
FACULTE DES SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

Centre de Recherche et de Formation
Doctorale en Sciences de la Vie, Santé et
Environnement

Post Graduate School for Life Sciences,
Health and Environment

Unité de Recherche et de Formation
Doctorale en Sciences de la Vie

Doctoral Research Unit for Life Sciences

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

**Effets antihypertenseurs de l'extrait aqueux du
mélange des parties aériennes de *Bidens pilosa*
(Asteraceae) et de *Cymbopogon citratus*
(Poaceae) chez le rat de souche Wistar**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat/Ph.D. en Biologie des
Organismes Animaux

Option : Physiologie Animale

Par

TCHEUTCHOUA Yannick Carlos

Matricule : 10Q0656

Master ès-sciences

Option : Physiologie Animale

Devant le jury composé de :

Président : DIMO Théophile, Professeur, UYI

Rapporteurs : KAMTCHOUING Pierre, Professeur, UYI
DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré, Professeur, UYI
BILANDA Danielle Claude, Maître de Conférences, UYI

Membres : DONGMO Alain Bernard, Professeur, UD
NGUEGUIM TSOFAK Florence, Maître de Conférences, UYI
JATSA BOUKENG Hermine, Maître de Conférences, UYI

Année académique 2023-2024



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de la Thèse de Doctorat/Ph.D. en Biologie des Organismes Animaux (Option **Physiologie Animale**) de Monsieur **TCHEUTCHOUA Yannick Carlos**, matricule **10Q0656**, soutenance autorisée par la correspondance N° 24/0403/UYI/VREPDTIC/DAAC/DA-AAC/DRD/SR/TCL de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 23 Mai 2024, attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation faite le 04 Juillet 2024, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Yaoundé, le **01 AOUT 2024**

Président du jury


E. Simo

Examineurs


NGUEGWIM T.F

Chef de Département




Pr. Sévior KEKEUNOL
Faculté des Sciences
Université de Yaoundé I

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2023/2024

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 04 Juin 2024

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS :
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOCHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DAKOLE DABOY Charles	Maître de Conférences	En poste
14.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître de Conférences	En poste
15.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste

16.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
17.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
18.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
19.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
20.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
21.	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
23.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
24.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
25.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
26.	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître de Conférences	En poste
27.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

29.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
30.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
31.	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Chargé de Cours	En poste
32.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
33.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
34.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
35.	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours	En poste
36.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

38.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
39.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
40.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
41.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
42.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
5.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>

6.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	<i>Chef de Département (a.i)</i>
7.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
10.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr. /MINSANTE</i>
11.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

12.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
13.	ATSAMO Albert Donatien	Maître de Conférences	En poste
14.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
17.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître de Conférences	En poste
19.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
24.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
25.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
26.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Maître de Conférences	En poste
27.	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

31.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
38.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
39.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
40.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>

43.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
46.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

47.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
48.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
49.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	NDONGO BEKOLO	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
14.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
15.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

17.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
-----	------------------------	-----------------	----------

18.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargé de Cours	En poste
19.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20.	MANGA NDJAGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
22.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
24.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
25.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En poste
26.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
27.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
28.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
29.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
30.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
31.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
32.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
6.	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Professeur	En poste
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
17.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste

18.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
19.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
20.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
21.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

22.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
23.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
24.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
25.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
26.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
27.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
5.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
6.	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste
7.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Professeur	<i>Doyen /FS/ UYI</i>

8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
11	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
12	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
15	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
16	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Dir ENS/Uté Bertoua</i>
18	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
19	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
20	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
21	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Maître de Conférences	En poste
22	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

23	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
----	-------------------------	-----------------	----------

24	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste
25	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
26	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
27	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
28	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
29	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
30	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
32	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
33	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

34	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
----	---------------------	-----------	----------

6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)

	BODO Bertrand	Professeur	<i>Chef de Département</i>
--	---------------	------------	----------------------------

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOU HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste

17.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	BITYE MVONDO Esther	Chargé de Cours	En poste
13.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
18.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
20.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
21.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
22.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
23.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
24.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
25.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>

26	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
27	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
28	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

29	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
30	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
31	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
32	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste

9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
10	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

11	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
13	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste

14	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
15	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
16	NKOUÉ TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
17	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
18	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
19	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (42)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
3.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
4.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
5.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
6.	EYEBE FOU DA Jean sire	Professeur	En poste
7.	HONA Jacques	Professeur	En poste
8.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
9.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
10.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
11.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
12.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
13.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
14.	SIMO Elie	Professeur	En poste

15.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
16.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
17.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
18.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
19.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	<i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i>
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	FOUEJIO David	Maître de Conférences	<i>Chef Cell/ MINADER</i>
22.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
23.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
24.	MELI'I Joell Larissa	Maître de Conférences	En poste
25.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
26.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
27.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
37.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
38.	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /Uds</i>
2.	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
3.	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste
4.	NDAM NGOUPAYOU Jules- Remy	Professeur	En poste
5.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
7.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
10.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

11.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
12.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
13.	EYONG John TAKEM	Maître de Conférences	En poste
14.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT(ai)</i>
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
17.	MBESSE Cécile Olive	Maitre de Conférences	En poste
18.	METANG Victor	Maître de Conférences	En poste
19.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
20.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
21.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
22.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
23.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHAKOUNTE Jacqueline épse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
25.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
26.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
27.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

28.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
29.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
30.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
31.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste

32.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
33.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
34.	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

41.	KOAH NA LEBOGO Serge P.	Assistant	En poste
42.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	20 (12)	9 (04)	6 (05)	43 (22)
BPA	11 (01)	19 (09)	16 (05)	3 (02)	49 (17)
BPV	6 (01)	10 (02)	14 (08)	2 (00)	32 (11)
CI	7 (01)	14 (04)	5 (01)	1 (00)	27 (06)
CO	7 (01)	15 (05)	11 (05)	1 (00)	34 (11)
ER	1 (00)		/	/	1 (0)
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	22 (01)
MAT	1 (00)	8 (00)	19 (02)	5 (01)	33 (03)
MIB	3 (01)	7 (03)	9 (05)	5 (02)	24 (11)
PHY	18 (01)	12 (04)	11 (01)	1 (00)	42 (06)
ST	10 (00)	17 (03)	13 (03)	2 (01)	42 (07)
Total	74 (07)	124 (42)	121 (35)	30 (11)	350 (95)

Soit un total de

349 (95) dont :

- Professeurs **74 (07)**
- Maîtres de Conférences **124 (42)**
- Chargés de Cours **121 (35)**
- Assistants **30 (11)**

() = Nombre de Femmes

95

DEDICACE

A

Mes parents M. KWEKAM Jacob et Mme NAHANTCHEU Philomène

REMERCIEMENTS

Un travail de thèse est le fruit d'un investissement collectif et le soutien de nombreuses personnes auxquelles je dois des remerciements particuliers pour exprimer ma gratitude. Je remercie tout d'abord le Dieu tout puissant pour m'avoir donné durant ces travaux : santé, courage, sagesse et intelligence. Je tiens aussi à témoigner ma gratitude envers :

Professeur **BILANDA Danielle Claude** pour avoir accepté de consacrer de son temps depuis l'initiation à la recherche jusqu'à la direction de cette thèse de Doctorat/Ph. D. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour les connaissances et les qualités scientifiques transmises notamment l'humilité, la rigueur, l'esprit d'équipe, de collaboration, de recherche et d'innovation. Puissiez-vous trouver ici toute ma reconnaissance et ma gratitude ;

Professeur **KAMTCHOUING Pierre** pour avoir assuré pleinement la supervision de cette thèse. Vos idées et conseils avisés tant pour la réflexion scientifique que pour la conduite globale de ce travail, ont été des atouts indispensables au bon déroulement de cette thèse ;

Professeur **DZEUFIE T DJOMENI Paul Désiré** à qui je voudrais témoigner ma reconnaissance car vous avez accepté de co-diriger ce travail. Je vous remercie également pour l'intérêt particulier que vous avez porté à ce travail, le suivi des différentes manipulations, les conseils et les remarques. Une fois de plus, merci ;

Professeur **DIMO Théophile** pour le matériel mis à notre disposition, les diverses connaissances et les enseignements transmis tout au long de mon cursus académique, de même pour les conseils pratiques qui m'ont permis d'ajuster mes travaux ;

Professeurs **JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE, NGUEGUIM TSOFAK Florence, KANDEDA KAVAYE Antoine, ATSAMO Albert Donatien, DJIOGUE Séférin et GOUNOUE KAMKUMO Raceline**. Trouvez ici l'expression de mon estime et de ma profonde gratitude pour m'avoir fait bénéficier de vos conseils et de vos connaissances ;

Les Enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales notamment Docteurs **NGOUATEU KENFACK Omer Bébé, METCHI DONFACK Mireille et ZEMO Franklin** pour les conseils, et les encouragements ;

Docteurs **TCHOUPOU TCHINDA Huguette, WENDJA Monique, KAMENI Mireille, NGOUNGOURE Madeleine Chantal, MENGUE Sandrine, FOU DA BEKONO Yannick, CHINTE Ramatou, OWONA Pascal, FEMOE Ulrich, Bidingha Ronald, DJOUWOUG Clarisse, DJIKEM Rudig et MBALLA Francine** pour les critiques constructives et les encouragements ;

Les étudiants du Laboratoire de Physiologie Animale en particulier à Messieurs et Mesdames **MBOLANG Lohik, FIFEN Rodrigue, TSAKEM Marius, NEKAM Arnaud, DJIENTCHEU Yvan, DJIENTCHEU TCHIENTCHEU Jean Philippe, MALANE NSANGOU EL-R, NANKIA Florette, SONGMENE Oscar, TCHAMBA Gerard, FOKOU Roberto, FOKOU Daniel, MESSI Narcis, NGAKO Albertine, KENGNE Ségolène, KAHOU Rivaldo, BIDJA Angèle, JOUONZO Josiane, AMBOMO Florence, TATCHOU Lucie, MBALA Eva** et **KENTO Ulrich** pour leurs conseils éclairés, les encouragements et surtout l'aide indéfectible pendant les travaux ;

Ma sœur **KOUEMENI Liliane** et mes frères **NGANKAM Jonas** et **LEALE Merlo**, pour vos prières, votre soutien et vos encouragements ;

La famille **FILATAM** en témoignage des sacrifices consentis et des efforts déployés durant mes études ;

Mes amis en particulier Messieurs et Mesdames **TAMEGHE SIGNE William, KOUKAM Raïssa, KAMELA Percys, NDOKON Pascale Audrey, MOUBE SIGNE Patrice, DEFFEU SIGNE Rigobert** pour les encouragements et les aides multiformes à l'aboutissement de ce travail ;

Ceux qui ont de près ou de loin contribué d'une quelconque façon à l'accomplissement de ce travail et dont les noms ne sont pas cités dans ce document. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance.

SOMMAIRE

DEDICACE	xv
REMERCIEMENTS	xvi
LISTE DES ABREVIATIONS	xxi
LISTE DES FIGURES	xxii
LISTE DES TABLEAUX	xxvi
RESUME	xxx
ABSTRACT	xxxii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	3
I.1 Généralités sur le système cardiovasculaire	3
I.1.1 Cœur : anatomie et physiologie	3
I.1.2 Vaisseaux sanguins : anatomie et physiologie	4
I.2 Circulation sanguine	7
I.3 Pression artérielle	8
I.3.1 Définition et méthodes de mesure de la pression artérielle	8
I.3.2 Facteurs déterminants de la pression artérielle	9
I.3.3 Régulation de la pression artérielle	10
I.4 Hypertension artérielle	13
I.4.1 Définition et typologie	13
I.4.2 Facteurs de risque de l'hypertension artérielle	14
I.4.3 Complications de l'hypertension artérielle	18
I.5 Hypertension artérielle et stress oxydant	20
I.5.1 Système pro-oxydant	20
I.5.2 Système antioxydant	20
I.5.3 Relation hypertension et stress oxydant	21
I.6 Modèles expérimentaux de l'hypertension artérielle	22
I.6.1 Modèles génétiques	22
I.6.2 Modèles endocrines	22
I.6.3 Modèles chirurgicaux ou réno-vasculaires	23
I.6.4 Modèles pharmacologiques : hypertension induite par le nitro-arginine methyl-ester	23
I.6.5 Modèles nutritionnels	24
I.7 Traitement de l'hypertension artérielle	24
I.7.1 Traitement non médicamenteux	25

I.7.2	Traitement médicamenteux	25
I.8	Toxicité	28
I.8.1	Généralités	28
I.8.2	Toxicité aiguë	29
I.8.3	Toxicité subchronique	29
I.9	Plantes : <i>Bidens pilosa</i> et <i>Cymbopogon citratus</i>	30
I.9.1	<i>Bidens pilosa</i> Linné	30
I.9.2	<i>Cymbopogon citratus</i> (D.C) Stapf	32
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES		35
II.1.1	Matériel animal	35
II.1.2	Matériel végétal	35
II.2	Méthodes	35
II.2.1	Extraction des plantes	35
II.2.2	Préparation des solutions d'induction des modèles d'hypertension et de traitement	37
II.2.3	Etudes phytochimiques qualitative et quantitative des extraits	39
II.2.4	Détermination <i>in vitro</i> du pouvoir antioxydant des extraits	43
II.2.5	Evaluation des effets hypotenseurs de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	46
II.2.6	Evaluation des effets diurétiques de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	47
II.2.7	Evaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur des modèles d'hypertension artérielle essentielle et secondaire	48
II.2.8	Evaluation du profil toxicologique de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	55
II.2.9	Collecte des échantillons (urine, sérum) et préparation des homogénats	56
II.2.10	Analyses biochimiques	57
II.2.11	Analyses histologiques	77
II.2.12	Analyses statistiques des résultats	80
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION		81
III.1	Résultats	81
III.1.1	Composition phytochimique et activité antioxydante <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	81

III.1.2	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la pression artérielle des rats normotendus	83
III.1.3	Effets de quelques substances pharmacologiques de références sur l'activité hypotensive de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	85
III.1.4	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la diurèse des rats normaux	87
III.1.5	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> en traitement curatif de l'hypertension artérielle essentielle (hypertension artérielle à la L-NAME)	88
III.1.6	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> en traitements préventif et curatif de l'hypertension artérielle secondaire induite par un mélange alcool+sel	113
III.1.7	Toxicité de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	154
III.2	Discussion	167
	CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	177
	REFERENCES	179
	ANNEXES	a

LISTE DES ABREVIATIONS

ALAT:	Alanine amino transférase
ASAT:	Aspartate amino transférase
CA:	Coefficient athérogène
Chol:	Cholestérol
EDHF:	“Endothelium-derived hyperpolarizing factor”
ERO:	Espèces réactives de l’oxygène
FC:	Fréquence cardiaque
GSH:	Glutathion réduit
HDL:	“High density lipoprotein”
HTA:	Hypertension artérielle
LDL:	“Low density lipoprotein”
L-NAME:	L-nitro-arginine methyl ester
MDA:	Malondialdéhyde
NO:	Oxyde nitrique
NOS:	Oxyde nitrique synthase
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
PA:	Pression artérielle
PAD:	Pression artérielle diastolique
PAM:	Pression artérielle moyenne
PAS:	Pression artérielle systolique
RHT:	Rats hypertendus
RNT:	Rats normotendus
RRC:	Ratio risque cardiaque
SOD:	Superoxyde dismutase
VLDL:	“Very low-density lipoprotein”

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Coupe frontale du cœur: vue antérieure interne.	3
Figure 2:	Structures microscopique (a) et macroscopique (b) des artères, des capillaires et des veines.	6
Figure 3:	Représentation schématique de la circulation du sang dans l'organisme.	7
Figure 4:	Système rénine -angiotensine – aldostérone.	13
Figure 5:	Photographie de <i>Bidens pilosa</i> .	31
Figure 6:	Photographie de <i>Cymbopogon citratus</i> .	33
Figure 7:	Protocole de préparation des extraits aqueux de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> .	36
Figure 8:	Protocole de préparation de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et <i>Cymbopogon citratus</i>	37
Figure 9:	Courbe d'étalonnage pour la détermination de la teneur en polyphénols totaux.	42
Figure 10:	Courbe d'étalonnage pour la détermination de la teneur en flavonoïdes.	43
Figure 11:	Photo du dispositif d'enregistrement de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque.	47
Figure 12:	Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> en traitement curatif de l'hypertension artérielle essentielle induite par la L-NAME.	50
Figure 13:	Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire induite par une solution d'alcool+sel.	52
Figure 14:	Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire induite par une solution d'alcool+sel.	54
Figure 15:	Courbe d'étalonnage pour la détermination du taux des protéines.	72
Figure 16:	Courbe d'étalonnage pour la détermination de l'activité de la catalase.	73
Figure 17:	Courbe d'étalonnage pour la détermination du taux des nitrites.	76
Figure 18:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la pression artérielle des rats normotendus.	84

- Figure 19:** Enregistrements originaux montrant les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (10 mg/kg) (A) et de ceux de l'indométacine (B), la yohimbine (C), l'atropine (D), le propranolol (E) ou la L-NAME (F) sur l'activité hypotensive de cet extrait. 86
- Figure 20:** Effets de l'atropine (A), la L-NAME (B), la yohimbine (C), le propranolol (D) ou l'indométacine (E) sur l'activité hypotensive de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*. 87
- Figure 21:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le volume urinaire excrété des rats normotendus. 88
- Figure 22:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur la prise alimentaire, la prise hydrique et l'excrétion urinaire des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 89
- Figure 23:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 90
- Figure 24:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 92
- Figure 25:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 106
- Figure 26:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 108
- Figure 27:** Effets de la L-NAME sur l'architecture (A) du foie, du rein, du cœur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats. 109
- Figure 28:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture (A) du foie, du rein, du cœur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats rendus hypertendus à la L-NAME. 112
- Figure 29:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les prises alimentaire (A), hydrique (B) et le volume urinaire excrété (C) des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire. 114

Figure 30:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le gain pondéral des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.	115
Figure 31:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.	117
Figure 32:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le statut oxydant des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.	129
Figure 33:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le taux de protéines tissulaires des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.	130
Figure 34:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur l'architecture du foie, du rein, du cœur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie de l'aorte des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.	133
Figure 35:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la prise hydrique, la prise alimentaire et sur le volume d'excrétion urinaire des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.	135
Figure 36:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le poids corporel des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.	136
Figure 37:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.	137
Figure 38:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le statut oxydant des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.	149
Figure 39:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>B. pilosa</i> et de <i>C. citratus</i> sur le taux de protéines des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.	150
Figure 40:	Effets de l'extrait aqueux du mélange <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur l'architecture (A) du foie, du rein, du cœur et de l'aorte et	153

sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

- Figure 41:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats mâles (A) et femelles (B) et le poids relatif de quelques organes des rats mâles (C) et femelles (D) en toxicité aiguë. 156
- Figure 42:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats mâles (A) et femelles (B) en toxicité subchronique. 157
- Figure 43:** Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture du foie, des reins, de la rate et des poumons chez les rats mâles (A) et femelles (B) en toxicité subchronique. 166

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I:	Classification de l'hypertension artérielle	14
Tableau II:	Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols	42
Tableau III:	Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes	43
Tableau IV:	Protocole du dosage du cholestérol total	58
Tableau V :	Protocole du dosage des triglycérides	59
Tableau VI:	Protocole de précipitation des VLDL et LDL-Cholestérol	60
Tableau VII:	Protocole du dosage du HDL-cholestérol	60
Tableau VIII:	Protocole du dosage de l'ALAT et l'ASAT	61
Tableau IX:	Protocole du dosage de la bilirubine totale	62
Tableau X:	Protocole du dosage de l'albumine	63
Tableau XI:	Protocole du dosage de la créatinine	64
Tableau XII:	Protocole du dosage de l'acide urique	65
Tableau XIII:	Protocole du dosage de l'urée	66
Tableau XIV:	Protocole du dosage du calcium	67
Tableau XV:	Protocole du dosage du magnésium	68
Tableau XVI:	Protocole du dosage du sodium	69
Tableau XVII:	Protocole du dosage du potassium	70
Tableau XVIII:	Protocole du dosage des protéines	71
Tableau XIX:	Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage et du dosage de la catalase	73
Tableau XX:	Protocole du dosage des nitrites	76
Tableau XXI:	Protocole d'une batterie de déparaffinage	79
Tableau XXII:	Etapas de la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine	79
Tableau XXIII:	Composés bioactifs identifiés dans l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	81
Tableau XXIV:	Taux de polyphénols et de flavonoïdes de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> et des extraits aqueux de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	82
Tableau XXV:	Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> avec le DPPH, l'ABTS et le FRAP	83

Tableau XXVI:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le profil lipidique des rats rendus hypertendus à la L-NAME	94
Tableau XXVII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les indices athérogènes des rats rendus hypertendus à la L-NAME	95
Tableau XXVIII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la fonction hépatique des rats rendus hypertendus à la L-NAME	97
Tableau XXIX:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les paramètres sériques de la fonction rénale des rats rendus hypertendus à la L-NAME	100
Tableau XXX:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les paramètres urinaires de la fonction rénale des rats rendus hypertendus à la L-NAME	102
Tableau XXXI:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le profil lipidique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire	119
Tableau XXXII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les indices athérogènes des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire	120
Tableau XXXIII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la fonction hépatique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire	121
Tableau XXXIV:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les paramètres sériques de la fonction rénale des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire	123
Tableau XXXV:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur les paramètres urinaires de la fonction rénale des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire	125

Tableau XXXVI:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon</i> sur le profil lipidique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire	139
Tableau XXXVII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon</i> sur les indices athérogènes des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire	140
Tableau XXXVIII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la fonction hépatique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire	141
Tableau XXXIX:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la fonction rénale au niveau sérique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire	143
Tableau XL:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur la fonction rénale au niveau urinaire des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire	145
Tableau XLI :	Comportement et taux de mortalité des rats au cours de l'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i>	155
Tableau XLII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le poids relatif des organes des femelles en toxicité subchronique	158
Tableau XLIII:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur le poids relatif des organes des mâles en toxicité subchronique	159
Tableau XLIV:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur quelques paramètres biochimiques sériques des rats femelles en toxicité subchronique	160
Tableau XLV:	Effets de l'extrait aqueux du mélange de <i>Bidens pilosa</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> sur quelques paramètres biochimiques sériques des rats mâles en toxicité subchronique	161

Tableau XLVI: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de 162
Cymbopogon citratus sur les éléments figurés du sang des rats
femelles en toxicité subchronique

Tableau XLVII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de 163
Cymbopogon citratus sur les éléments figurés du sang des rats
mâles en toxicité subchronique

RESUME

L'hypertension artérielle (HTA) est actuellement l'un des principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires et rénales. La difficulté de la prise en charge de cette maladie constitue un problème de santé mondiale. De nos jours, les populations ont recours à la médecine alternative pour leurs problèmes de santé. *Bidens pilosa* (*B. pilosa*) et *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) sont deux plantes dont les effets antihypertenseurs ont déjà été démontrés. Dans la présente étude, les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* en vue d'une réduction de la dose ont été évalués sur l'HTA. Après vérification des effets hypotenseurs de l'extrait sur les rats normotendus, un essai de mécanisme d'action a été réalisé en présence de certains antagonistes pharmacologiques (atropine, L-NAME, yohimbine, indométacine et propranolol). Les effets antihypertenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* ont ensuite été évalués en traitement préventif et curatif sur un modèle d'HTA secondaire (alcool+sel : 5 et 2,46 g/kg respectivement) et en traitement curatif sur un modèle d'HTA essentielle (L-NAME ; 25 mg/kg). Les paramètres hémodynamiques ont été enregistrés par la méthode invasive. Une analyse sérique du profil lipidique (cholestérol total, triglycéride, LDL-cholestérol et HDL-cholestérol), de quelques ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ et Na^+) et de quelques paramètres des fonctions hépatique (ALAT, ASAT, albumine et bilirubine) et rénale (créatinine, urée et acide urique) a été faite. Les homogénats de quelques organes cibles (foie, rein, cœur et aorte) ont permis d'évaluer le taux de protéines, l'activité de la catalase et de la superoxyde dismutase (SOD), les concentrations du glutathion réduit (GSH), de malondialdéhyde (MDA) et de nitrites. Une analyse histopathologique de ces organes a été faite en utilisant la coloration à l'hématoxyline-éosine. Une toxicité (aiguë et subchronique) de l'extrait a été réalisée. La L-NAME et le mélange alcool+sel ont entraîné respectivement dans les modèles d'hypertension artérielle essentielle et secondaire, une augmentation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque, un stress oxydant (caractérisé par une augmentation du taux de MDA et une diminution du taux de GSH et des activités de la catalase et de la SOD), une altération des fonction rénale (caractérisé par une diminution du débit de filtration glomérulaire et une augmentation des taux de créatinine, d'urée et d'acide urique sérique) et hépatique (caractérisé par une augmentation des taux de bilirubine totale, d'albumine et des activités de l'ALAT et de l'ASAT). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a montré un effet hypotenseur biphasique avec un effet plus marqué à la dose de 10 mg/kg. Cet effet a été partiellement inhibé par l'atropine (1 mg/kg), la yohimbine (0,1 mg/kg) et la L-NAME (5 mg/kg). Dans les deux modèles d'HTA, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et les extraits des plantes prises séparément à la dose de 200 mg/kg ont prévenu (effet préventif) et corrigé (effet curatif) l'augmentation des paramètres

hémodynamiques chez les rats. Ces effets bénéfiques ont été associés à une amélioration du profil lipidique (augmentation du HDL-cholestérol et diminution des triglycérides, du cholestérol total et du LDL-cholestérol), du statut oxydant (augmentation du GSH, de la SOD, de la catalase et diminution du MDA) et des fonctions rénale (augmentation du débit de filtration glomérulaire, diminution des taux de créatinine, d'acide urique et d'urée et maintien de l'équilibre hydroélectrolytique) et hépatique (diminution des activités de l'ALAT et de l'ASAT, des taux de bilirubine et de l'albumine). Ces effets ont donc permis de protéger les organes impliqués dans la régulation de la pression artérielle. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a eu des effets plus prononcés à la plus faible dose (100 mg/kg) sur le profil lipidique, le stress oxydant et la fonction rénale comparativement aux plantes prises séparément. La dose létale ₅₀ (DL50) de cet extrait s'est avérée supérieure à 5 g/kg. En toxicité subchronique, une diminution significative du poids corporel a été observée uniquement chez les femelles. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* a entraîné chez les mâles une diminution significative de la concentration de créatinine. En conclusion, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* s'est avéré antihypertenseur aussi bien sur un modèle d'HTA essentielle (L-NAME) que secondaire (alcool+sel). Cet extrait surtout à la dose la plus faible (100 mg/kg), a eu des effets plus marqués que les plantes prises séparément. Ces effets passeraient par les activités vasorelaxantes, hypolipémiantes, diurétiques, antioxydantes, hépato et néphroprotectrices de ses composés. Ce qui confirme l'idée selon laquelle la polythérapie pourrait avoir des meilleurs effets que la monothérapie.

Mots clés : hypertension artérielle essentielle ; hypertension secondaire ; *Bidens pilosa* ; *Cymbopogon citratus*.

ABSTRACT

High blood pressure (HBP) is currently one of the major risk factors for cardiovascular and renal diseases. The difficulty in the management of this disease is a global health problem. Nowadays, people are turning to alternative medicine for their health problems. *Bidens pilosa* (*B. pilosa*) and *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) are deux medicinal plants well known for their antihypertensive effects. In the present study, the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* were evaluated on hypertension in order to see if the effective dose can be reduced. After verification of the hypotensive effects of the extract on normotensive rats, a mechanism of action test was performed using some pharmacological antagonists (atropine, L-NAME, yohimbine, indomethacin and propranolol). The antihypertensive effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* were then evaluated in preventive and curative treatment on secondary hypertension model (alcohol+salt: 5 and 2.46 g/kg respectively) and in curative treatment on essential hypertension model (L-NAME; 25 mg/kg). Haemodynamic parameters were recorded by the invasive method. Serum analysis of the lipid profile (total cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol), some ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} and Na^{+}) and some liver (ALAT, ASAT, albumin and bilirubin) and kidney (creatinine, urea and uric acid) function parameters was performed. Homogenates from some of target organs (liver, kidney, heart and aorta) were used to assess protein levels, catalase and superoxide dismutase (SOD) activity, and concentrations of reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and nitrites. Histopathological analysis of these organs was performed using haematoxylin-eosin staining. Acute and sub-chronic toxicity of the extract was assessed. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* showed a biphasic hypotensive effect, with a more marked effect at a dose of 10 mg/kg. This effect was partially inhibited with atropine (1 mg/kg), yohimbine (0.1 mg/kg) and L-NAME (5 mg/kg). In both models of hypertension, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) and the plant extracts taken separately at a dose of 200 mg/kg prevented (preventive effect) and corrected (curative effect) the increase in haemodynamic parameters in rats. These beneficial effects were associated with an improvement in lipid profile (increase in HDL-cholesterol and decrease in triglycerides, total cholesterol and LDL-cholesterol), oxidative status (increase in GSH, SOD, catalase and reduced MDA), renal function (increased glomerular filtration rate, reduced creatinine, uric acid and urea levels and maintained fluid and electrolyte balance) and hepatic function (reduced ALAT and ASAT activities, bilirubin and albumin levels). These effects helped to protect the organs involved in regulating blood pressure. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* had more pronounced effects at the lowest dose (100 mg/kg) on lipid profile, oxidative stress and renal

function than plants taken separately. The lethal dose 50 (LD50) of this extract was greater than 5 g/kg. In sub-chronic toxicity, a significant reduction in body weight was observed only in females. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* caused a significant decrease in creatinine concentration in males. In conclusion, the aqueous extract of a mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* proved to be antihypertensive in both an essential (L-NAME) and secondary (alcohol+salt) hypertension model. This extract, especially at the lowest dose (100 mg/kg), had more marked effects than plants taken separately. These effects are due to the vasorelaxant, lipid-lowering, diuretic, antioxidant, hepato-protective and nephro-protective activities of its compounds. This confirms the idea that polytherapy may have better effects than monotherapy.

Key words: essential hypertension; secondary hypertension; *Bidens pilosa*, *Cymbopogon citratus*

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle (HTA) est une augmentation anormale et permanente de la pression sanguine dans les artères. Aujourd'hui, l'hypertension est un véritable problème de santé publique. L'élévation de la pression artérielle est très dangereuse car elle reste silencieuse et asymptomatique, augmentant de ce fait le risque de complications et dans le même sens la morbidité et la mortalité (Storch *et al.*, 2017).

Selon l'OMS, 1,28 milliard de personnes âgées de 30 à 79 ans souffrent d'hypertension dans le monde, et la plupart d'entre elles vivent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. En raison de la faiblesse des systèmes de santé dans ces pays, le nombre de personnes hypertendues non diagnostiquées et/ou non traitées est très élevé (46 %). Sur le continent africain, la prévalence de l'hypertension est de 27 % (OMS, 2023). Au Cameroun, une étude a révélé des valeurs moyennes de pression artérielle et une prévalence de l'HTA élevées, avec une prévalence étonnamment faible de la sensibilisation à l'HTA, de son traitement et de son contrôle. En outre, 32 % des adultes ont été déclaré hypertendus ; parmi ces personnes hypertendues, 76 % ignoraient leur état, 85 % ne prenaient pas de médicaments antihypertenseurs et 91 % avaient une pression artérielle non contrôlée (Defo *et al.*, 2019).

L'HTA est une pathologie qui peut être essentielle (sans causes connues) pour 90 à 95 % des cas ou secondaire (causes connues) pour 5 à 10 % des cas. Plusieurs facteurs peuvent favoriser la survenue de l'HTA, dont certains sont modifiables (la consommation excessive de sel, de sucre ou de graisses saturées, l'abus d'alcool, la sédentarité, et le stress) et d'autres pas (les antécédents familiaux d'hypertension, le vieillissement, le sexe et la coexistence d'autres pathologies telles que le diabète ou une maladie rénale) (OMS, 2023). En raison de leurs mauvaises habitudes alimentaires (une alimentation trop salée et une consommation excessive d'alcool), certaines personnes sont plus exposées à l'HTA. Cela est fondamentalement dû au fait que l'alcool et le sel en excès affectent le système nerveux et les reins qui interviennent dans la régulation de la pression artérielle. Il a été démontré qu'une consommation chronique d'alcool entraîne l'hypertension artérielle (Aboubakar *et al.*, 2021). Une consommation excessive et chronique de sel entraîne une augmentation des chiffres tensionnels et par conséquent l'HTA (Bella *et al.*, 2013; Bopda *et al.*, 2014). Cependant, aucune étude n'a encore été menée sur la combinaison alcool plus sel qui reflète les habitudes alimentaires des camerounais.

Le traitement de l'hypertension comporte plusieurs axes dont les médicaments et l'amélioration de l'hygiène de vie. Un traitement antihypertenseur associé éventuellement à des mesures hygiéno-diététiques réduit considérablement la pression artérielle et par conséquent réduit la morbi-mortalité cardiovasculaire (OMS, 2023). Malgré leur utilisation, les médicaments antihypertenseurs possèdent plusieurs limites à savoir les multiples effets secondaires et l'inaccessibilité. Plusieurs laboratoires de recherche ont axé leurs travaux sur l'évaluation de l'action pharmacologique des plantes médicinales qui bénéficient d'une efficacité thérapeutique et des effets

secondaires minimales. L'utilisation des plantes par les tradithérapeutes se fait plus en combinaison que de façon isolée, surtout pour des maladies chroniques comme l'HTA (Sokpe *et al.*, 2020). Cette polythérapie utilisée par les tradithérapeutes est encouragée par les comités scientifiques face à l'échec de plus en plus importante de la monothérapie. Ce regain d'intérêt pour l'utilisation de plusieurs molécules combinées dans le traitement des maladies est lié aussi bien à l'efficacité qu'à la réduction des doses et des éventuels effets secondaires.

Des études ont montré que les plantes combinées produisent un effet thérapeutique plus important à des doses plus faibles que les préparations à base de plantes seules (Sokpe *et al.*, 2020). La prise en charge de toute maladie chronique commence généralement par une molécule puis deux ou trois en fonction de l'évolution de la maladie (Bassand, 2008). Plusieurs plantes ont déjà prouvé leur efficacité et leur limite en monothérapie ; il existe un besoin urgent de développer de nouveaux médicaments combinant plusieurs plantes pour une prise en charge plus efficace des maladies à l'instar de l'hypertension. Des travaux scientifiques ont mis en évidence des effets antitumoraux, antioxydant, antihypertenseur, vasodilatateur, et anti ulcératif de *Bidens pilosa* (Dimo *et al.*, 2002; Arlene *et al.*, 2013; Bilanda *et al.*, 2017). Des auteurs ont démontré les effets antispasmodique, antipyrétique, sédatif, antioxydant, diurétique et hypotenseur de *Cymbopogon citratus* c; Kouame *et al.*, 2016; Verma *et al.*, 2021). Le mélange des deux plantes est utilisé traditionnellement comme tisane pour traiter l'HTA et aucune étude scientifique de ce mélange n'a encore été réalisée. Nous nous sommes donc posés la question de recherche suivante : comment l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à faible dose peut-il être plus efficace sur les modèles d'HTA secondaire et essentielle que chacun de ces extraits en monothérapie ?

Nous avons ainsi émis l'hypothèse suivant laquelle l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a une meilleure activité antihypertensive aussi bien sur l'HTA secondaire qu'essentielle et est faiblement toxique. Suivant cette hypothèse nous nous sommes fixés pour objectif principal de contribuer à l'étude des effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'hypertension artérielle induite expérimentalement chez le rat.

De façon spécifique, il a été question de :

- évaluer les effets hypotenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* chez des rats normaux et élucider quelques mécanismes d'action ;
- évaluer les effets curatifs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur un modèle d'hypertension artérielle essentielle induite par la L-NAME ;
- évaluer les effets préventifs et curatifs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur un modèle d'hypertension artérielle secondaire induite par un mélange d'alcool et de sel ;
- établir le profil toxicologique de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* chez le rat.

CHAPITRE I :
REVUE DE LITTERATURE

I.1 Généralités sur le système cardiovasculaire

Le système cardiovasculaire est constitué du cœur et des vaisseaux qui permettent la circulation du sang et de la lymphe. Sa fonction principale est d'approvisionner les organes, les tissus et les cellules en nutriments et d'éliminer les déchets issus du métabolisme cellulaire. Dans ce système, le cœur se trouve au centre. Les vaisseaux sanguins (artères, veines, artérioles et veinules) servent de conduits au passage du sang (Tortora *et al.*, 2022).

I.1.1 Cœur : anatomie et physiologie

Le cœur est le moteur principal et le point de départ de la circulation sanguine. Son rôle est d'assurer l'hémodynamie, c'est à dire la pression nécessaire à la circulation du sang afin d'approvisionner continuellement les tissus en oxygène et en nutriments pour la production d'énergie et de récupérer rapidement les produits du métabolisme. Le cœur est divisé en deux parties (droite et gauche) constituées chacune de deux cavités (oreillettes et ventricules) dans laquelle la circulation unidirectionnelle du sang est assurée par les valvules. Sur le plan structural, le cœur est constitué de trois couches tissulaires de l'extérieur vers l'intérieur : le péricarde, le myocarde et l'endocarde (Figure 1) (Tortora *et al.*, 2022).

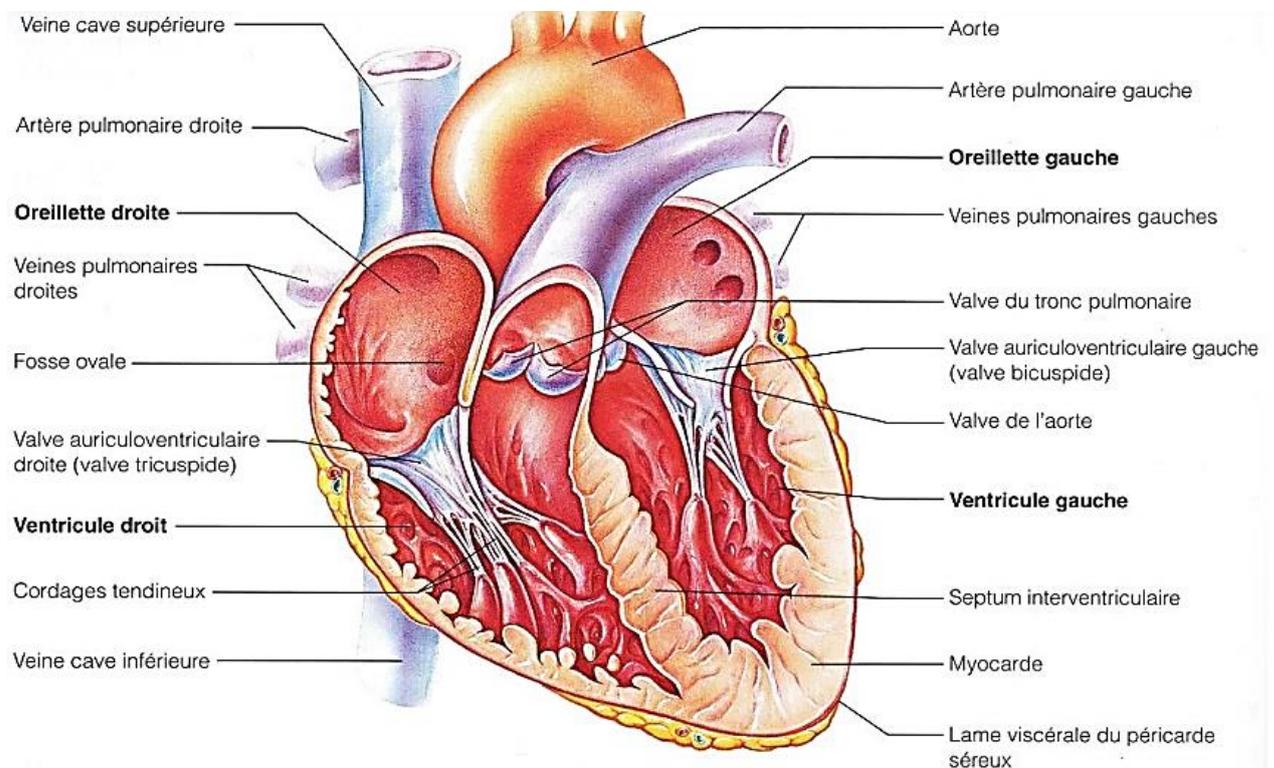


Figure 1: Coupe frontale du cœur: vue antérieure interne (Tortora *et al.*, 2022).

Le péricarde est un sac à double paroi enveloppant le cœur. Il est composé du péricarde fibreux et du péricarde séreux. Le péricarde fibreux protège le cœur et lui évite toute accumulation excessive du sang. Il est lâche et composé de tissu conjonctif dense. Le péricarde séreux est lui-même composé du feuillet viscéral ou épicarde qui enveloppe le cœur et le feuillet pariétal. Ces deux feuillets délimitent la cavité péricardique, espace de glissement qui permet les mouvements cardiaques. Le myocarde ou muscle cardiaque est un muscle strié semblable aux muscles squelettiques, mais diffère sur le plan physiologique et structural. L'endocarde est une membrane endothéliale qui tapisse la face interne du myocarde. Le myocarde est doué d'automatisme. Ses contractions surviennent de façon spontanée et régulière ; à une fréquence chez l'adulte au repos de 70 battements par minute. Chaque battement du cœur entraîne une séquence d'événements mécaniques et électriques collectivement appelés la révolution cardiaque (Tortora *et al.*, 2022).

La révolution cardiaque se résume en trois étapes majeures : la systole auriculaire, la systole ventriculaire et la diastole. Dans la systole auriculaire, les oreillettes se contractent et projettent le sang vers les ventricules. Une fois le sang expulsé des oreillettes, les valvules auriculo-ventriculaires (à trois valves ou tricuspide à droite et à deux valves ou mitrale à gauche) situées entre les oreillettes et les ventricules se ferment. Ceci évite un reflux du sang vers les oreillettes. La fermeture de ces valvules produit le son familier du battement du cœur. La systole ventriculaire implique la contraction des ventricules expulsant le sang vers le système circulatoire. Une fois le sang expulsé, les deux valvules sigmoïdes (la valvule pulmonaire à droite et la valvule aortique à gauche) se ferment. Enfin, la diastole est la relaxation de toutes les parties du cœur, permettant le remplissage passif des ventricules et l'arrivée du sang à nouveau. Les phases de contractions des oreillettes et des ventricules sont commandées par la propagation d'une impulsion électrique. Lorsque la fréquence cardiaque change, la diastole est raccourcie ou rallongée tandis que la durée de la systole reste relativement stable (Marieb et Katja, 2015).

Le système cardiovasculaire comprend plusieurs types de vaisseaux sanguins qui ensemble assurent le transport du sang, du cœur aux organes et inversement.

I.1.2 Vaisseaux sanguins : anatomie et physiologie

Le système vasculaire est constitué de quatre grands types de vaisseaux, de structure et de fonction différentes. En s'éloignant du cœur, prennent place successivement : les gros troncs artériels élastiques (riches en fibres élastiques), les artères musculaires et les artérioles (riches en cellules musculaires lisses) qui contribuent à répartir le flux sanguin vers les différents

organes en fonction de leurs besoins grâce à leurs propriétés vasomotrices, les capillaires où ont lieu les échanges de matière avec les organes et enfin les veines qui assurent le retour sanguin vers le cœur. Les vaisseaux sanguins forment un système clos de conduit qui transportent le sang loin du cœur, l'acheminement jusqu'aux tissus de l'organisme (artères) puis le retournent au cœur (veines). A l'exception des capillaires qui sont constitués d'une monocouche d'endothélium entourée d'une membrane basale, la coupe transversale des vaisseaux (Figure 2) permet d'observer trois tuniques dont l'importance relative de chacune varie suivant le type de vaisseaux (Marieb et Hoehn, 2019). On distingue :

➤ **L'adventice (tunique externe)**

Elle est formée d'une couche de fibres de collagène disposées parallèlement au grand axe du vaisseau ;

➤ **La média (tunique moyenne)**

Elle est localisée sous l'intima et représente la partie musculaire des vaisseaux, puisqu'elle possède les fibres musculaires lisses mais aussi des fibres élastiques. Elle confère aux vaisseaux deux propriétés importantes à savoir la contractilité et l'élasticité. Cette couche a la particularité d'être innervée par les fibres du système sympathique. Sous l'influence de différents facteurs, le diamètre des vaisseaux varie. On parlera soit de vasodilatation ou de vasoconstriction ;

➤ **L'intima (tunique interne)**

Elle est composée d'une membrane basale constituée de collagène et de mucopolysaccharides, de tissu conjonctif et d'une couche unique de cellules endothéliales en contact avec la lumière des vaisseaux.

I.1.2.1 Artères

Les artères sont des gros vaisseaux caractérisés par une forte pression sanguine, une paroi épaisse et musculeuse, et par une circulation pulsatile, résultat du battement cardiaque. À l'exception de l'artère pulmonaire, toutes les artères contiennent du sang oxygéné. La structure des artères évolue, à mesure qu'elles s'éloignent du cœur. Ainsi on a :

- ❖ les artères élastiques qui possèdent le plus grand diamètre et qui sont caractérisées par la présence de nombreuses fibres élastiques dans leur tunique moyenne ;
- ❖ les artères musculaires ou moyennes, caractérisées par une tunique moyenne contenant plus de muscles lisses et moins de fibres élastiques que les artères élastiques.

I.1.2.2 Veines

Les veines sont les vaisseaux sanguins qui ramènent le sang au cœur. Elles sont caractérisées par une faible pression sanguine. Le sang y circule grâce aux pressions environnantes générées par le travail des muscles striés, avec le concours de nombreuses valvules qui constituent un mécanisme anti-reflux.

I.1.2.3 Capillaires

Les capillaires sont des vaisseaux microscopiques qui relient les artérioles (petites artères) aux veinules (petites veines). Ils ne sont composés que d'une seule couche de cellules endothéliales et d'une membrane basale sans tunique moyenne ni externe. Les capillaires sont organisés en réseaux interconnectés. Il existe trois types de capillaires qui assurent une adéquation entre la perméabilité et les besoins physiologiques des tissus irrigués :

- les capillaires continus, formés d'un endothélium et d'une lame basale continue ;
- les capillaires fenestrés, formés d'un endothélium traversé par des pores très nombreux ou des fenestrations et d'une lame basale continue ;
- les capillaires discontinus possédant un endothélium et une lame basale discontinue.

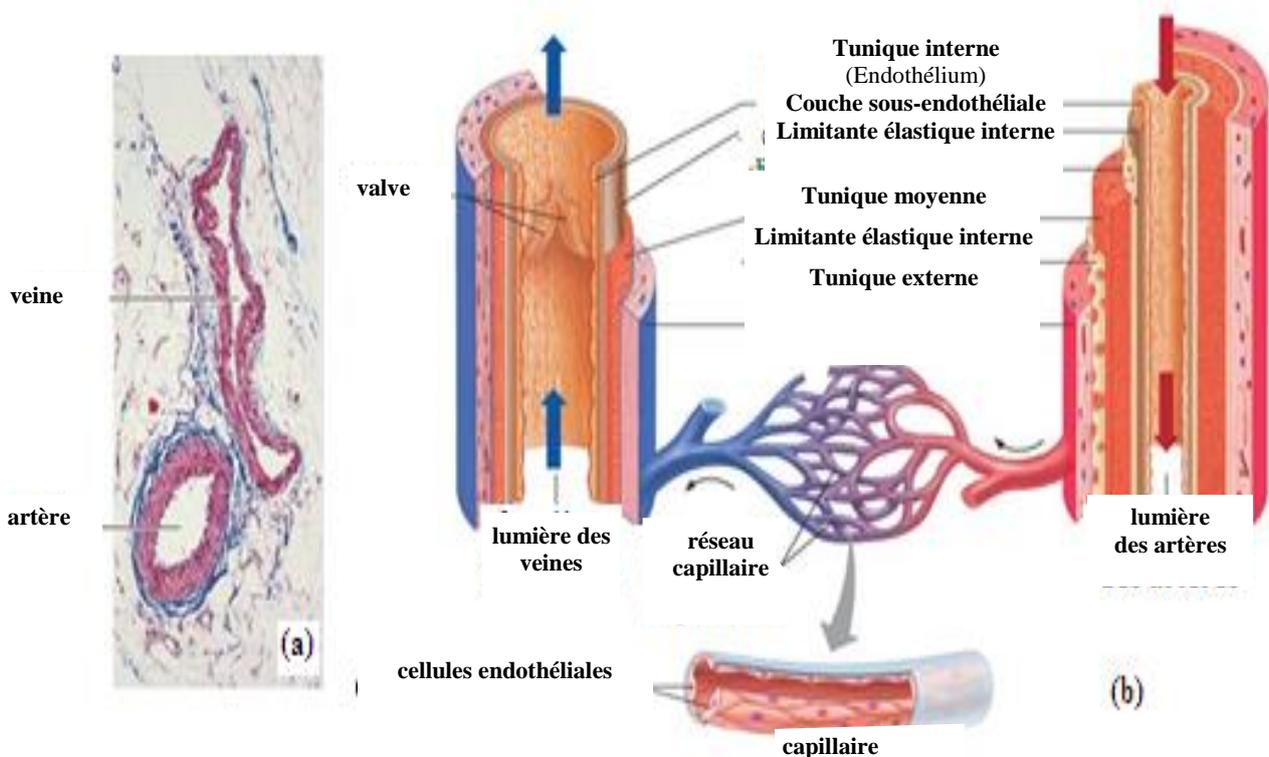


Figure 2: Structures microscopique (a) et macroscopique (b) des artères, des capillaires et des veines (Marieb et Hoehn, 2019).

I.2 Circulation sanguine

Le système circulatoire (Figure 3) est un système constitué de la circuloire pulmonaire (petite circulation), la circuloire systémique (grande circulation) et de la circuloire coronaire (Marieb et Katja, 2015).

- **La circulation pulmonaire**, issue du cœur droit, permet les échanges respiratoires avec les poumons. Le sang (pauvre en oxygène et riche en gaz carbonique) quitte le cœur par l'artère pulmonaire, passe dans les réseaux des capillaires pulmonaires, où il y a des échanges de gaz avec l'air contenu dans les alvéoles pulmonaires puis retourne au cœur gauche par les veines pulmonaires ;
- **La circulation systémique**, issue du cœur gauche, permet les échanges avec tous les autres organes. Le sang (riche en oxygène et pauvre en gaz carbonique) quitte le cœur par l'artère aorte, il est conduit dans les capillaires de tous les organes du corps, puis retourne au cœur droit par les veines caves ;
- **La circulation coronaire** conduit le sang à l'intérieur du cœur lui-même.

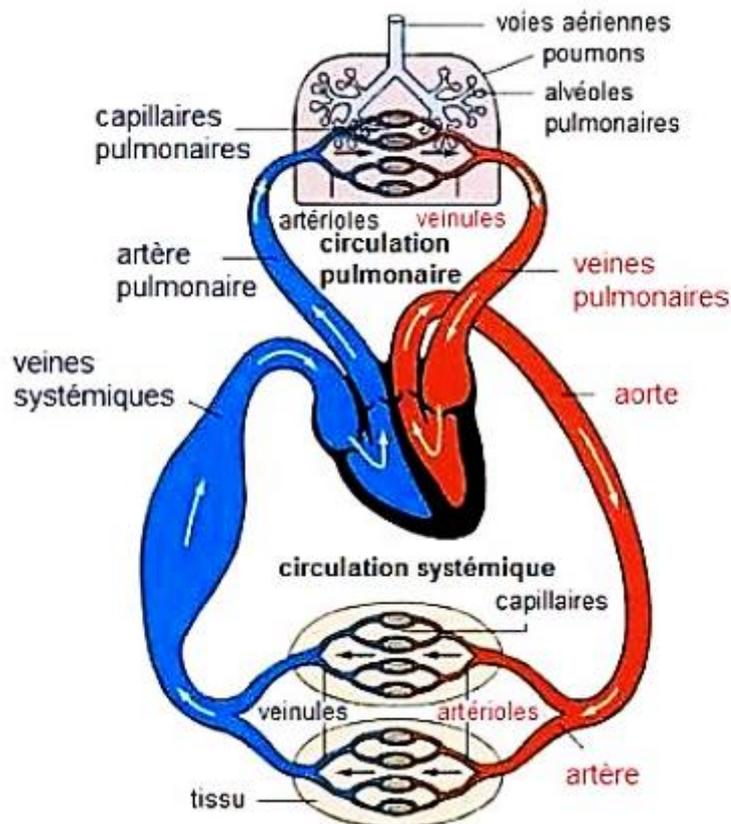


Figure 3: Représentation schématique de la circulation du sang dans l'organisme (Marieb et Katja, 2015).

Le sang au cours de son passage à travers les vaisseaux sanguins, exerce une pression appelée pression artérielle lorsque le vaisseau est une artère.

I.3 Pression artérielle

I.3.1 Définition et méthodes de mesure de la pression artérielle

I.3.1.1 Définition

La pression artérielle (PA) est la force qu'exerce le sang sur chaque unité de la surface de la paroi artérielle, elle est exprimée en millimètre de mercure (mmHg). Elle est définie par la relation suivante :

$PA = DC \times RP$ où PA est la pression artérielle, DC le débit cardiaque et RP les résistances périphériques.

Cette pression n'est pas constante au cours du cycle cardiaque et passe par deux valeurs extrêmes. La maximale appelée pression artérielle systolique (PAS) qui correspond à la pression dans l'aorte et les larges branches artérielles lors de l'augmentation du volume sanguin maximal éjecté par le ventricule gauche. La minimale appelée pression artérielle diastolique (PAD) qui est la pression après éjection du sang pendant la phase de repos du cœur ou diastole. La différence entre pression artérielle systolique et pression artérielle diastolique est appelée pression différentielle ou pression pulsée ; c'est cette dernière qui est à l'origine de la sensation de palpitation (pouls) pendant la systole. La pression artérielle moyenne (PAM) est la moyenne de la pression artérielle au cours du cycle cardiaque (Vallée et Blacher, 2018). La PAM est déterminée par la formule suivante :

$$PAM = PAD + 1/3(PAS - PAD)$$

I.3.1.2 Méthodes de mesure de la pression artérielle

La prise de la pression artérielle (PA) fait partie de la routine en clinique lors d'un examen ou d'une consultation ou à l'occasion d'une complication ou encore lors d'une intervention chirurgicale. Il existe actuellement deux méthodes de mesure de la pression artérielle à savoir la méthode directe (invasive) et la méthode indirecte (non invasive) (Muntner *et al.*, 2019).

❖ Méthode directe ou invasive

La méthode directe permet de mesurer directement la pression dans une artère. Le système pour la mesure de la pression artérielle par voie directe, comporte généralement quatre éléments à savoir : un cathéter intra-artériel, un dispositif de connexion et de rinçage, un

transducteur électromécanique, un système d'amplification et d'enregistrement. L'introduction du cathéter dans l'artère relié au transducteur lui-même relié à l'enregistreur hémodynamique transmet les variations de la pression artérielle à l'enregistreur qui à son tour envoie les signaux vers un ordinateur contenant le logiciel qui permet de visualiser les différents tracés enregistrés. La mesure invasive de la pression artérielle est utilisée dans certains cas notamment dans les unités de soins intensifs, lors d'un cathétérisme ou au cours d'une intervention chirurgicale. Cette méthode présente plusieurs risques en particulier, les risques hémorragiques et infectieux.

❖ **Méthode indirecte ou non invasive**

La méthode indirecte consiste à mesurer la contrepression exercée sur une artère par un brassard gonflable. A partir de cette méthode, ont été mis au point des appareils automatiques permettant une mesure continue non invasive (à chaque battement cardiaque) de la pression artérielle aussi bien au niveau digital que brachial. La mesure indirecte de la pression artérielle s'effectue avec un sphygmomanomètre (sphygmos : pouls ; manomètre : mesure de pression) et un stéthoscope. La mesure classique de la PA est effectuée en position couchée ou assise pendant 10 minutes, en utilisant un manomètre (méthode de référence) avec un brassard adapté à la taille du bras ; il doit entourer les deux tiers de la longueur du bras. Un brassard trop étroit peut induire une surestimation des chiffres de la PA chez l'obèse. En cas de chiffres tensionnels élevés, l'OMS requiert trois mesures à deux consultations différentes au moins pour affirmer ce diagnostic et six mesures en cas d'HTA sévère. La qualité de la mesure de la PA est indispensable au diagnostic d'HTA.

I.3.2 Facteurs déterminants de la pression artérielle

Plusieurs facteurs sont susceptibles d'influencer la pression artérielle. Il s'agit :

❖ **Du débit sanguin**

Le débit sanguin est le volume de sang qui s'écoule dans un vaisseau, dans un organe ou dans le système cardiovasculaire entier en une période donnée. Le débit sanguin reste constant au repos, mais peut néanmoins considérablement varier suivant les besoins d'un organe donné. Il est proportionnel à la pression différentielle et inversement proportionnel à la résistance périphérique. Il dépend de la fréquence cardiaque (FC) et du volume d'éjection systolique (VES). Le débit cardiaque est déterminé par la formule suivante (Vallée et Blacher, 2018) :

$$\text{Débit cardiaque} = \text{FC} \times \text{VES}$$

Etant donné que le VES dépend du volume sanguin, une augmentation de la volémie entraîne par ricochet une augmentation de la pression artérielle.

❖ De la résistance périphérique

La résistance est la force résultant de la friction du sang sur les parois des vaisseaux et qui s'oppose à l'écoulement sanguin. Comme la friction est surtout manifeste dans la circulation périphérique, loin du cœur, on parle généralement de résistance périphérique. Cette résistance périphérique est proportionnelle à la longueur des vaisseaux et la viscosité du sang. La résistance périphérique en influençant le débit sanguin vasculaire agit sur la pression artérielle locale et par conséquent sur la pression artérielle systémique (Vallée et Blacher, 2018).

La pression artérielle n'est pas une valeur constante et doit être maintenue dans des valeurs physiologiques pour assurer une circulation efficace et donc des apports suffisants en nutriments aux tissus.

I.3.3 Régulation de la pression artérielle

À tout moment de la journée, plusieurs systèmes de rétroaction négative reliés entre eux régularisent la PA en ajustant la fréquence cardiaque et le volume sanguin qui agissent sur le débit cardiaque. Ces systèmes régularisent aussi la PA en agissant sur les résistances vasculaires périphériques. Certains systèmes permettent une adaptation rapide de la pression sanguine à des changements soudains (régulation à court terme). D'autres systèmes agissent plus lentement de façon à assurer une régulation à moyen ou à long terme de la pression sanguine (Vallée et Blacher, 2018).

I.3.3.1 Régulation à court terme

Les réactions à court terme sont des réflexes nerveux immédiats mettant en jeu les barorécepteurs, les volorécepteurs et les chémorécepteurs (Tortora *et al.*, 2022).

❖ Les barorécepteurs

Les barorécepteurs carotidiens et aortiques réagissent aux variations de la pression artérielle pour stimuler ou inhiber la décharge sympathique et/ou parasympathique du centre de contrôle vasomoteur. Lorsque la pression artérielle baisse, les barorécepteurs émettent leurs influx nerveux plus lentement vers le centre de contrôle vasomoteur. Le centre vasomoteur réagit en diminuant la stimulation parasympathique du cœur et en augmentant la stimulation sympathique. Cette dernière est associée à la sécrétion d'adrénaline et de noradrénaline dans le sang. Au niveau cardiaque, la stimulation des récepteurs β_1 -adrénergiques augmente la vitesse

de conduction, la fréquence cardiaque, la contractilité et l'excitabilité du muscle cardiaque. Ces effets aboutissent à une augmentation du débit cardiaque. Au niveau vasculaire, la stimulation des récepteurs β_2 entraîne une vasodilatation. La stimulation des récepteurs α_1 entraîne une vasoconstriction artériolaire tandis que la stimulation des récepteurs α_2 entraîne une neuromodulation négative (diminution de la libération de noradrénaline) au niveau des terminaisons de l'orthosympathique.

À l'inverse, lorsque les barorécepteurs détectent une augmentation de la pression dans l'aorte et les artères carotides, le centre de contrôle vasomoteur réagit en augmentant la stimulation parasympathique et en diminuant la stimulation sympathique. Le système parasympathique agit via l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques cardiaques et vasculaires. Au niveau cardiaque, la stimulation des récepteurs muscariniques M_2 provoque des effets chronotropes négatif (ralentissement du rythme cardiaque), inotrope négatif (diminution de la force de contraction) et dromotrope négatif (ralentissement de la conduction). Au niveau des muscles lisses vasculaires, la stimulation des récepteurs M_3 provoque la libération du monoxyde d'azote (NO) par les cellules endothéliales, entraînant une vasodilatation.

❖ Les volorécepteurs

Les volorécepteurs agissent comme les barorécepteurs mais répondent uniquement à des variations de la volémie. Ils sont situés au niveau des parois du système à basse pression plus précisément au niveau des oreillettes et des artères pulmonaires. En cas d'augmentation de la volémie, on observe une diminution du débit cardiaque et de la résistance périphérique totale par l'intermédiaire du centre cardiovasculaire bulbaire. L'inverse surviendra lors de la diminution de la volémie.

❖ Les chémorécepteurs

Ils sont situés au niveau du glomus carotidien et aortique. Ils sont sensibles aux variations de gaz carbonique (CO_2), de l'oxygène (O_2) et du pH du sang. Ils deviennent très sensibles quand la PA s'abaisse en dessous de 80 mmHg. Ainsi, l'hypoxie (baisse du taux d' O_2), l'acidose (augmentation de la concentration d'ions H^+) ou l'hypercapnie (excès de CO_2) stimulent les chimiorécepteurs pour qu'ils transmettent des influx au centre de contrôle vasomoteur. Ce dernier réagit en augmentant la stimulation sympathique du cœur et augmente la pression artérielle.

Lorsque les changements de la pression artérielle sont durables, la régulation fait intervenir d'autres systèmes de régulation.

I.3.3.2 Régulation à moyen terme

La régulation à moyen terme se met en place en quelques minutes via l'activation des réflexes hormonaux impliquant la noradrénaline, l'adrénaline et le système rénine-angiotensine. L'adrénaline et la noradrénaline sont produites directement dans le sang par la médullosurrénale en réponse à une action de l'acétylcholine au niveau des récepteur nicotiniques. Les effets de ces substances ainsi libérées qui agissent sur le cœur et les vaisseaux sont environ dix fois plus durables que celles libérées par le système sympathique. Le système rénine-angiotensine est mis en place en cas de baisse de la pression artérielle. Ce système comprend un précurseur produit par le foie, l'angiotensinogène, qui est clivé par la rénine, synthétisée par les cellules juxta glomérulaires rénales, pour conduire à la formation d'angiotensine I inactif. Celle-ci est convertie en angiotensine II par l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Figure 4). L'angiotensine II stimule l'augmentation des résistances vasculaires périphériques par vasoconstriction artériolaire (Caucanas et Blacher, 2018).

I.3.3.3 Régulation à long terme

A long terme, c'est-à-dire plus d'une heure, la régulation de la pression artérielle se fait par modification du volume plasmatique au niveau rénal grâce à une régulation principalement hormonale faisant appel au système rénine-angiotensine-aldostérone. Le système rénine-angiotensine-aldostérone (Figure 4) joue un rôle clé dans le contrôle de la pression artérielle en maintenant l'homéostasie hydrosodée. A long terme, l'angiotensine II possède un effet stimulant de la sécrétion de l'aldostérone au niveau du cortex surrénal. L'aldostérone par ses effets tubulaires va favoriser la réabsorption de l'eau et du sodium augmentant ainsi le volume sanguin, donc la pression artérielle (Caucanas et Blacher, 2018).

Systeme rénine-angiotensine-aldostérone

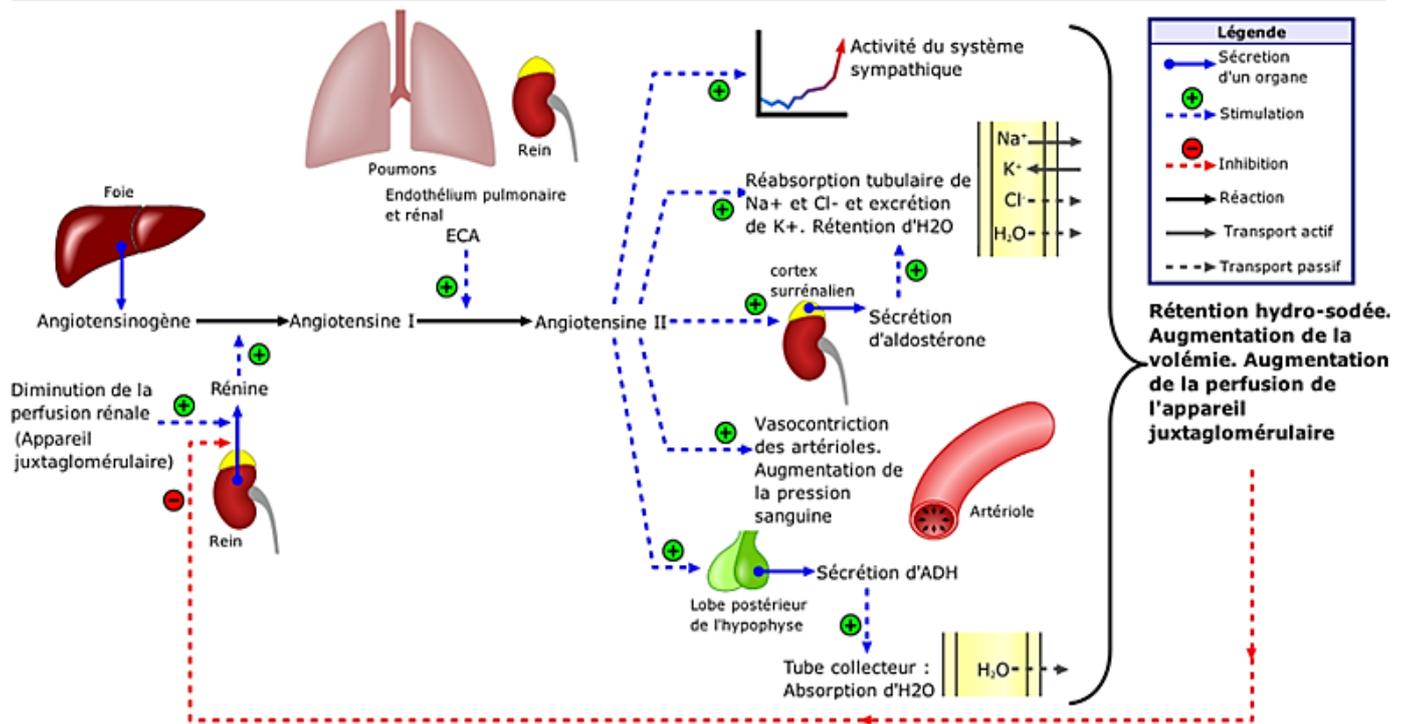


Figure 4: Système rénine – angiotensine – aldostérone (Caucanas et Blacher, 2018).

Une incompétence des systèmes de régulation de la PA surtout si elle est élevée peut la faire perdurer. Cela peut à la longue aboutir à une hypertension artérielle.

I.4 Hypertension artérielle

I.4.1 Définition et typologie

L'hypertension artérielle (HTA) est une pathologie cardiovasculaire caractérisée par une élévation permanente de la pression artérielle avec une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou une pression diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg. En fonction de son étiologie, nous distinguons deux types d'HTA : l'HTA secondaire et l'HTA essentielle. L'HTA essentielle dont les causes sont idiopathiques représente environ 95 % des cas d'HTA. L'HTA secondaire dont la cause peut être surrénalienne, rénale ou toxique représente 5 % des cas (OMS, 2023). Selon le type, l'HTA peut être classifiée comme l'indique le Tableau I.

Tableau I: Classification de l'hypertension artérielle (Whelton *et al.*, 2018).

Mesure en position assise après 5 minutes de repos	PAS (mmHg) et/ou	PAD (mmHg)
PA optimale	< 120	< 80
PA normale	120-129	80-84
PA normale haute	130-139	85-89
HTA légère (grade I)	140-159	90-99
HTA modérée (grade II)	160-179	100-109
HTA sévère (grade III)	≥ 180	≥ 110
HTA systolique isolée	≥ 140	< 90

L'HTA est une maladie silencieuse multifactorielle et d'origines diverses.

I.4.2 Facteurs de risque de l'hypertension artérielle

Dans environ 95 % des cas, l'origine de l'hypertension est inconnue et n'a pas une seule cause directe. L'HTA est liée à de multiples facteurs sur lesquels il est possible d'agir (facteurs modifiables) ou pas (facteurs non modifiables). Le risque augmente de manière plus importante quand plusieurs facteurs sont associés (OMS, 2021).

I.4.2.1 Facteurs non modifiables

Dans la grande majorité des cas, il est difficile de trouver une cause précise à une HTA. L'HTA est dite « essentielle ». Cependant, une combinaison de facteurs de risque non modifiables (antécédents familiaux d'HTA, vieillissement et sexe) et la coexistence d'autres pathologies (diabète, obésité et maladies rénales) peuvent favoriser son apparition (OMS, 2021).

I.4.2.1.1 Age et sexe

L'âge est le principal facteur de risque de l'HTA. Avec le vieillissement, le vaisseau sanguin perd son élasticité et devient plus rigide. Le risque d'hypertension artérielle augmente avec l'âge et atteint 40 % des personnes à 65 ans et 90 % à 85 ans. Avant 65 ans, le risque de développer une HTA est 3 à 4 fois supérieure chez les hommes que chez les femmes. La

protection des œstrogènes chez la femme disparaît pendant la grossesse et après la ménopause. Après la ménopause, le nombre absolu de décès cardiovasculaires devient plus important chez les femmes que chez les hommes (Piha *et al.*, 2023).

I.4.2.1.2 Hérité

Le facteur héréditaire est l'une des composantes de la pathogénie de l'HTA essentielle. La génétique joue un rôle certain dans le niveau de la pression artérielle et les enfants de parents hypertendus sont deux fois plus à risque de développer une HTA. Cela peut être lié à la transmission génétique de facteurs de risque modifiables (hypercholestérolémie familiale et diabète entre autres). Les facteurs héréditaires peuvent être neurogènes, neuro-humoraux ou rénaux. L'HTA d'origine génétique est en fait établie bien que les modalités de la transmission restent encore discutables : autosomales monogéniques ou polygéniques (Steven et Rouba, 2022).

I.4.2.1.3 Remodelage vasculaire

Ces dernières années, le remodelage artériel a émergé comme un concept clé de la physiopathologie de l'hypertension artérielle. Il est stimulé par des facteurs locaux comme les peptides actifs sur les vaisseaux et le stress oxydant. Les cellules vasculaires sont soumises en permanence aux contraintes de pressions et de flux. L'impact de ces contraintes entraîne des variations du diamètre et de l'épaisseur des différents vaisseaux du système cardiovasculaire : c'est le remodelage vasculaire. Deux types de processus sont responsables de ces modifications géométriques. Il s'agit d'une part de l'activation, la prolifération et la migration des cellules musculaires lisses, et d'autre part du développement et le réarrangement de la matrice extracellulaire (Barhoumi, 2014).

I.4.2.1.4 Dysfonction endothéliale

La dysfonction endothéliale se caractérise par une altération des réponses vasomotrices qui conduit à une réduction de la production ou de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO), une activation de l'agrégation plaquettaire et la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). En cas d'HTA, la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), spécifiquement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), augmente au niveau des cellules endothéliales et tout au long de la paroi vasculaire et entraîne de ce fait une dysfonction endothéliale. La dysfonction endothéliale est associée à plusieurs pathologies (diabète de type 2, vieillissement, hypercholestérolémie et obésité). L'inflammation, la vasoconstriction et le remodelage

vasculaire sont directement impliqués dans la dysfonction endothéliale et par conséquent dans le développement de l'hypertension artérielle (Barhoumi, 2014).

I.4.2.2 Facteurs modifiables

Plus rarement certaines maladies (maladies rénales, diabète et obésité), certaines situations psychosociales (la dépression, l'anxiété, le stress, la perte de soutien et de cohésion sociale) et certains médicaments (antidépresseurs et corticoïdes) sont à l'origine de l'installation de l'HTA. Il s'agit d'une hypertension dite « secondaire ». Dans ce cas, le traitement de la maladie ou du problème permet de faire baisser la pression artérielle (OMS, 2023).

I.4.2.2.1 Hyperaldostéronisme primaire

Autrefois considéré comme cause rare et peu fréquente d'HTA (<1%), des études menées par Harvey (2014) ont conclu que l'hyperaldostéronisme primaire est la cause la plus fréquente des HTA secondaires. Il s'agit d'une sécrétion inappropriée d'aldostérone par les corticosurrénales, causée par une hyperplasie bilatérale des surrénales ou par une tumeur bénigne de la surrénale (adénome de Conn). L'hypertension artérielle causée par l'aldostérone est la conséquence de la stimulation des récepteurs des minéralocorticoïdes dans les tubes collecteurs du cortex rénal. Ce qui provoque l'ouverture des canaux sodiques conduisant à une réabsorption tubulaire accrue de sodium et une réabsorption secondaire de l'eau. La sécrétion et l'excrétion urinaire de potassium et des ions hydrogène sont également augmentées. La rétention du sel et de l'eau provoque une augmentation du volume plasmatique et une augmentation du débit cardiaque, entraînant une augmentation de la pression artérielle et par conséquent une hypertension artérielle (Cobb and Aeddula, 2024).

I.4.2.2.2 Obésité

Un régime hypercalorique est souvent à l'origine d'un excès de poids dû à une inflation des réserves énergétiques et par conséquent d'une obésité. L'HTA est le plus souvent fréquent chez les sujets obèses. Presque tous les sujets obèses « androïdes » de plus de 50 ans sont hypertendus. Les obèses ont une HTA dans 58,10 % des cas. De même, en cas d'excès pondéral, une HTA est retrouvée chez 50,80 % des sujets. Il existe un parallélisme évolutif entre le poids et la PA : un gain de poids de 10 % à l'âge adulte entraîne en moyenne une élévation de 6 mm de Hg de la pression systolique. Cela se caractérise par l'augmentation de la réabsorption tubulaire du sodium par suite d'une élévation des taux d'insuline, la hausse des taux d'œstrogènes, la disproportion entre l'hypervolémie et la capacité vasculaire (Louardi, 2022).

I.4.2.2.3 Diabète

Une alimentation chronique en sucre est souvent à l'origine d'une insulino-résistance et à la longue d'un diabète. L'hypertension artérielle atteint 50 à 75 % des diabétiques et son mécanisme est différent selon le type du diabète. Dans le diabète du type 1, elle est essentiellement secondaire à la néphropathie qui ne devient apparente qu'à partir d'une dizaine d'années d'évolution. Dans le diabète de type 2, elle est liée à l'insulino-résistance et elle précède souvent l'apparition de l'hyperglycémie (Abidemi *et al.*, 2014).

I.4.2.2.4 Insuffisance rénale

Le rein est un organe qui assure les fonctions de filtration des déchets produits par l'organisme et de régulation de la pression artérielle. Le rein contrôle la PA en agissant sur le débit cardiaque et les résistances périphériques via le système rénine-angiotensine-aldostérone. Une atteinte unilatérale et bilatérale des reins entraîne un dérèglement de ce système avec une production accrue d'angiotensine II qui sera à l'origine d'une HTA laquelle, à son tour, entraîne une insuffisance rénale. La plupart des insuffisants rénaux sévères sont hypertendus. En général, les facteurs de risques (consommation excessive de sel, d'alcool, de tabac et de sucre entre autres) qui sont à l'origine de l'hypertension artérielle sont aussi des causes des maladies rénales (Mente *et al.*, 2014).

❖ Sel

Les données disponibles suggèrent une relation directe entre l'apport en sel, les insuffisances rénales et l'HTA (Mente *et al.*, 2014). Il a été démontré que la consommation excessive de sel, définie par l'OMS comme supérieure à 5 g/jour entraîne une augmentation significative de la PA et est liée à l'apparition de l'HTA et de ses complications cardiovasculaire et rénale (OMS, 2017). Environ 30 % de la charge globale de l'HTA est attribuable à une consommation excessive de sel (Mente *et al.*, 2014). L'ingestion des quantités élevées et chroniques de sel augmente la concentration plasmatique de sodium, et donc l'osmolarité, entraînant de ce fait un déplacement de fluide de l'espace intracellulaire vers l'espace extracellulaire. Ce qui stimule la soif intense et augmente la sécrétion de vasopressine pour augmenter la réabsorption de l'eau et réduire l'excrétion d'eau augmentant ainsi la volémie et par conséquent la pression artérielle (Katrina *et al.*, 2015). Yee *et al.* (2016) ont démontré que le sodium alimentaire avait des effets sur le système rénine-angiotensine-aldostérone, la fréquence cardiaque, les lipides et l'activité du système nerveux sympathique. Les recherches

suggèrent que l'excès de sel peut induire l'hypertension par vasoconstriction des muscles lisses vasculaires (Bella *et al.*, 2013; Bopda *et al.*, 2014).

❖ **Alcool**

Parmi les conséquences majeures de la consommation chronique d'alcool figurent la cirrhose du foie, le cancer du foie, la pancréatite, les insuffisances rénales chroniques et les maladies cardiovasculaires (Varga *et al.*, 2015). Ces pathologies sont causées soit par l'alcool lui-même ou par des quantités excessives des produits formés lors de son métabolisme en acétaldéhyde, en NADH et en radicaux libres. La consommation chronique d'alcool serait responsable de l'installation de l'hypertension via l'activation du système nerveux sympathique due à une augmentation de la corticolibérine hypothalamique, il en résulte une hypersécrétion des catécholamines (au niveau du SNC, des reins et des surrénales), du cortisol, de l'angiotensine et de l'aldostérone. Par ailleurs l'alcool aurait un effet direct sur les cellules musculaires lisses avec une sensibilité exagérée aux effets vasoconstricteurs des amines vasomotrices entraînant une augmentation des résistances vasculaires périphériques et une hypertension artérielle (Aboubakar *et al.*, 2021). L'alcool agirait aussi en modifiant les mouvements ioniques au niveau des cellules musculaires lisses avec notamment une élévation de l'entrée calcique dans les cellules musculaires, le calcium ayant un rôle constricteur très puissant (Husain *et al.*, 2014). La perte de relaxation due à la destruction des fibres élastiques, à l'inflammation et à la lésion oxydative de l'endothélium par l'AT II conduisant à l'inhibition de la production d'oxyde nitrique dépendante de l'endothélium est la principale cause de l'hypertension induite par l'alcool (Husain *et al.*, 2014).

I.4.2.2.5 Autres causes d'hypertension artérielle secondaire

Plusieurs facteurs encore plus rares peuvent être responsables de l'HTA, à savoir la grossesse, les médicaments, le phéochromocytome, le syndrome de Cushing, le syndrome d'Apnée du sommeil, la dépression, l'anxiété et le stress (Louardi, 2022).

L'HTA étant généralement asymptomatique, son diagnostic peut se faire lors d'une consultation de routine ou sur la base de complications.

I.4.3 Complications de l'hypertension artérielle

Une complication peut nécessiter un bilan sanguin afin d'établir un diagnostic précis. Une prise de sang permet d'évaluer la glycémie (recherche d'un diabète), faire un bilan lipidique (cholestérol total et triglycérides entre autres) pour rechercher une hyperlipidémie et

évaluer la fonction rénale (créatinémie, ionogramme simple, urémie et uricémie). L'HTA peut être découvert lors d'un examen urinaire, d'un électrocardiogramme et même d'un fond de l'œil. Une HTA non traitée peut être responsable des lésions de la paroi des artères avec de multiples conséquences. Les complications de l'hypertension artérielle sont surtout cardiovasculaires, neurologiques et rénales (Whelton *et al.*, 2018).

I.4.3.1 Complications cardiaques

La complication cardiaque majeure de l'HTA est l'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) qui constitue un marqueur de gravité de cette pathologie. Environ un quart des hypertendus présentent une HVG. Cette HVG est initialement réversible et au début permet de maintenir la fonction d'éjection du ventricule gauche. Toutefois, cette adaptation devient néfaste à la longue et entraîne trois conséquences : l'œdème pulmonaire, l'insuffisance coronaire fonctionnelle, les troubles du rythme cardiaque avec un risque élevé de mort subite.

I.4.3.2 Complications vasculaires

L'hypertension artérielle même non compliquée s'accompagne des modifications structurales et fonctionnelles des artères de gros et moyens calibres. Au niveau des gros vaisseaux, l'altération la plus constante est la diminution de la compliance. L'artériosclérose est fréquente chez les sujets hypertendus. Pour les petits vaisseaux, les lésions sont moins fréquentes mais plus spécifiques et se produisent dans les reins, la rétine et le cerveau.

I.4.3.3 Complications cérébrales

L'hypertension artérielle est le facteur de risque majeur de toute pathologie vasculo-cérébrale. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) surviennent généralement chez les hypertendus. On dispose de deux types de troubles cérébraux : les troubles mineurs (céphalées, bourdonnement d'oreilles et vertige) et les troubles majeurs (encéphalopathie hypertensive, infarctus cervicaux, accident thrombotique et hémorragie méningée).

I.4.3.4 Complications rénales

Au niveau des reins, l'hypertension artérielle est responsable d'une insuffisance rénale, une néphro-angiosclérose, les néphropathies parenchymateuses et une sténose de l'artère rénale. L'altération de la fonction rénale est souvent très précoce et modérée, mais est susceptible de s'aggraver progressivement avec l'évolution de l'HTA.

D'après les observations cliniques et expérimentales la plupart des complications de l'HTA passe par un stress oxydant (Sies, 2020).

I.5 Hypertension artérielle et stress oxydant

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (molécules pro-oxydantes), suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (système antioxydant). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants, ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments et sel) (Sies, 2020).

I.5.1 Système pro-oxydant

Les radicaux libres (molécules pro-oxydantes) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant au moins un électron célibataire sur leur couche externe, et sont en général très réactifs et instables. Ils jouent un rôle essentiel dans certaines fonctions biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Cependant, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN, des protéines, ou encore la peroxydation des lipides. Les radicaux libres impliquant un ou plusieurs atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO) à l'exemple de l'anion superoxyde (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les radicaux libres impliquant un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote. Parmi ces molécules, il y'a le monoxyde d'azote ($NO\bullet$) et le peroxy-nitrite ($ONOO$) (Sebbar *et al.*, 2023).

I.5.2 Système antioxydant

Le maintien d'un niveau non cytotoxique des ERO est assuré par des antioxydants, dont le rôle principal est de neutraliser et de dégrader les radicaux libres. Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques (antioxydants primaires) et les antioxydants non-enzymatiques (antioxydants secondaires) (Baudin, 2020).

I.5.2.1 Antioxydants enzymatiques

Ce système est principalement composé des superoxydes dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathions peroxydases (GPx) et des thiorédoxines. Parmi ces enzymes, les SOD représentent la première ligne de défense pour contrer les ERO, et ce sont les enzymes antioxydantes les plus importantes au niveau vasculaire. Ce sont des métalloenzymes qui

catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et dioxygène. La catalase catalyse par la suite la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. Chez les mammifères, la SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD).

I.5.2.2 Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non-enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons les oligoéléments (le cuivre, le fer, le manganèse, le sélénium et le zinc), le glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone (CoQ10), l'acide ascorbique (vitamine C), l'alpha tocophérol (vitamine E), les caroténoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

I.5.3 Relation hypertension et stress oxydant

Le stress oxydant est maintenant bien reconnu comme étant soit à l'origine de plusieurs pathologies ou encore comme un facteur aggravant de ces pathologies. L'existence d'un stress oxydant dans l'hypertension artérielle est amplement documentée, tant dans l'hypertension artérielle expérimentale que chez l'Homme. Des études ont en effet démontré une élévation marquée de la production des radicaux libres ainsi qu'une diminution de la capacité de défense antioxydante autant chez l'Homme que chez les modèles animaux d'hypertension artérielle (Leong *et al.*, 2015). L'hypertension artérielle est ainsi associée à une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) à l'exemple de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Au niveau vasculaire, plusieurs études ont rapporté qu'une augmentation de la production de l'anion superoxyde concorde avec l'élévation de la pression artérielle (Zheng *et al.*, 2019). Dans la problématique du stress oxydant induit au niveau cardiovasculaire, les principales sources de production de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène sont les enzymes oxydases à savoir la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la lipoxygénase et l'oxydase mitochondriale. Il a été démontré chez le rat hypertendu que l'activité NADPH ainsi que la quantité d'anion superoxyde produit au niveau aortique étaient augmentées de deux fois par rapport au témoin normotendu (Chia *et al.*, 2021). De plus, l'administration *in vivo* ou *in vitro* de différents antioxydants a permis d'abaisser la pression artérielle et d'améliorer ou même de normaliser la relaxation vasculaire endothélium-dépendante chez le rat spontanément

hypertendu. Ceci suggère l'implication du stress oxydant dans le développement de l'hypertension et de l'altération de la fonction vasculaire (Javkhedkar et Banday, 2015; Farhana *et al.*, 2016).

L'hypertension artérielle est complexe, multifactorielle et sous contrôle polygénique. Dans le but de comprendre la pathogenèse et d'étudier le traitement et la prévention de cette maladie, différents modèles expérimentaux d'hypertension ont été développés. La complexité de cette pathologie exige l'utilisation de différents modèles animaux ayant subi des modifications génétiques, physiologiques ou nutritionnelles (Leong *et al.*, 2015).

I.6 Modèles expérimentaux de l'hypertension artérielle

I.6.1 Modèles génétiques

Les modèles génétiques de l'HTA ont pour but d'approcher les conditions physiopathologiques de l'hypertension artérielle essentielle chez l'Homme. Dans des études génétiques et pharmacologiques, plusieurs modèles d'hypertensions artérielles ont été étudiés chez le rat. Nous avons entre autres les rats spontanément hypertendus (SHR), le rat Dahl sensibles au sel (8%), le rat hypertendu à capuchon fauve, la souche hypertensive de Milan, le rat hypertendu de Lyon, le rat hypertendu de Sabra. Parmi ces modèles, le plus couramment étudié est le SHR. Le SHR a été mis au point grâce à une consanguinité génétique qui a abouti à une progéniture souffrant d'une hypertension d'origine naturelle. Dans ce modèle, la PA augmente vers la 5^e semaine d'âge et atteint environ 200 mmHg chez les rats adultes. Chez ces animaux, les gènes des chromosomes 1, 3 et 4 seraient responsables du développement précoce de l'hypertension tandis que le gène détecté sur le chromosome 10 serait à l'origine du maintien des valeurs plus élevées de la PA au cours du vieillissement. Comme chez les patients hypertendus, les SHR développent une insuffisance cardiaque et rénale (Jama *et al.*, 2022).

I.6.2 Modèles endocrines

L'hypertension endocrine est induite soit par les corticoïdes, soit par la régénération des glandes surrénales. L'hypertension artérielle induite par les corticoïdes regroupe des situations variées. Les minéralocorticoïdes ont une action sur la rétention hydrosodée et les glucocorticoïdes augmentent les résistances vasculaires périphériques (Lerman *et al.*, 2019). Les mécanismes qui concourent à la survenue de l'hypertension artérielle sous glucocorticoïdes sont plurifactoriels. Nous avons entre autres une diminution de la synthèse d'agents vasodilatateurs (oxyde nitrique, prostaglandines, kinine-kallicréine) ou encore une exacerbation de la réponse aux catécholamines. Le rat DOCA-sel est un modèle d'hypertension endocrine

qui mime l'hyperaldostéronisme primaire chez l'homme. Ce modèle induit une hypertension artérielle sévère en combinant une augmentation des apports en sel et l'imposition d'un frein puissant à l'excrétion sodée rénale. L'hypertension au DOCA-sel provoque une élévation de l'activité du système nerveux sympathique. En outre, la sécrétion de vasopressine est accrue ce qui augmente la rétention d'eau au niveau rénal et entraîne une vasoconstriction (Lin *et al.*, 2016).

I.6.3 Modèles chirurgicaux ou réno-vasculaires

Le modèle de Goldblatt est un modèle chirurgical qui consiste en une constriction partielle de l'un ou des deux artères rénales chez le rat. Ceci stimule la production de la rénine par les cellules juxtaglomérulaires entraînant la formation de l'angiotensine II et l'augmentation de la pression artérielle (Leong *et al.*, 2015).

Une néphrotomie unilatérale avec une sténose de l'artère rénale permet la réalisation d'un modèle animal de Goldblatt à rein unique connu sous le nom de « one kidney, one clip rat (1K1C) » caractérisé par une augmentation importante du volume plasmatique et de la pression artérielle (Lin *et al.*, 2016). On distingue également le modèle de Goldblatt à deux reins avec une néphrotomie bilatérale et une sténose de l'artère rénale, modèle connu sous le nom de «two kidneys one clip 2K1C » (Saleem *et al.*, 2020). Dans ce cas, les rats présentent une dysfonction endothéliale, une hypertrophie cardiaque et l'activité de la rénine plasmatique est significativement augmentée (Lin *et al.*, 2016).

I.6.4 Modèles pharmacologiques : hypertension induite par le nitro-arginine methyl-ester

L'administration chronique par voie orale ou intrapéritonéale d'un inhibiteur de la synthèse de monoxyde d'azote (NO), s'accompagne d'une élévation progressive et dose dépendante de la pression artérielle chez le rat (Bhat *et al.*, 2023). L'inhibition peut être soit sélective ou non sélective de la NOS endothéliale. L'inhibition se fait grâce à l'utilisation de substrats compétitifs, qui prennent la place de la L-Arginine. Les inhibiteurs non sélectifs, affectant la NOS endothéliale, sont fondés sur des dérivés d'acides aminés dérivés de l'arginine (L-NAME, L-NNMA, L-NNA, L-NAA). Le Nw-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) qui est un analogue structural de la L-Arginine, se comportant comme un faux substrat inhibe le monoxyde d'azote synthétase (NOS), ce qui entraîne une élévation de pression artérielle (PA) par diminution du taux de guanosine monophosphate cyclique (GMPC) dans la paroi artérielle conduisant à l'inhibition de la transduction du signal de relaxation du muscle vasculaire (Pechanova *et al.*, 2020).

I.6.5 Modèles nutritionnels

❖ Modèle au sel

Un lien entre l'hypertension et la consommation de sel alimentaire a été démontré chez les rats. Ball et Meneely (1957) ont rapporté que dans des groupes de jeunes rats adultes nourris avec différentes quantités de sel dans leur alimentation (0,15 ; 2,8 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ou 9,8 %) avec un accès libre à de l'eau distillée, la pression artérielle moyenne après 9 mois a augmenté proportionnellement à la quantité de sel dans leur alimentation. L'administration orale du sel (9 %) pendant 4 semaines entraîne l'hypertension artérielle chez le rat (Bella *et al.*, 2013). L'hypertension a été induite chez le rat par l'administration orale de 18 % de NaCl pendant 4 semaines (Bopda *et al.*, 2014).

❖ Modèle à l'alcool

Expérimentalement, L'administration par voie orale de l'éthanol induit une hypertension artérielle respectivement après 12 semaines (1,5 g/kg), 8 semaines (3 g/kg), 6 semaines (4,5 g/kg), 5 semaines (5 g/kg), 3 semaines (6 g/kg) et 2 semaines (9 g/kg) de traitement à l'alcool (Bilanda *et al.*, 2019; Aboubakar *et al.*, 2021).

❖ Modèles au fructose et au glucose

L'administration du fructose à 60 % provoque une élévation significative de la pression artérielle chez les rats à partir de la 3^e semaine (Abdulla *et al.*, 2011). De même, le fructose à 10 % dans l'eau de boisson pendant 3 à 6 semaines induit l'hypertension artérielle chez le rat (Dimo *et al.*, 2002). Le glucose (5-7 %) entraîne une élévation significative de la pression artérielle chez les rats à partir de la 8^e semaine (Abidemi *et al.*, 2014). Le glucose à 10 % dans l'eau de boisson induit l'hypertension artérielle chez des rats au bout de 3 semaines (Tom *et al.*, 2011).

L'hypertension artérielle est une maladie chronique qui exige un traitement à vie comportant des mesures hygiéno-diététiques et la prise régulière des médicaments tels que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les inhibiteurs calciques, les bêta-bloquants et les diurétiques (OMS, 2023).

I.7 Traitement de l'hypertension artérielle

Le traitement de l'HTA repose sur la compréhension des mécanismes physiopathologiques de régulation de la pression artérielle. Il implique des modifications du mode de vie seul (règles hygiéno-diététiques) et/ou en association avec des médicaments.

I.7.1 Traitement non médicamenteux

Le traitement non médicamenteux repose sur des règles hygiéno-diététiques recommandées chez des patients hypertendus quel que soit le niveau tensionnel, avec ou sans traitement pharmacologique associé. Ces mesures comprennent (OMS, 2023):

- une réduction pondérale en cas d'obésité;
- une limitation de la consommation d'alcool;
- un arrêt du tabagisme;
- un exercice physique régulier: 30 à 45 min/jour ou, au moins, 3 fois par semaine;
- une limitation de la consommation de sel. Cette mesure permet de réduire la PA de 5 mmHg environ ;
- une limitation de la consommation des lipides saturés et de cholestérol;
- un régime alimentaire riche en légumes, en fruits et pauvre en graisses saturées (graisses d'origine animale).

Lorsque les mesures d'hygiène de vie et diététique sont insuffisantes pour faire baisser la pression artérielle, un traitement médicamenteux est mis en place.

I.7.2 Traitement médicamenteux

La prise en charge de toute maladie chronique commence généralement par une molécule puis deux ou trois en fonction de l'évolution de la maladie. Suivant le schéma thérapeutique de l'HTA, la monothérapie reste recommandée en première intention. Sur le critère d'efficacité (normalisation tensionnelle), la polythérapie est recommandée en cas d'échec de la monothérapie. La prise en charge de l'HTA fait recours aux médicaments pharmaceutiques et à la phytothérapie.

I.7.2.1 Médicaments pharmaceutiques et mécanismes d'action de quelques substances pharmacologiques

I.7.2.1.1 Médicaments pharmaceutiques

Les médicaments pharmaceutiques regroupent plusieurs familles de médicaments. Cinq classes d'antihypertenseurs sont privilégiées dans la prise en charge de l'HTA. Il s'agit des diurétiques, des bêtabloquants, des inhibiteurs calciques, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et des antagonistes de l'angiotensine II (ARA II) (Caucanas et Blacher, 2018).

➤ **Diurétiques**

Cette classe de médicament, selon leur mécanisme d'action, peut être divisée en trois groupes : les diurétiques de l'anse, les diurétiques thiazidiques ou diurétiques distaux et les épargneurs de potassium. D'une manière générale, ils agissent en entraînant une déplétion hydrosodée, associée à une importante kaliurie et à une hyperuricémie puis ils diminuent la réactivité vasculaire. Les dérivés d'épargne potassique anti aldostérone sont des diurétiques, donc la spironolactone est le chef de file. C'est un stéroïde analogue structural de l'aldostérone, exerçant comme un antagoniste compétitif au niveau du tube distal.

➤ **Bêta-bloquants**

Les bêtabloquants à l'exemple du propranolol agissent au niveau du cœur et de la médullosurrénale. La noradrénaline libérée consécutivement à l'excitation des nerfs sympathiques augmente la fréquence cardiaque. L'influx sympathique libère au niveau de la médullosurrénale, de l'adrénaline et de la noradrénaline ce qui augmente le rythme cardiaque suite à la liaison de l'adrénaline, aux récepteurs β_1 et par la noradrénaline qui se lie aux récepteurs β_2 . Les β -bloquants diminuent donc la composante D (débit cardiaque) dans l'équation régissant la PA en empêchant la fixation des catécholamines.

➤ **Inhibiteurs de l'enzyme de conversion**

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) à l'exemple du captopril empêchent la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II qui est un puissant vasoconstricteur. Les IEC agissent sur les vaisseaux et exercent un effet vasodilatateur. Les IEC baissent par conséquent la PA en diminuant les résistances périphériques.

➤ **Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II**

Les ARA II à l'exemple du losartan agissent sur les résistances périphériques, puisqu'ils empêchent l'angiotensine II synthétisée de se lier à ses récepteurs et d'exercer son action vasoconstrictrice.

➤ **Inhibiteurs calciques**

Les inhibiteurs calciques (la nifédipine entre autres) agissent sur les vaisseaux plus précisément sur les canaux calciques lents et empêchent l'entrée du calcium dans la cellule. Ils diminuent donc les résistances périphériques et par conséquent la PA.

L'étude des mécanismes d'action des substances donne une piste d'analyse et de compréhension des mécanismes physiopathologiques en cause dans les différentes maladies.

Cette étude permet aussi de mieux prévenir les effets indésirables et d'ouvrir les voies au développement des nouveaux médicaments.

I.7.2.1.2 Mécanismes d'action de quelques substances pharmacologiques

Les mécanismes d'action de plusieurs médicaments (propranolol, yohimbine, atropine et indométacine entre autres) utilisés dans la présente étude pour déterminer les mécanismes d'action probable de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* ont déjà été évalués par certains auteurs (Okemy *et al.*, 2020).

❖ Propranolol

Le propranolol est un antagoniste β adrénergique parfait non sélectif. Il bloque donc les récepteurs adrénergiques β , tout en laissant libres les récepteurs α . Le blocage des récepteurs β par le propranolol est responsable au niveau du cœur des effets chronotrope et inotrope négatifs.

❖ Yohimbine

La yohimbine est un antagoniste sélectif des récepteurs α_2 -adrénergiques. Le blocage de ces récepteurs présynaptiques par la yohimbine est responsable d'une activation de la voie efférente orthosympathique et de la libération de la noradrénaline.

❖ Atropine

L'atropine est un antagoniste compétitif des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine. Il diminue ou supprime le tonus parasympathique (vagal en particulier) au niveau des organes qui en sont pourvus. Au niveau vasculaire, l'atropine inhibe la libération du NO et donc la relaxation par diminution du calcium intracellulaire du muscle lisse vasculaire. Au niveau cardiaque, il augmente la fréquence cardiaque.

❖ Indométacine

L'indométacine est un inhibiteur de la cyclooxygénase, enzyme responsable de la synthèse de la prostacycline (PGI_2). La PGI_2 provoque une vasodilatation en activant la formation d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) à partir de l'adénosine triphosphate (ATP). L'augmentation de l'AMPC sous l'action de la PGI_2 est à l'origine d'une baisse du Ca^{2+} intracellulaire du muscle lisse vasculaire responsable de sa relaxation.

En dépit du grand nombre de médicaments modernes, les gens utilisent largement la médecine complémentaire et alternative pour prévenir et guérir les maladies (OMS, 2013).

I.7.2.2 Phytothérapie

Depuis quelques décennies, l'utilisation des plantes dans les soins de santé et les intéressants résultats fournis par cette médecine ont poussé l'OMS à reconnaître son importance et à autoriser son utilisation dans les soins de santé primaire. Cet intérêt de plus en plus croissant porté à la phytothérapie a motivé un nombre de chercheurs à orienter leurs travaux sur la vérification et la valorisation scientifique de l'usage des plantes dans le domaine cardiovasculaire. Des études scientifiques ont confirmé l'efficacité de plusieurs plantes médicinales dans la prise en charge de l'hypertension artérielle. Parmi ces plantes, nous pouvons citer *Terminalia superba* (Tom *et al.*, 2011), *Bidens pilosa* (Dimo *et al.*, 2002; Bilanda *et al.*, 2017), *Adansonia digitata* (Ntchapda *et al.*, 2020), *Vitex cienkowskii* (Metchi *et al.*, 2021) et *Cymbopogon citratus* (Verma *et al.*, 2021).

Bien que les médicaments modernes et les plantes médicinales soient largement utilisés par les populations pour la prise en charge de diverses maladies, cela n'exclut pas les risques de toxicité que ces substances peuvent engendrer chez un individu.

I.8 Toxicité

I.8.1 Généralités

La toxicité englobe l'ensemble des effets néfastes d'une substance dite toxique sur un organisme vivant. En d'autres termes, il s'agit du caractère des substances toxiques qui, au contact ou après pénétration dans un organisme vivant introduite à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique. Ainsi, la toxicité d'une substance varie selon la nature, la dose, la voie d'administration, la durée ainsi que la fréquence d'absorption de ladite substance. Elle varie également en fonction de l'individu (l'espèce et la souche, la masse corporelle, l'âge, le sexe, le degré de maturité, l'état physiologique). Toute substance destinée à être utilisée par la population que ce soit un médicament utilisé en médecine moderne ou traditionnelle ou un produit chimique doit subir des études toxicologiques afin d'évaluer sa nocivité et de réglementer son utilisation (Etame *et al.*, 2017). De telles études sont réalisées chez plusieurs espèces d'animaux avec des doses largement au-dessus de la dose thérapeutique (Tankeu *et al.*, 2020). On distingue cliniquement trois formes essentielles de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité subchronique et la toxicité à long terme ou chronique. Dans la présente étude, seules les 2 premières formes de toxicité ont été évaluées.

I.8.2 Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est une forme de toxicité qui résulte d'une exposition de courte durée suite à un toxique par une dose unique ou multiple ne dépassant pas 24 heures. Elle permet de déterminer la dose létale 50 (DL₅₀). La DL₅₀ correspond à la dose d'une substance pouvant causer la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. Cette dose permet aussi de classer et comparer les niveaux de toxicité des substances (OCDEa, 2008).

I.8.3 Toxicité subchronique

Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler réversibles ou irréversibles. L'évaluation de la toxicité aiguë ne permet pas de prédire ce type de toxicité d'une substance. Des études destinées à évaluer la toxicité subchronique doivent donc être effectuées. Celles-ci durent 1 à 3 mois et supposent l'administration de plus d'une dose à des intervalles variant selon la méthode employée. Les études de toxicité subchronique fournissent des informations détaillées sur les effets toxiques, la réversibilité ou la non-réversibilité des effets. L'appréciation toxicologique est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles, particulièrement celles qui se rapportent aux organes de métabolisation (foie, rein, rate, poumons entre autres) ainsi que sur la base des comptes rendus nécrosiques accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (OCDEb, 2008).

I.9 Plantes : *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus*

I.9.1 *Bidens pilosa* Linné

a) Systématique de la plante

La position systématique établie par Bairwa *et al.*, (2010) est la suivante.

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheobionta
Embranchement :	Spermatophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Asterales
Famille :	Asteraceae
Genre :	<i>Bidens</i>
Espèce :	<i>Bidens pilosa</i> L.

b) Description et répartition

Bidens pilosa L. (Asteraceae) est une plante herbacée largement répandue dans le monde entier en particulier en Afrique, Amérique, Chine et Japon. *Bidens pilosa* L. (Figure 5) est une herbe annuelle, érigée, souvent divergente, à rameaux rouges. Elle est une adventice de 60 à 90 cm de hauteur. La tige est quadrangulaire, un peu poilue et cannelée avec des branches opposées. Ses feuilles, pétiolées, pinnatifides, généralement de 2,5 à 13,5 cm de long sont constituées par 3 à 5 folioles ovales ou lancéolées, acuminées, à dents très pointues sur la marge. Les fruits sont des akènes fusiformes noirs pourvus de longs pappus ciliés, qui s'accrochent facilement aux vêtements ou aux animaux. Les capitules, discoïdes, riches d'environ 30 fleurs, ont un cœur jaune et des ligules blanches (Bairwa *et al.*, 2010).



Figure 5: Photographie de *Bidens pilosa* (Photographiée par TCHEUTCHOUA Yannick en février 2018 à Messa-ssi, Yaoundé, Cameroun).

c) Ethnopharmacologie

La décoction des feuilles de *Bidens pilosa* est utilisée pour le soin des femmes après l'accouchement. La plante a la réputation d'être hypotensive, amaigrissante et hypolipémiante (Verma *et al.*, 2021). Les jeunes feuilles entrent dans la préparation du romazava (plat traditionnel malgache constitué d'un bouillon de légumes-feuilles). En République démocratique du Congo, le décocté de la plante entière est employé comme antipoison. Ce décocté est utilisé contre les affections grippales et les fièvres, alors que les feuilles de la plante servent à soigner les hémorroïdes. Au Rwanda, la plante est aussi considérée comme antipoison, tandis que les feuilles recouvrent divers usages pharmacologiques incluant des vertus vulnérinaires et des potentialités de soins contre les hépatites ou hépatosplénomégalies, les otites et le psoriasis (Boullard, 2001). Au Cameroun, dans la région du Centre plus précisément à Bafia on utilise le décocté contre la migraine et l'hypertension (Noumi *et al.*, 1999).

d) Etudes pharmacologiques

Des études scientifiques, bien que non exhaustives, ont montré que les extraits et / ou les composés de *B. pilosa* sont antitumoraux, anti-inflammatoires, antioxydants, diurétiques, antihypertenseurs, vasorelaxants et antiulcéreux (Dimo *et al.*, 2002; Al Disi *et al.*, 2016; Bilanda *et al.*, 2017; Verma *et al.*, 2021).

e) Phytochimie

Bidens pilosa L. possède différentes classes de constituants chimiques comme les polyacétylènes, les glycosides polyacétyléniques, les aurons, les glycosides d'aurons, les dérivés de l'acide p-coumerique et de l'acide caféoylquinique, les polyphénols (resvératrol), les flavonoïdes (à l'exemple de la quercétine) et glycosides flavonoïdes, les sesquiterpènes, l'acétylacétone, le phénylheptadiynol, les glucosides phénylpropanoïdes et les phéophytines diterpènes (Bairwa *et al.*, 2010).

I.9.2 *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf

a) Systématique de la plante

La position systématique établie par Kouame *et al.* (2016) est la suivante.

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheophyta
Embranchement :	Magnoliopsida
Classe :	Equisetopsida
Sous-classe:	Magnoliidae
Ordre:	Poales
Famille:	Poaceae
Genre:	<i>Cymbopogon</i>
Espèce:	<i>Cymbopogon citratus</i>

b) Description et répartition

Originaire du sud de l'Inde et du Sri Lanka (Karunamoorthi *et al.*, 2010), *Cymbopogon citratus* (Figure 6) est une herbe aromatique vivace sans ramification à odeur de citron poussant en touffes denses. Ses feuilles peuvent atteindre 90 cm de longueur et 1,25 cm de largeur. Elles sont isolées, vert-claires, fortement parfumées, longues, effilées et réunies en gaine sur une certaine portion de leurs longueurs. Le bord des feuilles est hyalin formé de nombreuses petites

dents dirigées vers le sommet de la plante. La partie souterraine de *C. citratus* est constituée par un bulbe en rhizome. Bien qu'elle fleurisse rarement, elle possède une hampe florale pouvant atteindre 60 cm de longueur à nombreuses ramifications terminées par des épis agglomérés de couleur verdâtre. *C. citratus* se reproduit par rhizomes et se cultive bien dans les régions semi-tropicales et tropicales (Kouame *et al.*, 2016).



Figure 6: Photographie de *Cymbopogon citratus* (Photographiée par TCHEUTCHOUA Yannick en février 2018 à Messa-ssi, Yaoundé, Cameroun).

c) Ethnopharmacologie

Dans la médecine traditionnelle, l'on utilise *C. citratus* pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Le décocté des feuilles ou l'huile essentielle est utilisé pour traiter les douleurs gastro-intestinales, la toux, l'herpès, la fièvre, les céphalées, les troubles cardiaques, la drépanocytose, les flatulences, les vomissements, la dyspepsie, l'ictère, l'insomnie, la morsure de serpent, la coqueluche, l'éléphantiasis et la dépression. En Côte d'Ivoire le décocté des feuilles séchées de cette plante est administré par voie orale pour traiter l'hypertension artérielle. Tandis que les Mauriciennes et les Thaïlandaises utilisent le décocté comme eau de bain pour soulager les douleurs osseuses, articulaires et diminuer ou arrêter les hémorragies du postpartum et la diarrhée. On attribue aussi à cette plante des propriétés diurétiques (Arlene *et al.*, 2013; Kouame *et al.*, 2016).

d) Etudes pharmacologiques

Des études ont montré que l'extrait aqueux ainsi que l'huile essentielle de *C. citratus* possèdent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires, diurétiques, antioxydantes, hypoglycémiques, hypolipémiants, anti-diabétiques, hypotensives, cardioprotecteurs, gastro-protecteur, anti-inflammatoires, antalgiques et antitumorales (Kouame *et al.*, 2016; Simões *et al.*, 2020).

e) Phytochimie

Les analyses qualitative et quantitative réalisée sur l'huile essentielle et l'extrait des feuilles et du rhizome ont révélé la présence des monoterpènes oxygénés (78,2-86,4 %), des sesquiterpènes oxygénés (1,4-1,6 %), des hydrocarbures monoterpènes (7,9-10,6 %), les hydrocarbures sesquiterpènes (3,8-8 %), l' α -citral (29,4-60,3 %) et la β -citral (21,39-39,7 %) (Tyagi et Malik, 2010).

Des études préliminaires sur des extraits organiques (méthanol et éthanol) et aqueux (décoction et infusion) des feuilles ont montré la présence des saponosides, des tanins (tanins catéchiques et phlobotanins), d'acides phénoliques (dérivés de l'acide caféique et p-coumarique) et des glycosides flavonoïdes (apigénine et dérivés du lutéoline) (Figueirinha *et al.*, 2008).

CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel animal

Les expériences ont été effectuées avec des rats mâles albinos de souche Wistar, âgés de 6 à 12 semaines et pesant entre 140 et 200 g. Pour les tests de toxicité, les animaux utilisés étaient des rats des deux sexes. Les animaux ont été élevés dans l'animalerie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I dans les conditions de température ambiante, d'aération suffisante et sous un cycle lumineux naturel. Les animaux avaient libre accès à l'eau de robinet comme eau de boisson et à une alimentation qui contenait pour un sac de 50 kg : 40 % de maïs, 20 % de son de blé, 24 % de farine de poisson, 4 % de tourteau de palmiste, 8 % de farine d'arachides, 2 % de tourteaux de coton, 2 % de farine d'os, et un complexe vitaminique (0,1 %).

II.1.2 Matériel végétal

Les parties aériennes de *Cymbopogon citratus* (feuilles et tiges) et de *Bidens pilosa* (feuilles, fleurs et tiges) ont été récoltées à Yaoundé (région du Centre, Cameroun) plus précisément au quartier Messa-ssi en février 2018. *Cymbopogon citratus* a été identifiée par comparaison à la collection botanique de D. Dang N°202 enregistrée à l'herbier national de Yaoundé sous le N°18626 / SRFcam et *Bidens pilosa* a été identifié par comparaison à la collection botanique de B. Pollard N°2 enregistrée à l'herbier national de Yaoundé sous le N°60447/HNC.

II.2 Méthodes

II.2.1 Extraction des plantes

Les parties aériennes de *Cymbopogon citratus* et de *Bidens pilosa* récoltées ont été lavées, séchées à l'ombre, puis écrasées afin d'obtenir la poudre de chaque plante. Deux cent grammes de poudre fine de chaque plante ont été introduites séparément dans 2 L d'eau distillée bouillante. L'infusion a été faite jusqu'au refroidissement. Les solutions obtenues ont été filtrées à l'aide du papier Whatman N° 3 et les filtrats ont été séchés à l'étuve à 45 °C. Les masses de 10,04 g et de 15,96 g respectivement des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* ont été obtenues pour des rendements respectifs de 5,02 % et de 7,98 %. Les doses de l'extrait aqueux du mélange des deux plantes ont été choisies sur la base d'un screening des effets hypotenseurs. Ce screening a été effectué en utilisant des combinaisons de proportions 25-75, 50-50, 75-25 de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*. La meilleure combinaison (50-50) a été choisie et a représenté la dose de 100 mg/kg. Cette dose a été

multipliée par deux pour obtenir la dose de 200 mg/kg. Connaissant la meilleure combinaison, les quantités de poudre de 125 g pour *B. pilosa* et de 200 g pour *C. citratus* ont été obtenues en fixant la masse d'extrait obtenue après extraction à 50 g pour chaque plante et en utilisant également les rendements d'extraction de chaque plante séparée. Ainsi, la quantité de partie aérienne brute de chaque plante a été déterminée par calcul. De ce fait, 125 g de poudre de *B. pilosa* et 200 g de poudre de *C. citratus* ont été introduites dans 3,25 L d'eau distillée bouillante. Cette opération a permis d'obtenir 33 g d'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, soit un rendement de 10,15 % (Figure 8).

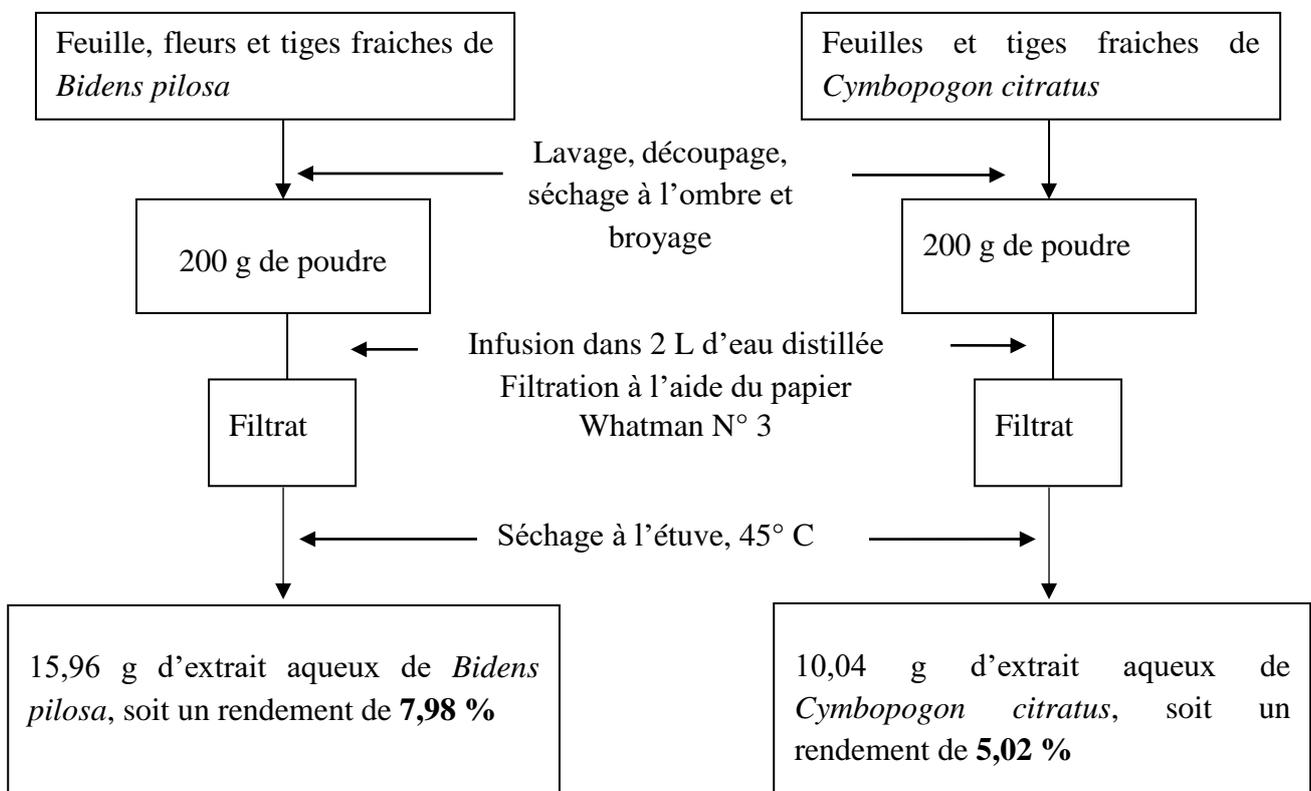


Figure 7: Protocole de préparation des extraits aqueux de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*.

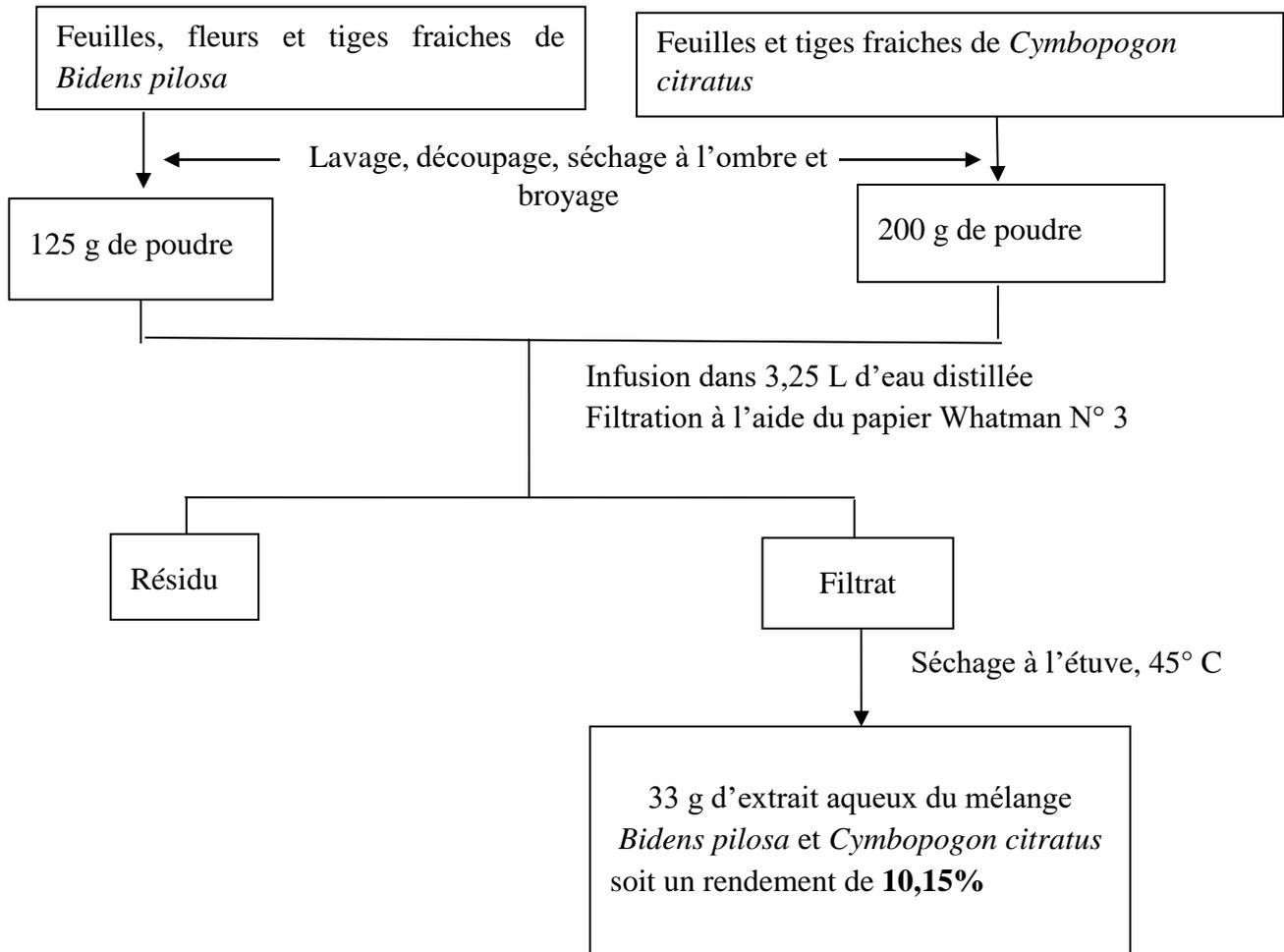


Figure 8: Protocole de préparation de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus*.

II.2.2 Préparation des solutions d'induction des modèles d'hypertension et de traitement

➤ Solutions d'extraits

Des solutions de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* ainsi que celles des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* de concentration variable ont été préparées quotidiennement par solubilisation d'une quantité d'extrait dans de l'eau distillée. Connaissant la dose D (mg/kg) à administrer, le poids de l'animal P (kg) et le volume V (mL) à administrer, la concentration C (mg/mL) de la solution a été déterminée par la formule :

$$C = \frac{D \times P}{V}$$

Les solutions d'extraits de concentration de 10, 20, 40 et de 80 mg/mL ont été préparées en solubilisant respectivement 100, 200, 400 et 800 mg d'extrait dans de l'eau distillée pour un volume total de 10 mL. Les solutions d'extraits ont été administrées aux animaux à raison de 10 mL/kg de poids corporel.

➤ **Solution alcool+sel**

L'éthanol 95° a été distillé à l'aide d'un distillateur de type CIEMME (41 100 Modena, Italie) pour obtenir l'éthanol absolu (100°). A partir de la table de Gay-Lussac, l'alcool absolu ainsi obtenu a été dilué en mélangeant 100 mL à 158,56 mL d'eau distillée afin d'obtenir 258,56 mL d'alcool 40°.

La solution d'induction (alcool+sel) a été préparée par dissolution de 15 g de sel dans 100 mL d'alcool 40°. Cette solution aux doses de 5 et de 2,46 g/kg d'alcool et de sel du mélange d'alcool et de sel respectivement a été préparée chaque jour et administrée aux rats à raison de 1,64 mL/100 g de poids corporel.

➤ **Solution de spironolactone**

La solution de spironolactone de concentration 1 mg/mL a été préparée en solubilisant un comprimé de 25 mg de principe actif dans 25 mL d'eau distillée. La solution obtenue a été administrée à raison de 10 mL/kg.

➤ **Solution de captopril**

La solution de captopril de concentration 2 mg/mL a été préparée en solubilisant 20 mg de poudre de captopril dans de l'eau distillée pour un volume total de 10 mL. La solution de captopril ainsi obtenue a été administrée à raison de 10 mL/kg.

➤ **Solutions de L-NAME**

Pour l'évaluation des effets antihypertenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, la L-NAME a été préparée à la dose de 25 mg/kg. Une masse de 375 mg de L-NAME (Sigma, France) a été pesée et dissout dans 30 mL de NaCl, pour une concentration de 12,5 mg/mL. Pour l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* en présence de quelques substances pharmacologiques de références, la L-NAME à la dose de 5 mg/kg a également été préparée. Pour une solution de concentration 5 mg/mL, 25 mg de poudre de L-NAME contenus dans une fiole graduée ont été dissouts en ajoutant du NaCl jusqu'à la graduation 5 mL.

II.2.3 Etudes phytochimiques qualitative et quantitative des extraits

II.2.3.1 Analyse phytochimique qualitative

L'analyse phytochimique qualitative permet de caractériser les différentes classes de composés contenus dans un organe végétal. Ces classes de composés sont des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des phénols, des saponines, des glycosides cardiaques, des coumarines, des stérols, des triterpènes, les anthraquinones et des composés réducteurs. Les procédures décrites par Harborne, (1998), Odebiyi and Sofowora, (1990) et Trease and Evans, (1989) ont permis de mettre en évidence ces composés. Ce test a été réalisé uniquement avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*.

➤ Test de mise en évidence des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été mis en évidence en utilisant le réactif de Bouchardat (réactif iodo-ioduré) et le réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium). Pour ce faire, 1 mL de l'extrait concentré à 0,5 mg/mL a été introduit dans 2 tubes à essai. Par la suite, 5 gouttes de réactif de Bouchardat et 5 gouttes du réactif de Dragendorff ont été introduits respectivement dans le premier et le deuxième tube. L'apparition d'un précipité blanc dans le premier tube et orange dans le deuxième, indiquait la présence des alcaloïdes.

➤ Test de mise en évidence des flavonoïdes

Cinq millilitres d'une solution d'ammoniaque diluée (1 %) ont été ajoutés à une solution aqueuse d'extrait de concentration 10 mg/mL. Quelques gouttes (2 à 10) d'acide sulfurique concentré ont été ajoutées au mélange et l'apparition d'une coloration jaune traduisait la présence des flavonoïdes.

➤ Test de mise en évidence des saponines

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, les volumes d'extrait (10 mg/mL) de 1, 2, 3...10 mL ont été introduits respectivement dans les dix tubes. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 mL avec de l'eau distillée (excepté le dernier tube où rien n'a été ajouté). Les tubes ont été agités vigoureusement dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes et laissés au repos pendant 5 min. A l'issue de ce temps de repos, la hauteur de la mousse produite dans chaque tube a été mesurée à l'aide d'une règle graduée.

➤ Test de mise en évidence des tanins

Quelques gouttes de chlorure ferrique 0,1 % ont été ajoutées à 2 mL d'extrait aqueux de concentration 10 mg/mL. La présence des tanins s'est manifestée par un changement de

coloration de la solution qui vire au bleu foncé (tanins galliques) ou au vert noirâtre (tanins catéchiques).

➤ **Test de mise en évidence des phénols**

Cinquante milligrammes de l'extrait aqueux ont été dissouts dans 15 mL de méthanol et la solution a été chauffée au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Trois gouttes d'une solution de cyanure ferrique ont ensuite été ajoutées. La présence des phénols se traduisait par la formation d'un précipité vert.

➤ **Test de mise en évidence des stéroïdes**

Pour déterminer la présence ou non de stéroïdes, 200 mg d'extrait ont été dissouts dans 10 mL de chloroforme. Deux millilitres d'acide acétique ont été ensuite ajoutés à cette solution et l'ensemble a été refroidi dans un bain de glace. Après 5 minutes, 1 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté et la formation d'un anneau bleu gris témoignait de la présence des stéroïdes.

➤ **Test de mise en évidence des anthraquinones**

Pour la mise en évidence des quinones, 5 mL de la solution aqueuse d'extrait (10 mg/mL) ont été ajoutés à 5 mL d'ammoniaque à 10 %. L'apparition d'une coloration jaune ou orange indiquait la présence de quinones liées et une coloration rouge violacée, la présence de quinones libres

➤ **Test de mise en évidence des stérols et triterpènes**

Pour mettre en évidence les stérols et les triterpènes, 10 mL de la solution d'extrait aqueux (10 mg/mL) ont été évaporés. La masse d'extrait obtenue a été dissoute dans 5 mL d'anhydride acétique, puis dans 5 mL de chloroforme. A l'aide d'une pipette, 1 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré a été introduit au fond du tube sans agiter. Le mélange a été laissé au repos pendant 30 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageante indiquaient la présence des stérols et triterpènes.

➤ **Test de mise en évidence des glycosides**

Un gramme d'extrait aqueux a été dissout dans 5 mL de HCl, puis neutralisé par 5 mL d'une solution de NaOH à 5 %. Au mélange, il a été ajouté goutte à goutte une solution de liqueur Fehling. La présence des glucosides se manifestait par l'apparition d'un précipité rouge brique.

➤ **Test de mise en évidence des anthocyanes**

Pour mettre en évidence la présence ou non d'anthocyanes, 50 mg d'extrait ont été mélangés à 15 mL d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 % et l'ensemble a été porté à ébullition. La variation de coloration du rouge orangé au bleu orangé indiquait la présence des anthocyanes.

II.2.3.2 Analyse phytochimique quantitative

Le test phytochimique quantitatif permet de quantifier les différents groupes de composés contenus dans un organe végétal. Ce test a été effectué avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* ainsi que les extraits des plantes prises séparément.

II.2.3.2.1 Détermination du taux de polyphénols totaux

L'estimation du taux de composés phénoliques totaux a été réalisée suivant la méthode de Folin et Ciocalteu, (1927).

❖ Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

❖ Mode opératoire

Dans chaque tube, 100 μ L d'extrait (100 μ g/mL) et 2000 μ L d'eau distillée ont été introduits. Les volumes ont été complétés par ajout de 100 μ L de méthanol pur et 200 μ L de la solution de Folin-ciocalteu (2N). Une courbe d'étalonnage a été réalisée et la solution d'extrait a été remplacée par l'acide gallique (100 μ g/mL). Le mélange a été laissé au repos pendant 3 min et 1000 μ L de carbonate de sodium 20 % ont été ajoutés au mélange. Le mélange a été incubé pendant 1 heure à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique a été lue à 700 nm. La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) en utilisant la droite d'étalonnage (Figure 9). La teneur a d'abord été déterminée en microgramme et ensuite convertis en milligramme en divisant le résultat par un facteur de 1000. Le protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols est résumé dans le Tableau II.

Tableau II: Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols

N° de Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Acide gallique (100 µg/mL) (µL)	/	20	40	60	80	100
Méthanol (µL)	100	80	60	40	20	/
Eau distillée (µL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Folin-Ciocalteu 2N (µL)	200	200	200	200	200	200
Les tubes ont été homogénéisés et incubés 3 minutes à température ambiante						
Na ₂ CO ₃ H 20% (m/v) (µL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Les tubes ont été homogénéisés et incubés à température ambiante à l'obscurité pendant 1h et la densité optique a été lue à 700 nm contre le blanc.						
Acide gallique (µg)	0	2	4	6	8	10

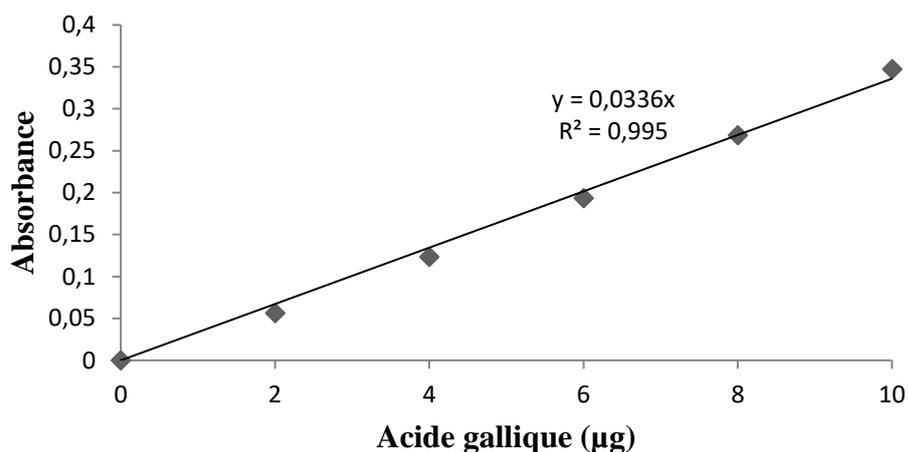


Figure 9: Courbe d'étalonnage pour la détermination de la teneur en polyphénols totaux.

II.2.3.2.2 Détermination du taux de flavonoïdes

La méthode utilisée pour l'estimation du taux de flavonoïdes est celle décrite par Pal *et al.* (2012).

❖ Principe

La formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes donne une coloration jaunâtre dont l'intensité est proportionnelle au taux de flavonoïdes présents dans le milieu à 415 nm.

❖ Mode opératoire

Dans les tubes blanc et test ont été respectivement introduits, 500 μL de méthanol et 500 μL de la solution d'extrait. Ensuite, 500 μL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) 2 % (m/v) ont été introduits dans chaque tube. Les tubes ont été homogénéisés à l'aide du vortex et incubés à température ambiante pendant 1h et les densités optiques ont été lues à 430 nm contre le blanc. La quercétine a été utilisée comme étalon. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) en utilisant la droite d'étalonnage (Figure 10). La teneur a d'abord été déterminée en microgramme et ensuite convertis en milligramme en divisant le résultat par un facteur de 1000. Le mode opératoire de réalisation de la courbe d'étalonnage est résumé dans le Tableau III.

Tableau III: Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

N° de Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Quercétine (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (μL)	/	100	200	300	400	500
Méthanol (μL)	500	400	300	200	100	/
AlCl_3 2 % (m/v) (μL)	500	500	500	500	500	500

Les tubes ont été homogénéisés et incubés à température ambiante pendant 1h et la lecture de la DO a été faite à 430 nm contre le blanc.

Quercétine (μg)	0	1	2	3	4	5
------------------------------	---	---	---	---	---	---

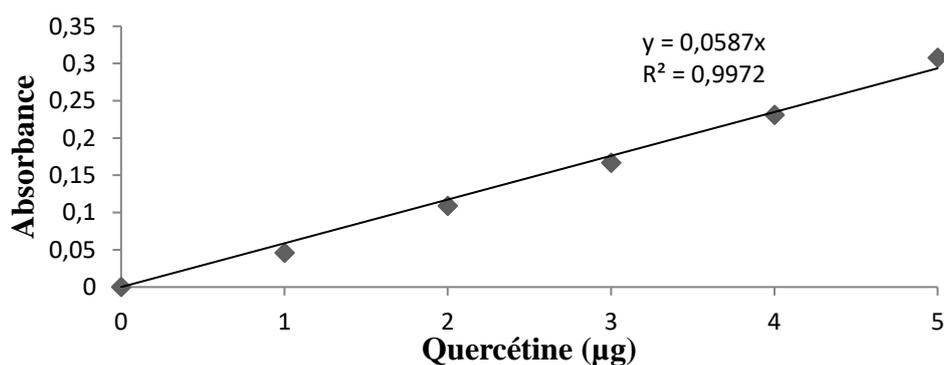


Figure 10: Courbe d'étalonnage pour la détermination de la teneur en flavonoïdes.

II.2.4 Détermination *in vitro* du pouvoir antioxydant des extraits

Le pouvoir antioxydant des extraits a été évalué au moyen de trois tests distincts, à savoir : le test de piégeage du radical 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH $^{\bullet}$), le test de

réduction du fer ou « Ferric Reducing Antioxydant Power » (FRAP) et le test de l'ABTS (acide 2,2-azido-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)).

a) Détermination de l'activité anti-radicalaire en présence du radical diphenil-picryl-hydrazyl

❖ **Principe**

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Ceci se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable. La diminution de l'absorbance à 517 nm est proportionnelle au pouvoir antiradicalaire (Effe *et al.*, 2021).

❖ **Mode opératoire**

Le test au DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par Ibra *et al.* (2017). A partir d'une solution stock d'extrait de concentration 1000 µg/mL, cinq solutions de 500 µL chacune ont été préparées dans des tubes à essai aux concentrations respectives de 31,25, 62,5, 125, 250, et 500 µg/mL. Dans chaque tube ont été introduits 250 µL d'une solution méthanolique de DPPH à 500 µM. L'acide gallique, substance utilisée comme contrôle positif (antiradicalaire standard) a été préparé aux mêmes concentrations que l'extrait. Dans le tube blanc, ont été introduits 500 µL de méthanol, 500 µL de carbonate de sodium et 250 µL de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la densité optique (DO) de chaque tube a été lue au spectrophotomètre à 517 nm contre le blanc. Chaque tube a été évalué en tripliquat.

L'activité antioxydante exprimée en pourcentage de DPPH réduit a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'activité antioxydante} = [1 - (\text{DO Extrait} / \text{DO blanc})] \times 100$$

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition (CI₅₀).

b) Evaluation de l'activité anti-radicalaire en présence du radical acide éthylbenzothiazoline-sulphonique

❖ **Principe**

Le principe est basé sur la capacité des composés à piéger le radical cationique ABTS⁺. En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS de couleur bleue forme le

radical ABTS⁺ de couleur verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange qui est proportionnelle à la concentration en antioxydant dans le milieu (Ibra *et al.*, 2017).

❖ **Mode opératoire**

La solution ABTS a été préparée en dissolvant 1,6 g de réactif ABTS dans 40 mL de méthanol (solution A) et 0,01 g de potassium persulfate dans 20 mL d'eau distillée (solution B). Vingt millilitres de la solution A ont été mélangés à 20 mL de la solution B et le mélange une fois mélangé a été incubé à l'obscurité pendant 24 h. La solution obtenue après incubation a été par la suite diluée. Dans des tubes à essai contenant 200 µL d'échantillon (extrait ou acide gallique) ont été ajoutés 1800 µL de la solution finale (ABTS⁺ persulfate de potassium) obtenue. Le mélange a été mélangé et après une incubation de 15 minutes à l'obscurité, les densités optiques ont été lues à la longueur d'ondes de 734 nm. Chaque tube a été évalué en triplicat. L'activité antioxydante a été déterminée comme précédemment décrit dans le test du DPPH.

c) **Détermination de l'activité antioxydante par le test de réduction du fer**

❖ **Principe**

Le pouvoir réducteur du fer (Fe³⁺) dans les extraits a été déterminé selon la méthode décrite par Ibra *et al.* (2017). Cette méthode est basée sur l'activité des extraits à réduire le complexe ferrique-tripyridyltriazine en ferreux-tripyridyltriazine. Le complexe perd sa couleur jaune pour un bleu foncé. Cette coloration mesurée à 595 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants présents dans les échantillons.

❖ **Mode opératoire**

Dans des tubes contenant 1 mL d'extrait ou d'acide gallique à différentes concentrations (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 mg/mL) ont été ajoutés 2,5 mL de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de fericyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1 %. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 min. L'acide trichloroacétique à 10 % (2,5 mL) ont été ensuite ajoutés au mélange pour stopper la réaction. Les tubes ont été centrifugés à 3000 tours pendant 10 minutes. Un aliquote (2,5 mL) de surnageant a été combiné avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 0,1 %. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite à 595 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. La concentration effective 50 (CE₅₀,) est la concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5.

II.2.5 Evaluation des effets hypotenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

Les effets hypotenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* ont été mesurés dans cette étude par la méthode directe ou invasive décrite par Van Vliet *et al.* (2000). Cette méthode consiste à enregistrer les paramètres hémodynamiques du rat à partir d'un enregistreur hémodynamique.

➤ Préparation des animaux

L'anesthésie générale de chaque rat a été réalisée par injection intra-péritonéale de l'uréthane à 15 % à la dose de 1,5 g/kg. Après anesthésie, l'animal a été fixé en décubitus dorsal sur une planche de liège. Une incision médiane et longitudinale de la région du cou a été pratiquée et les muscles sternohyoïdiens et la trachée ont été écartés. Les carotides reconnaissables par leur paroi opalescente sont situées en profondeur de part et d'autre de la trachée. Une des carotides a été délicatement dégagée des fibres nerveuses et deux ligatures ont été placées, l'une céphalique qui a été serrée et l'autre cardiaque qui a été mise en attente. Le Mc Even hépariné (10 %) a été injecté dans la veine péniennne du rat à 1 mL/100 g de poids corporel. Un clamp vasculaire empêchant la circulation sanguine dans la carotide a été placée le plus bas possible vers le cœur, suivit de la réalisation d'une incision entre la ligature céphalique et le second fil d'attente. L'embout libre du cathéter relié au transducteur lui-même relié à l'enregistreur hémodynamique (Biopac Student Lab) de type MP 35 a été introduit dans la carotide en direction du cœur et maintenu en place par la deuxième ligature.

➤ Enregistrement des paramètres hémodynamique (pression artérielle et fréquence cardiaque) de base des animaux

Le transducteur est un capteur possédant une membrane ultra-sensible capable de convertir en signaux électriques, les moindres variations mécaniques de la pression artérielle de l'animal. Le dôme du transducteur est rempli de liquide physiologique (Mc Even hépariné 1 %), de même que la canule fixée à la carotide du rat. Pour un maximum de sensibilité, ce système est dépourvu de toute bulle d'air. Après ouverture du robinet qui relie la carotide au transducteur, le clamp est enlevé, le sang s'engouffre dans le cathéter et le transducteur transmet les variations de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque à l'enregistreur qui à son tour envoie les signaux vers un ordinateur contenant le logiciel « Biopac Student Lab de type MP 35 » qui permet de visualiser les différents tracés enregistrés (Figure 11). Une période d'équilibration de 30 minutes a été observée et les différentes substances ont été administrées.

➤ Administration de l'extrait et des substances pharmacologiques de référence

Après enregistrement des paramètres hémodynamique de base des animaux, l'extrait aux doses respectives de 10, 20, 30 et 40 mg/kg a été injecté par voie intraveineuse (i. v.) afin d'évaluer ses effets directs. Après administration de chaque dose de l'extrait (0,1 mL/100 g de poids corporel), les paramètres hémodynamiques (PA et FC) ont été enregistrés pendant une heure. Chaque dose a été évaluée sur un groupe de cinq rats normotendus pesant entre 150 et 180 g.

Dans une seconde série d'expérimentation, les mécanismes d'action probables de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* ont été déterminés en évaluant les effets de cet extrait aqueux à la dose de 10 mg/kg (dose avec meilleurs effets) chez les rats 5 minutes après administration intra veineuse de l'atropine (1 mg/kg), du propranolol (100 µg/kg), de la yohimbine (0,1 mg/kg), de la L-NAME (5 mg/kg) ou de l'indométacine (5 mg/kg).



1 : écran d'ordinateur ; 2 : électrodes ; 3 : canule pénienne, 4 : canule carotidienne ; 5 : rat mâle ; 6 : transducteur de signal ; 7 : biopac MP 35

Figure 11: Photo du dispositif d'enregistrement de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque (Photographié par TCHEUTCHOUA Yannick en Juillet 2021 au Laboratoire de Physiologie Animale).

II.2.6 Evaluation des effets diurétiques de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

Les extraits aqueux de chaque plante et du mélange des deux plantes ont été testés pour l'évaluation de l'activité diurétique en utilisant la méthode décrite par Ntchapda *et al.* (2014).

Pour faire la sélection des rats ayant une meilleure excrétion urinaire, tous les rats ont reçu de l'eau distillée (1 mL/100 g). Immédiatement après administration de l'eau distillée, chaque rat a été placé dans une cage métabolique et l'urine a été recueillie sur une période de 6 heures. Les animaux ayant une meilleure excrétion urinaire (au moins 40 % du volume de solution administrée) ont été sélectionnés pour le test et répartis en 6 groupes de 6 animaux chacun. Le premier groupe (TN) a été traité avec de l'eau distillée (10 mL/kg), le deuxième et le troisième avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* aux doses de 100 et de 200 mg/kg respectivement (BC 100 et BC 200). Les quatrième et cinquième groupes (B 200 et C 200) ont été traités respectivement avec l'extrait aqueux de *Bidens pilosa* (200 mg/kg) ou de *Cymbopogon citratus* (200 mg/kg), tandis que le sixième groupe (FURO 15) a été traité avec du furosémide (15 mg/kg). Les animaux des différents groupes ont été placés dans des cages métaboliques, la nourriture et l'eau ont été retirées 12 heures avant l'expérience. Tous les extraits ont été dissouts dans de l'eau distillée aux concentrations requises et administrés par gavage en fonction du poids corporel. L'excrétion urinaire cumulée a été mesurée à 3, 6, 9, 12 et 24 heures post administration dans chaque groupe.

II.2.7 Evaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur des modèles d'hypertension artérielle essentielle et secondaire

II.2.7.1 Hypertension artérielle essentielle (induite par la L-NAME)

Le modèle physiologique de l'HTA à L-NAME a pour but d'approcher les conditions physiopathologiques de l'hypertension artérielle essentielle chez l'Homme. Dans cette étude, ce modèle a été utilisé en traitement curatif.

❖ Induction

Pour la phase d'induction, 54 rats ayant un âge compris entre 10 et 12 semaines et de poids moyen de 190 g ont été répartis en 2 lots de 12 et de 42 rats (Figure 12). Les rats ont reçu pendant 3 semaines (21 jours) une injection intrapéritonéale et quotidienne de NaCl (1 mL/kg) et de la L-NAME (25 mg/kg) respectivement pour les lots 1 et 2 (Ntchapda *et al.*, 2020). A la fin de la période d'induction, 6 animaux de chaque lot ont été sacrifiés afin d'avoir les paramètres de base (pression artérielle, profil lipidique, fonctions rénale et hépatique, statut oxydant) des animaux avant le traitement.

❖ **Traitement**

Pour la phase de traitement (21 jours), les animaux hypertendus restants du lot 2 ont été répartis en 6 groupes et traités par voie orale comme suit (Figure 12) :

- le groupe 1 (RHT) rats hypertendus recevant par gavage de l'eau distillée (10 mL/kg) ;
- le groupe 2 (CAPTO) rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg),
- les groupes 3 (BC 100) et 4 (BC 200) rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg respectivement) ;
- les groupes 5 (B 200) et 6 (C 200) rats hypertendus recevant respectivement les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg).

Ces différents groupes ont continué de recevoir une dose d'entretien de L- NAME (12,5 mg/kg) pendant toute la phase de traitement. Les animaux restant du lot 1 ont constitué le groupe de rats normotendus (RNT).

La masse pondérale des animaux était enregistrée tous les 7 jours pendant toute la durée de l'expérimentation et le pourcentage de gain pondéral a été déterminé. Les prises hydrique et alimentaire ainsi que la quantité d'urine émise ont été évalués au début et à la fin de chaque phase de l'expérimentation à l'aide des cages métaboliques. Au terme du traitement, les animaux ont été soumis à un jeun non hydrique de 12h. Les paramètres hémodynamiques ont été enregistrés comme précédemment décrit. Après enregistrement des différents paramètres hémodynamiques, les animaux ont été sacrifiés par section des carotides. Le sang artérioveineux a été collecté dans les tubes secs préalablement étiquetés pour les analyses de quelques paramètres biochimiques (alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase, cholestérol total, triglycérides, HDL-cholestérol, sodium, potassium, calcium, magnésium, créatinine, acide urique, urée, bilirubine totale et albumine). Les rats ont ensuite été disséqués et les organes d'intérêt tels que le cœur, le foie, les reins, le cœur et l'aorte ont été recueillis et pesés pour la réalisation des homogénats et le dosage de quelques marqueurs du stress oxydant (la catalase, les nitrites, le glutathion réduit (GSH) et le malondialdéhyde (MDA)). Une portion de ces organes a été fixée dans du formol 4 % pour la réalisation des coupes histologiques.

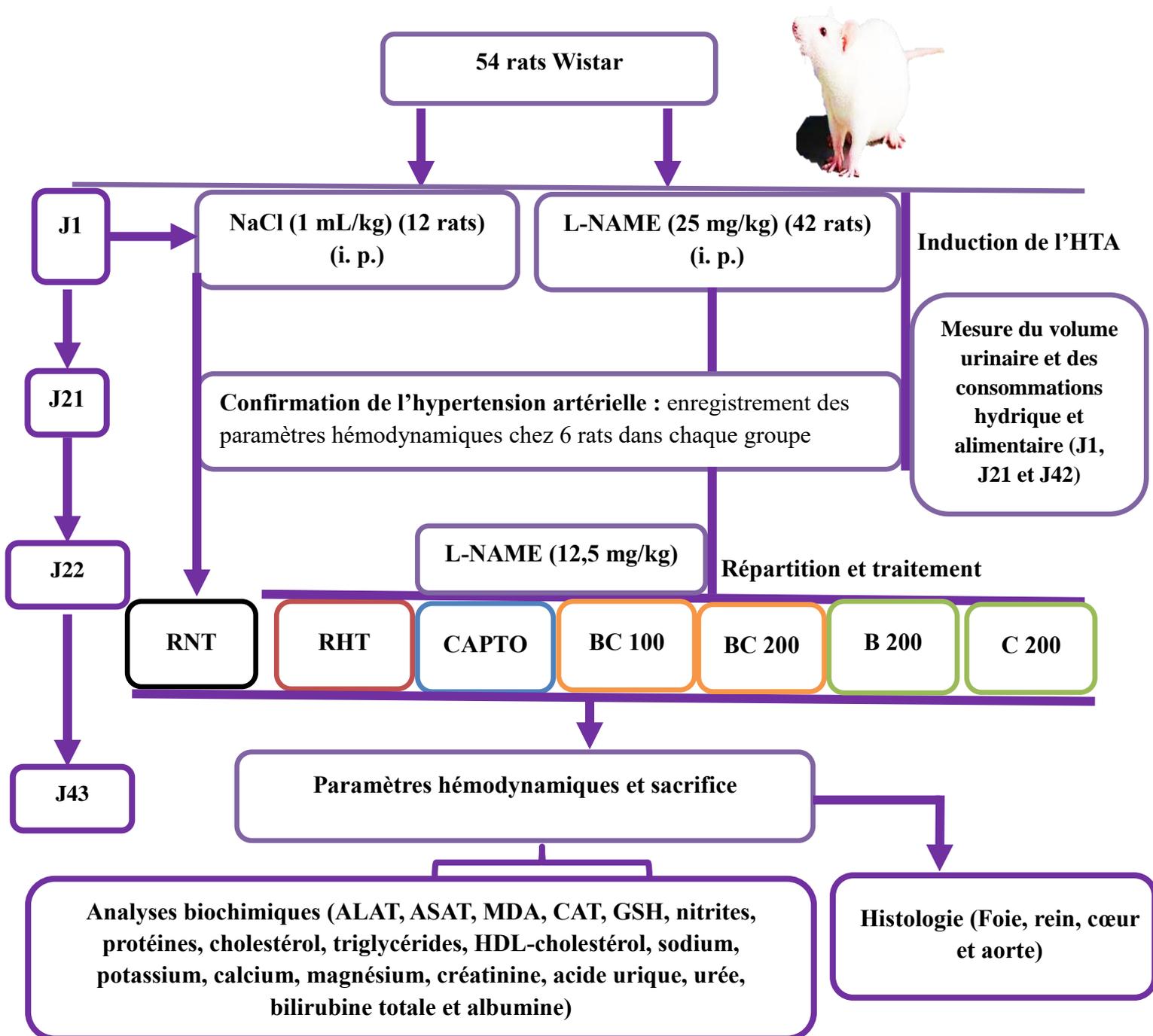


Figure 12: Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement curatif de l'hypertension artérielle essentielle induite par la L-NAME.

RNT : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et de 200 mg/kg), CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase, MDA : malondialdéhyde, CAT : catalase, GSH: glutathion réduit.

II.2.7.2 Hypertension artérielle secondaire (induite à l'alcool +sel)

En Afrique et plus particulièrement au Cameroun les populations consomment beaucoup d'alcool et de sel. Les modèles d'HTA induite séparément avec l'alcool ou le sel ont déjà été mis sur pied et bien caractérisés dans notre équipe de recherche (Bella *et al.*, 2013; Bilanda *et al.*, 2019; Aboubakar *et al.*, 2021) et par plusieurs auteurs (Husain *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2019). Cependant, aucune étude n'a encore été menée sur la combinaison alcool+sel qui reflète bien les habitudes alimentaires des camerounais. Du point de vue expérimental, ce modèle qui combine ces deux substances se rapproche le plus de l'HTA secondaire chez l'Homme.

Pour ce modèle d'hypertension artérielle induite par une solution d'alcool+sel, les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* ont été évalués en traitements préventif et curatif.

II.2.7.2.1 Traitement préventif

Dans cette étude les substances de traitement ont été administrées concomitamment avec la solution inductrice (alcool+sel). Pour ce faire, 54 rats mâles normotendus ayant un âge compris entre 6 et 8 semaines et de poids moyen de 140 g ont été répartis en 7 groupes. Les deux premiers groupes avaient 12 rats chacun tandis que les autres groupes avaient 6 rats chacun (Figure 13). Les animaux des différents lots ont été traités par voie orale pendant 7 semaines (49 jours) suivant la répartition ci-dessous :

- le groupe 1 (ED) rats recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) deux fois à un intervalle de 30 min ;
- le groupe 2 (ED+Al-sel) rats recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) puis la solution mixte de sel (2,46 g/kg) et d'éthanol 40° (5 g/kg) ;
- le groupe 3 (SPIRO+Al-sel) rats recevant la spironolactone (10 mg/kg) puis la solution mixte de sel (2,46 mg/kg) et d'éthanol 40° (5 g/kg) ;
- les groupes 4 et 5 (BC 100+Al-sel et BC 200+Al-sel) rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg puis la solution mixte de sel (2,46 mg/kg) et d'éthanol 40° (5 g/kg) ;
- les groupes 6 et 7 (B 200+Al-sel et C 200+Al-sel) rats recevant respectivement les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) puis la solution mixte de sel (2,46 mg/kg) et d'éthanol 40° (5 g/kg).

Au 48^e jour de l'expérimentation, quelques rats des deux premiers groupes (6 rats par groupe) ont été sacrifiés afin de vérifier l'installation de l'HTA. Après confirmation de l'HTA le reste des animaux a été sacrifié le 49^e jour.

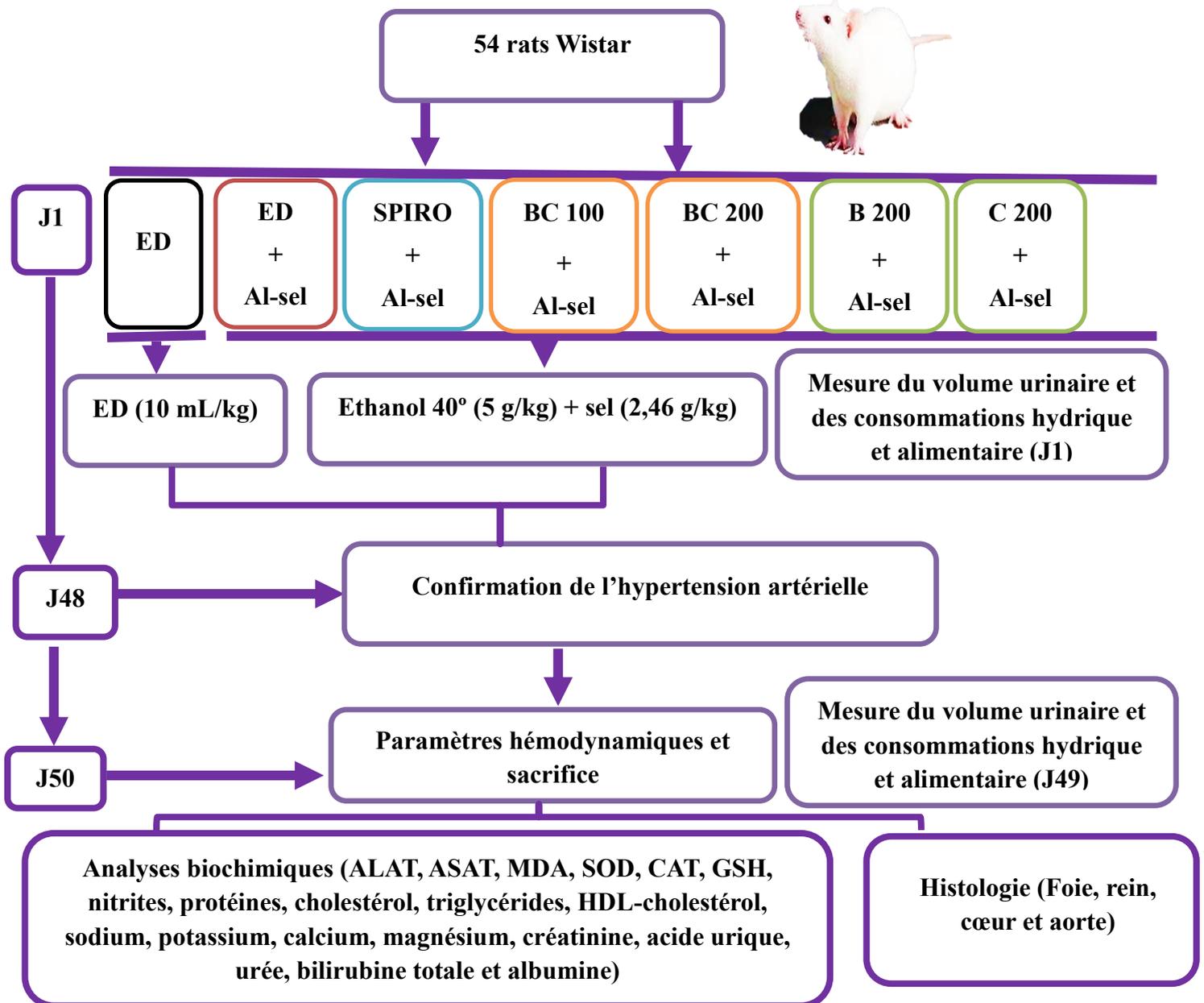


Figure 13: Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire induite par une solution d'alcool+sel.

ED : eau distillée, AL-sel : solution mixte d'alcool et de sel, BC 100 et BC 200 : extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et de 200 mg/kg), SPIRO : spironolactone (10 mg/kg), B 200 : extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase, MDA : malondialdéhyde, SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase, GSH: glutathion réduit.

II.2.7.2.2 Traitement curatif

Dans cette étude le traitement a commencé à la fin de l'induction. Les extraits et la substance de référence (spironolactone) ont été administrés concomitamment avec la solution d'induction (alcool+sel).

❖ Induction

Pour la phase d'induction, 54 rats ont été répartis en 2 lots de 12 et de 42 rats. Les animaux du lot 2 ont reçu par gavage une solution d'induction (alcool + sel) pendant 7 semaines (49 jours). Au terme de la période d'induction de l'HTA, 6 rats dans chaque groupe ont été sacrifiés afin de confirmer l'installation de l'HTA (Figure 14).

❖ Traitement

Après confirmation de l'HTA, les animaux hypertendus restants du deuxième lot ont été répartis en 6 groupes de 6 rats chacun. Tandis que ceux du groupe 1 ont constitué le groupe de rats normotendus (Figure 14). Ces différents groupes ont été traités pendant 21 jours comme précédemment décrit en traitement préventif.

Pour les traitements préventif et curatif, la prise pondérale des animaux était enregistrée tous les 7 jours pendant toute la durée de chaque traitement et le pourcentage de gain pondéral a été déterminé. Les prises hydrique et alimentaire ainsi que la quantité d'urine émise ont été évaluées au début et à la fin de chaque traitement. A la fin de chaque expérience, les animaux ont été soumis à un jeun non hydrique de 12h. Les paramètres hémodynamiques (pression artérielle systolique, diastolique et moyenne ainsi que la fréquence cardiaque) ont été enregistrés. Après enregistrement des différents paramètres hémodynamiques, les animaux ont été sacrifiés par section de la carotide. Le sang artérioveineux a été collecté dans les tubes secs préalablement étiquetés pour les analyses de quelques paramètres biochimiques (alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase, cholestérol total, triglycérides, HDL-cholestérol, sodium, potassium, calcium, magnésium, créatinine, acide urique, urée, bilirubine totale et albumine). Les rats ont ensuite été disséqués et les organes d'intérêt tels que le cœur, le foie, les reins, le cœur et l'aorte ont été recueillis et pesés pour la réalisation des homogénats et le dosage de quelques marqueurs du stress oxydant (la catalase, les nitrites, la superoxyde dismutase (SOD), le glutathion réduit (GSH) et le malondialdéhyde (MDA)). Une portion de ces organes a été fixée dans du formol 4 % pour la réalisation des coupes histologiques.

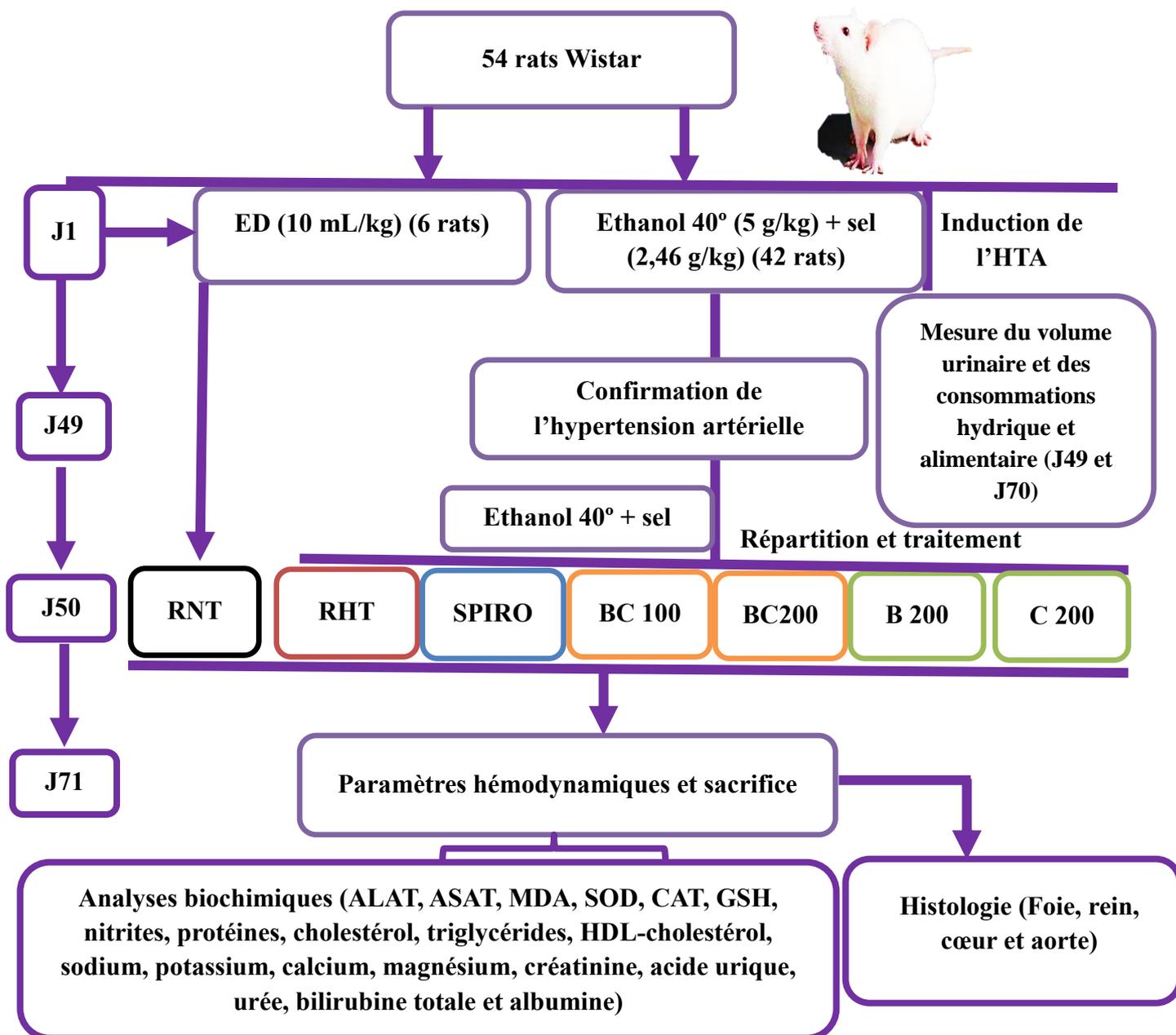


Figure 14: Schéma récapitulatif du protocole expérimental pendant l'évaluation des effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire induite par une solution d'alcool+sel.

ED : eau distillée, AL + sel : solution mixte d'alcool et de sel, RNT : rats normotendus, RHT : rats hypertendus, BC 100 et BC 200 : extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et de 200 mg/kg), SPIRO : spironolactone (10 mg/kg), B 200 : extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase, MDA : malondialdéhyde, SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase, GSH: glutathion réduit.

II.2.8 Evaluation du profil toxicologique de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

II.2.8.1 Toxicité aiguë

La toxicité aiguë de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a été réalisée suivant la ligne directrice N° 425 de l'OCDE avec quelques modifications (OCDEa, 2008). Dix-huit animaux (9 mâles et 9 femelles) ayant un âge compris entre 8 et 10 semaines et de poids moyen de 160 g ont été utilisés et divisés en 3 lots : deux lots tests et un lot contrôle. Les lots tests constitués de 3 femelles et de 3 mâles chacun, étaient traités à l'extrait aqueux du mélange de *C. citratus* et de *B. pilosa* respectivement aux doses de 2000 et de 5000 mg/kg en une seule administration. Le lot contrôle, constitué comme celui des lots tests était traité à l'eau distillée à raison de 10 mL/kg. Les animaux ont été observés individuellement au moins une fois pendant les premières 4 heures et régulièrement pendant les premières 24 heures puis pendant 14 jours après le traitement. Le comportement (locomotion, agressivité, sensibilité au toucher et au bruit, l'aspect des selles et état du pelage) et le taux de mortalité des animaux ont été observés continuellement pendant toute la période expérimentale. Les animaux étaient pesés tous les trois jours pendant toute la période expérimentale. Le poids des animaux obtenus a permis de calculer le pourcentage de variation du gain pondéral par rapport à leurs poids initiaux suivant la formule :

Gain pondéral (%) = $((m_i - m) / m) \times 100$; **$m_i$** = masse au jour *i* (g); **m** = masse initiale (g).

A la fin de l'expérimentation, les rats ont été mis à jeun pendant 12h mais ont eu un accès libre à l'eau de robinet. Ils ont été anesthésiés avec de l'éther par inhalation et sacrifiés par dislocation cervicale. Les rats ont ensuite été disséqués et les organes tels que le cœur, le foie, les poumons, les reins, le cerveau et la rate ont été recueillis et pesés pour l'évaluation du poids relatif des organes suivant la formule :

$Pr = (Po/Pa) \times 100$; **Pr** : poids relatif de l'organe ; **Po** : poids de l'organe (g) ; **Pa** : poids corporel du rat (g).

II.2.8.1 Toxicité subchronique

Cette étude a été faite suivant la ligne directrice 407 de l'OCDE (OCDEb, 2008). Des lots de 10 animaux chacun (5 mâles et 5 femelles) ayant un âge compris entre 6 et 8 semaines et de poids moyen de 140 g ont été utilisés. Le lot 1 a reçu de l'eau distillée à raison de 10

mL/kg et les lots 2, 3 et 4, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 200, 400 et de 800 mg/kg. Les animaux des lots 5 et 6 (lots témoin satellite et satellite) ont été respectivement traités à l'eau distillée (10 mL/kg) et à l'extrait aqueux du mélange de *C. citratus* et de *B. pilosa* à la dose de 800 mg/kg et sacrifiés 2 semaines après la fin du traitement. Ce protocole étant de 28 jours, nous avons jugé utile d'ajouter un 7^e lot de 5 rats mâles qui prenaient l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 8 semaines (56 jours), étant donné que le traitement préventif du modèle d'HTA secondaire induite par la solution alcool+sel a duré 7 semaines (49 jours).

Durant les traitements, les animaux ont soigneusement été examinés afin de déceler tout signe de toxicité. Au terme de chaque traitement, les animaux ont été soumis à un jeûne de 12 h pour être sacrifiés le lendemain. Une partie du sang artérioveineux a été recueilli dans des tubes héparinés étiquetés pour la réalisation de la Numération Formule Sanguine (NFS) tandis qu'une autre partie a été recueilli dans des tubes secs étiquetés pour le dosage de quelques paramètres biochimiques (protéines, alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase, cholestérol total, triglycérides, HDL-cholestérol, créatinine, acide urique, urée et bilirubine totale). La toxicité de l'extrait aqueux a également été évaluée sur le poids corporel des rats et le poids relatif de certains organes (foie, rein, rate, cerveau, cœur et poumons). Une portion de certains organes (foie, rein, rate et poumons) a été fixée dans du formol 4 % pour la réalisation des coupes histologiques.

II.2.9 Collecte des échantillons (urine, sérum) et préparation des homogénats

Les tubes contenant les urines ont été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 15 minutes à l'aide d'une centrifugeuse réfrigérée de marque Jouan GR412. L'urine de chaque animal a été collectée dans des tubes Eppendorf préalablement étiquetés et conservé à -20°C pour le dosage de quelques paramètres biochimiques urinaires (sodium, potassium, calcium, magnésium, créatinine, acide urique et urée). Les tubes contenant le sang artérioveineux ont été laissés au repos pendant 30 minutes et centrifugés à 3000 tours par minute pendant 15 minutes. Le sérum de chaque animal a été collecté dans des tubes Eppendorf préalablement étiquetés et conservé à -20°C pour le dosage des paramètres biochimiques précédemment décrits dans chaque expérimentation.

La cavité abdominale de chaque animal a été ouverte, le foie, le rein, l'aorte et le cœur, ont été prélevés, puis débarrassés du tissu conjonctif et de la graisse. Les organes ont été rincés dans la solution de NaCl 0,9 % et essorés sur du papier absorbant. Des portions de 0,4 g de foie, de rein et de cœur et de 0,1 g d'aorte ont été broyées séparément dans un mortier placé sur un

bac de glace, puis homogénéisées dans le tampon Tris-HCl 50 mM pH = 7,4 (foie et rein) pour obtenir un homogénat à 20 % et dans le Mac Even pour obtenir des homogénats à 20 % pour le cœur et 10 % pour l'aorte. Les homogénats ont ensuite été centrifugés à 3000 tours par minute à 4 °C pendant 25 minutes. Le surnageant obtenu a été prélevé et introduit dans des tubes à Eppendorf préalablement étiquetés et conservé à -20 °C pour le dosage des paramètres biochimiques précédemment décrits dans chaque expérimentation.

II.2.10 Analyses biochimiques

II.2.10.1 Dosage de quelques paramètres biochimiques sérique et urinaire

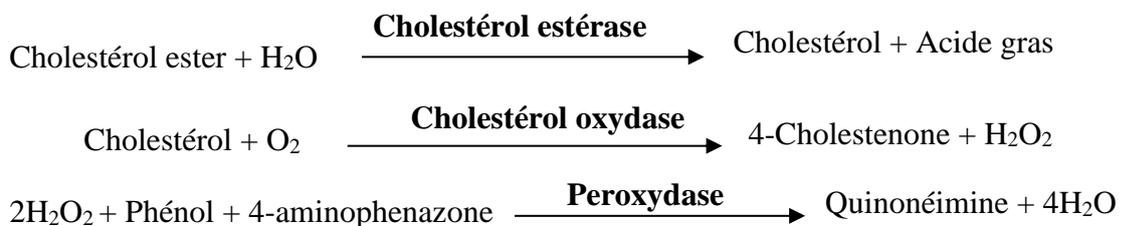
1- Dosage des paramètres du profil lipidique

Les paramètres du profil lipidique ont été évalués dans le sérum.

a) Dosage du cholestérol total

➤ Principe

Le cholestérol est présent dans le sérum sous forme d'ester de cholestérol et de cholestérol libre. L'ester de cholestérol est hydrolysé par le cholestérol oxydase pour former le peroxyde d'hydrogène qui réagit avec le phénol et le 4-aminoantipyrine pour former la quinonéimine. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle au taux de cholestérol présent dans l'échantillon (Naito, 1984).



➤ Mode opératoire

Le protocole du dosage a été fourni par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été remplis et traités suivant le Tableau IV.

Tableau IV: Protocole du dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)		-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances ont été lues contre l'eau distillée au spectrophotomètre à 500 nm.

Le taux sérique de cholestérol total dans chaque échantillon a été calculé suivant la formule :

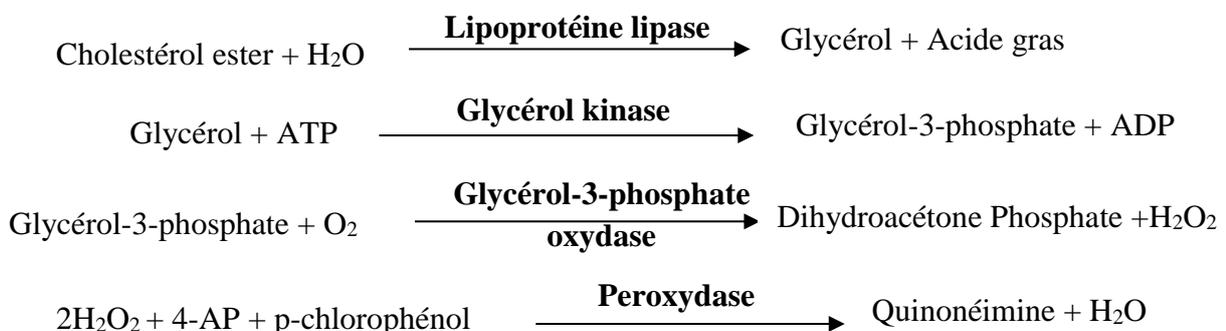
$$[\text{CT}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

[CT] = Concentration de cholestérol total (mg/dL) ; **Abs** = Absorbance ; **C** = Concentration du standard (200 mg/dL).

b) Dosage des triglycérides

➤ Principe

Sous l'action des lipases, les triglycérides (TG) sont hydrolysés en glycérol et acides gras. Le glycérol sera ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène sous l'action successive de la glycérol-kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase. La quinonéimine qui sert d'indicateur, renseigne sur la formation de peroxyde d'hydrogène, de l'aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle au taux de triglycérides présent dans l'échantillon (Naito, 1984).



➤ **Mode opératoire**

Le protocole suivi pour le dosage est celui proposé par le kit *LABKIT*. Les tubes ont été préparés suivant le Tableau V.

Tableau V : Protocole du dosage des triglycérides

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été homogénéisés et incubés à température ambiante pendant 10 minutes puis les densités optiques ont été lues contre l'eau distillée à 546 nm.

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

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

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

c) **Dosage du HDL-cholestérol, détermination du LDL-cholestérol, du VLDL-cholestérol et des indices athérogènes**

❖ **Dosage du HDL-cholestérol**

➤ **Principe**

En présence d'ions Mg^{2+} , les LDL, les VLDL et les chylomicrons précipitent quantitativement par addition d'acide phosphotungstique ; et le HDL-cholestérol est dosé dans le surnageant selon le même principe que le cholestérol total (Naito, 1984).

➤ **Mode opératoire**

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

Tableau VI: Protocole de précipitation des VLDL et LDL-Cholestérol

	Echantillon
Echantillon (µL)	1000
Précipitant dilué (µL)	100

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

Tableau VII: Protocole du dosage du HDL-cholestérol

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Après agitation, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues contre l'eau distillée au spectrophotomètre à la longueur d'onde 500 nm.

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

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

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

❖ Détermination du LDL-cholestérol, du VLDL-cholestérol et des indices athérogènes

Le LDL-cholestérol (LDL-cho), le VLDL-Cholestérol (VLDL-cho) et les indices athérogènes ont été calculés selon la méthode suivante décrite par Ikewuchi, (2012):

- **[LDL-cho]** = ([CT] – [HDL-cho]) – ([TG]/5) ;
- **[VLDL-cho]** = [TG]/5 ;

Indices athérogènes :

- **Ratio risque cardiovasculaire (RRC)** = [CT] / [HDL-cho] ;
- **Coefficient athérogène (CA)** = ([CT] – [HDL-cho]) / [HDL-cho].

[LDL-Chol]= Concentration de LDL-cholestérol (mg/dL); [CT]= Concentration de cholestérol total (mg/dL) ; [TG]= Concentration de triglycérides (mg/dL); [HDL-cho]= Concentration de HDL-cholestérol (mg/dL) ; [VLDL-Chol]= Concentration de VLDL-cholestérol (mg/dL).

2- Dosage de quelques marqueurs de la fonction hépatique

Les paramètres de la fonction hépatique ont été évalués dans le sérum.

a) Dosage des transaminases

➤ Principe

L'Alanine Aminotransférase (ALAT) et l'Aspartate Aminotransférase (ASAT) catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine sur l' α -cétoglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'Aspartate vers l' α -cétoglutarate pour former l'Oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate et l'oxaloacétate réagissent avec le NADH respectivement en présence de la LDH (Lactate Déshydrogénase) et de la MDH (Malate Déshydrogénase) pour former respectivement le lactate et le malate (Young, 1995).



➤ Mode opératoire

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

Tableau VIII: Protocole du dosage de l'ALAT et l'ASAT

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

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

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

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

Act. ALAT ou ASAT=Activité de l'ALAT ou de l'ASAT (UI/L) ; **1750** = Coefficient donné par le kit ; ΔA = Variation de l'absorbance ; $\Delta A = [(A1-A0) + (A2-A1) + (A3-A2)]/3$.

b) Dosage de la bilirubine totale

➤ Principe

La bilirubine est convertie en azobilirubine coloré par l'acide sulfanilique diazoté. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration en bilirubine présente dans l'échantillon. L'absorbance proportionnelle à l'azobilirubine ainsi produite est lue au spectrophotomètre à 546 nm (Martinek, 1966).

➤ Mode opératoire

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

Tableau IX: Protocole du dosage de la bilirubine totale

	Blanc	Echantillon
R 1 (µL)	1500	1500
R 2 (µL)	-	50
Echantillon/Standard (µL)	100	100
Eau distillée (µL)	50	-

Le mélange a été agité à l'aide du vortex puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Les absorbances ont été lues contre l'eau distillée à 546 nm.

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

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

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

c) Dosage de l'albumine

➤ Principe

Le sérum albumine se fixe sur le bromocrésol en milieu acide pour former un complexe de coloration verte qui absorbe à 578 nm (Doumas *et al.*, 1971).

➤ **Mode opératoire**

Les tubes ont été remplis et traités suivant le protocole du Kit *BIOLABO* comme indiqué le Tableau X.

Tableau X: Protocole du dosage de l'albumine

Réactifs	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10		-
Standard (µL)		10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	2000	2000	2000

Le mélange a été agité à l'aide d'un vortex, les absorbances ont été lues contre l'eau distillée au spectrophotomètre à 630 nm.

La concentration d'albumine de chaque échantillon a été calculée comme suit :

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

[Albumine] = Concentration d'albumine (mg/dL) ; Abs = Absorbance ; C = Concentration standard (5 mg/dL).

3- Dosage de quelques paramètres de la fonction rénale

Les paramètres de la fonction rénale ont été évalués dans le sérum et dans l'urine collectée après 24h.

a) Dosage de la créatinine

➤ **Principe**

La créatinine réagit en milieu alcalin avec le picrate pour donner un composé coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (Tietz, 2006).

➤ **Mode opératoire**

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

Tableau XI: Protocole du dosage de la créatinine

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

Le mélange a été agité et incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 30 secondes. Les absorbances des échantillons et du standard ont ensuite été lues à 510 nm contre l'eau distillée, immédiatement après incubation (A_0) et 120 secondes après la première lecture (A_{120}).

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

- **Sérum :**

$$[\text{Créatinine}] = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ Standard}} \times C$$

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Créatinine}] = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ Standard}} \times C \times \text{Volume urinaire}(dL) \times f$$

[Créatinine]= Concentration de créatinine (mg/dL) ; Abs = Absorbance ; C = Concentration du standard (2 mg/dL) ; ΔA = Variation de l'absorbance ; $\Delta A = A_{120} - A_0$; f = Facteur de dilution (50).

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) a été calculé par la méthode de Cockroft (Ojeda *et al.*, 2012):

Débit de filtration glomérulaire (mL/min) = $[(U \times V) / P] / T$, où U (mg/dL) est le taux de créatinine dans l'urine, V (mL) le volume d'urine collectée en 24 h et P (mg/mL) le taux de créatinine dans le sérum. T (min) est le temps en 24h= 1440 min.

b) Dosage de l'acide urique

➤ Principe

L'acide urique subit une oxydation en présence de l'uricase pour donner l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène qui se transformera en quinoneéine et en eau en présence d'une peroxydase (Young, 1995).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage de l'acide urique a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT*. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le Tableau XII.

Tableau XII: Protocole du dosage de l'acide urique

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	25	-	-
Standard (µL)	-	25	-
Echantillon (µL)	-		25
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Le mélange a été agité et incubé à 25°C pendant 10 minutes. Les absorbances ont ensuite été lues à 510 nm contre l'eau distillée.

La concentration de l'acide urique dans chaque échantillon a été calculée comme suit :

- **Sérum :**

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

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Acide urique}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C \times \text{Volume urinaire (dL)} \times f$$

[Acide urique] = Concentration de l'acide urique (mg/dL) ; **Abs** = Absorbance ;
C = Concentration du standard (6 mg/dL) ; **f** = Facteur de dilution (50).

c) Dosage de l'urée

➤ **Principe**

L'urée dans les échantillons subit une hydrolyse enzymatique en présence de l'uréase pour former l'ion ammonium (NH₄⁺) et le dioxyde de carbone (CO₂). Le NH₄⁺ produit s'associe avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO) en présence du nitroprusside pour former l'indophénol donc l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'urée dans les échantillons (Young, 1995).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage de l'urée a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT*. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le Tableau XIII.

Tableau XIII: Protocole du dosage de l'urée

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (1) (µL)	1000	1000	1000
Le mélange a été agité et incubé à 25 °C pendant 10 minutes			
Réactif de travail (2) (µL)	1000	1000	1000
Le mélange a été agité et incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Les absorbances ont ensuite été lues à 510 nm contre l'eau distillée.			

La concentration de l'urée dans chaque échantillon a été calculée comme suit :

- **Sérum :**

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

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Urée}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C \times \text{Volume urinaire (dL)} \times f$$

[Urée] = Concentration de l'urée (mg/dL) ; **Abs** = Absorbance ; **C** = Concentration du standard (50 mg/dL) ; **f** = Facteur de dilution (50).

d) Dosage du calcium

➤ **Principe**

La méthode CPC décrite par Moorehead et Briggs permet de déterminer la concentration en calcium total dans le sérum, le plasma ou les urines. En milieu alcalin, le 0-crésolphtaléine complexon ou CPC réagit avec les ions calcium pour former un complexe coloré rouge foncé dont l'absorbance, mesurée à 570 nm, est proportionnelle à la concentration en calcium dans le spécimen (Tietz, 2006).

➤ **Mode opératoire**

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

Tableau XIV: Protocole du dosage du calcium

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	25	-	
Standard (µL)	-	25	-
Echantillon (µL)		-	25
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été mélangés et incubés à température ambiante pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre de marque URIT-810 contre l'eau distillée à 570 nm

La concentration de calcium a été calculée par la formule suivante :

- **Sérum :**

$$[\text{Ca}] = \frac{\text{Abs echantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Ca}] = \frac{\text{Abs echantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C \times \text{Volume urinaire(dL)} \times f$$

[Ca] = Concentration du calcium (mmol/L) ; Abs : Absorbance ; C = Concentration du standard (2,5 mmol/L) ; f = Facteur de dilution (50).

e) **Dosage du magnésium**

➤ **Principe**

Les ions magnésium forment un complexe chélate coloré en présence du bleu de xylydyl dans une solution alcaline. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de magnésium dans l'échantillon. Les concentrations des ions calciums sont masquées par l'acide glycol éther-di-amine-tétra-acétique (Tietz, 2006).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage du magnésium urinaire a été réalisé selon le protocole du kit *LABKIT*. Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le Tableau XV.

Tableau XV: Protocole du dosage du magnésium

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée (µL)	10	-	-
Standard (µL)		10	-
Echantillon (µL)	-	-	10
Réactif de travail (µL)	1000	1000	1000

Les tubes ont été mélangés et incubés au bain marie à 37 °C pendant 5 minutes. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre de marque URIT-810 contre l'eau distillée à 546 nm.

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

- **Sérum :**

$$[\text{Mg}] = \frac{\text{Abs echantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C$$

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Mg}] = \frac{\text{Abs echantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C \times \text{Volume urinaire}(dL) \times f$$

[Mg] = Concentration du magnésium (mmol/L) ; Abs : Absorbance ; C = Concentration du standard (10 mmol/L) ; f = Facteur de dilution (50).

f) Dosage du sodium

➤ **Principe**

Le sodium est précipité avec le complexe magnésium-uranyl acetate. L'ion uranyl obtenu forme un complexe jaune-marron avec l'acide thioglycolique. La différence entre le blanc (sans précipitation du sodium) et l'échantillon analysé est proportionnelle à la concentration de sodium (Tietz, 2006).

➤ **Mode opératoire**

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

Tableau XVI: Protocole du dosage du sodium

• **Précipitation du sodium**

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

Les tubes ont été fermés et bien mélangés pendant 5 minutes et laissé au repos pendant 30 minutes. Les tubes ont ensuite été centrifugés pendant 10 minute à 4000 tr/min et le surnageant a été pipeté.

• **Dosage du sodium**

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

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

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

- **Sérum :**

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

- **Urine de 24h :**

$$[\text{Na}] = \frac{\text{Abs Blanc} - \text{Abs echantillon}}{\text{Abs Blanc} - \text{Abs standard}} \times C \times \text{Volume urinaire}(dL) \times f$$

[Na] = Concentration du sodium (mmol/L) ; **Abs** = Absorbance ; **C**= Concentration du standard (150 mmol/L) ; **f** = Facteur de dilution (50).

g) Dosage du potassium

➤ Principe

L'ion potassium réagit en milieu alcalin avec le sodium-tetraphénylboron pour produire une suspension turbide de potassium tetraphénylboron. La turbidité obtenue est proportionnelle à la concentration de l'ion potassium (Tietz, 2006).

➤ Mode opératoire

Le dosage du potassium a été réalisé selon le protocole du kit de la compagnie *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Les différents tubes ont été remplis et traités d'après le Tableau XVII.

Tableau XVII: Protocole du dosage du potassium

Echantillon (µL)	50
Précipitant (µL)	500

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

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

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

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

- **Sérum :**

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

- **Urine de 24h :**

$$[\text{K}] = \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}}{\text{Abs Standard} - \text{Abs Blanc}} \times C \times \text{Volume urinaire}(dL) \times f$$

[K] = Concentration du potassium (mmol/L) ; **Abs** = Absorbance ; **C** = Concentration du standard (5 mmol/L) ; **f** = Facteur de dilution (50).

II.2. 10.2 Dosage de quelques marqueurs du statut oxydant

Les marqueurs du statut oxydant ont été évalués dans les homogénats de foie, de rein, de cœur et d'aorte. Cependant, le dosage des protéines a également été effectué dans les échantillons (sérum) de la toxicité subchronique.

a) Dosage des protéines

➤ Principe

En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forme avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre lié au tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon (Gornall *et al.*, 1948).

➤ Mode opératoire

Le dosage des protéines a été réalisé suivant la méthode de Biuret. Les tubes ont été remplis et traités suivant le Tableau XVIII.

Tableau XVIII: Protocole du dosage des protéines

	Blanc		Etalons					Echantillons	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	X ₁X _n	
SAB (µL)	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée (µL)	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret (µL)	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons (µL)	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,6	0,75	0,90	-	-

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc à 540 nm.

Absorbances obtenues	0	0,06	0,11	0,16	0,21	0,25	0,30	-	-
-----------------------------	---	------	------	------	------	------	------	---	---

SAB= Sérum Albumine Bovin ; **0**= Tube blanc ; **1-6**= Tubes étalons ; **X₁-X_n**= Tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 0,3379x$ (Figure 15).

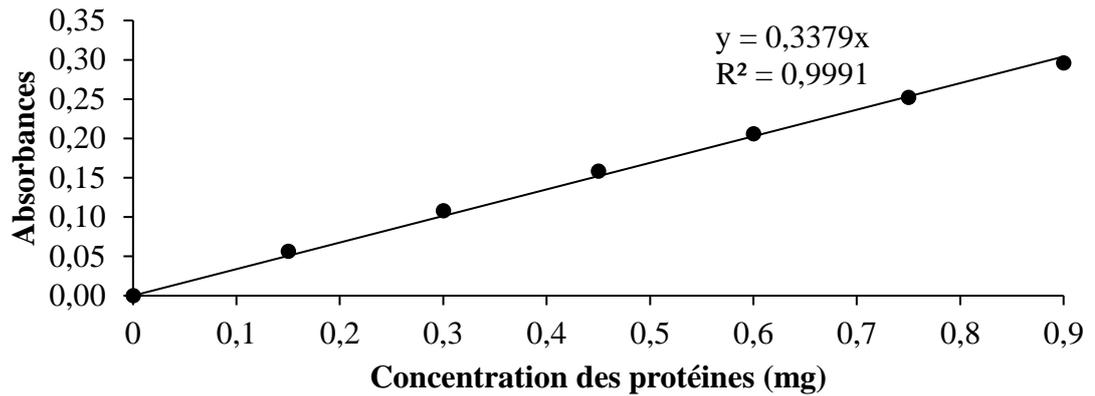


Figure 15: Courbe d'étalonnage pour la détermination du taux des protéines.

b) Dosage de l'activité de la catalase

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

Les tubes ont été remplis selon le protocole décrit dans le Tableau XIX pour le tracé de la courbe d'étalonnage et le dosage de la catalase.

Tableau XIX: Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage et du dosage de la catalase

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

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H₂O₂ (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000

Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.

Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Concentration de H₂O₂ (mM)	0	2	4	8	16
Absorbances obtenues	0	0,007	0,014	0,025	0,052

➤ **Dosage de la catalase**

	Blanc réactif	Echantillon
Eau distillée (μL)	50	-
Homogénats (μL)	-	50
Tampon phosphate 0,1 mM ; pH 7,5 (μL)	750	750
Peroxyde d'hydrogène 50 mM (μL)	200	200

Incubation pendant 1 minute à température ambiante.

Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000
------------------------------------------------------------	------	------

Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et les solutions ont été chauffées à 100 °C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été lue contre l'eau distillée à l'aide d'un spectrophotomètre à 570 nm.

La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂ comme l'indique la Figure 16.

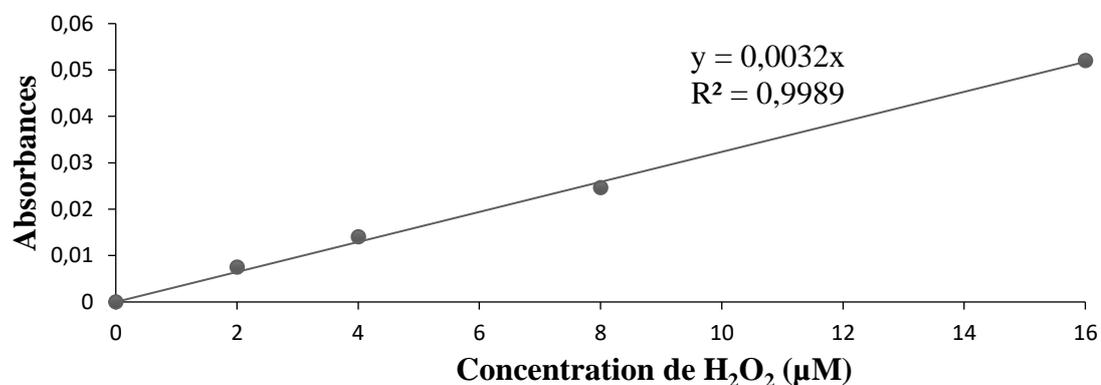


Figure 16: Courbe d'étalonnage pour la détermination de l'activité de la catalase.

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

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

Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai-DO blanc ; **a** = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0032) ; **t**= durée de la réaction (1 minute) ; **m**= Masse de l'organe (g).

c) Dosage de la superoxyde dismutase

➤ Principe

L'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome dans un milieu est inhibée en présence de la superoxyde dismutase (SOD). L'augmentation de l'absorbance, qui est proportionnelle à l'activité de la SOD, est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

➤ Mode opératoire

Dans les tubes tests ont été introduits 134 μL d'homogénat d'organes et dans le tube blanc, 134 μL de tampon carbonate (0,05 M ; pH 10,2). Ensuite, 1666 μL de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) ont été introduits dans tous les tubes. La réaction a été déclenchée en ajoutant 200 μL d'adrénaline (0,3 mM) dans chaque tube. Les absorbances ont été mesurées à 480 nm à 20 et à 80 secondes.

L'activité de la SOD a été déterminée comme suit :

- La variation de l'absorbance : $\Delta A (\text{min}) = A_{20s} - A_{80s}$
- % d'inhibition = $100 - (\Delta A_{\text{essai}} \times 100 / \Delta A_{\text{blanc}}) = n$ unités de SOD.

L'activité spécifique de la SOD (unité de SOD/g d'organes) = (nombre d'unité de SOD/mL/g d'organes)

A_{20s} = Absorbance mesurée à 20 secondes ; **A_{80s}** = Absorbance mesurée à 80 secondes ;

ΔA_{essai} = Variation de l'absorbance de l'échantillon ; **ΔA_{blanc}** = Variation de l'absorbance du blanc ; 50 % d'inhibition équivaut à une unité de SOD.

d) Dosage du glutathion réduit

➤ Principe

L'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'- dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe de coloration jaune dont l'intensité de la coloration est proportionnelle au taux de glutathion réduit présent dans l'échantillon (Ellman, 1959).

➤ **Mode opératoire**

Dans les tubes à essai ont été introduits au préalable 100 µL d'homogénats (tubes échantillons) ou 100 µL d'eau distillée (tube témoin). Dans chaque tube il a été ajouté 1500 µL de réactif d'Ellman. Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances lues contre l'eau distillée à 412 nm. La concentration de glutathion réduit (GSH) a été déterminée par la formule suivante :

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

[GSH]= Concentration de GSH (mol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai-DO blanc ; **L** = Trajet optique (1 cm) ; ϵ = Coefficient d'extinction molaire (13600 mol⁻¹. cm⁻¹) ; **m** = Masse de l'organe (g).

e) **Dosage du malondialdéhyde**

➤ **Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et à chaud pour former un complexe rose dont l'intensité de la coloration est proportionnelle au taux de MDA présent dans l'échantillon (Wilbur *et al.*, 1949).

➤ **Mode opératoire**

Dans des tubes contenant 250 µL d'homogénat (tubes échantillons) ou 250 µL d'eau distillée (tube blanc) ont été introduits, 125 µL d'acide trichloro-acétique (TCA) 20 % et 250 µL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90 °C au bain-marie pendant 10 minutes, puis refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 tours/min à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue à 530 nm contre l'eau distillée.

La concentration en MDA a été déterminée suivant la formule ci-dessous :

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

[MDA]= Concentration de MDA (mol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai-DO blanc ; **L**= Trajet optique (1 cm) ; ϵ = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol⁻¹. cm⁻¹) ; **m**=Masse de l'organe (g).

f) Dosage des nitrites

➤ Principe

En présence de l' amino-4-benzène sulfonamide et du dichlorure de N-(naphtyl-1)-diamino-1,2-éthane (N-1-naphtyl éthylènediamine) en milieu acide, les nitrites subissent une réaction de diazotation. Le produit obtenu est proportionnel à la quantité de nitrites présente dans l'échantillon (Grand *et al.*, 2001).

➤ Mode opératoire

Les tubes ont été remplis suivant le protocole du dosage des nitrites décrit dans le Tableau XX.

Tableau XX: Protocole du dosage des nitrites

Tubes	Blanc		Etalons				Echantillons	
	0	1	2	3	4	5	6	X ₁X ₂
Concentration de NaNO ₂ (µM)	0	0,03	0,06	0,12	0,25	0,50	1	-
Volume de NaNO ₂ (µL)	-	100	100	100	100	100	100	-
Echantillon (µL)	-	-	-	-	-	-	-	100
Eau distillée (µL)	500	400	400	400	400	400	400	400
Réactif de Griess (µL)	500	500	500	500	500	500	500	500
Absorbances obtenues	0	0,06	0,13	0,22	0,45	1,02	2,05	-

Les étalons (tubes 1 à 6) ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage (Figure 17). La concentration des nitrites a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 2,0355x$.

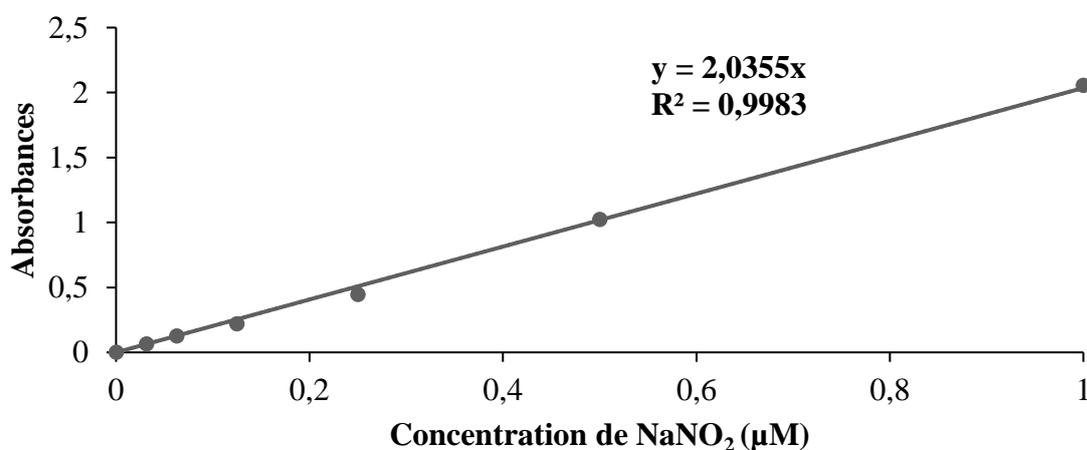


Figure 17: Courbe d'étalonnage pour la détermination du taux des nitrites.

II.2.11 Analyses histologiques

➤ **Mode opératoire**

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

a) Fixation

L'objectif de la fixation est de maintenir les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. La fixation a été effectuée en mettant les organes dans du formol 4 %.

b) Recoupe

Une fois les organes fixés, ils ont été « recoupés ». À cette étape, il a été question de couper le tissu de manière à lui donner une épaisseur inférieure à celle des cassettes de déshydratation. Les tissus coupés ont été déposés dans des cassettes étiquetées et ont été plongés pendant 1 heure, dans un premier bain d'alcool 70°, première étape du processus de déshydratation.

c) Déshydratation

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

- **Déshydratation proprement dite**

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

- **Eclaircissement**

L'éclaircissement a consisté à remplacer la solution de déshydratation qui est l'alcool par le xylène qui est un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. Les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène consécutifs. Un premier bain de 1 h et un deuxième bain de 1 h 30 min.

- **Imprégnation**

Cette étape a consisté à introduire les organes dans un bain de paraffine en fusion pendant 4 h 30 min dans la station d'enrobage de marque Microm Heidelberg. Après cette dernière étape de la déshydratation fait suivre l'inclusion.

d) Inclusion

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

e) Coupe

La coupe des blocs de paraffine contenant les tissus a été réalisée à l'aide d'un microtome de marque Reichert-Jung 2030. L'épaisseur des rubans après coupe était de 5 µm. Une fois coupées, les sections de rubans ont été mises à déplier dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée à environ 45 °C. Elles ont été récupérées sur des lames de verre étiquetées et séchées à l'étuve à 45 °C, pendant 24 heures avant coloration.

f) Coloration

La coloration a pour but de mettre en évidence les différents éléments tissulaires et de les différencier entre eux afin de permettre l'étude de leur structure, de leur morphologie et des éventuelles modifications pathologiques. Avant l'étape de la coloration, les coupes ont d'abord été déparaffinées. Le protocole de déparaffinage est consigné dans le Tableau XXI. Immédiatement après l'étape de déparaffinage, les lames portant les coupes de tissus ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Les étapes de cette coloration sont résumées dans le Tableau XXII.

Tableau XXI: Protocole d'une batterie de déparaffinage

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

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

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

g) Montage

L'étape de montage entre lame et lamelle a directement suivi la coloration. Pour ce faire, quelques gouttes de résine synthétique de marque Eukit ont été déposées sur la lame portant la coupe colorée avant apposition d'une lamelle. Les coupes de tissus sur les lames ont ainsi été protégées et conservées. Les lames colorées à l'hématoxyline et à l'éosine puis montées ont été observées à différents grossissement, à l'aide d'un microscope optique de marque Scientico STM-50 muni d'une caméra digitale de marque Celestron 44421 connectée à un ordinateur pour la prise des microphotographies. A l'aide du logiciel image J version 1.520, les images d'aortes obtenues ont été utilisées pour la mesure de la taille de la média. Pour ce faire, treize mesures ont été effectuées par animal. La moyenne tous les comptages du lot a représenté l'épaisseur de la média du lot.

II.2.12 Analyses statistiques des résultats

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm Erreur Standard sur la Moyenne (ESM). L'analyse statistique a été faite à partir du logiciel GraphPad Prism version 8.0.1 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Les moyennes ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA), suivi du post-test de Tukey. Pour l'analyse de deux distributions, le test t de student a été utilisée. Les différences étaient considérées comme significatives à $p < 0,05$.

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Résultats

III.1.1 Composition phytochimique et activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

III.1.1.1 Phytochimie de l'extrait

❖ Phytochimie qualitative

L'analyse phytochimique qualitative de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* a permis de mettre en évidence les flavonoïdes, les alcaloïdes, les quinones, les saponines, les stéroïdes, les triterpènes, les glycosides et les phénols. Les anthocyanes et les tanins étaient absents dans cet extrait (Tableau XXIII).

Tableau XXIII: Groupes de composés identifiés dans l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

Groupes de composés	<i>Bidens pilosa</i> + <i>Cymbopogon citratus</i>
Flavonoïdes	+
Tanins	-
Alcaloïdes	+
Quinones	+
Saponines	+
Stéroïdes	+
Triterpènes	+
Glycosides cardiaques	+
Phénols	+
Anthocyanes	-

+ : présent ; - : absent

❖ Phytochimie quantitative

L'analyse phytochimique quantitative de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* et des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* a permis de quantifier les polyphénols et les flavonoïdes. Il ressort du Tableaux XXIV que le taux en composés phénoliques de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (922,71 mg Eq acide gallique/g d'extrait) était significativement ($p < 0,001$) supérieur à ceux des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* (respectivement 324,58 et de 223,56 mg Eq acide gallique/g d'extrait). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a

présenté également un taux en flavonoïdes (42,85 mg Eq quercetine/g d'extrait) significativement ($p < 0,001$) supérieur à ceux des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* (respectivement 7,88 et de 7,63 mg Eq quercetine/g d'extrait).

Tableau XXIV: Taux de polyphénols et de flavonoïdes de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* et des extraits aqueux de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

	Polyphénols totaux	Flavonoïdes totaux
	mg Eq acide gallique/g d'extrait	mg Eq quercetine/g d'extrait
<i>B. pilosa</i> + <i>C. citratus</i>	922,71 ± 3,22 ^{γz}	42,85 ± 2,20 ^{γz}
<i>B. pilosa</i>	324,58 ± 1,02	7,88 ± 0,06
<i>C. citratus</i>	223,56 ± 1,22	7,63 ± 0,05

Chaque valeur représente la moyenne de 3 dosages ± ESM. Eq : Equivalent. γ $p < 0,001$: différence significative par rapport à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport à l'extrait aqueux de *B. pilosa*.

III.1.1.3 Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

La concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) qui correspond à la concentration nécessaire pour piéger 50 % de radicaux libres a été déterminée à partir des tests du DPPH et de l'ABTS (Tableau XXV). Dans le test de l'ABTS, la CI₅₀ de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (38,86 µg/mL) était significativement ($p < 0,05$) inférieure à celle de l'extrait aqueux de *C. citratus* (52,31 µg/mL). Dans le test du DPPH la CI₅₀ de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (54,15 µg/mL) était significativement inférieure à celle des extraits aqueux de *B. pilosa* (66,10 µg/mL ; $p < 0,01$) et de *C. citratus* (92,30 µg/mL ; $p < 0,001$). Dans le test du FRAP la CE₅₀ de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (9,49 µg/mL) était significativement ($p < 0,001$) inférieure à celle des extraits aqueux de *C. citratus* (90,43 µg/mL) et de *Bidens pilosa* (121,60 µg/mL) (Tableau XXV).

Tableau XXV: Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* avec le DPPH, l'ABTS et le FRAP

	Concentration inhibitrice 50 (CI ₅₀)		Concentration efficace 50 (CE ₅₀)
	ABTS	DPPH	FRAP
<i>B. pilosa</i> + <i>C. citratus</i> (µg/mL)	38,86 ± 0,97 ^α	54,15 ± 0,67 ^{γy}	9,49 ± 0,98 ^{γz}
<i>B. pilosa</i> (µg/mL)	41,50 ± 0,30	66,10 ± 0,56	121,60 ± 0,89
<i>C. citratus</i> (µg/mL)	52,31 ± 0,34	92,30 ± 0,77	90,43 ± 1,12
Acide gallique (µg/mL)	32,96 ± 1,20	5,08 ± 0,71	8,25 ± 1,32

Chaque valeur représente la concentration inhibitrice (CI₅₀) ou la concentration efficace 50 (CE₅₀) exprimée en moyenne de 3 dosages ± ESM, α p < 0,05 ; γ p < 0,001: différence significative par rapport à l'extrait aqueux de *C. citratus*, y p < 0,01 ; z p < 0,001: différence significative par rapport à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. ABTS : acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique), DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle, FRAP : "Ferric reducing-antioxidant power".

III.1.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle des rats normotendus

L'injection intraveineuse (i. v.) de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a provoqué une baisse immédiate et significative de la pression artérielle moyenne (PAM) des rats normotendus à la dose de 10 mg/kg de 28,48 % (p < 0,05) (Figure 18E). Cette baisse immédiate de la PAM a été suivie d'une remontée vers la valeur initiale. A cette même dose de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, la PAM est redescendue progressivement à une valeur inférieure à la PAM avant injection. La baisse tardive a commencé à être stable et significative (p < 0,05) de la 30^e minute à la 50^e minute après injection de l'extrait. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (20 mg/kg) a provoqué une baisse immédiate non significative et une baisse tardive (50^e et 60^e minute) significative (p < 0,05) de la PAM par rapport à la valeur initiale.

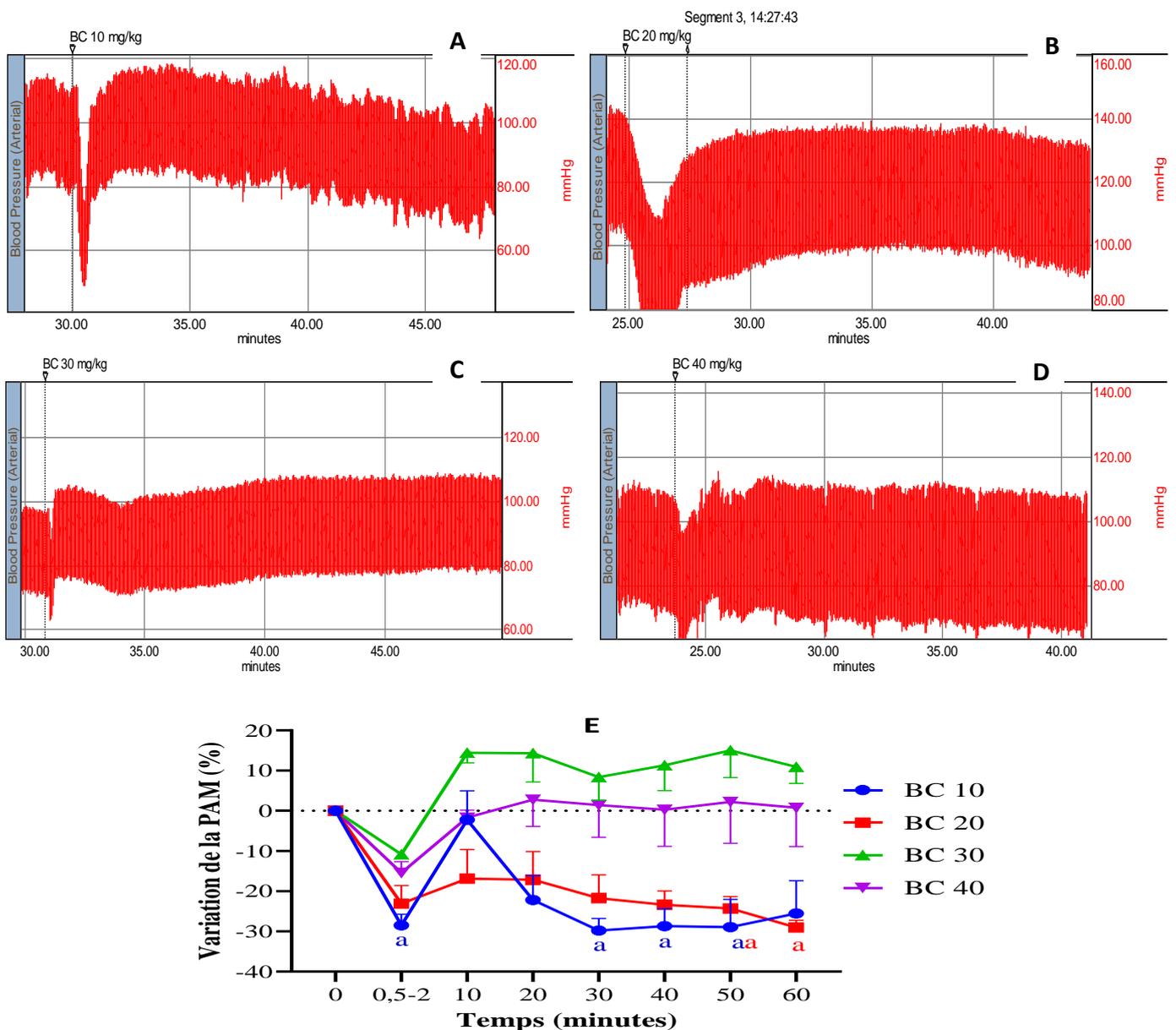


Figure 18: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle des rats normotendus.

Chaque point représente le pourcentage moyen \pm ESM, $n = 5$. $a, p < 0,05$ différence significative par rapport à la valeur initiale. BC 10, BC 20, BC 30 et BC 40 : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 10, 20, 30 et de 40 mg/kg. A, B, C, D : Effet de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (10, 20, 30 et 40 mg/kg) sur la variation de la pression artérielle. E : pression artérielle moyenne des rats.

III.1.3 Effets de quelques substances pharmacologiques de références sur l'activité hypotensive de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

La Figure 19 présente les enregistrements originaux montrant les effets de quelques substances pharmacologiques (l'atropine, de la L-NAME, de la yohimbine, de l'indométacine ou du propranolol) de références sur l'activité hypotensive de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*.

Le prétraitement des rats normotendus à l'atropine (1 mg/kg) antagoniste des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine, a significativement ($p < 0,05$; 54,48 %) réduit les effets hypotenseurs immédiats de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* obtenus à la dose de 10 mg/kg (Figure 20A). Au bout de 60 minutes, la baisse tardive obtenue avec l'extrait a été significativement ($p < 0,05$) inhibée de 65,10 %.

Le prétraitement des rats normotendus à la L-NAME (5 mg/kg) inhibiteur du monoxyde d'azote, a significativement ($p < 0,05$; 53,88 %) réduit les effets hypotenseurs immédiats de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* obtenus à la dose de 10 mg/kg (Figure 20B). A la 60^e minute, la baisse tardive obtenue avec l'extrait a été significativement ($p < 0,01$) inhibée de 89,07 %.

Le prétraitement des rats normotendus à la yohimbine (1 mg/kg), antagoniste des récepteurs α_2 -Adrénérique, a inhibé de 34,10 % et de façon non significative les effets hypotenseurs immédiats de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (10 mg/kg) (Figure 20C). A la 60^e minute, la baisse tardive obtenue avec l'extrait a été significativement ($p < 0,05$) inhibée de 70,00 %.

Le prétraitement des rats normotendus au propranolol (100 μ g/kg ; Figure 20D) antagoniste des récepteurs β -Adrénérique ou à l'indométacine (5 mg/kg ; Figure 20E) inhibiteur de la synthèse de la prostacycline (PGI₂) a inhibé respectivement de 22,68 % et de 20,38 % et de façon non significative les effets hypotenseurs immédiats de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* obtenus à la dose de 10 mg/kg.

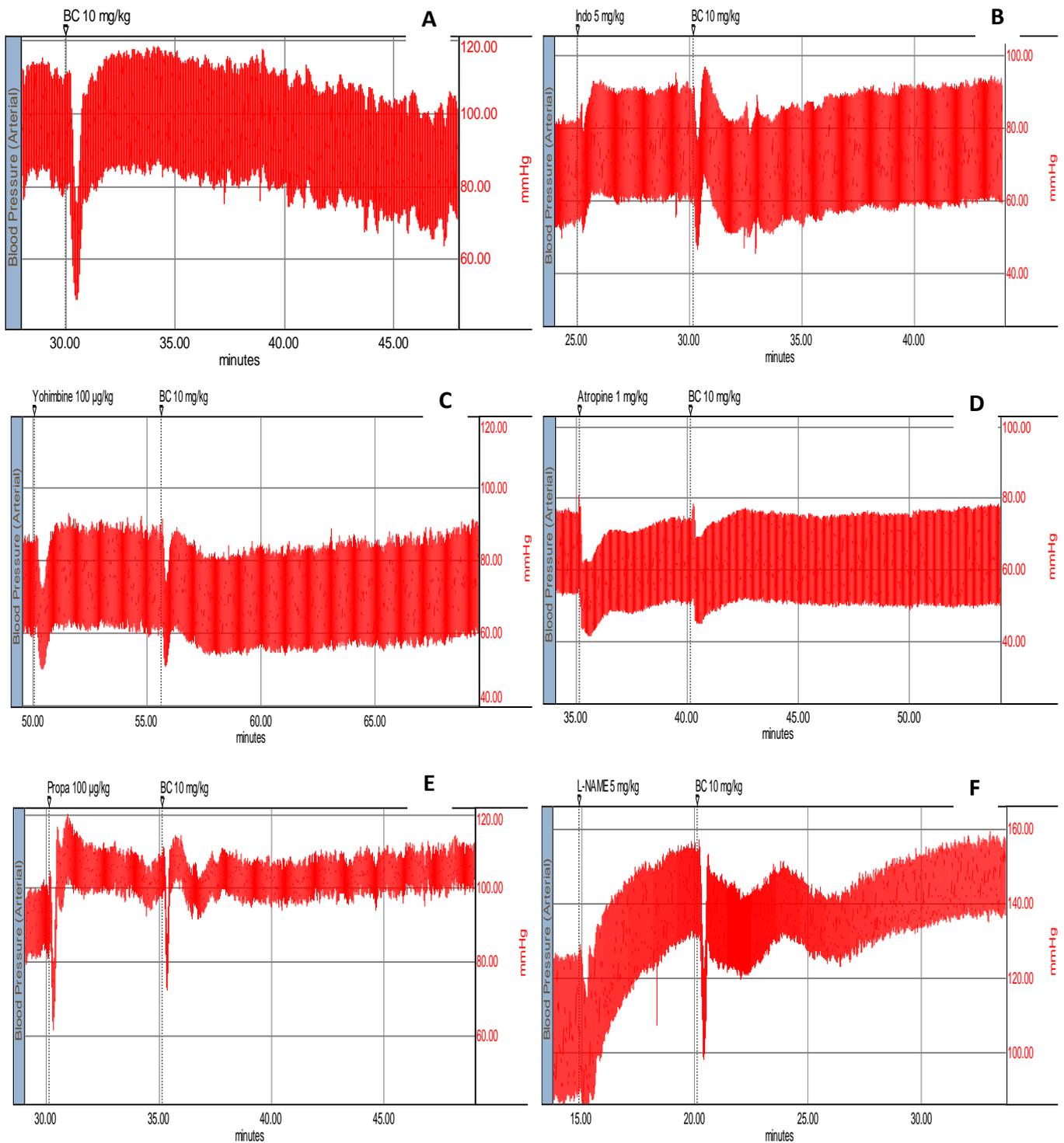


Figure 19: Enregistrements originaux montrant les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (10 mg/kg (A)) et en présence de l'indométacine (B), de la yohimbine (C), de l'atropine (D), du propranolol (E) ou de la L-NAME (F) sur l'activité hypotensive de cet extrait.

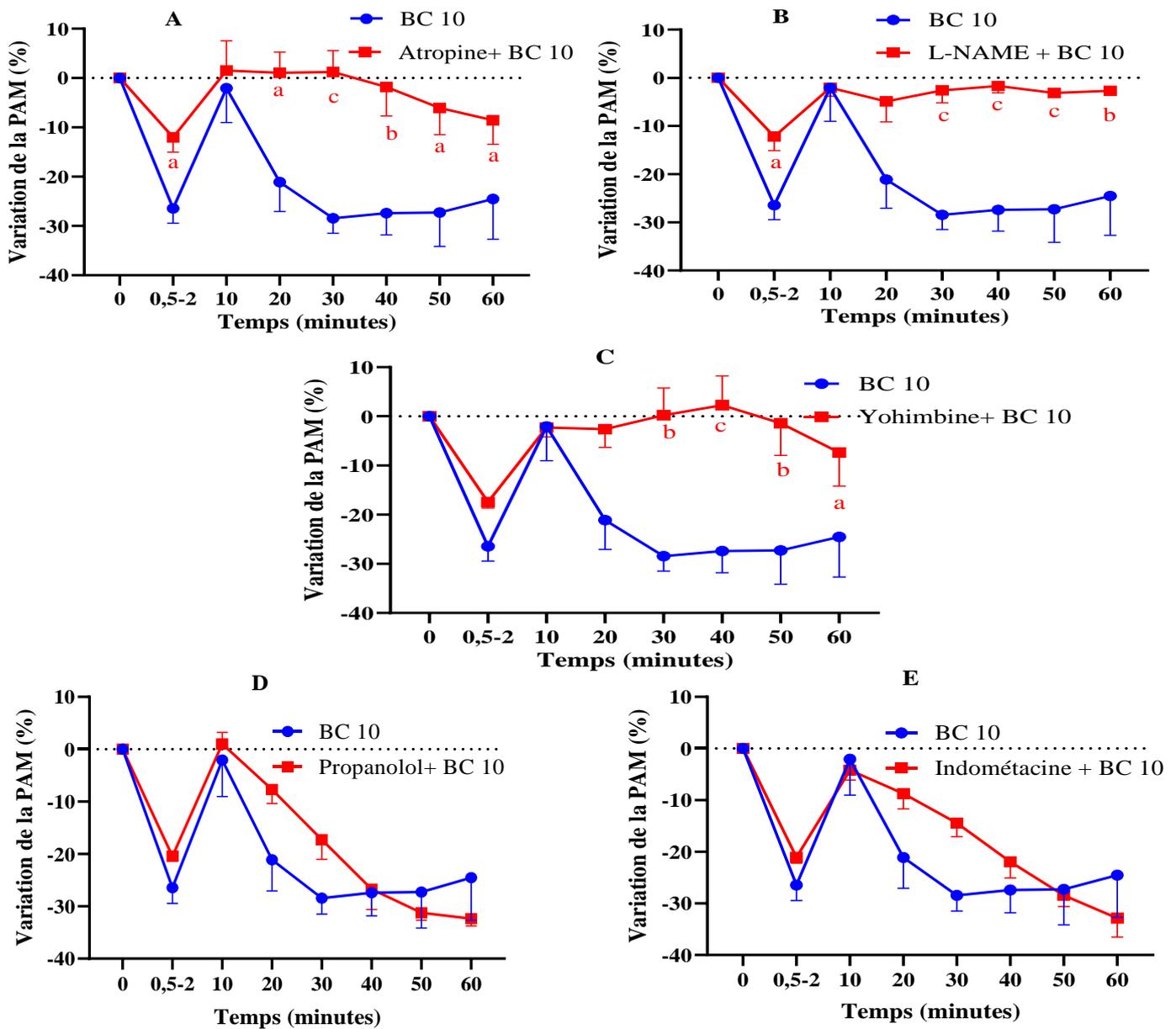


Figure 20: Effets de l'atropine (A), la L-NAME (B), la yohimbine (C), le propranolol (D) ou l'indométacine (E) sur l'activité hypotensive de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*.

Chaque point représente le pourcentage moyen \pm ESM, n = 5. a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport à l'effet de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, BC 10 : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (10 mg/kg).

III.1.4 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la diurèse des rats normaux

La Figure 21 représente l'évolution du volume urinaire cumulé pendant 24h. Dès la 6^e heure, le furosémide (15 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du volume urinaire comparativement aux rats ayant reçu l'eau distillée. L'extrait aqueux du

mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (200 mg/kg) a entraîné à la 24^e heure une augmentation significative ($p < 0,05$) du volume urinaire comparativement aux rats ayant reçu l'eau distillée. L'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,01$) du volume urinaire excrété à la 6^e et à la 24^e heure comparativement aux rats ayant reçu l'eau distillée.

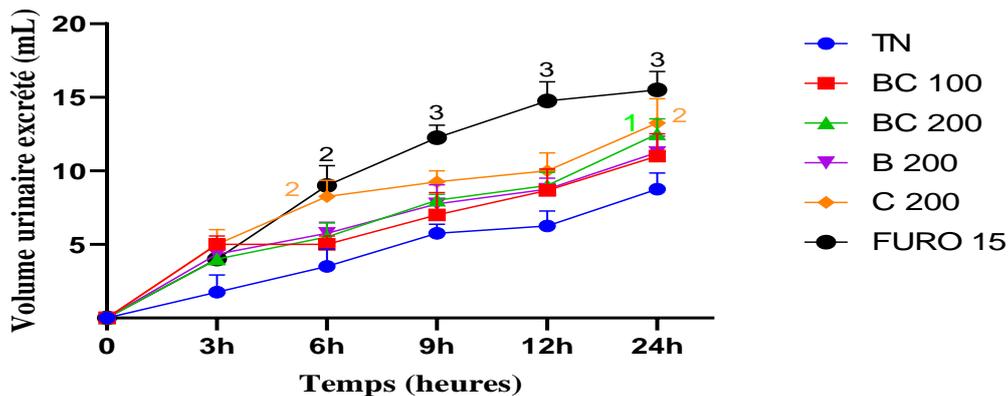


Figure 21: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le volume urinaire excrété des rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$, 2 $p < 0,01$, 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu l'eau distillée. TN : rats recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats recevant de l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 100 et de 200 mg/kg, FURO 15 : rats recevant le furosémide à la dose de 15 mg/kg, B 200 : *B. pilosa* à la dose 200 mg/kg et C 200 : *C. citratus* à la dose 200 mg/kg.

III.1.5 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement curatif de l'hypertension artérielle essentielle (hypertension artérielle à la L-NAME)

III.1.5.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les prises alimentaire et hydrique et l'excrétion urinaire des rats rendus hypertendus à la L-NAME

La Figure 22 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les prises alimentaire et hydrique et l'excrétion urinaire des rats rendus hypertendus à la L-NAME. Chez les rats hypertendus ayant été sacrifiés soit à la fin de l'induction ou du traitement, il a été observé une augmentation significative de la quantité d'eau consommée ($p < 0,01$), du volume urinaire ($p < 0,001$) et une diminution de la quantité d'aliment consommée ($p < 0,01$) en comparaison aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 200 mg/kg et le captopril ont entraîné chez les rats hypertendus une diminution significative de la quantité d'eau consommée ($p < 0,05$), et

une augmentation de la quantité d'aliment consommée ($p < 0,05$) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du volume urinaire par rapport aux rats hypertendus.

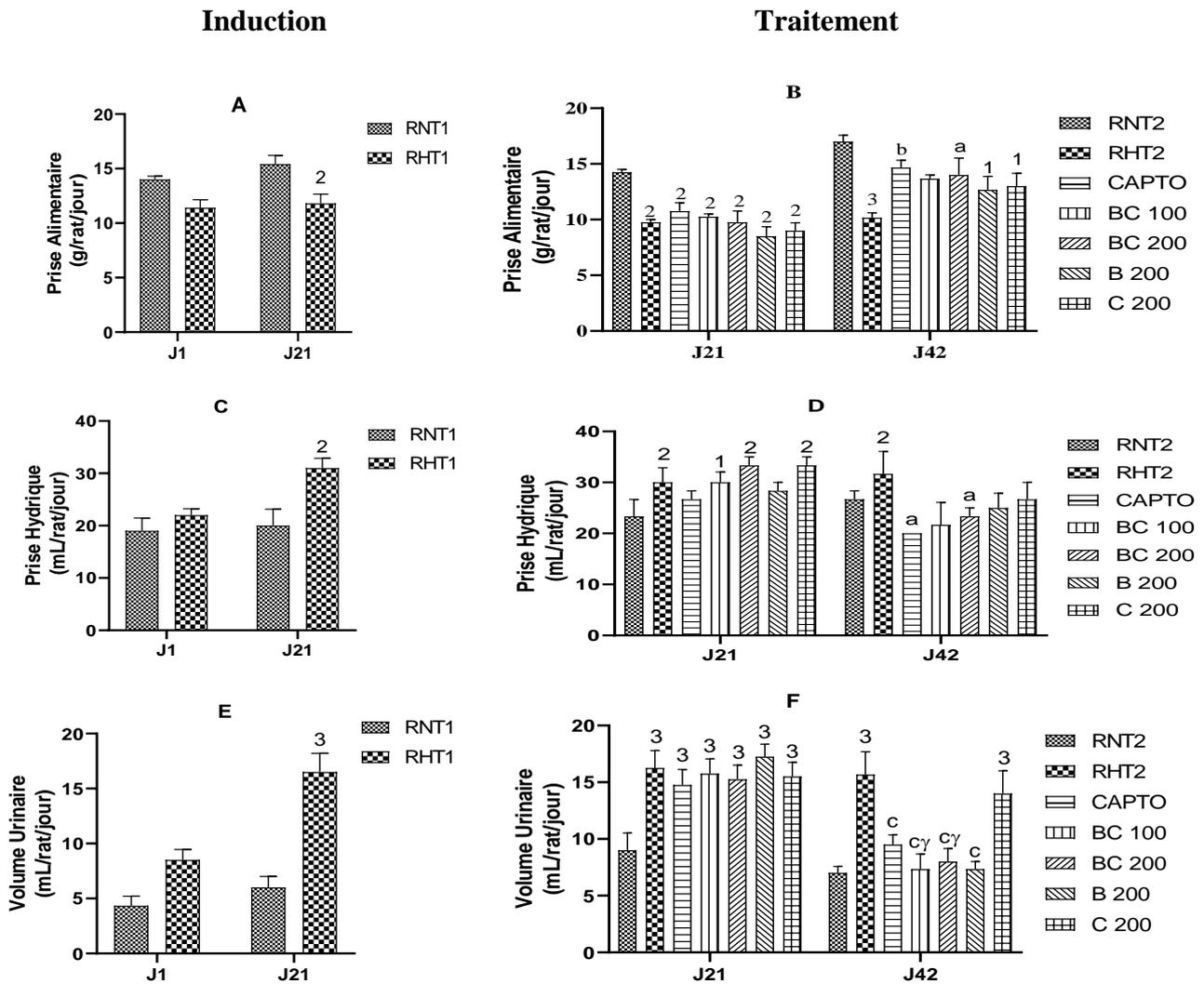


Figure 22: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur la prise alimentaire, la prise hydrique et l'excrétion urinaire des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus, γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats rendus hypertendus à la L-NAME

La Figure 23 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats rendus hypertendus à la L-NAME. Il en ressort que dès la 2^e semaine, la L-NAME a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) du gain pondéral qui a été maintenu jusqu'à la fin de l'induction. Au cours du traitement, c'est à partir de la 2^e semaine de traitement (S5) que l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du gain pondéral par rapport à ceux des rats hypertendus.

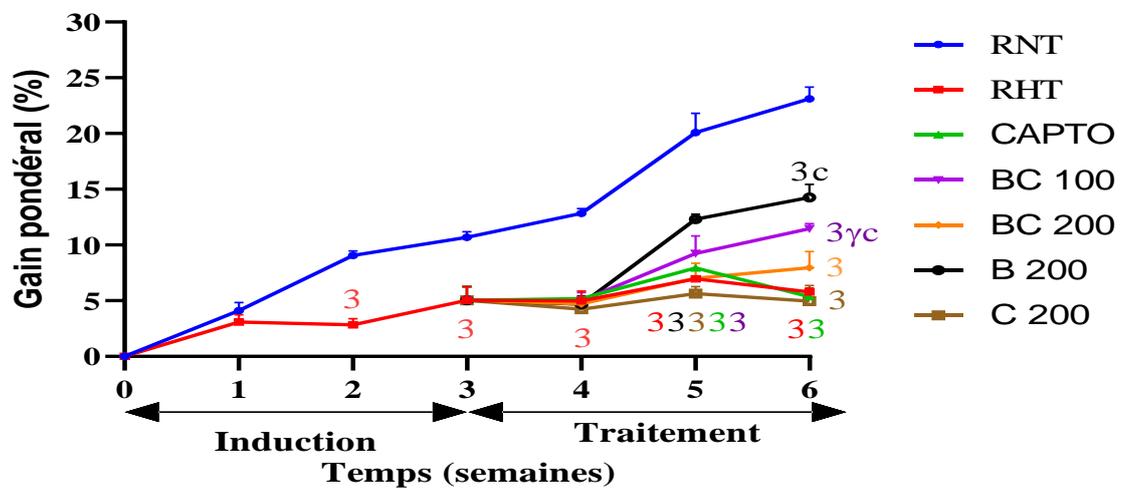


Figure 23: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus, c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus, γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*. RNT : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.3 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats hypertendus à la L-NAME

L'administration de L-NAME aux rats normotendus a entraîné au bout de 3 semaines une augmentation significative ($p < 0,001$) de la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) (Figure 24A). Cette augmentation était respectivement de 43,19 %, 43,59 % et de 47,10 % par rapport aux rats normotendus. L'administration de la L-NAME pendant 21 jours supplémentaire (Figure 24B) a maintenu l'augmentation significative de la PAS, la PAD et la PAM respectivement de 43,20 %, 44,66 %, et de 44,05 % par rapport aux rats normotendus. Chez les rats hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), au captopril (20 mg/kg) ou aux extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) il a été observé une diminution significative ($p < 0,001$) de la PAS respectivement de 24,89 %, 24,83 %, 22,99 %, 25,31 % et de 24,60 % comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de la PAD respectivement de 33,99 %, 28,01 %, 31,50 %, 26,52 % et de 30,47 % comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont également entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de la PAM respectivement de 30,31 %, 26,73 %, 28,07 %, 25,27 % et de 27,35 % comparativement aux rats hypertendus. Chez tous les groupes, aucune différence significative n'a été observée sur la fréquence cardiaque.

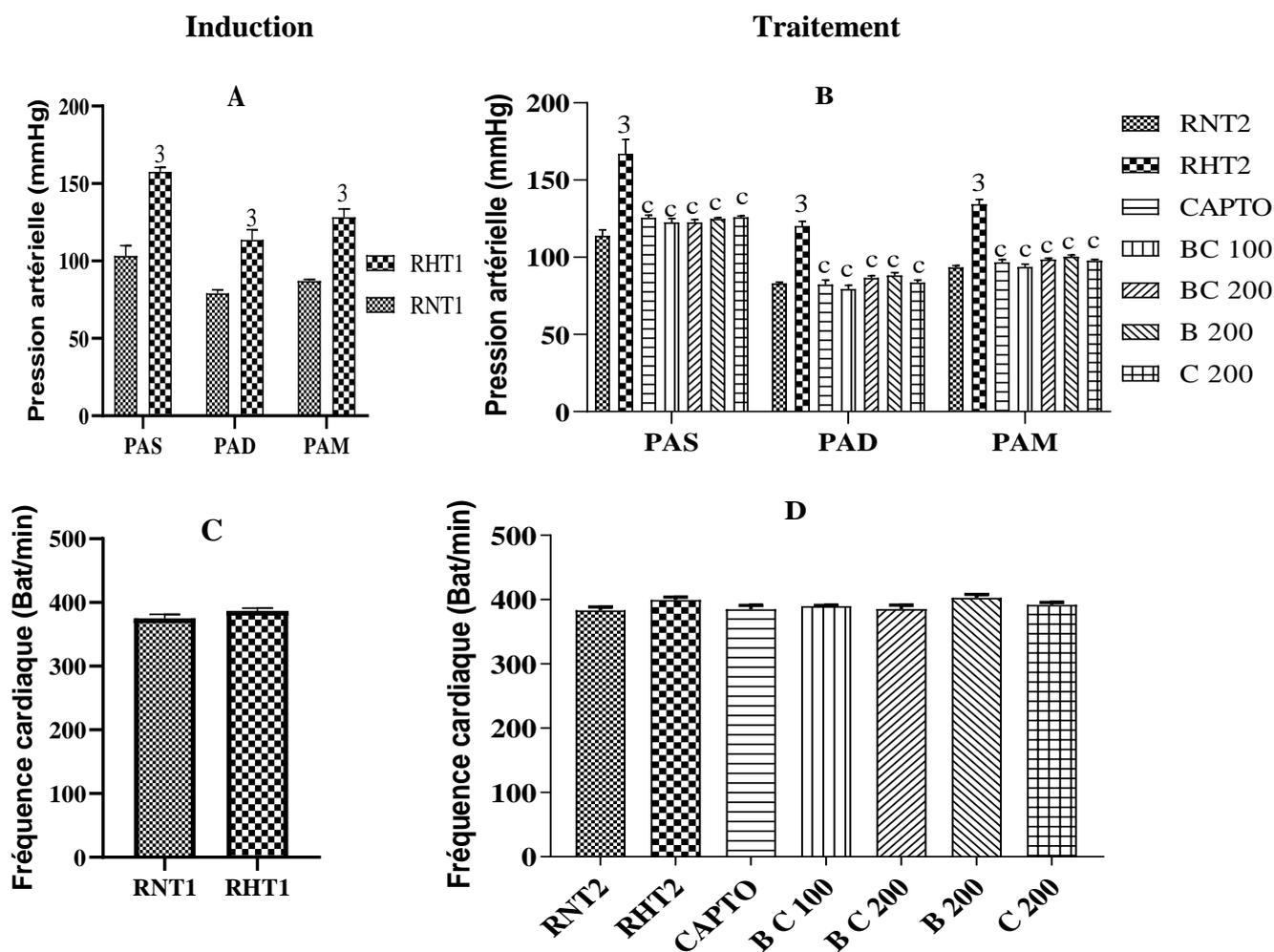


Figure 24: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.4 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le profil lipidique des rats rendus hypertendus à la L-NAME

L'administration pendant 3 semaines de la L-NAME aux rats (RHT1) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de cholestérol total (CT), des triglycérides (TG), de LDL-cholestérol (LDL-Chol) et de VLDL-cholestérol (VLDL-Chol) ainsi qu'une diminution du taux de HDL-cholestérol (HDL-Chol) (Tableau XXVI) en comparaison aux rats normaux. L'administration de L-NAME pendant 21 jours supplémentaires a maintenu l'altération du profil lipidique en comparaison aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative du taux de CT respectivement de 43,53 % ($p < 0,001$), 32,23 % ($p < 0,01$), 44,70 % ($p < 0,001$), 38,75 % ($p < 0,001$) et de 39,71 % ($p < 0,001$) comparativement aux rats hypertendus. De même, ces substances ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de TG respectivement de 41,68 %, 30,48 %, 28,42 %, 32,69 %, et de 39,66 % comparativement aux rats hypertendus. Ces substances ont aussi entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de VLDL-Chol respectivement de 41,68 %, 30,47 %, 28,43 %, 32,70 %, et de 39,64 % par rapport aux rats hypertendus. Les différents traitements ont également entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de LDL-Chol respectivement de 86,40 %, 68,49 %, 96,81 %, 91,94 % et de 76,90 % comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du taux de HDL-Chol respectivement de 10,78 % ($p < 0,05$), 13,65 % ($p < 0,01$), 15,87 % ($p < 0,01$) et de 27,17 % ($p < 0,001$) comparativement aux rats hypertendus.

Tableau XXVI: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le profil lipidique des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Après induction			Après traitement						
Paramètres	RNT1	RHT1	RNT2	RHT2	CAPTO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
CT	67,44	86,29	65,94	108,20	59,83	61,10	73,33	66,27	65,23
(mg/dL)	±5,10	±6,87 ³	±5,40	±7,50 ³	±3,60 ^c	±2,67 ^c	±7,20 ^b	±6,39 ^c	±4,17 ^c
TG	50,34	70,76	49,96	78,47	56,17	45,76	54,55	52,82	47,35
(mg/dL)	±2,75	±4,26 ³	±1,57	±3,83 ³	±1,04 ^c	±3,78 ^c	±3,32 ^c	±3,18 ^c	±2,35 ^c
HDL-Chol	47,20	38,15	46,98	40,51	46,94	44,88	46,04	51,52	43,75
(mg/dL)	±2,68	±2,17 ³	±0,96	±1,40 ²	±1,30 ^b	±0,86 ^a	±0,96 ^b	±1,84 ^c	±0,87
LDL-Chol	10,17	33,98	8,96	51,99	1,60	7,07	16,38	4,60	12,01
(mg/dL)	±2,32	±3,06 ³	±1,64 ^c	±2,32 ³	±0,23 ^{3c}	±2,18 ^c	±1,53 ^{3c}	±1,01 ^{3c}	±1,56 ^c
VLDL-Chol	10,07	14,15	9,99	15,69	11,23	9,15	10,91	10,56	9,47
(mg/dL)	±0,21	±0,10 ³	±0,45	±0,29 ³	±0,18 ^c	±0,20 ^c	±0,24 ^c	±0,12 ^c	±0,15 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. CT : Cholestérol total, LDL-Chol : LDL-cholestérol, HDL-Chol : HDL-cholestérol, TG : Triglycérides, VLDL-Chol : VLDL-cholestérol, RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.5 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Le Tableau XXVII présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes. Chez les rats hypertendus ayant été sacrifiés à la fin de l'induction (3^e semaine) et à la fin du traitement (6^e semaine), il a été observé une augmentation significative (p < 0,001) des taux du ratio risques cardiaques (RRC) et du coefficient athérogène (CA) en comparaison aux rats normaux. Chez les animaux hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) il a été observé une diminution significative (p < 0,001) du RRC, et du CA en comparaison aux rats hypertendus. Le traitement aux extraits aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) et de *B. pilosa* (200 mg/kg) a entraîné une diminution significative (p < 0,001) des taux de RRC et de CA en

comparaison aux rats hypertendus. Le captopril (20 mg/kg) a également entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) des taux du RRC et du CA par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a ramené les valeurs des indices athérogènes à des valeurs proches de celles des rats normaux. Chez les animaux hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) le CA était significativement ($p < 0,05$) inférieur à celui des rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) a augmenté significativement ($p < 0,05$) le taux du CA par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

Tableau XXVII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Après induction			Après traitement						
Indices athérogènes	RNT1	RHT1	RNT2	RHT2	CAPTO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
RRC	1,44 ±0,01	2,26 ±0,16 ³	1,40 ±0,62	2,67 ±0,36 ³	1,27 ±0,67 ^c	1,36 ±0,10 ^c	1,59 ±0,50 ^c	1,29 ±0,47 ^c	1,49 ±0,77 ^c
CA	0,42 ±0,04	1,29 ±0,34 ³	0,38 ±0,62	1,60 ±0,35 ³	0,29 ±0,76 ^c	0,34 ±0,10 ^{ac}	0,57 ±0,25 ^{xc}	0,31 ±0,12 ^c	0,50 ±0,33 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus, c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus, α $p < 0,05$: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x $p < 0,05$: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RRC: Ratio risque cardiaque, CA: Coefficient athérogène, RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.6 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Le Tableau XXVIII montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique. Il en ressort une augmentation significative des activités de l'ASAT ($p < 0,01$), de l'ALAT ($p < 0,01$) et des concentrations de la bilirubine ($p < 0,001$) et d'albumine ($p < 0,05$) chez les rats hypertendus (RHT1) sacrifiés à la fin de l'induction de l'HTA par rapport aux rats normaux. A la fin du traitement, il a été observé chez les rats hypertendus (RHT2) une augmentation significative des activités de l'ASAT ($p < 0,01$) et de l'ALAT ($p < 0,01$) et des concentrations de la bilirubine ($p < 0,001$) et de l'albumine ($p < 0,01$) par rapport aux rats normaux. L'administration de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), du captopril (20 mg/kg) ou des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) a entraîné une diminution significative ($p < 0,01$; $p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$ et $p < 0,001$ respectivement) de l'activité de l'ALAT par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,01$) de l'activité de l'ASAT par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significativement ($p < 0,001$), du taux de bilirubine totale par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (200 mg/kg) et le captopril ont entraîné une diminution significative ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) du taux d'albumine sérique par rapport aux rats hypertendus. Le taux de bilirubine des rats hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) était significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui des rats hypertendus traités aux extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg).

Tableau XXVIII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la fonction hépatique des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Après induction			Après traitement						
Paramètres	RNT1	RHT1	RNT2	RHT2	CAPTO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
ALAT	19,57	31,26	20,06	29,20	21,84	21,39	17,82	22,82	20,56
(U/L)	±1,58	±2,79 ²	±0,67	±2,09 ²	±0,87 ^b	±0,65 ^b	±1,44 ^c	±1,34 ^a	±0,97 ^c
ASAT	59,36	88,24	64,02	88,13	69,37	60,87	63,74	67,11	70,83
(U/L)	±5,04	±4,95 ²	±5,72	±7,45 ²	±0,69	±2,99 ^b	±2,55 ^b	±4,12 ^b	±1,73
Albumine	1,28	1,66	1,32	1,70	1,37	1,52	1,34	1,43	1,56
(mg/dL)	±0,05	±0,04 ³	±0,06	±0,09 ²	±0,04 ^a	±0,06	±0,09 ^b	±0,04	±0,03
Bilirubine	0,17	1,05	0,10	0,76	0,69	0,10	0,12	0,34	0,26
(mg/dL)	±0,02	±0,06 ³	±0,01	±0,06 ³	±0,03 ³	±0,01 ^{βyc}	±0,03 ^{βyc}	±0,10 ^{2c}	±0,08 ^{2c}

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus, β p < 0,01 : différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, y p < 0,01 : différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.7 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale des rats rendus hypertendus à la L-NAME

III.1.5.7.1 Effets du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les paramètres sériques de la fonction rénale

Le Tableau XXIX présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale au niveau sérique. Il en ressort une augmentation significative ($p < 0,001$) de la créatininémie de 55,14 %, de l'urémie de 62,04 % et du taux d'acide urique sérique de 132,67 % chez les rats hypertendus sacrifiés à la fin de l'induction (RHT1) par rapport aux rats normaux. Chez les rats hypertendus sacrifiés à la fin du traitement (RHT2) il a été observé une augmentation significative de la créatininémie de 37,74 % ($p < 0,001$), de l'urémie de 70,83 % ($p < 0,01$) et de l'uricémie de 50,00 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats normotendus. Il a été observé chez les groupes RHT1 et RHT2 une diminution du débit de filtration glomérulaire ($p < 0,01$) par rapport aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative du taux de créatinine respectivement de 26,03 % ($p < 0,001$), 23,97 % ($p < 0,01$), 21,92 % ($p < 0,01$), 15,75 % ($p < 0,05$) et de 11,64 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. Ces substances ont aussi entraîné une diminution significative du taux d'urée respectivement de 42,69 % ($p < 0,001$), 32,57 % ($p < 0,001$), 38,34 % ($p < 0,001$), 39,44 % ($p < 0,001$) et de 67,45 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. De même, ces substances ont entraîné une diminution significative du taux d'acide urique respectivement de 46,04 % ($p < 0,001$), 54,60 % ($p < 0,001$), 27,63 % ($p < 0,05$), 48,25 % ($p < 0,001$) et de 51,62 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Il a été observé chez les rats hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ou au captopril une augmentation significative ($p < 0,05$) du débit de filtration glomérulaire respectivement de 50,00 % et de 41,67 % par rapport aux RHT. Chez les RHT traités à l'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg) les taux de créatinine, d'urée et d'acide urique ont été ramenés au même niveau que celui des rats normaux. Le taux de créatinine des RHT traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) était significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui des rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa* ou de *C. citratus*. Chez les RHT traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) le débit de filtration glomérulaire était significativement ($p < 0,05$) supérieur à celui des RHT traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

Chez les rats hypertendus (RHT1 et RHT2) il a été observé une réduction significative des taux de magnésium respectivement de 42,18 % ($p < 0,001$) et de 45,58 % ($p < 0,001$) et une augmentation significative des taux de sodium respectivement de 65,56 % ($p < 0,001$) et de 46,57 % ($p < 0,001$) et de potassium de l'ordre respectif de 30,67 % ($p < 0,05$) et de 37,05 % ($p < 0,001$) en comparaison aux rats normotendus. Il a été observé chez les RHT2 une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de calcium en comparaison aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de magnésium respectivement de 94,59 %, 86,48 %, 94,59 % et de 86,48 % comparativement aux RHT. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de calcium respectivement de 66,32 %, 43,88 %, 52,04 %, 34,69 % et de 42,85 % comparativement aux RHT. Ces substances ont aussi entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de potassium respectivement de 20,15 %, 43,88 %, 17,27 %, 19,64 % et de 15,14 % comparativement aux RHT. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), le captopril et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une réduction significative du taux de sodium respectivement de 27,67 % ($p < 0,001$), 22,23 % ($p < 0,01$) et de 21,86 % ($p < 0,01$) comparativement aux RHT. Chez les RHT traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) le taux de calcium était significativement ($p < 0,05$) inférieur à celui des RHT traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ou de *C. citratus* (200 mg/kg).

Tableau XXIX: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les paramètres sériques de la fonction rénale des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Après induction			Après traitement						
Paramètres	RNT1	RHT1	RNT2	RHT2	CAPTO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
Créatinine (mg/dL)	0,93 ±0,02	1,45 ±0,10 ³	1,06 ±0,02	1,46 ±0,11 ³	1,14 ±0,01 ^b	1,08 ±0,08 ^{βyc}	1,11 ±0,03 ^b	1,23 ±0,11 ^{2a}	1,29 ±0,09 ^{2a}
DFG (mL/min)	0,09 ±0,01	0,04 ±0,01 ²	0,20 ±0,01	0,12 ±0,02 ²	0,17 ±0,02 ^a	0,18 ±0,01 ^{xa}	0,14 ±0,02	0,10 ±0,02 ²	0,16 ±0,02
Urée (mg/dL)	35,62 ±2,02	57,72 ±3,04 ³	35,24 ±1,30	60,20 ±3,98 ²	37,12 ±1,91 ^c	34,50 ±1,55 ^c	40,59 ±0,68 ^c	36,46 ±0,93 ^c	38,25 ±0,81 ^c
Acide urique (mg/dL)	4,07 ±0,34	9,47 ±0,33 ³	5,14 ±0,64	7,71 ±0,40 ³	5,58 ±0,31 ^a	4,16 ±0,19 ^c	3,50 ±0,23 ^c	3,99 ±0,38 ^c	3,73 ±0,41 ^c
Mg²⁺ (mmol/L)	0,64 ±0,04	0,37 ±0,03 ³	0,68 ±0,37	0,37 ±0,03 ³	0,45 ±0,05	0,72 ±0,04 ^c	0,69 ±0,02 ^c	0,72 ±0,02 ^c	0,69 ±0,02 ^c
Ca²⁺ (mmol/L)	0,66 ±0,03	0,72 ±0,07	0,59 ±0,02	0,98 ±0,13 ³	0,47 ±0,04 ^c	0,55 ±0,05 ^c	0,33 ±0,03 ^{βyc}	0,64 ±0,05 ^b	0,56 ±0,03 ^c
Na⁺ (mmol/L)	79,00 ±4,00	130,80 ±6,03 ³	84,22 ±0,21	123,44 ±7,59 ³	95,99 ±1,80 ^b	89,29 ±8,14 ^c	104,00 ±1,53	106,80 ±6,80 ¹	96,46 ±1,32 ^b
K⁺ (mmol/L)	5,77 ±2,71	7,54 ±0,38 ¹	5,83 ±0,32	7,99 ±0,37 ³	6,42 ±0,05 ^c	6,38 ±0,18 ^c	6,61 ±0,13 ^c	6,37 ±0,08 ^c	6,78 ±0,14 ^{1b}

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus, β p < 0,01 : différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x p < 0,05 ; y p < 0,01 : différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. DFG : débit de filtration glomérulaire, RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.7.2 Effets du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les paramètres urinaires de la fonction rénale

Au niveau urinaire, il a été observé chez les rats hypertendus (RHT1 et RHT2) une diminution significative ($p < 0,001$ et $p < 0,01$) des taux de créatinine et d'urée ainsi qu'une diminution significative ($p < 0,001$) des taux de sodium et de potassium en comparaison aux animaux normotendus (Tableau XXX). L'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) le captopril et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$ et $p < 0,05$ respectivement) des taux de créatinine en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg) et le captopril ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux sodium en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) le captopril et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de potassium en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de créatinine significativement ($p < 0,05$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu également un taux de potassium significativement ($p < 0,05$) supérieur à celui de l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg). Chez les rats hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) le taux de sodium était significativement ($p < 0,001$) supérieur à ceux des rats hypertendus traités aux extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg). Les différents traitements n'ont entraîné aucune variation significative des taux d'acide urique, d'urée, de calcium et de magnésium.

Tableau XXX: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les paramètres urinaires de la fonction rénale des rats rendus hypertendus à la L-NAME

Après induction			Après traitement						
Paramètres	RNT1	RHT1	RNT2	RHT2	CAPTO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
Créatinine (mg/dL)	25,60 ±1,92	12,63 ±0,61 ³	23,53 ±0,37	15,14 ±0,50 ²	27,82 ±1,58 ^c	31,21 ±2,32 ^{cxα1}	27,21 ±1,06 ^c	23,60 ±2,95 ^a	21,69 ±0,10
Urée x 100 (mg/dL)	87,50 ±2,69	55,38 ±0,84 ³	89,62 ±5,05	73,13 ±2,58 ²	66,02 ±3,02 ³	70,39 ±2,42 ³	71,22 ±2,93 ²	69,11 ±1,96 ³	63,42 ±2,05 ³
Acide urique (mg/dL)	7,39 ±1,00	6,63 ±0,40	6,98 ±0,40	6,67 ±0,20	7,61 ±0,28	6,93 ±0,15	6,90 ±0,22	6,88 ±0,29	6,73 ±0,41
Mg²⁺ (mmol/L)	9,88 ±0,33	9,50 ±0,13	13,15 ±1,74	10,44 ±0,36 ³	9,54 ±0,06 ³	9,80 ±0,59 ³	9,43 ±0,20 ³	10,38 ±0,82 ³	10,15 ±0,03 ³
Ca²⁺ (mmol/L)	2,12 ±0,05	2,23 ±0,11	2,30 ±0,13	2,17 ±0,12	2,21 ±0,10	2,14 ±0,12	2,03 ±0,02	2,10 ±0,08	2,28 ±0,10
Na⁺ (mmol/L)	296,50 ±2,59	133,00 ±2,60 ³	290,10 ±8,20	127,80 ±1,75 ³	287,80 ±7,72 ^c	298,70 ±9,14 ^{czγ}	216,00 ±3,88 ^{czγ}	148,20 ±5,75 ³	184,70 ±8,36 ³
K⁺ (mmol/L)	10,31 ±0,89	3,83 ±0,37 ³	9,75 ±0,39	3,10 ±0,13 ³	10,52 ±0,89 ^c	9,08 ±1,17 ^{cα}	7,48 ±0,60 ^b	7,46 ±1,23 ^b	5,76 ±1,32 ¹

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. α p < 0,05 ; γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x p < 0,05 ; z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.8 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs du stress oxydant chez les rats rendus hypertendus à la L-NAME

La Figure 25 montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs du stress oxydant au niveau du foie, du rein, du cœur et de l'aorte. L'hypertension induite à la L-NAME a été accompagnée d'une diminution significative ($p < 0,001$) de la concentration en glutathion réduit (GSH) dans le foie de 62,25 %, le rein de 54,23%, le cœur de 43,69 % et l'aorte de 58,75 % en comparaison aux rats normotendus (Figure 25A). Chez les rats hypertendus (RHT2) sacrifiés à la fin du traitement il a été observé une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de GSH dans le foie de 58,22 %, le rein de 62,74 %, le cœur de 34,23 % et l'aorte de 53,65 % en comparaison aux rats normotendus (Figure 25E). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du taux de GSH respectivement de 79,20 % ($p < 0,001$), 60,18 % ($p < 0,05$), 81,15 % ($p < 0,001$), 51,60 % ($p < 0,05$) et de 63,93 % ($p < 0,05$) en comparaison aux rats hypertendus. Dans le rein, ces substances ont aussi entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de GSH respectivement de 130,43 %, 97,69 %, 106,18 %, 64,67 % ($p < 0,05$) et de 90,49 % par rapport aux rats hypertendus. Dans le cœur, ces substances ont entraîné une augmentation significative du taux de GSH respectivement de 87,56 % ($p < 0,001$), 47,71 % ($p < 0,05$), 58,66 ($p < 0,01$), 95,21 % ($p < 0,001$) et de 87,97 % ($p < 0,001$) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), et le captopril (20 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux de GSH dans l'aorte respectivement de 63,50 %, 61,57 %, et de 48,20 % par rapport aux rats hypertendus.

L'activité de la catalase dans les organes investigués des rats hypertendus (RHT1) a significativement diminué dans le foie de 34,76 % ($p < 0,01$), le rein de 25,78 % ($p < 0,05$), le cœur de 32,22 % ($p < 0,05$) et l'aorte de 15,70 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats normotendus (Figure 25B). Chez les rats hypertendus (RHT2) il a été observé une réduction significativement de l'activité de la catalase dans le foie de 35,53 % ($p < 0,001$), le rein de 51,35 % ($p < 0,001$), le cœur de 31,67 % ($p < 0,01$) et l'aorte de 30,83 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats normotendus (Figure 25F). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné dans le foie une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité de la catalase

respectivement de 93,95 %, 69,81 %, 62,43 % et de 54,99 % par rapport aux rats hypertendus. De même, ces substances ont entraîné dans le rein une augmentation significative de l'activité de la catalase respectivement de 99,49 % ($p < 0,001$), 65,82 % ($p < 0,05$), 48,67 % ($p < 0,05$) et de 48,67 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. Dans le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative de l'activité de la catalase respectivement de 44,82 % ($p < 0,01$) et de 38,95 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative ($p < 0,01$) de l'activité de la catalase dans l'aorte respectivement de 43,34 % ($p < 0,001$), 33,94 % ($p < 0,01$), 50,51 % ($p < 0,001$) et de 45,10 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu une activité de la catalase significativement supérieure à celle des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) dans le rein ($p < 0,05$ et $p < 0,001$ respectivement) et le foie ($p < 0,05$). Dans le rein, l'aorte et le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené les valeurs de l'activité de la catalase à des valeurs proches de celles des rats normotendus.

Le taux de nitrites a significativement diminué ($p < 0,001$) dans le foie et l'aorte des rats hypertendus (RHT1) comparativement aux rats normotendus (Figure 25C). Chez les rats hypertendus (RHT2), il a été observé une diminution significative du taux de nitrites dans le foie, le rein et le cœur respectivement de 54,54 % ($p < 0,001$), 41,60 % ($p < 0,001$) et de 40,93 % ($p < 0,001$) comparativement aux rats normotendus (Figure 25G). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux de nitrites dans le foie respectivement de 70,70 % et de 91,80 % et de même dans le rein respectivement de 115,82 % ($p < 0,001$) et de 47,45 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. Dans le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative du taux de nitrites ($p < 0,001$) dans l'aorte de 86,47 %, 54,05 % et de 60,67 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative du taux de nitrites ($p < 0,001$) dans l'aorte de 86,95 %, 54,63 % et de 55,45 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené dans le foie et le rein le taux de nitrites à des valeurs proches de celles des rats normotendus.

Dans le cœur et l'aorte des rats hypertendus ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), le taux de nitrites était significativement supérieur à celui des rats normotendus.

Il a été observé chez les rats hypertendus (RHT1) sacrifiés à la fin de l'induction une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration en malondialdéhyde (MDA) dans le foie de 71,95 %, le rein de 59,69 % et l'aorte de 341,89 % en comparaison aux rats normotendus (Figure 25D). Chez les rats hypertendus (RHT2) sacrifiés à la fin du traitement le taux de MDA a significativement augmenté ($p < 0,001$) dans le foie de 44,43 %, le rein de 31,76 % et l'aorte de 300,46 % en comparaison aux rats normotendus (Figure 25H). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA respectivement de 39,45 %, 36,63 %, 43,50 %, 33,64 % et de 38,85 % en comparaison aux rats hypertendus. Dans le rein, ces substances ont également entraîné une diminution significative du taux de MDA respectivement de 32,08 % ($p < 0,001$), 42,14 % ($p < 0,001$), 25,97 % ($p < 0,01$), 36,03 % ($p < 0,001$) et de 34,61 % ($p < 0,001$) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a entraîné chez les rats hypertendus une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA dans l'aorte et le cœur respectivement de 66,84 % et de 32,48 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené dans ces organes le taux de MDA à des valeurs proches de celles des rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de MDA significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans le cœur et l'aorte.

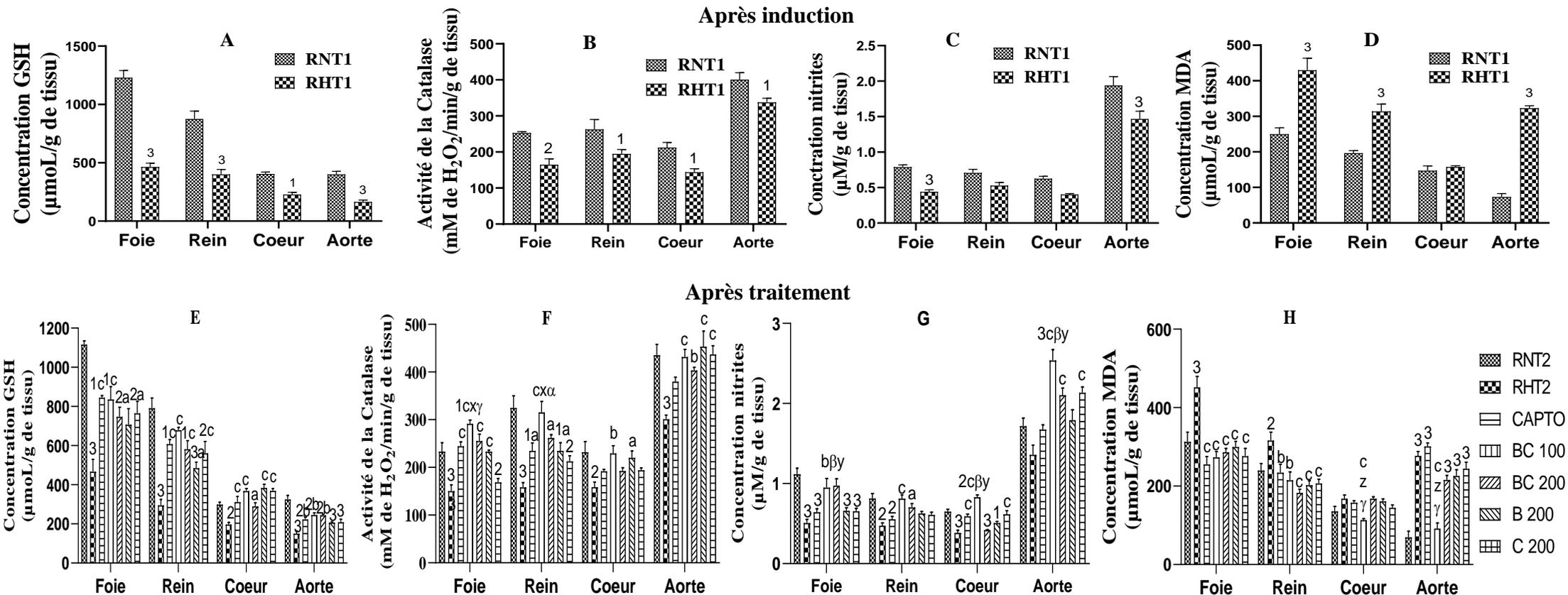


Figure 25: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. α p < 0,05 ; β p < 0,01 ; γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x p < 0,05 ; y p < 0,01 ; z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.9 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats rendus hypertendus à la L-NAME

La Figure 26 montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de protéine au niveau du foie, du rein, du cœur et de l'aorte. Il a été observé chez les rats hypertendus (RHT1) sacrifiés à la fin de l'induction une diminution significative ($p < 0,001$) de la concentration des protéines dans l'aorte et le foie, en comparaison aux rats normotendus (Figure 26A). Chez les rats hypertendus (RHT2) sacrifiés à la fin du traitement, il a aussi été observé une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de protéines dans le foie, le cœur et l'aorte en comparaison aux rats normotendus (Figure 26B). Dans le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril (20 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ respectivement) du taux de protéines en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) et le captopril (20 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de protéines dans l'aorte en comparaison aux rats hypertendus. Dans le cœur et l'aorte des rats hypertendus ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), le taux de protéines était significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des rats ayant reçu l'extrait aqueux de *B. pilosa* ou de *C. citratus*.

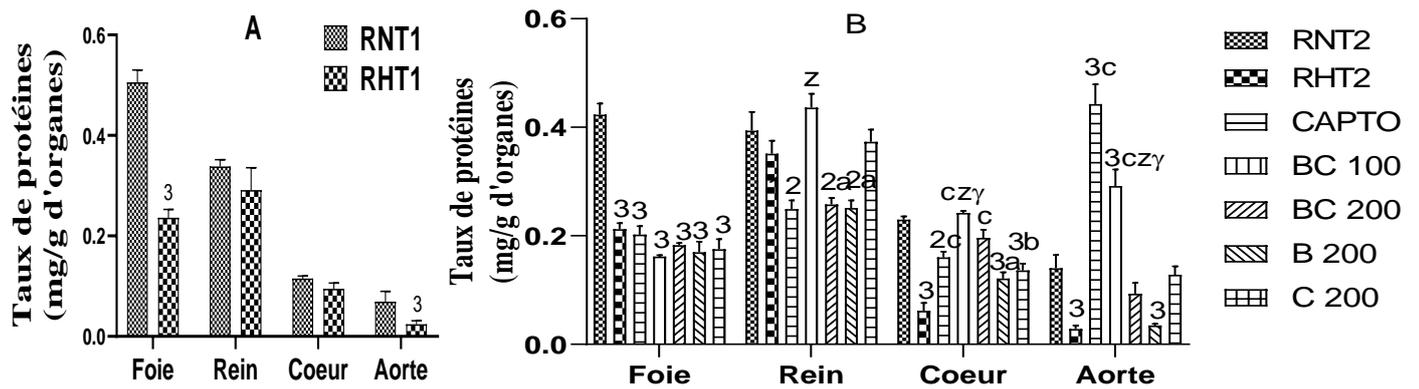


Figure 26: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT1 et RNT2 : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT1 et RHT2 : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés respectivement à la 3^e et la 6^e semaine de l'expérimentation, BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, CAPTO : rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.5.10 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture du foie, des reins, du cœur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie de l'aorte des rats rendus hypertendus à la L-NAME

❖ Effets de la L-NAME sur l'architecture de quelques organes et sur l'histomorphométrie de l'aorte

Les effets de la L-NAME sur l'architecture du foie, des reins, du cœur et de l'aorte sont présentés sur la Figure 27. La L-NAME (25 mg/kg) a entraîné après 21 jours d'administration une infiltration leucocytaire au niveau hépatique, rénal et cardiaque comparativement aux rats normaux. La L-NAME a aussi induit une augmentation significative de l'épaisseur de la média de 86,84 % (p < 0,001) par rapport aux rats normaux.

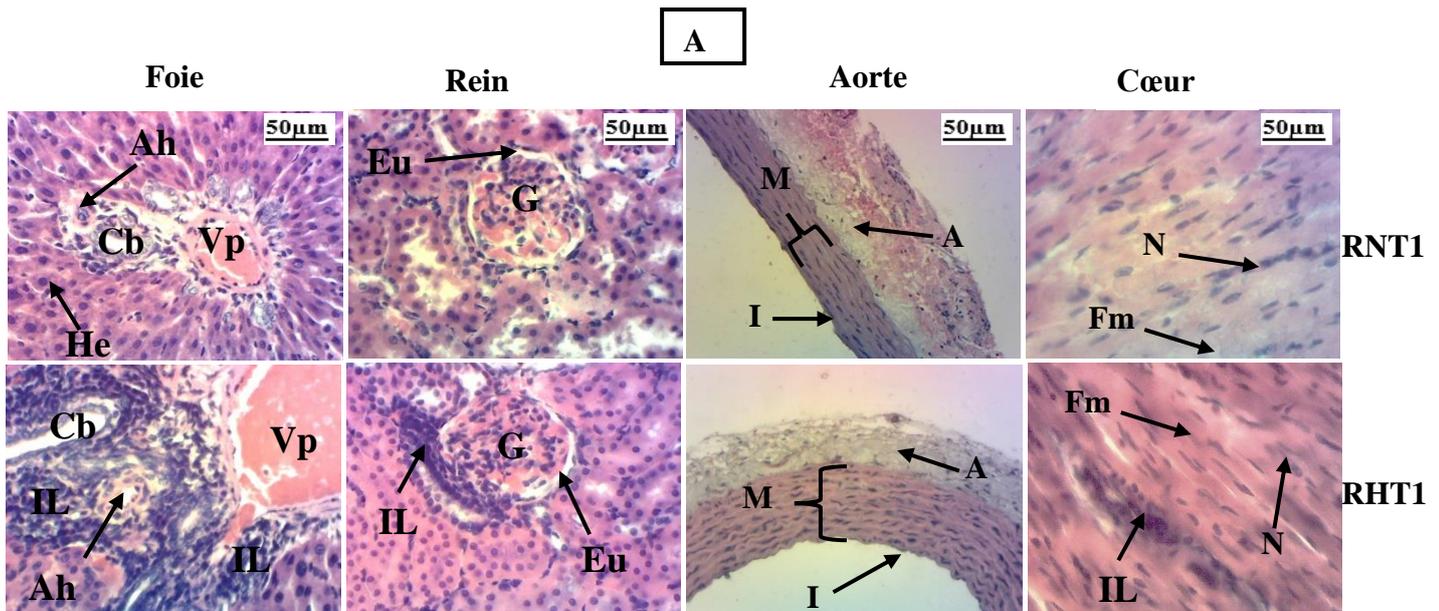
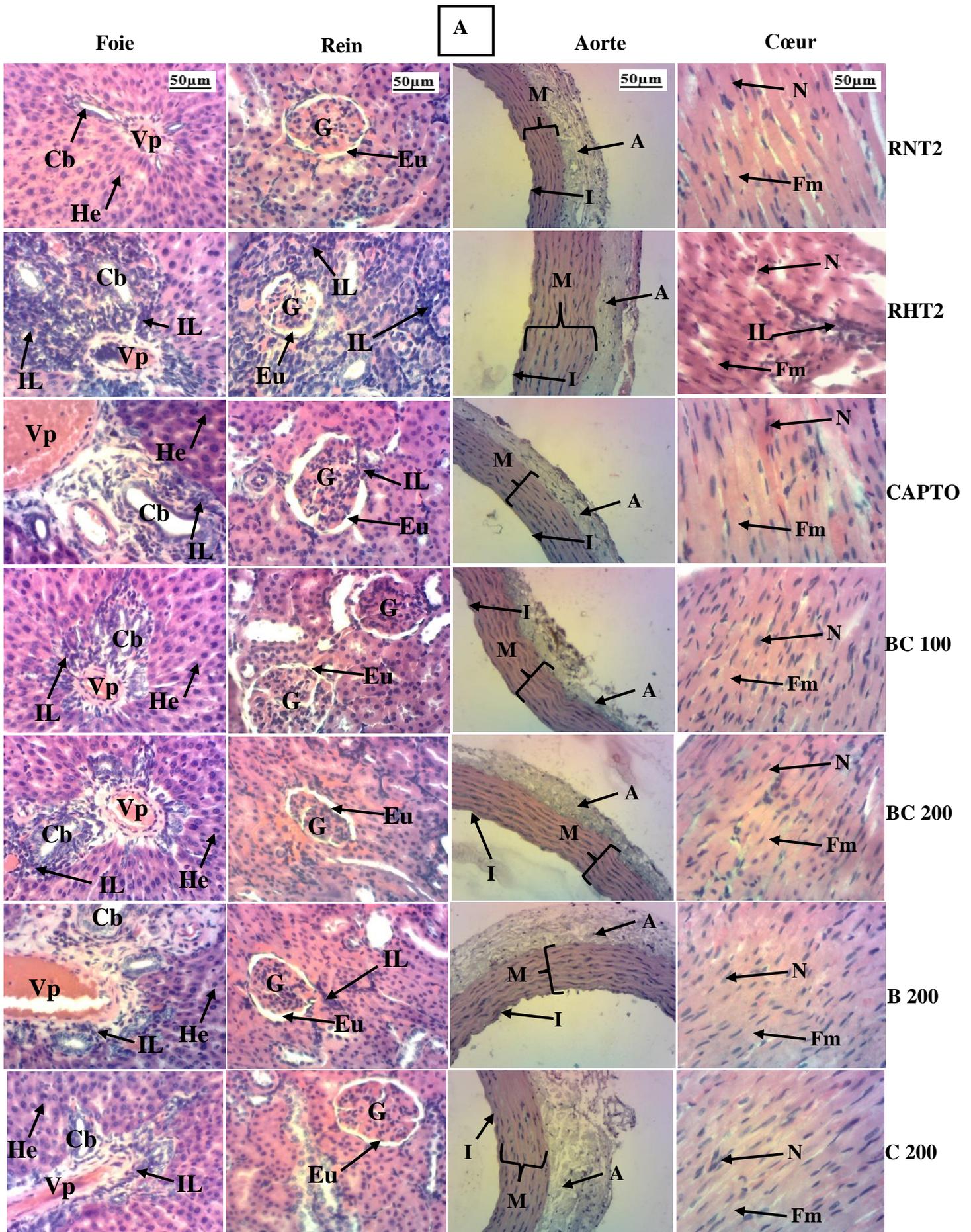


Figure 27: Effets de la L-NAME sur l'architecture (A) du foie (200X, He), du rein (200X, He), du cœur (200X, He) et de l'aorte (100X, He) et sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6 x 13). $3 p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus. RNT1: rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés à la 3^e semaine de l'expérimentation, RHT1: rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés à la 3^e semaine de l'expérimentation, **Foie** : **Vp** = Veine porte, **He** = Hépatocyte, **Cb** = Canalicule biliaire, **IL** = Infiltration leucocytaire, **Ah** = Artère hépatique ; **Rein** : **G** = Glomérule, **Eu** = Espace urinaire ; **Aorte** : **A** = Adventice, **M** = Média, **I** = Intima, **Cœur** : **N** = Noyau, **Fm** = Fibre musculaire.

❖ **Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture des organes et sur l'histomorphométrie de l'aorte**

La Figure 28 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'architecture du foie, des reins, du coeur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie de l'aorte. Chez les rats hypertendus (RHT2) sacrifiés à la fin du traitement il a été observé une infiltration leucocytaire hépatique, rénale et cardiaque comparativement aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, le captopril ainsi que les extraits des plantes prises séparément ont corrigé les dommages observés chez les rats hypertendus. Cependant, il a été observé au niveau du foie des infiltrations leucocytaires moins denses chez tous les groupes traités par rapport aux rats hypertendus non traités. De même, chez les rats hypertendus traités au captopril ou à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) il a été observé au niveau du rein une légère infiltration leucocytaire. Il a été observé chez le groupe RHT2 une augmentation significative de l'épaisseur de la média de 96,46 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats normaux traités à l'eau distillée. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), le captopril ainsi que les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné de manière significative ($p < 0,001$) la diminution de l'épaisseur de cette tunique respectivement de 40,65 %, 20,86 %, 24,84 %, 27,91 % et de 19,16 % par rapport aux rats hypertendus. Chez les rats hypertendus ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la taille de la média était significativement ($p < 0,001$) inférieure à celle des rats hypertendus ayant reçu l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ou de *C. citratus* (200 mg/kg).



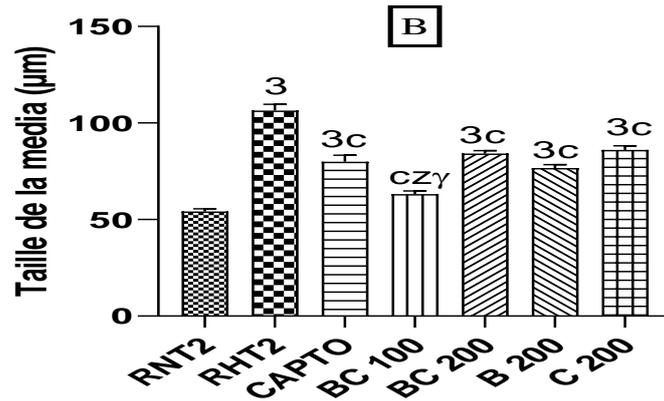


Figure 28: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture (A) du foie (200X, He), du rein (200X, He), du cœur (200X, He) et de l'aorte (100X, He) et sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats rendus hypertendus à la L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6 x 13). 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux, c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT2: rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés à la 6^e semaine de l'expérimentation, RHT2: rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg) et ayant été sacrifiés à la 6^e semaine de l'expérimentation, CAPTO: rats hypertendus recevant le captopril (20 mg/kg), BC 100 et BC 200: rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, B 200: rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200: rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), **Foie**: **Vp** = Veine porte, **He** = Hépatocyte, **Cb** = Canalicule biliaire, **IL** = Infiltration leucocytaire, **Ah** = Artère hépatique; **Rein**: **G** = Glomérule, **Eu** = Espace urinaire; **Aorte**: **A** = Adventice, **M** = Média, **I** = Intima, **Cœur**: **N** = Noyau, **Fm** = Fibre musculaire.

III.1.6 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitements préventif et curatif de l'hypertension artérielle secondaire induite par un mélange alcool+sel

III.1.6.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

III.1.6.1.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les prises alimentaire, hydrique, et le volume d'excrétion urinaire des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration de l'eau distillée (10 mL/kg) concomitamment avec la solution éthanol+sel (inducteur) pendant 7 semaines (49 jours) a induit chez les animaux (rats hypertendus) une diminution significative de la prise alimentaire ($p < 0,001$). Il a aussi été observé une augmentation significative ($p < 0,001$) de la prise hydrique et de l'excrétion urinaire par rapport aux rats ayant reçu uniquement de l'eau distillée (Figure 29). Le traitement concomitant avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) et l'inducteur a prévenu de façon significative ($p < 0,05$) la diminution de la prise alimentaire par rapport aux rats hypertendus. L'augmentation de la prise hydrique observée chez les rats hypertendus a été prévenue de façon significative ($p < 0,001$) chez les rats des groupes SPIRO, BC 100, BC 200, et B 200. Cette augmentation a aussi été prévenue de façon significative ($p < 0,01$) chez les animaux traités concomitamment avec l'inducteur et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) de 18,47 %. Enfin il a été observé une diminution significative ($p < 0,001$) du volume d'excrétion urinaire à la fin de l'expérience chez les rats traités en concomitance avec l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et l'inducteur de 35,71 %, par rapport aux rats hypertendus. La quantité d'eau consommée ainsi que le volume urinaire excrété des rats ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* étaient significativement ($p < 0,001$ et $p < 0,05$) inférieurs par rapport à ceux des rats traités avec l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

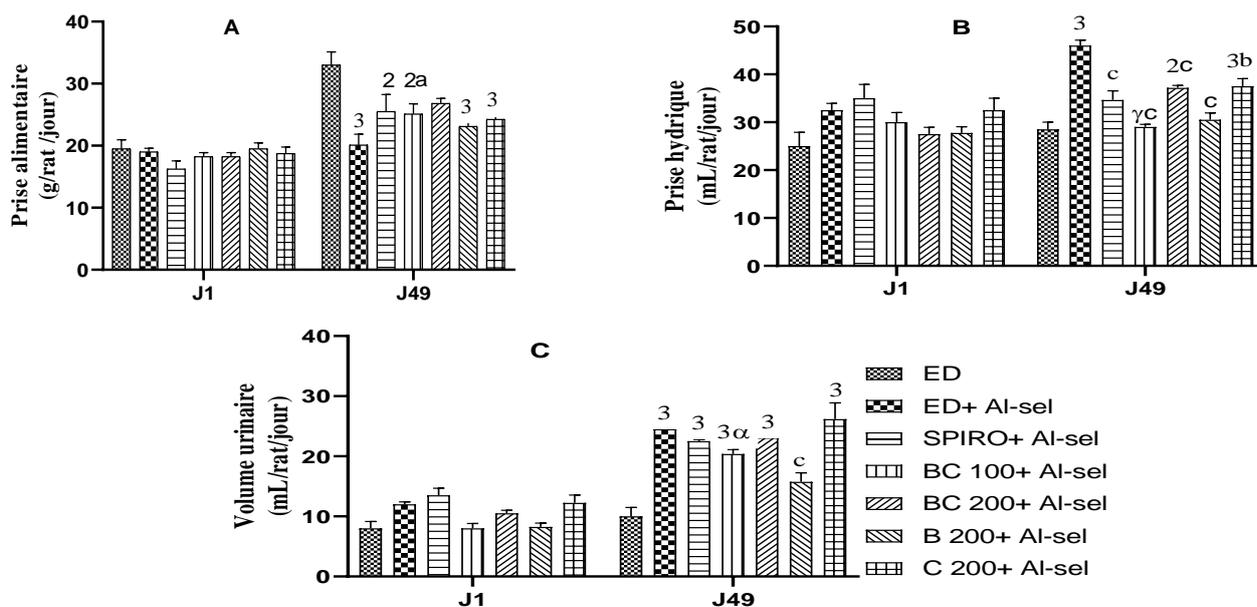


Figure 29: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les prises alimentaire (A), hydrique (B) et le volume urinaire excrété (C) des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. α p < 0,05 ; γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*. ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone à la dose de 10 mg/kg et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *B. pilosa* à la dose 200 mg/kg et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* à la dose 200 mg/kg et la solution inductrice.

III.1.6.1.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 30 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution du gain pondéral des animaux. L'administration du mélange alcool+sel (inducteur) a induit chez les rats une diminution significative du gain pondéral à la 4^e (p < 0,01), 5^e (p < 0,001), 6^e (p < 0,05) et la 7^e (p < 0,05) semaine de traitement par rapport aux rats normaux. De la 4^e semaine jusqu'à la fin du traitement, le traitement concomitant des rats avec l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* (100 mg/kg) et l'inducteur a prévenu de façon significative (p < 0,001) la baisse du poids corporel par rapport aux rats traités concomitamment à l'eau distillée et à la solution inductrice (rats hypertendus). Le traitement concomitant avec l'extrait aqueux de *Bidens pilosa*

(200 mg/kg) et l'inducteur a entraîné à la 5^e semaine de traitement une augmentation significative du poids corporel de 67,05 % ($p < 0,01$) par comparaison aux rats hypertendus. Le traitement concomitant avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) et l'inducteur a entraîné une baisse significative du poids corporel à la 5^e ($p < 0,05$), et la 7^e ($p < 0,01$) semaine de traitement par rapport aux rats normaux. Le traitement concomitant avec l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) et l'inducteur a entraîné à la 5^e ($p < 0,05$), 6^e ($p < 0,001$) et la 7^e ($p < 0,01$) semaine de traitement une baisse significative du poids corporel par comparaison aux rats normaux ayant reçu uniquement de l'eau distillée. A la 6^e et la 7^e semaine de traitement, le poids corporel des rats ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) était significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des rats ayant reçu l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a entraîné à la 6^e ($p < 0,001$) et la 7^e ($p < 0,01$) semaine de traitement une augmentation significative du poids corporel par comparaison aux rats ayant reçu l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

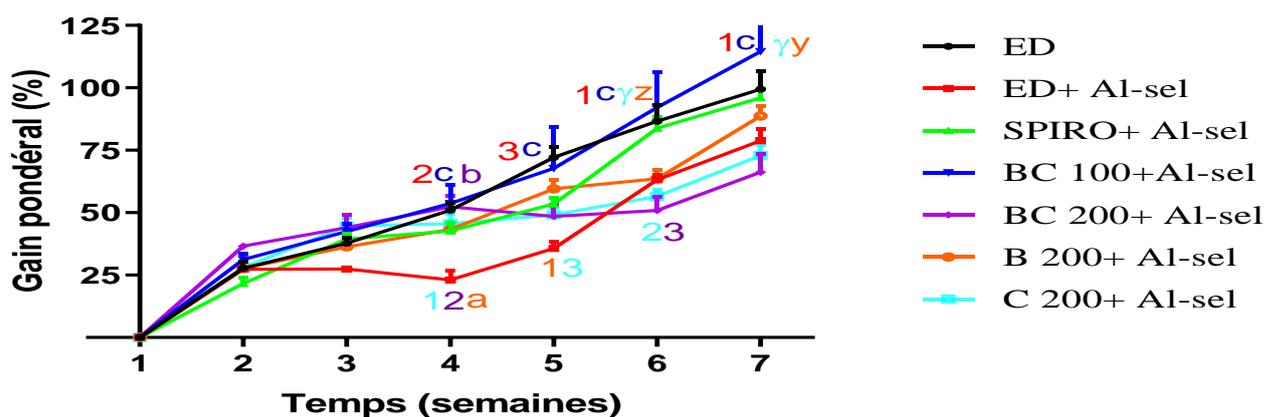


Figure 30: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus ayant reçu uniquement l'eau distillée, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, y $p < 0,01$; z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. ED: rats normotendus recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* à la dose 200 mg/kg et la solution inductrice.

III.1.6.1.3 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration pendant 49 jours de la solution inductrice (éthanol+sel) et de l'eau distillée (10 mL/kg) chez les rats (groupe hypertendu) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD), et moyenne (PAM) ainsi que la fréquence cardiaque (FC) en comparaison aux rats normaux (Figure 31). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu significativement ($p < 0,001$) l'augmentation de la PAS respectivement de 30,51 %, 28,89 %, 23,67 %, 27,88 % et de 25,87 % par rapport aux rats hypertendus. De même, ces substances ont prévenu significativement l'augmentation de la PAD respectivement de 30,16 % ($p < 0,001$), 33,13 % ($p < 0,001$), 29,06 % ($p < 0,01$), 27,15 % ($p < 0,01$) et de 26,82 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. Ces substances ont aussi prévenu significativement l'augmentation de la PAM respectivement de 32,30 % ($p < 0,001$), 32,11 % ($p < 0,001$), 25,45 % ($p < 0,05$), 33,32 % ($p < 0,001$) et de 27,04 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. L'augmentation de la FC a significativement été prévenu par ces substances. Les valeurs étaient respectivement de 14,12 % ($p < 0,001$), 11,25 % ($p < 0,01$), 8,59 % ($p < 0,05$), 13,12 % ($p < 0,001$) et de 7,04 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus.

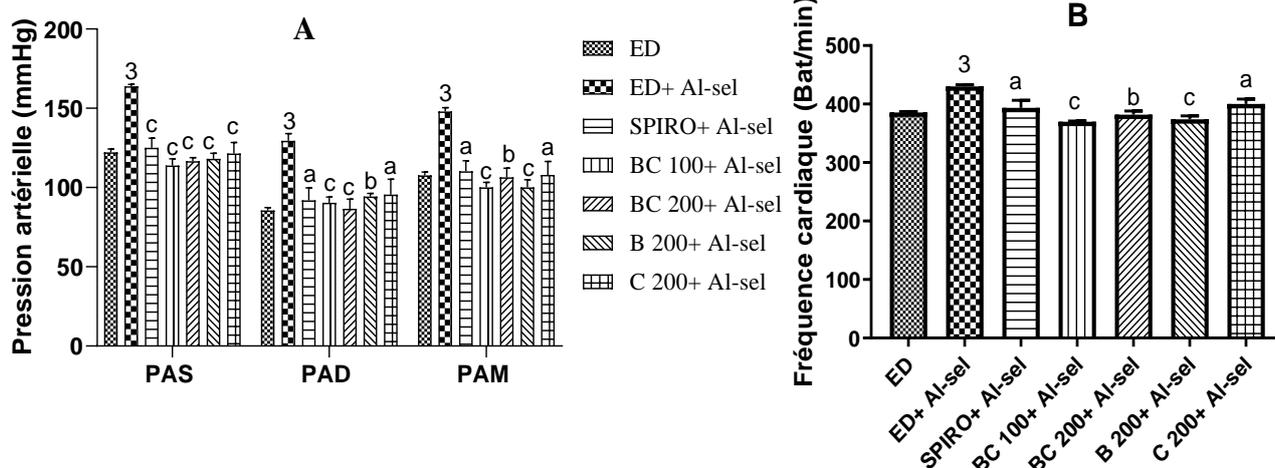


Figure 31: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,05 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel). BPM: battement par minute, FC: fréquence cardiaque, PAS: pression artérielle systolique, PAD: pression artérielle diastolique, PAM : pression artérielle moyenne, ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice, BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel: rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel: rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.4 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le profil lipidique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration pendant 49 jours de la solution inductrice (éthanol+sel) et de l'eau distillée (10 mL/kg) chez les rats (groupe hypertendu) a entraîné une augmentation significative (p < 0,001) du cholestérol total (CT), des triglycérides (TG), de LDL-cholestérol (LDL-chol) et de VLDL-cholestérol (VLDL-chol) en comparaison aux rats normaux (Tableau XXXI). L'administration concomitante de l'inducteur avec l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) ou avec la spironolactone (10 mg/kg) a prévenu de façon significative l'augmentation du taux de CT respectivement de 27,99 % (p < 0,01), 16,02 % (p < 0,01) et de 12,34 % (p < 0,01) par rapport au rats hypertendus. L'administration concomitante de l'inducteur avec l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) ou avec les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg)

et de *C. citratus* (200 mg/kg) a prévenu de façon significative l'augmentation du taux de TG respectivement de 62,31 % ($p < 0,001$), 33,48 % ($p < 0,01$), 53,38 % ($p < 0,001$), 60,79 % ($p < 0,001$) et de 53,81 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative l'augmentation du taux de VLDL-Chol respectivement de 62,33 % ($p < 0,001$), 33,53 % ($p < 0,01$), 53,39 % ($p < 0,001$), 60,76 % ($p < 0,001$) et de 53,81 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative l'augmentation du taux de LDL-Chol respectivement de 57,73 % ($p < 0,01$), 78,33 % ($p < 0,001$), 41,42 % ($p < 0,05$) et de 55,67 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative la diminution du taux de HDL-chol de 33,21 % ($p < 0,01$) et de 50,43 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) du taux de CT par rapport aux extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus*. Cet extrait a également entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) du taux de LDL-chol par rapport à l'extrait aqueux de *B. pilosa*.

Tableau XXXI: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le profil lipidique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	ED	ED + Al-sel	SPIRO + Al-sel	BC 100 + Al-sel	BC 200 + Al-sel	B 200 + Al-sel	C 200 + Al-sel
CT (mg/dL)	66,20 ±1,02	94,27 ±4,20 ³	82,64 ±0,22 ^{2b}	67,88 ±2,22 ^{czy}	79,17 ±4,26 ^{1b}	88,06 ±3,88 ³	92,75 ±0,20 ³
TG (mg/dL)	27,80 ±1,95	60,39 ±5,96 ³	28,15 ±3,88 ^c	22,76 ±1,87 ^c	40,17 ±3,36 ^{bzy}	23,68 ±1,21 ^c	27,89 ±3,92 ^c
HDL-Chol (mg/dL)	57,07 ±2,18	47,81 ±4,30	56,87 ±1,02	48,80 ±1,78 ^y	63,69 ±2,50 ^b	49,56 ±1,72	71,92 ±3,93 ^{c2}
LDL-Chol (mg/dL)	3,57 ±0,81	34,38 ±4,02 ³	20,14 ±1,62 ^{3a}	14,53 ±1,76 ^{3bz}	7,45 ±1,58 ^{1c}	33,76 ±0,98 ³	15,24 ±1,03 ^{3b}
VLDL-Chol (mg/dL)	5,56 ±0,39	12,08 ±1,19 ³	5,63 ±0,78 ^c	4,55 ±0,37 ^c	8,03 ±0,67 ^{bzy}	4,74 ±0,24 ^c	5,58 ±0,78 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel), γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. CT : Cholestérol Total, LDL-Chol : LDL-Cholestérol, HDL-Chol : HDL-cholestérol, TG : Triglycérides, VLDL-Chol : VLDL-Cholestérol, ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice, BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.5 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Le Tableau XXXII présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes. L'administration de la solution inductrice (alcool+sel) chez les rats (groupe hypertendu) a entraîné une augmentation significative (p < 0,001) du ratio risque cardiaque (RRC) et du coefficient athérogène (CA) en comparaison aux rats normaux. Le traitement concomitant de l'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extraits aqueux de *C.*

citratius (200 mg/kg) avec l'inducteur a prévenu de façon significative l'augmentation des taux de RRC ($p < 0,001$) et du CA ($p < 0,01$; $p < 0,001$; $p < 0,04$ et $p < 0,001$ respectivement) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratius* (100 mg/kg) a entraîné une baisse significative du taux du CA et du RRC ($p < 0,001$ et $p < 0,01$) par rapport à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

Tableau XXXII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratius* sur les indices athérogènes des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Indices athérogènes	ED	ED + Al-sel	SPIRO + Al-sel	BC 100 + Al-sel	BC 200 + Al-sel	B 200 + Al-sel	C 200 + Al-sel
RRC	1,16 ±0,08	1,97 ±0,33 ³	1,46 ±0,03 ^c	1,40 ±0,06 ^{cy}	1,25 ±0,09 ^{cz}	1,80 ±0,13 ³	1,31 ±0,08 ^c
CA	0,16 ±0,03	0,97 ±0,07 ³	0,45 ±0,03 ^{a1}	0,39 ±0,06 ^{bz}	0,24 ±0,03 ^c	0,78 ±0,08 ³	0,29 ±0,08 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 $p < 0,05$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel). y $p < 0,01$; z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RRC: Ratio risque cardiaque, CA: Coefficient athérogène, ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice, BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratius* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *C. citratius* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.6 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratius* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Le Tableau XXXIII montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratius* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique. Il en ressort une augmentation significative des activités de l'ASAT ($p < 0,001$), de l'ALAT ($p < 0,01$) et de la concentration de la bilirubine ($p < 0,01$) ainsi qu'une diminution significative de l'albuminémie ($p < 0,01$) chez les rats hypertendus par rapport aux rats normaux. Le traitement concomitant de l'inducteur avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratius* aux doses respectives de 100 et de 200 mg/kg, la spironolactone (10 mg/kg) ou avec les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratius* (200 mg/kg) a prévenue de façon significative ($p < 0,001$)

l'augmentation de l'activité de l'ALAT comparé aux rats hypertendus. Ces solutions ont eu les mêmes effets sur l'activité de l'ASAT ($p < 0,001$) comparé aux rats hypertendus. Ces solutions ont également prévenu de façon significative ($p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$; $p < 0,05$; $p < 0,01$ respectivement) l'augmentation du taux de bilirubine totale par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) de l'activité de l'ALAT par rapport à l'extrait aqueux de *C. citratus*. Aucune variation significative n'a été observée sur le taux d'albumine chez les différents traitements.

Tableau XXXIII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la fonction hépatique des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	ED	ED + Al-sel	SPIRO + Al-sel	BC 100 + Al-sel	BC 200 + Al-sel	B 200 + Al-sel	C 200 + Alsel
ALAT (U/L)	12,36 ±6,46	92,20 ±7,87 ³	38,41 ±2,29 ^c	40,74 ±2,02 ^{cγ}	21,73 ±1,25 ^{c3γ}	35,70 ±1,16 ^c	67,90 ±1,74 ^{c3}
ASAT (U/L)	67,73 ±3,78	95,10 ±6,95 ³	67,96 ±6,76 ^c	59,49 ±6,48 ^c	80,49 ±6,12 ^a	70,16 ±4,64 ^c	67,90 ±5,04 ^c
Albumine (mg/dL)	3,67 ±0,25	2,76 ±0,16 ²	3,14 ±0,08	3,37 ±0,18	3,32 ±0,11	3,15 ±0,04	3,36 ±0,14
Bilirubine (mg/dL)	0,18 ±0,01	0,24 ±0,01 ²	0,19 ±0,01 ^a	0,13 ±0,01 ^c	0,18 ±0,01 ^b	0,19 ±0,01 ^a	0,17 ±0,01 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux traités à l'eau distillée, a $p < 0,05$, b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*. ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.7 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

III.1.6.1.7.1 Effets du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les paramètres sériques de la fonction rénale

Le Tableau XXXIV montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale au niveau sérique. Il en ressort une augmentation significative de la créatininémie ($p < 0,001$) de 37,66 %, de l'urémie de 183,40 % et du taux d'acide urique sérique de 202,28 % chez les rats rendus hypertendus par la solution inductrice (Alcool+sel) par rapport aux rats normotendus. Chez les rats hypertendus, il a été observé une diminution du débit de filtration glomérulaire de 50,00 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative l'augmentation du taux de créatinine respectivement de 34,90 % ($p < 0,001$), 18,86 % ($p < 0,01$), 30,18 % ($p < 0,001$), 40,56 % ($p < 0,001$) et de 28,30 % ($p < 0,001$). De même, ces solutions ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) l'augmentation du taux d'urée et d'acide urique par rapport aux rats hypertendus. Il a été observé chez les rats traités concomitamment avec l'inducteur et l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ou l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) une augmentation significative du débit de filtration glomérulaire respectivement de 138,89 % ($p < 0,001$) et de 94,44 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus. Le groupe traité à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux d'urée significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des groupes traités avec les extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus*.

La solution inductrice (alcool+sel) a entraîné après sept semaines d'administration une diminution significative ($p < 0,01$) des taux de magnésium et de potassium en comparaison aux animaux normaux. La solution inductrice a également entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de sodium par rapport aux rats normaux. Le traitement concomitant de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ou de l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) avec l'inducteur a entraîné une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux de magnésium comparativement aux rats hypertendus. Le traitement concomitant de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 100 et de 200 mg/kg, de la spironolactone (10 mg/kg) ou des extraits aqueux de *B. pilosa*

(200 mg/kg) de *C. citratus* (200 mg/kg) avec l'inducteur a prévenu significativement ($p < 0,01$; $p < 0,0$; $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,01$ respectivement) l'augmentation du taux de sodium comparativement aux rats hypertendus. Aucune variation significative du taux de calcium n'a été observée chez tous les groupes.

Tableau XXXIV: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les paramètres sériques de la fonction rénale des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	ED	ED + Al-sel	SPIRO + Al-sel	BC 100 + Al-sel	BC 200 + Al-sel	B 200 + Al-sel	C 200 + Al-sel
Créatinine (mg/dL)	0,77 ± 0,02	1,06 ± 0,01 ³	0,74 ± 0,01 ^c	0,69 ± 0,04 ^c	0,86 ± 0,04 ^{b2}	0,63 ± 0,05 ^c	0,76 ± 0,07 ^c
DFG (mL/min)	0,36 ± 0,04	0,18 ± 0,02 ²	0,30 ± 0,04	0,43 ± 0,04 ^c	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,01 ^b	0,28 ± 0,01
Urée (mg/dL)	19,16 ± 1,82	54,30 ± 3,01 ³	18,41 ± 2,75 ^c	8,00 ± 1,82 ^{1czt}	16,33 ± 2,42 ^c	21,88 ± 2,39 ^c	17,25 ± 2,46 ^c
Acide urique (mg/dL)	3,07 ± 0,40	9,28 ± 1,06 ³	3,27 ± 0,25 ^c	1,74 ± 0,23 ^c	3,36 ± 0,17 ^c	2,26 ± 0,27 ^c	1,97 ± 0,29 ^c
Mg²⁺ (mmol/L)	3,63 ± 0,16	2,20 ± 0,18 ³	2,67 ± 0,09 ¹	3,28 ± 0,18 ^b	2,62 ± 0,13 ²	3,35 ± 0,26 ^b	2,92 ± 0,18
Ca²⁺ (mmol/L)	1,43 ± 0,03	1,22 ± 0,21	1,21 ± 0,01	1,25 ± 0,01	1,19 ± 0,01	1,61 ± 0,01	0,85 ± 0,02
Na⁺ (mmol/L)	99,67 ± 3,73	134,10 ± 1,37 ³	117,00 ± 4,80 ^{1a}	113,80 ± 4,29 ^{1b}	118,60 ± 1,33 ^{1a}	115,00 ± 4,07 ^{2b}	107,40 ± 3,10 ^b
K⁺ (mmol/L)	9,11 ± 1,04	4,88 ± 0,27 ³	6,85 ± 0,72	6,71 ± 0,33	6,66 ± 0,08	7,41 ± 0,96	5,29 ± 0,23 ²

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux ayant reçu uniquement l'eau distillée, b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel). γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. DFG : débit de filtration glomérulaire, ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice, BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.7.2 Effets du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les paramètres urinaires

Au niveau urinaire il a été observé chez les rats rendus hypertendus avec la solution inductrice (alcool+sel) une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de créatinine, d'urée et d'acide urique et une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de magnésium, de sodium et de potassium en comparaison aux animaux normaux (Tableau XXXV). Le traitement concomitant de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) avec l'inducteur a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$; $p < 0,01$ respectivement) des taux de créatinine en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$; $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,05$ respectivement) des taux d'urée par rapport aux rats hypertendus. La spironolactone et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$; $p < 0,05$ respectivement) la baisse du taux d'acide urique par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) l'augmentation des taux sodium et de potassium par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de créatinine et d'urée significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de sodium significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui de l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

Tableau XXXV: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les paramètres urinaires de la fonction rénale des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	ED	ED + Al-sel	SPIRO + Al-sel	BC 100 + Al-sel	BC 200 + Al-sel	B 200 + Al-sel	C 200 + Al-sel
Créatinine (mg/dL)	23,27 ±1,52	11,43 ±0,44 ³	14,29 ±1,16	20,68 ±0,71 ^{czy}	16,33 ±0,34 ^b	14,42 ±0,66	14,83 ±0,14
Urée x 100 (mg/dL)	20,22 ±4,89	4,11 ±1,27 ³	10,33 ±2,46	41,33 ±4,94 ^{2czy}	23,89 ±3,38 ^a	28,78 ±4,82 ^b	19,92 ±3,15 ^a
Acide urique (mg/dL)	20,10 ±1,43	8,90 ±0,36 ³	15,42 ±1,57 ^C	9,89 ±0,50 ³	9,89 ±0,25 ³	8,28 ±0,36 ³	13,33 ±0,64 ^{3a}
Mg²⁺ (mmol/L)	5,83 ±1,24	15,05 ±0,83 ³	10,47 ±1,78 ³	11,23 ±1,08 ³	9,95 ±1,25 ^{3zy}	14,30 ±0,41 ³	14,81 ±1,18 ³
Ca²⁺ (mmol/L)	3,54 ±0,40	3,42 ±0,40	4,92 ±0,28	4,10 ±0,60	4,12 ±0,36	4,40 ±0,38	4,43 ±0,08
Na⁺ (mmol/L)	317,50 ±11,41	422,50 ±23,26 ³	318,80 ±19,26 ^c	290,50 ±3,53 ^{cz}	291,00 ±6,99 ^{cz}	318,50 ±4,78 ^c	401,30 ±3,65 ^c
K⁺ (mmol/L)	26,46 ±2,38	74,56 ±2,48 ³	35,12 ±2,82 ^c	24,85 ±1,51 ^c	37,90 ±2,22 ^c	36,34 ±2,92 ^c	43,48 ±2,49 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux ayant reçu uniquement l'eau distillée, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel: rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.8 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration pendant 49 jours de la solution inductrice (alcool+sel; rats hypertendus) a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de la concentration en glutathion réduit (GSH) dans le foie, le rein, le cœur et l'aorte en comparaison aux rats normotendus (Figure 32A). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la baisse du taux de GSH. Les valeurs étaient respectivement supérieures de 142,16 %, 147,96 %, 108,46 %, 182,22 %, et de 165,15 %, à celles des rats hypertendus. Dans le rein, ces solutions ont aussi prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la baisse du taux de GSH. Les valeurs étaient respectivement supérieures de 92,08 %, 66,96 %, 94,67 %, 90,11 %, et de 76,79 % à celles des rats hypertendus. Dans le cœur, ces solutions ont également prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la baisse du taux de GSH. Les valeurs étaient respectivement supérieures de 55,90 %, 56,36 %, 42,61 %, 56,08 % et de 63,23 % à celles des rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la baisse du taux de GSH. Les valeurs étaient respectivement supérieures de 171,86 %, 220,27 %, 405,18 % et de 300,10 % à celles des rats hypertendus.

L'activité de la catalase dans les organes investigués des rats hypertendus a significativement ($p < 0,001$) diminué dans le foie, le rein, le cœur et l'aorte par rapport aux rats normaux (Figure 32B). Cette baisse a été prévenu de façon significative dans le foie par le traitement des rats à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg ; $p < 0,05$) et aux extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg ; $p < 0,001$) et de *C. citratus* (200 mg/kg ; $p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Les différents extraits aqueux et la spironolactone ont significativement ($p < 0,001$) prévenus la baisse de l'activité de la catalase au niveau cardiaque par rapport aux rats hypertendus. Au niveau de l'aorte il a été observé une prévention significative ($p < 0,05$) de la baisse de l'activité de la catalase chez les rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) par rapport aux rats hypertendus.

L'activité de la SOD a significativement ($p < 0,001$) diminué dans le foie, dans le cœur, et l'aorte des rats hypertendus par rapport aux rats normaux (Figure 32C). Dans le foie et le

rein, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution de l'activité de la SOD par rapport aux rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,05$ respectivement) la diminution de l'activité de la SOD par rapport aux rats hypertendus.

L'administration de la solution inductrice (éthanol+sel) a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de nitrites dans le foie, les reins, le cœur et l'aorte comparativement aux rats normaux (Figure 32D). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) et la spironolactone ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution du taux de nitrites par rapport aux rats hypertendus. Dans le rein, ces substances ont également prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution du taux de nitrites par rapport aux rats hypertendus. Ces substances ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution du taux de nitrites dans l'aorte par rapport aux rats hypertendus. Dans le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et la spironolactone ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution du taux de nitrites par rapport aux rats hypertendus.

La Figure 32E montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de malondialdéhyde (MDA). Il en ressort que la concentration de MDA a significativement augmenté ($p < 0,001$) dans le foie, les reins, le cœur et l'aorte des rats hypertendus par rapport aux rats normaux. Dans le foie l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont également prévenu de façon significative l'augmentation du taux de MDA respectivement de 9,68 % ($p < 0,05$), 25,76 % ($p < 0,001$), 25,75 % ($p < 0,001$) et de 21,99 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Dans le rein, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative l'augmentation du taux de MDA respectivement de 48,04 % ($p < 0,001$), 54,23 % ($p < 0,001$), 26,49 % ($p < 0,001$), 50,83 % ($p < 0,001$) et de 45,12 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. De même, ces substances ont prévenu de façon significative l'augmentation du taux de MDA dans le cœur respectivement de 64,89 % ($p < 0,001$), 22,60 % ($p < 0,01$), 20,30 % ($p < 0,01$), 56,92 % ($p < 0,001$) et de 34,63 % ($p < 0,001$) par rapport aux

rats hypertendus. Ces substances ont aussi prévenu de façon significative l'augmentation ($p < 0,001$) du taux de MDA dans l'aorte. Les valeurs étaient respectivement inférieures de 55,95 %, 40,30 %, 60,75 %, 42,17 % et de 46,72 % à celles des rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de MDA significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) dans le cœur et l'aorte.

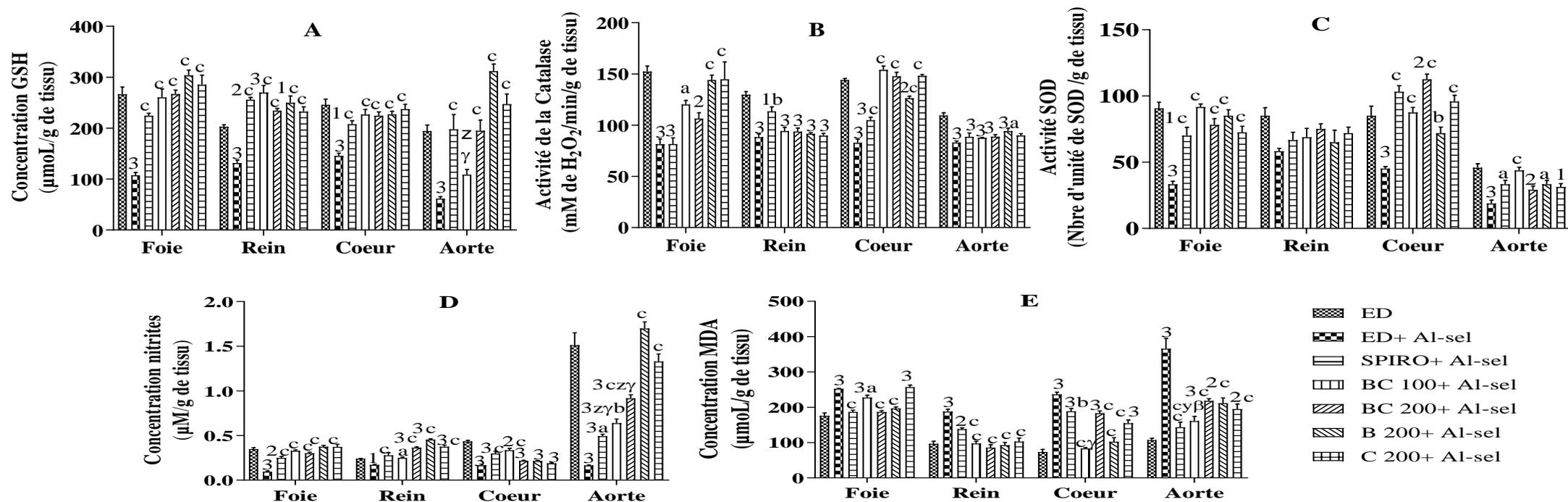


Figure 32: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux traités à l'eau distillée, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. β $p < 0,01$; γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, y $p < 0,01$; z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.9 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 33 montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats recevant la solution inductrice (alcool+sel). Il en ressort que le taux de protéines a significativement ($p < 0,001$) diminué dans le foie, les reins, le cœur et l'aorte des rats recevant la solution inductrice (rats hypertendus) par rapport aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg), la spironolactone et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de façon significative ($p < 0,01$; $p < 0,01$; $p < 0,001$; $p < 0,001$ respectivement) la diminution du taux de protéines dans l'aorte par rapport aux rats hypertendus. Dans le foie et les reins, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg), les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) et la spironolactone ont prévenu de façon significative ($p < 0,001$) la diminution du taux de protéines dans l'aorte par rapport aux rats hypertendus. Les différents traitements n'ont entraîné aucune variation du taux de protéines dans le cœur.

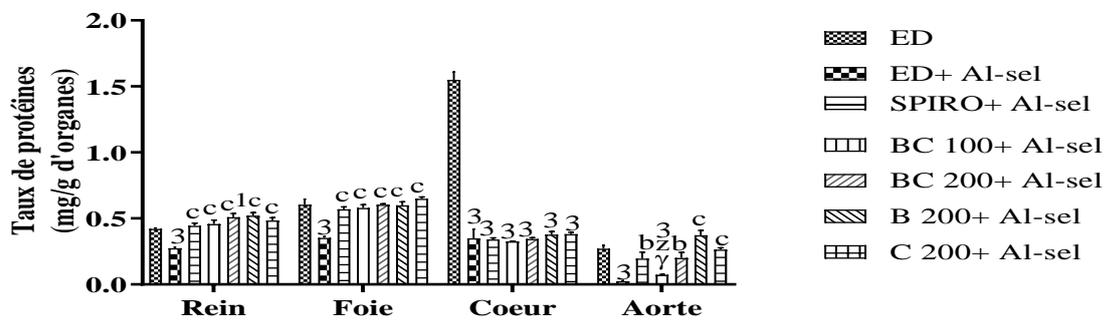
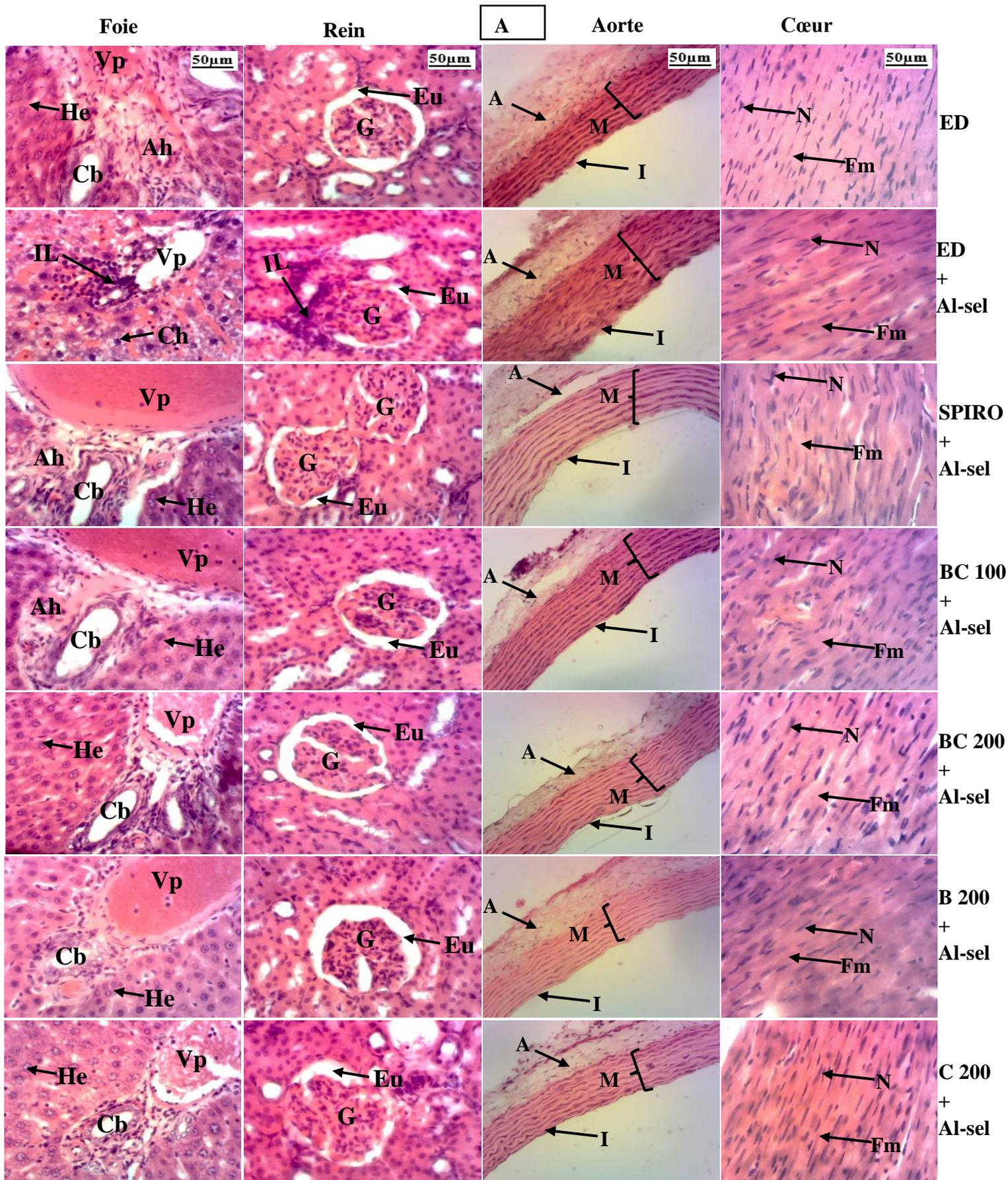


Figure 33: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux traités uniquement à l'eau distillée, a $p < 0,05$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice. γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice (alcool+sel), BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone (10 mg/kg) et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) et la solution inductrice.

III.1.6.1.10 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture de quelques organes et sur l'histomorphométrie de l'aorte des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 34 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'architecture du foie, des reins, du coeur et de l'aorte et sur l'histomorphométrie de l'aorte. Chez les rats hypertendus il a été observé une infiltration leucocytaire hépatique et rénale comparativement aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* ainsi que les extraits des plantes isolées ont prévenu les dommages observés chez les rats hypertendus. Le traitement des rats avec la solution inductrice (alcool+sel) a induit une augmentation significative de l'épaisseur de la média de 73,84 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone ainsi que les extraits aqueux de *Bidens pilosa* (200 mg/kg) et de *Cymbopogon citratus* (200 mg/kg) ont prévenu de manière significative l'augmentation de l'épaisseur de cette tunique. Les valeurs ont respectivement été réduites de 25,55 % ($p < 0,001$), 22,24 % ($p < 0,001$), 14,70 % ($p < 0,01$), 27,42 % ($p < 0,001$) et de 16,17 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus.



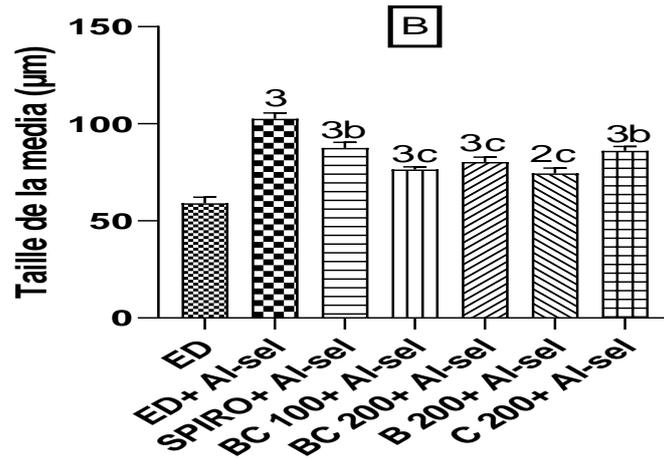


Figure 34: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture du foie (200X, He), du rein (200X, He), du cœur (200X, He) et de l'aorte (100X, He) et sur l'histomorphométrie de l'aorte des rats en traitement préventif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6 x 13). 2 p < 0,01, 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux traités uniquement à l'eau distillée, b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats ayant reçu de l'eau distillée et la solution inductrice (alcool+sel). ED: rats normaux recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg), ED+ Al-sel: rats recevant concomitamment de l'eau distillée (10 mL/kg) et la solution inductrice, SPIRO+ Al-sel : rats recevant concomitamment la spironolactone à la dose de 10 mg/kg et la solution inductrice, BC 100+ Al-sel et BC 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg et la solution inductrice, B 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *B. pilosa* à la dose 200 mg/kg et la solution inductrice, C 200+ Al-sel : rats recevant simultanément l'extrait aqueux de *C. citratus* à la dose 200 mg/kg et la solution inductrice, **Foie** : **Vp** = Veine porte, **He** = Hépatocyte, **Cb** = Canalicule biliaire, **Ch** = Cytolyse hépatique, **IL** = Infiltration leucocytaire, **Ah** = Artère hépatique ; **Rein** : **G** = Glomérule, **Eu** = Espace urinaire, **Aorte** : **A** : Adventice, **M** = Média, **I** = Intima, **Cœur** : **N** = Noyau, **Fm** = Fibre musculaire.

III.1.6.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire induite par un mélange alcool+sel

III.1.6.2.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la prise hydrique, la prise alimentaire et sur le volume d'excrétion urinaire des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration de la solution inductrice (éthanol+sel) aux animaux a induit pendant sept semaines une augmentation significative ($p < 0,001$) de la prise hydrique et du volume d'excrétion urinaire par comparaison aux animaux normaux (Figure 35A et 35E). De plus, ces variations ont été significativement ($p < 0,001$) maintenues après trois semaines supplémentaires d'administration (Figure 35B et 35F) de la solution inductrice. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg), et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,05$) de la prise hydrique en comparaison aux rats hypertendus.

La solution inductrice a entraîné à la fin de l'induction (septième semaine) et à la fin du traitement (dixième semaine) une diminution significative ($p < 0,01$; $p < 0,001$ respectivement) de la prise alimentaire par rapport aux rats normotendus (Figure 33C et 33D). Les différents traitements n'ont pas entraîné de variation significative de la prise alimentaire et du volume urinaire par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) a entraîné pendant toute la période de traitement une diminution significative ($p < 0,001$) de la prise alimentaire par comparaison aux rats normotendus. La spironolactone et l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ont entraîné à la fin du traitement une diminution significative ($p < 0,001$) de la prise alimentaire par rapport aux rats normotendus. Les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont également entraîné durant toute la période de traitement une diminution significative ($p < 0,01$; $p < 0,05$ respectivement) de la prise alimentaire par rapport aux rats normotendus.

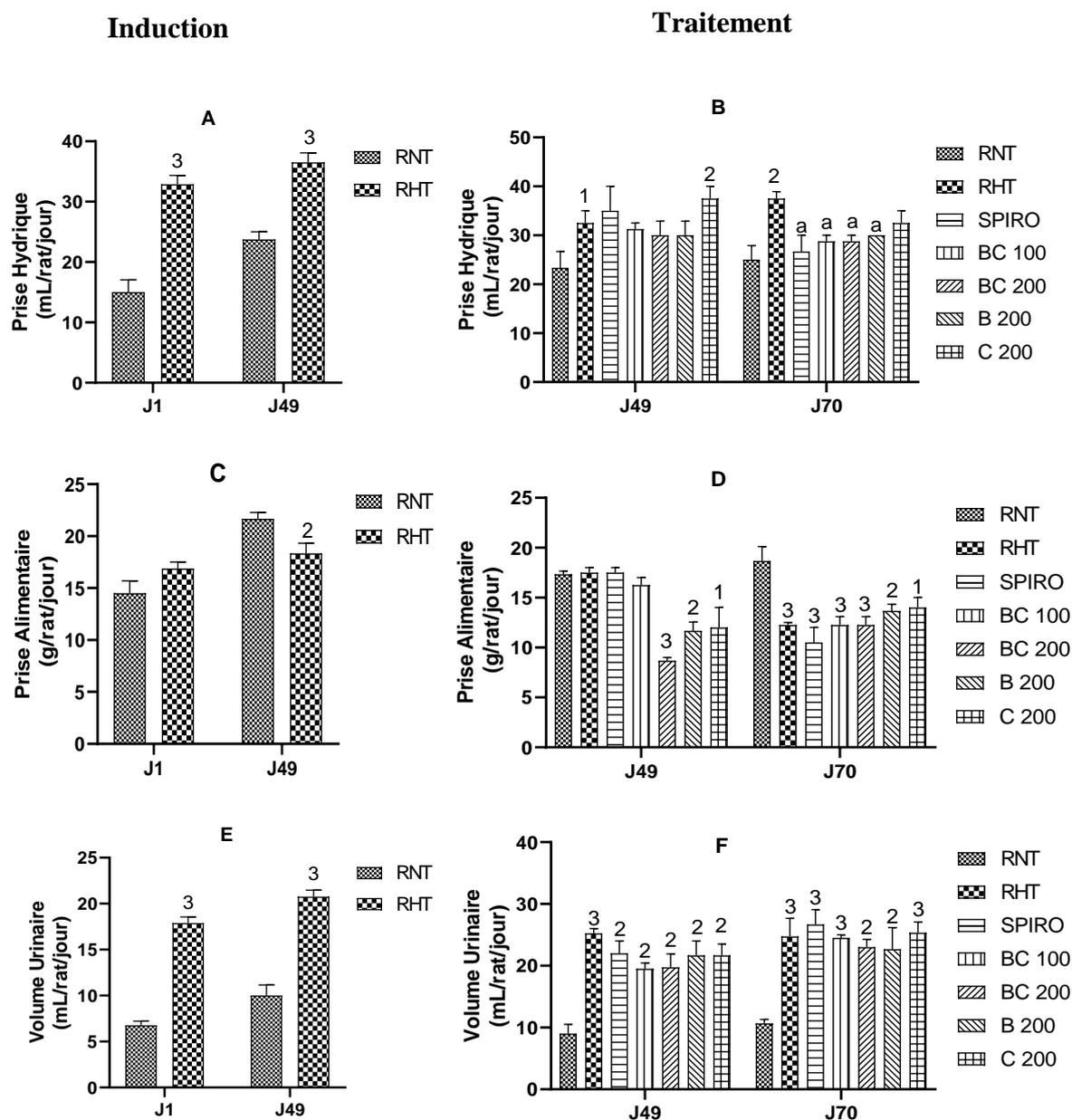


Figure 35: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la prise hydrique, la prise alimentaire et sur le volume d'excrétion urinaire des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 : différence significative par rapport aux rats hypertendus. RNT : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses respectives de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone à la dose de 10 mg/kg, B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* à la dose 200 mg/kg et C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* à la dose 200 mg/kg.

III.1.6.2.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 36 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le poids corporel. Il en ressort que le gain pondéral des rats hypertendus était significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des rats normotendus pendant toute la durée de l'expérimentation. Les différents traitements n'ont pas eu d'effets significatifs sur le gain pondéral.

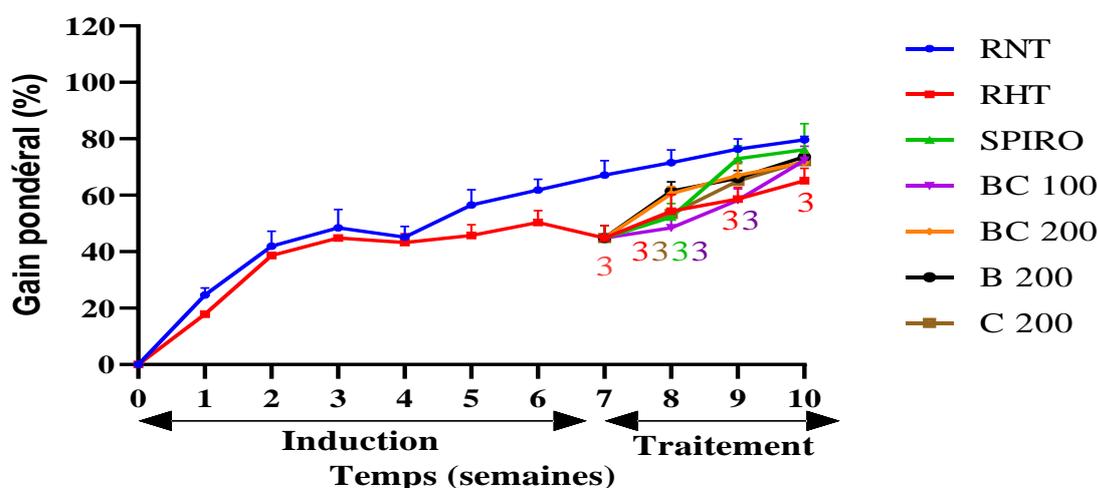


Figure 36: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon* sur le poids corporel des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus. RNT : rats normotendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses respectives de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone à la dose de 10 mg/kg, B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* à la dose 200 mg/kg et C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* à la dose 200 mg/kg.

III.1.6.2.3 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration de l'inducteur (éthanol+sel) à des rats normotendus pendant 10 semaines a entraîné une augmentation significative de la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) et de la fréquence cardiaque (FC) (Figure 37). Cette augmentation était respectivement de 39,24 % ($p < 0,001$), 58,77 % ($p < 0,001$), 50,54 % ($p < 0,001$) et de 8,77 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats normotendus. L'extrait aqueux

du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de la PAS respectivement de 26,55 %, 23,80 %, 24,68 %, 19,37 % et de 20,01 % par rapport aux rats hypertendus. Ces solutions ont également entraîné une diminution significative de la PAD respectivement de 30,84 % ($p < 0,001$), 29,59 % ($p < 0,001$), 29,49 % ($p < 0,001$), 25,50 % ($p < 0,001$) et de 24,16 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus. De plus, ces substances ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) de la PAM respectivement de 29,20 %, 27,34 %, 27,61 %, 23,14 % et de 22,59 % comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,05$) de la FC respectivement de 15,41 % et de 7,92 % par rapport aux rats hypertendus.

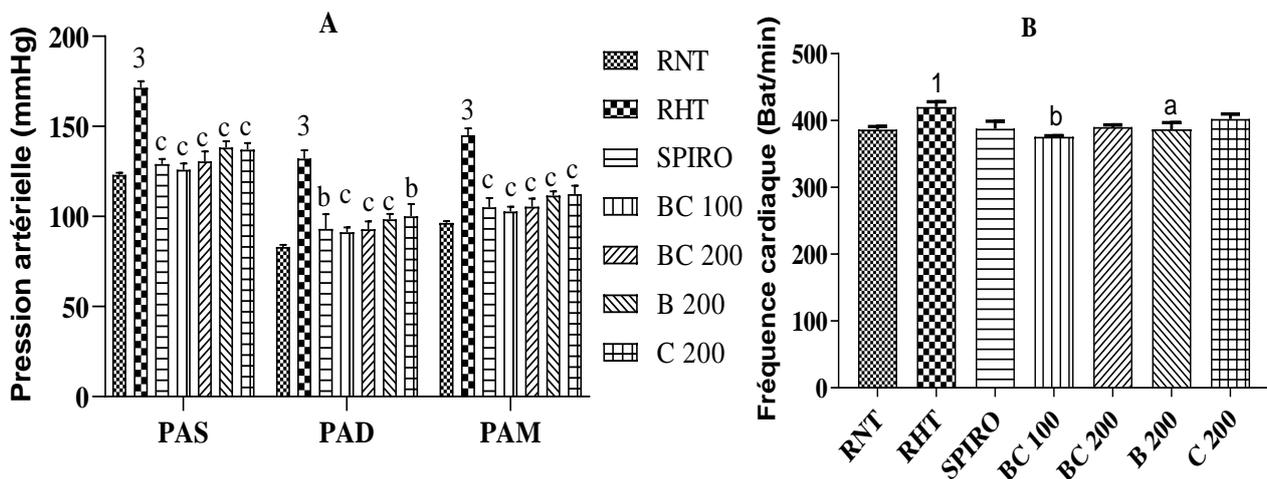


Figure 37: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus, a $p < 0,05$; b $p < 0,05$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus. BPM: battement par minute, FC: fréquence cardiaque, PAS: pression artérielle systolique, PAD: pression artérielle diastolique, PAM : pression artérielle moyenne, RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.4 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le profil lipidique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

L'administration pendant 10 semaines de la solution inductrice (éthanol+sel) chez les rats a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de cholestérol total (CT), des triglycérides (TG), de LDL-cholestérol (LDL-Chol) et de VLDL-cholestérol (VLDL-Chol) par rapport aux rats normaux (Tableau XXXVI). Il a été observé chez les rats hypertendus (RHT) une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de HDL-cholestérol (HDL-Chol) de 65,17 % par rapport aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) des taux de CT respectivement de 33,83 %, 33,41 %, 43,15 %, 34,53 % et de 18,07 % par rapport aux RHT. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative des taux de TG respectivement de 57,55 % ($p < 0,001$), 45,52 % ($p < 0,001$), 30,03 % ($p < 0,05$) et de 36,08 % ($p < 0,001$) en comparaison aux RHT. De même, ces solutions ont entraîné une diminution significative des taux de VLDL-Chol respectivement de 57,55 % ($p < 0,001$), 45,52 % ($p < 0,001$), 29,98 % ($p < 0,001$) et de 36,08 % ($p < 0,001$) en comparaison aux RHT. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) des taux de LDL-Chol respectivement de 72,47 %, 50,33 %, 85,99 %, 89,50 % et de 46,19 % par rapport aux RHT. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ainsi que l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significativement du taux de HDL-Chol respectivement de 41,73 % ($p < 0,05$) et de 52,56 % ($p < 0,01$) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de LDL-Chol significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui de l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg). L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené les valeurs des taux de CT, de HDL-Chol, de TG et de VLDL-Chol à des valeurs proches de celles des rats normaux.

Tableau XXXVI: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon* sur le profil lipidique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	RNT	RHT	SPIRO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
CT (mg/dL)	52,77 ±3,63	79,67 ±2,88 ³	45,29 ±2,88 ^c	52,72 ±1,80 ^c	53,05 ±2,18 ^c	52,16 ±1,76 ^c	65,27 ±0,92 ^{1b}
TG (mg/dL)	32,78 ±2,75	67,07 ±3,69 ³	36,54 ±4,71 ^c	28,47 ±2,83 ^{czy}	69,70 ±2,50 ^{3zy}	46,93 ±5,46 ^a	42,87 ±1,21 ^c
HDL-Chol (mg/dL)	41,64 ±2,68	25,21 ±1,40 ³	32,23 ±2,26	35,73 ±3,02 ^a	20,76 ±1,30 ^{3yβ}	38,46 ±3,15 ^b	34,61 ±1,30
LDL-Chol (mg/dL)	4,57 ±1,42	41,05 ±1,10 ³	5,75 ±1,44 ^c	11,30 ±1,92 ^{1czy}	18,35 ±3,01 ^{2cz}	4,31 ±1,18 ^c	22,09 ±1,53 ^{3c}
VLDL-Chol (mg/dL)	6,56 ±0,56	13,41 ±0,41 ³	7,30 ±0,73 ^c	5,69 ±0,57 ^{cxα}	13,94 ±0,39 ^{3xα}	9,39 ±0,60 ^c	8,57 ±0,24 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. α p < 0,05 ; β p < 0,01 γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x p < 0,05 ; y p < 0,01 z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. CT : Cholestérol total, LDL-Chol : LDL-cholestérol, HDL-Chol : HDL-cholestérol, TG : Triglycérides, VLDL-Chol : VLDL-cholestérol, RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.5 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Le Tableau XXXVII présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les indices athérogènes. Chez les rats hypertendus il a été observé une augmentation significative (p < 0,001) des taux du ratio risques cardiaques (RRC) et du coefficient athérogène (CA) en comparaison aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative (p < 0,001) du RRC et du CA en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené les valeurs des taux des indices athérogènes à des valeurs proches de celles des rats normaux.

Tableau XXXVII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon* sur les indices athérogènes des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Indices athérogènes	RNT	RHT	SPIRO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
RRC	1,29 ±0,10	3,19 ±0,16 ³	1,43 ±0,11 ^c	1,51 ±0,12 ^c	2,61 ±0,23 ³	1,37 ±0,06 ^c	1,89 ±0,06 ^{1c}
CA	0,29 ±0,10	2,19 ±0,16 ³	0,43 ±0,11 ^{1c}	0,51 ±0,12 ^c	1,61 ±0,23 ³	0,37 ±0,06 ^{3c}	0,89 ±0,06 ^{1c}

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normotendus, c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. β p < 0,01: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, y p < 0,01: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. CRR: Ratio risque cardiaque, CA: Coefficient athérogène, RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.6 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Le Tableau XXXVIII montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs de la fonction hépatique. Il en ressort une augmentation significative (p < 0,001) des activités de l'ASAT, de l'ALAT, de la concentration de la bilirubine et une diminution significative (p < 0,05) de l'albuminémie chez les rats hypertendus par rapport aux rats normaux. L'administration de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses respectives de 100 et de 200 mg/kg, de la spironolactone (10 mg/kg) ou des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* a entraîné une diminution significative (p < 0,001) de l'activité de l'ALAT et de l'ASAT comparés aux rats hypertendus. Ces solutions ont également entraîné une diminution significativement (p < 0,001) du taux de bilirubine totale par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg), la spironolactone et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du taux d'albumine sérique (p < 0,001 ; p < 0,001 ; p < 0,01 et p < 0,01 respectivement) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de bilirubine et de l'activité de l'ASAT significativement (p < 0,05) inférieurs à ceux de l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu également un taux de bilirubine significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui de l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg).

Tableau XXXVIII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la fonction hépatique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	RNT	RHT	SPIRO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
ALAT	30,06	44,98	28,29	20,65	29,79	14,53	26,21
(U/L)	±1,80	±2,12 ³	±1,28 ^c	±1,69 ^{2c}	±1,86 ^c	±1,54 ^{3c}	±1,42 ^c
ASAT	77,82	179,10	104,60	103,50	147,40	117,70	134,90
(U/L)	±3,49	±5,26 ³	±5,65 ^{1c}	±5,06 ^{1ca}	±5,73 ^{3b}	±4,43 ^{3c}	±4,68 ^{3c}
Albumine	2,19	1,99	2,28	2,34	2,45	2,31	2,21
(mg/dL)	±0,02	±0,03 ¹	±0,10 ^b	±0,05 ^c	±0,02 ^{1c}	±0,03 ^b	±0,02
Bilirubine	0,34	1,41	0,27	0,25	0,24	0,59	0,36
(mg/dL)	±0,05	±0,16 ³	±0,08 ^c	±0,05 ^{caz}	±0,01 ^c	±0,08 ^c	±0,03 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normotendus, b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus. α $p < 0,05$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.7 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

III.1.6.2.7.1 Effets du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs sériques de la fonction rénale

Le Tableau XXXIX montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs de la fonction rénale au niveau sérique. Il en ressort une augmentation significative de la créatininémie de 59,02 % ($p < 0,001$), de l'urémie de 39,14 % ($p < 0,01$) et du taux d'acide urique sérique de 192,03 % ($p < 0,001$) chez les rats hypertendus par rapport aux rats normaux. Chez les rats hypertendus, il a été observé une diminution du débit de filtration glomérulaire de 33,33 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats normotendus.

L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et la spironolactone ont entraîné une diminution significative du taux de créatinine respectivement de 42,27 % ($p < 0,001$), 37,11 % ($p < 0,001$) et de 30,93 % ($p < 0,01$), du taux d'urée respectivement de 18,98 % ($p < 0,05$), 32,00 % ($p < 0,01$) et de 23,35 % ($p < 0,05$), du taux d'acide urique respectivement de 71,03 % ($p < 0,001$), 54,09 % ($p < 0,001$) et de 69,71 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du débit de filtration glomérulaire respectivement de 100,00 % ($p < 0,001$), 66,66 % ($p < 0,001$), 50,00 % ($p < 0,01$) et de 55,55 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus. Chez les rats hypertendus traités à l'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg) les taux de créatinine, d'urée et d'acide urique ont été ramenés à des valeurs proches de celles des rats normaux. Chez les rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), il a été observé une diminution significative des taux de la créatinémie de 36,08 % ($p < 0,01$), de l'uricémie de 65,29 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Le traitement des rats à l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), a entraîné une diminution significative de la créatinémie de 35,05 % ($p < 0,01$) et de l'uricémie de 67,45 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus.

La solution inductrice a entraîné après dix semaines d'administration une diminution significative ($p < 0,05$) des taux de calcium, magnésium, et de potassium de l'ordre respective de 45,24 %, 25,00 %, et de 18,39 % en comparaison aux animaux normaux. La solution inductrice a de même entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de sodium de 51,61 % en comparaison aux rats normaux. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg), la spironolactone et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de magnésium respectivement de 79,17 %, 82,50 % et de 67,50 % comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a significativement augmenté le taux de calcium et diminué le taux de sodium respectivement de 133,33 % ($p < 0,001$) et de 21,66 % ($p < 0,05$) comparativement aux rats hypertendus. L'extrait aqueux de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) ainsi que la spironolactone (10 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du taux de potassium respectivement de 32,41 % ($p < 0,05$), 83,40 % ($p < 0,001$) et de 30,04 % ($p < 0,05$) comparativement aux rats hypertendus. Les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de potassium respectivement de 40,71 % et de 29,25 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C.*

citratum (100 mg/kg) a eu un taux de calcium significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratum*.

Tableau XXXIX: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratum* sur la fonction rénale au niveau sérique des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	RNT	RHT	SPIRO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
Créatinine (mg/dL)	0,61 ±0,02	0,97 ±0,11 ³	0,67 ±0,03 ^b	0,56 ±0,02 ^c	0,61 ±0,05 ^c	0,63 ±0,04 ^b	0,62 ±0,03 ^b
DFG (mL/min)	0,27 ±0,03	0,18 ±0,02 ¹	0,27 ±0,02 ^a	0,36 ±0,02 ^c	0,30 ±0,02 ^b	0,25 ±0,02	0,28 ±0,02 ^a
Urée (mg/dL)	38,50 ±1,44	53,57 ±5,17 ²	41,06 ±2,42 ^a	43,40 ±0,67 ^a	36,43 ±2,46 ^b	48,57 ±2,73	47,89 ±2,86
Acide urique (mg/dL)	3,64 ±0,49	10,63 ±1,10 ³	3,22 ±0,39 ^c	3,08 ±0,40 ^c	4,88 ±0,25 ^c	3,46 ±0,45 ^c	3,69 ±0,25 ^c
Mg²⁺ (mmol/L)	1,60 ±0,08	1,20 ±0,06 ¹	2,19 ±0,25 ^{2c}	1,40 ±0,06 ^β	2,15 ±0,16 ^{2c}	1,35 ±0,03	2,01 ±0,09 ^{2b}
Ca²⁺ (mmol/L)	1,26 ±0,14	0,69 ±0,08 ²	0,68 ±0,03 ²	1,61 ±0,14 ^{czy}	0,93 ±0,03	0,75 ±0,04 ²	0,80 ±0,09 ¹
Na⁺ (mmol/L)	77,75 ±3,95	117,88 ±2,69 ³	96,92 ±2,52 ²	92,35 ±1,58 ^a	103,50 ±2,94 ³	104,30 ±2,69 ³	96,84 ±1,76 ²
K⁺ (mmol/L)	3,10 ±0,20	2,53 ±0,07 ¹	3,29 ±0,65 ^a	3,35 ±0,19 ^a	4,64 ±0,53 ^c	3,56 ±0,56 ^a	3,27 ±0,35 ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus. β $p < 0,01$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratum*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. DFG : débit de filtration glomérulaire, RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratum* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratum* (200 mg/kg).

III.1.6.2.7.2 Effets du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques marqueurs urinaires de la fonction rénale

Au niveau urinaire il a été observé chez les rats hypertendus une diminution significative ($p < 0,001$) de la créatinine, du taux d'urée et d'acide urique respectivement de 52,75 %, 68,64 % et de 42,54 % ainsi qu'une augmentation significative ($p < 0,001$) des taux de sodium et de potassium de l'ordre respectif de 80,58 % et de 157,14 % en comparaison aux animaux normotendus (Tableau XL). L'extrait du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) des taux d'urée respectivement de 32,09 % et de 31,89 % et de créatinine respectivement de 19,59 % et de 16,84 % en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (100 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux d'acide urique de 38,36 % en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg) a entraîné une diminution significative des taux de sodium respectivement de 34,68 % ($p < 0,05$) et de 41,70 % ($p < 0,01$) et de taux de potassium respectivement de 55,11 % ($p < 0,001$) et de 60,39 % ($p < 0,001$) en comparaison aux rats hypertendus. L'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux d'urée ainsi que la diminution ($p < 0,001$) du taux de potassium par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de potassium par rapport aux rats hypertendus. Le traitement à la spironolactone a entraîné une diminution significative des taux sodium ($p < 0,01$) et de potassium ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Aucun traitement n'a affecté les taux de calcium et de magnésium au niveau urinaire.

Tableau XL: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la fonction rénale au niveau urinaire des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

Paramètres	RNT	RHT	SPIRO	BC 100	BC 200	B 200	C 200
Créatinine (mg/dL)	20,74 ±0,88	9,80 ±0,37 ³	9,72 ±0,43 ³	11,72 ±0,51 ^{3a}	11,45 ±0,36 ^{3a}	10,02 ±0,45 ³	9,91 ±0,49 ³
Urée x 100 (mg/dL)	31,70 ±1,39	9,94 ±0,39 ³	10,90 ±0,20 ³	13,13 ±1,00 ^{3a}	13,11 ±0,26 ^{3a}	13,19 ±1,19 ^{3a}	11,81 ±1,06 ³
Acide urique (mg/dL)	12,93 ±1,17	7,43 ±0,13 ³	8,88 ±0,40 ³	10,28 ±0,31 ^{1a}	9,56 ±0,22 ²	9,27 ±0,09 ²	7,82 ±0,46 ³
Mg²⁺ (mmol/L)	8,32 ±0,73	8,90 ±1,08	8,87 ±0,34	9,30 ±0,43	8,34 ±0,15	8,76 ±0,26	8,81 ±0,59
Ca²⁺ (mmol/L)	3,08 ±0,01	3,32 ±0,09	3,25 ±0,02	3,31 ±0,09	3,32 ±0,13	3,33 ±0,11	3,49 ±0,07
Na⁺ (mmol/L)	218,30 ±6,01	394,20 ±6,39 ²	229,80 ±4,00 ^b	257,50 ±9,45 ^a	229,80 ±5,87 ^b	298,60 ±10,12	377,70 ±6,64 ²
K⁺ (mmol/L)	4,83 ±0,46	12,42 ±2,36 ³	4,67 ±0,23 ^c	5,63 ±0,60 ^c	4,92 ±0,21 ^c	5,23 ±0,49 ^c	5,93 ±0,31 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n = 6). 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.8 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

La solution inductrice (alcool+sel) a entraîné chez les rats une diminution significative (p < 0,001) de la concentration en glutathion réduit (GSH) dans le foie de 37,86 %, le rein de 41,97 %, le cœur de 40,47 % et l'aorte de 46,63 % en comparaison aux rats normotendus (Figure 38A). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C.*

citratus (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de GSH respectivement de 37,54 %, 50,28 %, 45,50 % et de 73,06 % par comparaison aux rats hypertendus. Dans le rein, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et la spironolactone (10 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative du taux de GSH respectivement de 56,20 % ($p < 0,001$), 50,64 % ($p < 0,001$), et de 24,02 % ($p < 0,05$) par comparaison aux rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative du taux de GSH respectivement de 74,20 % ($p < 0,01$), 123,29 % ($p < 0,001$), 92,71 % ($p < 0,001$) et de 103,17 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats hypertendus. Ces augmentations du GSH ont de même été observé dans le cœur des rats ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) ou l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg). Les valeurs étaient respectivement supérieures de 46,94 % et de 56,49 % par rapport à celles des rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de GSH significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans le rein. Dans tous ces organes, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a ramené le taux de GSH à des valeurs proches de celles des rats normotendus.

L'activité de la catalase dans les organes investigués des rats hypertendus a significativement ($p < 0,001$) diminué dans le foie de 21,32 %, le rein de 23,09 %, le cœur de 9,74 %, et l'aorte de 18,15 % par rapport aux rats normotendus (Figure 38B). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative de l'activité de la catalase respectivement de 10,65 % ($p < 0,01$), 43,83 % ($p < 0,001$), 12,43 % ($p < 0,05$), 42,15 % ($p < 0,001$) et de 23,26 % ($p < 0,001$) par comparaison aux rats hypertendus. Dans le rein, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative de l'activité de la catalase respectivement de 26,01 % ($p < 0,001$), 24,29 % ($p < 0,01$), 24,04 % ($p < 0,001$), 17,80 % ($p < 0,01$), et 26,69 % ($p < 0,001$) par comparaison aux rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné chez les rats hypertendus une augmentation significative de l'activité de la

catalase respectivement de 36,98 % ($p < 0,001$), 21,62 % ($p < 0,001$), 14,87 % ($p < 0,05$) et de 19,12 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats hypertendus. Ces augmentations de l'activité de la catalase ont de même été observé dans le cœur des rats ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) ou l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg). Les valeurs étaient respectivement supérieures de 9,42 % ($p < 0,05$), 7,81 % ($p < 0,05$), 8,03 % ($p < 0,05$), et de 9,93 % ($p < 0,01$) par rapport à celles des rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) a eu une activité de la catalase significativement ($p < 0,05$) supérieure à celle des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans l'aorte. Dans le rein et le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a ramené l'activité de la catalase à des valeurs proches de celles des rats normotendus.

L'activité de la SOD a significativement diminué dans le rein ($p < 0,05$), le cœur ($p < 0,01$), et l'aorte ($p < 0,001$) des rats hypertendus par rapport aux rats normotendus (Figure 38C). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la SOD par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) et la spironolactone ont entraîné une augmentation significativement ($p < 0,01$ et $p < 0,05$) de l'activité de la SOD dans le rein par rapport aux rats hypertendus. Dans le cœur, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité de la SOD par rapport aux rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité de la SOD par rapport aux rats hypertendus. Chez les rats traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) l'activité de la SOD était significativement supérieure à celle de l'extrait aqueux de *B. pilosa* dans le foie ($p < 0,05$) et le rein ($p < 0,01$). Chez ces même rats, l'activité de la SOD était significativement supérieure à celle de l'extrait aqueux de *C. citratus* dans le rein ($p < 0,01$) et l'aorte ($p < 0,001$).

L'administration de la solution inductrice (éthanol+sel) a entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de nitrites dans le foie de 54,74 %, le cœur de 60,11 %, l'aorte de 42,19 % et dans les reins de 27,28 % ($p < 0,05$) comparativement aux rats normotendus (Figure 38D). Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) et la spironolactone ont augmenté significativement le taux de nitrites

respectivement de 151,79 % ($p < 0,001$), 96,10 % ($p < 0,01$) et de 63,35 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a augmenté significativement ($p < 0,001$) le taux de nitrites dans le rein de 92,15 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg) a augmenté significativement le taux de nitrites dans l'aorte respectivement de 27,18 % ($p < 0,001$) et de 20,41 % ($p < 0,05$) par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) a augmenté significativement ($p < 0,05$) le taux de nitrites dans le cœur de 71,38 % par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) a eu un taux de nitrites significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans le foie et le rein.

La Figure 38E montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de malondialdéhyde (MDA). Il en ressort que la concentration de MDA a significativement augmenté ($p < 0,001$) dans le foie, le rein, le cœur et l'aorte des rats hypertendus par rapport aux rats normotendus. Dans le foie, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA par rapport aux rats hypertendus. Dans le rein, ces substances ont également entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA par rapport aux rats hypertendus. De même, ces substances ont entraîné dans le cœur une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA par rapport aux rats hypertendus. Dans l'aorte, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone (10 mg/kg) et l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une diminution significative ($p < 0,001$) du taux de MDA par rapport aux rats hypertendus.

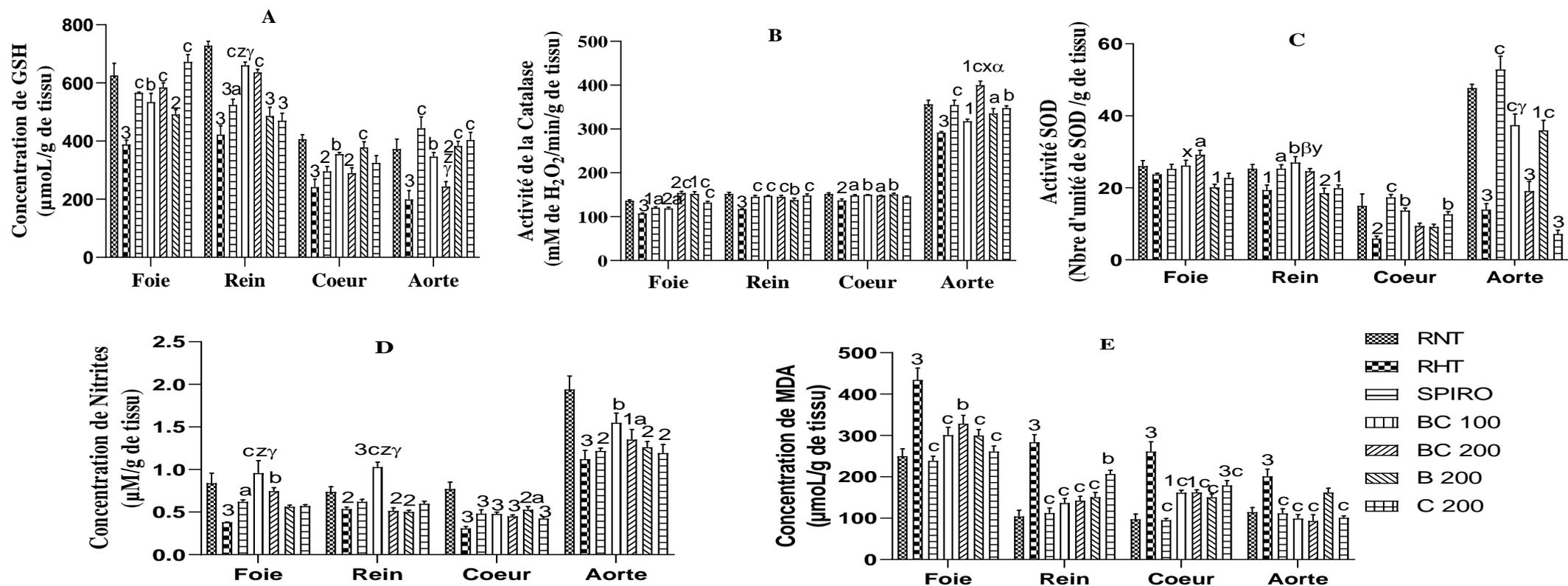


Figure 38: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le statut oxydant des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM (n = 6). 1 p < 0,05 ; 2 p < 0,01 ; 3 p < 0,001: différence significative par rapport aux rats normaux, a p < 0,05 ; b p < 0,01 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux rats hypertendus. α p < 0,05 ; β p < 0,01 ; γ p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, x p < 0,05 ; y p < 0,01 ; z p < 0,001: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.9 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le taux de protéines tissulaires des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 39 montre les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de protéines tissulaires. Il en ressort que le taux de protéines a significativement ($p < 0,05$) diminué dans les reins et l'aorte des rats hypertendus par rapport aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (100 et 200 mg/kg) et les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de protéines dans le foie par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange des plantes (200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de protéines tissulaires dans l'aorte par rapport aux rats hypertendus. La spironolactone (10 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de protéines dans le rein par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de protéines dans le cœur par rapport aux rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) a eu un taux de protéines significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans l'aorte.

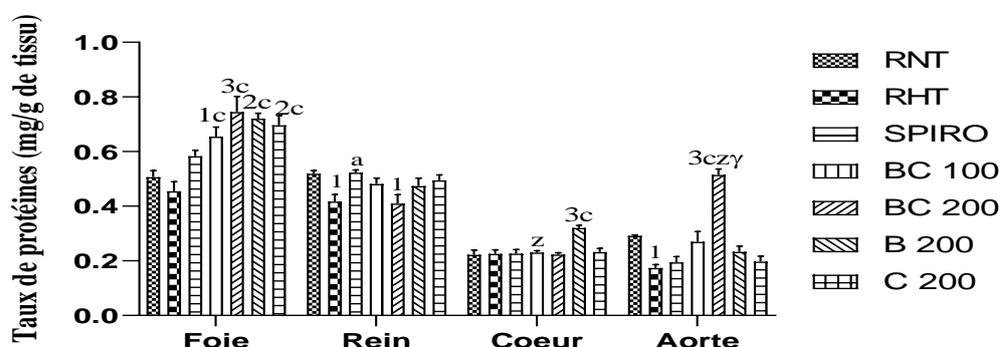


Figure 39: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le taux de protéines des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6$). 1 $p < 0,05$; 2 $p < 0,01$; 3 $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats normaux, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats hypertendus. ; γ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*, z $p < 0,001$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, SPIRO : rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg).

III.1.6.2.10 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture de quelques organes et sur l'histomorphométrie de l'aorte des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire

La Figure 40 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'architecture du foie, des reins, du coeur et de l'aorte. Chez les rats hypertendus il a été observé une infiltration leucocytaire hépatique, rénale et cardiaque et une expansion mésengiale au niveau rénale comparativement aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*, la spironolactone ainsi que les extraits séparés des deux plantes ont corrigé les dommages observés chez les rats hypertendus. Il a été observé dans le foie des tous les lots traités à l'exception du lot recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) une légère infiltration leucocytaire. Chez les rats hypertendus il a de même été observé une augmentation significative de l'épaisseur de la média de 110,57 % ($p < 0,001$) par rapport aux rats normotendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 et 200 mg/kg), la spironolactone ainsi que les extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) ont entraîné la baisse significative ($p < 0,001$) de l'épaisseur de cette tunique. Les valeurs ont respectivement été réduit de 50,03 %, 37,90 %, 36,36 %, 40,73 % et de 38,94 % par rapport aux rats hypertendus. Chez les rats hypertendus traités avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (100 mg/kg) l'épaisseur de la média était significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des extraits aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg) et de *C. citratus* (200 mg/kg) dans l'aorte.

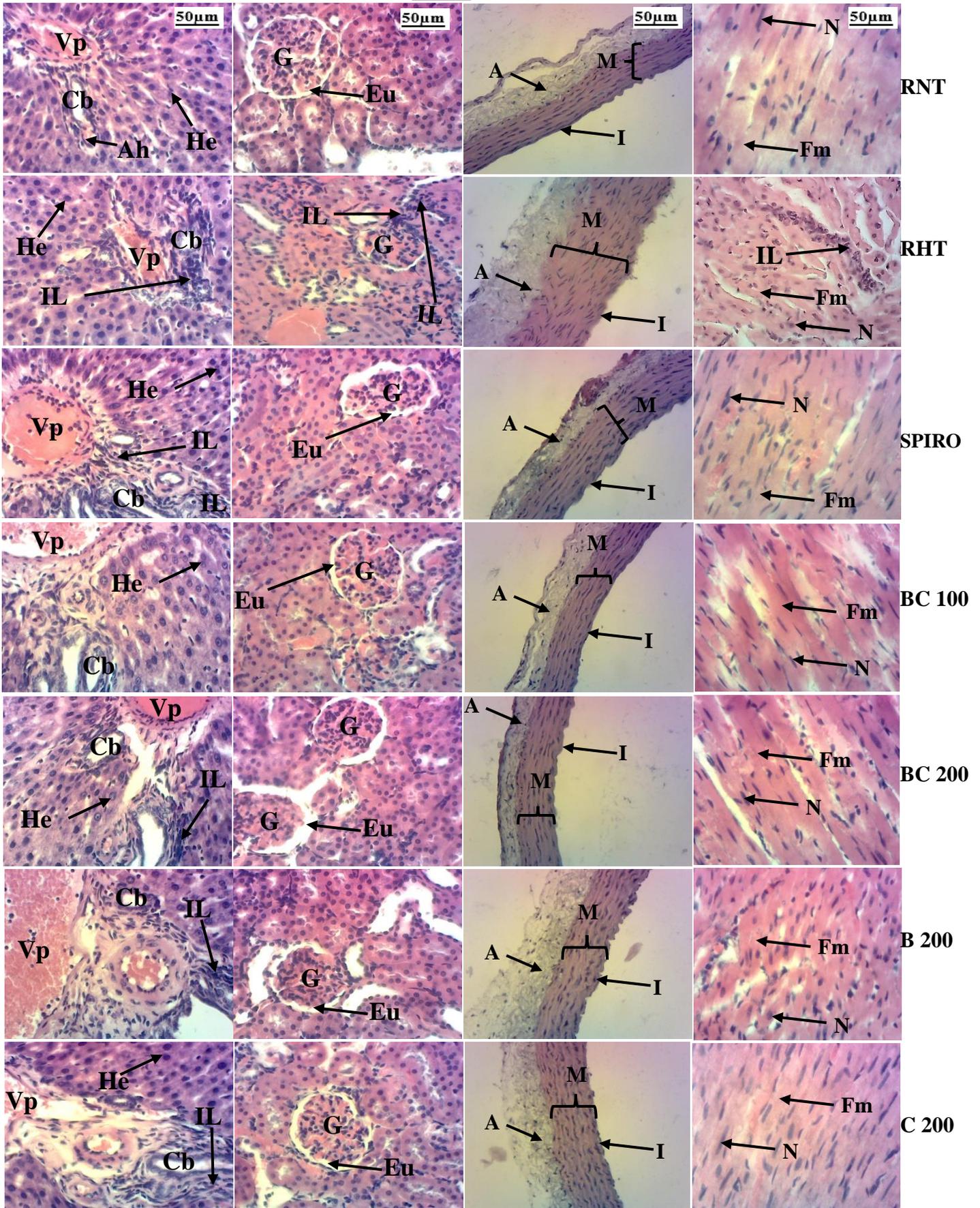
A

Foie

Rein

Aorte

Cœur



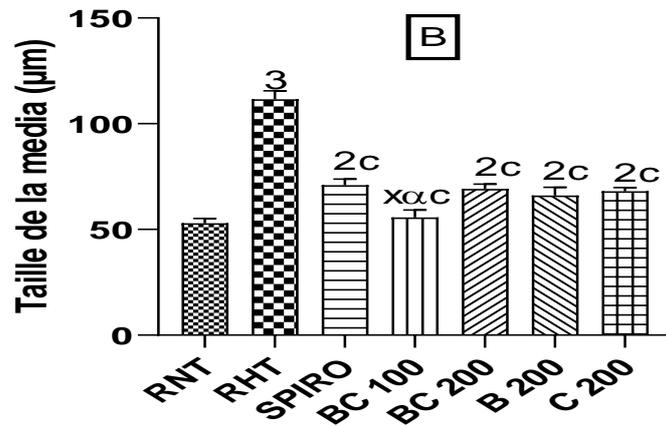


Figure 40: Effets de l'extrait aqueux du mélange *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture (A) du foie (200X, He), du rein (200X, He), du cœur (200X, He) et de l'aorte (100X, He) et sur l'histomorphométrie (B) de l'aorte des rats en traitement curatif de l'hypertension artérielle secondaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ($n = 6 \times 13$). $x p < 0,05$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *B. pilosa*. RNT : rats normaux recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), RHT : rats hypertendus recevant de l'eau distillée (10 mL/kg), SPIRO: rats hypertendus recevant la spironolactone (10 mg/kg), BC 100 et BC 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* respectivement aux doses de 100 et de 200 mg/kg, B 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *B. pilosa* (200 mg/kg), C 200 : rats hypertendus recevant l'extrait aqueux de *C. citratus* (200 mg/kg), **Foie** : **Vp** = Veine porte, **He** = Hépatocyte, **Cb** = Canalicule biliaire, **IL** = Infiltration leucocytaire, **Ah** = Artère hépatique ; **Rein** : **G** = Glomérule, **Eu** = Espace urinaire, ; **Aorte** : **A** : Adventice, **M** = Média, **I** = Intima, **Cœur** : **N** = Noyau, **Fm** = Fibre musculaire. $\alpha p < 0,05$: différence significative par rapport aux rats traités à l'extrait aqueux de *C. citratus*.

III.1.7 Toxicité de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

III.1.7.1 Toxicité aiguë

III.1.7.1.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le comportement et la mortalité des rats

Les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le comportement et la mortalité des rats femelle et mâle sont consignés dans le Tableau XLI. L'administration de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 2000 et de 5000 mg/kg, par rapport au témoin normal, n'a provoqué aucun signe apparent de toxicité aussi bien durant les 4 premières heures après administration, que pendant les 14 jours d'expérimentation. L'extrait n'a entraîné aucune modification visible sur l'aspect du pelage, l'agressivité, la mobilité, la sensibilité au bruit et au toucher, et sur l'aspect des selles et des yeux des animaux tests en comparaison au groupe témoin normal. Tous les animaux qui ont commencé le test ont été retrouvés vivants et en bonne santé deux semaines après le début de l'évaluation de la toxicité aiguë de cet extrait de mélange de plantes.

Tableau XLI : Comportement et taux de mortalité des rats au cours de l'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus*

Groupes		Locomotion	Sensibilité			Aspect des selles	Etat du pelage	Taille de l'échantillon	
			Toucher	Bruit	Agressivité			Nombre initial	Nombre final
TN 10 mg/kg	Femelles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3
	Mâles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3
BC 2000 mg/kg	Femelles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3
	Mâles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3
BC 5000 mg/kg	Femelles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3
	Mâles	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 jours	N	N	N	G	N	3	3

Réaction : Normale (N) ; **Aspect des selles :** Granuleux (G). **TN** = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg), **BC 2000** et **BC 5000** = rats normaux traités à l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* aux doses de 2000 et de 5000 mg/kg.

III.1.7.1.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats et le poids relatif des organes

Les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats mâles (A) et femelles (B) et le poids relatif de quelques organes des rats mâles (C) et femelles (D) sont résumés sur la Figure 41 ci-après. L'administration d'une dose orale unique de l'extrait aux doses de 2000 et de 5000 mg/kg chez les animaux sains des deux sexes n'a pas entraîné de modification significative du poids corporel et du poids relatif des organes par rapport au témoin normal.

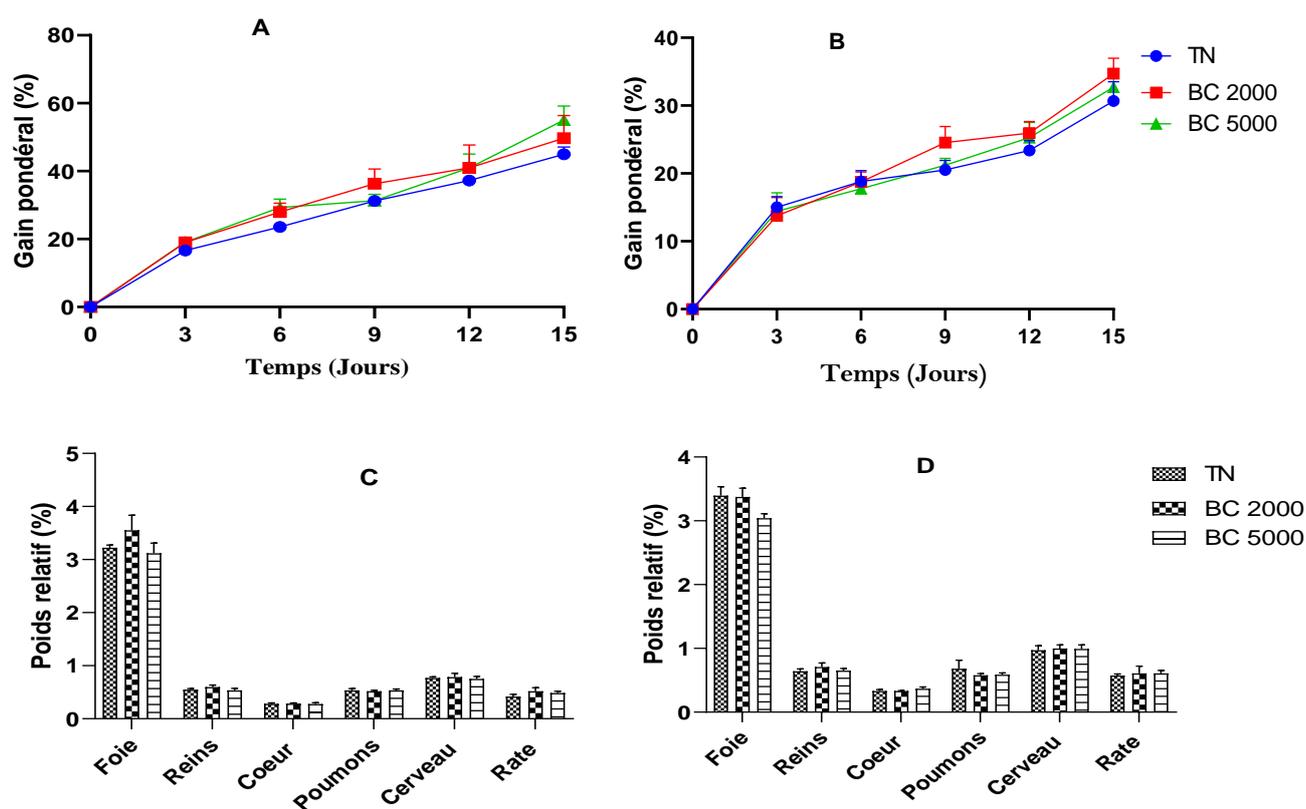


Figure 41: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution du gain pondéral des rats mâles (A) et femelles (B) et le poids relatif de quelques organes des rats mâles (C) et femelles (D) en toxicité aiguë.

Chaque barre et point représentent la moyenne \pm ESM, $n = 3$; TN = rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg), BC 2000 et BC 5000 = rats normaux traités à l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* aux doses de 2000 et de 5000 mg/kg.

III.1.7.2 Toxicité subchronique

III.1.7.2.1 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats mâles et femelles

Les données consignées dans la Figure 42 résument les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le poids corporel des mâles (A) et des femelles (B). Les résultats montrent que chez les rats mâles, aucune différence significative n'a été observée chez tous les lots traités aussi bien pendant 28 jours que pendant 56 jours. Chez les rats femelles, le gain pondéral des animaux traités à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 200 et de 400 mg/kg était significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des animaux témoins normaux de la deuxième semaine jusqu'à la fin du traitement.

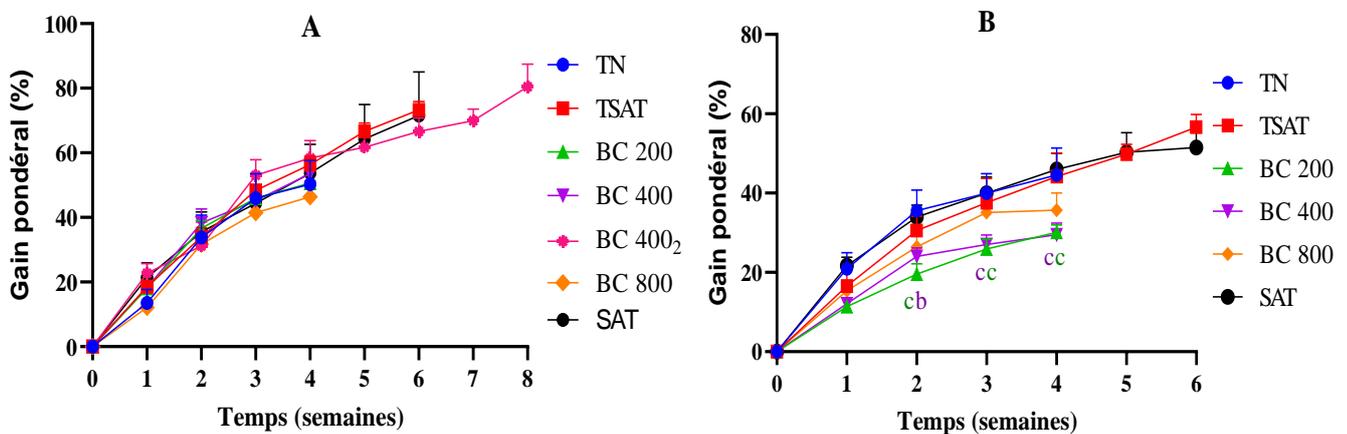


Figure 42: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le gain pondéral des rats mâles (A) et femelles (B) en toxicité subchronique.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM. $n = 5$. $b p < 0,01$; $c p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins normaux. TN : rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg); TSAT : rats satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800 : rats normaux recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; BC 400₂ : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours ; SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg.

III.1.7.2.2 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le poids relatif de quelques organes

Les données consignées dans les tableaux XLII et XLIII résument respectivement chez les femelles et les mâles les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur le poids relatif de quelques organes. Les résultats montrent que chez les rats femelles et

mâles, aucune différence significative du poids relatif de tous les organes investigués n'a été observée chez tous les lots traités.

Tableau XLII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le poids relatif des organes des femelles en toxicité subchronique

Organes	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT	
Poids relatif (%)	Foie	2,92	2,92	2,90	2,82	2,92	3,04
		± 0,05	± 0,06	± 0,06	± 0,07	± 0,11	± 0,16
	Reins	0,59	0,61	0,57	0,61	0,64	0,65
		± 0,02	± 0,04	± 0,02	± 0,03	± 0,02	± 0,04
	Cœur	0,31	0,30	0,32	0,29	0,30	0,31
		± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,02
	Poumons	0,63	0,58	0,65	0,66	0,60	0,67
		± 0,05	± 0,06	± 0,03	± 0,06	± 0,07	± 0,06
	Cerveau	0,85	0,81	0,85	0,85	0,83	0,85
		± 0,03	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,02
	Rate	0,43	0,44	0,41	0,44	0,47	0,49
		± 0,04	± 0,01	± 0,03	± 0,03	± 0,07	± 0,03

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM. n = 5. TN : rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg); TSAT : rats satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800: animaux recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg.

Tableau XLIII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur le poids relatif des organes des mâles en toxicité subchronique

Organes	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 400 ₂	BC 800	SAT
Foie	3,01	2,87	2,70	2,83	2,93	2,69	2,64
	± 0,11	± 0,08	± 0,16	± 0,12	± 0,22	± 0,06	± 0,08
Reins	0,53	0,50	0,57	0,55	0,55	0,54	0,51
	± 0,03	± 0,01	± 0,03	± 0,01	± 0,11	± 0,03	± 0,02
Poids relatif (%)	0,29	0,29	0,30	0,31	0,32	0,30	0,28
	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,02
Poumons	0,63	0,54	0,63	0,60	0,61	0,59	0,58
	± 0,09	± 0,04	± 0,05	± 0,06	± 0,06	± 0,05	± 0,05
Cerveau	0,66	0,65	0,71	0,71	0,68	0,72	0,68
	± 0,04	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,05	± 0,01	± 0,03
Rate	0,42	0,32	0,35	0,37	0,40	0,38	0,36
	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,01	± 0,5	± 0,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM. n = 5. TN : rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg); TSAT : rats satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800: animaux recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; BC 400₂ : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours ; SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg.

III.1.7.2.3 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques paramètres biochimiques sériques

Les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques marqueurs sériques de la fonction hépatique et rénale, respectivement chez les femelles et les mâles sont résumés dans les Tableaux XLIV et XLV. L'extrait aqueux aux doses de 200 et de 400 mg/kg a entraîné chez les femelles une augmentation significative ($p < 0,05$) de la concentration de cholestérol total respectivement de 21,37 % et de 21,76 % comparativement aux témoins normaux (Tableau XLIV). Chez les mâles, il ressort du Tableau XLV que l'administration chronique de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* aux doses de 200 et de 400 mg/kg a entraîné une diminution significative de la concentration de créatinine respectivement de 13,16 % ($p < 0,05$) et de 21,93 % ($p < 0,001$) comparativement aux animaux témoins normaux.

Tableau XLIV: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques paramètres biochimiques sériques des rats femelles en toxicité subchronique

Paramètres	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
PT	0,90	0,95	0,88	0,93	0,93	0,98
(mg/dL)	± 0,51	± 0,46	± 0,14	± 0,57	± 0,24	± 0,19
ASAT	71,80	76,70	74,50	79,60	80,40	75,80
(UI/L)	± 3,20	± 3,78	± 4,89	± 3,33	± 4,90	± 2,34
ALAT	34,41	31,29	33,99	40,45	41,43	39,02
(UI/L)	± 1,45	± 1,60	± 2,89	± 3,67	± 3,60	± 2,24
BT	0,37	0,66	0,55	0,90	0,66	0,46
(mg/dL)	± 0,09	± 0,32	± 0,20	± 0,18	± 0,29	± 0,16
Créatinine	0,99	0,98	0,94	0,90	0,92	0,90
(mg/dL)	± 0,04	± 0,04	± 0,03	± 0,03	± 0,03	± 0,02
Urée	33,51	35,58	32,45	30,08	37,92	36,20
(mg/dL)	± 1,04	± 0,44	± 0,23	± 0,63	± 0,21	± 0,32
Acide urique	2,89	3,08	2,94	3,00	2,92	2,80
(mg/dL)	± 0,14	± 0,09	± 0,13	± 0,33	± 0,12	± 0,07
CT	54,07	49,79	65,63	65,84	43,82	42,34
(mg/dL)	± 2,76	± 5,38	± 4,81 ^a	± 3,62 ^a	± 2,87	± 4,69
TG	32,13	28,93	40,08	43,88	36,91	34,07
(mg/dL)	± 1,34	± 1,58	± 3,21	± 4,30	± 2,18	± 1,90
HDL-C	34,45	27,89	38,06	42,37	35,44	30,21
(mg/dL)	± 1,68	± 0,85	± 3,74	± 4,79	± 2,18	± 2,90

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M. n = 5. a p < 0,05 : différence significative par rapport aux témoins normaux. TN rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg) ; TSAT : rats satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800 : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg. PT : protéines totale, ALAT : alanine aminotransférase, ASAT : aspartate aminotransférase. BT : bilirubine totale, CT : cholestérol total, HDL-C : HDL-cholestérol, TG : triglycérides.

Tableau XLV: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur quelques paramètres biochimiques sériques des rats mâles en toxicité subchronique

Paramètres	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 400 ₂	BC 800	SAT
PT	0,92	0,97	0,72	0,93	1,04	0,96	0,99
(mg/dL)	± 0,51	± 0,29	± 0,15	± 0,71	± 1,30	± 0,29	± 0,38
ASAT	70,20	79,60	67,00	71,00	76,11	69,30	72,10
(UI/L)	± 4,24	± 2,45	± 3,90	± 3,20	± 3,23	± 2,34	± 2,78
ALAT	32,94	35,96	31,12	32,34	46,11	35,49	31,31
(UI/L)	± 3,67	± 2,60	± 3,49	± 3,45	± 3,23	± 2,20	± 2,89
BT	1,57	1,24	1,16	1,23	1,20	0,90	1,80
(mg/dL)	± 0,33	± 0,40	± 0,26	± 0,12	± 0,01	± 0,10	± 0,30
Créatinine	1,14	1,08	0,99	0,89	0,96	1,01	1,11
(mg/dL)	± 0,03	± 0,01	± 0,03 ^a	± 0,04 ^c	± 0,03 ^a	± 0,01	± 0,03
Urée	30,89	31,67	33,50	33,09	23,47	33,52	30,24
(mg/dL)	± 0,53	± 0,43	± 0,20	± 0,34	± 0,71	± 0,21	± 0,56
Acide urique	3,89	3,58	3,54	3,60	3,26	3,92	2,98
(mg/dL)	± 0,37	± 0,45	± 0,23	± 0,80	± 0,40	± 0,40	± 0,27
CT	72,83	90,07	72,24	64,34	69,76	67,14	72,21
(mg/dL)	± 2,49	± 3,47	± 3,97	± 2,38	± 0,76	± 3,36	± 3,92
TG	41,55	43,36	34,31	41,49	32,86	33,51	42,64
(mg/dL)	± 2,07	± 2,10	± 3,57	± 2,37	± 1,06	± 3,86	± 3,09
HDL-C	39,45	46,18	37,16	34,99	41,30	33,91	31,74
(mg/dL)	± 2,65	± 2,78	± 2,96	± 3,12	± 5,39	± 2,28	± 2,20

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M. n = 5. a p < 0,05 ; c p < 0,001: différence significative par rapport aux témoins normaux. TN rats normaux ayant reçu de l'eau distillée (10 mL/kg); TSAT : rats satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800: rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; BC 400₂ : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours ; SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg. PT: protéines totale, ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase. BT : bilirubine totale, CT: cholestérol total, HDL-C: HDL-cholestérol, TG: triglycérides.

III.1.7.2.4 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les éléments figurés du sang

Les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur quelques éléments figurés du sang sont consignés dans les tableaux XLVI (femelle) et XLVII (mâle).

Il a été observé chez les mâles ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 200 mg/kg une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de monocytes, par rapport aux témoins normaux. Chez les femelles, aucune différence significative des éléments figurés du sang n'a été observée chez tous les lots traités.

Tableau XLVI: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les éléments figurés du sang des rats femelles en toxicité subchronique

Paramètres	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
GB	14,65	13,36	11,88	13,70	13,81	14,84
(* 10 ³ /μL)	± 1,50	± 0,68	± 1,90	± 0,87	± 0,34	± 0,34
GR	8,43	8,01	8,29	8,45	7,95	8,18
(* 10 ³ /μL)	± 0,11	± 0,21	± 0,21	± 0,20	± 0,23	± 0,47
LYM	11,46	9,60	8,47	5,23	8,67	7,44
(* 10 ³ /μL)	± 0,94	± 0,81	± 1,45	± 2,06	± 0,76	± 1,51
MON	0,36	0,37	0,31	0,35	0,32	0,29
(* 10 ³ /μL)	± 0,04	± 0,01	± 0,03	± 0,05	± 0,09	± 0,12
NEUT	3,87	2,93	2,84	4,02	3,31	3,65
(* 10 ³ /μL)	± 0,75	± 0,13	± 0,80	± 0,83	± 0,60	± 0,25
EO	0,24	0,26	0,24	0,12	0,22	0,17
(* 10 ³ /μL)	± 0,06	± 0,07	± 0,03	± 0,02	± 0,12	± 0,07
BASO	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
(* 10 ³ /μL)	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01
Hémoglobines	14,27	13,50	13,90	14,33	13,73	13,43
(g/dL)	± 0,27	± 0,46	± 0,30	± 0,43	± 0,15	± 0,67
PLT	853,50	755,50	871,00	951,30	926,70	1003
(* 10 ³ /μL)	± 77,50	± 59,50	± 40,00	± 67,98	± 30,47	± 11,50
HCT (%)	51,57	49,27	50,50	52,37	51,20	49,13
	± 0,80	± 1,18	± 1,61	± 1,02	± 1,45	± 2,96

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M. n = 5. a $p < 0,05$: différence significative par rapport aux témoins normaux. TN: rats normaux ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; TSAT : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800: rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; BC 400₂ : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours, SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg. GB: globules blancs, GR: globules rouges, LYM: lymphocytes, MON: monocytes, NEUT: neutrophiles, EO: éosinophiles, BASO: basophiles, PLT: plaquettes sanguines, HCT: hématocrite.

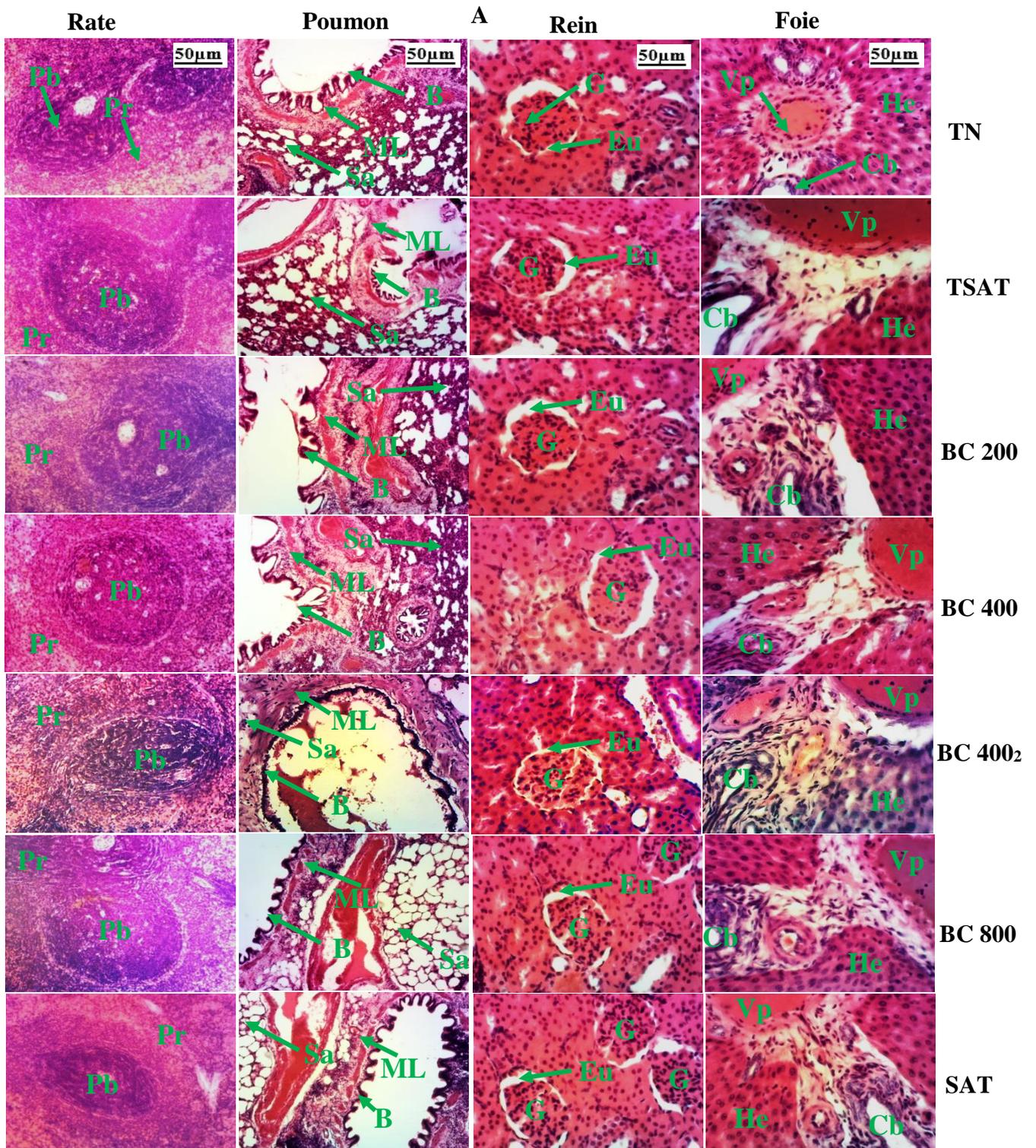
Tableau XLVII: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur les éléments figurés du sang des rats mâles en toxicité subchronique

Paramètres	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 400 ₂	BC 800	SAT
GB	12,23	10,97	13,05	15,58	13,51	14,48	13,70
(* 10 ³ /μL)	± 0,87	± 0,38	± 0,55	± 0,85	± 0,31	± 2,48	± 0,94
GR	8,77	8,75	8,39	8,98	8,08	8,57	9,57
(* 10 ³ /μL)	± 0,21	± 0,24	± 0,42	± 0,07	± 0,45	± 0,48	± 0,17
LYM	8,55	7,01	8,86	10,99	9,58	12,65	12,16
(* 10 ³ /μL)	± 0,67	± 0,09	± 0,69	± 0,50	± 0,35	± 1,04	± 1,11
MON	0,29	0,40	0,60	0,52	0,46	0,39	0,35
(* 10 ³ /μL)	± 0,07	± 0,22	± 0,02 ^a	± 0,09	± 0,07	± 0,04	± 0,01
NEUT	3,29	3,84	3,36	4,22	3,22	4,35	3,50
(* 10 ³ /μL)	± 0,21	± 0,67	± 0,84	± 0,47	± 0,31	± 0,68	± 0,25
EO	0,09	0,22	0,04	0,14	0,10	0,17	0,22
(* 10 ³ /μL)	± 0,01	± 0,08	± 0,02	± 0,04	± 0,11	± 0,02	± 0,09
BASO	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
(* 10 ³ /μL)	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01
Hémoglobines	15,10	14,60	14,60	14,97	13,69	14,47	15,73
(g/dL)	± 0,11	± 0,69	± 0,12	± 0,28	± 0,31	± 0,24	± 0,32
PLT	816,00	920,70	904,30	869,70	910,70	1023,00	759,00
(* 10 ³ /μL)	± 87,00	± 46,24	± 20,41	± 35,35	± 41,03	± 20,50	± 83,00
HCT (%)	55,07	53,30	55,23	55,87	50,23	54,53	57,10
	± 1,06	± 2,94	± 1,19	± 1,14	± 0,94	± 0,83	± 1,22

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M. n = 5. a p < 0,05 : différence significative par rapport aux témoins normaux. **TN**: rats normaux ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; **TSAT** : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; **BC 200, BC 400, BC 800**: rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg ; **BC 400₂** : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours, **SAT** : animaux satellites traités à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg. **GB**: globules blancs, **GR**: globules rouges, **LYM**: lymphocytes, **MON**: monocytes, **NEUT**: neutrophiles, **EO**: éosinophiles, **BASO**: basophiles, **PLT**: plaquettes sanguines, **HCT**: hématocrite.

III.1.7.2.5 Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur la l'architecture du foie, du rein, de la rate et des poumons

La Figure 43 présente les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'architecture du foie, des reins, de la rate et des poumons des rats mâles (A) et femelles (B). Les coupes histologiques du foie, des animaux du groupe témoin normal, des groupes traités avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg ainsi que celles des groupes satellites montrent une architecture normale du parenchyme hépatique avec une veine centro-lobulaire et des hépatocytes bien distincts. L'histologie du rein a montré un parenchyme normal avec un glomérule et un espace urinaire bien distinct. Chez tous les groupes traités, l'histologie des poumons a montré une bronche, des sacs alvéolaires et un muscle lisse bien distincts. L'histologie de la rate a montré une pulpe blanche et rouge bien distincte. Chez les rats mâles ayant reçu pendant 56 jours l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg, l'histologie des organes suscités n'a montré aucune modification pathologique.



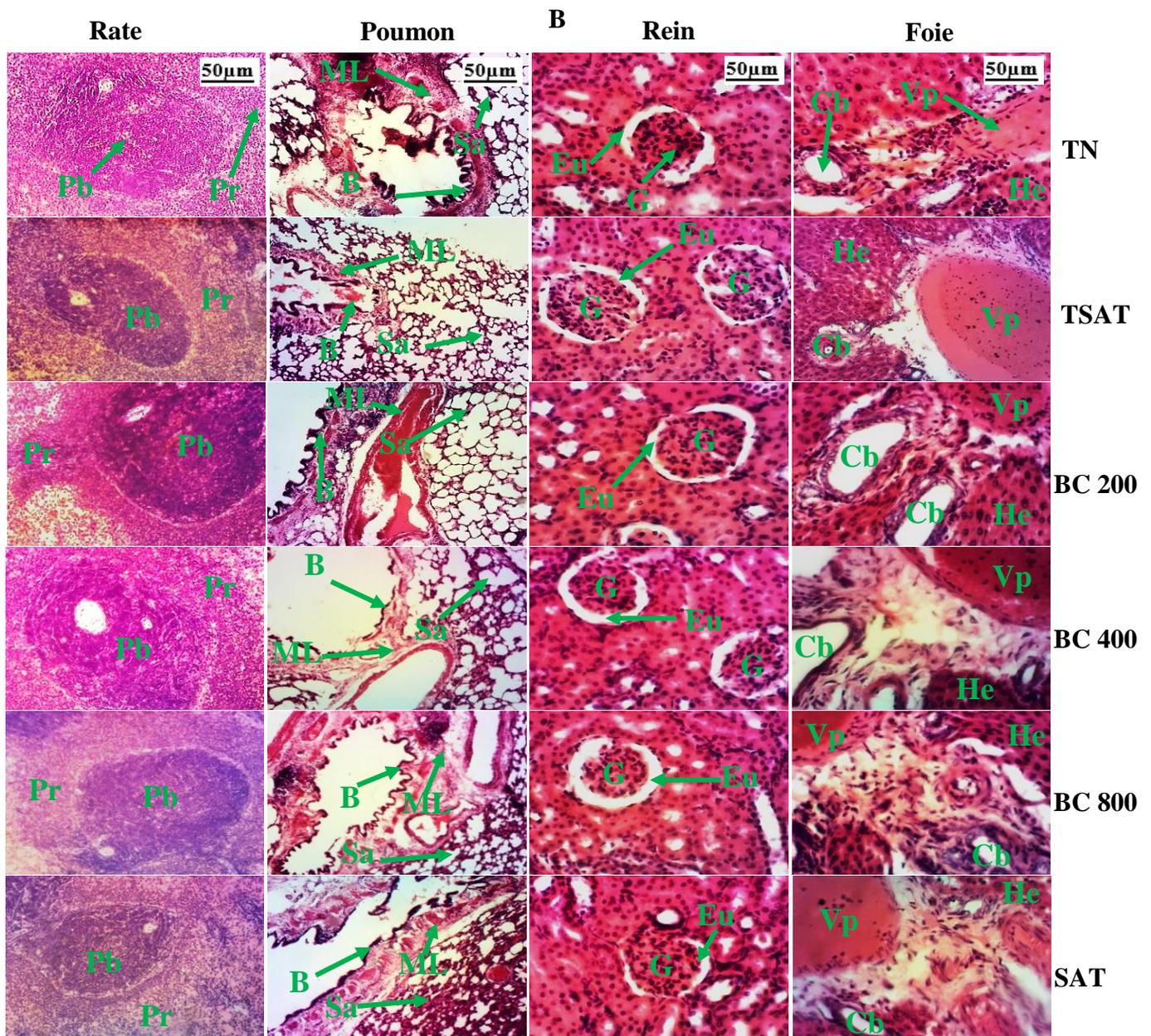


Figure 43: Effets de l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et de *Cymbopogon citratus* sur l'architecture du foie, des reins, de la rate et des poumons chez les rats mâles (A) et femelles (B) en toxicité subchronique.

TN: rats normaux ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; TSAT : animaux satellites ayant reçu de l'eau distillée à raison de 10 mg/kg ; BC 200, BC 400, BC 800: groupes recevant l'extrait aqueux du mélange de *Bidens pilosa* et *Cymbopogon citratus* aux doses respectives de 200, 400 et de 800 mg/kg.; BC 400₂ : rats recevant l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à la dose de 400 mg/kg pendant 56 jours SAT : animaux satellites traités à l'extrait aqueux (800 mg/kg). Foie : Vp = Veine porte ; He = Hépatocyte ; Cb = Canalicule biliaire ; Rein : G = Glomérule ; Eu = Espace urinaire ; Poumon : ML = Muscle lisse ; Sa = sac alvéolaire ; B = Bronche ; Rate : Cg = centre germinal ; Pb = pulpe blanche ; Pr = pulpe rouge. n = 5; X: 100X (rate et poumon), 200X (rein et foie).

III.2 Discussion

L'hypertension artérielle (HTA) est une maladie chronique donc la prise en charge fait recours en première intention à la monothérapie. Sur le critère d'efficacité (normalisation tensionnelle) la polythérapie est généralement recommandée en cas d'échec de la monothérapie. Cet intérêt pour la polythérapie est lié aussi bien à l'efficacité qu'à la réduction des doses. La présente étude a été menée afin d'évaluer les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'hypertension artérielle essentielle (induite par la L-NAME) et secondaire (induite par une solution d'alcool+sel) chez le rat.

L'augmentation des paramètres hémodynamiques (pression artérielle et fréquence cardiaque) observée après induction aussi bien de l'HTA primaire que secondaire était la preuve que les animaux étaient hypertendus. La pression artérielle est le produit du débit cardiaque et des résistances vasculaires périphériques. Dès lors, toute augmentation de l'un de ces paramètres augmente directement la pression artérielle (PA). La L-NAME est un analogue structural de la L-arginine qui entraîne une diminution du NO dans l'endothélium vasculaire par inhibition de l'oxyde nitrique synthase endothélial (NOS). Cette action aboutit à une augmentation des résistances vasculaires globales par diminution du taux de guanosine monophosphate cyclique (GMPC). L'augmentation de la PA qui s'en suit entraîne par conséquent une HTA (Ntchapda *et al.*, 2020; Metchi *et al.*, 2021). L'excès d'alcool et/ou de sel est la cause la plus importante de l'hypertension et de l'augmentation des risques cardiovasculaires dans le monde (Wake, 2021). Utilisées séparément, l'alcool et le sel permettent l'induction de deux modèles avérés d'HTA (Bella *et al.*, 2013; Bilanda *et al.*, 2019). La combinaison de ces deux substances évaluées dans la présente étude constitue un modèle d'HTA que nous avons mis sur pied. Selon Wake, (2021), l'alcool ou ses dérivés métaboliques agissent au niveau des cellules musculaires lisses en détruisant les fibres élastiques et en augmentant la sensibilité vasculaire aux amines vasomotrices, ce qui conduit à l'hypertension via une augmentation des résistances vasculaires périphériques. L'alcool induit également l'activation du système nerveux sympathique par une augmentation de la corticolibérine hypothalamique, ce qui entraîne une hypersécrétion de catécholamines, d'angiotensine et d'aldostérone qui affectent à la fois le débit cardiaque (tachycardie) et les résistances périphériques (vasoconstriction) responsable de l'hypertension. Le sel entraîne l'augmentation de la réabsorption rénale de sodium en activant l'antiport Na^+/H^+ au niveau du tube proximal, le co-transporteur $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ au niveau de la branche ascendante de Henlé, le co-transporteur Na^+/Cl^- au niveau du tube distal et en stimulant le canal sodique épithélial au niveau du tubule

connecteur et du canal collecteur. L'augmentation de la réabsorption du sodium va entraîner une augmentation de la volémie favorisant de ce fait une augmentation du débit cardiaque (Zheng *et al.*, 2019). Le sel altère également la fonction vasculaire en entraînant un dysfonctionnement de l'endothélium et par conséquent l'augmentation des résistances périphériques (Zheng *et al.*, 2019). Dans le présent modèle, les deux substances (alcool et sel) auraient agi de façon additive pour augmenter la PA. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* et les extraits de plantes isolées ont empêché et corrigé respectivement en traitement préventif et curatif les modifications hémodynamiques engendrées aussi bien par la solution alcool+sel que par la L-NAME. Les résultats obtenus avec les deux extraits des plantes isolées confirment les effets antihypertenseurs de *B. pilosa* (Dimo *et al.*, 2002; Bilanda *et al.*, 2017) et *C. citratus* (Simões *et al.*, 2020) déjà démontrés. La dose la plus faible de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* (100 mg/kg) a eu les mêmes effets que les plantes prises séparément à une dose plus grande (200 mg/kg) aussi bien en traitement préventif que curatif des différents modèles d'hypertension artérielle étudiés dans ce travail. Ce résultat suggère qu'en combinant *B. pilosa* et *C. citratus* on maintiendrait les effets antihypertenseurs de ces plantes tout en réduisant la dose. Les effets antihypertenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* observés dans la présente étude passeraient entre autres par ses effets hypotenseurs directs. Certains auteurs ont en effet montré que les effets antihypertenseurs de certains médicaments utilisés dans la prise en charge de l'HTA passent par leur activité hypotensive (Leclerc, 2013; Louardi, 2022). C'est d'ailleurs le cas de certains extraits de plantes à l'exemple de *Terminalia superba* (Tom *et al.*, 2011). La baisse de la pression immédiate et même tardive lors de l'administration intra veineuse de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* à des rats normotendus confirme son activité hypotensive avec des meilleurs effets à la dose de 10 mg/kg. Cette activité passerait par une action directe sur le cœur (baisse immédiate) et une action au niveau vasculaire (baisse tardive). Une étude plus poussée des mécanismes d'action de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a montré que ces effets ne passent ni par la synthèse de prostacycline ni par l'activation des récepteurs β adrénergiques. En effet, le prétraitement des rats au propranolol (β -bloquant) ou à l'indométacine (inhibiteur de la synthèse de la prostacycline) n'a pas affecté l'effet hypotenseur de l'extrait. Cet effet hypotenseur passerait plutôt par et l'activation des récepteurs muscariniques et ceux de l' α_2 -adrénergiques. En effet, l'hypotension induite par l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a été inhibée par un prétraitement à l'atropine, la yohimbine et la L-NAME. L'atropine (antagonistes compétitifs de l'acétylcholine) agit sur les récepteurs muscariniques M_3 au niveau des muscles lisses vasculaires pour inhiber

la libération du NO et donc la relaxation par diminution du calcium intracellulaire. L'atropine en se fixant sur les récepteurs muscariniques M₂ au niveau du cœur diminue ou supprime le tonus parasympathique (vagal en particulier), par prédominance du tonus orthosympathique. La yohimbine (antagoniste sélectif des récepteurs α_2 -adrénergiques) stimule la diminution de la libération de noradrénaline au niveau des terminaisons de l'orthosympathique (Etou *et al.*, 2017). Dimo *et al.*, (2001) ont montré que l'extrait de *B. pilosa* serait un antagoniste calcique car il agirait en augmentant l'échange Na⁺/Ca²⁺ et mobilisant de ce fait le calcium intracellulaire. Silva et Rita, (2022) ont montré que le citral (principal constituant de *C. citratus*) présente une activité vasorelaxante, en agissant par la stimulation de la sécrétion de l'oxyde nitrique et par le blocage des canaux calciques au niveau des muscles lisses vasculaires. Le citral présente également un effet chronotrope négatif, probablement dû à une activité parasympathique par stimulation des récepteurs muscariniques cardiaques (Silva et Rita, 2022). Les effets hypotenseurs et antihypertenseurs de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* seraient médiés au moins en partie par stimulation des récepteurs muscariniques et α_2 -adrénergiques au niveau cardiaque et vasculaire. Cet extrait aurait donc une activité cardio-dépressive (diminution de la vitesse de conduction, de la contractilité et de l'excitabilité du muscle cardiaque) et vasodilatatrice (diminution des résistances vasculaires périphériques).

Les dyslipidémies et l'athérosclérose sont des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (Badimon et Vilahur, 2012). L'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie sont des facteurs qui seuls ou ensemble pourraient accélérer le développement des maladies coronaires et la progression des lésions athérosclérotiques (Badimon et Vilahur, 2012). L'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie obtenus dans cette étude pourraient être le résultat des effets de l'éthanol et/ou du sel (HTA secondaire) ou de la L-NAME (HTA essentielle). En effet, l'alcool agirait en augmentant la biodisponibilité des acides gras libres (glycérophosphates), en réduisant l'activité des enzymes lipoprotéine lipase et triglycéride lipase et en diminuant l'oxydation des graisses, provoquant ainsi l'accumulation de lipides dans le sérum (Paquot, 2019). Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec les travaux de Olaleye *et al.* (2014) qui ont montré qu'un régime riche en sel (8%) pendant six semaines provoquait une augmentation significative des concentrations sériques de cholestérol total, de triglycérides et de lipoprotéines de basse densité (LDL-Chol) ainsi qu'un faible taux de lipoprotéines de haute densité (HDL-Chol). Selon ces auteurs, les dyslipidémies observées pourraient favoriser le développement de plaques d'athérome dans les artères et par conséquent l'hypertension artérielle. Les résultats obtenus avec la L-NAME sont en accord avec ceux de Metchi *et al.* (2021) qui ont montré que la L-NAME pouvait entraîner

des dyslipidémies chez le rat. Plusieurs études ont montré que le blocage de la NO synthase par la L-NAME pouvait conduire à une altération du métabolisme des lipides (Saravanakumar et Raja, 2012; Abdel-Rahman *et al.*, 2017). En fait, l'oxyde nitrique joue un rôle important dans la régulation du métabolisme des lipides. Le NO induit une activation de la protéine de liaison à l'élément régulateur du stérol « SREBP-2 sterol regulatory element binding protein ». Le SREBP-2 facteur de transcription nécessaire au métabolisme du cholestérol et à l'expression du récepteur des LDL entraîne l'absorption du cholestérol par les cellules hépatiques. Cette absorption hépatique joue un rôle important dans la normalisation du cholestérol sanguin. L'inhibition de l'oxyde nitrique synthase par la L-NAME entraîne une augmentation des taux de cholestérol total, de LDL-Chol et une réduction du taux de HDL-Chol (Noda *et al.*, 2015; Choe *et al.*, 2016). Il n'est pas non plus à exclure que des chiffres tensionnels élevés, indépendamment du modèle entraînent à la longes des dyslipidémies (Louardi, 2022). D'après Ikewuchi (2012), les indices athérogènes (ratio risque cardiaque et coefficient athérogène entre autres) sont de puissants prédictors du risque de maladie cardiaque ; le risque de développer des maladies cardiovasculaires augmente avec l'augmentation des valeurs de ces indices et vice versa. Badimon et Vilahur, (2012) ont montré que la pathogénie de l'athérosclérose se traduit par une perte d'élasticité liée à des modifications structurales de la média. Il en résulte une diminution de la compliance des artères élastiques et une perte de la fonction endothéliale qui conduit de ce fait à l'HTA par augmentation des résistances vasculaires. Dans la présente étude, aussi bien le mélange alcool+sel (HTA secondaire) que la L-NAME (HTA essentielle) a entraîné une modification structurale de la média marquée par son épaissement. Cette modification pourrait être due à une accumulation de lipides dans la paroi artérielle. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* tout comme les extraits de plantes isolées et les substances de références (la spironolactone et le captopril) a empêché et corrigé respectivement en traitements préventif et curatif les dyslipidémies, les risques cardiovasculaires et l'épaississement de la média médiés par la solution alcool+sel et la L-NAME. Ces effets protecteurs étaient plus marqués avec le mélange des deux de plantes, surtout à la dose la plus faible (100 mg/kg) comparativement aux plantes prises séparément. Ceci confirme une additivité des effets hypolipidémiantes des deux plantes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Ogonnia *et al.*, 2008 qui ont montré que l'extrait hydro-éthanolique du mélange de *Treculia africana* et *Bryophyllum pinnatum* avait de meilleurs effets hypoglycémiantes et hypolipidémiantes que les extraits isolés des deux plantes sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine. Les effets hypolipidémiantes du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* pourraient être attribués aux effets synergiques des composés bioactifs à l'exemple des polyphénols et des

flavonoïdes présents dans chaque plante. Les polyphénols et les flavonoïdes sont des substances qui entrent dans l'arsenal thérapeutique de la lutte contre l'athérosclérose et les dyslipidémies qui constituent les facteurs favorisant de l'HTA (Guindo, 2006). Ces résultats obtenus avec l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* dans les modèles d'HTA essentielle et secondaire confirment les effets bénéfiques des mélanges de plantes comme agents hypolipidémisants et par conséquent comme antihypertenseurs. En régulant les valeurs tensionnelles et le profil lipidique, l'extrait du mélange des deux plantes préviendrait l'augmentation (en traitement préventif) et réduirait (en traitement curatif) l'épaisseur de la paroi des artères. Cela en retour empêcherait ou préviendrait l'augmentation des résistances vasculaires et contribuerait à prévenir l'augmentation des valeurs tensionnelles. Ces effets hypolipidémisants pourraient être l'un des mécanismes par lesquels l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* exerce ses effets antihypertenseurs.

Comme la plupart des maladies chroniques, l'hypertension artérielle s'accompagne généralement d'un stress oxydant. Dans la présente étude, la diminution des activités des enzymes antioxydantes (catalase et superoxyde dismutase), des taux d'antioxydants (glutathion réduit) et l'augmentation du malondialdéhyde (MDA) confirment l'état de stress oxydant chez les rats hypertendus. En effet, chez les patients hypertendus, on observe généralement la baisse des défenses antioxydantes (Leong *et al.*, 2015). Chen *et al.* (2020) ont montré que la consommation chronique d'une combinaison d'alcool et de sel pendant 4 semaines était à l'origine d'un stress oxydant marqué par une augmentation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de MDA. Les résultats obtenus avec la L-NAME dans le modèle HTA essentielle corroborent ceux de Metchi *et al.* (2021), qui ont montré que le traitement des rats à la L – NAME (40 mg/kg) pendant 4 semaines induit un stress oxydant. Le glutathion réduit (GSH) est l'antioxydant endogène le plus abondant dans les cellules eucaryotes qui interagit avec des espèces oxygénées activées, empêchant ainsi l'oxydation des substrats organiques (protéines, ADN, acides gras). Il réduit la production de H_2O_2 et prévient donc tout effet délétère qui se caractérise par la production de MDA (indice de la peroxydation lipidique résultant de la réaction des espèces oxygénées avec les acides gras membranaires) (Shelly, 2013). La SOD et la catalase sont des enzymes antioxydantes importantes qui contribuent à éliminer l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le H_2O_2 respectivement (Sebbar *et al.*, 2023). Lorsque ces espèces réactives d'oxygène (ERO) sont produites en abondance, la production de ces enzymes augmente ; puis à long terme diminue sous l'effet de leur épuisement. L-NAME et consommation chronique d'alcool et/ou de sel entraînent la surproduction des radicaux libres via l'augmentation de l'expression de la NADPH oxydase précurseurs de la synthèse des ERO. Cette surproduction

est à l'origine de l'épuisement des antioxydants et de la peroxydation des lipides membranaires (Nina, 2012; Bopda *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2019; Ballway et Song, 2021). Dans la présente étude, l'alcool et le sel auraient agi en synergie pour induire le stress oxydant chez les rats hypertendus. Des chiffres tensionnels élevés sont eux même responsables d'une surproduction des ERO dont l'action va exacerber l'hypertension. Le stress oxydant affecte généralement plusieurs organes, à l'exemple du foie qui joue un rôle important dans la régulation de la pression artérielle. En effet, le foie intervient dans la régulation de la pression artérielle en produisant l'angiotensinogène précurseur de la synthèse de l'angiotensine II, hormone clé du système rénine-angiotensine-aldostérone (régulation à long terme de la PA). Dans les deux modèles d'HTA (L-NAME et alcool+sel), la peroxydation des lipides membranaires des cellules hépatiques par les ERO, traduite par l'augmentation des taux de MDA explique l'augmentation de l'activité de l'ALAT et l'ASAT. En effet, ces hormones cytosoliques sont libérées dans la circulation après lyse des cellules hépatiques ; combinée à l'augmentation sérique de la concentration de bilirubine chez les rats hypertendus ; est une indication d'une atteinte hépatique. Une augmentation de l'activité de l'ALAT est presque toujours due à une lésion hépatocellulaire et s'accompagne généralement d'une augmentation de l'ASAT (Chen *et al.*, 2020; Ntchapda *et al.*, 2020). L'atteinte hépatique supposée dans la présente étude a été confirmée par l'ultrastructure du foie qui a montré une infiltration leucocytaire et des cytolyses des hépatocytes dans les modèles d'HTA essentielle et secondaire. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* tout comme les extraits de plantes isolées et les substances de références (spironolactone et captopril) a empêché et corrigé respectivement en traitements préventif et curatif le stress oxydant médié par la solution alcool+sel et la L-NAME. L'analyse histologique effectuée dans cette étude a confirmé l'effet hépatoprotecteur de cet extrait. La dose la plus faible de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* (100 mg/kg) a été plus efficace que les plantes prises séparément aussi bien en traitement préventif que curatif des différents modèles d'hypertension artérielle étudiés dans le présent travail. Ces résultats corroborent ceux de Eshrat & Hussain, (2002) qui ont obtenu de meilleurs effets antioxydants avec le mélange de *Curcuma longa* et *Abroma augusta* par rapport aux deux plantes utilisées séparément dans le modèle de diabète induit par la streptozotocine. L'activité antioxydante de l'extrait pourrait passer par un piégeage direct des radicaux libres. En effet, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* par sa plus grande capacité à donner des électrons (réduction de l'ABTS) qu'à accepter des protons (DPPH) pourrait stabiliser les radicaux libres avec une meilleure activité que celles des plantes prises séparément. Cette activité dominante de l'extrait a été confirmée par sa grande capacité à réduire le fer et est presque égale à celle

l'acide gallique utilisé comme molécule de référence. Ces résultats confortent l'idée selon laquelle l'interaction synergique des composés bioactifs à l'exemple des polyphénols et flavonoïdes (resvératrol, quercétine et citral entre autres) contenus dans chaque plante de ce mélange confère des meilleures propriétés antioxydantes à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus*. De plus, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a eu un taux d'extraction et une composition en polyphénols et en flavonoïdes plus importante que celle des extraits de plantes isolées. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* grâce à ses polyphénols et ses flavonoïdes serait donc capable de réduire les radicaux libres par acceptation d'un atome hydrogène et par transfert d'électron (Mbougou-bouesse *et al.*, 2022). Cette réduction des radicaux libres limiterait alors leur action sur les lipides membranaires et réduirait ainsi l'utilisation des antioxydants naturels (GSH, SOD et catalase). L'extrait pourrait également exercer son activité antioxydante en stimulant la production des antioxydants naturel (effet qui n'a cependant pas encore été mis en évidence). Cette activité antioxydante de l'extrait pourrait alors expliquer la réduction du MDA et l'augmentation du GSH, de la SOD et de la catalase après le traitement des rats hypertendus par l'extrait. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* grâce à son activité antioxydante exercerait son effet hépatoprotecteur et régulerait de ce fait la pression artérielle chez les animaux hypertendus.

Cette activité antioxydante de l'extrait pourrait aussi expliquer les résultats obtenus sur le rein. Le rein à travers le système rénine-angiotensine-aldostérone joue un rôle clé dans la régulation de la pression artérielle (régulation à long terme). L'HTA s'accompagne généralement d'une altération de la fonction rénale et vice-versa. Au cours de la présente étude, la fonction rénale a été affectée aussi bien dans le modèle d'HTA à la L-NAME que celui avec la solution inductrice alcool+sel. Cette altération a été marquée par une augmentation des concentrations sériques de créatinine, d'acide urique et d'urée ainsi que par une diminution du débit de filtration glomérulaire (marqueur quantitatif de la fonction rénale). Les dommages rénaux ont été confirmés dans ces modèles d'HTA par l'analyse de l'ultrastructure du rein caractérisées par une infiltration leucocytaire et une expansion mésangiale. Il a été constaté chez des personnes ayant consommé beaucoup d'alcool une augmentation de l'activité de la rénine, de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et de l'aldostérone. Ceci suggère que les niveaux d'angiotensine II sont augmentés chez ces personnes en raison d'une augmentation de ces éléments impliqués dans le système rénine-angiotensine-aldostérone (Wake, 2021). La consommation chronique de sel et la L-NAME stimulent aussi la production de l'angiotensine II et l'activation de ce système (Drenjacnevic-Peric *et al.*, 2011; Pechanova *et al.*, 2020). L'angiotensine II et l'aldostérone favorisent l'augmentation de la réabsorption tubulaire de

l'eau et des électrolytes augmentant ainsi le volume sanguin, et donc le débit cardiaque. Cette augmentation de la réabsorption des électrolytes a été confirmée dans la présente étude par une augmentation du taux de sodium dans le sérum et dans l'urine (HTA secondaire) ou des taux de sodium et de calcium dans le sérum (HTA essentielle). Bien que la solution alcool+sel, a augmenté l'excrétion urinaire chez les rats hypertendus, l'augmentation du taux plasmatique de sodium engendrée par cette solution conforte l'idée selon laquelle la diurèse causée par l'alcool serait moins importante que la rétention hydrosodée causée par le sel. Ce qui a d'ailleurs été confirmé dans la présente étude par une diminution (chez les rats hypertendus au mélange alcool+sel) du débit de filtration glomérulaire, qui est le meilleur marqueur quantitatif de la fonction rénale (Louardi, 2022). L'angiotensine II agit aussi sur le système nerveux central, en stimulant une augmentation de l'activité du nerf sympathique et la libération des agents vasoconstricteurs (augmentation des résistances vasculaires périphériques) comme la vasopressine (Caucanas et Blacher, 2018). Les altérations observées au niveau du rein seraient également dues au stress oxydant associé. L'urée, la créatinine et l'acide urique sont respectivement les catabolites de l'ammoniac, de la créatine et des nucléotides puriques libérés dans le sang et éliminés par le rein. Les dommages oxydatifs induits par les inducteurs au niveau glomérulaire seraient donc à l'origine de la diminution du taux de filtration et de la clairance de ces substances (Ojeda *et al.*, 2012). Des études ont montré que l'augmentation des taux plasmatiques d'urée et de créatinine est un indicateur de l'altération de la fonction rénale marquée par une glomérulonéphrite aiguë, une néphrosclérose et une nécrose tubulaire (Chung *et al.*, 2005). Dans la présente étude, l'alcool et le sel auraient agi en synergie et grâce au stress oxydant et à l'hypertension qu'ils ont engendré pour altérer la fonction rénale des rats hypertendus. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* et les extraits séparés de ces deux plantes aussi bien en traitement préventif et/ou curatif de l'HTA secondaire et essentielle ont empêché et corrigé de manière significative les dommages rénaux chez les rats. Ces effets ont été confirmés sur l'ultrastructure du rein qui a montré chez les rats ayant reçu l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* le maintien de l'intégrité du tissu rénal. Dans ces modèles d'HTA, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus*, surtout à la dose la plus faible (100 mg/kg) a eu effet meilleur sur le rein comparativement aux plantes prises séparément. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Manzoor *et al.* (2014) qui ont montré les effets néphroprotecteurs de différentes doses d'extraits aqueux de graines de *Foeniculum vulgare*, de fruits de *Solanum nigrum* et de leur mélange sur la néphrotoxicité induite par la gentamicine chez des lapins albinos. Selon ces auteurs, l'extrait aqueux du mélange de *F. vulgare* et *S. nigrum* a eu les meilleurs effets par rapport aux extraits de chaque

plante individuelle. Ces effets thérapeutiques pourraient être dus aux effets diurétiques de chaque plante qui aurait agi en synergie. On pourrait également penser à l'activité antioxydante de l'extrait qui a été expliquée dans le foie. Le rein étant un organe important dans la régulation de la pression artérielle, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* en protégeant l'intégrité de cet organe maintiendrait donc son rôle régulateur de la pression artérielle. On pourrait ainsi suggérer que l'activité néphroprotectrice est l'une des voies par lesquelles l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* exerce ses effets antihypertenseurs.

Les études de toxicité sur les animaux sont utilisées pour évaluer le risque potentiel pour la santé humaine des effets intrinsèques indésirables causés par les extraits de plantes (Raina *et al.*, 2015). Ces effets secondaires peuvent se manifester sous forme d'altérations biochimiques, hématologiques, histologiques et ou anthropométriques (Rozman *et al.*, 2010). L'un des problèmes de la phytothérapie est la dose utilisée. De plus, les potentiels effets toxiques des substances naturelles ont été rapportés par plusieurs travaux (Mukinda et Syce, 2007; Kumar *et al.*, 2017; Nalimu *et al.*, 2022). D'après Célia *et al.* (2017), le poids relatif des organes est considéré comme un indicateur relativement sensible dans les études de toxicité. Lors de la présente étude, l'administration d'une dose unique de l'extrait aux rats n'a induit aucun signe apparent de toxicité. Ces observations impliquent, selon Tankeu *et al.* (2020) que la dose létale 50 de cet extrait de la combinaison de plantes serait supérieure à 5000 mg/kg et l'extrait est classé comme faiblement toxique. Les résultats obtenus dans la présente étude nous permettent de supposer que l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* est faiblement toxique.

L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* étant utilisé dans le traitement et même dans la prévention de l'HTA qui est une maladie chronique, il était important d'évaluer les effets de son administration à long terme. Il a donc été question dans la présente étude de faire une toxicité subchronique classique ainsi qu'un traitement de 56 jours avec la dose de 400 mg/kg chez les mâles uniquement (OCDEb, 2008). La durée de 56 jours s'explique par le fait que le traitement préventif du modèle d'HTA secondaire induite par la solution alcool+sel a duré 49 jours. La baisse du poids corporel obtenue uniquement chez les femelles à partir de la deuxième semaine de traitement à l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* (200, 400 et 800 mg/kg) peut s'expliquer par le fait que *C. citratus*, présent dans ce mélange de plantes, est souvent utilisé pour perdre du poids (Adeneye et Agbaje, 2007). En effet, sa décoction est conseillée aux femmes enceintes qui sont en surcharge pondérale. Il se pourrait aussi que la plante interfère avec une hormone féminine (l'œstrogène), puisqu'aucun effet sur le gain pondéral n'a été observé chez les mâles. L'augmentation des taux de cholestérol total et de HDL-Chol causée par l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* (200 et 400

mg/kg) chez les femelles suggère que cette hausse du cholestérol total peut être principalement due à l'augmentation du HDL-Chol qui est plutôt bon pour le métabolisme lipidique. Ces effets sur le profil lipidique constitueraient ainsi un effet bénéfique de l'administration subchronique, sur le risque athérogène. La diminution de la concentration de créatinine causée par l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 et de 400 mg/kg) chez les mâles traités pendant 28 et 56 jours expliquerait une fois de plus les effets néphroprotecteurs de cet extrait aqueux. Les résultats obtenus sur les marqueurs des fonctions hépatique et rénale montrent que l'extrait aqueux du mélange de plantes administré à long terme n'a pas d'effet nocif sur ces organes. Les valeurs de ces paramètres biochimiques sont restées dans les limites de la normale. Une étude menée par Hanisa *et al.* (2011) n'a trouvé aucun changement significatif dans les indices biochimiques sériques des fonctions rénale et hépatique chez les rats après l'administration d'une infusion de l'extrait de *C. citratus* pendant 28 jours. Les mêmes observations ont été faites dans la toxicité subchronique de *B. pilosa* (Càrdenas *et al.*, 2006). La toxicité peut également se manifester au niveau du système hématopoïétique, sous la forme d'une diminution du nombre de cellules circulantes, d'altérations fonctionnelles et structurelles (Nalimu *et al.*, 2022). D'après Célia *et al.* (2017), l'analyse des paramètres sanguins fournit des informations sur la fonction hématopoïétique d'une substance. Dans la présente étude, l'augmentation des monocytes observée chez les mâles ayant reçu l'aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* (200 mg/kg) peut être dû à un stress aigu subi par les animaux au moment du sacrifice. En effet, lors d'un stress aigu, le taux de monocytes augmente en réponse au stress ; mais revient généralement à la normale quelques heures après (Ramdani, 2023).

**CONCLUSION
RECOMMENDATIONS ET
PERSPECTIVES**

La présente étude avait pour but d'évaluer les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur l'hypertension artérielle induite expérimentalement chez le rat. Les résultats obtenus ont permis d'attester de l'efficacité antihypertensive de cet extrait, aussi bien en traitement préventif que curatif, sur deux modèles animaux mimant des HTA fréquentes dans la population africaine à savoir, l'HTA essentielle à la L-NAME et l'HTA secondaire à l'excès d'alcool et de sel. Il ressort des résultats obtenus que la L-NAME et le mélange alcool+sel ont entraîné respectivement dans les modèles d'hypertension artérielle essentielle et secondaire, une augmentation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque, un stress oxydant, une altération des fonction rénale et hépatique. L'extrait aqueux du mélange des deux plantes a des effets antihypertenseurs. Ces effets passent par une activité hypotensive par stimulation des récepteurs muscariniques et α_2 -adrénergiques ainsi que par augmentation de la biodisponibilité du NO au niveau vasculaire. Les résultats ont également montré qu'en plus de ses effets antihypertenseurs, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* est capable d'améliorer le profil lipidique, de protéger les organes des dommages induits par la solution alcool+sel et la L-NAME et d'améliorer le statut oxydant. Ces effets seraient médiés par les composés bioactifs (polyphénols et flavonoïdes) présents dans cet extrait qui auraient agi en synergie. L'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et *C. citratus* a été plus efficace que les plantes prises séparément surtout à la dose la plus faible (100 mg/kg) aussi bien en traitement préventif que curatif des différents modèles d'hypertension artérielle étudiés dans le présent travail. L'étude de la toxicité de cet extrait a montré que la dose létale 50 de l'extrait était supérieure à 5 g/kg, suggérant ainsi que cet extrait est faiblement toxique. De plus, en traitement subchronique, les effets bénéfiques sur le profil lipidique et les fonctions hépatique et rénale ont plutôt été confirmées. Les résultats de cette étude confirment l'idée selon laquelle en combinant les plantes, l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* a des effets antihypertenseurs meilleurs à faible dose que les plantes prises séparément.

RECOMMANDATIONS

Nous recommandons aux populations de réduire les consommations de sel et d'alcool afin de prévenir l'hypertension artérielle, aux personnes hypertendus de contrôler régulièrement leurs paramètres hémodynamiques (pression artérielle et fréquence cardiaque) afin d'éviter les risques d'hypotension associée à la prise prolongée de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*. Nous recommandons aux individus ayant une prédisposition génétique à l'HTA de prendre l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* dans le but de prévenir cette maladie et ses complications.

PERSPECTIVES

Dans le souci d'améliorer et de compléter ce travail, il serait judicieux dans les études ultérieures :

- ❖ d'élaborer à partir de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) ;
- ❖ d'évaluer les effets de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus* sur les complications de l'HTA ;
- ❖ d'évaluer la toxicité chronique de l'extrait aqueux du mélange de *B. pilosa* et de *C. citratus*.

REFERENCES

- Abdel-Rahman, R. F., Hessin, A. F., Abdelbaset, M., Ogaly, H. A., Abd-Elsalam, R. M. and Hassan, S. M.** (2017). Antihypertensive effects of Roselle-Olive combination in L-NAME-induced hypertensive rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2017**, 1–24.
- Abdulla, M. H., Sattar, M. A. and Johns, E. J.** (2011). The relation between fructose-induced metabolic syndrome and altered renal haemodynamic and excretory function in the rat. *International Journal of Nephrology* **2011**, 1–17.
- Abidemi, J., Iyamu, E. A., Dutt, P., Satti, N. K. and Adeyemi, O. O.** (2014). Ameliorative effect of hydroethanolic leaf extract of *Byrsocarpus coccineus* in alcohol- and sucrose-induced hypertension in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* **4**, 177–188.
- Aboubakar, O., Bilanda, D., Yinyang, S., Bella, T., Fouda, Y., Dzeufiet, D. and Dimo, T.** (2021). Effects of the amount ethanol daily ingested on the time appearance of hypertension in male Wistar rats. *World journal of Pharmaceutical Research* **10**, 1–18.
- Adeneye, A. A. and Agbaje, E. O.** (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **112**, 440–444.
- Al Disi, S. S., Anwar, M. A. and Eid, A. H.** (2016). Anti-hypertensive herbs and their mechanisms of action: Part I. *Frontiers in Pharmacology* **6**, 1–24.
- Arlene, B. P., Irene, Villaseñor, M. and Yang, W.** (2013). *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2013**, 1–51.
- Badimon, L. and Vilahur, G.** (2012). LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: Inflammatory resolution versus thrombotic chaos. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1254**, 18–32.
- Bairwa, K., Kumar, R., Sharma, R. J. and Roy, R. K.** (2010). An updated review on *Bidens pilosa* L. *Der Pharma Chemica* **2**, 325–337.
- Ball, C. O. and Meneely, G. R.** (1957). Observations on dietary sodium chloride. *Journal of the American Dietetic Association* **33**, 366–370.
- Ballway, J. W. and Song, B. J.** (2021). Translational approaches with antioxidant

- phytochemicals against alcohol-mediated oxidative stress, gut dysbiosis, intestinal barrier dysfunction, and fatty liver disease. *Antioxidants* **10**, 1–34.
- Barhoumi, T.** (2014). L'hypertension artérielle et les désordres vasculaires induits par l'erythropoïétine recombinante humaine et le système rénine-angiotensine-aldostérone : Effet de l'exercice et des cellules T régulatrices. *Université d'Avignon, France*. 221p.
- Bassand, J.** (2008). Prévention des maladies cardiovasculaires. *Besançon Cardio*. [En ligne]. Juin [17/03/13]. Disponible à l'URL : [http:// www.besancon-cardio.org](http://www.besancon-cardio.org).
- Baudin, B.** (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires* **2020**, 22–30.
- Bella, N. M. T., Tsala, E. D., Tom, N. L. E., Aboubakar, O. B. F., Bilanda, D. C. and Dimo, T.** (2013). Protective effects of *Tetrapleura tetraptera* extract on high salt-induced hypertension in male rats. *International Journal of Tropical Medicine* **8**, 54–61.
- Bhat, M., Zaid, M., Singh, S., Gill, K., Tantray, J., Sharma, R. K., Singh, M., Mishra, A., Singh, R. P., Sahu, S. K., Garg, A. and Sharma, A. K.** (2023). A current review on animal models of anti-hypertensive drugs screening. *Health Sciences Review* **6**, 1–16.
- Bilanda, D. C., Dzeufiet, P. D. D., Kouakep, L., Aboubakar, B. F. O., Tedong, L., Kamtchouing, P. and Dimo, T.** (2017). *Bidens pilosa* ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **17**, 1–7.
- Bilanda, D. C., Tcheutchoua, Y. C., Dzeufiet, D. P. D., Fokou, D. D. L., Fouda, B. Y., Dimo, T. and Kamtchouing, P.** (2019). Antihypertensive activity of *Leersia hexandra* Sw. (Poaceae) aqueous extract on ethanol-induced hypertension in Wistar rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2019**, 1–9.
- Bopda, O. S. M., Longo, F., Bella, T. N., Edzah, P. M. O., Taiwe, G. S., Bilanda, D. C., Tom, E. N. L., Kamtchouing, P. and Dimo, T.** (2014). Antihypertensive activities of the aqueous extract of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) in high salt-loaded rats. *Journal of Ethnopharmacology* **153**, 400–407.
- Boullard, B.** (2001). Dictionnaire : Plantes médicinales du monde. Réalités et croyances. *France, Paris : Editions ESTEM*. 636p.
- Càrdenas, M. B., Alvarez, C. S., Morgado, E. B., Gutierrez, M. G., Monteagudo, G. L. and**

- Suarez, O. S.** (2006). Toxicological evaluation of an infusion of *Bidens pilosa*. *Pharmacologyonline* **3**, 428–434.
- Caucanas, C. and Blacher, J.** (2018). Prise en charge initiale de l’hypertension artérielle essentielle de l’adulte. *Elsevier Masson Consulte* **1**, 1–6.
- Célia, O., Hamida-saida, C., Fella, H., Loubna, M., Samira, H., Nouria, N. and Fairouz, S.** (2017). Toxicité aigue et subaigue des extraits méthaloniques de *Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.). *Revue Agrobiologia* **7**, 562–573.
- Chen, X., Zhang, Z., Cui, B., Jiang, A., Tao, H., Cheng, S. and Liu, Y.** (2020). Combination of chronic alcohol consumption and high-salt intake elicits gut microbial alterations and liver steatosis in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1**, 1–10.
- Chia, T. Y., Murugaiyah, V., Khan, N. A. K., Sattar, A., Abdulla, M. H., Johns, E. J., Ahmad, A., Hassan, Z., Kaur, G., Mei, H. Y., Ahmad, F. U. and Akhtar, S.** (2021). Inhibition of L-NAME-induced hypertension by combined treatment with apocynin and catalase: the role of Nox 4 expression. *Physiological Research* **70**, 13–26.
- Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I. and Kim, J. B.** (2016). Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in Endocrinology* **7**, 1–22.
- Chung, F. M., Yang, Y. H., Shieh, T. Y., Shin, S. J., Tsai, J. C. R. and Lee, Y. J.** (2005). Effect of alcohol consumption on estimated glomerular filtration rate and creatinine clearance rate. *Nephrology Dialysis Transplantation* **20**, 1610–1616.
- Cobb, A. and Aeddula, N. R.** (2024). Primary Hyperaldosteronism. *StatPearls Publishing* **5**, 1–17.
- Defo, B. K., Mbanya, J. C., Kingue, S., Tardif, J. C., Choukem, S. P., Perreault, S., Fournier, P., Ekundayo, O., Potvin, L., D’Antono, B., Emami, E., Cote, R., Aubin, M. J., Bouchard, M., Khairy, P., Rey, E., Richard, L., Zarowsky, C., Mampuya, W. M., Mbanya, D., Sauv e, S., Ndom, P., Silva, R. B. Da, Assah, F., Roy, I. and Dubois, C. A.** (2019). Blood pressure and burden of hypertension in Cameroon, a microcosm of Africa: A systematic review and meta-analysis of population-based studies. *Journal of Hypertension* **37**, 2190–2199.
- Dimo, T., Rakotonirina, A., Kamgang, R., Tankwa, T. R. and Wanda, K. J. G.** (2001). Effets de l’extrait au cyclohexane de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) sur la motricit e

intestinale de rat. *African Journal of Science and Technology* **2**, 32–35.

- Dimo, T., Rakotonirina, A., Tan, P. V., Azay, J., Dongo, E. and Cros, G.** (2002). Leaf methanol extract of *Bidens pilosa* prevents and attenuates the hypertension induced by high-fructose diet in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* **83**, 183–191.
- Doumas, B., Watson, W. and H., B.** (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clinical Chemistry* **31**, 87–96.
- Drenjacnevic-Peric, I., Jelaković, B., Lombard, J. H., Kunert, M. P., Kibel, A. and Gros, M.** (2011). High-salt diet and hypertension: Focus on the renin-angiotensin system. *Kidney and Blood Pressure Research* **34**, 1–11.
- Effo, K., Adehouni, Y., Odo, A. E., Kone, Y., Akre, L., Adiko, M., Kouakou, S. L., Djadji, A. T., Irie-N'guessan, A. and Kouakou-Siransy, N. G.** (2021). Activité antioxydante et teneur en polyphénols totaux d'un extrait sec du jus et d'un décocté de l'épicarpe du fruit de *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines* **20**, 32–37.
- Ellman, G. L.** (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **82**, 70–77.
- Eshrat, H. and Hussain, A.** (2002). Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from *Curcuma longa*, Linn, and partially purified product from *Abroma augusta*, Linn. in streptozotocin induced diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* **17**, 33–44.
- Etame, G., Yinyang, J., Okalla, C., Makondo, B., Ngaba, G., Mpondo, E. and Dibong, S.** (2017). Etude de la toxicité aigue et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences* **20**, 12077–12085.
- Etou, O., Ondélé, R., Ampa, R., Ngolo, E., Malonga, C., Nkounkou, L. and Abena, A.** (2017). Evaluation des effets cardiovasculaires de l'extrait aqueux des feuilles de *Trema orientalis*. *Journal of Animal and Plant Sciences* **32**, 5134–5145.
- Farhana, N., Nurul, I., Nurdiana, S., Rajion, M., Goh, Y., Mokrish, A. and Hafandi, A.** (2016). Antioxidant and antihypertensive effect of *Azadirachta excelsa* leaf extract in spontaneously hypertensive rat model. *Journal of Alternative, Complementary and Integrative Medicine* **2**, 1–4.

- Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez-Alonso, J. J., Santos-Buelga, C. and Batista, M. T.** (2008). *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chemistry* **3**, 718–728.
- Folin, O. and Ciocalteu, V.** (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry* **73**, 627–650.
- Gornall, A., Bradwill, C. and David, M.** (1948). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biology and Chemistry* **77**, 167–182.
- Grand, F. L., Guitton, J. and Goudable, J.** (2001). Optimisation des paramètres du dosage des nitrites et nitrates sériques par la technique de Griess. *Annales De Biologie Clinique* **59**, 559–565.
- Guindo, I.** (2006). Etude du traitement traditionnel de l’hypertension artérielle au Mali. *Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odonto-stomatologie*. 139p.
- Hanisa, H., Hadijah, A., Rasedee, A. and Tarmizi, A.** (2011). Sub- acute oral administration of *Cymbopogon citratus* stems infusion and its effects on blood biochemical parameters, body and organ weights in rats. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science* **39**, 1–7.
- Harborne, J.** (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. *Chapman and edition Thomson, S. (UK), Ltd London*. pp 49-88.
- Harvey, A. M.** (2014). Hyperaldosteronism diagnosis, lateralization, and treatment. *Surgical Clinics of North America*, **94**, 643–656.
- Husain, K., Ansari, R. A. and Ferder, L.** (2014). Alcohol-induced hypertension: Mechanism and prevention. *World Journal of Cardiology* **6**, 1–245.
- Ibra, S., Dieng, M., Fall, A. D., Diatta-badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W. and Bassene, E.** (2017). Evaluation de l’activité antioxydante des extraits hydro-ethanologiques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **11**, 768–776.
- Ikwuchi, C. C.** (2012). Hypocholesterolemic effect of an aqueous extract of the leaves of *Sansevieria senegambica* baker on plasma lipid profile and atherogenic indices of rats fed

- egg yolk supplemented diet. *EXCLI Journal* **11**, 318–327.
- Jama, H. A., Muralitharan, R. R., Xu, C., O'Donnell, J. A., Bertagnolli, M., Broughton, B. R. S., Head, G. A. and Marques, F. Z.** (2022). Rodent models of hypertension. *British Journal of Pharmacology* **179**, 918–937.
- Javkhedkar, A. A. and Banday, A. A.** (2015). Antioxidant resveratrol restores renal sodium transport regulation in spontaneous hypertensive rat. *Physiological Reports* **3**, 1–32.
- Karunamoorthi, K., Ilango, K. and Murugan, K.** (2010). Laboratory evaluation of traditionally used plant-based insect repellent against the malaria vector *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* **106**, 1217–1223.
- Katrina, C., Su, H., Perrine, G., Brent, S., Voisin, D., Knapp, B., Barker, P., Brown, C., Cunningham, J. and CW, B.** (2015). High salt intake increases blood pressure via BDNF-mediated down regulation of KCC2 and impaired baroreflex inhibition of vasopressin neurons. *Neuron* **85**, 549–560.
- Kouame, N. M., Kamagate, M., Koffi, C., Die-Kakou, H. M., Yao, N. A. R. and Kakou, A.** (2016). *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: ethnopharmacologie, phytochimie, activités pharmacologiques et toxicologie. *Phytotherapie* **14**, 384–392.
- Kumar, K., Sharma, S., Kumar, A., Bhardwaj, P., Barhwal, K. and Hota, S. K.** (2017). Acute and sub-acute toxicological evaluation of lyophilized *Nymphaea rubra* Roxb. ex Andrews rhizome extract. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **88**, 12–21.
- Leclerc, A.-M.** (2013). Traitement pharmacologique de l'hypertension artérielle. *Pratique Clinique* **10**, 36–41.
- Lemogoum, D., Ngatchou, W., Bika Lele, C., Okalla, C., Leeman, M., Degaute, J. P. and Van de Borne, P.** (2018). Association of urinary sodium excretion with blood pressure and risk factors associated with hypertension among Cameroonian pygmies and bantus: a cross-sectional study. *BMC Cardiovascular Disorders* **18**, 1–50.
- Leong, X.-F., Chun-Yi, N. and Jaarin, K.** (2015). Animal models in cardiovascular research: Hypertension and atherosclerosis. *BioMed Research International* **2015**, 1–15.
- Lerman, L. O., Kurtz, T. W., Touyz, R. M., Ellison, D. H., Chade, A. R., Crowley, S. D., Mattson, D. L., Mullins, J. J., Osborn, J., Eirin, A., Reckelhoff, J. F., Iadecola, C. and Coffman, T. M.** (2019). Animal models of hypertension: a scientific statement from the

- American Heart Association. *Hypertension* **73**, 1–96.
- Lin, H. Y., Lee, Y. T., Chan, Y. W. and Tse, G.** (2016). Animal models for the study of primary and secondary hypertension in humans. *Biomedical Reports* **5**, 1–653.
- Louardi, E. H.** (2022). L'hypertension artérielle de l'adulte. *Recommandations de Bonnes Pratiques Médicales* **1**, 1–85.
- Manzoor, Z., Shaheen, U., Khaliq, T., Kanwal, A., Muhammad, F., Hassan, I. J., Munawar, S. H. and Mazhar-ul-Haq** (2014). Evaluation of nephroprotective effects of *Foeniculum vulgare* Mill, *Solanum nigrum* Linn and their mixture against gentamicin-induced nephrotoxicity in albino rabbits. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **25**, 1–9.
- Marieb, E. and Hoehn, K.** (2019). Anatomie et physiologie humaines. 11^e édition, ERPI (Éditions du Renouveau Pédagogique Inc.), Montréal (Canada). 1370p.
- Marieb, E. and Katja, H.** (2015). Anatomie et physiologie humaine. 9th edition ed. Renouveau Pédagogique Inc and USA Paris. 1479p.
- Martinek, R.** (1966). Improve micro-method for determination of serum bilirubin with the photoelectric colorimeter. *Clinical Chemistry* **13**, 61–170.
- Mbougou-bouesse, B., Wilfrid, A., Ossibi, E., Ngolo, E., Garde, R., Itou, E., Mavouba, B. and Mongo, D.** (2022). Hypotensive effects and phytochemical profile of aqueous extract and fractions of *Desmodium velutinun* leaves (Willd) D.C. (Fabaceae) in the rat. *Journal of Biosciences and Medicines* **10**, 100–109.
- Mente, A., Rangarajan, S., McQueen, M. J., Wang, X., Liu, L., Yan, H., Fu Lee, S., Mony, P., Devanath, A., Rosengren, A., Lopez-Jaramillo, P., Diaz, R., Avezum, A., Lanus, F., Yusoff, K., Iqbal, R., Ilow, R., Mohammadifard, N., Gulec, S., Hussein Yusufali, A., Kruger, L., Yusuf, R., Chifamba, J., Kabali, C., Dagenais, G., Lear, S. A., Teo, K. and Yusuf, S.** (2014). Urinary sodium and potassium excretion, mortality, and cardiovascular events. *The New England Journal of Medicine* **371**, 612–635.
- Metchi, D. M. F., Atsamo, A. D., Temdié, G. R. J., Ngouateu, K. O. B., Dongmo, A. B. and Dimo, T.** (2021). Antihypertensive effects of the *Vitex cienkowskii* (Verbenaceae) stem-bark extract on L-NAME induced hypertensive rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2021**, 1–10.

- Misra, H. and Fridovich, I.** (1972). Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood. *Yale University Press New Haven* **1**, 101–109.
- Mukinda, J. T. and Syce, J. A.** (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* **112**, 138–144.
- Muntner, P., Shimbo, D., Carey, R. M., Charleston, J. B., Gaillard, T., Misra, S., Myers, M. G., Ogedegbe, G., Schwartz, J. E., Townsend, R. R., Urbina, E. M., Viera, A. J., White, W. B. and Jackson, T. W.** (2019). Measurement of blood pressure in humans. *Hypertension* **73**, 35–66.
- Naito, H.** (1984). Cholesterol. *Clinical Chemistry The C. V. Mosby CO. St Louis. Toronto, Princeton.* 436p.
- Nalimu, F., Oloro, J., Peter, E. L. and Ogwang, P. E.** (2022). Acute and sub-acute oral toxicity of aqueous whole leaf and green rind extracts of *Aloe vera* in Wistar rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies* **22**, 1–14.
- Nina, L. J.** (2012). Effects of Heme -L-Arginate on L-NAME induced hypertension. *University of Saskatchewan, 107 Wiggins Rd Saskatoon, Saskatchewan, Canada S7N 5E5.* 90p.
- Noda, K., Godo, S., Saito, H. and Tsutsui, M.** (2015). Opposing roles of nitric oxide and rho-kinase in lipid metabolism in mice. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* **235**, 171–183.
- Noumi, E., Houngue, F. and Lontsi, D.** (1999). Les médecines traditionnelles dans les soins de santé primaires: Plantes utilisées pour le traitement de l’hypertension chez les Bafia, Cameroun. *Fitoterapia* **70**, 134–139.
- Ntchapda, F., Djedouboum Abakar, Kom, B., Nana, P., Bonabe, C., Maguirgue Kakesse, Talla, E. and Dimo, T.** (2014). Diuretic activity of the aqueous extract leaves of *Ficus glumosa* Del. (Moraceae) in rats. *The Scientific World Journal* **2014**, 1–10.
- Ntchapda, F., Bonabe, C., Atsamo, A. D., Azambou, K. R. D., Fouda, Y. B., Djibrine, S. I., Etet, P. S. and Dimo, T.** (2020). Effect of aqueous extract of *Adansonia digitata* stem bark on the development of hypertension in L-NAME-induced hypertensive rat model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* **2020**, 1–10.
- OCDEa** (2008). Ligne directrice 425 de l’OCDE pour les essais de produits chimiques: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë. *Organization for Economic*

Cooperation and Development **1**, 1–29.

- OCDEb** (2008). Ligne directrice 407 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques: Etude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. *Organization for Economic Cooperation and Development* **11**, 1–14.
- Odebiyi, A. and Sofowora, A.** (1990). Phytochemical screening of Nigerian medicinal plants. *Part III. Lloydia*. **41**, 234–246.
- Ogbonnia, S. O., Odimegwu, J. I. and Enwuru, V. N.** (2008). Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of aqueous ethanolic extracts of *Treculia africana* Decne and *Bryophyllum pinnatum* Lam. and their mixture on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *African Journal of Biotechnology* **7**, 2535–2539.
- Ojeda, M. L., Barrero, M. J., Nogales, F., Murillo, M. L. and Carreras, O.** (2012). Oxidative effects of chronic ethanol consumption on the functions of heart and kidney: Folic acid supplementation. *Alcohol and Alcoholism* **47**, 404–412.
- Okemy, A., Moussoungou, A., Ossibi, E., Boukaka, B. and Abena, A.** (2020). Influences de l'extrait aqueux des feuilles de *Ageratum conyzoides* Linnee (Asteraceae) sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque chez le rat Wistar. *Annales de l'Université Marien NGOUABI* **20**, 11–32.
- Olaleye, M. T., Crown, O. O., Akinmoladun, A. C. and Akindahunsi, A. A.** (2014). Rutin and quercetin show greater efficacy than nifedipin in ameliorating hemodynamic, redox, and metabolite imbalances in sodium chloride-induced hypertensive rats. *Human and Experimental Toxicology* **33**, 602–608.
- OMS** (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève, Suisse: Organisation mondiale de la santé, 2013. <https://www.who.int/fr/publications-detail/9789241506096>. 75p.
- OMS** (2017). Le sel : une habitude à perdre. Genève : Organisation mondiale de la Santé, 2017. WHO/NMH/PND/16.4. 30p.
- OMS** (2021). Hypertension. Genève: Organisation mondiale de la santé, 2021. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. 10p.
- OMS** (2023). Hypertension. Genève : Organisation mondiale de la santé, 2023. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. 9p.

- Pal, R., Girhepunje, K., Upadhayay, A. and Thirumoorthy, N.** (2012). Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of the root of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **6**, 278–282.
- Paquot, N.** (2019). The metabolism of alcohol. *Revue Médicale de Liège* **74**, 265–267.
- Parimalakrishnan, S., Sundar, V. D., Ulaganathan, I., Nandhakumar, S. and Akalanka, D.** (2010). Preliminary toxicity evaluation of *Bidens pilosa* extracts using experimental mice. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **2**, 397–402.
- Pechanova, O., Vrankova, S. and Cebova, M.** (2020). Chronic L-Name-treatment produces hypertension by different mechanisms in peripheral tissues and brain: Role of central eNOS. *Pathophysiology* **27**, 46–54.
- Piha, J., Vaněčková, I. and Zicha, J.** (2023). Hypertension after the menopause: what can we learn from experimental studies? *Physiological Research* **72**, 91–112.
- Raina, P., Chandrasekaran, C. V., Deepak, M., Agarwal, A. and Ruchika, K. G.** (2015). Evaluation of subacute toxicity of methanolic/aqueous preparation of aerial parts of *Ocimum sanctum* in Wistar rats: Clinical, haematological, biochemical and histopathological studies. *Journal of Ethnopharmacology* **175**, 509–517.
- Ramdani, C.** (2023). Les maladies induites par le stress. *Les Cahiers de la Revue Défense Nationale* **4**, 32–40.
- Rozman, K. K., Doull, J. and Hayes, W. J.** (2010). Dose and time determining, and other factors influencing, toxicity. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* **1**, 3–101.
- Saleem, M., Barturen-Larrea, P., Saavedra, L. and Gomez, J. A.** (2020). A modified two kidney one clip mouse model of renin regulation in renal artery stenosis. *Journal of Visualized Experiments* **2020**, 1–164.
- Saravanakumar, M. and Raja, B.** (2012). Effect of veratric acid on the cardiovascular risk of L-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **59**, 553–562.
- Sebbar, E. H., Naji, I., El Mezgueldi, I. and Choukri, M.** (2023). Le stress oxydatif, une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques* **62**, 36–37.
- Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B. and Mann, A.** (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced*

Shelly, L. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* **1830**, 3143–3153.

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants* **9**, 1–6.

Silva, H. and Rita, B. (2022). Exploring the anti-hypertensive potential of Lemongrass-a comprehensive review. *Biology* **1382**, 1–20.

Simões, D. M., Malheiros, J., Antunes, P. E., Figueirinha, A., Cotrim, M. D. and Fonseca, D. A. (2020). Vascular activity of infusion and fractions of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in human arteries. *Journal of Ethnopharmacology* **258**, 1–6.

Sinha K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* **47**, 389–394.

Sokpe, A., Mensah, M. L. K., Koffuor, G. A., Thomford, K. P., Arthur, R., Jibira, Y., Baah, M. K., Adedi, B. and Agbemenyah, H. Y. (2020). Hypotensive and antihypertensive properties and safety for use of *Annona muricata* and *Persea americana* and their combination products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2020**, 1–13.

Steeven, M. and Rouba, B. (2022). L'hypertension artérielle. *Elsevier Masson Consulte* **1**, 1–10.

Storch, A. S., Mattos, J. D. D., Alves, R., Galdino, S., Naly, H. and Rocha, M. (2017). Methods of endothelial function assessment : description and applications. *International Journal of Cardiovascular Sciences* **30**, 262–273.

Tankeu, E., Yinyang, J., Bamal, H.-D., Ottou, B., Nkoo, H., Ngouondjou, F., Ngoule, C., Ngene, J., Kidik, P., Etame, L., Dibong, S. and Claus, J. (2020). Acute and subacute toxicity studies of the combination of the aqueous extracts of trunk bark of *Musanga cecropioides* R . Br . (Cecropiaceae) and fruits of *Picralima nitida* (Stapf) T . Durand and H . Durand (Apocynaceae). *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences* **4929**, 334–348.

Tietz, N. (2006). Clinical guide to laboratory test. *4th edition, Saunders, Philadelphia.* 984p.

Tom, E. N. L., Demougeot, C., Bopda, O. M., Dimo, T., Dzeufiet, D. P. D., Bilanda, D. C., Girard, C. and Berthelot, A. (2011). The aqueous extract of *Terminalia superba* (Combretaceae) prevents glucose-induced hypertension in rats. *Journal of*

Ethnopharmacology **133**, 828–833.

Tortora, G. J., Derrickson, B., Bain, R. and Pariaud, F. (2022). Anatomie et physiologie humaines / Tortora, Derrickson ; traduction de la 16^e édition américaine par Renan Bain et Frédéric Pariaud. 6^e édition Louvain-la-Neuve : De Boeck Supérieur, Belgique. 1280p.

Trease, G. and Evans, W. (1989). A textbook of pharmacognosy. 13th edition, Baillière Tindall, London. 614p.

Tyagi, A. and Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **10**, 1–11.

Vallée, A. and Blacher, J. (2018). Pression artérielle, régulation et épidémiologie, mesures et valeurs normales. *Elsevier Masson Consulte* **1**, 1–9.

Van Vliet, B. N., Chafe, L. L., Antic, V., Schnyder-Candrian, S. and Montani, J. P. (2000). Direct and indirect methods used to study arterial blood pressure. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* **44**, 361–373.

Varga, Z., Ferdinandy, P., Liaudet, L. and Pacher, P. (2015). Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* **309**, 1453–1467.

Verma, T., Sinha, M., Bansal, N., Yadav, S. R., Shah, K. and Chauhan, N. S. (2021). Plants used as antihypertensive. *Natural Products and Bioprospecting* **11**, 155–184.

Wake, A. D. (2021). The role of dietary salt and alcohol use reduction in the management of hypertension. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* **19**, 27–40.

Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Collins, K. J., Himmelfarb, C. D., DePalma, S. M., Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., MacLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbiagele, B., Smith, S. C., Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., Williamson, J. D., Wright, J. T., Levine, G. N., O’Gara, P. T., Halperin, J. L., Past, I., Al, S. M., Beckman, J. A., Birtcher, K. K., Bozkurt, B., Brindis, R. G., Cigarroa, J. E., Curtis, L. H., Deswal, A., Fleisher, L. A., Gentile, F., Goldberger, Z. D., Hlatky, M. A., Ikonomidis, J., Joglar, J. A., Mauri, L., Pressler, S. J., Riegel, B., Wijeyesundera, D. N., Walsh, M. N., Jacobovitz, S., Oetgen, W. J., Elma, M. A., Scholtz, A., Sheehan, K. A., Abdullah, A. R., Tahir, N., Warner,

- J. J., Brown, N., Robertson, R. M., Whitman, G. R. and Hundley, J.** (2018). Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults. *Hypertension* **71**, 13–115.
- Wilbur, K., Bernhein, F. and Shapiro, O.** (1949). Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **24**, 3959–3964.
- Yee, K. W., Baqar, S., Jerums, G. and Elif, E.** (2016). Sodium and its role in cardiovascular disease – the debate continues. *Frontiers in Endocrinology* **7**, 1–17.
- Young, D.** (1995). Effects of drugs on clinical laboratory test. *4th edition Washington, AACC.* 211p.
- Zheng, X., Li, X., Chen, M., Yang, P., Zhao, X., Zeng, L., Ouyang, Y., Yang, Z. and Tian, Z.** (2019). The protective role of hawthorn fruit extract against high salt-induced hypertension in Dahl salt-sensitive rats: Impact on oxidative stress and metabolic patterns. *Food and Function* **10**, 849–858.

ANNEXES

a) Réactifs utilisés pour les tests hypotenseurs et mécanismes d'action de l'extrait

- Solution d'uréthane

La solution d'uréthane 15 %, a été préparée en solubilisant 15 g d'uréthane (Sigma, France) dans une quantité suffisante d'eau distillée pour 100 mL de solution.

- Solution de Mac Even

Pour la préparation de cette solution, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH₂PO₄, 1 g de HCO₃Na, 0,03 g de MgCl₂ et 2 g de C₆H₁₂O₆, ont été dissouts dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour 500 mL de solution (solution A) et 0,28 g de CaCl₂ ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL (solution B). Les solutions A et B ont ensuite été mélangées et le volume final porté à 1000 mL par ajout d'eau distillée.

- Solution de Mac Even héparinée

Les solutions de Mac Even héparinées à 1 % et 10 % ont été préparées en diluant séparément et respectivement 1 mL et 10 mL d'héparine Choay (5000 UI/mL, Sanofi Aventis, Allemagne) dans la solution de Mac Even pour un volume total de 100 mL.

- Solution d'atropine

Pour une solution de concentration 1 mg/mL, 15 mg de poudre d'atropine (Sigma, France) contenu dans une éprouvette graduée a été dissout en ajoutant de l'eau distillée jusqu'à la graduation 15 mL.

- Solution de yohimbine

Pour une solution de concentration 100 µg/mL, 1,5 mg de poudre de yohimbine (Sigma, France) contenu dans une éprouvette graduée a été dissout en ajoutant de l'eau distillée jusqu'à la graduation 15 mL.

- Solution de propranolol

Une solution de concentration 100 µg/mL a été préparée en solubilisant 1,5 mg de poudre de propranolol (Sigma, France) contenu dans une éprouvette graduée avec de l'eau distillée. Le volume a été complété à 15 mL avec de l'eau distillée.

- Solution d'indométacine

Pour une solution de concentration 5 mg/mL, 25 mg de poudre d'indométacine (Sigma, France) contenus dans une fiole graduée ont été dissouts en ajoutant de l'eau distillée jusqu'à la graduation 5 mL.

b) Réactifs utilisés pour le sacrifice des animaux

- Solution de NaCl 0,9%

Neuf grammes de NaCl ont été solubilisés dans de l'eau distillée pour un volume total de 1000 mL.

- Solution de Mac Even

Pour la préparation de cette solution, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH₂PO₄, 1 g de HCO₃Na, 0,03 g de MgCl₂ et 2 g de C₆H₁₂O₆, ont été dissouts dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour 500 mL de solution (solution A) et 0,28 g de CaCl₂ ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL (solution B). Les solutions A et B ont ensuite été mélangées et le volume final porté à 1000 mL par ajout d'eau distillée.

- Tampon tris-HCl 50 mM (pH 7,4)

Le tampon tris-HCl a été préparé en faisant dissoudre 1,21 g de Tris base et 2,79 g de chlorure de potassium dans 250 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté avec du HCl 11,8N et le volume complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

c) Réactifs utilisés pour le dosage du cholestérol

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif de travail était composé du tampon PIPES (Pirezine-N, N'-bis acide 2-éthanesulfonique) à 90 mmol/L et au pH 6,9, du phénol à 26 mmol/L, du cholestérol estérase à 1000 U/L, du cholestérol oxydase à 300 U/L, de la peroxydase à 650 U/L et de la 4-aminophenazone à 0,4 mmol/L. Le standard était le cholestérol aqueux primaire à 200 mg/dL.

d) Réactifs utilisés pour le dosage du HDL-cholestérol

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif de précipitation était composé de l'acide phosphotungstique à 14 mmol/L et du chlorure de magnésium à 2 mmol/L. Le réactif de travail était composé du tampon PIPES à 50 mmol/L et au pH 7,5, du chlorophénol à 2 mmol/L, de la lipoprotéine lipase à 150000 U/L, du glycérol kinase à 500 U/L, du glycérol-3-oxydase à 2500 U/L, de la peroxydase à 440 U/L, de la 4-aminophenazone 0,1 mmol/L et de l'ATP à 0,1 mmol/L. Le standard était le HDL-cholestérol aqueux primaire à 50 mg/dL.

e) Réactifs utilisés pour le dosage de l'ALAT

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT*. Le réactif 1 (R1) était composé du Tampon Tris à 100 mmol/L, pH = 7,8, du L-alanine à 500 mmol/L et de la LDH à 1200 U/L tandis que le réactif 2 (R2) était composé du NADH à 0,18 mmol/L et de

l'alpha-cétoglutarate à 15 mmol/L. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant un volume de R1 à quatre volumes de R2.

f) Réactifs utilisés pour le dosage de l'ASAT

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé du Tampon Tris à 80 mmol/L, pH = 7,8, du L-aspartate à 240 mmol/L et de la MDH à 600 U/L tandis que le réactif 2 (R2) était composé du NADH à 0,18 mmol/L, du LDH à 800 U/L et de l'alpha-cétoglutarate à 12 mmol/L. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant un volume de R1 à quatre volumes de R2.

g) Réactifs utilisés pour le dosage de la bilirubine totale

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé de l'acide sulfanilique à 30 mmol/L, de l'acide chloridrique à 50 mmol/L et le diméthylsulfoxyde à 7 mmol/L tandis que le réactif 2 (R2) était composé du nitrite de sodium 29 mmol/L.

h) Réactifs utilisés pour le dosage de l'albumine

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le Kit *BIOLABO* (France). Le réactif de travail était composé de l'acide succinique à 83 mmol/L, du vert de bromocrésol à 167 mmol/L, de l'hydroxyde de sodium à 50 mmol/L et du polyoxyéthylène monolauryl éther à 1 g/L. Le standard était l'albumine bovine à 5 mg/dL.

i) Réactifs utilisés pour le dosage de la créatinine

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé de l'acide picrique à 17,5 mmol/L tandis que le réactif 2 (R2) était composé de l'hydroxyde de sodium 0,29 mmol/L. Le standard était la créatinine aqueuse primaire à 2 mg/dL. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R2.

j) Réactifs utilisés pour le dosage de l'acide urique

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé du tampon phosphate à 50 mmol/L et au pH 7,4, de la 2,4- dichlorophénol sulfonate à 4 mmol/mL. Le réactif 2 (R2) était composé de l'uricase à 60 U/L, de la peroxydases à 660 U/L, de l'ascorbate oxydase à 200 U/L et de la 4-aminophénazone à 1 mmol/L. Le standard était l'acide urique aqueuse primaire à 6 mg/dL. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R2.

k) Réactifs utilisés pour le dosage de l'urée

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé du tampon phosphate à 50 mmol/L et au pH 6,7, du salicylate de sodium à 62 mmol/L, de l'éthylène diamine tétra acide à 2 mmol/L et du nitroprussiate de sodium 5 mmol/L. Le réactif 2 (R2) était composé du l'hydroxyde de sodium 150 mmol/L et de l'hypochlorite de sodium à 140 mmol/L. Le réactif 3 (R3) était composé de l'uréase à 30000 U/L. Le standard était l'urée aqueuse primaire à 50 mg/dL. Le réactif de travail (1) a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R3. Le réactif de travail (2) était R2.

l) Réactifs utilisés pour le dosage du calcium

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé de l'éthanolamine à 500 mmol/L tandis que le réactif 2 (R2) était composé de la crésolphtaléine à 0,62 mmol/L et de l'hydroxyquinoléine à 69 mmol/L. Le standard était du calcium aqueux primaire à 50 mg/dL. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R2.

m) Réactifs utilisés pour le dosage du magnésium

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le réactif 1 (R1) était composé de l' amino-methyl-propanol à 1 mmol/L et l'acide éthylène glycol tétra acétique à 0,21 mmol/L tandis que le réactif 2 (R2) était le calmagite à 0,30 mmol/L. Le standard était du magnésium aqueux primaire à 10 mmol/L. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R2.

n) Réactifs utilisés pour le dosage du sodium

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le précipitant était composé de l'acétate d'uranyle à 19 mmol/L et l'acétate de magnésium à 140 mmol/L. Le réactif de travail était composé du thioglycolate ammonium à 550 mmol/L et de l'ammoniac à 550 mmol/L. Le standard était le sodium aqueux primaire à 150 mmol/L.

o) Réactifs utilisés pour le dosage du potassium

Les réactifs utilisés dans ce dosage ont été fournis par le kit *LABKIT* (Barcelone, Espagne). Le précipitant était l'acide trichloracétique à 0,3 mol/L, le réactif 1 (R1) était le sodium tétraphénylboron à 0,2 mmol/L et le réactif 2 (R2) était sodium hydroxyde à 2 mmol/L. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volume égale R1 et R2. Le standard était le sodium aqueux primaire à 5 mmol/L.

p) Réactifs utilisés pour le dosage des protéines

- Réactif de Biuret

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

- Solution de sérum albumine bovin

La solution de sérum albumine bovin (SAB), de concentration 3 mg/mL a été obtenue en dissolvant 150 mg de SAB dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL.

q) Réactifs utilisés pour le dosage de la catalase

- Solution de dichromate de potassium 5 %/ acide acétique glacial

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

- Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM

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

- Tampon phosphate 0,1 M (pH 7,5)

Deux solutions ont été initialement préparées. Huit virgule neuf grammes (8,9 g) de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour 500 mL. Dans 500 mL de la solution de phosphate disodique hydraté ont été ajoutés 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté, puis goutte à goutte de la même solution jusqu'à obtention d'un pH de 7,5.

r) Réactifs utilisés pour le dosage de la superoxyde dismutase

- Solution d'adrénaline 0,06 mg/mL

La solution d'adrénaline 0,06 mg/mL a été obtenue en dissolvant 6 mg d'adrénaline dans de l'eau distillée en quantité suffisant pour 100 mL de solution. Cette solution a été conservée à l'abri de la lumière.

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

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

s) **Réactifs utilisés pour le dosage du glutathion réduit**

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

Huit virgule neuf grammes (8,9 g) de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$) ont été dissouts dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour 500 mL. A ces 500 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté ont été ajoutés 200 mL de la solution de phosphate disodique, puis goutte à goutte 80 mL de la même solution jusqu'à obtention du tampon phosphate 0,1M ; pH 6,5.

- **Réactif d'Ellman**

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

t) **Réactifs utilisés pour le dosage du malondialdéhyde**

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

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

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

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

u) **Réactifs utilisés pour le dosage des nitrites**

- **Solution d'acide phosphorique 2,5 %**

Un volume de 2,5 mL d'acide ortho-phosphorique 85 % a été introduit dans une fiole jaugée de 100 mL, puis le volume a été complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée.

- **Réactif de Griess**

La solution A de NED (Naphtyl étyl Diamine) 0,1 % a été préparée par dissolution de 0,1 g de NED dans 100 mL d'eau distillée. La solution B de sulfanylamide 1 % a été obtenue après dissolution de 1 g de sulfanylamide dans 100 mL d'acide phosphorique à 2,5 %. Les

solutions A et B ont été mélangées dans un flacon sombre (V/V) afin d'obtenir le réactif de Griess.

- **Solution standard de nitrite de sodium**

La solution de nitrite de sodium (NaNO_2) 1 mM a été obtenue en dissolvant 0,69 g de NaNO_2 dans 10 mL d'eau distillée pour un volume final de 10 mL.

v) **Réactifs utilisés pour la réalisation des coupes histologiques**

- **Formol à 4 % tamponné**

Pour préparer un litre de formol à 4 % tamponné, 6,5 g de phosphate disodique et 4 g de phosphate monosodique ont été dissouts dans le formol commercial (37 %) à l'aide d'un agitateur magnétique sous une hotte ventilée. Par la suite, 900 mL d'eau distillée ont été ajoutés à la solution obtenue.

- **Solution d'hématoxyline de Mayer**

C'est un colorant nucléaire. Pour la préparer, 1 g d'hématoxyline et 1000 mL d'eau distillée ont été mélangés et chauffés doucement jusqu'à 50 °C. Au mélange chauffé, 0,2 g d'iodate de sodium et 50 g d'alun de potassium ont été ajoutés. L'ensemble a été agité jusqu'à dissolution de l'alun. Ensuite, 1 g d'acide citrique et 50 g de chloral hydrate ont été ajoutés à la solution précédente.

- **Solution d'éosine alcoolique**

Cette solution est utilisée pour la coloration cytoplasmique. Pour la préparer, 3 g d'éosine ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée. A cette solution initiale, 125 mL d'alcool à 95° et 375 mL d'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange a été homogénéisé et filtré. Deux gouttes d'acide acétique ont été ajoutés au filtrat obtenu. La solution finale obtenue a été laissée à l'abri de la lumière et filtrée avant usage.

ARTICLES PUBLIES

Research Article

Preventive Potential of the Aqueous Extract of the Mixture of *Bidens pilosa* (Asteraceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) Aerial Parts on Hypertension Induced by a Chronic Salt and Alcohol Consumption on the Rats

Yannick Carlos Tcheutchoua,¹ Danielle Claude Bilanda ¹,
Paul Désiré Djomeni Dzeufiet ¹, Oriane Corine Djunie Neali,¹ Pascal Emmanuel Owona,¹
Ronald à Goufani Bidingha,¹ Rodrigue Fifen Ngapout,¹ Lohik Nguegan Mbolang,¹
Michel Noubom,² Théophile Dimo ¹ and Pierre Kamtchouing¹

¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, PO Box 812, Yaoundé, Cameroon

²Department of Biological Sciences, Faculty of Medicine, University of Dschang, Po Box 67, Dschang, Cameroon

Correspondence should be addressed to Danielle Claude Bilanda; bilandad@yahoo.com

Received 16 November 2021; Accepted 21 February 2022; Published 9 March 2022

Academic Editor: Azizah Ugusman

Copyright © 2022 Yannick Carlos Tcheutchoua et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

High blood pressure (HBP) is currently one of the main risk factors for cardiovascular and kidney diseases. Nowadays, populations make extensive use of alternative medicine for their health problems. *Bidens pilosa* (*B. pilosa*) and *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) are used individually in the traditional treatment of cardiovascular disorders. This study assessed the effects of the mixture of these two plants aqueous extract on HBP in rats. Male rats (42) were divided into 7 groups of 6 rats each. Normotensive rats received only distilled water and formed group 1. The other animals received ethanol + salt preceded by distilled water (10 mL/kg; group 2) and spironolactone (10 mg/kg; group 3); the aqueous extracts of the mixture (100 and 200 mg/kg; groups 4 and 5) isolated plants *B. pilosa* (200 mg/kg; group 6) and *C. citratus* (200 mg/kg; group 7). Animals were treated for 7 weeks during which water consumption and urine volume were assessed; then, hemodynamic parameters were recorded, and rats were sacrificed. Serum and some organs (liver, kidney, heart, and aorta) were used to evaluate biochemical parameters. Ingestion of ethanol + salt leads to a significant increase in urinary volume and water intake that were significantly prevented by the extracts from the mixture and isolated plants. Ethanol + salt solution significantly increased the blood pressure, heart rate, triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-chol), very-low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-chol), atherogenic indices, liver and kidney function parameters, and malondialdehyde (MDA) levels. However, the levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-chol), albumin, reduced glutathione (GSH), catalase, and superoxide dismutase (SOD) activity were significantly reduced. The extracts of the mixture and isolated plants significantly prevented all these variations with a more pronounced action for the lowest dose of the mixture on the lipid profile, oxidative stress, and kidney function. These observations confirm the beneficial effects of *B. pilosa* and *C. citratus* to manage hypertension.

1. Introduction

Arterial hypertension (AHT) is a very common condition today, but for a long time, it was considered a rare and even nonexistent condition in Africa. Today, hypertension is a

real public health problem. It refers to a permanent rise in blood pressure in the arteries, which is based on two points: the rise in blood pressure and its persistence [1].

According to the WHO, 1.28 billion people worldwide between the ages of 30 and 79 have hypertension, and most

of them (two-thirds) live in low and middle-income countries [2]. The prevalence of hypertension varies across continents and country revenues. High-income countries have the lowest prevalence of hypertension compared to lower-income countries (40% versus 35% on average) [3]. Also, due to weak health systems in these countries, the number of undiagnosed and/or untreated people with hypertension is very high (46%) [2]. In the African continent, the prevalence of hypertension is the highest (27%) compared to the Americas where it is lower (18%) [2]. The prevalence of hypertension in Cameroon was estimated at 29.70% in 2015 [4]. According to a WHO analysis of ten countries on the African continent, cardiovascular disease, diabetes, and asthma are the comorbidities most associated with patients with COVID-19. South Africa, which recorded almost half of the cases and deaths on the continent, found that more than 60% of COVID-19 patients in hospitals had HBP and at least 50% had diabetes [5]. The increase in the prevalence of hypertension is attributable to population growth, ageing populations, and behavioural risk factors such as poor diet, alcohol and salt abuse, lack of physical activity, overweight, and constant exposure to stress [3]. Today, alcoholic beverages are consumed regularly by most societies in the world. However, its abuse is a public health problem [6]. Several studies have shown that chronic heavy alcohol consumption most often causes liver, gastrointestinal, nerve, and cardiovascular damages leading to physiological dysfunction [7, 8]. It has been clearly established that chronic ethanol consumption leads to increased blood pressure and thus hypertension. Global salt consumption is far too high in both developed and developing countries [9]. Many epidemiological studies have established a causal relationship between high dietary sodium consumption and increased blood pressure and thus the risk of hypertension, which in the long term can lead to cardiovascular, liver, and kidney disorders [9]. Chronic consumption of both (alcohol and salt) could have adverse effects on the cardiovascular system, liver, and kidneys.

HBP is a chronic disease that requires lifelong treatment with dietary management and regular use of medications such as ACE inhibitors, calcium channel blockers, and diuretics. These drugs have several limitations, namely, side effects, high cost, and inaccessibility. Despite a large number of modern medicines, people around the world are increasingly turning to herbal medicines for their primary health problems.

African flora in general and Cameroonian flora in particular abounds in diverse varieties of plant species. These plants are most often used by populations for the treatment of several ailments. They are used to treat sexual and fertility disorders, diabetes, obesity, and cardiovascular disorders [10]. Nowadays, the identification of new active ingredients and the discovery of new pharmacological properties, with minimal adverse effects, have contributed to promoting phytotherapy [11]. In view of the important place that these plants occupy in pharmacopoeia, the WHO has recommended that investigations be conducted on the effects of plants used in traditional medicine [12].

Despite the extensive use of herbs in traditional medicine, failures in monotherapy have most often been encountered in the treatment of various diseases. These resistances encountered with monotherapy are leading healthcare personnel to advocate more and more for polytherapy. This renewed interest in the use of several molecules in combination with the treatment of diseases is related to both efficacy and the reduction of doses and possible side effects. Therefore, since several plants have already proven their efficacy and limitations in monotherapy, there is an urgent need to develop new drugs combining several plants for the treatment of diseases such as hypertension.

B. pilosa is a perennial plant belonging to the Asteraceae family, globally distributed in tropical regions. Scientific studies, although not exhaustive, have shown that *B. pilosa* extracts are antitumor, anti-inflammatory, antioxidant, diuretic, antihypertensive, vasorelaxant, and antiulcerative [13–16]. In traditional medicine, the decoction of the whole plant is used against flu and fevers, while the leaves of the plant are used to treat ear infections, psoriasis, hepatitis, and hemorrhoids [15]. The plant is also considered to be anti-poisonous [15]. *C. citratus* commonly known as lemongrass is an herb belonging to the Poaceae family. Scientific studies have shown that *C. citratus* has antispasmodic, antipyretic, sedative, diuretic, vasorelaxant, and hypotensive activities [17–20]. In traditional medicine, *C. citratus* is used for its many therapeutic properties. The decoction of the leaves is used to treat gastrointestinal pain, herpes, fever, headaches, and heart problems [19]. The two plants are diuretic, vasorelaxant, and antihypertensive, and so far, no scientific study has been conducted on the effects of the mixture. Therefore, we propose to evaluate the preventive effects of the aqueous extract of the mixture of these two plants on a rat model of hypertension, using alcohol and salt.

2. Materials and Methods

2.1. Animal Material. Male Wistar rats aged 6–8 weeks and weighing 150–160 g were randomly selected from the colony of Animal Biology and Physiology Animal House of Yaoundé I University. They were reared in Plexiglas cages. Every effort was made to minimise animal suffering and to reduce the number of animals used. The rats were housed 3 per cage and exposed to a daily 12-hour light/dark cycle. They were maintained at room temperature ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) with free access to a standard diet (composed of 40% maize, 20% wheat bran, 24% fish meal, 4% palm kernel meal, 8% peanut meal, 2% cottonseed meal, 2% bone meal, and a 10 g vitamin complex) and tap water. All procedures and protocols involving animals and their care were conducted in accordance with institutional guidelines and approved by the National Ethics Committee of Cameroon (Reg. No. FWA-IRB00001954).

2.2. Plant Material. The aerial parts of *C. citratus* (leaves and stems) and *B. pilosa* (leaves, stems, and flowers) were

collected in Yaoundé (Central Cameroon) more precisely in Messa-ssi in February 2018. *C. citratus* was identified by comparison with the botanical collection of D. Dang No. 202 registered at the Yaoundé National Herbarium under No. 18626/SRFcam, and *B. pilosa* was identified by comparison with the botanical collection of B. Pollard No. 2 registered at the Yaoundé National Herbarium under No. 60447/HNC.

2.3. Plants Extraction. The collected aerial parts of *C. citratus* and *B. pilosa* were washed, shade-dried, and crushed to obtain the powder of each plant. 200 g of each plant was separately introduced into 2 L of boiling distilled water. The infusion was done until it cooled down. The solutions obtained were filtered with Whatman No. 3 paper, and the filtrates were oven-dried at 45°C to give 10.04 g and 15.96 g of aqueous extract of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, for a yield of 5.02% and 7.98%. The doses of the mixture of the two plants were chosen on the basis of screening for direct hypotensive effects. This screening was carried out using combinations of proportions 25–75, 50–50, and 75–25 of the mixture of aqueous extracts of *B. pilosa* and *C. citratus*. The best combination (50–50) of the mixture was chosen and represented the dose of 100 mg/kg. This dose was multiplied by two to obtain the dose of 200 mg/kg. Knowing the best combination, the doses of 125 g for *B. pilosa* and 200 g for *C. citratus* were obtained by setting the mass of extract obtained after extraction to 50 g for each plant and also by using the extraction yields of each separate plant. Thus, the amount of crude plant of each plant per 50 g of extract was determined by calculation. 125 g of *B. pilosa* and 200 g of *C. citratus* were introduced into 3.25 L of boiling distilled water. This gave 33 g of aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, a yield of 10.15%.

2.4. Phytochemical Analysis. The secondary metabolites tested were flavonoids, alkaloids, quinones, saponins, steroids, triterpenes, glycosides, anthocyanins, tannins, and phenols.

2.5. Screening for Diuretic Activity. All extracts were tested for diuretic activity using the method described by Kau et al. [21]. After checking the urinary excretion, the animals with the best urine volume were selected and divided into 6 groups of 6 animals each. The first group (TN) was treated with distilled water (10 mL/kg) and the second and third (BC 100 and BC 200) with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg, respectively. The fourth and fifth groups (B 100 and C 200) were treated with aqueous extracts of *B. pilosa* (200 mg/kg) and *C. citratus* (200 mg/kg), respectively, while the sixth group (FURO 10) was treated with furosemide (10 mg/kg). The animals of the different groups were placed in standard metabolic cages and food and water were removed 12 hours before the experiment. All extracts were dissolved in distilled water to the required concentrations and administered orally by gavage. Cumulative urine excretion was measured at 3, 6, 9, 12, and 24 hours in all groups. The ratio of urine excretion

in the test group to urine excretion in the control group is used as a value of the diuretic action for a given dose of a drug. As diuretic action is subjected to variability, diuretic activity was calculated [21]. To obtain the diuretic activity, the diuretic action of the test substance was compared to that of a standard drug in the test group. The diuretic activity was considered as “no,” “low,” “moderate,” and “good” if the values were, respectively, <0.72, 0.72–1.00, 1.00–1.5, and > 1.5 [21].

Urinary excretion (UE) = total urine output × 100/total fluid administered; diuretic action = urinary excretion of the test group/urinary excretion of the control group; diuretic activity = diuretic action of the test group/diuretic action of a standard drug.

2.6. Animal Grouping, Treatment, and Hypertension Induction. The preventive effects of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* were evaluated in normotensive male Wistar rats. The plants extracts and the hypertension inducer made up of 40° alcohol (5 g/kg) + salt (2.46 g/kg) for 49 days (7 weeks) were given concomitantly to the animals starting with the extracts. Forty-two (42) male rats were divided into seven groups (1–7) of 6 animals each. These seven groups were treated daily by gavage for 49 days as follows: groups 1 and 2 were receiving distilled water (10 mL/kg), group 3 spironolactone (10 mg/kg), groups 4 and 5 the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg, respectively, and groups 6 and 7 the aqueous extracts of *B. pilosa* (200 mg/kg) and *C. citratus* (200 mg/kg), respectively. Thirty minutes after, the inducer (alcohol + salt solution) was administered to rats in groups 2–7 at a rate of 1.66 mL/100 g bodyweight; while, group 1 was considered as the normotensive control group. Water intake and urinary excretion volume were assessed at the beginning and the end of the experiment using metabolic cages.

2.7. Drugs and Chemicals. All the drugs and chemicals used in this study were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA).

2.8. Hemodynamic Parameters Recording. At the end of the respective treatments, arterial blood pressure and heart rate of all rats were measured as previously described [22]. Briefly, the rat was anaesthetised by an intraperitoneal injection of urethane (1.5 g/kg). The trachea was exposed and connected to a pipe to allow breathing. The arterial blood pressure was measured from a carotid artery through an arterial pipe connected to a pressure transducer coupled with a hemodynamic recorder Biopac Student Lab. (MP35) and computer.

2.9. Blood and Organs Collection. Immediately after hemodynamic parameters measurement, blood samples were collected from the abdominal artery and centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The plasma obtained was kept at –20°C for biochemical analysis. Thereafter, the heart, the kidney,

the liver, and the thoracic aorta were dissected out, washed in saline, and weighed; parts of all these organs were kept for oxidative stress markers. For histological analysis, other parts of the kidney, the liver, and the aorta were fixed in 10% formalin.

2.10. Biochemical Analysis. The heart, aorta, liver, and kidney kept for oxidative stress markers were homogenised in Mc Even solution for the heart and aorta (20% and 10% w/v, respectively) or in Tris-HCl 50 mM buffer solution for the liver and kidney (20%, w/v). Tissue protein concentration was assayed [23] using the Biuret reagent. MDA, SOD, catalase, and GSH were determined [24–27]. The concentrations of TC, HDL-cholesterol, TG, creatinine, uric acid, urea, albumin, and bilirubin levels in serum were determined using commercial diagnostic kits (Labkit, ESP). The activities of alanine and aspartate aminotransferases were also determined spectrophotometrically using commercial diagnostic kits (Labkit, ESP). LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, and atherogenic indices were calculated using the method of Ikewuchi [28]: cardiac risk ratio (CRR) = TC/HDL-cholesterol; atherogenic coefficient (AC) = (TC-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol; atherogenic index of plasma (AIP) = $\log_{10}(\text{TG}/\text{HDL-cholesterol})$; LDL-cholesterol = (TC-HDL-cholesterol) - (TG/5); and VLDL-cholesterol = TG/5. Creatinine clearance was calculated using the method of Ojeda et al. [29]: creatinine clearance = $(U \times V)/P$, where U is the creatinine level in urine, V the volume of urine collected in 24 h, and P the level of creatinine in plasma.

2.11. Histological Analysis. For microscopic evaluation, the investigated organs were dehydrated and paraffin-embedded for microscopic examination in accordance with routine laboratory procedures. Paraffin sections of 4 μm were prepared and stained with haematoxylin and eosin (H&E) for histological examination. Morphometric measurements of the thickness of arteries were performed using Image J 1.3.

2.12. Statistical Analysis. Results were expressed as the mean \pm SEM. The difference between the groups was compared using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey's post hoc test using GraphPad Prism software version 8.01. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Phytochemical Analysis of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* Aerial Parts Aqueous Extract

3.1.1. Qualitative Phytochemical Composition of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. The qualitative phytochemical analysis of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* revealed the following bioactive compounds: flavonoids, alkaloids, quinones, saponins, steroids, triterpenes, glycosides, and phenols. However, anthocyanins and tannins were absent in this extract (Table 1).

TABLE 1: Bioactive compounds identified in the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*.

Compounds	Identification
Flavonoids	+
Tannins	–
Alkaloids	+
Quinones	+
Saponins	+
Steroids	+
Triterpenes	+
Cardiac glycosides	+
Phenols	+
Anthocyanins	–

+, present; –, absent.

3.1.2. Quantitative Phytochemical Composition of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*.

With the quantitative phytochemical analysis of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, the polyphenols and flavonoids were quantified (Table 2). The level of polyphenols was 922.71 ± 3.22 mg catechin equivalent per g extract, while the level of flavonoids was 71.48 ± 3.41 mg catechin equivalent per g extract.

3.2. Diuretic Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*

3.2.1. Effects on Urinary Excretion Volume. The diuretic effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* are shown in Figure 1. 24 hours after administration of the different substances, the aqueous extract of the mixture resulted in a significant ($p < 0.05$) increase in the urine volume at the dose of 200 mg/kg compared to rats given distilled water. *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) caused a significant ($p < 0.05$) increase in urinary volume excreted at 6 and 24 hours compared to rats given distilled water.

3.2.2. Effects on Diuretic Activity. Details of the urinary excretion rate, diuretic action, and diuretic activity are given in Table 3. The results showed that furosemide and extracts increased urine output at 24 h compared to control rats. Like furosemide and separate extracts, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* showed diuretic activity at all doses. The diuretic activity of a drug is considered to be nil if it is less than 0.72, low if it is between 0.72 and 1.00, moderate if it is between 1.00 and 1.50, and good if it is greater than 1.50. With respect to this, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* shows a good diuretic activity much more at the dose of 200 mg/kg.

3.2.3. Effects on Water Intake and Urinary Excretion Volume. Administration of distilled water (10 mL/kg) concomitantly with the inducer (ethanol + salt solution, hypertensive rats) induced a significant ($p < 0.001$) increase in water intake and urinary excretion in rats compared to rats given distilled water alone (normotensive rats, Figure 2). The increase in

TABLE 2: Quantitative phytochemical screening (determination of polyphenols and flavonoids).

	Polyphenols (mg CE/g extract)	Flavonoids (mg CE/g extract)
<i>B. pilosa</i> + <i>C. citratus</i>	922.71 ± 3.22	71.48 ± 3.41

CE, catechin equivalent.

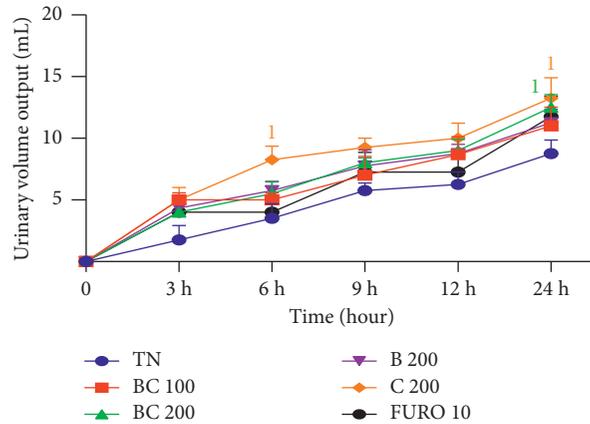


FIGURE 1: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on urine volume. Each point represents the mean ± SEM ($n = 6$). TN, rats receiving distilled water (10 mL/kg); BC 100 and BC 200, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the doses of 100 and 200 mg/kg; FURO 10, rats receiving furosemide at the dose of 10 mg/kg; B 200, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract at the dose of 200 mg/kg; C 200, rats receiving *C. citratus* aqueous extract at the dose of 200 mg/kg; ¹ $p < 0.05$, significant difference compared to the rats receiving distilled water.

TABLE 3: Diuretic activity of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*.

Parameters	TN	FURO 10	BC 100	BC 200	B 200	C 200
Urinary excretion (%)	259.64	327.07	255.89	359.20	356.86	419.63
Diuretic activity	—	1.00	0.79	1.06	0.96	1.12
Diuretic action	1.00	1.34	1.05	1.43	1.29	1.51

Each value represents the mean ($n = 6$). TN, rats receiving distilled water (10 mL/kg); BC 100 and BC 200, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the doses of 100 and 200 mg/kg; FURO 10, rats receiving furosemide at the dose of 10 mg/kg; B 200, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract at the dose of 200 mg/kg; C 200, rats receiving *C. citratus* aqueous extract at the dose of 200 mg/kg.

water intake induced by alcohol + salt solution was significantly ($p < 0.001$) prevented by the aqueous extract of *B. pilosa* and *C. citratus* mixture (100 and 200 mg/kg), *B. pilosa* (200 mg/kg), and spironolactone (10 mg/kg) by 24.72%, 36.95%, 19.21%, and 33.69%, respectively, compared to hypertensive rats. This increase induced by alcohol + salt solution was also significantly ($p < 0.01$) prevented in animals treated concomitantly with *C. citratus* (200 mg/kg) and the inducer by 18.47%. At the end of the experiment, a significant ($p < 0.001$) decrease in the volume of urinary excretion was observed in rats treated concomitantly with inducer and *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) by 35.71% as compared to hypertensive rats.

3.3. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Blood Pressure and Heart Rate. Administration of the inducer (ethanol + salt solution) and distilled water (10 mL/kg) to normotensive rats for 7 weeks resulted in a significant ($p < 0.001$) increase in systolic (SBP), diastolic (DBP), and mean (MBP) blood pressure and heart rate (Figure 3). This increase was 34.09%, 51.37%, 37.42%, and 15.41%, respectively, compared to normotensive rats.

The increase in SBP, DBP, MBP, and heart rate observed in the group treated with distilled water and the inducer (hypertensive rats) was significantly ($p < 0.001$) prevented in the group treated concomitantly with aqueous extract of *B. pilosa* and *C. citratus* mixture (100 mg/kg) and the inducer by 30.51%, 30.16%, 32.30%, and 14.12%, respectively. Treatment concomitantly with the aqueous extract of *B. pilosa* and *C. citratus* mixture (200 mg/kg) and the inducer significantly prevented the increase in SBP, DBP, MBP, and heart rate. The values decreased by 28.89% ($p < 0.001$), 33.13% ($p < 0.001$), 32.11% ($p < 0.001$), and 11.25% ($p < 0.01$), respectively, compared to hypertensive rats. In animals treated concomitantly with spironolactone and the inducer, there was a significant decrease in SBP, DBP, MBP, and heart rate of 23.67% ($p < 0.001$), 29.06% ($p < 0.01$), 25.45% ($p < 0.001$), and 8.59% ($p < 0.05$), respectively, as compared to hypertensive rats. In animals treated concomitantly with aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg) or *C. citratus* (200 mg/kg) and the inducer, there was a significant decrease in SBP ($p < 0.001$), DBP ($p < 0.01$; $p < 0.005$, respectively), MBP ($p < 0.001$; $p < 0.005$, respectively), and heart rate ($p < 0.001$; $p < 0.05$, respectively) compared to hypertensive rats.

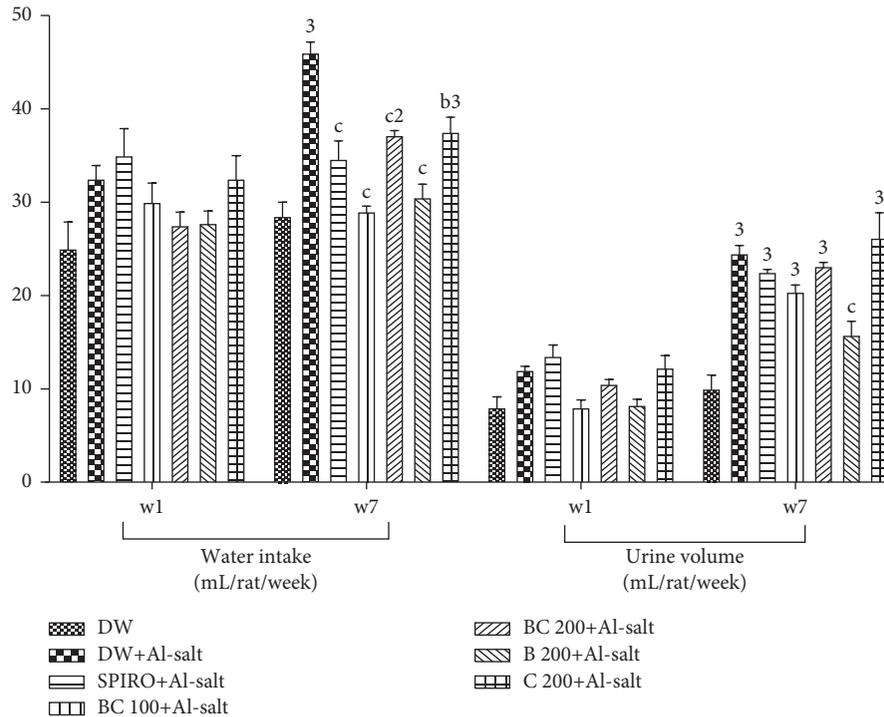


FIGURE 2: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on water intake and urinary excretion volume. Each bar represents the mean \pm SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg, respectively, and the inducer simultaneously; SPIRO + Al-salt, rats receiving concomitantly spironolactone at a dose of 10 mg/kg and the inducer; B 200+Al-salt, rats receiving concomitantly *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200+Al-salt: rats receiving *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving only distilled, ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

3.4. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the Lipid Profile. Administration of the inducer (ethanol + salt solution) and distilled water (10 mL/kg) to normotensive rats resulted in a significant ($p < 0.001$) increase in TC by 42.40%, TG by 117.23%, LDL-chol by 863.03%, and VLDL-chol by 117.23% (Table 4) as compared to normal rats receiving only distilled water (normotensive rats). The increase in TG and VLDL-chol induced by ethanol + salt solution was significantly ($p < 0.001$) prevented by the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) by 62.31% and 62.33%, respectively, as compared with hypertensive rats. The mixture's aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in TG and VLDL-chol by 33.48% and 33.53%, respectively, as compared to hypertensive rats. The mixture's aqueous extract at doses of 100 mg/kg ($p < 0.001$) and 200 mg/kg ($p < 0.05$) significantly prevented the increase in TC induced by the alcohol + salt solution as compared with the hypertensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) prevented the decrease induced by the alcohol + salt solution in HDL-chol by 33.21% as compared with the hypertensive rats. In animals given alcohol + salt and spironolactone (10 mg/kg), there was a significant ($p < 0.01$) prevention of the increase induced by the alcohol + salt solution in TC levels by 12.34%,

in TG ($p < 0.001$) by 53.38%, in LDL-chol ($p < 0.05$) by 41.42%, and in VLDL-chol ($p < 0.001$) by 62.33% as compared to hypertensive rats. *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in TG levels ($p < 0.001$) by 60.79% and in VLDL-chol ($p < 0.001$) by 60.76% as compared to hypertensive rats. The aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) significantly prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in TG ($p < 0.001$) by 53.81%, in LDL-chol ($p < 0.01$) by 55.67%, and in VLDL-chol ($p < 0.001$) by 53.81% and the decrease in HDL-chol by 50.43% ($p < 0.001$) as compared with hypertensive rats.

3.5. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Atherogenic Indices. The effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the levels of the atherogenic indices are given in Table 5. Administration of the inducer (alcohol + salt solution) and distilled water (10 mL/kg) resulted in a significant ($p < 0.001$) increase in CRR, AC, and AIP compared to normal rats given distilled water alone (normotensive rats). The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) significantly prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in CRR ($p < 0.001$), AC ($p < 0.01$), and AIP ($p < 0.001$) as compared with hypertensive rats. The

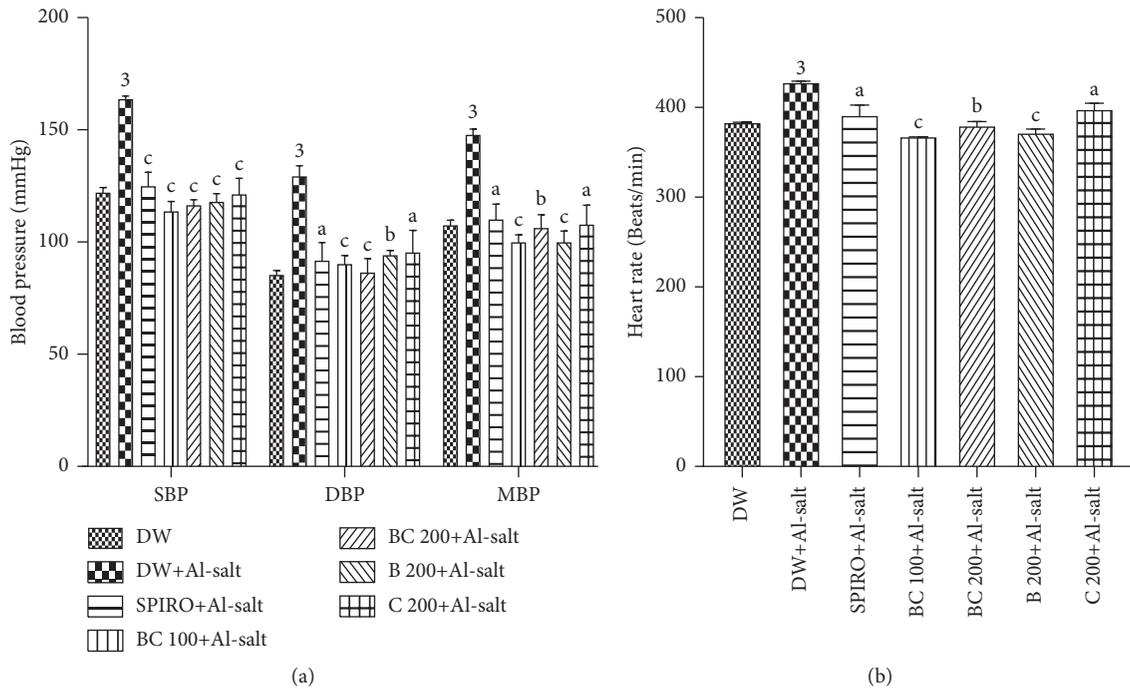


FIGURE 3: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on blood pressure (a) and heart rate (b). Each bar represents the mean \pm SEM ($n = 6$). SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure; DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) concomitantly; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of *B. pilosa* and *C. citratus* mixture at 100 and 200 mg/kg, respectively, and the inducer concomitantly; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; C 200+Al-salt, rats receiving *C. citratus* extract (200 mg/kg) and the inducer; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normotensive rats receiving only distilled water; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.05$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats given distilled water and the inducer.

TABLE 4: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the lipid profile.

Parameters	DW	DW + Al-salt	SPIRO + Al-salt	BC 100 \pm Al-salt	BC 200 \pm Al-salt	B 200 \pm Al-salt	C 200 \pm Al-salt
TC (mg/dL)	66.20 \pm 1.02	94.27 \pm 4.20 ³	82.64 \pm 0.222 ^b	67.88 \pm 2.22 ^c	79.17 \pm 4.26 ^{1a}	88.06 \pm 3.88 ³	92.75 \pm 0.20 ³
TG (mg/dL)	27.80 \pm 1.95	60.39 \pm 5.96 ³	28.15 \pm 3.88 ^c	22.76 \pm 1.87 ^c	40.17 \pm 3.36 ^b	23.68 \pm 1.21 ^c	27.89 \pm 3.92 ^c
HDL-chol (mg/dL)	57.07 \pm 2.18	47.81 \pm 4.30	56.87 \pm 1.02	48.80 \pm 1.78	63.69 \pm 2.50 ^b	49.56 \pm 1.72	71.92 \pm 3.93 ^{c2}
LDL-chol (mg/dL)	3.57 \pm 0.81	34.38 \pm 4.02 ³	20.14 \pm 1.62 ^{3a}	14.53 \pm 1.76 ^{3b}	7.45 \pm 1.58 ^{1c}	33.76 \pm 0.98 ³	15.24 \pm 1.03 ^{3b}
VLDL-chol (mg/dL)	5.56 \pm 0.39	12.08 \pm 1.19 ³	5.63 \pm 0.78 ^c	4.55 \pm 0.37 ^c	8.03 \pm 0.67 ^b	4.74 \pm 0.24 ^c	5.58 \pm 0.78 ^c

Each value represents the mean \pm SEM ($n = 6$). TC, total cholesterol; LDL-chol, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-chol, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; VLDL-chol, very-low-density lipoprotein cholesterol; DW, normal rats receiving distilled water only (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; C 200+Al-salt, rats receiving concurrent *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; ¹ $p < 0.05$; ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving distilled water only; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

aqueous extract of the plant mixture (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in CRR, AC, and AIP as compared with hypertensive rats. Treatment concomitantly with alcohol + salt and *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented increases induced by the alcohol + salt solution in CRR, AC, and AIP as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in AIP as compared with hypertensive rats. Treatment

concomitantly with alcohol + salt and spironolactone (10 mg/kg) significantly prevented the increase of CRR ($p < 0.001$), AC ($p < 0.05$), and AIP ($p < 0.001$) as compared with hypertensive rats.

3.6. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Some Markers of Liver Function. Table 6 provides the preventive effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on some liver function markers. Administration of the inducer

TABLE 5: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on atherogenic indices.

Atherogenic indices	DW	DW + Al-salt	SPIRO + Al-salt	BC 100 + Al-salt	BC 200 + Al-salt	B 200 + Al-salt	C 200 + Al-salt
CRR	1.16 ± 0.08	1.97 + 0.33 ³	1.46 ± 0.03 ^c	1.40 ± 0.06 ^c	1.25 ± 0.09 ^c	1.80 + 0.13 ³	1.31 ± 0.08 ^c
AC	0.16 ± 0.03	0.97 + 0.07 ³	0.45 ± 0.03 ^{a1}	0.39 ± 0.06 ^b	0.24 ± 0.03 ^c	0.78 + 0.08 ³	0.29 ± 0.08 ^c
AIP	-0.31 ± 0.03	0.20 + 0.04 ³	-0.32 ± 0.06 ^c	-0.34 ± 0.03 ^c	-0.21 ± 0.05 ^c	-0.32 ± 0.01 ^c	-0.43 ± 0.08 ^c

Each value represents the mean ± SEM ($n=6$). CRR, cardiac risk ratio; AC, atherogenic coefficients; AIP, atherogenic index of plasma; DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the *B. pilosa* and *C. citratus* mixture at doses of 100 and 200 mg/kg, respectively, and the inducer; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200 + Al-salt, rats receiving *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; ¹ $p < 0.05$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving only distilled water; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

(alcohol + salt solution) and distilled water (10 mL/kg) resulted in a significant increase in the activities of aspartate aminotransferase (AST) by 645.95% ($p < 0.001$), alanine aminotransferase (ALT) by 40.41% ($p < 0.01$), and bilirubin concentration by 33.33% ($p < 0.01$) and a significant decrease in albumin levels by 24.79% ($p < 0.01$) compared to normal rats receiving distilled water only (normotensive rats). The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg or spironolactone (10 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in ALT activity by 55.80%, 76.43%, and 58.34%, respectively, as compared with hypertensive rats. These solutions had the same effect on AST activity by 54.70% ($p < 0.001$), 15.36% ($p < 0.05$), and 28.53% ($p < 0.001$), respectively, as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) and spironolactone also significantly prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in total bilirubin by 45.83% ($p < 0.001$), 25.00% ($p < 0.01$), and 20.83% ($p < 0.05$), respectively, as compared with hypertensive rats. In rats treated simultaneously with alcohol + salt solution and the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 mg/kg), there was a significant difference in ALT activity of 75.80% ($p < 0.001$) compared to normotensive rats. In rats treated simultaneously with alcohol + salt solution and *C. citratus* (200 mg/kg), there was a significant prevention of increase in ALT activity ($p < 0.001$), AST ($p < 0.001$) and total bilirubin level ($p < 0.01$) as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg) significantly prevented the increase induced by alcohol + salt solution in ALT ($p < 0.001$) and AST ($p < 0.001$) activities and total bilirubin level ($p < 0.05$) as compared with hypertensive rats.

3.7. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Some Markers of Renal Function

3.7.1. In the Serum. Table 7 provides the preventive effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on some markers of renal function at the serum level. A significant increase in serum creatinine by

37.66% ($p < 0.001$), serum uraemia by 183.40% ($p < 0.001$), and serum uric acid by 202.28% ($p < 0.001$) was observed in rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) concomitantly, compared with normotensive rats. In rats given inducer and distilled water (hypertensive rats), a decrease in creatinine clearance of 50.00% ($p < 0.01$) was observed as compared to normotensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) and spironolactone significantly prevented increases induced by the alcohol + salt solution in creatinine levels, respectively, by 34.90% ($p < 0.001$), 18.86% ($p < 0.05$), and 30.18% ($p < 0.001$), urea levels, respectively, by 85.26% ($p < 0.001$), 69.92% ($p < 0.001$), and 66.09% ($p < 0.001$), and uric acid levels, respectively, by 81.25% ($p < 0.001$), 63.79% ($p < 0.001$), and 64.76% ($p < 0.001$) as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of the *B. pilosa* and *C. citratus* mixture (100 mg/kg) possesses significant ($p < 0.001$) increase in creatinine clearance of 138.89% as compared with hypertensive rats. In rats treated concomitantly with alcohol + salt and the mixture's aqueous extract (200 mg/kg), there was a significant difference in creatinine of 11.68% ($p < 0.01$) as compared to normotensive rats. In rats treated concomitantly with alcohol + salt solution and *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg), we observed a significant prevention of the increase induced by the alcohol + salt solution in creatinine ($p < 0.001$), uraemia ($p < 0.001$), and serum uric acid ($p < 0.001$) as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg), significantly ($p < 0.001$) prevented the increase induced by the alcohol + salt solution in serum creatinine, uraemia and serum uric acid as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) prevented the decrease induced by the alcohol + salt solution in creatinine clearance as compared with hypertensive rats.

The alcohol + salt solution resulted in a significant ($p < 0.01$) decrease in magnesium, sodium, and potassium levels of 39.39%, 18.11%, and 46.43%, respectively, as compared to normotensive rats. Treatment concomitantly with inducer and the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) or *B. pilosa* aqueous

TABLE 6: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on liver function.

Parameters	DW	DW + Al-salt	SPIRO + Al-salt	BC 100 ± Al-salt	BC 200+Al-salt	B 200 ± Al-salt	C 200 ± Al-salt
ALT (U/L)	12.36 ± 6.46	92.20 ± 7.87 ³	38.41 ± 2.29 ^c	40.74 ± 2.02 ^c	21.73 ± 1.25 ^{c3}	35.70 ± 1.16 ^c	67.90 ± 1.74 ^{c3}
AST (U/L)	67.73 ± 3.78	95.10 ± 6.95 ³	67.96 ± 6.76 ^c	59.49 ± 6.48 ^c	80.49 ± 8.12 ^b	70.16 ± 4.64 ^c	67.90 ± 5.04 ^c
Albumin (mg/dL)	3.67 ± 0.25	2.76 ± 0.16 ²	3.14 ± 0.08	3.37 ± 0.18	3.32 ± 0.11	3.15 ± 0.04	3.36 ± 0.14
Total bilirubin (mg/dL)	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.01 ²	0.19 ± 0.01 ^a	0.13 ± 0.01 ^c	0.18 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.01 ^b

Each value represents the mean ± SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100 + Al-salt and BC 200 + Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg, respectively, and the inducer; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200 + Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200 + Al-salt, rats receiving the aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) and the inducer; ¹ $p < 0.05$; ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving only distilled water; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

TABLE 7: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on markers of renal function at the serum level.

Parameters	DW	DW + Al-salt	SPIRO + Al-salt	BC 100 + Al-salt	BC 200 + Al-salt	B 200 + Al-salt	C 200 + Al-salt
Creatinine (mg/dL)	0.77 ± 0.02	1.06 ± 0.01 ³	0.74 ± 0.01 ^c	0.69 ± 0.04 ^c	0.86 ± 0.04 ^{b2}	0.63 ± 0.05 ^c	0.76 ± 0.01 ^c
Creatinine clearance (mL/min)	0.36 ± 0.04	0.18 ± 0.02 ²	0.30 ± 0.04	0.43 ± 0.04 ^c	0.31 ± 0.02	0.35 ± 0.01 ^b	0.28 ± 0.01
Urea (mg/dL)	19.16 ± 1.82	54.30 ± 3.01 ³	18.41 ± 2.75 ^c	8.00 ± 1.82 ^{1c}	16.33 ± 2.42 ^c	21.88 ± 2.39 ^c	17.25 ± 2.46 ^c
Uric acid (mg/dL)	3.07 ± 0.40	9.28 ± 1.06 ³	3.27 ± 0.25 ^c	1.74 ± 0.23 ^c	3.36 ± 0.17 ^c	2.26 ± 0.27 ^c	1.97 ± 0.29 ^c
Mg ²⁺ (mmol/L)	3.63 ± 0.16	2.20 ± 0.18 ³	2.67 ± 0.09 ¹	3.28 ± 0.18 ^b	2.62 ± 0.13 ²	3.35 ± 0.26 ^b	2.92 ± 0.18
Ca ²⁺ (mmol/L)	1.43 ± 0.03	1.22 ± 0.21	1.21 ± 0.01	1.25 ± 0.01	1.19 ± 0.01	1.61 ± 0.01	0.85 ± 0.02
Na ⁺ (mmol/L)	125.90 ± 1.65	103.09 ± 3.42 ³	124.90 ± 3.82 ^c	130.30 ± 0.04 ^c	119.20 ± 1.45 ^b	109.60 ± 2.72 ²	132.30 ± 2.84 ^c
K ⁺ (mmol/L)	9.11 ± 1.04	4.88 ± 0.27 ³	6.85 ± 0.72	6.71 ± 0.33	6.66 ± 0.08	7.41 ± 0.96	5.29 ± 0.23 ²

Each value represents the mean ± SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100 + Al-salt and BC 200 + Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200 + Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200 + Al-salt, rats receiving *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously. ¹ $p < 0.05$; ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving distilled water only; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) prevented the decrease induced by the alcohol + salt solution in magnesium levels of 49.09% and 52.27%, respectively, as compared to hypertensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 100 and 200 mg/kg significantly ($p < 0.01$) prevented the decrease induced by the alcohol + salt solution in sodium levels by 26.39% and 15.62%, respectively, as compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) and spironolactone (10 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease induced by the alcohol + salt solution in sodium levels by 28.33% and 21.16%, respectively, as compared to hypertensive rats.

3.7.2. Urinary Level Effects. At the urinary level, the alcohol + salt solution resulted in a significant ($p < 0.001$) decrease in creatinine, urea, and uric acid levels of 50.88%, 79.67%, and 55.72%, respectively, as well as a significant increase ($p < 0.001$) in magnesium, sodium, and potassium levels of 158.15%, 33.07%, and 181.78%, respectively, as compared to normotensive rats (Table 8). The aqueous extract of the mixture of the plants (100 and 200 mg/kg) significantly prevented the decrease induced by inducer in creatinine ($p < 0.001$; $p < 0.01$, respectively) and urea ($p < 0.001$; $p < 0.05$, respectively) levels as well as the increase ($p < 0.001$) of sodium and potassium levels as compared with

hypertensive rats. Treatment concomitantly with alcohol + salt solution and *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) prevented the decrease induced by inducer in urea levels and the increase ($p < 0.001$) in sodium and potassium levels compared with hypertensive rats. The aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) significantly ($p < 0.05$) prevented the decrease induced by inducer in urea and uric acid levels and the increase ($p < 0.001$) in sodium and potassium levels as compared with hypertensive rats. Spironolactone significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in uric acid levels and the increase ($p < 0.001$) in sodium and potassium levels as compared with hypertensive rats.

3.8. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Some Oxidative Stress Parameters. Administration of the inducer (ethanol + salt solution) and distilled water (10 mL/kg) to normotensive rats resulted in a significant ($p < 0.001$) decrease in the concentration of GSH in the aorta by 66.06%, the heart by 40.84%, the kidney by 30.62%, and the liver by 59.62% as compared to normotensive rats (Figure 4(a)). The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) prevented this decrease in GSH significantly ($p < 0.001$) in the heart, kidney, and liver. The values were 55.90%, 92.08%, and 142.16%, respectively, higher in these organs as compared to

TABLE 8: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on markers of renal function at the urinary level.

Parameter	DW	DW + Al-salt	SPIRO + Al-salt	BC 100 + Al-salt	BC 200+Al-salt	B 200 + Al-salt	C 200 + Al-salt
Creatinine (mg/dL)	23.27 ± 1.52	11.43 ± 0.44 ³	14.29 ± 1.16	20.68 ± 0.71 ^c	16.33 ± 0.34 ^b	14.42 ± 0.66	14.83 ± 0.14
Urea x 100 (mg/dL)	20.22 ± 4.89	4.11 ± 1.27 ³	10.33 ± 2.46	41.33 ± 4.94 ^{2c}	23.89 ± 3.38 ^a	28.78 ± 4.82 ^b	19.92 ± 3.15 ^a
Uric acid (mg/dL)	20.10 ± 1.43	8.90 ± 0.36 ³	15.42 ± 1.57 ^{1c}	9.89 ± 0.50 ³	9.89 ± 0.25 ³	8.28 ± 0.36 ³	13.33 ± 0.64 ^{3a}
Ca ²⁺ (mmol/L)	3.54 ± 0.40	3.42 ± 0.40	4.92 ± 0.28	4.10 ± 0.60	4.12 ± 0.36	4.40 ± 0.38	4.43 ± 0.09
Mg ²⁺ (mg/dL)	5.83 ± 1.24	15.05 ± 0.83 ³	10.47 ± 1.78	11.23 ± 1.08	9.95 ± 1.25	14.30 ± 0.41 ²	14.81 ± 1.18 ²
K ⁺ (mmol/L)	26.46 ± 2.38	74.56 ± 2.48 ³	35.12 ± 2.82 ^c	24.85 ± 1.51 ^c	37.90 ± 2.22 ^c	36.34 ± 2.92 ^c	43.48 ± 2.49 ^c
Na ⁺ (mmol/L)	317.50 ± 11.41	422.50 ± 23.26 ³	318.80 ± 19.26 ^c	290.50 ± 3.53 ^c	291.00 ± 6.99 ^c	318.50 ± 4.78 ^c	401.30 ± 3.65 ^c

Each value represents the mean ± SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200+Al-salt, rats receiving *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously. ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats receiving distilled water only; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to hypertensive rats.

hypertensive rats. The extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 mg/kg) also significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease of GSH induced by alcohol + salt solution in the heart, aorta, kidney, and liver. Values were 56.36%, 171.86%, 66.96%, and 147.96%, respectively, greater in these organs as compared to hypertensive rats. Spironolactone, the aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg) and *C. citratus* (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in GSH levels induced by alcohol + salt solution in all organs as compared to rats given distilled water and the inducer (hypertensive rats).

Catalase activity in the investigated organs of rats concomitantly administered distilled water (10 mg/kg) and the inducer (ethanol + salt solution) was significantly ($p < 0.001$) decreased in the aorta by 24.14%, the heart by 42.58%, the kidney by 31.94%, and the liver by 46.49%, compared to normal rats administered distilled water alone (normotensive rats, Figure 4(b)). This decrease was significantly prevented in the liver by the aqueous extracts of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg; $p < 0.05$), *B. pilosa* (200 mg/kg; $p < 0.001$), or *C. citratus* (200 mg/kg; $p < 0.001$). The values were 47.66%, 76.99%, and 77.67%, respectively, higher as compared to hypertensive rats. The different aqueous extracts and spironolactone significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in catalase activity at the cardiac level as compared to hypertensive rats. At the aortic level, there was a significant ($p < 0.05$) prevention of the decrease in catalase activity induced by alcohol + salt solution in rats, with *B. pilosa* extract (200 mg/kg) by 13.23% as compared to hypertensive rats.

Figure 4(c) shows the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on MDA levels. It can be seen that the concentration of MDA was significantly increased ($p < 0.001$) in the heart by 263.41%, in the aorta by 241.71%, in the liver by 42.88%, and in the kidneys by 94.48% in rats receiving distilled water and the inducer (hypertensive rats) concomitantly, compared to normotensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* significantly prevented the increase ($p < 0.001$) in MDA levels induced by alcohol + salt solution in the aorta, heart, and

kidney by 55.95%, by 64.89%, and by 48.04% at 100 mg/kg and by 40.30%, by 22.60%, and by 54.23% at 200 mg/kg, respectively, lower as compared to hypertensive rats. In the liver, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) prevented the significant increase in MDA level by 9.68% ($p < 0.05$) and 25.76% ($p < 0.001$), respectively, as compared to hypertensive rats. Treatment concomitantly with alcohol + salt and *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the increase in MDA levels by 56.92% in the heart, 42.17% in the aorta, 50.83% in the kidney, and 21.99% in the liver compared to rats treated with distilled water and inducer. *C. citratus* extract (200 mg/kg) produced the same effects in the heart by 34.63%, in the aorta by 46.72%, and in the kidney by 45.12% as compared to hypertensive rats. Spironolactone (10 mg/kg) significantly prevented the increase in MDA levels induced by alcohol + salt solution in the heart by 20.30% ($p < 0.01$), in the liver by 25.75% ($p < 0.001$), in the aorta by 60.75% ($p < 0.001$), and in the kidney by 26.49% ($p < 0.001$) as compared to hypertensive rats.

SOD activity was significantly ($p < 0.001$) decreased in the liver by 63.22%, in the heart by 59.56%, and in the aorta by 91.66% of hypertensive rats as compared to normotensive rats (Figure 4(d)). The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in SOD activity induced by alcohol + salt solution in the liver, heart, and aorta. Values were 175.00%, 154.58%, and 140.38%, respectively, greater in these organs compared to hypertensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 mg/kg) also significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in SOD activity induced by alcohol + salt solution in the liver and the heart. The values were 134.38% and 227.30%, respectively, higher in these organs compared to hypertensive rats. At the same dose of the mixture's aqueous extract, SOD activity was significantly ($p < 0.01$) higher in the heart by 32.35% as compared to normotensive rats. Spironolactone significantly prevented the decrease in SOD activity induced by alcohol + salt solution in the liver ($p < 0.001$), heart ($p < 0.001$), and aorta ($p < 0.05$). The values were 110.02%, 200.02%, and

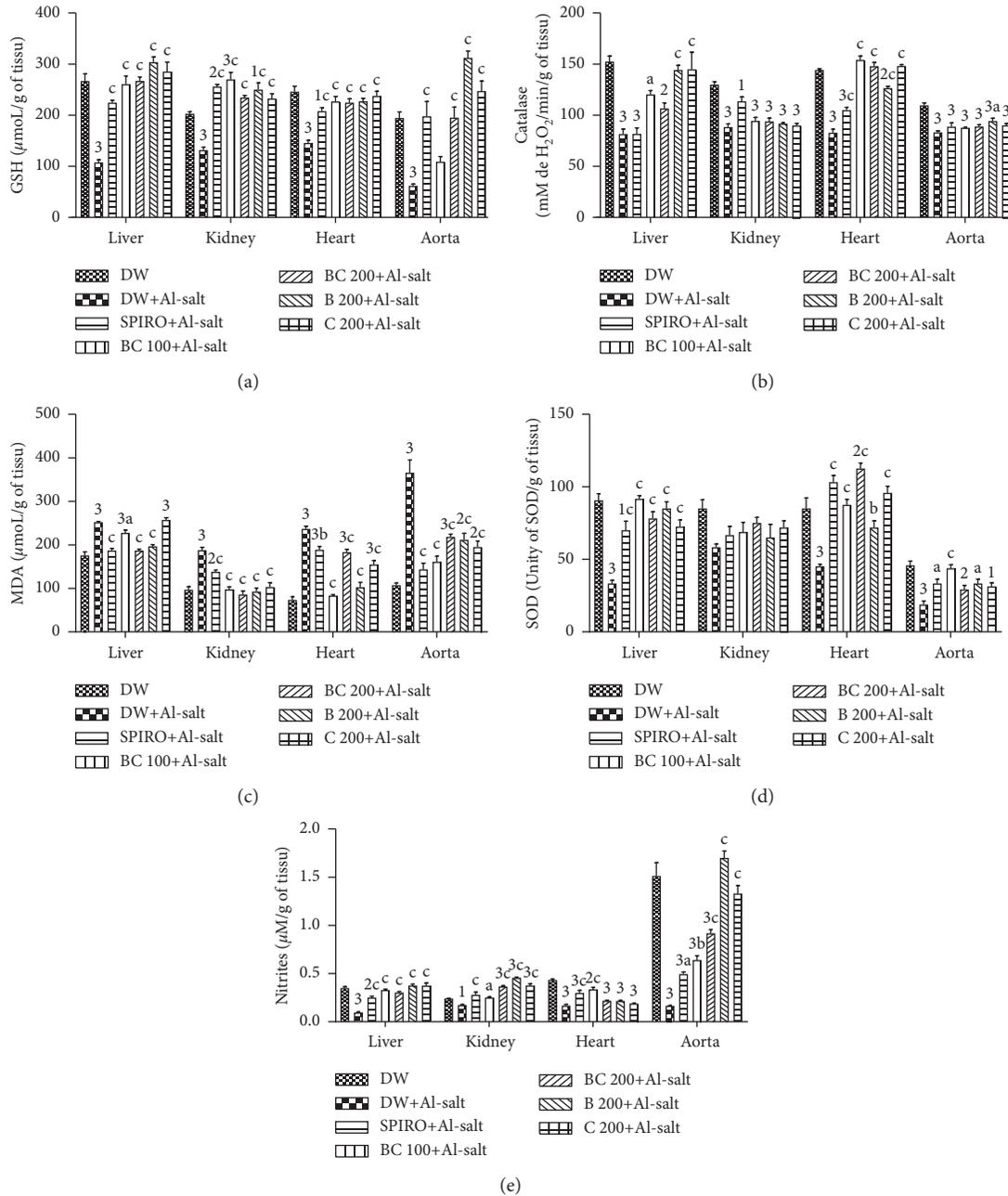


FIGURE 4: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the level of GSH, catalase, and SOD activity, on the concentration of MDA and on the level of nitrites. Each bar represents the mean \pm SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer simultaneously; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of *B. pilosa* (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; C 200 + Al-salt, rats receiving concurrent the aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) and the inducer. ¹ $p < 0.05$; ² $p < 0.01$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats treated with only distilled water; ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer.

541.02% higher, respectively, in these organs as compared to hypertensive rats. *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly prevented the decrease in SOD induced by alcohol + salt solution in the liver ($p < 0.001$), heart ($p < 0.01$), and aorta ($p < 0.05$). The values were 155.02%, 109.10%, and 567.62%, respectively, greater in these organs

compared to hypertensive rats. The aqueous extract of *C. citratus* (200 mg/kg) had the same effect in the aorta by 140.38% ($p < 0.001$) and in the heart by 178.81% ($p < 0.001$) compared to hypertensive rats.

Administration of the inducer (ethanol + salt solution) resulted in a significant ($p < 0.001$) decrease in nitrite levels

in the liver by 70.68%, heart by 61.66%, aorta by 86.69%, and kidney by 17.77% ($p < 0.05$) as compared to normotensive rats (Figure 4(e)). The aqueous extract of the *B. pilosa* and *C. citratus* mixture significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in nitrite levels induced by alcohol + salt solution in the aorta, liver, kidney, and heart. The values were, respectively, by 215.00%, 220.00%, 111.11%, and 106.25% at 100 mg/kg and 355.00%, 200.00%, and 127.77% at 200 mg/kg, higher as compared to hypertensive rats. In the spironolactone (10 mg/kg) treated group, there was a significant ($p < 0.001$; $p < 0.05$ for aorta) prevention of nitrite decline in the heart, liver, kidney, and aorta. Values were 78.91%, 150.00%, 50.00%, and 115.00%, respectively, greater in these organs as compared to hypertensive rats. *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in nitrite levels in the kidney, liver, and aorta induced by alcohol + salt solution. The values were 114.78%, 266.10%, and 576.78%, respectively, higher in these organs as compared to hypertensive rats. In concomitant treatment with alcohol + salt solution, *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) also significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease in nitrite levels in the kidney, liver, and aorta. The values were 74.30%, 265.19%, and 696.48%, respectively, higher in these organs as compared to hypertensive rats.

3.9. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Tissue Protein Levels. Figure 5 shows the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on tissue protein levels. It can be seen that protein levels were significantly ($p < 0.001$) decreased in the aorta, heart, liver, and kidney by 90.85%, 76.02%, 41.66%, and 34.86%, respectively, in hypertensive rats as compared to normotensive rats. The aqueous extract of the plant mixture (100 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease induced by alcohol + salt solution in protein levels in the liver by 64.28% and in the kidney by 66.98%, respectively, as compared to hypertensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 mg/kg) significantly prevented the decrease induced by alcohol + salt solution in tissue protein levels in the kidney, liver, and aorta as compared to hypertensive rats. The values were 85.66% ($p < 0.001$), 71.42% ($p < 0.001$), and 712.5% ($p < 0.01$), respectively, higher in these organs as compared to hypertensive rats. Spironolactone (10 mg/kg) administered under the same conditions as the aqueous extract of the plant mixture significantly prevented the decrease in protein levels in the kidney, liver, and aorta. Values were 61.88% ($p < 0.001$), 37.36% ($p < 0.001$), and 691.66% ($p < 0.01$), respectively, greater in these organs as compared to hypertensive rats. The aqueous extracts of *B. pilosa* (200 mg/kg) and *C. citratus* (200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the decrease induced by alcohol + salt solution in protein levels in the kidney, liver, and aorta compared to hypertensive rats.

3.10. Effects of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on Histomorphometry of the Aorta and the Microarchitecture of the Kidney and Liver. Figure 6 shows

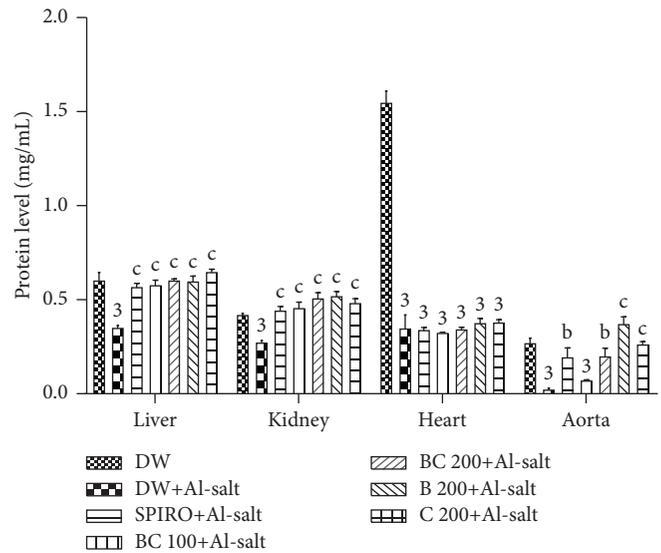


FIGURE 5: Effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on tissue protein levels. Each bar represents the mean \pm SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100+Al-salt and BC 200+Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer simultaneously; SPIRO + Al-salt, rats receiving spironolactone (10 mg/kg) and the inducer simultaneously; B 200+Al-salt, rats receiving *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; C 200 + Al-salt, rats receiving *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer simultaneously; ¹ $p < 0.05$; ³ $p < 0.001$, significant difference compared to normal rats treated with distilled water only; ^a $p < 0.05$; ^c $p < 0.001$, significant difference compared to rats receiving distilled water and the inducer solution.

the effects of preventive treatment of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on histomorphometry of the aorta (A) and the microarchitecture of the kidney and aorta (B). The administration of the inducer (alcohol + salt solution) in rats resulted in a significant increase in media thickness by 73.84% ($p < 0.001$) as compared to normotensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) significantly ($p < 0.001$) prevented the increase induced by alcohol + salt solution in the thickness of this tunic as compared to hypertensive rats. The values were, respectively, 25.55% and 22.24% lower as compared to hypertensive rats. The aqueous extracts of *B. pilosa* (200 mg/kg) and *C. citratus* (200 mg/kg) significantly prevented the increase induced by alcohol + salt solution in media size as compared to hypertensive rats. The values were 14.70% ($p < 0.01$), 27.42% ($p < 0.001$), and 16.17% ($p < 0.01$), respectively, lower as compared to hypertensive rats. Treatment with alcohol + salt solution resulted in renal leukocyte infiltration and renal mesenchymal expansion as compared to normotensive rats. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* as well as the separate extracts of these two plants prevented the damages induced by alcohol + salt solution as compared to hypertensive rats.

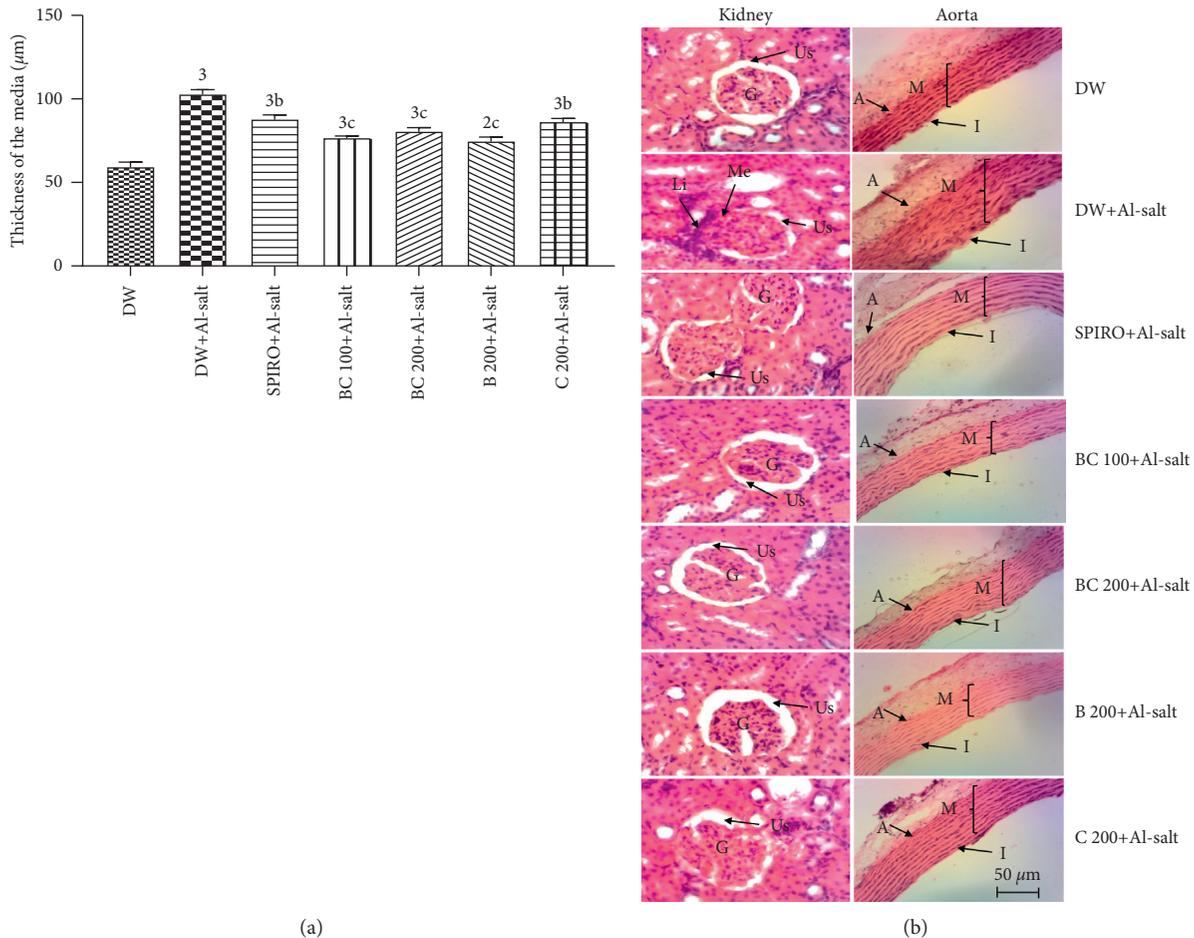


FIGURE 6: Preventive effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on histomorphometry (a) of the aorta and the microarchitecture (b) of the kidney (200X, HE) and aorta (100X, HE). Each bar represents the mean \pm SEM ($n = 6$). DW, normal rats receiving only distilled water (10 mL/kg); DW + Al-salt, rats receiving distilled water (10 mL/kg) and the inducer (alcohol + salt solution) simultaneously; BC 100 + Al-salt and BC 200 + Al-salt, rats receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, respectively, at doses of 100 and 200 mg/kg and the inducer simultaneously; SPIRO + Al-salt, rats receiving concomitantly spironolactone at a dose of 10 mg/kg and the inducer; B 200 + Al-salt, rats receiving concomitantly *B. pilosa* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer; C 200 + Al-salt, rats receiving concurrent *C. citratus* aqueous extract (200 mg/kg) and the inducer. Kidney: G, glomerulus; Li, leukocyte infiltration; Us, urinary space; Me, mesangial expansion. Aorta: A, adventitia; M, media; I, intima.

4. Discussion

The present study investigated the preventive effects of the aqueous extract of the mixture of the aerial parts of *B. pilosa* and *C. citratus* on a Wistar rat model of hypertension induced by oral administration of alcohol + salt solution at doses of 5 g/kg and 2.46 g/kg, respectively, for 49 days.

Alcohol and salt are the most important causes for HBP and increased cardiovascular risk worldwide [30]. Chronic alcohol and salt abuse is the cause of cardiovascular, renal, and liver dysfunction as well as oxidative stress and dyslipidemias associated with atherosclerosis that contributes to the pathogenesis of hypertension. In the present study, seven weeks of alcohol + salt solution (inducer) consumption resulted in an important increase in blood pressure and heart rate. The increase in those hemodynamic parameters by the inducer was significantly prevented by the substances given concomitantly with the inducer. Dyslipidemias and

atherosclerosis, which are risk factors for cardiovascular disease [31], were observed in this study by decreased HDL-chol levels and increased TC, TG, VLDL-chol, and LDL-chol levels as well as atherogenic indices (CRR, AC, and AIP). This damage was confirmed by the histology and histomorphometry of the aorta characterised by thickening of the media. This might be the result of the effects of ethanol and/or salt in rats treated with the inducing solution. Indeed, alcohol could act by increasing the bioavailability of free fatty acids (glycerophosphates), reducing the activity of the enzymes such as lipoprotein lipase and triglyceride lipase, and decreasing the oxidation of fats, thus causing the accumulation of lipids in the serum [32]. These results are in agreement with the work of Olaleye et al. [33] who showed that a high-salt diet (8%) for six weeks caused a significant increase in serum TG, LDL-chol, and TC concentrations and a reduction in serum HDL-chol levels. According to these authors, dyslipidemias observed could promote the

development of atheromatous plaques in the arteries and consequently HBP. According to Ikewuchi [28], atherogenic indices are strong predictors of heart disease risk, and the risk of developing cardiovascular diseases increases with increasing values of these indices and vice versa. In the pathogenesis of atherosclerosis described by Badimon and Vilahur [31], the increase in plasma LDL-chol leads to an increase in LDL-chol in the arterial wall. Once in arteries, they promote vascular resistance which leads to AHT. Furthermore, an increase in HDL-chol and a reduction in LDL-chol and TC levels could be considered beneficial in the long-term prognosis of cardiovascular disease [31]. Treatment of rats with spironolactone, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, and separate extracts of both plants prevented the onset of dyslipidemia and atherosclerosis induced by alcohol + salt solution. These protective effects were more marked with the mixture of both plant extracts, especially at the lowest dose (100 mg/kg). This confirms a lipid-lowering synergism between the two plants. These results are in agreement with those of Ogbonnia et al. [34] who showed that the hydroethanolic extract of the mixture of *Treulia africana* and *Bryophyllum pinnatum* had better hypoglycaemic and hypolipidemic effects than the extracts of isolate *T. africana* or *B. pinnatum* on streptozotocin-induced diabetic rats. Therefore, the lipid-lowering effects of this mixture could be attributed to the synergistic effects of each of the bioactive compounds present in each plant. These results confirm the beneficial effects of plant mixtures as hypolipidemic agents and consequently as antihypertensive. These lipid-lowering effects could therefore be one of the mechanisms by which the aqueous extract of the mixture exerts its antihypertensive effect.

In addition to dyslipidemias as risk factors for AHT, alcohol and salt caused cardiovascular dysfunctions characterised by an abnormal increase in the heart rate and blood pressure and a decrease in vasodilators such as nitric oxide. According to Wake (2021), alcohol or its metabolic derivatives act on the cardiovascular system or on the blood pressure regulation systems. This is achieved through a decrease in nitric oxide in the vascular endothelium due to inhibition of endothelial nitric oxide synthase [30]. This leads to inflammatory/oxidative damage to the vascular endothelium and therefore to vasoconstriction which increases vascular resistance and leads to HBP [30]. Alcohol may have a direct effect on smooth muscle cells by increasing both vascular sensitivity to vasomotor amines and the entry of calcium into muscle cells, which leads to hypertension via increased peripheral vascular resistance [30]. Alcohol also induces the activation of the sympathetic nervous system via increased hypothalamic corticoliberin, resulting in hypersecretion of catecholamines, cortisol, angiotensin, and aldosterone responsible for HBP [30]. In animal models of salt-sensitive hypertension, the increase in blood pressure after a salt load is characterised by a decrease in nitric oxide production [35]. Chronic salt consumption induces the production of superoxide anions via increased xanthine oxidase, which causes vasoconstriction through the decrease in nitric oxide [36]. In addition, a high-salt diet leads to K^+ depletion, with a negative impact on blood pressure

regulation, promoting cardiovascular diseases. The concomitant treatment with alcohol + salt and the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* or extracts of isolated plants significantly prevented the increase in blood pressure and heart rate and decrease in nitrite levels. The results obtained with the two extracts of the isolated plants confirm the antihypertensive effects of *B. pilosa* [16] and *C. citratus* [20] already demonstrated. The prevention of AHT was more marked by the concomitant treatment with alcohol + salt and the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, especially at the dose of 100 mg/kg. This confirms a synergistic effect between the two plants in preventing HBP. Moreover, these results obtained with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* corroborate those of Dzeufiet et al. [37] who demonstrated the benefits of the aqueous extract of a mixture of plants to prevent ethanol and fructose-induced hypertension in rats. This phenomenon of beneficial interaction with plants is known as a synergy of pharmacodynamic effects [38]. This suggests that in the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*, bioactive compounds present such as the phytochemicals mainly flavonoids and phenolic compounds act synergistically to cause a reduction in cardiac output and/or total peripheral resistance and consequently a decrease in blood pressure [39]. These effects would therefore be one of the mechanisms by which the aqueous extract of the mixture exerts its antihypertensive effect.

High alcohol and salt consumption is associated with oxidative stress and increased free radicals, which play an important role in oxidative alterations of proteins and the pathogenesis of hypertension [40]. Oxidative stress in the present study is characterised by a decreased level of GSH, SOD, and catalase activity with an increase in the MDA level. Glutathione plays an excellent role in protecting cells from free radical damages by directly scavenging reactive oxygen species [41]. It reduces hydrogen peroxide (H_2O_2) production and therefore prevents any deleterious effects such as lipid peroxidation, which is characterised by the production of MDA [42]. SOD and catalase are important antioxidant enzymes that contribute to getting rid of superoxide anion (O_2^-) and H_2O_2 , respectively [43]. Alcohol and salt are thought to act synergistically to create oxidative imbalance. Indeed, chronic alcohol consumption could result in the depletion of antioxidant enzymes due to the excessive generation of O_2^- and H_2O_2 [44]. Alcohol leads to the production of free radicals which by lipid peroxidation causes cellular damages accompanied by a significant increase in MDA levels [45]. Excessive salt consumption is known to be associated with increased tissue production of reactive oxygen species [36]. According to Bopda et al. [35], long-term stress due to chronic salt intake induces a massive and toxic amount of reactive oxygen species, leading to a decrease in GSH and SOD levels. In fact, salt consumption enhances O_2^- and H_2O_2 generation accompanied by increased NADPH oxidase expression and activity with decreased SOD in the vessels and kidney, contributing to the pathogenesis of hypertension [36]. Treatment of rats with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* as well as the extracts from isolated plants significantly

prevented the installation of oxidative stress observed in hypertensive rats. The lower dose (100 mg/kg) was more effective in preventing oxidative imbalance. These results corroborate those of Eshrat and Hussain [46] who obtained better antioxidant effects with the mixture of *Curcuma longa* and *Abroma augusta* as compared to the two plants used separately in streptozotocin-induced diabetes. Thus, it can be suggested that the synergistic interaction of the bioactive compounds contained in each mixture of plants confers better antioxidant properties to the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. These free radical-scavenging properties of the aqueous extract of the mixture could therefore be one of the mechanisms by which it would exert its antihypertensive activity.

The development of hypertension in the present study has had a negative impact on the functioning of vital organs such as the kidneys. Oxidative stress is the main pathological pathway involved in renal dysfunction [47]. In the present study, oxidative stress-mediated by chronic alcohol and/or salt consumption contributed to the development of nephrotoxicity through increased water intake, urinary excretion volume, serum creatinine, uric acid, and urea concentrations, as well as decreased creatinine clearance. This renal injury was confirmed in this study by histological analyses characterised by leucocytic infiltration and mesangial expansion. Indeed, alcohol acts by decreasing the number of vasopressin neurons in the hypothalamus, leading to a decrease in plasma antidiuretic hormone levels [48]. This could explain the increase in urinary excretion volume in rats treated concomitantly with water and inducing solution. The increase in water intake is thought to be due to the stimulation of the renin-angiotensin system by salt leading to the production of angiotensin II. The latter will act at the level of the hypothalamus inducing a sensation of thirst which increases water consumption, blood volume, and therefore blood pressure [49]. Urea, creatinine, and uric acid are the catabolites of ammonia, creatine, and purine nucleotides released into blood and eliminated by the kidney, respectively. Due to higher sensitivity of the glomerular region to alcohol and/or salt-induced oxidative damage, the result of the inducing solution intake will be a decrease of the filtration rate and clearance of these substances in the rats [29]. Studies have reported that increased plasma urea and creatinine levels are a consequence of impaired renal function leading to acute glomerulonephritis, nephrosclerosis, and tubular necrosis [50]. In the present study, the concentrations of biochemically and physiologically important electrolytes and minerals were measured. Sodium, potassium, calcium, and magnesium levels were decreased in plasma and increased in the urine of hypertensive rats as compared to normotensive controls. Plasma electrolytes maintain intravascular homeostasis with interstitial and intracellular space. Alcohol consumption induces polyuria and severe loss of electrolytes and minerals which would result in plasma hyponatremia, hypokalemia, hypomagnesaemia, and hypocalcemia [51]. Adewale and Ifudu studies reported that alcohol-generated free radicals cause severe membrane damage, resulting in decreased mineral reabsorption at the distal tubules and ascending branches of

the loops of Henle [51]. Salt induces oxidative stress at the renal level through the expression of NADPH oxidase which stimulates the production of O_2^- in mesangial cells and ascending limbic cells [30]. Treatment of rats with inducing solution and the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* and separate extracts of these two plants significantly prevented kidney damages in rats and maintained plasma electrolytes and minerals at normal levels. The nephroprotective effects were the best with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* especially at the lowest dose (100 mg/kg). These results are in agreement with the work who Manzoor et al. [52] showing nephroprotective effects of different doses of aqueous extracts of *Foeniculum vulgare* seeds, *Solanum nigrum* fruits, and their mixture on gentamicin-induced nephrotoxicity in albino rabbits. According to these authors, the aqueous extract of the mixture of *F. vulgare* and *S. nigrum* had the best effects as compared to the extracts of each individual plant. These therapeutic effects may be due to the synergistic effects of the phytochemicals (polyphenols and flavonoids) present in each of the plants, which are thought to modify membrane fatty acid composition, fluidity, permeability, and electrolyte homeostasis by reducing alcohol and salt-induced oxidative stress through free radical-scavenging activity. The aqueous extract of the mixture would therefore partly exert its antihypertensive effect due to its nephroprotective properties, knowing the important role played by the kidney in blood pressure regulation. The effects of the mixture were not dose-dependent on lowering blood lipid and nephroprotection; this could be due to antagonism. In fact, the extract of the mixture contained many molecules, some of which could be antagonistic. Therefore, at low doses, the concentration of these antagonistic molecules was low, thus offering no hindrance to the hypolipidemic and nephroprotective causative substances. Similar results were reported by Dzeufiet et al. [53] when working on the effect of *Ceiba pentandra* on type 2 diabetes.

In addition to the imbalance of the prooxidant/antioxidant equilibrium in favor of prooxidants, alcohol and salt are known to produce free radicals, which affect the cellular permeability of hepatocytes, subsequently leading to elevated levels of serum biochemical parameters such as ALT and AST [54]. This marks an impairment of the structural and functional integrity of liver cell membranes, as these cytosolic enzymes are mainly released into circulation after liver cell injury [55]. An increase in ALT enzyme activity is almost always due to hepatocellular injury and is usually accompanied by an increase in AST [55]. In the present study, hypertensive rats showed an increase in serum ALT and AST activities and bilirubin concentration indicating liver damages. These liver damages were prevented by the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* as well as the extracts of the plants taken individually. The present results suggest that the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 mg/kg) is more effective as compared to the aqueous extracts of isolated *B. pilosa* or *C. citratus*. These results obtained with the mixture's aqueous extract are in agreement with the work of Tripathi and Trilochana [56] who showed that the ethanolic

extract of the mixture of the leaves and flowers of *Bassia latifolia* had better hepatoprotective effects than the separate ethanolic extracts of the leaves and flowers in paracetamol-induced hepatotoxic rats. This hepatoprotective activity could be one of the mechanisms whereby the mixture's aqueous extract exerts its antihypertensive effect.

5. Conclusion

The results of the present study showed that the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (100 and 200 mg/kg) significantly prevented the development of hypertension in rats treated with the alcohol + salt solution. According to the biochemical results, which were supported by histopathological evidences, the aqueous extract of the *B. pilosa* and *C. citratus* mixture, especially at the lower dose, synergistically protected the cardiovascular system as well as the kidney and liver against adverse effects of the alcohol + salt solution compared to the plants taken separately. This study also suggests that the possible antihypertensive mechanisms of this herbal mixture could be attributed to the vasorelaxant, antioxidant, lipid-lowering, hepato, and nephroprotection activities of its phenolic and flavonoid components.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to the French Association PCD (Pathologie Cytologie Développement) for providing the histological reagents and to the traditional healer for providing the medicinal plant.

References

- [1] I. Guindo, "Etude du traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au mali," *Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Université de Bamako, Mali, Bamako*, 2006.
- [2] Who, "Geneva: World Health Organization, 2021." <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>.
- [3] WHO, *P. mondial de l'hypertension: Un « tueur silencieux » responsable d'une crise de santé publique mondiale*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2013.
- [4] S. Kingue, C. N. Ngoe, A. P. Menanga et al., "Prevalence and risk factors of hypertension in urban areas of Cameroon: a Nationwide Population-Based Cross-Sectional Study," *Journal of Clinical Hypertension*, vol. 17, no. 10, pp. 819–824, 2015.
- [5] Who, "Noncommunicable diseases increase risk of dying from COVID-19 in Africa," WHO Reg. Off. Afric," 2020.
- [6] K. Husain, R. A. Ansari, and L. Ferder, "Alcohol-induced hypertension: mechanism and prevention," *World Journal of Cardiology*, vol. 6, no. 5, pp. 245–252, 2014.
- [7] D. C. Bilanda, Y. C. Tcheutchoua, P. D. Fokou, Y. B. Fouda, T. Dimo, and P. Kamtchouing, "Antihypertensive activity of *Leersia hexandra* Sw. (Poaceae) aqueous extract on ethanol-induced hypertension in wistar rat," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2019, Article ID 2897867, 9 pages, 2019.
- [8] O. Aboubakar, N. Bella, L. Ngo, D. Bilanda, and T. Dimo, "Antihypertensive activity of *Jateorhiza macrantha* (Menispermaceae) aqueous extract on ethanol-induced hypertension in wistar," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 4, no. 2, pp. 293–298, 2012.
- [9] D. Lemogoum, W. Ngatchou, C. Bika Lele et al., "Association of urinary sodium excretion with blood pressure and risk factors associated with hypertension among Cameroonian pygmies and bantus: a cross-sectional study," *BMC Cardiovascular Disorders*, vol. 18, no. 1, pp. 49–10, 2018.
- [10] D. Diallo, I. Guissou, M. Haïdara, C. Tall, and O. Kasilo, "Recherche sur la médecine traditionnelle africaine: hypertension," *African Traditional Medecine Day*, vol. 14, pp. 58–63, 2010.
- [11] C. Boyaud, "Phytothérapie et vigilance: enquête auprès des pharmaciens officinaux de l'Isère," Université Joseph Fourier de pharmacie de grenoble, Tronche, France, 2009.
- [12] Who, "Promotion du rôle de la médecine traditionnelle dans le système de santé," *Harare*, vol. 50, pp. 4–5, 2000.
- [13] S. S. Al Disi, M. A. Anwar, and A. H. Eid, "Anti-hypertensive herbs and their mechanisms of action: Part I," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 6, no. 323, pp. 1–24, 2016.
- [14] T. Verma, M. Sinha, N. Bansal, S. R. Yadav, K. Shah, and N. S. Chauhan, "Plants used as antihypertensive," *Natural Products and Bioprospecting*, vol. 11, no. 2, pp. 155–184, 2021.
- [15] B. P. Arlene, M. Irene, and W. Yang, "*Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2013, pp. 1–51, Article ID 340215, 2013.
- [16] D. C. Bilanda, P. D. D. Dzeufiet, and L. Kouakep, "*Bidens pilosa* ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on the rats," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 17, no. 1, pp. 1–7, 2017.
- [17] J. F. Bastos, I. J. Moreira, T. P. Ribeiro et al., "Hypertensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats," *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, vol. 106, no. 4, pp. 331–337, 2010.
- [18] P. H. Koh, R. A. M. Mokhtar, and M. Iqbal, "Antioxidant potential of *Cymbopogon citratus* extract: alleviation of carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative stress and toxicity," *Human & Experimental Toxicology*, vol. 31, no. 1, pp. 81–91, 2012.
- [19] N. M. Kouame, M. Kamagate, C. Koffi, H. M. Die-Kakou, N. A. R. Yao, and A. Kakou, "*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: ethnopharmacologie, phytochimie, activités pharmacologiques et toxicologie," *Phytothérapie*, vol. 14, no. 6, pp. 384–392, 2016.
- [20] M. Daniela, W. Simões, and J. Malheiros, "Vascular activity of infusion and fractions of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in human arteries," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 258, pp. 1–6, 2020.
- [21] S. T. Kau, J. R. Keddie, and D. Andrews, "A method for screening diuretic agents in the rat," *Journal of Pharmacological Methods*, vol. 11, no. 1, pp. 67–75, 1984.
- [22] B. N. Van Vliet, L. L. Chafe, V. Antic, S. Schnyder-Candrian, and J.-P. Montani, "Direct and indirect methods used to study

- arterial blood pressure," *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, vol. 44, no. 2, pp. 361–373, 2000.
- [23] A. Gornall, C. Bradwill, and M. David, "Determination of serum proteins by means of the biuret reaction," *Journal of Biology and Chemistry*, vol. 77, pp. 167–182, 1949.
- [24] K. M. Wilbur, F. Bernheim, and O. Shapiro, "Determination of lipid peroxidation," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 24, pp. 3959–3964, 1949.
- [25] H. Misra and I. Fridovich, "Determination of the level of superoxide dismutase in whole blood," *Yale University Press New Haven*, vol. 1, pp. 101–109, 1972.
- [26] A. K. Sinha, "Colorimetric assay of catalase," *Analytical Biochemistry*, vol. 47, no. 2, pp. 389–394, 1972.
- [27] G. L. Ellman, "Tissue sulfhydryl groups," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 82, no. 1, pp. 70–77, 1959.
- [28] C. C. Ikewuchi, "Hypocholesterolemic effect of an aqueous extract of the leaves of *Sansevieria senegambica* baker on plasma lipid profile and atherogenic indices of rats fed egg yolk supplemented diet," *EXCLI Journal*, vol. 11, pp. 346–356, 2012.
- [29] M. L. Ojeda, M. J. Barrero, F. Nogales, M. L. Murillo, and O. Carreras, "Oxidative effects of chronic ethanol consumption on the functions of heart and kidney: folic acid supplementation," *Alcohol and Alcoholism*, vol. 47, no. 4, pp. 404–412, 2012.
- [30] A. D. Wake, "The role of dietary salt and alcohol use reduction in the management of hypertension," *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, vol. 19, no. 1, pp. 27–40, 2021.
- [31] L. Badimon and G. Vilahur, "LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1254, no. 1, pp. 18–32, 2012.
- [32] N. Paquot, "The metabolism of alcohol," *Revue Medicale de Liege*, vol. 74, pp. 265–267, 2019.
- [33] M. Olaleye, O. Crown, A. Akinmoladun, and A. Akindahunsi, "Rutin and quercetin show greater efficacy than nifedipin in ameliorating hemodynamic, redox, and metabolite imbalances in sodium chloride-induced hypertensive rats," *Human & Experimental Toxicology*, vol. 33, no. 6, pp. 602–608, 2014.
- [34] S. O. Ogbonnia, J. I. Odimegwu, and V. N. Enwuru, "Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of aqueous ethanolic extracts of *Treulia africana* Decne and *Bryophyllum pinnatum* Lam. and their mixture on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats," *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 15, pp. 2535–2539, 2008.
- [35] O. S. M. Bopda, F. Longo, T. N. Bella et al., "Antihypertensive activities of the aqueous extract of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) in high salt-loaded rats," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 153, no. 2, pp. 400–407, 2014.
- [36] X. Zheng, X. Li, M. Chen et al., "The protective role of hawthorn fruit extract against high salt-induced hypertension in Dahl salt-sensitive rats: impact on oxidative stress and metabolic patterns," *Food & Function*, vol. 10, no. 2, pp. 849–858, 2019.
- [37] D. Dzeufet, A. Mogueo, and D. C. Bilanda, "Antihypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of *Persea americana* Mill. (Lauraceae), stems and leaf of *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf. (Poaceae), fruits of *Citrus medica* L. (Rutaceae) as well as honey in ethanol and sucrose experimental model," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 14, p. 507, 2014.
- [38] M. Spinella, "The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines," *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, vol. 7, no. 2, pp. 130–137, 2002.
- [39] A. Sokpe, M. L. K. Mensah, G. A. Koffuor et al., "Hypotensive and antihypertensive properties and safety for use of *Annona muricata* and *Persea americana* and Their Combination Products," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2020, pp. 1–13, Article ID 8833828, 2020.
- [40] A. J. Akindele, E. A. Iyamu, P. Dutt, N. K. Satti, and O. O. Adeyemi, "Ameliorative effect of hydroethanolic leaf extract of *Byrsocarpus coccineus* in alcohol- and sucrose-induced hypertension in rats," *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 4, no. 3, pp. 177–188, 2014.
- [41] K. Ravi, B. Ramachandran, and S. Subramanian, "Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats," *Life Sciences*, vol. 75, no. 22, pp. 2717–2731, 2004.
- [42] L. C. Shelly, "Glutathione synthesis," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 18, no. 5, pp. 3143–3153, 2013.
- [43] P. Nainwal, K. Dhamija, and S. Tripathi, "Study of anti-hyperlipidemic effect on the juice of the fresh fruits of *Lagenaria siceraria*," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 88–90, 2011.
- [44] W. J. Ballway and B. J. Song, "Translational approaches with antioxidant phytochemicals against alcohol-mediated oxidative stress," *Gut Dysbiosis, Intestinal Barrier Dysfunction, and Fatty Liver disease*, vol. 10, no. 3, pp. 1–34, 2021.
- [45] Z. V. Varga, P. Ferdinandy, L. Liaudet, and P. Pacher, "Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity," *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, vol. 309, no. 9, pp. H1453–H1467, 2015.
- [46] H. Eshrat and M. A. Hussain, "Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from *Curcuma longa*, Linn, and partially purified product from *Abroma augusta*, Linn. in streptozotocin induced diabetes," *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol. 17, no. 2, pp. 33–44, 2002.
- [47] S. Sharma, S. Baboota, S. Amin, and S. R. Mir, "Ameliorative effect of a standardized polyherbal combination in methotrexate-induced nephrotoxicity in the rat," *Pharmaceutical Biology*, vol. 58, no. 1, pp. 184–199, 2020.
- [48] H. Jahn, W. K. H. Dring, H. Krampe et al., "Preserved vasopressin response to osmostimulation despite decreased basal vasopressin levels in long-term abstinent alcoholics," *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, vol. 28, no. 12, pp. 1925–1930, 2004.
- [49] I. Drenjacnevic-Peric, B. Jelaković, J. H. Lombard, M. P. Kunert, A. Kibel, and M. Gros, "High-salt diet and hypertension: focus on the renin-angiotensin system," *Kidney & Blood Pressure Research*, vol. 34, no. 1, pp. 1–11, 2011.
- [50] F.-M. Chung, Y.-H. Yang, T.-Y. Shieh, S.-J. Shin, J. C.-R. Tsai, and Y.-J. Lee, "Effect of alcohol consumption on estimated glomerular filtration rate and creatinine clearance rate," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 20, no. 8, pp. 1610–1616, 2005.
- [51] A. Adewale and O. Ifudu, "Kidney injury, fluid, electrolyte and acid-base abnormalities in alcoholics," *Nigerian Medical Journal: Journal of the Nigeria Medical Association*, vol. 55, no. 2, pp. 93–98, 2014.
- [52] Z. Manzoor, U. Shaheen, and T. Khaliq, "Evaluation of nephroprotective effects of *Foeniculum vulgare* mill, *Solanum nigrum* linn and their mixture against gentamicin-induced nephrotoxicity in albino rabbits," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 25, no. 1, pp. 1–9, 2014.

- [53] D. P. D. Dzeufiet, Y. D. Ohandja, L. Tedong et al., "Antidiabetic Effect of *Ceiba pentandra* extract on streptozotocin-induced non-insulin-dependent diabetic (NIDDM) rats," *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, vol. 4, no. 1, pp. 47–54, 2007.
- [54] X. Chen, Z. Zhang, and B. Cui, "Combination of chronic alcohol consumption and high-salt intake elicits gut microbial alterations and liver steatosis in Mice," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 23, pp. 1–10, 2020.
- [55] T. Amani, A. Feriani, L.-S. Jesús, and G. Lakhdar, "Potential hepatoprotective activity of super critical carbon dioxide olive leaf extracts against CCl_4 -induced liver damage," *Foods*, vol. 804, no. 9, pp. 1–18, 2020.
- [56] D. Tripathi and P. Y. Trilochana, "Combined hepatoprotective effect of leaves and flowers of *Bassia latifolia* Roxb in paracetamol hepatotoxic rats," *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, vol. 7, no. 4, pp. 1–13, 2019.

Research Article

Acute and Subchronic Toxicity Studies on the Aqueous Extract of the Plant Mixture (*Bidens pilosa* and *Cymbopogon citratus* Aerial Parts) in Rat Model

Yannick Carlos Tcheutchoua ¹, Danielle Claude Bilanda ¹,
Yolande Sandrine Mengue Ngadena ², Paul Désiré Djomeni Dzeufiet ¹,
Pascal Emmanuel Owona ¹, Ronald Bidingha á Goufani ¹, Rodrigue Ngapout Fifen ¹,
Lohik Mbolang Nguegan ¹, Michel Noubom,³ Théophile Dimo ¹,
and Pierre Kamtchouing ¹

¹Department of Animal Biology and Physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

²Department of Psychology, Faculty of Arts, Letters and Social Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

³Department of Biological Sciences, Faculty of Medicine, University of Dschang, Dschang, Cameroon

Correspondence should be addressed to Danielle Claude Bilanda; bilandad@yahoo.com

Received 23 August 2022; Revised 18 October 2022; Accepted 18 November 2022; Published 2 December 2022

Academic Editor: Yasmina Abd Elhakim

Copyright © 2022 Yannick Carlos Tcheutchoua et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Bidens pilosa (*B. pilosa*) and *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) are plants used individually or in combination in the traditional treatment of several ailments such as cardiovascular disorders. In order to valorise their traditional use, a toxicological study was conducted on the aqueous extract of the mixture of aerial parts of *B. pilosa* and *C. citratus*. The acute and subchronic toxicity studies were conducted according to the OECD 425 and 407 guidelines. Regarding the acute study, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* 50 : 50 (2000 and 5000 mg/kg) was administered once to rats of both sexes. In the subchronic study, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200, 400 and 800 mg/kg) was administered once daily to rats for 28 days. The aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (2000 and 5000 mg/kg) did not cause death and did not induce any apparent sign of toxicity during the 14 days of observation. The DL₅₀ of the extract is therefore greater than 5000 mg/kg. Taken daily for 28 days, the extract had no significant effect on selected parameters (creatinine, AST, ALT, urea, and uric acid) of renal and hepatic function, as well as on the number of some blood cells. However, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 and 400 mg/kg) caused a significant ($p < 0.05$; $p < 0.001$, respectively) decrease in creatinine levels in male rats as compared to normal control animals. In females, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200 and 400 mg/kg) resulted in a significant ($p < 0.05$) increase in total cholesterol levels as compared to normal control animals. The study showed that the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* has a low toxicity and does not cause any injury to the liver, kidney, lungs, or spleen.

1. Introduction

The variety of plant species in the Cameroonian flora is very interesting. Indeed, these plants are important for the balance of ecosystems and are used for the survival of the population and their daily activities, by providing some

natural resources. Their contribution for food security and primary health care is of high importance for the developing countries' population [1]. Today, the practice of herbal medicine combined with conventional medicine has attracted more attention and is increasingly accepted worldwide [2]. Though generic medicines are available,

many of them remain financially inaccessible to the economically disadvantaged population. This leads people to turn to the more available and effective bioactive molecules [3]. However, there is no direct link between the traditional use of a plant for therapeutic purposes and its safety [4]. While many studies have demonstrated the effectiveness of many plants, investigations about their safety are seriously lacking. The main goal of the toxicity study is to regulate the use of the substance studied, and this passed through several pharmacological tests. These tests are arranged in some conventional experimental protocols to check the administration route as well as potential injuries and mortality.

Many plants have already proven their effects on various diseases. For example, *Bidens pilosa* (*B. pilosa*) and *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) are medicinal plants belonging to the *Asteraceae* and *Poaceae* families, respectively. These plants commonly called *black Jack* and *fever grass* have been traditionally used to manage a number of diseases. *B. pilosa* is used for influenza, malaria, ear infections, hepatitis, haemorrhoids, and heart problems [5]. *C. citratus* is used to treat gastrointestinal pain, herpes, fever, headaches, and heart problems [6]. Previous studies have confirmed the traditional uses of these plants [7–11] and assessed the toxicity of each plant [6, 12–14]. Several scientific studies have already been carried out on plant mixtures [15–18]. These two plants in mixture are also used to treat cardiovascular disorders (hypertension) in the central region of Cameroon but no data on the toxicity of the mixture are available. This gap prompted the implementation of the present work, which intends to study the toxicity of the aqueous extract of the mixture of the aerial parts of *B. pilosa* and *C. citratus* in rats. The main purpose has been to highlight the potential dangers to human health associated with its consumption. More specifically, the work aims to study the acute and subchronic toxicity of the plant's mixture extract in rats.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material. The aerial parts of *C. citratus* (leaves and stems) and *B. pilosa* (leaves, stems, and flowers) were collected in Yaoundé (central region of Cameroon), more precisely in Messa-ssi, in February 2018. *C. citratus* was identified by comparison with the botanical collection of D. Dang N°202, registered at the National Herbarium of Yaoundé under N°18626/SFRcam. *B. pilosa* was identified by comparison with the botanical collection of B. Pollar N°2 register at the National Herbarium of Yaoundé under N°60447/HNC.

2.2. Preparation of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. The aerial parts of *B. pilosa* and *C. citratus* were washed, dried in the shade, and then crushed to obtain the powder of each plant. Following the protocol described by Tcheutchoua et al. [17], briefly, 125 g of *B. pilosa* and 200 g of *C. citratus* powder were mixed in 3.25 L of hot distilled water. The mixture was left until cool and then filtered with Whatman paper N°3 and evaporated in an oven

(45°C). This made 33 g of aqueous extract from the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (50 : 50), giving a yield of 10.15%. From the previous study conducted by Tcheutchoua et al. [17], the highest dose of this plant mixture, which was 200 mg/kg was multiplied by 2 and 4 in order to obtain the doses of 400 and 800 mg/kg. These three doses were therefore used in the subchronic study.

2.3. Animal Material. Toxicological studies were performed with male and female Wistar albino rats, aged 6–8 weeks and weighing 140–160 g at the start of the experimentation. Females (nulliparous and nonpregnant) and males were separated in cages throughout the studies. The animals were reared in the animal house of the Faculty of Science of the University of Yaoundé I (Cameroon) in Plexiglas cages. The animals were acclimatized for two weeks before the start of the experiment. The animals had free access to tap water as drinking water and to a standard diet (for a 50 kg bag, containing 40% maize, 20% wheat bran, 24% fish meal, 7% palm kernel meal, 4% peanut meal, 2% cottonseed meal, 2% bone meal, 1% table salt, and 20 g vitamin complex). Every effort was made to minimise animal suffering and reduce the number of animals used. The rats were housed in groups of 3 and 5 per cage, respectively, for the acute and subchronic toxicity studies under room temperature (25 ± 3°C), sufficient ventilation, and natural light cycle (12 h/12 h). All procedures and protocols involving animals and their care were conducted in accordance with institutional guidelines and approved by the National Ethics Committee of Cameroon (Reg. No. FWA-IRB00001954).

2.4. Evaluation of the Acute Toxicity of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. The acute toxicity of aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* was carried out according to the modified OECD guideline 425 [19]. Eighteen rats (9 males and 9 females) were used and divided into 3 batches of 3 females and 3 males each (two test batches and one control batch). The test batches were treated by gavage with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 2000 and 5000 mg/kg, respectively, in a single administration. The control lot was given distilled water (10 mL/kg). The animals were observed individually at least once during the first 4 hours. Then, regularly during the first 24 hours and for 14 days after the administration, behaviour (locomotion, aggression, sensitivity to touch, and sound), appearance of faeces and coat condition, and mortality of the animals were observed continuously. The animals were weighed every three days throughout the experimentation period. The weight of the animals obtained was used to calculate the percentage body weight gain change from their initial weights. Weight gain (%) = $((m_i - m) / m) \times 100$; m_i = mass on day i (g); and m = initial mass (g).

At the end of the experiment, the rats were fasted for 12 hours but had free access to tap water. They were anaesthetised by ether inhalation and sacrificed by cervical dislocation. The rats were then dissected, and organs such as heart, liver, lungs, kidneys, brain, and spleen were well

examined, collected, and weighed for the assessment of relative organ weight using the following formula [13]:

$$Wr = (wo/wb) \times 100, \quad (1)$$

where Wr is the relative organ weight; wo is the organ weight (g); and wb is the rat body weight (g).

2.5. Evaluation of the Subchronic Toxicity of the Aqueous Extract of the Mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. This test was performed according to the modified OECD guideline 407 [20]. Six batches of 10 animals each (5 males and 5 females) were used for each dose. Batch 1 received distilled water (10 mL/kg) and batches 2, 3, and 4 received the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (200, 400, and 800 mg/kg), respectively. Animals in batches 5 and 6 (satellite control and satellite batches) were treated by gavage with distilled water (10 mL/kg) and an aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at a dose of 800 mg/kg, respectively. Those two batches were observed two more weeks after the other groups. During treatment (28 days), the body weights of the animals were assessed weekly to determine the percentage change in body weight gain, and the signs of toxicity were carefully examined.

2.6. Blood and Organ Collection. At the end of the experiment, the rats were made to fast for 12 hours but had free access to tap water. They were then anaesthetised by ether inhalation and sacrificed by decapitation and a part of the arteriovenous blood (around 4 mL) was collected in dry tubes without anticoagulant and allowed to stand for 30 min at room temperature and then centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. The serum obtained was stored in the freezer at -20°C for biochemical analysis. The other part of the arteriovenous blood (around 1 mL) was collected in EDTA (ethylene diamine tetra acetate) tubes for haematological studies. The rats were then dissected, and organs such as the heart, liver, lungs, kidneys, brain, and spleen were collected, rinsed in saline (0.9%), blotted on absorbent paper, and weighed for the assessment of relative organ weights according to the formula previously described in acute toxicity. A portion of these organs was fixed in buffered formalin (4%) for histological analysis.

2.7. Biochemical Analysis. Total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-Chol), triglyceride (TG) concentrations, uric acid, urea, albumin, and bilirubin levels in serum were determined using commercial diagnostic kits (LABKIT and CHEMELEX S. A. Barcelona) by the colorimetric method of Jaffé [21]. The concentrations of creatinine and activities of alanine and aspartate aminotransferases (ALT and AST) were also determined spectrophotometrically using commercial diagnostic kits (LABKIT and CHEMELEX S. A. Barcelona) by the kinetic method UV-IFCC optimized [21].

2.8. Haematological Analysis. The haematological parameters for the blood count were white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), lymphocytes (LYM), monocytes (MON), neutrophils (NEUT), eosinophils (EO), basophils (BASO), haemoglobin (HB), haematocrit (HCT), and platelet count (PLT). This analysis was carried out by Medonic Hematology M51 (Beckman Coulter, USA) in the Hematology and Pathology Laboratory of the University Hospital of Yaoundé I (Cameroon) [3].

2.9. Histological Analysis. For microscopic evaluation, the organs studied were dehydrated and embedded in paraffin for microscopic examination according to routine laboratory procedures [22]. Paraffin sections of $4\mu\text{m}$ were prepared and stained with haematoxylin and eosin (H and E) for histological examination. Morphometric measurements of artery thickness were performed using Image J 1.3 software.

2.10. Statistical Analysis. Results were expressed as mean \pm SEM. The difference between the groups was compared using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey's post-test using Graphpad Prism version 8.01. The differences were considered significant from $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Acute Toxicity

3.1.1. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Behaviour and Mortality of Rats. The effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the behaviour and mortality of female and male rats are recorded in Table 1. Administration of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 2000 and 5000 mg/kg, compared to the control animals, did not induce any apparent signs of toxicity either during the first 4 hours of administration or during the 14 days of experimentation. The extract did not cause any visible changes in coat appearance, aggressiveness, mobility, sensitivity to noise and touch, and the appearance of the faeces and eyes of the test animals as compared to the normal control group. All the animals that started the test were found alive and sound, two weeks after the beginning of the acute toxicity evaluation.

3.1.2. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Relative Organ Weights and Weight Evolution of Rats. The effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the relative weight of some organs (A and B) and on weight evolution (C and D) in male and female rats, respectively, are summarised in Figure 1. A single oral dose of the extract at 2000 and 5000 mg/kg in healthy animals of both sexes did not affect significantly the body weight and the relative organ weight of the organs as compared to the normal control.

TABLE 1: Effects of the plant mixture aqueous extract on behaviour and mortality rate of rats during the acute toxicity study.

Groups		Sensitivity				Stool appearance	Coat condition	Sample size	
		Locomotion	To touch	Noise	Aggressiveness			Initial number	Final number
TN 10 mL/kg	Females	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
	Males	14 days	N	N	N	G	N	3	3
		1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
BC 2000 mg/kg	Females	24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 days	N	N	N	G	N	3	3
		1 h	N	N	N	G	N	3	3
	Males	4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
		14 days	N	N	N	G	N	3	3
BC 5000 mg/kg	Females	1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3
		24 h	N	N	N	G	N	3	3
	Males	14 days	N	N	N	G	N	3	3
		1 h	N	N	N	G	N	3	3
		4 h	N	N	N	G	N	3	3

Reaction: normal (N); stool appearance: granular (G). TN = normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); BC 2000 and BC 5000 = normal rats treated with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 2000 and 5000 mg/kg.

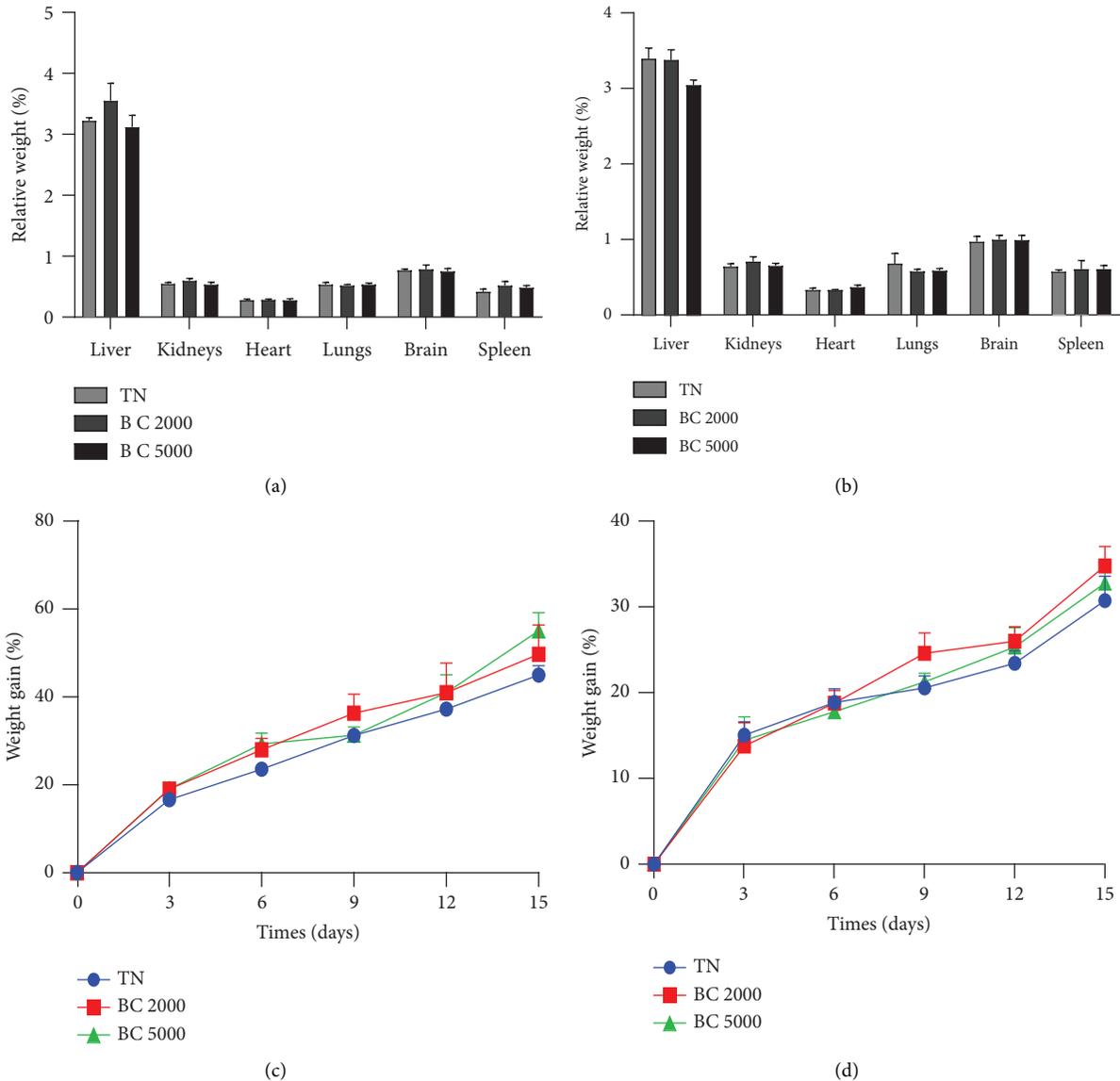


FIGURE 1: Effects of the plant mixture aqueous extract on the relative organ weight of male (a) and female rats (b) and on the weight gain evolution of male (c) and female (d) rats in acute toxicity. Each bar and point represent the mean \pm SEM, $n = 3$; TN = normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); BC 2000 and BC 5000 = normal rats treated with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 2000 and 5000 mg/kg.

3.2. Subchronic Toxicity

3.2.1. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Body Weight of Male and Female Rats. The data recorded in Figures 2(a) and 2(b) summarise the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on body weight gain in females and males, respectively. The results show that in male rats, no significant differences were observed in all treated batches. In female rats, the weight gain of animals treated with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at 200 and 400 mg/kg was significantly ($p < 0.001$) lower than that of the normal control animals from the second week until the end of treatment.

3.2.2. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Relative Weight of Some Organs. Tables 2 and 3 summarise the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the relative weight of some organs in female and male rats, respectively. The results show that in female and male rats, no significant difference in the relative weight of all investigated organs was observed in all the treated batches.

3.2.3. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on Serum Biochemical Parameters. The effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on some serum markers

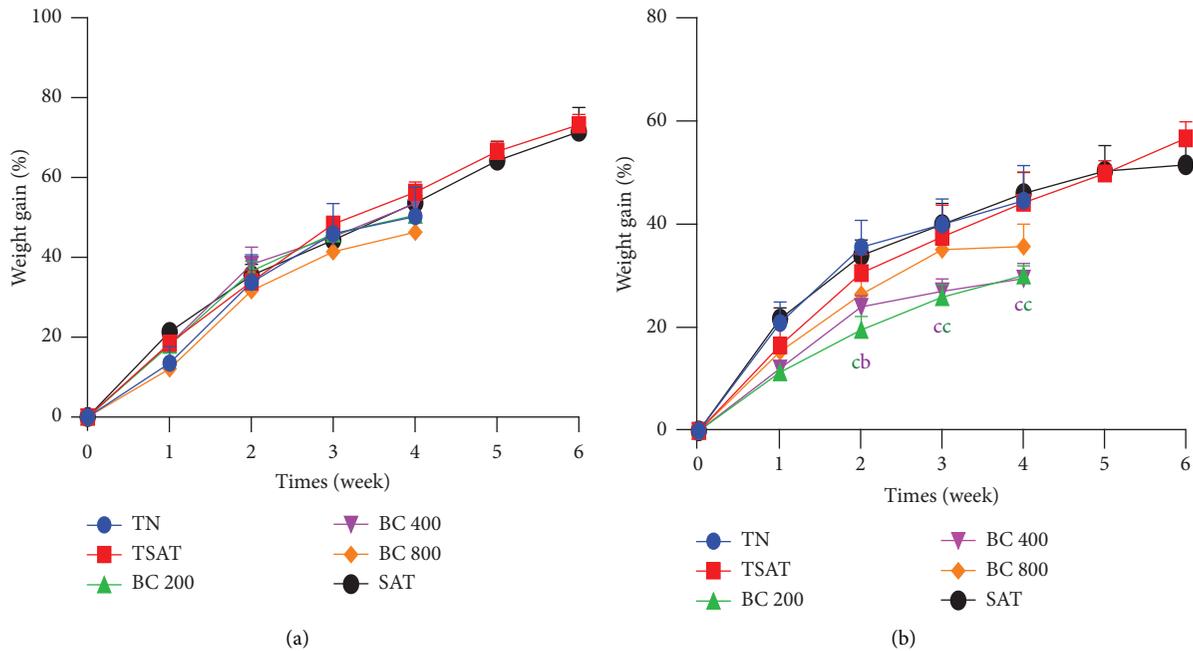


FIGURE 2: Effects of the plant mixture aqueous extract on the weight evolution of male (a) and female (b) rats in subchronic toxicity. Each point represents the mean \pm SEM. $n = 5$. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$: significant difference from normal controls.

TABLE 2: Effects of the plant mixture aqueous extract on the relative weight of organs of females.

Organs	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
Liver	2.92 \pm 0.05	2.92 \pm 0.06	2.90 \pm 0.06	2.82 \pm 0.07	2.92 \pm 0.11	3.04 \pm 0.16
Kidneys	0.59 \pm 0.02	0.61 \pm 0.04	0.57 \pm 0.02	0.61 \pm 0.03	0.64 \pm 0.02	0.65 \pm 0.04
Heart	0.31 \pm 0.01	0.30 \pm 0.01	0.32 \pm 0.01	0.29 \pm 0.01	0.30 \pm 0.01	0.31 \pm 0.02
Lungs	0.63 \pm 0.05	0.58 \pm 0.06	0.65 \pm 0.03	0.66 \pm 0.06	0.60 \pm 0.07	0.67 \pm 0.06
Brain	0.85 \pm 0.03	0.81 \pm 0.02	0.85 \pm 0.01	0.85 \pm 0.02	0.83 \pm 0.02	0.85 \pm 0.02
Spleen	0.43 \pm 0.04	0.44 \pm 0.01	0.41 \pm 0.03	0.44 \pm 0.03	0.47 \pm 0.07	0.49 \pm 0.03

Each value represents the mean \pm SEM, $n = 5$. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment.

TABLE 3: Effects of the plant mixture aqueous extract on the relative weight of the organs of males.

Organs	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
Liver	3.01 \pm 0.11	2.87 \pm 0.08	2.70 \pm 0.16	2.83 \pm 0.12	2.69 \pm 0.06	2.64 \pm 0.08
Kidneys	0.53 \pm 0.03	0.50 \pm 0.01	0.57 \pm 0.03	0.55 \pm 0.01	0.54 \pm 0.03	0.51 \pm 0.02
Heart	0.29 \pm 0.01	0.29 \pm 0.02	0.30 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01	0.30 \pm 0.02	0.28 \pm 0.02
Lungs	0.63 \pm 0.09	0.54 \pm 0.04	0.63 \pm 0.05	0.60 \pm 0.06	0.59 \pm 0.05	0.58 \pm 0.05
Brain	0.66 \pm 0.04	0.65 \pm 0.01	0.71 \pm 0.02	0.71 \pm 0.02	0.72 \pm 0.01	0.68 \pm 0.03
Spleen	0.42 \pm 0.02	0.32 \pm 0.01	0.35 \pm 0.02	0.37 \pm 0.01	0.38 \pm 0.05	0.36 \pm 0.02

Each value represents the mean \pm SEM. $n = 5$. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment.

of hepatic and renal functions, respectively, in females and males are summarised in Tables 4 and 5. The aqueous extract at doses of 200 and 400 mg/kg resulted in a significant increase ($p < 0.05$) in the total cholesterol concentration in females of

21.37% and 21.76%, respectively, compared to normal control (Table 4). For males, Tables 5 shows that chronic administration of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 200 and 400 mg/kg resulted in

TABLE 4: Effects of the plant mixture aqueous extract on serum biochemical parameters in females.

Parameters	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
TP (mg/dL)	0.90 ± 0.51	0.95 ± 0.46	0.88 ± 0.14	0.93 ± 0.57	0.93 ± 0.24	0.98 ± 0.19
AST (U/L)	71.80 ± 5.79	76.70 ± 6.34	74.50 ± 5.77	79.60 ± 5.41	80.40 ± 5.76	75.80 ± 4.69
ALT (U/L)	34.29 ± 2.62	31.06 ± 1.47	33.93 ± 2.52	40.49 ± 3.74	41.57 ± 2.48	39.3 ± 4.92
TB (mg/dL)	0.37 ± 0.09	0.66 ± 0.32	0.55 ± 0.20	0.90 ± 0.18	0.66 ± 0.29	0.46 ± 0.16
Creatinine (mg/dL)	0.99 ± 0.04	0.98 ± 0.04	0.94 ± 0.03	0.90 ± 0.03	0.92 ± 0.03	0.90 ± 0.02
Urea (mg/dL)	33.51 ± 1.04	35.58 ± 0.44	32.45 ± 0.23	30.08 ± 0.63	37.92 ± 0.21	36.20 ± 0.32
Uric acid (mg/dL)	2.89 ± 0.14	3.08 ± 0.09	2.94 ± 0.13	3.00 ± 0.33	2.92 ± 0.12	2.80 ± 0.07
TC (mg/dL)	54.07 ± 2.76	49.79 ± 5.38	65.63 ± 4.81 ^a	65.84 ± 3.62 ^a	43.82 ± 2.87	42.34 ± 4.69
TG (mg/dL)	36.13 ± 1.34	38.93 ± 1.58	40.08 ± 3.21	43.88 ± 4.30	36.91 ± 2.18	34.07 ± 1.90
HDL-C (mg/dL)	34.45 ± 1.68	27.89 ± 0.85	34.90 ± 2.80	42.37 ± 4.79	35.44 ± 2.18	30.21 ± 2.90

Each value represents the mean ± SEM, $n = 5$. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. TP: total protein; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase. TB: total bilirubin; TC: total cholesterol; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides. ^a $p < 0.05$: significant difference from normal controls.

TABLE 5: Effects of the plant mixture aqueous extract on serum biochemical parameters in males.

Parameters	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
TP (mg/dL)	0.92 ± 0.51	0.97 ± 0.29	0.82 ± 0.15	0.93 ± 0.71	0.96 ± 0.29	0.99 ± 0.38
AST (U/L)	70.20 ± 2.62	79.60 ± 3.57	67.00 ± 4.52	71.00 ± 4.98	69.30 ± 4.27	72.10 ± 3.59
ALT (U/L)	32.94 ± 2.16	35.96 ± 4.97	31.12 ± 1.70	32.34 ± 2.34	35.49 ± 5.39	31.31 ± 2.29
TB (mg/dL)	1.57 ± 0.33	1.24 ± 0.40	1.16 ± 0.26	1.23 ± 0.12	0.90 ± 0.10	1.80 ± 0.30
Creatinine (mg/dL)	1.14 ± 0.03	1.08 ± 0.01	0.99 ± 0.03 ^a	0.89 ± 0.04 ^c	1.01 ± 0.01	1.11 ± 0.03
Urea (mg/dL)	30.89 ± 0.53	31.67 ± 0.43	33.50 ± 0.20	33.09 ± 0.34	33.52 ± 0.21	30.24 ± 0.56
Uric acid (mg/dL)	3.89 ± 0.37	3.58 ± 0.45	3.54 ± 0.23	3.60 ± 0.80	3.92 ± 0.40	2.98 ± 0.27
TC (mg/dL)	72.83 ± 2.49	80.07 ± 3.47	72.24 ± 3.97	74.34 ± 2.38	77.14 ± 3.36	72.21 ± 3.92
TG (mg/dL)	41.55 ± 2.07	43.36 ± 2.10	34.31 ± 3.57	41.49 ± 2.37	33.51 ± 3.86	42.64 ± 3.09
HDL-C (mg/dL)	39.45 ± 2.65	46.18 ± 2.78	37.16 ± 2.96	34.99 ± 3.12	33.91 ± 2.28	31.74 ± 2.20

Each value represents the mean ± SEM, $n = 5$. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. TP: total protein; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase. TB: total bilirubin; TC: total cholesterol; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides. ^a $p < 0.05$, ^c $p < 0.001$: significant difference from normal controls.

a significant decrease in the concentration of creatinine 13.16% ($p < 0.05$) and 21.93% ($p < 0.001$), respectively, compared to normal control animals.

3.2.4. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Elements of the Blood. The effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on some of blood elements are recorded in Tables 6 (female) and 7 (male). Table 6 shows that administration of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* for 28 days did not affect some blood components. However, the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at a dose of 200 mg/kg induced a significant decrease in white blood cell count ($p < 0.05$) in females, compared to normal controls. In males, administration of the aqueous extract for 28 days at doses of 200 and 400 mg/kg resulted in a significant ($p < 0.05$) increase in monocyte count compared to normal controls (Table 7).

3.2.5. Effects of the Plant Mixture Aqueous Extract on the Architecture of the Liver, Kidneys, Spleen, and Lungs. Figure 3 shows the effects of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* on the architecture of the liver,

kidneys, spleen, and lungs in female (A) and male (B) rats. Histological sections of the liver of animals in the normal control group and in the groups treated with the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at doses of 200, 400, and 800 mg/kg, as well as those of the satellite groups, showed a normal architecture of the liver parenchyma with a distinct centrilobular vein and hepatocytes. Histology of the kidney showed normal parenchyma with a distinct glomerulus and urinary space. In all treated groups, lung histology showed distinct lung epithelium, alveolar sacs, and muscle wall. Histology of the spleen showed a distinct white and red pulp.

TN: normal rats received distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. Liver: Pv = portal vein; He = hepatocyte; Bc = bile canaliculus; kidney: G = glomerulus; Us = urinary space; lungs: Mw = muscle wall; As = alveolar sac; Pe = pulmonary epithelium; spleen: Wp = white pulp; Rp = red pulp. $n = 5$; X: 100X (spleen and lungs), 200X (kidneys and liver).

TABLE 6: Effects of the plant mixture aqueous extract on the blood elements in females.

Parameters	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
WBC (* 10 ³ /μL)	14.65 ± 1.50	13.36 ± 0.68	9.68 ± 0.79 ^a	13.70 ± 0.87	13.81 ± 0.34	14.84 ± 0.34
RBC (* 10 ³ /μL)	8.43 ± 0.11	8.01 ± 0.21	8.29 ± 0.21	8.45 ± 0.20	7.95 ± 0.23	8.18 ± 0.47
LYM (* 10 ³ /μL)	11.46 ± 0.94	9.60 ± 0.81	8.47 ± 1.45	5.23 ± 2.06	8.67 ± 0.76	7.44 ± 1.51
MONO (* 10 ³ /μL)	0.36 ± 0.04	0.37 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.32 ± 0.09	0.29 ± 0.12
NEUT (* 10 ³ /μL)	3.87 ± 0.75	2.93 ± 0.13	2.84 ± 0.80	4.02 ± 0.83	3.31 ± 0.60	3.65 ± 0.25
EO (* 10 ³ /μL)	0.24 ± 0.06	0.26 ± 0.07	0.24 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.22 ± 0.12	0.17 ± 0.07
BASO (* 10 ³ /μL)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
HB (g/dL)	14.27 ± 0.27	13.50 ± 0.46	13.90 ± 0.30	14.33 ± 0.43	13.73 ± 0.15	13.43 ± 0.67
PLT (* 10 ³ /μL)	853.50 ± 77.50	755.50 ± 59.50	871.00 ± 40.00	951.30 ± 67.98	926.70 ± 30.47	1003 ± 11.50
HCT (%)	51.57 ± 0.80	49.27 ± 1.18	50.50 ± 1.61	52.37 ± 1.02	51.20 ± 1.45	49.13 ± 2.96

Each value represents the mean ± SEM. *n* = 5. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. WBC: white blood cells; RBC: red blood cells; LYM: lymphocytes; MON: monocytes; NEUT: neutrophils; EO: eosinophils; BASO: basophils; PLT: blood platelets; HB: haemoglobin; HCT: haematocrit. ^a*p* < 0.05: significant difference from normal controls.

TABLE 7: Effects of the plant mixture aqueous extract on the blood elements in males.

Parameters	TN	TSAT	BC 200	BC 400	BC 800	SAT
WBC (* 10 ³ /μL)	12.23 ± 0.87	10.97 ± 0.38	13.05 ± 0.55	15.58 ± 0.85	18.32 ± 1.36 ^a	13.70 ± 0.94
RBC (* 10 ³ /μL)	8.77 ± 0.21	8.75 ± 0.24	8.39 ± 0.42	8.98 ± 0.07	8.57 ± 0.48	9.57 ± 0.17
LYM (* 10 ³ /μL)	8.55 ± 0.67	7.01 ± 0.09	8.86 ± 0.69	10.99 ± 0.50	12.65 ± 1.04	12.16 ± 1.11
MONO (* 10 ³ /μL)	0.29 ± 0.07	0.40 ± 0.22	0.82 ± 0.15 ^a	0.61 ± 0.09 ^a	0.39 ± 0.04	0.35 ± 0.01
NEUT (* 10 ³ /μL)	3.29 ± 0.21	3.84 ± 0.67	3.36 ± 0.84	4.22 ± 0.47	4.35 ± 0.68	3.50 ± 0.25
EO (* 10 ³ /μL)	0.09 ± 0.01	0.22 ± 0.08	0.04 ± 0.02	0.14 ± 0.04	0.17 ± 0.02	0.22 ± 0.09
BASO (* 10 ³ /μL)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
HB (g/dL)	15.10 ± 0.11	14.60 ± 0.69	14.60 ± 0.12	14.97 ± 0.28	14.47 ± 0.24	15.73 ± 0.32
PLT (* 10 ³ /μL)	816.00 ± 87.00	920.70 ± 46.24	904.30 ± 20.41	869.70 ± 35.35	1023.00 ± 20.50	759.00 ± 83.00
HCT (%)	55.07 ± 1.06	53.30 ± 2.94	55.23 ± 1.19	55.87 ± 1.14	54.53 ± 0.83	57.10 ± 1.22

Each value represents the mean ± SEM. *n* = 5. TN: normal rats receiving distilled water (10 mL/kg); TSAT: normal satellite observed 14 more days after stopping every treatment; BC 200, BC 400, and BC 800: animals receiving the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* at the respective doses of 200, 400, and 800 mg/kg; SAT: satellite extract at the dose of 800 mg/kg observed 14 days after stopping every treatment. WBC: white blood cells; RBC: red blood cells; LYM: lymphocytes; MON: monocytes; NEUT: neutrophils; EO: eosinophils; BASO: basophils; PLT: blood platelets; HB: haemoglobin; HCT: haematocrit. ^a*p* < 0.05: significant difference from normal controls.

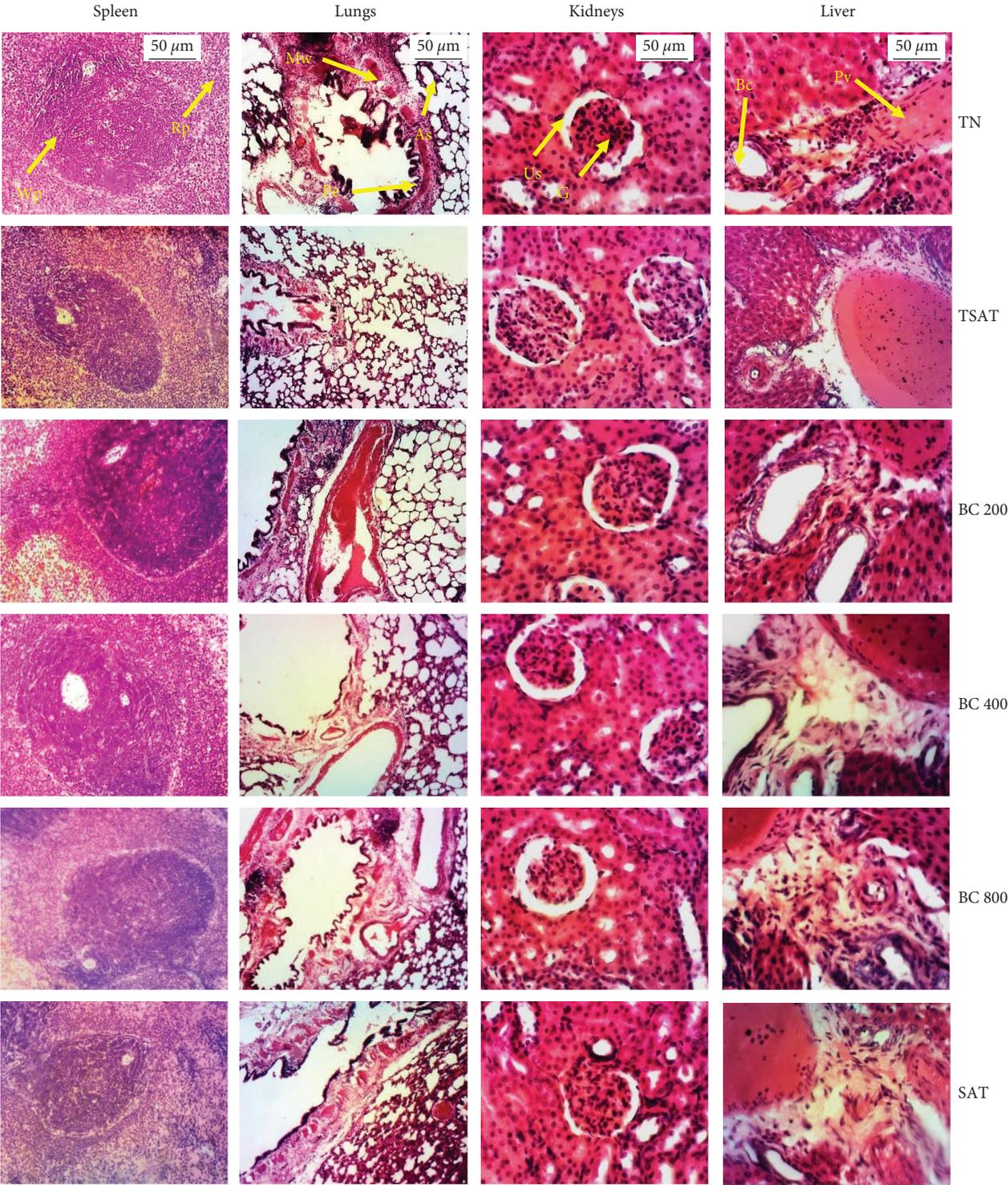
4. Discussion

Studies of toxicity on animals are used to evaluate the potential health risk humans face to unwanted intrinsic effects caused by plant extracts [23]. These secondary effects can appear in the form of biochemical, haematological, histological, or anthropometric alterations [24]. The present study was designed to evaluate the toxicology profile of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* in male and female rats.

One of the problems of phytotherapy is the dose used. Potential toxic effects of natural substances have been reported in several published research works [25, 26]. It is thereby necessary to characterize possible biological effects of every plant used in traditional medicine and their side effects. Therefore, one of our objectives was to verify the toxicity of the aqueous extract of the mixture of *B. Pilosa* and *C. citratus* in acute administration.

The acute toxicity study is the basis for classification and labelling of substances, and the acute toxicity study is the basis for classification and labelling of substances and helps to decide on the dose of compounds to be given in animal studies [26]. In the present work, the acute toxicity focused

on the observation of behavioural and physiological changes in rats. The administration of a single dose of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus* (2000 and 5000 mg/kg) to rats did not induce any visible signs of toxicity either during the first 4 hours of administration or during the 14 days of experimentation. The fact that all the animals were found alive and sound at the end of the experimental period suggests that the lethal dose 50 (LD₅₀) of the plant mixture aqueous extract is above 5000 mg/kg. These findings are in agreement with those of Yinyang Jacques et al. [3] who obtained similar results in the acute toxicity study of the combination of the aqueous extracts of the trunk bark of *Musanga cecropioides* and the fruits of *Picralima nitida*. The abovementioned assessment is not completely true as far the plants are taken alone in the extract. In fact, the acute toxicity of *C. citratus* (2000 mg/kg) was accompanied with symptoms such as torpor, nose, and eyelid bleeding in Wistar rats [6]. Histological examination revealed atrophy of the stomach mucosa and necrosis of the hepatocytes [6], whereas the LD₅₀ of *C. citratus* was 3250 and 3500 mg/kg in rats and male Swiss mice, respectively [27]. On the other hand, with *B. Pilosa* extract (3500 mg/kg), there were no changes in behaviour, sensory nervous system



(a)
FIGURE 3: Continued.

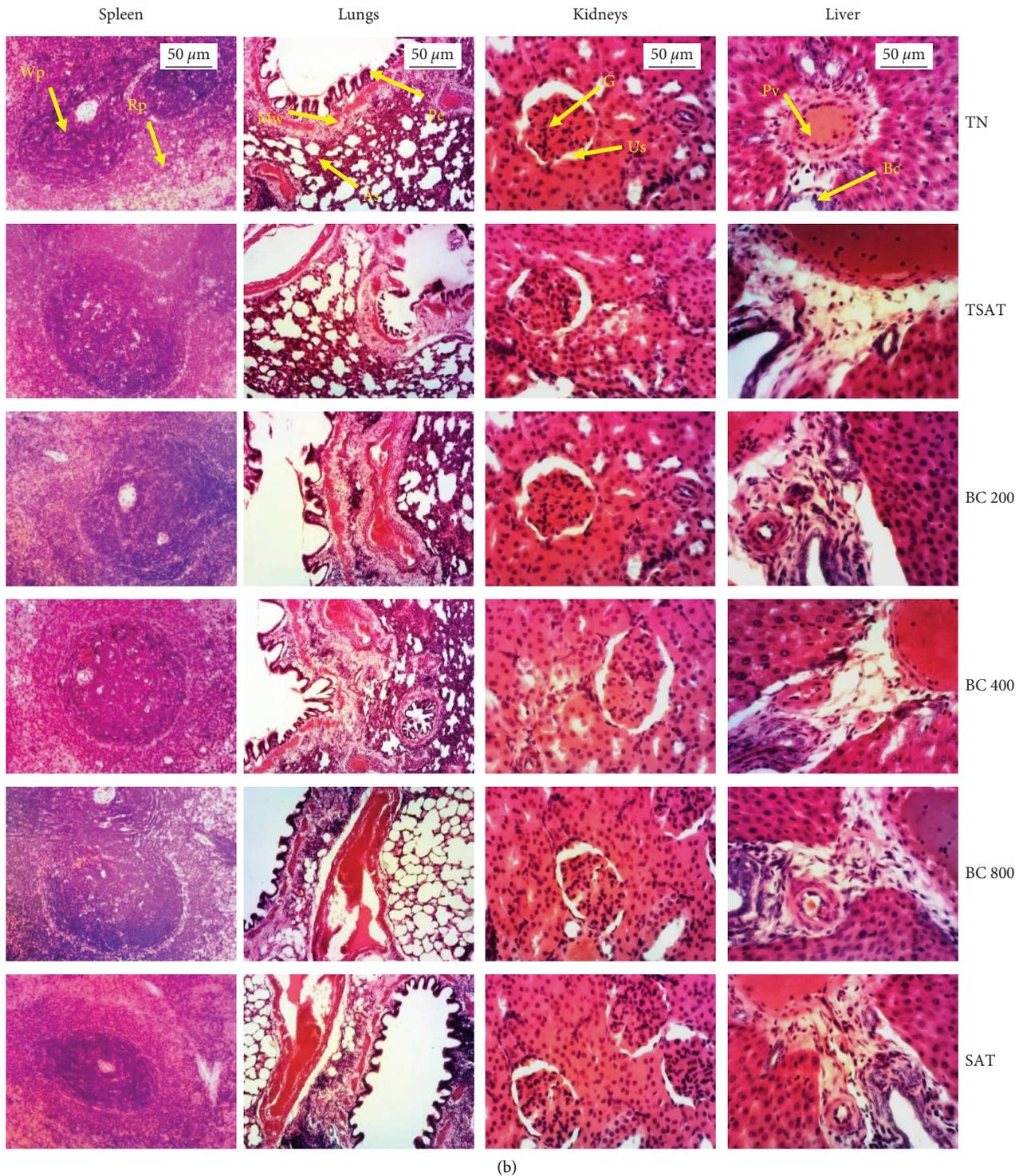


FIGURE 3: Effects of the plant mixture aqueous extract on the microarchitecture of the liver, kidneys, spleen, and lungs in female (a) and male (b) rats.

responses, and gastrointestinal effects in the experimental animals [14]. All the mice survived beyond 24 h of observation; the LD_{50} of the extract was then above 3.5 g/kg [14]. When compared to the extract of isolated plants, the mixture appeared to be more saved. This could be explained with the inhibition of the side effects of *C. citratus* compounds by some compounds found in *B. Pilosa*. According to Hodge

and Sterner, the observations in the present study implies that the extract of the combination can be classified as less toxic [28].

Since no toxic effects were observed in the acute study, an additional study was conducted to assess the subchronic toxicity [19] of the aqueous extract of the *B. pilosa* and *C. citratus* mixture during a 28-day experiment on rats. In

that second study, the weight loss observed in female rats treated with the aqueous extract of the plant mixture can be explained with the fact that *C. citratus* present in this plant mixture is well known to induce weight loss [10]. Generally, its decoction is advised to pregnant women who are overloaded. The interference with some female hormones could also be incriminated, since no effect on body weight gain was observed in male rats. A sensitive indicator in toxicity studies is the relative organs weight [29]. In the present study, no significant change was observed in the relative organ (heart, liver, spleen, kidney, and lungs) weight of all the rats. These results may then confirm the low toxicity of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*.

The liver is involved in the body detoxification, while the kidneys participate in the purification of the blood and the elimination of waste [30]. The assessment of liver and kidney integrity and function is therefore very important in the study of the toxicity of drugs and plant extracts, since they are used for the welfare of the organism [29]. Thus, biochemical analysis carried out in the present study could reveal possible injuries to the liver and kidney induced by the ingestion of the extract. The increase in TC on female rats treated with the aqueous extract of the plant mixture (200 and 400 mg/kg) correlated to the increase in HDL-C can therefore be taken as an improvement for lipid profile. It is true that Hanisa et al. [31] found no significant changes in serum markers of lipid profile in the subchronic toxicity of *C. citratus*. Nonetheless, the observations in the present study are in agreement with our previous study showing that the extract of the mixture improves the lipid profile of hypertensive rats [17]. Transaminases (ALT and AST) are good markers of liver integrity and function [32]. Normally, AST and ALT are enzymes of mitochondrial and cytoplasmic origin. But any cell necrosis, destruction of the hepatic parenchyma or an increase in membrane permeability of the hepatocytes leads to the flow of these enzymes in the blood. That in turn will increase their serum levels [34]. According to Adewale et al. [34], a low level in the liver enzymes (AST and/or ALT) indicates a hepato-protective effect of the plant, which could explain the results observed. In fact, Hanisa et al. [31] observed no significant changes in serum biochemical markers of liver function after 28 days of *C. citratus* infusion administration. The same observations were made in the subchronic toxicity of *B. pilosa* [12]. The results observed in the biochemical markers were confirmed with the histology of the liver. Moreover, renal function can be assessed by testing some biochemical markers such as urea, creatinine, uric acid, and electrolytes [32]. Indeed, these markers have high values in case of renal alteration [25]. The decrease in creatinine levels in male rats having received the aqueous extract of the mixture plants (200 and 400 mg/kg) confirmed therefore the nephroprotective effects already demonstrated in this extract [17]. These results were confirmed by histological analysis which showed no alteration of the renal structure.

Toxicity may manifest itself in the haematopoietic system, in the form of a decrease in the number of circulating cells, functional and structural alterations, and, more rarely,

changes in morphology [35]. Therefore, the evaluation of haematological parameters is essential to establish the effects of plant extracts on animal's blood system. Blood parameter analysis is relevant because it provides much information. It can reveal haematopoietic function (myeloid lineage cells), allergies occurrence (white blood cells), or intravascular effects such as haemolysis [36]. The decrease in white blood cells in females and the increase in monocyte count in males having received the aqueous extract of the mixture plant at the dose of 200 mg/kg suggest that the extract did not cause a significant change in haematopoietic function. This could therefore explain why no sign of inflammation was observed in the structure of all investigated organs, suggesting a minor cause of the above difference in blood cells.

5. Conclusion

The work in the present study focused on the evaluation of the acute and subchronic toxicity of the aqueous extract of the mixture of *B. pilosa* and *C. citratus*. No sign of toxicity was observed in acute toxicity study with the oral administration of the dose 5000 mg/kg or less. No morphological and behavioural signs of toxicity were observed for both acute and subchronic toxicity. In subchronic toxicity, the extract stimulated weight growth in male. The extract did not induce any change in relative organ weights at all doses tested. Furthermore, it did not induce any significant changes in liver and kidney function; nonetheless, it improved the lipid profile. This study supports the production of an improved traditional medicine after preclinical testing.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest in the present research.

Acknowledgments

The authors are grateful to the French Association PCD (Pathologie Cytologie Développement) for the histological.

References

- [1] Organisation mondiale de la santé, *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023*, p. 75, Genève, Suisse, 2013.
- [2] J. C. Silva, P. S. M. Souza, F. Aragão et al., "Vasorelaxant activity and acute toxicity of the ethanolic extract of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves," *Brazilian J. Pharm. Sci.* vol. 55, p. 17754, 2019.
- [3] T. S. E. Yinyang Jacques, B. H. D. Mvogo Ottou Patrice Brice, N. H. J. M. Ngouondjou Foze Teclair et al., "Acute and Subacute toxicity Studies of the combination of the aqueous extracts of trunk bark of *Musanga cecropioides* R. Br. (Cecropiaceae) and fruits of *Picralima nitida* (Stapf)

- T. Durand and H. Durand (Apocynaceae),” *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, vol. 06, no. 04, pp. 334–348, 2020.
- [4] A. Ukwuani, M. Abubakar, S. Hassan, and B. Agaie, “Toxicological studies of hydromethanolic leaves extract of *Grewia crenata*,” *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, vol. 4, no. 4, pp. 245–249, 2012.
 - [5] B. P. Arlene, M. Irene, Villaseñor, and W. Yang, “*Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology, Evidence-based Complement,” *Alternative Medicine*, vol. 2013, Article ID 340215, 51 pages, 2013.
 - [6] N. M. Kouame, M. Kamagate, C. Koffi, H. M. Die-Kakou, N. A. R. Yao, and A. Kakou, “*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: ethnopharmacologie, phytochimie, activités pharmacologiques et toxicologie,” *Phytothérapie*, vol. 14, no. 6, pp. 384–392, 2016.
 - [7] J. O. C. Ezeonwumelu, A. K. Julius, C. N. Muhoho et al., “Biochemical and histological studies of aqueous extract of *Bidens pilosa* leaves from Ugandan rift valley in rats - World Vegetable Center,” *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, vol. 2, no. 6, pp. 302–309, 2011.
 - [8] D. C. Bilanda, P. D. D. Dzeufiet, L. Kouakep et al., “*Bidens pilosa* Ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on rats,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 17, no. 1, pp. 479–487, 2017.
 - [9] G. Shah, R. Shri, V. Panchal, N. Sharma, B. Singh, and A. S. Mann, “Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass),” *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, vol. 2, pp. 3–8, 2011.
 - [10] A. A. Adeneye and E. O. Agbaje, “Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 112, no. 3, pp. 440–444, 2007.
 - [11] T. Dimo, J. Azay, P. V. Tan et al., “Effects of the aqueous and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* leaf on fructose-hypertensive rats,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 76, no. 3, pp. 215–221, 2001.
 - [12] M. B. Cárdenas, C. S. Alvarez, E. B. Morgado, M. G. Gutierrez, G. L. Monteagudo, and O. S. Suarez, “Toxicological evaluation of an infusion of *Bidens piosa*,” *Pharmacologyonline*, vol. 3, pp. 428–434, 2006.
 - [13] C. E. Ekpenyong, E. E. Akpan, and N. E. Daniel, “Phytochemical Constituents, therapeutic Applications and toxicological profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) leaf extract,” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 3, no. 1, pp. 133–141, 2014.
 - [14] S. Parimalakrishnan, V. D. Sundar, I. Ulaganathan, S. Nandhakumar, and D. Akalanka, “Preliminary toxicity evaluation of *Bidens pilosa* extracts using experimental mice,” *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 2, no. 5, pp. 397–402, 2010.
 - [15] S. O. Ogbonnia, J. I. Odimegwu, and V. N. Enwuru, “Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of aqueous ethanolic extracts of *Treculia africana* Decne and *Bryophyllum pinnatum* Lam. and their mixture on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats,” *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 15, pp. 2535–2539, 2008.
 - [16] H. E. M. Ali Hussain and A. Hussain, “Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of Curcumin from *Curcuma longa*, Linn, and partially purified product from *Abroma augusta*, Linn. in streptozotocin induced diabetes,” *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol. 17, no. 2, pp. 33–43, 2002.
 - [17] Y. C. Tcheutchoua, D. C. Bilanda, P. D. D. Dzeufiet et al., “Preventive potential of the aqueous extract of the mixture of *Bidens pilosa* (Asteraceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) aerial parts on hypertension induced by a chronic Salt and Alcohol Consumption on the rats,” *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2022, Article ID 1980622, 18 pages, 2022.
 - [18] P. D. D. Dzeufiet, A. Mogueo, D. C. Bilanda et al., “Anti-hypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of *Persea americana* Mill. (Lauraceae), stems and leaf of *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf. (Poaceae), fruits of *Citrus medica* L. (Rutaceae) as well as honey in ethanol and sucrose experimental model,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 14, no. 1, pp. 507–512, 2014.
 - [19] OCDE, “Ligne directrice 407 de l’OCDE pour les essais de produits chimiques: Etude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs,” *Organ. Econ. Coop. Dev.* vol. 11, no. 11, pp. 1–14, 2008a.
 - [20] OCDE, “Ligne directrice 425 de l’OCDE pour les essais de produits chimiques: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë,” *Organ. Econ. Coop. Dev.* vol. 1, no. 4, pp. 1–29, 2008b.
 - [21] D. Young, *Effects of disease on Clinical Lab*, AACC, Washington DC, 4th Edition, 2001.
 - [22] A. Smith and J. Bruton, *Color Atlas of Histological Staining Procedure*, pp. 169–173, Wolfe Medical Publications, London, United Kingdom, 1977.
 - [23] P. Raina, C. V. Chandrasekaran, M. Deepak, A. Agarwal, and K. G. Ruchika, “Evaluation of subacute toxicity of methanolic/ aqueous preparation of aerial parts of *O. sanctum* in Wistar rats: Clinical, haematological, biochemical and histopathological studies,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 175, pp. 509–517, Dec. 2015.
 - [24] K. K. Rozman, J. Doull, and W. J. Hayes, “Dose and Time determining, and other Factors Influencing, toxicity,” *Hayes’ Handbook of Pesticide Toxicology*, pp. 3–101, Jan. 2010.
 - [25] M. Taghizadeh, S. N. Ostad, Z. Asemi et al., “Sub-chronic oral toxicity of *Cuminum cyminum* L.’s essential oil in female Wistar rats,” *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 88, pp. 138–143, 2017.
 - [26] E. M. D. Ngounou, F. Dongmo, Y. D. Mang, S. S. Dongmo, and N. N. Yanou, “Evaluation of the acute and subchronic toxicity of the aqueous extract of the leaves of *Clerodendrum thomsoniae* Linn in oral route,” *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 6, no. 6, pp. 375–382, 2020.
 - [27] C. A. Costa, L. T. Bidinotto, and R. K. Takahira, “Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 49, no. 9, pp. 2268–2272, 2011.
 - [28] H. C. Hodge and J. H. Sterner, “Tabulation of toxicity classes,” *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, vol. 10, no. 4, pp. 93–96, Dec. 1949.
 - [29] O. Célia, C. Hamida-saida, H. Fella et al., “Toxicité aigue et subaigue des extraits méthaloniques d’*Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.),” *Rev. Agrobiol.* vol. 7, no. 2, pp. 562–573, 2017.
 - [30] J. Ozer, M. Ratner, M. Shaw, W. Bailey, and S. Schomaker, “The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity,” *Toxicology*, vol. 245, no. 3, pp. 194–205, Mar. 2008.
 - [31] H. Hanisa, A. Hadijah, A. Rasedee, and A. S. Tarmizi, “Sub-acute oral administration of *Cymbopogon citratus* stems

- infusion and its effects on blood biochemical parameters, body and organ weights in rats," *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, vol. 39, no. 1, pp. 1-7, 2011.
- [32] P. Manda, O. Manda, M. O. Vangah-Manda, K. Ehoulé, and S. Djédjé Dano, "Etude des toxicités aigue et subaiguë du remède nature utilise dans le traitement du paludisme," *Rev. Ivoirienne des Sci. Technol.* vol. 29, pp. 145-158, 2017.
- [33] K. Kumar, S. Sharma, A. Kumar, P. Bhardwaj, K. Barhwal, and S. K. Hota, "Acute and sub-acute toxicological evaluation of lyophilized *Nymphaea x rubra* Roxb. ex Andrews rhizome extract," *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 88, pp. 12-21, Aug. 2017.
- [34] O. B. Adewale, A. Onasanya, S. O. Anadozie et al., "Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Crassocephalum rubens* leaves in rats," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 188, pp. 153-158, 2016.
- [35] F. Nalimu, J. Oloro, E. L. Peter, and P. E. Ogwang, "Acute and sub-acute oral toxicity of aqueous whole leaf and green rind extracts of *Aloe vera* in Wistar rats," *BMC Complement. Med. Ther.* vol. 22, no. 1, p. 16, 2022.
- [36] J. T. Mukinda and J. A. Syce, "Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 112, no. 1, pp. 138-144, 2007.