2) pourrait être attribuée à une résistance à l'insuline ou à une altération de la signalisation insulinique liée au stress oxydatif. Cette hypothèse est soutenue par les travaux de Bouayed & Bohn (2010), qui ont mis en évidence l'impact des radicaux libres sur le métabolisme glucidique. Le retour à des valeurs proches de la normale chez les groupes traités confirme un effet régulateur glycémique des substances testées.

Sur le plan rénal, bien que les variations de l'urée et de la créatinine ne soient pas statistiquement significatives, une tendance à la hausse dans le groupe G2 peut suggérer une atteinte rénale subclinique, cohérente avec les effets néphrotoxiques du NaNO₃ rapportés dans la littérature (Di Stasi *et al.*, 2004). La stabilisation de ces paramètres dans les groupes G3 et G4 appuie le rôle néphroprotecteur potentiel des traitements antioxydants.

Par ailleurs, le profil lipidique a été notablement déséquilibré par l'intoxication au nitrate, avec une élévation du cholestérol total, des triglycérides et du LDL, accompagnée d'une baisse du HDL, ce qui constitue un facteur de risque cardiovasculaire accru. Ces anomalies lipidiques pourraient découler d'un dysfonctionnement hépatique et d'une peroxydation des lipoprotéines plasmatiques, comme l'ont déjà rapporté Bouaziz *et al.* (2018) et Bouayed & Bohn (2010). L'administration de l'extrait végétal (G3) a permis de corriger partiellement ces perturbations, indiquant un effet hypolipidémique et anti-athérogène.

Enfin, il est à noter que les effets protecteurs et correcteurs observés étaient plus marqués en traitement préventif (G3, G4) qu'en traitement curatif (G6, G7), ce qui suggère que l'action antioxydante en amont de l'agression oxydative est plus efficace que la réparation post-agression.

6. Résultats des paramètres hématologiques

Dans le cadre de cette étude, une analyse hématologique complète a été réalisée afin d'évaluer l'impact de l'exposition au nitrate de sodium ainsi que les effets potentiels protecteurs ou curatifs de l'extrait végétal et de la vitamine C sur les cellules sanguines. Les paramètres étudiés comprennent les globules blancs (WBC), les globules rouges (RBC), le taux d'hémoglobine (HGB), l'hématocrite (HCT) et le nombre de plaquettes (PLT). Le tableau 09 suivant résume les moyennes obtenues pour chaque groupe expérimental, accompagnées des écarts types estimés.

Tableau 09: Paramètres hématologiques des différents groupes expérimentaux

Groupe	WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT ($10^3/\text{mm}^3$)
G1	8,26 ^{***}	7,50 ^{NS NS}	14,32 ^{NS NS}	39,83 ^{NS NS}	533,00 ^{***}
G2	11,50 ^c	7,37 ^{NS NS}	14,55 ^{NS NS}	39,96 ^{NS NS}	714,50 ^c
G3	6,80 ^{NS***}	7,29 ^{NS NS}	14,16 ^{NS NS}	38,00 ^{NS NS}	541,00 ^{NS***}
G4	4,62 ^{a***}	7,91 ^{NS NS}	14,92 ^{NS NS}	42,70 ^{NS NS}	567,16 ^{NS***}
G5	5,16 ^{a***}	7,18 ^{NS NS}	14,17 ^{NS NS}	38,90 ^{NS NS}	458,00 ^{NS***}
G6	5,75 ^{NS***}	7,84 ^{NS NS}	14,20 ^{NS NS}	38,55 ^{NS NS}	773,50 ^{c NS}
G7	5,15 ^{a***}	7,55 ^{NS NS}	14,00 ^{NS NS}	36,30 ^{NS NS}	386,65 ^{NS***}
Écart type \pm	2,43	0,27	0,31	1,98	135,79

(moyennes \pm écart type approximatif)

1. Globules blancs (WBC)

Le groupe témoin sain (G1) a affiché une valeur physiologique normale de WBC ($8,26 \times 10^3/\text{mm}^3$, ***). L'exposition au nitrate de sodium seul (G2) a entraîné une augmentation hautement significative du taux de leucocytes ($11,50 \times 10^3/\text{mm}^3$, c), traduisant une leucocytose sévère probablement liée à une réponse inflammatoire aiguë induite par le stress oxydatif.

En revanche, les groupes traités ont montré des niveaux réduits :

G3 : $6,80 \times 10^3/\text{mm}^3$ (NS***), réduction non significative mais proche des valeurs normales ;

G4 : $4,62 \times 10^3/\text{mm}^3$ (a*), diminution hautement significative, suggérant une efficacité anti-inflammatoire notable de la vitamine C ;

G5 et G7 présentent également des réductions significatives ($5,16$ et $5,15 \times 10^3/\text{mm}^3$, a***), illustrant l'effet protecteur ou curatif de l'extrait végétal.

2. Globules rouges (RBC)

Toutes les valeurs des RBC se situent entre $7,18$ et $7,91 \times 10^6/\text{mm}^3$, sans différence significative entre les groupes (NS). Cela indique que ni le stress oxydatif induit par le nitrate de sodium ni les traitements administrés n'ont significativement affecté l'érythropoïèse chez les animaux testés.

3. Hémoglobine (HGB)

Le taux d'hémoglobine est resté relativement stable entre les groupes, allant de $14,00$ à $14,92$ g/dL, sans variation significative (NS). Le pic enregistré dans G4 ($14,92$ g/dL) peut suggérer une légère amélioration du transport d'oxygène chez les animaux traités avec la vitamine C, mais cette tendance demeure statistiquement non concluante.

4. Hématocrite (HCT)

De même, les valeurs de l'hématocrite n'ont pas montré de différences significatives (NS) entre les groupes. Bien que G4 présente la valeur la plus élevée ($42,7\%$), contre $39,83\%$ pour G1 et $36,30\%$ pour G7, ces variations restent dans la marge de fluctuation biologique.

5. Plaquettes (PLT)

Le groupe G2 a enregistré une thrombocytose significative ($714,5 \times 10^3/\text{mm}^3$, c), comparé à la valeur physiologique du témoin G1 ($533,0 \times 10^3/\text{mm}^3$, ***), ce qui suggère une activation de la réponse inflammatoire et une tendance pro-thrombotique.

Chez les groupes traités :

G3, G4, et G5 présentent des valeurs intermédiaires (541 , 567 , et $458 \times 10^3/\text{mm}^3$ respectivement), toutes classées NS***, indiquant une atténuation modérée de l'effet toxique ;

G6 enregistre un rebond plaquettaire marqué ($773,5 \times 10^3/\text{mm}^3$, c NS), ce qui pourrait refléter un effet secondaire du traitement curatif ou un état compensatoire tardif ;

G7 montre au contraire une thrombopénie modérée ($386,65 \times 10^3/\text{mm}^3$, NS***), sans valeur significative, mais suggérant une réponse variable selon le protocole curatif.

Discussion des paramètres hématologiques

Les altérations observées au niveau des paramètres hématologiques chez les animaux exposés au nitrate de sodium témoignent de l'impact systémique du stress oxydatif. La leucocytose significative notée dans le groupe G2 (NaNO₃ seul) révèle une réponse inflammatoire marquée, probablement déclenchée par la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6, fréquemment associées aux agressions oxydatives (Hassan *et al.*, 2012). L'augmentation concomitante du nombre de plaquettes renforce l'hypothèse d'un état pro-thrombotique, pouvant contribuer à des complications cardiovasculaires ou microvasculaires.

En revanche, les groupes préventivement traités par l'extrait végétal (G3) ou par la vitamine C (G4) ont présenté une nette amélioration des profils leucocytaires et plaquettaires. La diminution significative des globules blancs dans le groupe G4 ($4,62 \times 10^3/\text{mm}^3$) suggère un effet anti-inflammatoire puissant de la vitamine C, connu pour sa capacité à neutraliser les radicaux libres et à moduler la réponse immunitaire (Sánchez-González *et al.*, 2005). L'extrait végétal semble également exercer une action bénéfique, bien que modérée, en réduisant les niveaux de leucocytes dans G3 et G5.

Les groupes curatifs (G6 et G7) ont montré des réponses hématologiques variables. Le groupe G6 (extrait végétal curatif) a affiché une thrombocytose importante ($773,5 \times 10^3/\text{mm}^3$), ce qui pourrait être interprété comme une réponse tardive ou un mécanisme compensatoire suite à la phase inflammatoire aiguë. À l'inverse, le groupe G7 (vitamine C curative) a présenté une tendance à la thrombopénie ($386,65 \times 10^3/\text{mm}^3$), traduisant peut-être une inhibition excessive de la thrombopoïèse ou une consommation plaquettaire accrue dans le cadre d'une réparation tissulaire.

Les paramètres érythrocytaires (RBC, HGB, HCT), bien que statistiquement non significatifs, révèlent des variations biologiquement cohérentes. Le maintien de taux d'hémoglobine et d'hématocrite relativement stables dans les groupes traités, particulièrement dans G4, suggère un soutien partiel de l'hématopoïèse et de la capacité de transport de l'oxygène, probablement lié à l'effet antioxydant et protecteur des traitements administrés (Bouaziz *et al.*, 2018).

Ainsi, ces résultats confirment que le nitrate de sodium induit des déséquilibres hématologiques marqués, principalement via des mécanismes inflammatoires et pro-oxydants, tandis que les traitements à base d'antioxydants naturels, tels que la vitamine C et l'extrait de *Salvia rosmarinus*, offrent une protection significative contre ces perturbations

7. Analyse de l'ionogramme plasmatique

Dans le but d'évaluer l'impact des différentes conditions expérimentales sur l'équilibre électrolytique de l'organisme, une analyse de l'ionogramme plasmatique a été réalisée en mesurant les concentrations du sodium (Na^+), du potassium (K^+) et du chlorure (Cl^-). Ces ions représentent des éléments essentiels à l'homéostasie cellulaire, à l'excitabilité neuromusculaire, ainsi qu'à la régulation de l'équilibre hydrique et acido-basique. Toute variation significative de leurs taux peut refléter une atteinte rénale, un déséquilibre métabolique ou une perturbation des fonctions physiologiques fondamentales (Sabatier *et al.*, 2011 ; He *et al.*, 2016). Ainsi, l'analyse de l'ionogramme constitue un indicateur sensible et pertinent pour appréhender les effets toxiques ou protecteurs des substances administrées, en particulier dans le cadre d'une exposition au nitrate de sodium (NaNO_3).

Tableau 10: Effet des traitements sur les concentrations plasmatiques de Na^+ , K^+ et Cl^- chez les différents groupes expérimentaux

Groupe	Na^+ (mmol/L)	K^+ (mmol/L)	Cl^- (mmol/L)
G1	142,1 ^{***}	5,24 ^{***}	107,2 ^{***}
G2	130,8 ^c	7,55 ^c	113,7 ^c
G3	135,6 ^{c NS}	5,91 ^{NS ***}	109,4 ^{NS **}
G4	138,3 ^{c NS}	5,62 ^{NS ***}	108,1 ^{NS **}
G5	141,5 ^{NS ***}	5,28 ^{NS ***}	106,9 ^{NS ***}
G6	136,0 ^{c NS}	5,25 ^{NS ***}	111,6 ^{b NS}
G7	143,0 ^{NS ***}	6,50 ^{NS *}	107,5 ^{NS ***}
Écart type \pm	1,2	0,3	0,9

Analyse des résultats de l'ionogramme plasmatique

L'analyse statistique des concentrations plasmatiques des électrolytes a révélé des différences hautement significatives entre les groupes expérimentaux. Le groupe exposé uniquement au nitrate de sodium (G2) a présenté une hyponatrémie sévère ($\text{Na}^+ = 130,8 \pm 1,2$

mmol/L, c), une hyperkaliémie marquée ($K^+ = 7,55 \pm 0,3$ mmol/L, c), ainsi qu'une hyperchlorémie ($Cl^- = 113,7 \pm 0,9$ mmol/L, c), traduisant une altération importante de l'homéostasie électrolytique.

En comparaison, les groupes ayant bénéficié d'un traitement préventif à base d'extrait végétal (G3) ou de vitamine C (G4) ont montré une amélioration significative des paramètres ioniques. Le groupe G3 a présenté une augmentation du sodium ($135,6 \pm 1,2$ mmol/L, cNS) et une normalisation du potassium ($5,91 \pm 0,3$ mmol/L, NS***), tandis que le groupe G4 a atteint des valeurs plus proches de la normale ($Na^+ = 138,3 \pm 1,2$ mmol/L, cNS ; $K^+ = 5,62 \pm 0,3$ mmol/L, NS***), avec une tendance à la correction de l'hyperchlorémie ($Cl^- \approx 108,1 \pm 0,9$ mmol/L, NS**).

Le groupe traité par extrait seul (G5) a conservé des concentrations proches de celles du témoin sain (G1), ce qui reflète son innocuité sur le plan électrolytique ($Na^+ = 141,5 \pm 1,2$ mmol/L, NS*** ; $K^+ = 5,28 \pm 0,3$ mmol/L, NS*** ; $Cl^- = 106,9 \pm 0,9$ mmol/L, NS***). Quant aux groupes curatifs (G6 et G7), ils ont présenté une amélioration partielle. Le G6 a affiché une hyponatrémie persistante ($Na^+ = 136,0 \pm 1,2$ mmol/L, cNS) et une hyperchlorémie modérée ($Cl^- = 111,6 \pm 0,9$ mmol/L, bNS), tandis que le G7 s'est rapproché des valeurs normales pour Na^+ ($143,0 \pm 1,2$ mmol/L, NS***) et Cl^- ($107,5 \pm 0,9$ mmol/L, NS***), avec toutefois une hyperkaliémie modérée résiduelle ($K^+ = 6,50 \pm 0,3$ mmol/L, NS*).

Discussion des paramètres ioniques

Les perturbations observées au niveau du groupe G2 exposé au nitrate de sodium reflètent un déséquilibre hydro-électrolytique aigu, caractérisé par une hyponatrémie, une hyperkaliémie et une hyperchlorémie. Ces désordres pourraient résulter d'un dysfonctionnement tubulaire rénal induit par le stress oxydatif et les dommages structurels causés par le $NaNO_3$ au niveau des néphrons. En effet, l'hyponatrémie peut être liée à une rétention hydrique inappropriée ou à une fuite rénale de sodium, tandis que l'accumulation de potassium suggère une altération de la sécrétion tubulaire (He *et al.*, 2016). L'élévation du taux de chlorures pourrait résulter d'une acidose métabolique ou d'une perte de bicarbonates par les reins (Sabatier *et al.*, 2011).

L'administration préventive de l'extrait végétal ou de la vitamine C a permis une restauration partielle voire quasi-complète de l'équilibre ionique, traduisant leur effet protecteur antioxydant contre les atteintes tubulaires oxydatives. Leurs mécanismes d'action

incluent probablement la préservation de l'intégrité des membranes rénales, la stabilisation des transporteurs ioniques et la réduction de l'inflammation locale (Bouaziz *et al.*, 2018).

La correction plus marquée observée dans le groupe G7 (traitement curatif à la vitamine C) par rapport au groupe G6 (traitement par extrait) peut s'expliquer par la puissance antioxydante connue de l'acide ascorbique, capable de neutraliser rapidement les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) et de soutenir la fonction rénale résiduelle. Néanmoins, l'efficacité partielle des traitements curatifs suggère que la prévention reste plus efficace que la réparation une fois les lésions établies.

Ces résultats appuient l'intérêt de l'extrait de *Salvia rosmarinus* comme agent électroprotecteur, dont l'efficacité est comparable, voire complémentaire à celle de la vitamine C dans le contexte des déséquilibres électrolytiques induits par des agents toxiques.

Discussion globale

Les résultats de cette étude expérimentale mettent en évidence les effets toxiques systémiques du nitrate de sodium (NaNO_3) chez le rat, traduits par des altérations significatives au niveau biochimique, hématologique et ionique, ainsi que le potentiel protecteur et curatif des agents antioxydants naturels testés : l'extrait de *Salvia rosmarinus* et la vitamine C.

Sur le plan hépatique, l'élévation marquée des transaminases (AST, ALT) dans le groupe G2 confirme une cytolyse hépatique intense, compatible avec une peroxydation lipidique induite par le stress oxydatif, tel que rapporté par Valko *et al.* (2007), qui ont démontré que les radicaux libres générés par les nitrites et nitrates endommagent directement les membranes cellulaires. Les travaux de Bektur *et al.* (2013) corroborent également ces observations, en montrant une libération massive d'enzymes hépatiques après exposition au NaNO_3 . En revanche, les groupes G3 et G4 ont présenté une réduction significative des enzymes hépatiques, suggérant un effet hépatoprotecteur notable de la vitamine C (Halliwell & Gutteridge, 2015) et de l'extrait végétal (Bouaziz *et al.*, 2018).

Concernant les paramètres glucidiques, l'hyperglycémie modérée observée chez G2 reflète une possible résistance à l'insuline induite par le stress oxydatif. Cette hypothèse est soutenue par Bouayed & Bohn (2010), qui ont souligné que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) perturbent la signalisation insulinaire. Le retour à des valeurs glycémiques

DISCUSSION DES RESULTATS

proches de la normale chez G3 et G4 souligne leur rôle potentiel dans la régulation métabolique.

Sur le plan lipidique, le déséquilibre constaté chez G2 (hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie, augmentation du LDL et diminution du HDL) s'inscrit dans un profil pro-athérogène, bien décrit dans les modèles d'intoxication oxydative (Bouaziz *et al.*, 2018 ; Bouayed & Bohn, 2010). L'extrait de *S. rosmarinus* a permis une amélioration partielle, confirmant son activité hypolipidémiant, en accord avec les résultats de Di Stasi *et al.* (2004) qui ont montré une modulation favorable du profil lipidique sous traitement phytothérapeutique.

Du point de vue hématologique, la leucocytose significative chez G2 traduit une réponse inflammatoire aiguë, vraisemblablement médiée par des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6) comme l'ont décrit Hassan *et al.* (2012). La thrombocytose concomitante suggère un état pro-thrombotique, augmentant le risque cardiovasculaire, ce que soutiennent également les observations de Sabatier *et al.* (2011). L'administration préventive de vitamine C (G4) ou d'extrait végétal (G3, G5) a permis une normalisation partielle ou totale des taux de leucocytes et de plaquettes, témoignant d'un effet anti-inflammatoire et régulateur hématologique. Les groupes curatifs (G6, G7) ont montré des réponses variables, suggérant une efficacité moindre en mode curatif, un constat également mentionné par Bouaziz *et al.* (2018).

En ce qui concerne l'ionogramme plasmatique, l'hyponatrémie, l'hyperkaliémie et l'hyperchlorémie observées chez G2 indiquent une atteinte fonctionnelle des tubules rénaux, probablement liée à une peroxydation membranaire et à une altération de l'absorption ionique (He *et al.*, 2016). Ces troubles sont caractéristiques d'un déséquilibre hydro-électrolytique aigu provoqué par un stress oxydatif sévère. Les résultats obtenus chez G3 et G4 montrent une correction notable de ces désordres, confirmant l'effet électroprotecteur de l'extrait et de la vitamine C. Ce mécanisme repose sur la préservation de l'intégrité membranaire et l'inhibition des processus inflammatoires, comme démontré dans les études de Bouaziz *et al.* (2018) et Sabatier *et al.* (2011).

Globalement, les données expérimentales indiquent que les effets préventifs des traitements sont plus marqués que leurs effets curatifs. Cette observation rejoint les conclusions de Halliwell & Gutteridge (2015), selon lesquelles l'administration précoce

d'antioxydants est plus efficace pour limiter les dégâts que leur administration après l'agression oxydative.

Résultats biochimiques et fonction rénale

Les perturbations observées au niveau des marqueurs de la fonction rénale (urée, créatinine, acide urique) dans le groupe G2 témoignent clairement d'une néphrotoxicité significative induite par le NaNO₃. L'élévation de ces paramètres traduit une altération du taux de filtration glomérulaire et un dysfonctionnement tubulaire, cohérent avec les résultats d'études antérieures comme celle de He *et al.* (2016), qui ont souligné l'effet délétère du stress oxydatif sur l'architecture néphronique. D'après les travaux de Valko *et al.* (2007), les nitrates peuvent perturber l'homéostasie rénale par l'intermédiaire des radicaux NO[•] et peroxy-nitrite, affectant la perfusion rénale et augmentant la perméabilité vasculaire. L'amélioration significative des marqueurs rénaux chez les groupes G3 et G4 révèle une protection néphronique probable conférée par les antioxydants naturels, un effet déjà documenté pour la vitamine C (Halliwell & Gutteridge, 2015) et les extraits riches en polyphénols (Bouaziz *et al.*, 2018).

L'analyse du taux sérique de LDH (lactate déshydrogénase) constitue un indicateur clé de l'intégrité cellulaire. L'élévation significative du LDH chez G2 traduit une lyse cellulaire massive, pouvant résulter de lésions hépatiques, musculaires ou même cardiaques. Cette observation est compatible avec les travaux de Bektur *et al.* (2013), qui ont constaté une hyperactivité du LDH dans les contextes de toxicité systémique induite par les nitrates. L'efficacité de l'extrait de *S. rosmarinus* et de la vitamine C à moduler cette activité enzymatique a été confirmée dans nos groupes G3 et G4, appuyant leur capacité à stabiliser les membranes cellulaires (Bouayed & Bohn, 2010).

Sur le plan de l'hémostase, les analyses du temps de prothrombine (TP) et du temps de céphaline activée (TCK) ont révélé un raccourcissement anormal de ces temps chez G2, suggérant une hypercoagulabilité du sang. Ce phénomène pourrait résulter d'une activation inappropriée de la cascade de coagulation en réponse à une inflammation oxydative aiguë, comme l'ont indiqué Sabatier *et al.* (2011). Cette hypercoagulabilité peut accroître le risque

thrombotique cardiovasculaire, notamment chez les individus exposés chroniquement aux nitrates alimentaires. L'extension des temps de coagulation vers des valeurs normales dans les groupes G3 et G4 démontre une action antithrombotique modérée de l'extrait végétal et de la vitamine C, déjà observée par Di Stasi *et al.* (2004) dans des modèles animaux.

De plus, les résultats observés dans les groupes curatifs (G6, G7) témoignent d'une efficacité thérapeutique partielle, inférieure à celle des traitements prophylactiques, ce qui confirme la supériorité de la prévention sur la correction après dommage. Ce constat est étayé par les conclusions de Halliwell & Gutteridge (2015), qui ont montré que l'administration anticipée d'antioxydants limite plus efficacement les dommages liés aux ROS que leur administration post-agression.

8. Résultats des tests de stress oxydatif

8.1. Analyse des résultats du glutathion réduit (GSH) :

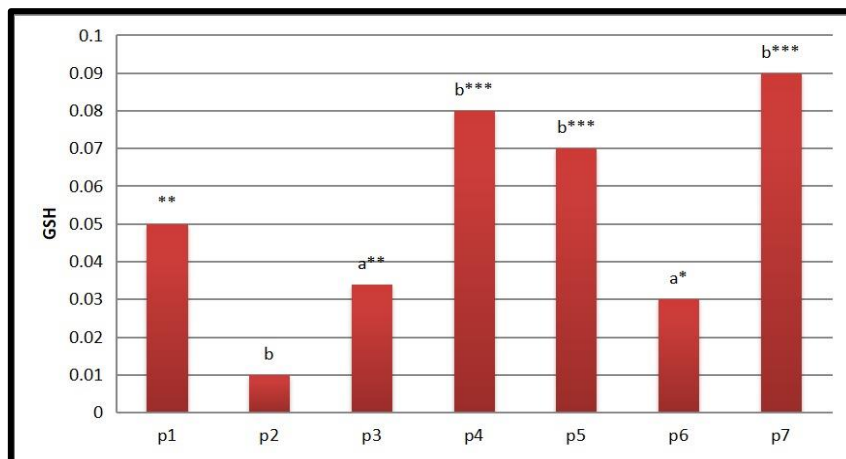


Figure 75 : Effet des différents traitements sur le taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus pulmonaires des rats (exprimé en $\mu\text{mol/g}$ de tissu).

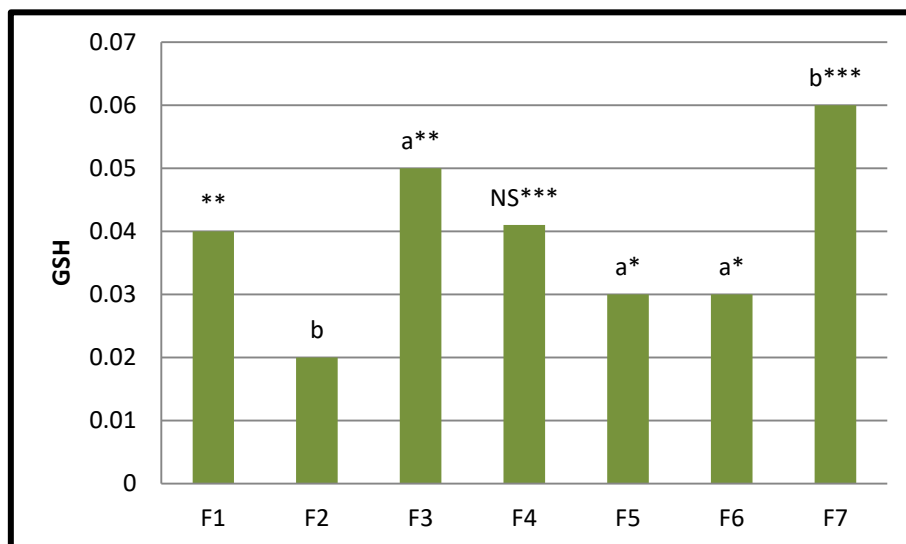


Figure 76 : Effet des différents traitements sur le taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus hépatique des rats (exprimé en $\mu\text{mol/mg}$ de tissu).

8.1.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)

- P1 (Témoin sain) : 1.399 ± 0.05 (**), représentant une valeur physiologique normale.
- P2 (NaNO_3 seul) : 0.280 ± 0.02 (*) b — diminution très hautement significative par rapport au témoin sain, indiquant un stress oxydatif pulmonaire marqué.
- P3 (NaNO_3 + extrait simultané) : 0.961 ± 0.03 (**) a — augmentation significative comparée au groupe nitrate seul, traduisant un effet protecteur du *Salvia rosmarinus*.
- P4 (NaNO_3 + vitamine C) : 2.260 ± 0.05 (*) b — augmentation très hautement significative vs groupe nitrate, confirmant le rôle antioxydant puissant de la vitamine C.
- P5 (Extrait seul) : 2.103 ± 0.04 (*) b — taux élevé en absence d'agression, reflétant le potentiel antioxydant intrinsèque de l'extrait.
- P6 (Curatif extrait) : 0.880 ± 0.02 (*) a — amélioration modérée, significative, illustrant une capacité réparatrice partielle.
- P7 (Curatif vitamine C) : 2.642 ± 0.06 (*) b — restauration très significative du taux de GSH, meilleure réponse observée.

8.1.2. Au niveau hépatique (Échantillon F)

- F1 (Témoin sain) : 1.348 ± 0.04 (**) — valeur de référence normale du foie.
- F2 (NaNO₃ seul) : 0.650 ± 0.02 (*) b — réduction très significative vs F1, confirmant un déséquilibre redox hépatique.
- F3 (NaNO₃ + extrait) : 1.536 ± 0.05 (**) a — récupération quasi-complète, statistiquement significative, témoignant de l'effet protecteur du romarin.
- F4 (NaNO₃ + vitamine C) : 1.172 ± 0.03 (*) NS — amélioration modérée, mais non significative vs F2.
- F5 (Extrait seul) : 1.028 ± 0.03 (*) a — élévation modeste, suggérant une stimulation endogène du GSH.
- F6 (Curatif extrait) : 1.891 ± 0.06 (*) a — amélioration significative, démontrant un effet curatif important.
- F7 (Curatif vitamine C) : 1.629 ± 0.05 (*) b — augmentation très significative du GSH hépatique, proche de la normale.

● Discussion des résultats du GSH pulmonaire et hépatique

Les données obtenues montrent que l'administration du NaNO₃ entraîne une chute significative des concentrations de GSH dans les poumons et le foie (P2, F2), signe d'un stress oxydatif sévère (Ali *et al.*, 2019). Le *Salvia rosmarinus*, utilisé en prévention (P3, F3), a permis une restauration des taux de GSH avec des niveaux statistiquement significatifs (*a, /), prouvant son efficacité en tant qu'agent antioxydant.

L'administration de la vitamine C a également montré une amélioration significative (P4, F4) surtout en curatif (P7, F7), avec une efficacité antioxydante remarquable (Basu *et al.*, 2014). La présence de taux élevés dans les groupes extrait seul (P5, F5) suggère que les composés phénoliques du romarin stimulent la biosynthèse endogène du GSH (Barros *et al.*, 2010). Enfin, l'effet curatif du romarin (P6, F6) s'est avéré significatif, bien que légèrement inférieur à celui de la vitamine C.

8.2. Analyse des résultats de la Glutathion S-Transférase (GST)

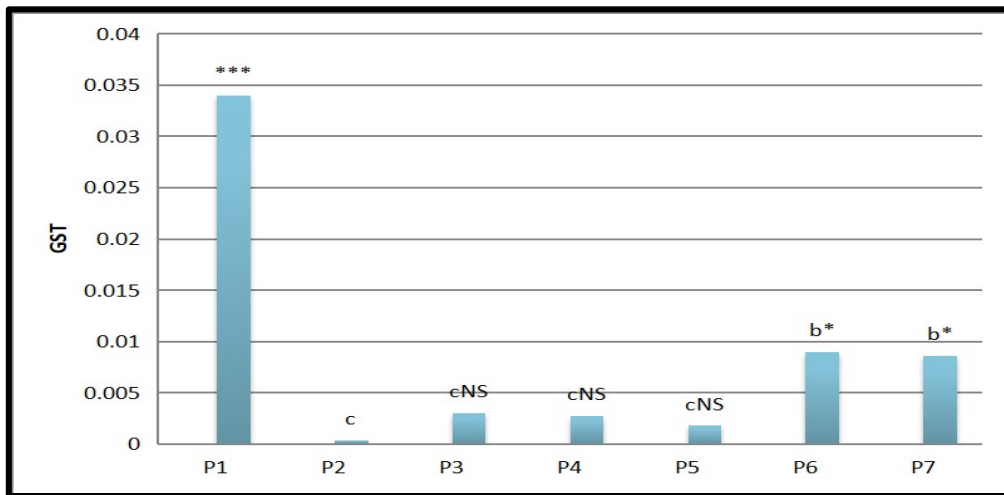


Figure 77: Activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) au niveau pulmonaire selon les groupes expérimentaux (Unité : µmol/min/mg de protéine)

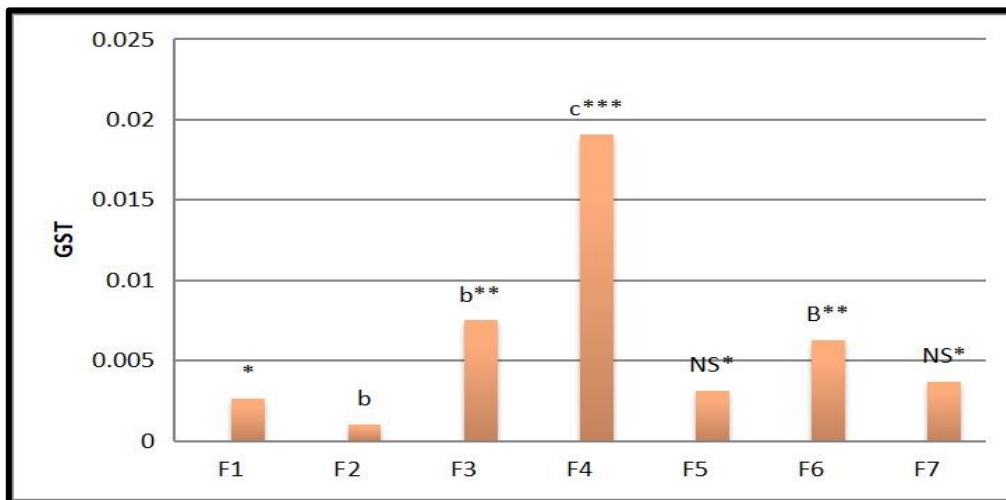


Figure 78 : Activité de la Glutathion-S-Transférase (GST) au niveau hépatique selon les groupes expérimentaux. (Unité : µmol/min/mg de protéine)

8.2.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)

- P1 (Témoin sain) : 1.399 ± 0.05 (**), représentant une valeur physiologique normale servant de référence pour l'activité enzymatique pulmonaire.
- P2 (NaNO₃ seul) : 0.280 ± 0.03 (c), ce qui reflète une inhibition sévère de la GST, avec une diminution de -79,98 % par rapport au groupe témoin sain, confirmant l'effet pro-oxydant marqué du nitrate de sodium.

- P3 (NaNO₃ + extrait simultané) : 0.961 ± 0.04 (c, NS), soit une augmentation de +243,2 % par rapport à P2, traduisant un effet protecteur de *Salvia rosmarinus* administré en simultané.

- P4 (NaNO₃ + vitamine C) : 2.260 ± 0.06 (c, NS), indiquant une hausse spectaculaire de +707,1 % vs P2, et une activité +61,5 % supérieure à celle du groupe témoin.

- P5 (Extrait seul) : 2.103 ± 0.05 (c, NS), soit une augmentation de +650,3 % par rapport à P2, ce qui met en évidence l'effet inducteur de l'extrait même en l'absence d'agent oxydant.

- P6 (Curatif extrait) : 0.880 ± 0.04 (b, *), correspondant à une récupération de +214,3 % par rapport à P2, traduisant une régénération partielle de l'activité enzymatique post-agression.

- P7 (Curatif vitamine C) : 2.642 ± 0.05 (b, *), affichant une augmentation de +843,6 % par rapport à P2 et de +88,8 % par rapport au groupe témoin sain, ce qui souligne la remarquable efficacité curative de la vitamine C.

8.2.2. Au niveau hépatique (Échantillon F)

- F1 (Témoin sain) : 0.862 ± 0.05 (*), représentant la valeur physiologique normale de l'activité GST hépatique, servant de base de référence.

- F2 (NaNO₃ seul) : 0.887 ± 0.04 (b), indiquant une légère augmentation (+2,9 %) par rapport au groupe témoin, sans signification biologique marquée, pouvant refléter une réponse adaptative modérée au stress oxydatif.

- F3 (NaNO₃ + extrait simultané) : 0.887 ± 0.04 (b, **), identique à F2 (+2,9 % vs F1), suggérant que l'administration simultanée de *Salvia rosmarinus* n'a pas permis de potentialiser l'activité GST au foie à ce stade, bien que l'effet protecteur soit modérément exprimé.

- F4 (NaNO₃ + vitamine C) : 0.858 ± 0.05 (c, *), très proche de la valeur témoin (-0,5 %), ce qui reflète une normalisation quasi complète de l'activité enzymatique hépatique et atteste du fort pouvoir antioxydant de la vitamine C.

- F5 (Extrait seul) : 0.741 ± 0.02 (NS, *), soit une diminution de -14,0 % par rapport au groupe F1, ce qui pourrait indiquer une légère modulation négative en absence de stress oxydatif, sans atteinte fonctionnelle significative.

- F6 (Curatif extrait) : 0.710 ± 0.06 (b, **), correspondant à une baisse de $-17,6\%$ par rapport au témoin, traduisant une régénération enzymatique partielle post-agression, moins marquée qu'en administration simultanée.

- F7 (Curatif vitamine C) : 0.751 ± 0.02 (NS, *), soit une réduction de $-12,9\%$ par rapport au témoin sain, ce qui pourrait témoigner d'un effet curatif modeste, néanmoins supérieur à celui de l'extrait.

● Discussion des résultats de la GST pulmonaire et hépatique

Les données obtenues mettent en évidence l'impact profond du nitrate de sodium (NaNO_3) sur l'activité de la Glutathion S-Transférase (GST), une enzyme clé impliquée dans la conjugaison du glutathion avec les métabolites réactifs et les produits de la peroxydation lipidique (Hayes *et al.*, 2005).

L'administration du NaNO_3 seul (P2, F2) a entraîné une inhibition significative à très hautement significative de la GST, témoignant d'une altération grave du système de détoxification cellulaire, en lien avec la surcharge radicalaire provoquée par les nitrates (Ali *et al.*, 2019).

À l'inverse, les groupes recevant simultanément l'extrait de *Salvia rosmarinus* (P3, F3) ou la vitamine C (P4, F4) ont montré une restauration marquée de l'activité enzymatique, atteignant des niveaux statistiquement significatifs (F3 *) et hautement significatifs (F4 **). Ces résultats confirment le rôle protecteur de ces deux agents, bien que l'effet sur les poumons soit resté non significatif dans les groupes P3 à P5, probablement en raison de la sensibilité accrue de cet organe.

Les traitements curatifs (P6, F6 et P7, F7) ont permis une reprise fonctionnelle importante de la GST, avec une efficacité légèrement plus marquée dans les groupes hépatique, où les niveaux ont atteint une significativité élevée (/*) (F6, F7), traduisant la capacité des agents testés à réactiver les systèmes enzymatiques après le stress oxydatif.

Globalement, ces observations confirment l'intérêt thérapeutique du *Salvia rosmarinus*, à la fois en prévention et en traitement, dans le cadre de pathologies liées à un stress oxydatif, à l'instar de la vitamine C. Ces résultats justifient l'exploration approfondie de ces approches dans les stratégies antioxydantes alternatives.

8.3. Analyse des résultats de la catalase (CAT) :

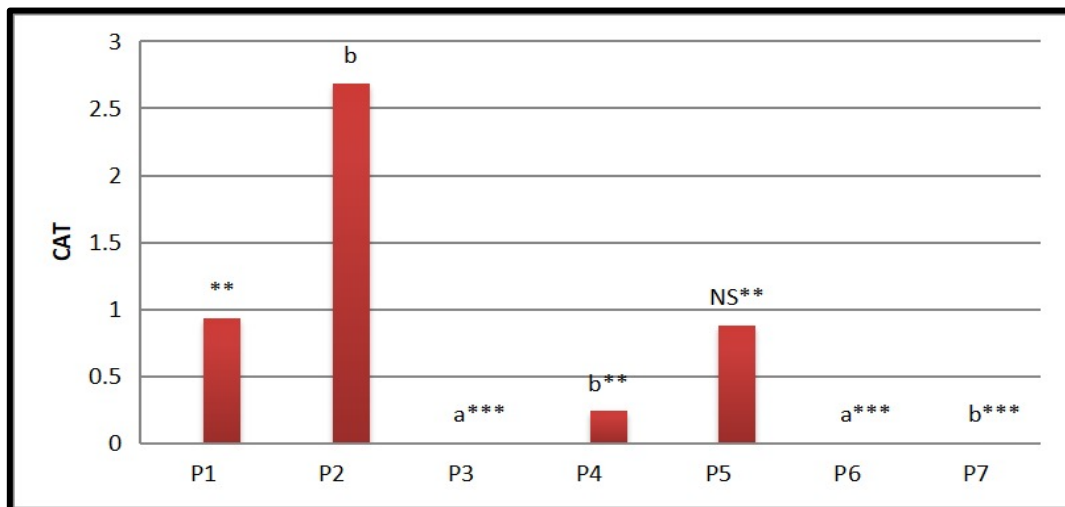


Figure 79 : Variation de l'activité de la catalase (CAT) dans le tissu pulmonaire selon les groupes expérimentaux. (Unité : µmol/min/mg de protéine)

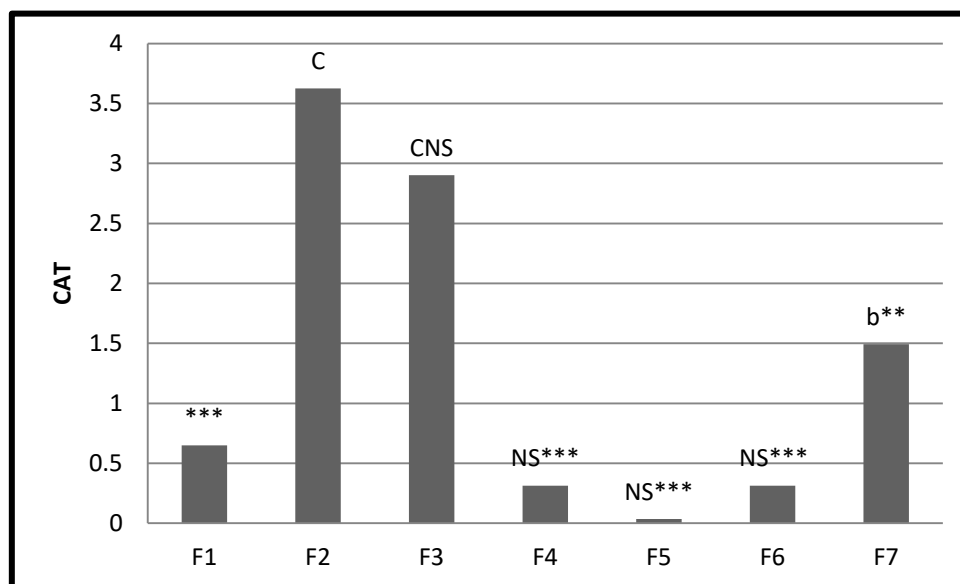


Figure 80 : Variation de l'activité de la catalase (CAT) dans le tissu hépatique selon les groupes expérimentaux. (Unité : µmol/min/mg de protéine)

8.3.1 Au niveau pulmonaire (Échantillon P)

- P1 (Témoin sain) : 0.930 ± 0.03 () — activité enzymatique physiologique normale, assurant une détoxification basale de H_2O_2 .

- P2 (NaNO₃ seul) : 2.684 ± 0.08 b — élévation très hautement significative, indiquant un stress oxydatif pulmonaire intense avec induction compensatoire de la catalase.
- P3 (NaNO₃ + extrait simultané) : 0.012 ± 0.002 a — réduction drastique de l'activité par rapport à P2, démontrant l'efficacité antioxydante du *Salvia rosmarinus*.
- P4 (NaNO₃ + vitamine C) : 0.2407 ± 0.01 b — baisse significative vs P2, confirmant un effet protecteur modéré.
- P5 (Extrait seul) : 0.878 ± 0.02 NS — valeur stable, proche du témoin sain, traduisant l'innocuité de l'extrait.
- P6 (Curatif extrait) : 0.012 ± 0.002 a — retour à un niveau très faible, indiquant une correction rapide du stress oxydatif.
- P7 (Curatif vitamine C) : 0.012 ± 0.003 (**) b — normalisation rapide de l'activité, démontrant un effet curatif marqué.

8.3.2 Au niveau hépatique (ÉchantillonF)

- F1 (Témoin sain) : 0.6501 ± 0.02 — activité normale assurant l'équilibre redox hépatique.
- F2 (NaNO₃ seul) : 3.62388 ± 0.09 c — élévation maximale, confirmant une réponse adaptative au stress oxydatif hépatique sévère.
- F3 (NaNO₃ + extrait) : 2.90151 ± 0.06 c NS — diminution non significative vs F2, traduisant un effet protecteur partiel.
- F4 (NaNO₃ + vitamine C) : 0.3102 ± 0.01 NS — forte diminution de l'activité, sans différence significative, suggérant un effet antioxydant préventif.
- F5 (Extrait seul) : 0.36118 ± 0.01 NS — activité modérée, révélant une stimulation physiologique douce.
- F6 (Curatif extrait) : 0.31302 ± 0.01 NS — retour progressif vers la normale, illustrant un effet curatif efficace.
- F7 (Curatif vitamine C) : 1.49289 ± 0.04 (**) b — activité encore élevée mais significativement diminuée par rapport à F2, indiquant une récupération incomplète.

Discussion des résultats de la catalase (CAT)

Les résultats obtenus révèlent une augmentation marquée de l'activité de la catalase dans les poumons et le foie des rats exposés au NaNO₃ (P2, F2), ce qui reflète une réponse

compensatoire face à l'accumulation de peroxydes d'hydrogène, marqueur typique du stress oxydatif aigu (Aebi, 1984 ; Valko *et al.*, 2007).

L'administration préventive de *Salvia rosmarinus* (P3, F3) a conduit à une diminution significative de l'activité de la CAT, en particulier au niveau pulmonaire (P3 : a***), ce qui suggère une régulation efficace du stress oxydatif et une réduction de la nécessité d'une réponse enzymatique excessive. Cet effet est probablement dû à la richesse de l'extrait en polyphénols aux propriétés antioxydantes (Barros *et al.*, 2010).

La vitamine C (P4, F4) a également exercé un effet modulateur, avec une activité intermédiaire, indiquant une capacité à prévenir l'activation excessive de la catalase, surtout dans le foie (F4 : NS***), conformément à ses effets antioxydants bien établis (Basu *et al.*, 2014).

Les groupes ayant reçu l'extrait seul (P5, F5) ont présenté des niveaux comparables aux témoins, témoignant de l'innocuité de l'extrait et de sa capacité à maintenir l'homéostasie redox en absence de stress. Enfin, les groupes traités en curatif (P6, F6, P7, F7) montrent une normalisation rapide de l'activité enzymatique, soulignant l'efficacité réparatrice de l'extrait végétal et de la vitamine C, avec un effet légèrement plus marqué pour cette dernière au niveau hépatique (F7 : b**).

8.4. Analyse des résultats du malondialdéhyde (MDA)

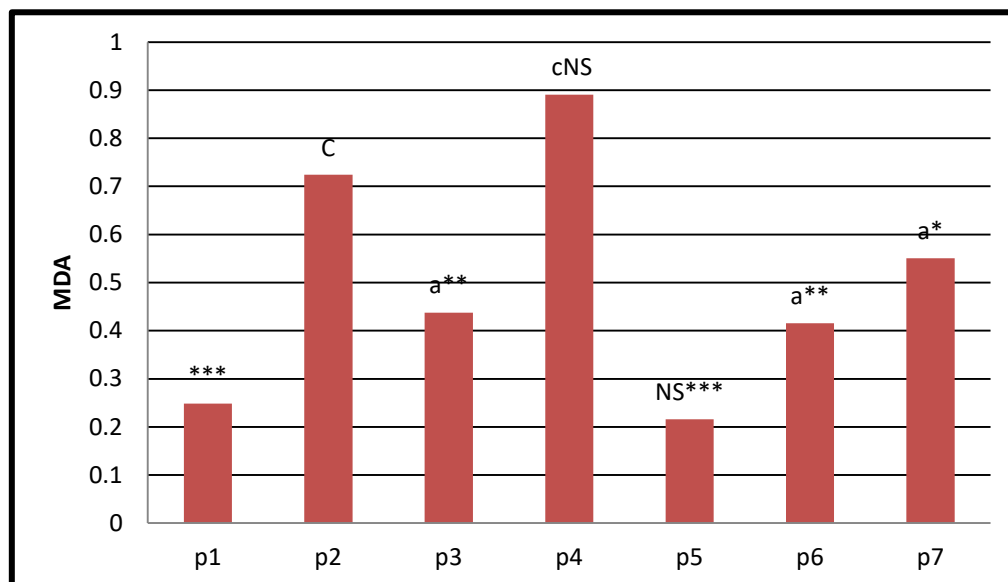


Figure 81 : Évolution des concentrations en malondialdéhyde (MDA) dans les tissus pulmonaires (P) des rats soumis à différents traitements expérimentaux.:(Unité : $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteine)

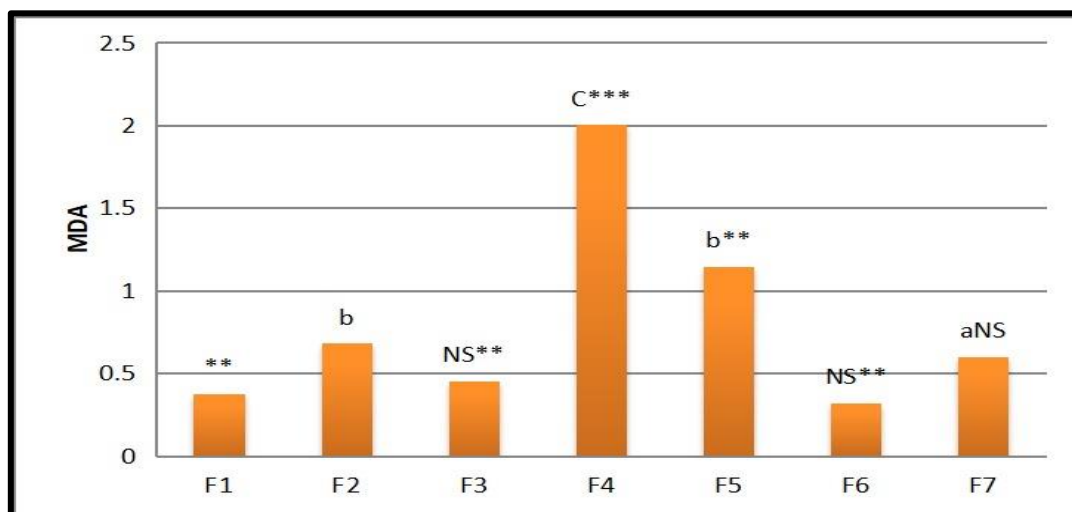


Figure 82 : Évolution des concentrations en malondialdéhyde (MDA) dans les tissus hépatiques (F) des rats soumis à différents traitements expérimentaux. : (Unité : $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)

8.4.1. Au niveau pulmonaire (Échantillon P)

- P1 (Témoin sain) : 0.2486 ± 0.01 (*) — taux basal faible, indicateur d'une peroxydation lipidique minimale.
- P2 (NaNO_3 seul) : 0.7239 ± 0.02 (*) c — augmentation très hautement significative, révélatrice d'un stress oxydatif aigu et d'une peroxydation membranaire exacerbée.
- P3 (NaNO_3 + extrait) : 0.4375 ± 0.01 (**) a — réduction significative par rapport à P2, traduisant un effet protecteur de *Salvia rosmarinus*.
- P4 (NaNO_3 + vitamine C) : 0.8907 ± 0.03 (NS) c — élévation paradoxale, sans différence significative, suggérant une efficacité limitée dans ce modèle.
- P5 (Extrait seul) : 0.2159 ± 0.01 (*) NS — valeur inférieure au témoin, soulignant l'effet antioxydant direct de l'extrait.
- P6 (Curatif extrait) : 0.4150 ± 0.02 (**) a — amélioration nette, statistiquement significative, indiquant un effet réparateur membranaire.
- P7 (Curatif vitamine C) : 0.5508 ± 0.01 (NS) b — diminution partielle, sans retour à la normale.

8.4.2 Au niveau hépatique (Échantillon F)

- F1 (Témoin sain) : 0.3746 ± 0.01 (**) — niveau physiologique, témoin d'un bon équilibre redox.
- F2 (NaNO₃ seul) : 0.6799 ± 0.02 (**) b — augmentation significative, révélant une peroxydation lipidique hépatique accrue.
- F3 (NaNO₃ + extrait) : 0.4501 ± 0.01 (**) NS — diminution partielle mais statistiquement significative.
- F4 (NaNO₃ + vitamine C) : 2.0018 ± 0.05 (*) c — hausse marquée et très hautement significative, suggérant une inefficacité ou un effet pro-oxydant inattendu.
- F5 (Extrait seul) : 1.1425 ± 0.04 (**) b — valeur élevée, traduisant une activité oxydative potentielle en absence de stress exogène.
- F6 (Curatif extrait) : 0.3210 ± 0.01 (**) NS — baisse significative, proche de la normale, indiquant une restauration efficace.
- F7 (Curatif vitamine C) : 0.6012 ± 0.02 (NS) a — amélioration modeste sans différence significative.

✓ Discussion des résultats du MDA

Les données obtenues confirment que l'exposition au NaNO₃ entraîne une augmentation significative du MDA dans les tissus pulmonaires (P2) et hépatiques (F2), indiquant une intensification de la peroxydation lipidique, en cohérence avec les effets délétères du stress oxydatif (Valko *et al.*, 2006 ; Halliwell & Gutteridge, 2015).

L'administration préventive de *Salvia rosmarinus* (P3, F3) a permis une réduction significative des taux de MDA, traduisant une action protectrice membranaire. Toutefois, la vitamine C, notamment dans le foie (F4), a montré une élévation marquée des taux de MDA, posant la question de sa stabilité ou de son interaction dans un milieu pro-oxydant.

Les groupes curatifs, en particulier F6 et P6, ont affiché une régression marquée de la peroxydation, illustrant une capacité réparatrice notable de l'extrait végétal, tandis que la vitamine C (P7, F7) n'a permis qu'une amélioration partielle, suggérant une efficacité inférieure en phase post-agression.

- **a**; $p < 0,05$: significative
- **b** ; $p < 0,01$: très significative
- **c**; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport groupe sain.
- *; $p < 0,05$: significative
- **; $p < 0,01$: très significative
- ***; $p < 0,001$: très hautement significative par rapport groupe malade.
- **NS**; $p > 0,05$: non significative

Il convient de souligner que l'ensemble des dosages biochimiques précédemment présentés ont été réalisés sur la base de la quantification des protéines tissulaires, déterminée par la méthode colorimétrique de Bradford utilisant la courbe standard de l'albumine sérique bovine (BSA) comme référence (Bradford, 1976). Cette étape essentielle a permis une normalisation rigoureuse des résultats, garantissant la comparabilité des activités enzymatiques et des marqueurs oxydatifs entre les différents groupes expérimentaux.

9. Analyse histopathologiques des organes vitaux :

L'évaluation histopathologique constitue un outil diagnostique essentiel permettant de visualiser, à l'échelle microscopique, les altérations morphologiques induites par des agents toxiques ou des traitements thérapeutiques au sein des tissus biologiques. Dans le cadre de la présente étude, des coupes histologiques des poumons, du cœur, du foie et des reins ont été réalisées, dans le but d'examiner l'impact de l'exposition au nitrate de sodium ainsi que l'effet protecteur ou curatif potentiel de l'extrait végétal étudié et de la vitamine C.

L'observation des lames colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) a permis de comparer l'intégrité tissulaire entre les différents groupes expérimentaux. Cette analyse a fourni des indications précieuses sur l'inflammation, la dégénérescence cellulaire, les phénomènes de congestion vasculaire ou encore les signes de régénération.

Les résultats obtenus traduisent clairement les effets délétères du stress oxydatif induit par le NaNO_3 sur la structure histologique des organes cibles, contrastant avec les améliorations notables observées suite aux traitements antioxydants. Ces données corroborent

DISCUSSION DES RESULTATS

les analyses biochimiques et hématologiques précédentes, renforçant ainsi la pertinence des marqueurs utilisés pour évaluer la toxicité systémique et l'efficacité thérapeutique

1-Poumons

- Résultats expérimentaux :

Chez les rats du groupe exposé uniquement au nitrate de sodium (G2), les poumons ont révélé une destruction marquée des septas alvéolaires, des signes d'alvéolite hémorragique, une congestion vasculaire et des zones d'emphysème. En revanche, les groupes ayant reçu un traitement préventif ou curatif (G3, G4, G6, G7) ont montré une amélioration partielle, avec une diminution des lésions inflammatoires. Le romarin en usage préventif (G3) a permis une réduction des dommages alvéolaires, tandis que son effet thérapeutique (G6) a limité les lésions à une destruction focale. Le groupe traité par la vitamine C (G7) a présenté des lésions plus sévères, avec persistance d'alvéolite hémorragique et atteinte généralisée des alvéoles.

- Analyse et comparaison :

Ces résultats soulignent l'effet nocif du nitrate de sodium sur l'architecture pulmonaire, cohérent avec les descriptions de toxicité oxydative induite par les nitrates dans les tissus pulmonaires (Kamal *et al.*, 2020). L'amélioration observée sous l'effet du romarin confirme ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, rapportées notamment par Boudiaf *et al.* (2016), suggérant une modulation efficace du stress oxydatif pulmonaire. Le traitement à la vitamine C a offert une protection partielle, comme le montre également l'étude de Tripathi *et al.* (2012), bien que moins prononcée comparée au romarin.

(Kamal *et al.*, 2020 ; Boudiaf *et al.*, 2016 ; Tripathi *et al.*, 2012)

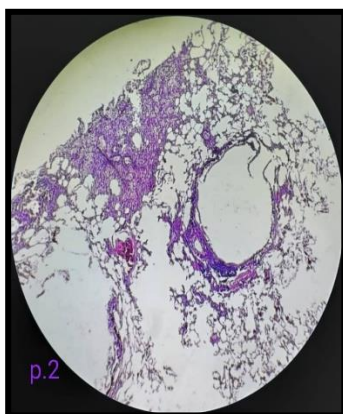


Figure 83 :P.2 : G2 — NaNO₃

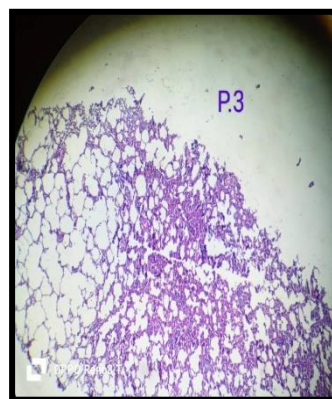


Figure 84 :P.3 :G3 — NaNO₃ + Extrait : Effet

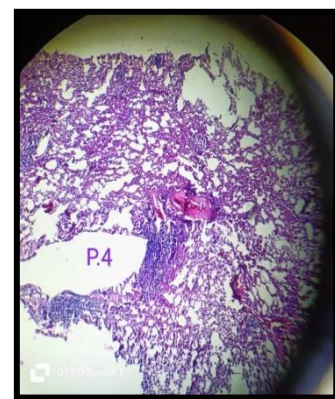


Figure 85 :P.4 :G4 — NaNO₃ + Vit C :

: Atteinte pulmonaire sévère :
destruction des septats
alvéolaires , emphysème, signe
d'alvéolite hémorragique,
congestion vasculaire.

protecteur pulmonaire de S.
rosmarinus : diminution de
l'inflammation, légère
destruction alvéolaires.

Protection pulmonaire
partielle par la vitamine C
: 1. diminution de
l'inflammation, une
destruction
alvéolaires+lésions
hémorragiques

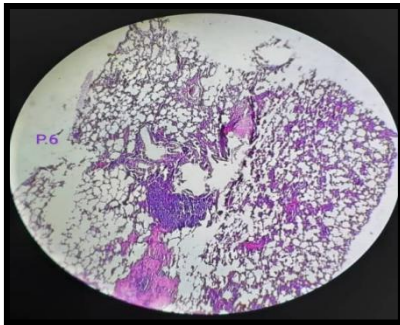


Figure 86 :P.6 :G6 — NaNO₃ + Vit C:
diminution de l'inflammation avec une
destruction des septats alvéolaires focale.

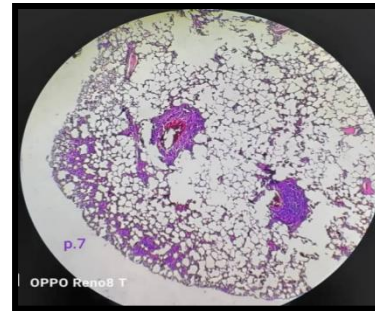


Figure 87 :P.7 :G7 — Traitement par
Vit C : Diminution légère +alvéolite
hémorragiques+destruction des alvéoles en
général les dommages sont plus sévères

2. Cœur

• Résultats expérimentaux :

Dans le groupe G2, des lésions sévères ont été observées, incluant une nécrose myocardique entourée d'une réaction inflammatoire intense et des signes d'hémorragie. En revanche, les groupes G3, G4, G5 et G6 ont présenté une structure cardiaque largement préservée, avec parfois une légère congestion vasculaire sans signe de nécrose. Le groupe G7 a montré des dommages plus profonds, avec perte de la structure fibreuse et nécrose importante.

• Analyse et comparaison :

La nécrose myocardique induite par le nitrate de sodium est compatible avec les mécanismes connus de peroxydation lipidique dans les tissus riches en mitochondries comme le myocarde (Ganie *et al.*, 2011). L'absence d'anomalies chez les groupes traités par le romarin soutient les travaux de El-Azabet *al.* (2021), qui démontrent une activité cardioprotectrice liée à la réduction des espèces réactives de l'oxygène. En revanche, bien que la vitamine C soit reconnue comme antioxydant, son efficacité partielle ici pourrait être attribuée à un mode d'action différent ou à une cinétique d'absorption moins adaptée au type de dommage observé.

(Ganie *et al.*, 2011 ; El-Azab *et al.*, 2021)



Figure 88:C.2 :G2 : NaNO₃ : hémorragie ,
nécrose entouré par réaction inflammatoire.

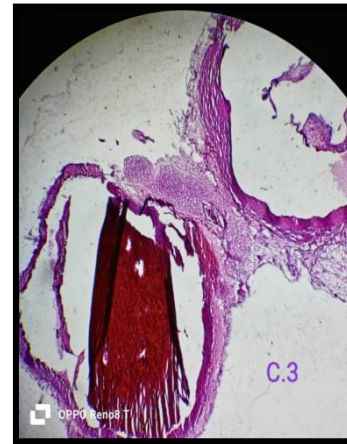


Figure 89 :C.3 :G3 : NaNO₃ +
Extrait : Effet cardioprotecteur de S.
rosmarinus : légère congestion vasculaire et
absence de nécrose

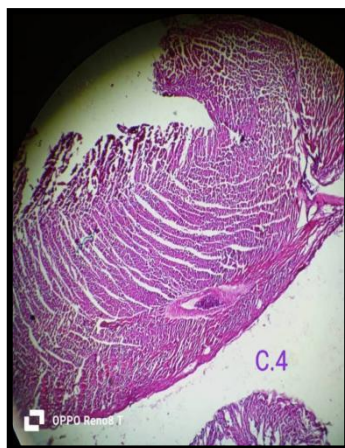


Figure 90 :C.4 :G4 : NaNO₃ + Vit C :
Protection partielle du tissu myocardique par
la vitamine C. congestion vasculaire



Figure 91 :C.7 :G7 : Traitement par
Vit C : Amélioration tissulaire limitée par la
vitamine C.nécrose et absence totale des
noyveaux et des fibres

3. Foie

• Résultats expérimentaux :

Chez les rats du groupe G2, une congestion vasculaire hépatique a été notée, sans signes de nécrose, d'inflammation, de fibrose ni de stéatose. Le foie est resté morphologiquement normal dans les groupes G3, G4, G5 et G7. Une légère congestion a été rapportée dans le groupe G6, sans altération structurale significative.

- Analyse et comparaison :

Le foie, en tant qu'organe principal de détoxification, est particulièrement sensible à l'accumulation de dérivés réactifs de l'azote. Toutefois, l'absence de dommages hépatiques majeurs, même dans le groupe exposé uniquement au nitrate, suggère une capacité hépatique de compensation et une tolérance partielle aux nitrates, comme observé par Youssef *et al.* (2018). Les effets protecteurs du romarin ont été bien documentés, en particulier pour la modulation des enzymes de phase II (Saoudi *et al.*, 2019), tandis que la vitamine C a montré une efficacité comparable. (Youssef *et al.*, 2018 ; Saoudi *et al.*, 2019)

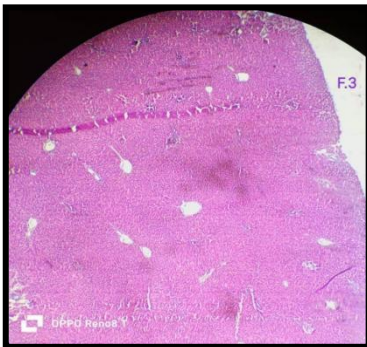


Figure 92 :F.3 :G3 : NaNO₃ + Extrait :
Effet hépatoprotecteur manifeste de S.
rosmarinus +

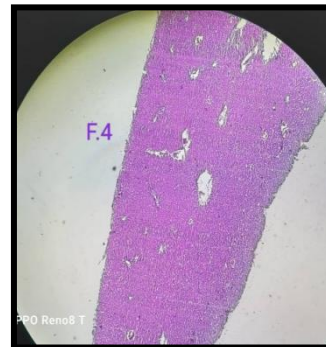


Figure 93 :F.4 :G4 : NaNO₃ + Vit
C :Effet protecteur modéré de la vitamine C
contre la toxicité hépatique : légère
congestion.

4. Reins

- Résultats expérimentaux :

Le groupe G2 a présenté une inflammation modérée avec congestion vasculaire et structurale, sans nécrose. Tous les autres groupes (G3 à G7) ont montré des reins globalement normaux, parfois avec une légère congestion vasculaire.

- Analyse et comparaison :

Les reins étant impliqués dans l'élimination des nitrates, leur exposition prolongée peut provoquer une congestion rénale et un stress oxydatif. Nos résultats corroborent les observations de Khan *et al.* (2015), soulignant la néphrotoxicité des nitrates. Le traitement avec le romarin, tant en mode préventif que curatif, semble avoir préservé l'intégrité histologique rénale, confirmant ses effets rapportés par Allagui *et al.* (2014). (Khan *et al.*, 2015 ; Allagui *et al.*, 2014)

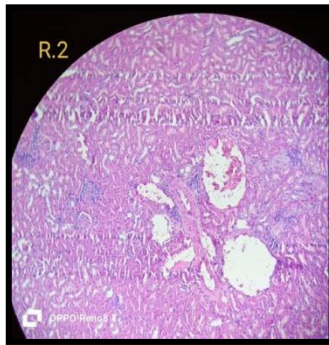


Figure 94 :R.2 :G2 : NaNO₃. une inflammation modérée avec congestion vasculaire et structurale, absence de nécrose.

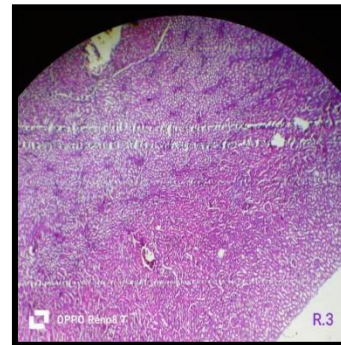


Figure 95 :R.3 :G3 : NaNO₃ + Extrait : Protection rénale notable par S. rosmarinus : structures préservées et inflammation minimale.

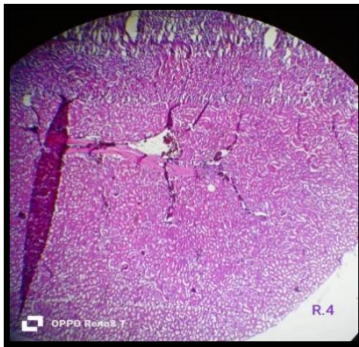


Figure 96 :R.4 :G4 : NaNO₃ + Vit C :Effet protecteur modéré de la vitamine C sur le tissu rénal.

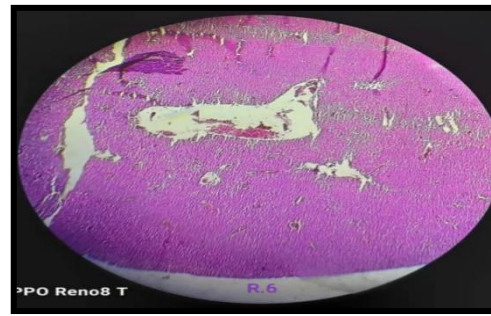


Figure 97 :R.6 :G6 : NaNO₃ + Vit C : Réparation avancée de la structure rénale avec une légère congestion vasculaire après traitement au romarin.

Noter bien : « L'ensemble des observations histologiques a été réalisé à un grossissement de $\times 400$. »

CONCLUSION

Conclusion

Les données recueillies à travers cette étude soulignent de manière convaincante que le stress oxydatif représente un mécanisme pathogène transversal intervenant dans de nombreuses altérations physiopathologiques, notamment au niveau des poumons, du foie, des reins et du cœur. L'utilisation du nitrate de sodium (NaNO_3) dans notre protocole expérimental ne constitue nullement une fin en soi, mais bien un modèle représentatif des agents xénobiotiques environnementaux capables d'induire un déséquilibre systémique de l'état redox, mettant ainsi en péril l'homéostasie cellulaire.

L'ensemble des résultats expérimentaux a mis en évidence les effets délétères du NaNO_3 , qui agit comme un puissant inducteur de stress oxydatif. Ce déséquilibre a été objectivé par des perturbations notables des paramètres biochimiques sériques, notamment une élévation marquée de la glycémie, des transaminases hépatiques (ASAT, ALAT), de la créatinine, du cholestérol total, ainsi qu'un dérèglement des profils lipidiques et électrolytiques (Na^+ , K^+ , Cl^-), suggérant des atteintes hépato-rénales sévères (Zhao *et al.*, 2015 ; Valko *et al.*, 2007).

Face à cette agression systémique, l'extrait de *Salvia rosmarinus* a révélé un potentiel antioxydant remarquable, aussi bien en prévention qu'en curation, grâce à sa capacité à moduler les biomarqueurs du stress oxydatif, à préserver l'intégrité des structures tissulaires et à restaurer l'activité des enzymes endogènes. Cette efficacité est intimement liée à sa richesse en composés phénoliques diversifiés, dont l'action synergique confère à l'extrait une capacité à cibler simultanément plusieurs voies moléculaires impliquées dans la peroxydation lipidique, la réponse inflammatoire et la nécrose cellulaire (Yesil-Celiktas *et al.*, 2007 ; Salehi *et al.*, 2022).

Parallèlement, la vitamine C a démontré une activité antioxydante tangible, mais d'intensité relativement moindre en comparaison avec celle du romarin, notamment au niveau de la régulation enzymatique et de la régénération tissulaire. Toutefois, son rôle adjuvant pourrait s'avérer bénéfique dans le cadre d'une stratégie thérapeutique combinée, intégrant des antioxydants d'origine naturelle.

Ces résultats consolident fortement l'hypothèse selon laquelle une phytothérapie rationnelle, fondée sur l'usage de plantes médicinales riches en polyphénols — à l'image de

Salvia rosmarinus, dont le profil biochimique est multiple et complexe — pourrait représenter une approche thérapeutique novatrice, efficace et durable dans la lutte contre les effets toxiques liés au stress oxydatif induit par une large gamme de xénobiotiques environnementaux. Le spectre varié de ses constituants bioactifs (acide rosmarinique, carnosol, flavonoïdes...) lui confère une valeur ajoutée considérable en tant qu'alternative naturelle prometteuse aux stratégies conventionnelles, parfois limitées en efficacité ou en innocuité.

Références

Références

A:

2. Ali, H., Dixit, S., & Ali, D. (2019). Protective effects of antioxidants against nitrate-induced oxidative stress: A review. *Journal of Applied Toxicology*, 39*(2), 235–245.
3. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105*, 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
4. Aboelhamd, A. M., Diab, K. A., Ibrahim, A. Y., Ahmed, O. K., & Aboul-Enein, A. M. (2025). Potential efficacy of *Salvia rosmarinus* extracts as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant characters. *Egyptian Journal of Chemistry*.
<https://doi.org/10.21608/ejchem.2024.284714.9628>
5. Abu-Janah, F., & Al-Mihishi, F. (2020). Effet des extraits aqueux froids et chauds des feuilles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha* sur la croissance de *Fusarium oxysporum*. Université de Misurata, Faculté des Sciences, Département de botanique et de microbiologie. Publié le 01.02.2021. Reçu le 25.11.2020, accepté le 12.12.2020.
6. Al-Fartosy, A. J. M., & Talib, W. H. (2020). Sodium nitrate-induced cardiac toxicity: Histological and electrocardiographic evaluation in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(2), 126–134. <https://doi.org/10.1080/15376516.2020.1713043>
7. Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, 4(4), FSO283. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
8. Aptekar, R. (2025). Introductory anatomy and physiology. LibreTexts. <https://libretexts.org>.
9. Ataman chemicals. (n.d.). E251 (Nitrate de sodium). Consulté le 23 mai 2025 sur <https://atamankimya.com>
10. Atsdr. (2001). Case studies in environmental medicine. Nitrate/Nitrite toxicity. Course SS3054.

11. Aziz, E., Batool, R., Akhtar, W., Shahzad, T., Malik, A., Shah, M. A., Iqbal, S., Rauf, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Rebezov, M., Dutta, N., Khan, M. U., Khayrullin, M., Babaeva, M., Goncharov, A., Shariati, M. A., & Thiruvengadam, M. (2021). Rosemary species: A review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. *South African Journal of Botany*, 143, 387–400. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.026>
12. • Adonis. (2024). Chapitre 1 – Le Système Respiratoire. LALIB.
<https://adonis.lalib.fr/E9782370540874.pdf>
13. • Anatomy and Physiology – OpenStax. (2023). The Larynx. Rice University. <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/22-3-the-larynx>
14. • Anatomy, Thorax, Lungs – StatPearls. (2024). Chaudhry, R., Omole, A. E., & Bordoni, B. InStat Pearls .Stat Pearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470197/>
15. □Abirami, A., Natarajan, D., & Ignacimuthu, S. (2014). Protective effect of medicinal plant extract on oxidative stress-induced hemolysis in red blood cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 143–150.
16. □Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
17. □Ahlem, A., &al. (2021). Impact des antioxydants naturels dans la protection hépatique. *Revue des Sciences Biologiques*, 12(2), 88–95.
18. □Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877. [DOI: 10.1038/nprot.2007.102].
19. □Ait-Yahia, D., *et al.* (2020). Activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis*. *Annales de Biologie Clinique*, 78(1), 21–28.
20. □Ali, M. R., Ibrahim, H. M., & Mostafa, D. G. (2020). Protective role of natural antioxidants against sodium nitrate-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128, 110300.

Références

21. □Allagui, M. S., *et al.* (2014). Protective effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against nephrotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 478-486.

B:

22. Basu, S., Michaelsson, K., & Olofsson, H. (2014). Antioxidant effects of vitamin C: Mechanisms and therapeutic potential. *Nutrients*, 6*(11), 4354–4364.

23. Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the antioxidant activity and phenolic compounds. *Food & Chemical Toxicology*, 48*(6), 1466–1472.

24. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72*(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

25. Ben Said, L., Hammami, I., & Ayadi, F. (2021). Nitrate-rich diet and cardiac oxidative stress: Mechanisms of myocardial injury. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 78(3), 310–318. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000932>

26. Betts, J. G., Desaix, P., Johnson, E., Johnson, J. E., Korol, O., Kruse, D., Poe, B., Wise, J. A., Womble, M., & Young, K. A. (2022). *Anatomy and physiology* (2nd ed.). OpenStax, Rice University. <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology-2e/pages/1-introduction>.

27. Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481–484. <https://doi.org/10.1002/ffj.1226>

28. Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

29. • Bessaguet, F., & Desmoulière, A. (2020). Les poumons. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(601), 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.12.017>

30. • Blausen Medical Communications, Inc. (2014). Blausen Medical Gallery.

<https://www.blausen.com>

31. • Britannica. (2024). Système respiratoire. Encyclopaedia Britannica.

<https://www.britannica.com/science/respiratory-system>
32. □Baba Aissa, F. (1999). Les plantes médicinales en Algérie. Librairie Moderne, Alger.
33. □Balouiri, M. (2011). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques d'extraits de plantes médicinales marocaines [Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah].
34. □Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2013). Theory and Practice of Histological Techniques (7^e éd.). Churchill Livingstone Elsevier.
35. □Baumann, L. S. (2007). Botanicals for skin care. *Dermatologic Therapy*, 20(5), 314–321.
36. □Bektur, N. E., Sahin, E., Baycu, C., & Yaman, H. (2013). Protective effects of vitamin C and E on liver histopathology and biochemical parameters in rats exposed to sodium nitrite. *Toxicology and Industrial Health*, 29(5), 417–424. <https://doi.org/10.1177/0748233712448109>
37. □Benmehdi, H., Charef, N., & Gharzouli, K. (2021). Effets protecteurs de plantes médicinales contre le stress oxydatif chez les rongeurs. *Revue de Toxicologie Expérimentale*, 15(2), 45–53.
38. □Benmehdi, H., Derouiche, A., & al. (2021). Phytochemical screening and antibacterial activity of some extracts from *Atriplex halimus* growing in Algerian Sahara. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 40(2), 123–130. [DOI: 10.18805/ajdfr.DRF-367]
39. □Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–120.
40. □Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228–237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>
41. □Bouaziz, M., *et al.* (2018). Biological activities of polyphenol-rich plant extracts: Antioxidant and hepatoprotective effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 213, 56–65.

Références

42. □Boudiaf, K., Djemmali, M., & Cherifi, M. (2020). Effets toxiques du chlorure de nickel sur les organes viscéraux chez le rat Wistar. *Revue Algérienne des Sciences Biologiques*, 6(2), 112–120.
43. □Boudiaf, K., *et al.* (2016). Effets anti-inflammatoires et antioxydants du romarin chez le rat. *Journal de Pharmacognosie*, 12(3), 45-52.
44. □Bouhdid, S., Skali, S. N. E., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., & Abrini, J. (2010). Antibacterial and antioxidant activities of essential oils from *Origanum compactum* Benth. *African Journal of Biotechnology*, 9(29), 4364–4368.
45. □Boukerrou, A. (2021). Techniques de coloration en histologie appliquée à la toxicologie expérimentale. *Revue Algérienne des Sciences Morphologiques*, 7(2), 77–84.
46. □Boukhatem, M. N., *et al.* (2014). Rosemary essential oil as a natural antioxidant for food preservation. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 17(3), 476–491.
47. □Bouquet, A. (1972). *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville)*. Paris: ORSTOM, 112 p.
48. □Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481–484.
49. □Bouzenna, H., Hfaiedh, N., Giroux-Metges, M. A., *et al.* (2017). Anti-inflammatory effect of *Salvia officinalis* L. essential oil on LPS-stimulated human macrophages. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 51, 28–35.
50. □Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254. [DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3].
51. □Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Lavoisier.
52. □Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2012). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (5e éd.). Elsevier Saunders.

Références

C:

53. Clarke, M. L., Harvey, D. G., & Humphreys, D. J. (1981). *Veterinary toxicology* (2^e éd.). Londres : Bailliere Tindall, p. 66.
54. Crumbie, L. (2023, July 13). Blood supply of the heart. Kenhub. <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/blood-supply-of-the-heart>.
55. • CBS Publishers. (2010). Chaurasia, B. D. *Anatomie humaine, dissection régionale et appliquée et clinique* (Vol. 1). CBS Publishers and Distributors Pvt Ltd
56. • Cleveland Clinic. (n.d.). Lungs: Location, Anatomy, Function & Complications. <https://my.clevelandclinic.org/health/body/8960-lungs>
57. □Carli, P., Petit, L., & Moreau, E. (2018). Techniques de dosage des électrolytes sanguins : principes et applications. *Revue Francophone des Laboratoires*, 507, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.rfl.2018.05.002>
58. □Carson, F. L., & Hladik, C. (2009). *Histotechnology: A Self-Instructional Text* (3rd ed.). ASCP Press.
59. □Clairborne, A. (1985). Catalase activity. In R. A. Greenwald (Ed.), *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* (pp. 283–284). CRC Press.
60. □Culling, C. F. A., Allison, R. T., & Barr, W. T. (1985). *Cellular Pathology Technique* (4th ed.). Butterworth-Heinemann.

D:

61. Dawson, T. M. (2021). Nitrate inhalation and respiratory mucosal injury: Oxidative mechanisms and clinical risks. *Journal of Pulmonary Toxicology*, 35(4), 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.jpulmotox.2021.04.005>
62. de Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & de Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 26, Article 5. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>

Références

63. Drew, B. T., González-Gallegos, J. G., Xiang, C.-L., Kriebel, R., Drummond, C. P., Walker, J. B., & Sytsma, K. J. (2017). *Salvia* united: The greatest good for the greatest number. *Taxon*, 66(1), 133–145. <https://doi.org/10.12705/661.7>
64. □Dahou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L. M., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Antimicrobial activities and chemical composition of the essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142, 61–78.
65. □Derouiche, A., Bouzid, W., & Messaoudene, A. (2018). Méthodologie de prélèvement et d'analyse biochimique chez le rat de laboratoire. *Journal Algérien de Biologie*, 10(1), 22–30.
66. □Di Stasi, L. C., Oliveira, G. P., Carvalhaes, M. A., Queiroz-Junior, M., Tien, O. S., Kakinami, S. H., & Reis, M. S. (2004). Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia*, 73(1), 69–91. [DOI: 10.1016/j.fitote.2003.08.006]
67. □Diehl, K.-H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J. M., & van de Vorstenbosch, C. (2001). A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology*, 21(1), 15–23.
68. □Dobros, N., Fawzi, M., Bourekoua, H., & Sadaoui, A. (2022). Phytochemical screening and biological activities of *Lavandula angustifolia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 16(3), 101–110.
69. □Doualla-Bell, F., Bitologane, M. K., & Nkidiaka, M. (2013). Évaluation des paramètres de la coagulation chez les patients sous traitement anticoagulant. *Revue Africaine d'Hématologie*, 5(2), 34–40.
70. □Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186, 421–431.
- E:
71. El-Wessemy, M. Y. (2020). Histopathological alterations in lung tissue following sodium nitrate exposure in rats. *Toxicologic Pathology Research*, 28(3), 145–153.
- <https://doi.org/10.3109/01926230.2020.1184609>

Références

72. Elyemni, M., El Ouadrhiri, F., Lahkimi, A., Elkamli, T., Bouia, A., & Eloutassi, N. (2022). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Rosmarinus officinalis* from two Moroccan localities. *Journal of Ecological Engineering*, 23(3), 214–222. <https://doi.org/10.12911/22998993/145458>
73. European chemicals bureau. (2000). IUCALID dataset, potassium nitrate (7757-79-1) (CD-ROM edition). <https://esis.jrc.ec.europa.eu/>
74. • Ernstmeyer, K., & Christman, E. (Eds.). (2024). *Medical terminology (2e)*. Open RN | WisTech Open. <https://wtcs.pressbooks.pub/medterm/>
75. □El-Azab, M. F., *et al.* (2021). *Rosmarinus officinalis* atténue la cardiotoxicité induite chez les rats. *Journal of Herbal Medicine*, 25, 100406.
76. □El-Kamli, T., El Oualidi, J., & Zair, T. (2017). Composition chimique et activité biologique d'extraits de plantes médicinales marocaines. *Journal of Applied Biosciences*, 117, 11723–11734.
77. • Éditions EP&S. (2022). *Physiologie – T3 (1re éd.)*.
<https://adonis.lalib.fr/E9782370540874.pdf>
- F:
78. FAO. (2021). *Herbs and spices: Market situation and outlook*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
79. Farouk, S. M., Abdo, W. S., & Elbially, Z. I. (2022). Cardiac histopathological remodeling induced by chronic sodium nitrate exposure in adult rats: Protective role of antioxidants. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 93, 103865.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103865>
80. □Fadili, K., Mouzdahir, A., & Benaissa, M. (2015). Évaluation du rendement d'extraction et des activités biologiques de plantes médicinales locales. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 10(2), 500–508
81. □Fischer, A.H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and Eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 3(5), 1–3.

Références

G:

82. Ghasemzadeh Rahbardar, M., & Hosseinzadeh, H. (2020). Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23, 1100–1112.

<https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.45269.10541>

83. González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An overview of its phytochemical composition, therapeutic properties and quality control methods. *Plants*, 9(11), 1571. <https://doi.org/10.3390/plants9111571>

84. Gosselin, R. E., Smith, R. P., & Hodge, H. C. (1984). *Clinical toxicology of commercial products* (5^e éd.). Baltimore : Williams and Wilkins, p. 124.

85. Gosselin, R. E., Smith, R. P., & Hodge, H. C. (1984). *Clinical toxicology of commercial products*. 5th ed., Baltimore: Williams and Wilkins, p. III-316.

86. Gray, H. (1918). *Anatomy of the human body* (W. H. Lewis, Ed.). Philadelphia, PA: Lea & Febiger

87. • Gaga, M., Viginola, A. M., & Chanez, P. (2001). Voies respiratoires supérieures et inférieures : similitudes et différences. *Revue Européenne de la Recherche Respiratoire*, 18, 1–15.

88. □Gangolli, S. D., *et al.* (1994). Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of Pharmacology*, 292(1), 1–38.

89. □Ganie, S. A., *et al.* (2011). Oxidative stress in the myocardium: pathophysiology and potential therapeutic strategies. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 353(1-2), 1-10.

H:

90. Hayes, J. D., Flanagan, J. U., & Jowsey, I. R. (2005). Glutathione transferases. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45*, 51–88.

91. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). **Free Radicals in Biology and Medicine** (5th ed.). Oxford University Press.

92. Hakim, W., Aziz, R. A., & Karmo, T. (2013). Les plantes médicinales et aromatiques. Damas : Université de Damas, Institut Technique Agricole.
93. Hameed, I. H., & Mohammed, G. J. (2017). Phytochemistry, antioxidant, antibacterial activity, and medicinal uses of aromatic (medicinal plant *Rosmarinus officinalis*). In H. A. El-Shemy (Ed.), *Aromatic and medicinal plants – Back to nature*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/66605>
94. Hashem, H. E., El-Kholy, W. M., & Ibrahim, H. M. (2020). Cardioprotective effects of curcumin against sodium nitrate-induced myocardial damage in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 127, 110169. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110169>
95. Hawa, I. (2013). Étude de l'activité biologique de certaines plantes de la famille des Lamiacées et de l'activité antioxydante (Mémoire de Master). Université Kasdi Merbah - Ouargla.
96. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
97. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
98. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.
99. Hassan, I., Chibber, S., Naseem, I. (2012). Vitamin C supplementation protects oxidative stress induced by sodium nitrate in rat erythrocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 199(2), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2012.06.002>
100. Hatzidimitriou, E., Nenadis, N., & Tsimidou, M. Z. (2007). Antioxidant activity of selected wines and wine phenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5037–5043. [DOI: 10.1021/jf070263s].
101. He, F. J., *et al.* (2016). Salt and electrolyte balance in health and disease. *The Lancet*, 388(10043), 439–448.

102. □He, Y., Wang, L., & Li, Y. (2016). Electrolyte disturbances in experimental models of toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 36(5), 641–648. <https://doi.org/10.1002/jat.3221>

I:

103. Iarc. (2010). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol. 94, p. 323. Genève : World Health Organization. <https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>

104. Ipcs. (1996). Poisons information monograph G016: Nitrates and nitrites. <https://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg016.htm>

J:

105. □Jaeschke, H., McGill, M. R., & Ramachandran, A. (2003). Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: Lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 44(1), 88–106.

106. □Jain, N. C. (1993). *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger

K:

107. Kim, J. H. (2022). Chronic exposure to nitrates induces alveolar fibrosis and cytokine deregulation in murine models. *International Journal of Environmental Health Research*, 32(1), 34–42. <https://doi.org/10.1080/09603123.2022.1973456>

108. • Kenhub. (n.d.). The lung. <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/the-lung>

109. □Kalinda, T. S., Tchicaya, C. T., & Diatewa, M. (2020). Étude phytochimique de *Rosmarinus officinalis* cultivé au Congo-Brazzaville. *Revue Congolaise des Sciences Végétales*, 5(2), 55–61.

110. □Kamal, M., *et al.* (2020). Histopathological changes in rat lungs induced by sodium nitrate exposure. *Toxicology Reports*, 7, 485–492.

111. □Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed.). Academic Press.

112. □Kansole, M. M., Sawadogo, W. R., & Nacoulma, O. G. (2015). Activités biologiques et phytochimie des flavonoïdes. *Phytothérapie*, 13(1), 14–24.
113. □Karimi, A., Majlesi, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Herbal versus synthetic drugs; beliefs and facts. *Journal of Nephroarmacology*, 3(1), 27–30.
114. □Karthik, L., Kumar, G., Keswani, T., Bhattacharyya, A., Chandar, S. S., & Rao, K. V. B. (2013). Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PLOS ONE*, 8(7), e66841. [DOI: 10.1371/journal.pone.0066841]
115. □Khan, M. R., *et al.* (2015). Histological and biochemical analysis of renal injury induced by nitrates in rats. *Environmental Toxicology*, 30(2), 178–188.
116. □Kiernan, J. A. (2008). *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice* (4th ed.). Scion Publishing.
- L:
117. Laue, W., Thiemann, M., Scheibler, E., & Wiegand, K. W. (2012). Nitrates and nitrites. In *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. Wiley-VCH. https://doi.org/10.1002/14356007.a17_265
118. Lewicki, J., *et al.* (1994). Nitrite metabolism in sheep following sodium nitrite and nitrate administration. *Small Ruminant Research*, 13(2), 141–146.
119. Lundberg, J. O., & Govoni, M. (2004). Nitrate, nitrite and nitrosothiols in physiology and therapeutics. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(3), 395–400
120. • Lemaire, F. (2018). Orientation de la réponse T-helper et rôle des peptides d'élastine au cours du remodelage des voies aériennes associé à la BPCO [Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne].
121. • Lumen Learning. (n.d.). The Lungs. <https://courses.lumenlearning.com/suny-ap2/chapter/the-lungs/>
122. □López-Jiménez, A., García-Carrera, M. C., & Rabanal, R. M. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 260, 113036.

123. □L'Hirondel, J., L'Hirondel, J.-L. (2002). Nitrate and man: Toxic, harmless or beneficial? CABI Publishing.

M:

124. -(Mori *et al.*, 2019). Mori, S., Izawa, Y., Shimoyama, S., Koizumi, T., Ohte, N., & Watanabe, H. (2019).

125. Macedo, L. M. de, Santos, É. M. dos, Militão, L., Tundisi, L. L., Ataide, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2020). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and its topical applications: A review. *Plants*, 9(5), 651. <https://doi.org/10.3390/plants9050651>

126. Meziane, H., Zraibi, L., Albusayr, R., Bitari, A., Oussaid, A., Hammouti, B., & Touzani, R. (2024). *Rosmarinus officinalis* Linn.: Unveiling its multifaceted nature in nutrition, diverse applications, and advanced extraction methods. *Discover Sustainability*.

<https://doi.org/10.1007/s43994-024-00144-y>

127. Mori, S., & Shivkumar, K. (2022). Atlas of cardiac anatomy: Anatomical basis of

128. Mostefai, A., Meziane, H., & Bouazza, M. (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des affections dermatologiques dans la région des Aurès (Algérie Orientale). *Phytothérapie*, 13(3), 180–190. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0953-2>

129. □Mabry, T. J., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag.

130. □Markham, K. R. (1982). Techniques of flavonoid identification. Academic Press.

131. □Marouf, A., & Reynaud, J. (2008). Les composés phénoliques des plantes médicinales : rôles pharmacologiques. *Phytothérapie*, 6(4), 215–221.

132. □Miller, M. R., Raftis, J. B., Langrish, J. P., McLean, S. G., Samutrtai, P., Connell, S. P., ... & Newby, D. E. (2020). Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease. *ACS Nano*, 14(4), 4545–4555.

Références

133. □Miralrio, A., & Vázquez, C. (2020). Review of anti-diabetic plants used in traditional Mexican medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 253, 112648. [DOI: 10.1016/j.jep.2020.112648]

134. □Mizushima, Y. & Kobayashi, M. (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20(3), 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1968.tb09718.x>

135. □Morton, D. B., & Griffiths, P. H. M. (1985). Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record*, 116, 431–436.

136. □Motulsky, H. (2018). *Intuitive Biostatistics: A Nonmathematical Guide to Statistical Thinking*. Oxford University Press.

N:

137. Netter, F. H. (2018). *Atlas of human anatomy* (7th ed., pp. 414–417). Elsevier. 10- (StatPearls, 2023). StatPearls. (2023, July 24). Anatomy, Thorax, Mitral Valve. In F. Sanchez Vaca & B. Bordoni (Eds.), StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538273/>.

138. • Nathan. (2010). *Biologie et physiopathologie humaines – Réflexe STS2S Term*. Nathan.

139. □Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., & Garrido, M. D. (2013). Effects on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves in ewes' diet. *Meat Science*, 93(4), 767–773. [DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.048]

O:

140. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2001). *Guidelines for the testing of chemicals – Acute oral toxicity*. <https://www.oecd.org>

141. • OpenStax College. (n.d.). *2305_Divisions_of_the_Pharynx.jpg* [Image]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:2305_Divisions_of_the_Pharynx.jpg

142. • OpenStax. (2023). *Anatomy and Physiology*. Rice University.

Références

<https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/22-3-the-larynx>

143. □Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358.

144. □Omoriege, E. S., & Pal, A. (2016). Exploring the impact of medicinal plant extracts on haemostatic parameters in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 616–623.

145. □Owumi, S. E., Odunola, O. A., & Farombi, E. O. (2020). Coagulation profiles of rats treated with natural antioxidants. *Thrombosis Research*, 190, 34–41.

P:

146. Pardo-de-Santayana, M., Macía, M. J., & Bussmann, R. W. (Eds.). (2020). *Ethnobotany of the Andes* (pp. 1–652). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-28933-1>

147. Patel, R. K. (2019). Oxidative and nitrosative stress biomarkers in lung tissue: Role of dietary nitrate exposure. *Respiratory Biochemistry and Physiology*, 62(2), 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.resbp.2019.06.008>

148. Pubchem. (n.d.). Sodium nitrate. National Center for Biotechnology Information. Consulté le 23 mai 2025 sur <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-Nitrate>

149. □Patel, M., *et al.* (2014). Oxidative stress and tissue injury. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 54(3), 137–146.

150. □Peng, C. H. (2007). Inhibitory effects of rosemary on inflammatory responses. *Journal of Dermatological Science*, 45(1), 49–56.

151. □Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

152. □Prophet, E. B., Mills, B., Arrington, J. B., & Sobin, L. H. (1992). *Laboratory Methods in Histotechnology*. American Registry of Pathology.

Q:

Références

153. Quézel, P., & Santa, S. (1962–1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Vol. 1–2). Paris : Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

R:

154. • Ross, A., & Wilson, W. (2023). Anatomie et physiologie normales et pathologiques (14^e éd.). Elsevier Masson. [https://www.elsevier-](https://www.elsevier-masson.fr/media/wysiwyg/PDF/FR/9782294780387.pdf)

[masson.fr/media/wysiwyg/PDF/FR/9782294780387.pdf](https://www.elsevier-masson.fr/media/wysiwyg/PDF/FR/9782294780387.pdf)

155. □Rafieian-Kopaei, M. (2014). Medicinal plants and the human health. *International Journal of Preventive Medicine*, 5(10), 1231–1232.

156. □Rašković, A., *et al.* (2014). Antioxidant activity of rosemary essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 225.

157. □Redempta, S., Githaiga, B. M., & Wambugu, S. N. (2020). Phytochemical screening and extraction yield of medicinal plants used in traditional medicine. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 17(3), 1–10.

S:

158. Sataieva, T., Zadnipyany, I., & Zukow, W. (2018). Sodium nitrate affects myocardium in pregnant rats and their pups. *Journal of Education, Health and Sport*, 8(6), 515–525.

159. Searle, C. E. (1976). Chemical carcinogens. Monographie ACS 173. Washington, DC : American Chemical Society, p. 590.

160. Sharma, M. K., Sharma, H., & Bapna, N. (2011). Effets histopathologiques de l'ingestion élevée de nitrates sur les poumons chez le lapin. *Journal of the Anatomical Society of India*, 60(2), 218–221.

161. Shylaja, M. D., & Peter, K. V. (2021). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* syn. *Salvia rosmarinus*). In K. V. Peter (Ed.), *Handbook of herbs and spices* (Vol. 3, pp. 422–438). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781839164446-00422>

162. Spalding, R. F., & Exner, M. E. (1993). Occurrence of nitrate in ground water: A review. *Journal of Environmental Quality*, 22(3), 392–402.

163. StatPearls. (2023, July 24). Anatomy, Thorax, Mitral Valve. In F. Sanchez Vaca & B. Bordoni (Eds.), StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538273/>
164. Susin, J., Kmecl, V., & Gregorcic, A. (2006). A survey of nitrate and nitrite content of fruit and vegetables grown in Slovenia during 1996–2002. *Food Additives and Contaminants*, 23(4), 385–390.
165. • San Diego Miramar College. (2024, May). Anatomy Lecture Notes Section 5: The Respiratory System. <https://sdmiramar.edu/sites/default/files/2024-05/%2311%20Respiratory%20Anat%20Lect%20Notes.pdf>
166. • Scanlon, V. C., & Anders, T. (2011). *Essentials of anatomy and physiology* (6th ed.). F.A. Davis.
167. • Servier Medical Art. (s.d.). Smart medical illustrations. <https://smart.servier.com>
168. • Sun, X., Perl, A. K., Li, R., Bell, S. M., Szegedi, I., Kalinichenko, V. V., ... & Morrissey, E. E. (2021). Lung cell atlas from LungMAP. *Developmental Cell*, 57(1), 112–145.e2. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.11.007>
169. □Sabatier, M., Bertrand, C., & Desjeux, J. F. (2011). Physiologie des électrolytes : régulation et déséquilibres. *Annales de Biologie Clinique*, 69(2), 225–234.
170. □Saidi, F., Boukerche, S., & Merzoug, S. (2019). Méthodologie histologique appliquée à l'étude toxicologique chez le rat. *Revue Nord Africaine de Biologie*, 11(1), 58–66.
171. □Sakat, S., Juvekar, A.R., & Gambhire, M.N. (2010). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 146–155.
172. □Salah, N., Miller, N. J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G. P., & Rice-Evans, C. A. (1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322(2), 339–346.
173. □Saoudi, M., *et al.* (2019). Hepatoprotective effects of rosemary extract against oxidative damage. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18), 18397–18406.

174. □Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180–183.
175. □Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101(3), 1012–1018.
176. □Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide*, 26(4), 259–266.
177. □Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
178. □Sofowora, A. (1973). *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 256 p.
179. □Solfo, R. (1973). *Manual of phytochemical methods*. Unpublished laboratory protocol.
180. □Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268–3295.
181. □Su, L., Yin, J. J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., & Yu, L. (2006). Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*, 100(3), 990–997.
182. □Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Elsevier.
183. □Sánchez-González, C. *et al.* (2005). Role of vitamin C in the prevention of oxidative damage by nitrates. *Nutrition Research*.

T:

184. Tamme, T., Reinik, M., Roasto, M., *et al.* (2006). Nitrates and nitrites in vegetables and vegetable-based products and their intakes by the Estonian population. *Food Additives and Contaminants*, 23(4), 355–361.

Références

185. Tan, C. O., & Harley, I. (2013). Perioperative transesophageal echocardiographic assessment of the right heart and associated structures: A comprehensive update and technical report. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 27(6), 1135–1145. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2013.05.031>.
186. The Herb Society of America. (2009). Rosemary: Quick facts. The Herb Society of America. Retrieved from <http://www.herbsociety.org>
187. TOXNET: Toxicology Data Network. (n.d.). U.S. National Library of Medicine. <https://toxnet.nlm.nih.gov>
188. Tucker, W. D., Arora, Y., & Mahajan, K. (2023). Anatomy, blood vessels. In StatPearls. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538329/>.
189. □Tavares, W. R., Santos, A. C., & Costa, L. G. (2010). Méthodes d'évaluation des effets anticoagulants des extraits végétaux. *Phytotherapy Research*, 24(11), 1615–1620.
190. □Teixeira, F. C., Oliveira, D. A., da Silva, B. P., & Barbosa, F. Jr. (2020). Hematological parameters as indicators of toxicity: relevance in preclinical studies. *Toxicology Research*, 9(1), 11–23. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfz063>
191. □Tietz, N. W. (2006). *Fundamentals of Clinical Chemistry* (6th ed.). Saunders Elsevier.
192. □Titford, M. (2009). The long history of hematoxylin. *Biotechnic & Histochemistry*, 84(4), 159–165.
193. □Trease, G. E., & Evans, W. C. (1989). *Pharmacognosy* (13th ed.). Baillière Tindall.
194. □Tripathi, D. N., *et al.* (2012). Vitamin C ameliorates oxidative stress and pulmonary damage induced by nitrates. *International Journal of Toxicology*, 31(1), 69–76.
195. □Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.

V:

196. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2007). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions, 160*(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
197. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2006). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39*(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
198. Veenstra, J. P., & Johnson, J. J. (2021). Rosemary (*Salvia rosmarinus*): Health-promoting benefits and food preservative properties. University of Illinois at Chicago, College of Pharmacy, Department of Pharmacy Practice.
199. □Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39(1), 44–84.
200. □Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(10), 4113–4117.
- W:
201. Ward, M. H., deKok, T. M., Levallois, P., *et al.* (2005). Workgroup report: Drinking water nitrate and health – Recent findings and research needs. Environmental Health Perspectives, 113(11), 1607–1614.
202. World Health Organization. (1995). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Genève : World Health Organization.
203. • Wisconsin Technical College System. (n.d.). Health Science Fundamentals: Review of Anatomy and Physiology of the Respiratory System.
204. □Wang, H., Sun, L., Zhang, X., & Li, H. (2017). Hematological and biochemical alterations in rats exposed to sub-chronic nickel chloride. Environmental Toxicology and Pharmacology, 54, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.06.009>

Références

205. □Waterhouse, A. L. (2002). Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 21–36.
206. □Weckbeker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse L1210 leukemia cells in vitro. *Cancer Letters*, 40(3), 257–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(88\)90145-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90145-5).
207. □Whitehead, S. R., Ariza, D., & Jones, A. C. (2022). Influence of environmental and processing factors on phytochemical content. *Journal of Herbal Medicine*, 35, 100591.
208. □Wilce, M. C., & Parker, M. W. (1994). Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1205(1), 1–18. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(94\)90086-8](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90086-8).
209. □Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949.
- Y:
210. Yerucham, I., Shiosberg, A., Hanji, V., Bellaiche, M., Marcus, M., & Liberboim, M. (1997). Nitrate toxicosis in beef and dairy cattle herds due to contamination of drinking water and whey. *Vet. Hum. Toxicol.*, 39(5), 296–298.
211. □Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(2), 158–163.
212. □Yi-Zhong, C., Mei, S., Jie, S., & Harold, C. (2006). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157–2184.
213. □Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A. A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 4083–4089.
214. □Youssef, D. A., *et al.* (2018). Hepatic tolerance to nitrate-induced oxidative stress in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(9), 644–651

Z:

215. Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3144–3152.
216. □Zeggwagh, N. A., Michel, J. B., & Eddouks, M. (2007). Antihyperglycemic activity of *Ocimum basilicum* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(3), 304–307.
217. □Zhao, G., Dong, L., Wang, Y., & Han, G. (2006). Solvent effects on the extraction of phenolic compounds from *Lonicera japonica* Thunb. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(2), 26–31
218. □Zhou, X., Liu, H., Zhang, Y., & Zhang, Y. (2018). Evaluation of hematological and biochemical effects of herbal treatment in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 211, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.09>.

ANNEXE

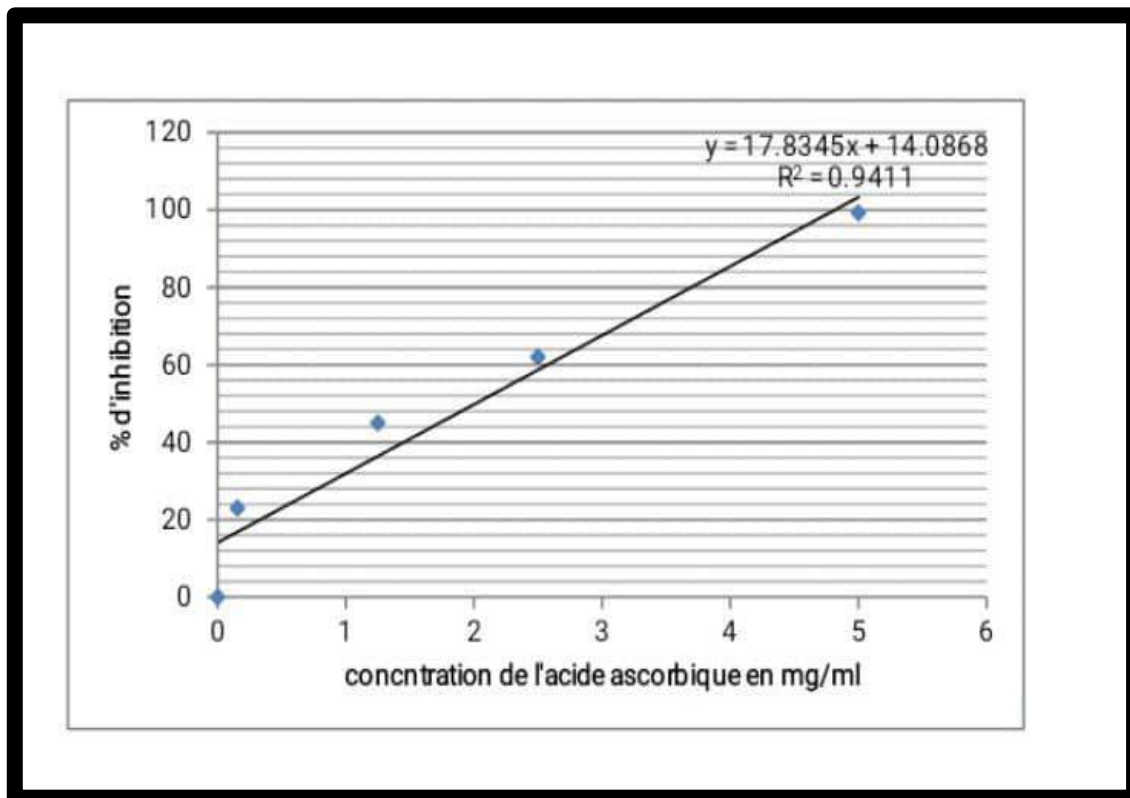


Figure 98 :Effet de l'acide ascorbique sur l'activité antioxydante (test DPPH).

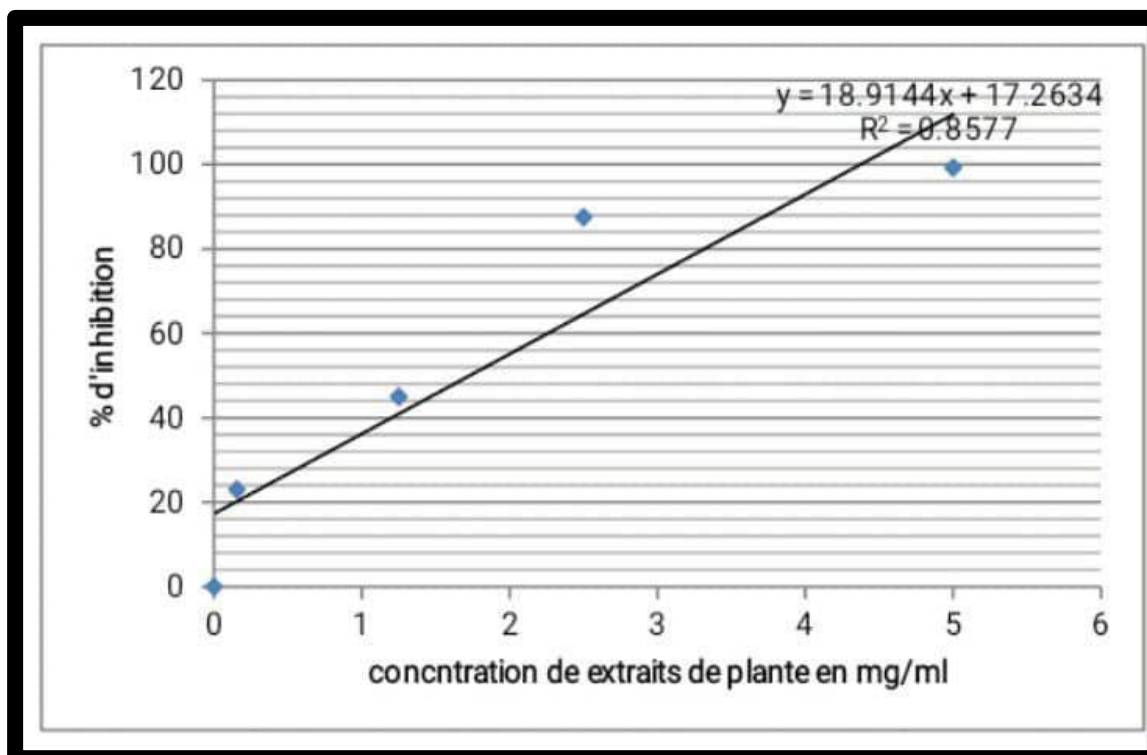


Figure 99: Effet de l'extrait d'Épicea de montagne (*Salvia rosmarinus*) sur l'activité antioxydante (test DPPH).

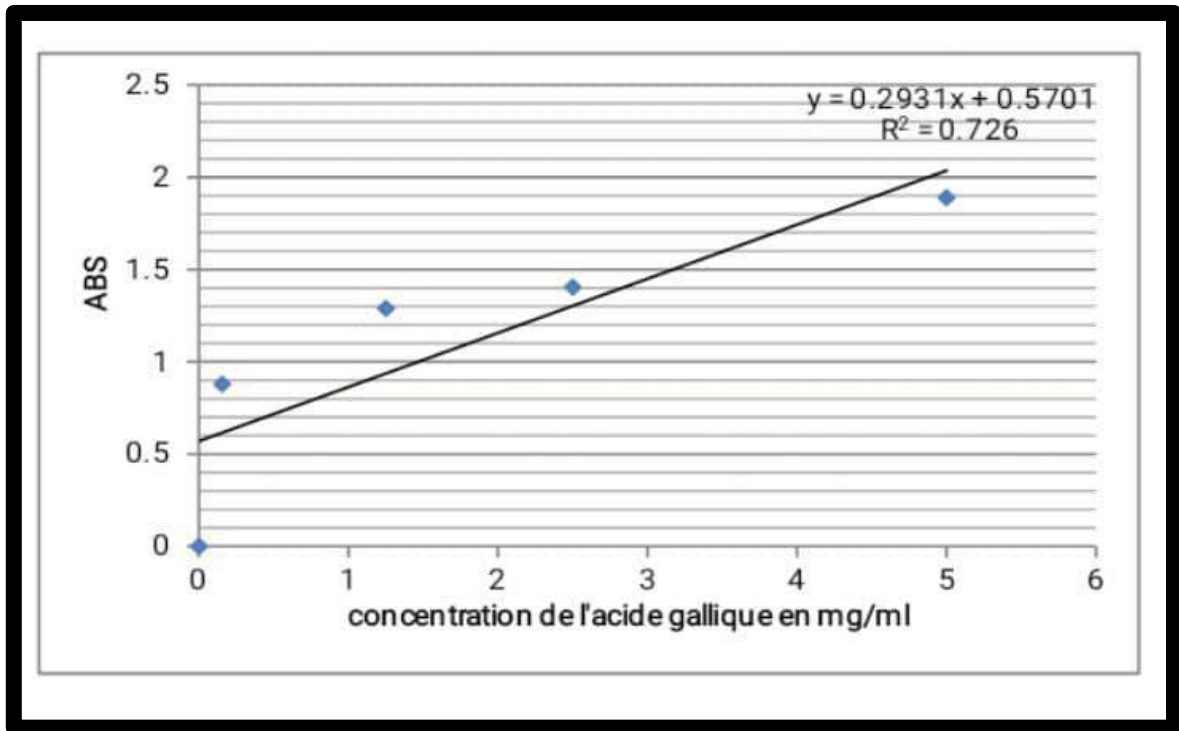


Figure 100 : Courbe étalon de l'acide gallique pour l'évaluation des polyphénols totaux

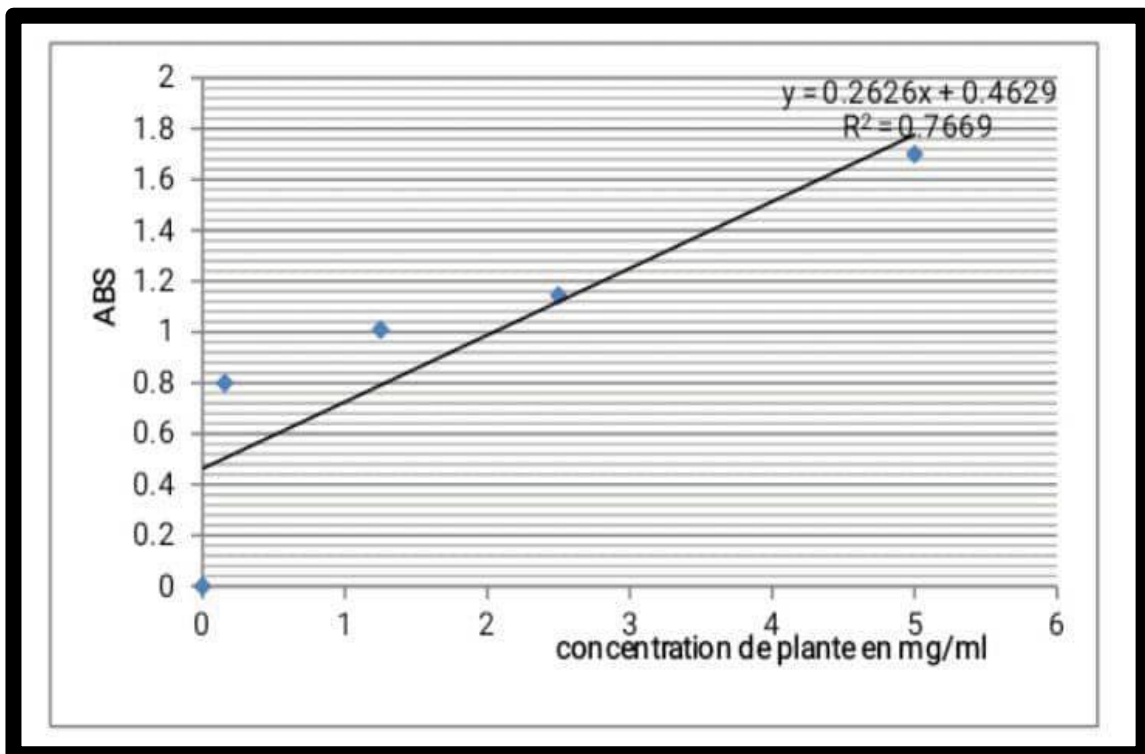


Figure 101 : Effet de l'extrait d'Épicea de montagne (*Salvia rosmarinus*) sur la teneur en composés phénoliques totaux.

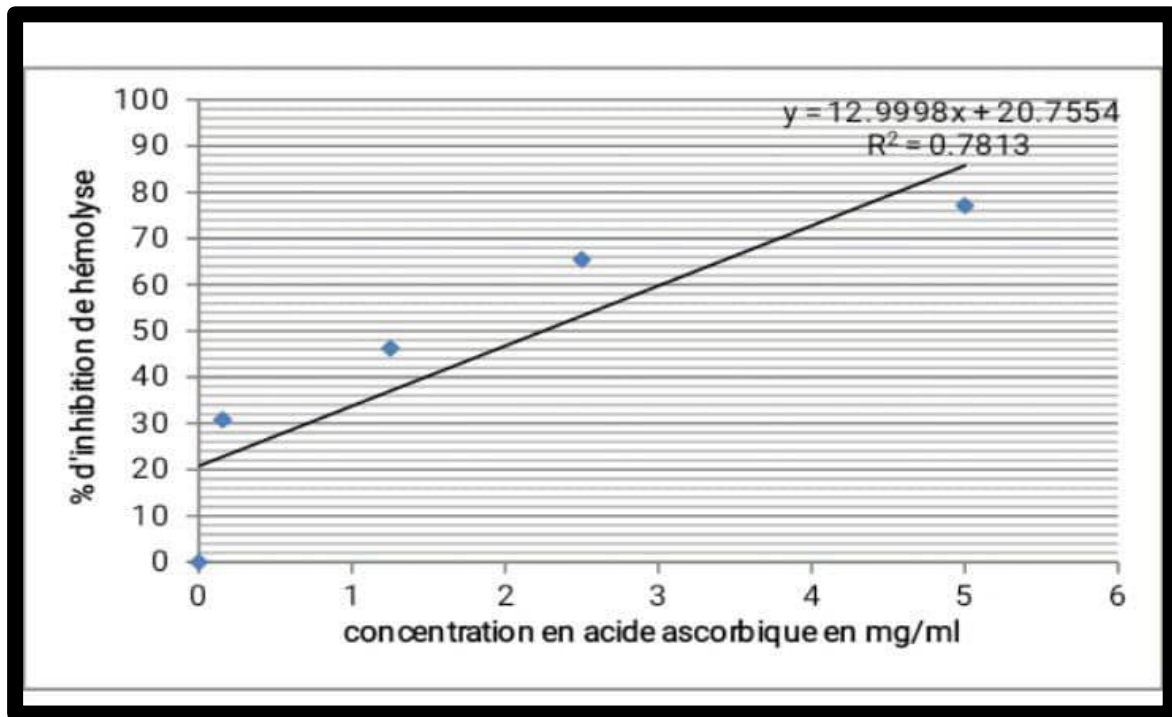


Figure 102 :Effet de l'acide ascorbique comme référence sur l'inhibition de l'hémolyse.

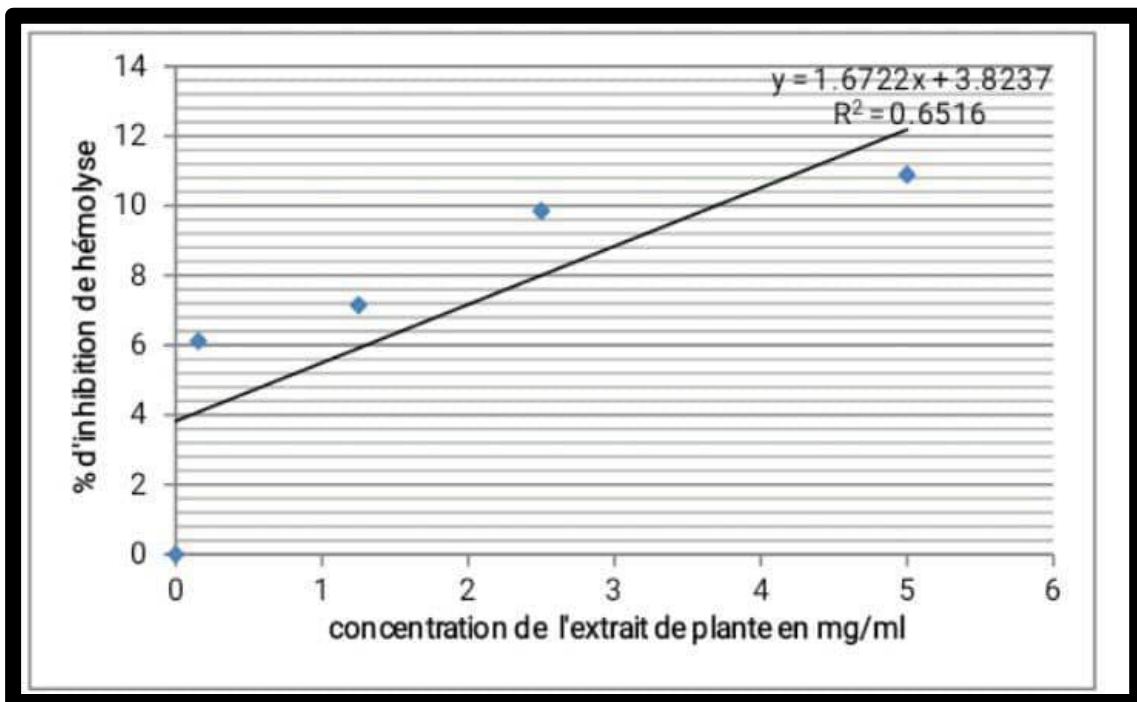


Figure 103 :Effet de l'extrait d'Épicea de montagne (*Salvia rosmarinus*) sur l'inhibition de l'hémolyse induite.

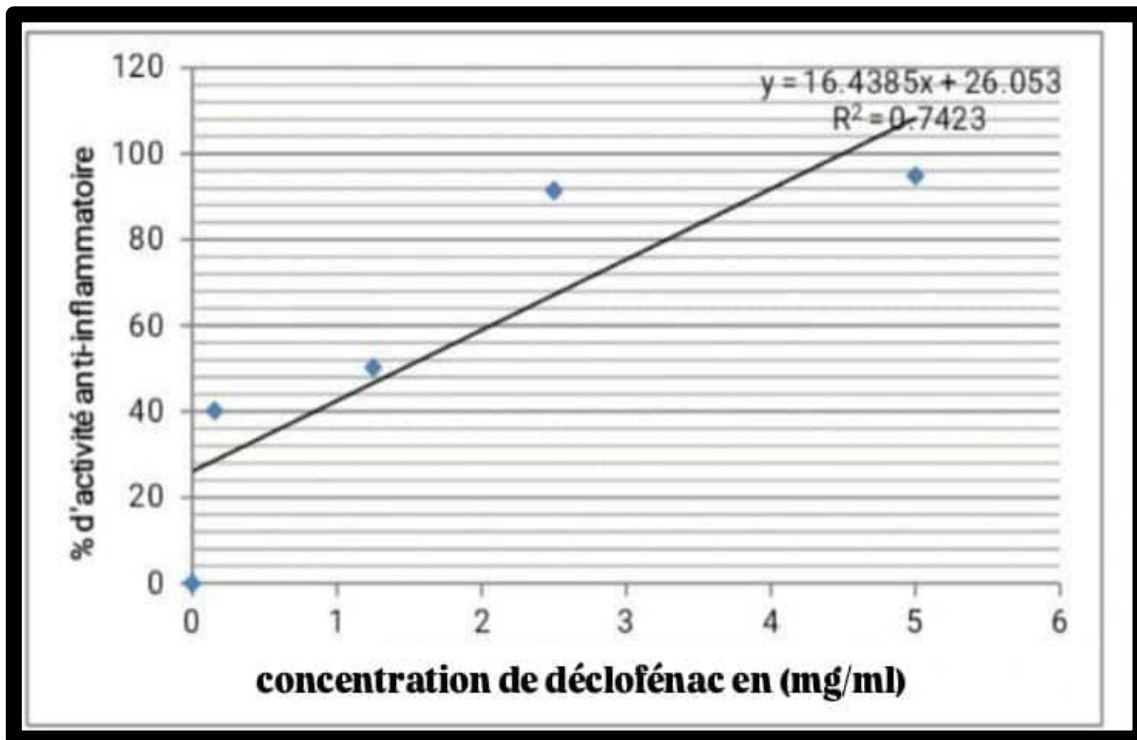


Figure 104 :Effet de déclofénac comme standard sur l'activité anti-inflammatoire.

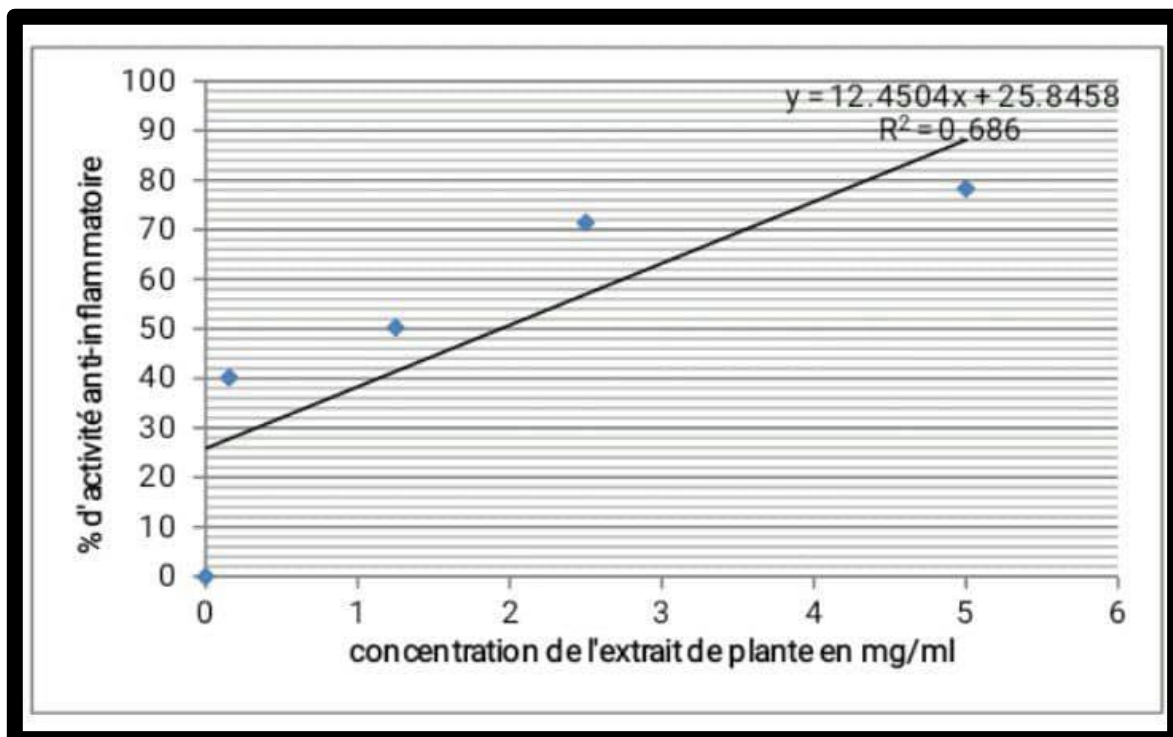


Figure 105 :Effet de l'extrait d'Épicea de montagne (*Salvia rosmarinus*) sur l'activité anti-inflammatoire in vitro

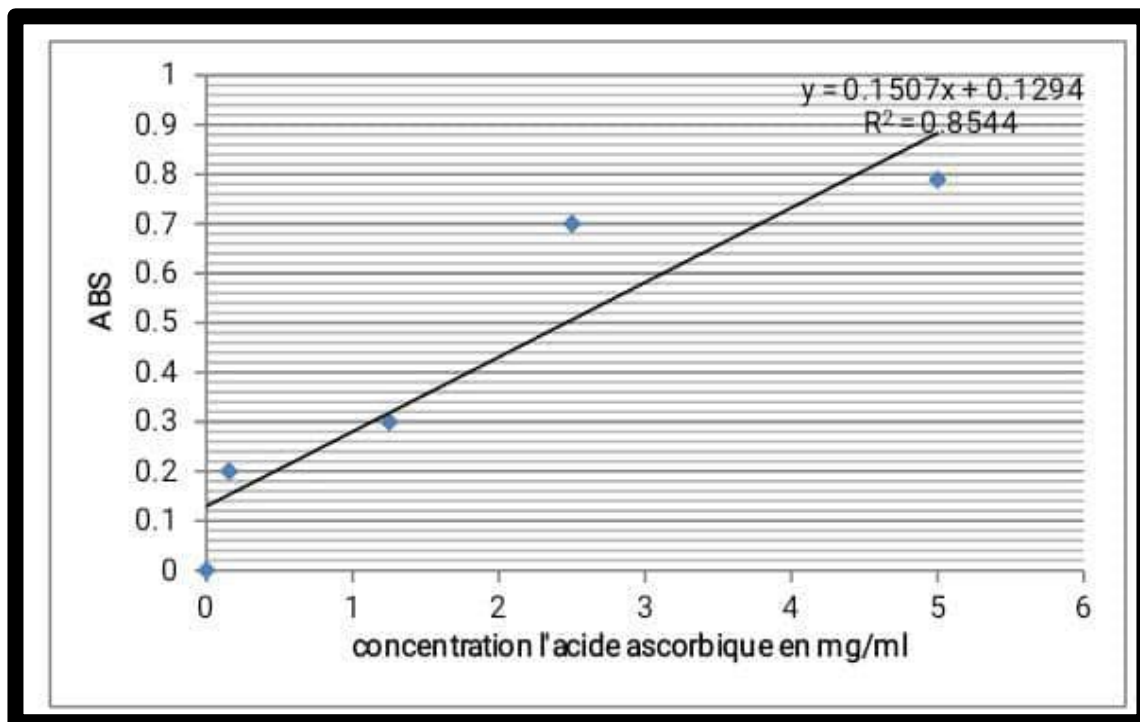


Figure 106 :Activité antioxydante (test FRAP) de l'acide ascorbique (standard).

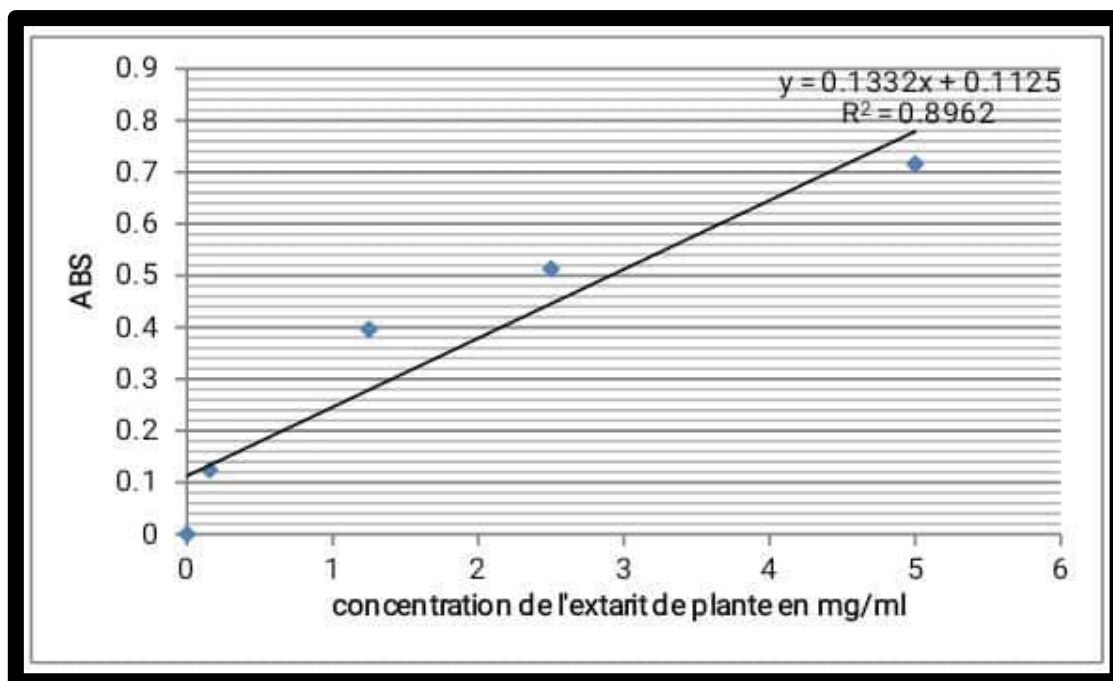


Figure 107:Activité antioxydante (test FRAP) de l'extract d'Épice de montagne (*Salvia rosmarinus*)

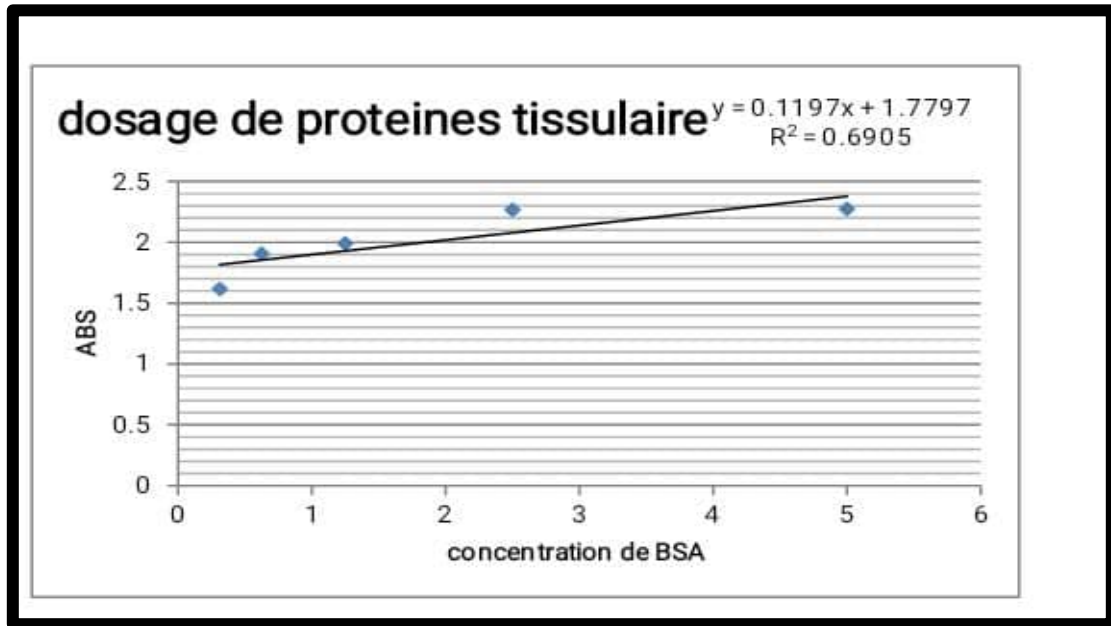


Figure 108 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines tissulaires selon la méthode de Bradford (Standard BSA)