



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi -Tebessa-  
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée  
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie



## Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD

En : TOXICOLOGIE CELLULAIRE

Option : TOXICOLOGIE

Par : M. Saker Hichem

Intitulée :

**Contribution à l'étude de l'effet du Sélénium et de *Rosmarinus officinalis* sur la toxicité du Nickel chez les rats**

Devant le jury :

|                       |                          |            |
|-----------------------|--------------------------|------------|
| Pr. Rouabhi Rachid    | Université de Tébessa    | Président  |
| Pr. Boussekine Samira | Université de Tébessa    | Directrice |
| Dr. Goudjil Tahar     | Université de Tébessa    | Examineur  |
| Dr. Gasmi Salim       | Université de Tébessa    | Examineur  |
| Dr. Khiari mohamed    | Université de Souk Ahras | Examineur  |

Date de soutenance : 29 / 02 / 2023

## Résumé

---

La toxicité du nickel (Ni) est largement présente dans l'environnement professionnel et provoque divers effets toxiques sur le corps humain. l'objet de l'étude est de déterminer l'effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rosmarinus officinalis* (Ro), et/ou de Sélénium sur la toxicité du chlorure de nickel chez les rats Albinos. Au début, l'investigation phytochimique permettant la mise en évidence de la teneur en flavonoïdes, en polyphénols et chélatrice des métaux l'activité antioxydante de l'extrait de la plante. L'analyse de l'extrait a montré une richesse en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de  $27.66 \pm 0.04$  mg EAG/g,  $8.47 \pm 0.05$  mg/QE/g Respectivement, une activité antioxydante DPPH de l'ordre de  $24.49 \pm 0.31$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), ABTS  $22.34 \pm 0.94$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), CUPRAC  $15.08 \pm 0.85$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) et l'activité chélatrice de métal  $63.56 \pm 0.97$  ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Dans la deuxième partie l'étude *in vivo* a été menée sur 56 rats mâles de la souche Wistar répartis en huit (08) groupes et traités par gavage pendant 28 jours, le premier groupe servira de témoin, le deuxième traité par 100mg/kg/j de Ro, le troisième groupe traité par 2 mg/kg/j du sélénite de sodium (Se), le quatrième a reçu 10 mg/kg pc/j du Nickel (Ni), les autres groupes ont été traités par les combinaisons Ni-Ro, Ni-Se, Ro-Se, Ni-Ro-Se respectivement. Le nickel a provoqué ; une néphrotoxicité qui se traduit par l'augmentation de l'urée, la créatinine et de l'acide urique, un trouble hépatique qui se manifeste par une augmentation de l'activité des transaminases(TGO, TGP), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubine totale. L'analyse tissulaire a montré une diminution de la défense antioxydante (GSH, GPx, SOD, CAT, GST) avec une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA). Par contre le traitement des rats par les différentes combinaisons a montré une amélioration claire des paramètres biochimiques sanguins et tissulaires.

L'étude histologique des reins a révélé une nécrose tubulaire et glomérulaire chez les rats traités par le nickel. Alors que celle du foie a montrée des lésions graves confirmant le dysfonctionnement hépatique.

En conclusion, l'extrait méthanolique du Ro et/ou le sélénium est un puissant antioxydant en raison de leurs actions protectrices synergiques. Ils sont capables de piéger et d'empêcher les radicaux libres et leurs effets toxiques, ce qui réduit les effets néfastes du nickel

**Mots clés :** Nickel, Sélénium, *Rosmarinus officinalis*, Stress oxydant, Néphrotoxicité, Hépatotoxicité, Rat.

## Abstract

---

The toxicity of Nickel (Ni) is a common element in work environments and has a number of harmful impacts on human health. The aim of this research is to determine the effect of the methanol extract from the leaves of *Rosmarinus officinalis* (Ro), and/or Selenium, on the toxicity of nickel chloride in rats Wistar Albinos. Initially, a phytochemical investigation was carried out to determine the content of polyphenols, flavonoids and the antioxidant and chelating activity of the metals in the plant extract. The extract analysis showed a polyphenol and flavonoid richness with values of  $27.66 \pm 0.04$  (mg EAG/g),  $8.47 \pm 0.05$  (mg/EQ/g) Respectively, an antioxidant activity DPPH of the order of  $24.49 \pm 0.31$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), ABTS  $22.34 \pm 0.94$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), CUPRAC  $15.08 \pm 0.85$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) and metal chelating activity  $63.56 \pm 0.97$  ( $\mu\text{g/ml}$ ).

In a second phase, an in vivo study was conducted on 56 male Wistar rats in eight (08) groups treated by gavage for 28 days, the first group being used as a healthy control, the second group being treated with 100 mg/kg/d Ro, the third group treated with 2 mg/kg/d sodium selenite (Se), the fourth group treated with 10 mg/kg bw/d nickel (Ni), the other groups treated with the combinations Ni-Ro, Ni-Se, Ro-Se, Ni-Ro-Se respectively. Nickel has caused; nephrotoxicity that results in increased urea, creatinine and uric acid, a liver disorder that manifests itself in increased transaminase activity (TGO, TGP), alkaline phosphatase (PAL) and total bilirubin. Tissue analysis showed a decrease in antioxidant defense (GSH, GPx, SOD, CAT, GST) with an increase in lipid peroxidation (MDA). In contrast, the treatment of rats with the different combinations showed a clear improvement in blood and tissue biochemical parameters.

Histological study of the kidneys revealed tubular and glomerular necrosis in nickel-treated rats. While that of the liver showed serious lesions confirming hepatic dysfunction.

In conclusion, the methanol extract of Ro and/or selenium are powerful antioxidants due to their synergistic protective actions. They are able to trap and prevent free radicals and their toxic effects, reducing the harmful effects of nickel.

**keywords :** Nickel, Selenium, *Rosmarinus officinalis* L, Oxidative stress, Nephrotoxicity, Hepatotoxicity, Rat

## ملخص

سمية النيكل (Ni) موجودة على نطاق واسع في البيئة المهنية وتسبب تأثيرات سامة مختلفة على جسم الإنسان. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثير مستخلص الميثانول من أوراق إكليل الجبل و/أو سيلينيوم، على سمية كلوريد النيكل في الفئران Wistar Albinos.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثير مستخلص الميثانول من أوراق إكليل الجبل و/أو السيلينيوم يمكن أن يمنع سمومية كلوريد النيكل على الجرذان Wistar Albinos. في البداية، تم إجراء تحقيق كيميائي نباتي لتحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة والاستقلاب للمعادن في مستخلص النبات. أظهر تحليل المستخلص ثراء البوليفينول والفلافونويد بقيمة  $0.04 \pm 27.66$  (ملغ/غ) (EAG/g)،  $0.05 \pm 8.47$  (ملغ/غ) (EQ/g) على التوالي، وهو نشاط مضاد للأكسدة DPPH من رتبة  $0.31 \pm 24.49$  (لا غرام/مل)،  $ABTS 22.34 \pm 0.94$  ( $\mu\text{g/ml}$ ).

في المرحلة الثانية، أجريت دراسة في الجسم الحي على 56 من ذكور جرذان ويستار من ثمانية (08) مجموعات عولجت عن طريق الفم لمدة 28 يوماً، وتستخدم المجموعة الأولى كمجموعة الشاهد، وتعالج المجموعة الثانية بـ 100 ملغم/كغم/يوم رو، وتعالج المجموعة الثالثة بـ 2 ملغم/كغم/يوم من سيلينيوم الصوديوم (Se)، المجموعة الرابعة التي عولجت بـ 10 ملغم/كغم من وزن الجسم/اليوم من النيكل (Ni)، المجموعات الأخرى التي عولجت بمجموعات Ni-Ro و Ni-Se و Ro-Se و Ni- على التوالي. تسبب النيكل؛ السمية الكلوية التي تؤدي إلى زيادة اليوريا والكرياتينين وحمض اليوريك، وهو اضطراب في الكبد يتجلى في زيادة نشاط ترانس أميناز (TGO، TGP)، الفوسفاتاز القلوي (PAL) وإجمالي البيليروبين. أظهر تحليل الأنسجة انخفاضاً في الدفاع المضاد للأكسدة (GSH، GPx، SOD، CAT، GST) مع زيادة في فوق أكسدة الدهون (MDA). في المقابل، أظهر علاج الجرذان ذات التركيبات المختلفة تحسناً واضحاً في المعلمات الكيميائية الحيوية للدم والأنسجة. كشفت الدراسة النسيجية للكلية عن نخر أنبوبي وكبيبي في الفئران المعالجة بالنيكل، في حين أن الكبد أظهر تلفاً شديداً في الأنسجة مما يؤكد الضعف الوظيفي لهذا العضو.

في الختام، يعتبر مستخلص الميثانول من رو و/أو السيلينيوم من مضادات الأكسدة القوية بسبب إجراءاتها الوقائية التآزرية. إنها قادرة على حبس ومنع الجذور الحرة وآثارها السامة، مما يقلل من الآثار الضارة للنيكل.

**الكلمات المفتاحية:** النيكل، السيلينيوم، إكليل الجبل، الاجهاد التأكسدي، تسمم الكلى، نسمم الكبد، الجرذان

## Remerciement

Je remercie en premier lieu mon dieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette thèse, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.

Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde Gratitude à ma directrice du thèse **Mm. boussekine S**, professeur à l'université de Tébessa. Qui m'a fait l'honneur d'assurer la direction de ce travail, et qui a su faire preuve de patience, d'indulgence et de compréhension tout au long de ces années, me permettant ainsi de mener à bien cette étude. Merci madame pour votre présence, pour votre patience, vos précieux conseils, le suivi, l'orientation et pour votre confiance.

Je prie de croire en ma profonde reconnaissance et l'expression de mon profond respect Je tiens à remercier vivement **M.Rouabhi R**, professeur à l'université de Tébessa, Qui, malgré ses nombreuses obligations a bien voulu faire partie de ce jury. Qu'il reçoive toute ma gratitude et mon respect.

J'exprime aussi toute ma gratitude à **M. Goudjil T**, professeur à l'université de Tébessa, pour l'intérêt et l'attention qu'il a accordé à ce travail de thèse, et pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Mes remerciements s'adressent aussi à **M. Khiari mohamed** Maitre de conférences A à l'université de Souk ahrass de m'avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce thèse.

Ma plus grande gratitude va à **M. Gasmî S** maitre de conférences à l'université de Tébessa, pour ces encouragements et ces nombreux conseils, et pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

## Dédicace

### **A Dieu tout puissant**

D'avoir été toujours là pour moi, surtout dans les moments difficiles et de m'avoir donné la conviction que je puisse arriver au terme de ce travail. Je remercie dieu pour ce que j'ai et ce que je suis.

### **A mes parents**

Votre confiance et votre patience sont mes biens les plus précieux, ni mon amour, ni rien au monde ne pourrait compenser tous les sacrifices que vous aviez consentis en ma faveur et que vous consentiez encore.

### **A mes frères et ma sœur**

Pour leur affection. Que dieu leur accorde le succès, le bonheur et la santé et renforce notre union familiale.

### **A toute ma famille**

Pour son encouragement.

### **A mes amies**

Mon vif remerciement va à mes chères proches amies.

A tous mes enseignants de l'université echahid larbi tebessi- Tébessa

Pour leurs soutien moral et encouragements.

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur

## Abréviations

|  |  |
|--|--|
| <b>Ni</b>  | Nickel   |
| <b>ADN</b>   | Adénosine  |
| <b>GSH</b>   | Glutathion réduit  |
| <b>GSH-Px</b>  | Glutathion peroxydase  |
| <b>R-Se-H</b>  | Séléniol   |
| <b>Se-Met</b>  | Séléno-méthionine  |
| <b>TXA2</b>  | Thromboxane A <sub>2</sub>                                   |
| <b>PGI2</b>  | Prostacycline  |
| <b>MDA</b>   | Malon dialdéhyde   |
| <b>CAT</b>   | Catalase   |
| <b>SOD</b>   | Super Oxyde Dismutase  |
| <b>ATPase</b>  | Adénosine tri phosphatase                                    |
| <b>FCR</b>   | Folin- Ciocalteu réactif                                     |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>                        | Carbonate de sodium  |
| <b>MeOH</b>  | Méthanol   |
| <b>(Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9 H<sub>2</sub>O)</b> | Nitrate d'Aluminium  |
| <b>CH<sub>3</sub>COOK</b>                                  | Potassium acetate  |
| <b>DPPH</b>  | Di Phenyl Picryl-Hydrazyl                                    |
| <b>BHA</b>   | Beta Hydroxy Acides  |
| <b>BHT</b>   | Butyl Hydroxy Toluène  |
| <b>ABTS</b>  | L'acide 2,2'-azino-bis(3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) |
| <b>PI</b>  | Pourcentage d'inhibition                                     |
| <b>IC50</b>  | Concentration d'inhibition 50 %                              |
| <b>CUPRAC</b>  | Capacité antioxydante par réduction du cuivre                |
| <b>GLDH</b>  | Glutamate déshydrogénase                                     |
| <b>DCPS</b>  | 2-4 Dichlorophenol sulphonate                                |
| <b>4-AP</b>  | 4- Amino antipyrine  |
| <b>POD</b>   | Peroxydase   |
| <b>EDTA</b>  | Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique                        |
| <b>DTNB</b>  | Acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque                       |

## Liste des tableaux

| <b>N° Figure</b> | <b>Titre des tableaux</b>   | <b>Figure N°</b> |
|------------------|---|------------------|
| <b>01</b>        | Propriétés physicochimiques du nickel   | <b>07</b>        |
| <b>02</b>        | Apports quotidiens recommandés en sélénium  | <b>20</b>        |
| <b>03</b>        | Les variations de la composition chimique de romarin  | <b>26</b>        |
| <b>04</b>        | Structures chimiques des composés présents dans le romarin  | <b>27</b>        |
| <b>05</b>        | Rendement d'extraction Méthanolique des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>   | <b>54</b>        |
| <b>06</b>        | Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> (1mg/ml)  | <b>55</b>        |
| <b>07</b>        | Détermination de l'activité chélatrice des métaux et de l'activité antioxydante de l'extrait du <i>Rosmarinus officinalis</i> par différentes méthodes.   | <b>55</b>        |
| <b>08</b>        | Variation des concentrations sériques de l'urée, la créatinine et de l'acide urique chez les rats témoins et traité après 28 jours de traitement.   | <b>56</b>        |
| <b>09</b>        | Variation de la teneur du tissu rénal en glutathion réduit, en malondialdéhyde et l'activité enzymatique de GPx, GST, CAT et SOD chez rats témoins et traités après 28 jours de traitement.                 | <b>57</b>        |
| <b>10</b>        | Variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la phosphatase alcaline, et de la concentration sérique de la bilirubine totale, chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement | <b>65</b>        |
| <b>11</b>        | Variation de la teneur du tissu hépatique en glutathion réduit, en malondialdéhyde et l'activité enzymatique de GPx, GST, CAT et SOD chez rats témoins et traités après 28 jours de traitement.             | <b>66</b>        |

## Sommaire

| <b>Figure<br/>N°</b> | <b>Titre des figures</b>  | <b>Page<br/>N°</b> |
|----------------------|---|--------------------|
| <b>01</b>            | Mécanisme de phagocytose sélective et de dissolution plasmatique des ions Ni <sup>2+</sup> au noyau et réactifs lors de leur entrée dans le noyau   | <b>08</b>          |
| <b>02</b>            | Différentes formes de sélénium et leurs voies métaboliques  | <b>17</b>          |
| <b>03</b>            | Différentes formes de sélénium et leurs voies métaboliques  | <b>17</b>          |
| <b>04</b>            | Mécanisme d'action du sélénium  | <b>21</b>          |
| <b>05</b>            | Fleurs et feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>   | <b>25</b>          |
| <b>06</b>            | Aspects morphologies du romarin   | <b>25</b>          |
| <b>07</b>            | Schéma récapitulatif d'extraction   | <b>34</b>          |
| <b>08</b>            | Les étapes d'extraction solide liquide  | <b>34</b>          |
| <b>09</b>            | Représente le schéma récapitulatif du protocole expérimental  | <b>40</b>          |
| <b>10</b>            | Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thio barbiturique   | <b>48</b>          |
| <b>11</b>            | Variation des concentrations sériques de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les rats témoins et traités après 28 jours du traitement.     | <b>57</b>          |
| <b>12</b>            | Variation de la teneur du tissu rénal en glutathion réduit chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.                           | <b>58</b>          |
| <b>13</b>            | Variation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase rénale chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement          | <b>59</b>          |
| <b>14</b>            | Variation de la concentration du Malon dialdéhyde dans le tissu rénal (nmol/mg prot) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement. | <b>60</b>          |
| <b>15</b>            | Variation de l'activité enzymatique de la catalase rénale (μmol/mg prot) chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement           | <b>60</b>          |
| <b>16</b>            | Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement.            | <b>61</b>          |
| <b>17</b>            | Variation de l'activité enzymatique de la Superoxyde Dismutase (nmol/mg prot) chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement.     | <b>62</b>          |

## Sommaire

- 18** Coupes histologiques du rein de rat témoin (A), rat traité par l'extrait de *Rosmainus officinalis* (B), rat traité par le sélénium (C), rat traité par le nickel (D), rat traité par la combinaison (Ro+Ni) (E), rat traité par la combinaison (Se+Ni) (F), rat traité par la combinaison (Ro+Se) (G) et rat traité par la combinaison (Ro+Se+Ni) (H). Hématoxyline- Eosine, Gr : x 400. **63**
- 19** Variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la phosphatase alcaline, et de la concentration sérique de la bilirubine totale, chez les groupes témoin et traités après 28 jours de traitement **65**
- 20** Variation de la teneur du tissu hépatique en glutathion réduit chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **67**
- 21** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **67**
- 22** Variation de la concentration du Malon dialdéhyde dans le tissu hépatique chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **68**
- 23** Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **69**
- 24** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase(GPx) dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **70**
- 25** Variation de l'activité enzymatique de la super oxyde dismutase (SOD) dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement. **70**
- 26** Coupes histologiques du foie du rat témoin (A), rat traité par l'extrait de *Rosmainus officinalis* (B), rat traité par le sélénium (C), rat traité par le nickel (D), rat traité par la combinaison (Ro+Ni) (E), rat traité par la combinaison (Se+Ni) (F), rat traité par la combinaison (Ro+Se) (G) et rat traité par la combinaison (Ro+Se+Ni) (H). Hématoxyline- Eosine, Gr : x 400. **72**

# Sommaire

## Partie bibliographique

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

### Chapitre I : Le Nickel et stress oxydatif

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 1.       | Nickel                                      | 05        |
| 1.1.     | Définition                                  | 05        |
| 1.2.     | Utilisation                                 | 05        |
| 1.3.     | Propriétés                                  | 06        |
| 1.3.1.   | Propriétés physiques                        | 06        |
| 1.3.2.   | Propriétés chimiques                        | 06        |
| 1.4.     | Métabolisme et mode d'action du nickel      | 07        |
| 1.5.     | Toxicité                                    | 08        |
| 1.5.1.   | Toxicité aiguë                              | 08        |
| 1.5.2.   | Toxicité chronique                          | 09        |
| 2.       | Stress oxydant                              | 09        |
| 2.1.     | Radicaux libres                             | 10        |
| 2.2.     | Effet des radicaux libres sur l'organisme   | 10        |
| 2.2.1.   | Peroxydation lipidique                      | 10        |
| 2.2.2.   | Oxydation et protéine                       | 10        |
| 2.2.3.   | Oxydation de l'ADN                          | 11        |
| 2.3.     | Systèmes de défense antioxydant             | 11        |
| 2.3.1.   | Systèmes de défense antioxydant enzymatique | 11        |
| 2.3.1.1. | Superoxyde dismutase (SOD)                  | 11        |
| 2.3.1.2. | Glutathion peroxydase (GPx)                 | 11        |
| 2.3.1.3. | Catalase (CAT)                              | 12        |
| 2.3.2.   | Systèmes de défense non-enzymatique         | 12        |
| 2.3.2.1. | Le glutathion et les protéines-thiols       | 12        |
| 2.3.2.2. | La vitamine C                               | 13        |
| 2.3.2.3. | La vitamine E                               | 13        |
| 2.3.2.4. | Oligoéléments                               | 13        |
|          | <b>Chapitre II : Le Sélénium</b>            | <b>14</b> |
| 1.       | Historique                                  | 15        |
| 2.       | Propriétés physicochimiques                 | 15        |
| 3.       | Métabolisme                                 | 16        |
| 4.       | Rôles biologiques                           | 17        |
| 4.1.     | Activité antioxydant du Sélénium            | 18        |
| 4.1.1.   | La glutathion peroxydase (GPx)              | 18        |
| 4.1.2.   | Thiorédoxine réductase                      | 18        |
| 4.1.3.   | Sélenoprotéine P                            | 18        |

## Sommaire

|   |  |    |
|---|--|----|
| 4.2.  | Rôle immun modulateur  | 19 |
| 4.3.  | Autres rôles biologiques du sélénium                                     | 19 |
| 4.3.1.  | Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds                    | 19 |
| 4.3.2.  | Métabolisme de l'acide arachidonique                                     | 19 |
| 5.  | Répartition du sélénium dans l'organisme                                 | 19 |
| 6.  | Besoins et apports alimentaires  | 19 |
| 7.  | Mode d'action  | 20 |
| 8.  | Carence en sélénium  | 21 |
| 9.  | Supplémentation en sélénium  | 22 |
| 10.   | Toxicité de sélénium   | 22 |
| <b>Chapitre III : <i>Rosmarinus officinalis L</i></b> |  |    |
| 1.  | Généralité   | 24 |
| 2.  | Description de la plante ( <i>Rosmarinus officinalis L</i> )             | 24 |
| 3.  | Classification   | 25 |
| 4.  | Utilisation de <i>Rosmarinus officinalis L</i>                           | 26 |
| 5.  | Composition chimique   | 26 |
| 6.  | Propriétés pharmacologiques  | 28 |
| 6.1.  | Activité Antioxydante  | 28 |
| 6.2.  | Activité hépato protectrices   | 28 |
| 6.3.  | Activité anti-inflammatoire  | 28 |
| 6.4.  | Activité anti-proliférative  | 29 |
| 6.5.  | Activités Antibactérienne  | 29 |
| 7.  | Pharmacocinétique  | 29 |
| 8.  | Mode d'action  | 29 |
| 9.  | Toxicité des plantes médicinales   | 30 |
| 9.1.  | La toxicité intrinsèque des constituants                                 | 30 |
| 9.2.  | L'identification imprécise des composants                                | 30 |
| Partie expérimentale                                  |  |    |
| <b>Chapitre I : Matériel et Méthodes</b>              |  |    |
| 1.  | Matériel végétal   | 33 |
| 2.  | Matériel biologique  | 33 |
| 3.  | Réactif chimique   | 33 |
| 4.  | Méthodes   | 33 |
| 4.1.  | Préparation du l'extrait méthanolique du <i>Rosmarinus officinalis L</i> | 33 |
| 4.2.  | Etude phytochimique  | 34 |
| 4.2.1.  | Détermination du Rendement   | 34 |
| 4.2.2.  | Détermination de la teneur en polyphénols totaux                         | 35 |
| 4.2.3.  | Détermination de la teneur en flavonoïde total                           | 36 |
| 4.3.  | Évaluation de l'activité Antioxydante                                    | 37 |
| 4.3.1.  | Test de Piégeage du radical DPPH   | 37 |
| 4.3.2.  | Activité de piégeage ABTS  | 38 |
| 4.3.3.  | Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)        | 38 |
| 4.3.4.  | Activité chélatrice des métaux   | 38 |
| 5.  | Etude <i>in vivo</i>   | 39 |
| 5.1.  | Protocole expérimental   | 39 |
| 5.2.  | Prélèvement de l'échantillon   | 41 |

## Sommaire

|                      |   |    |
|----------------------|---|----|
| 5.3.                 | Prélèvement des organes   | 41 |
| 5.4.                 | Méthodes de dosage des paramètres biochimiques  | 41 |
| 5.4.1.               | Dosage de la créatinine   | 40 |
| 5.4.2.               | Dosage de l'urée  | 40 |
| 5.4.3.               | Dosage de l'acide urique  | 41 |
| 5.4.4.               | Dosage des protéines tissulaires  | 41 |
| 5.4.5.               | Dosage d'Aspartate Aminotransférase   | 41 |
| 5.4.6.               | Dosage d'Alanine Aminotransférase   | 42 |
| 5.4.7.               | Dosage de la Phosphatase Alcaline   | 42 |
| 5.4.8.               | Dosage de la Bilirubine Totale  | 42 |
| 5.5.                 | Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant   | 42 |
| 5.5.1.               | Dosage du glutathion (GSH)  | 42 |
| 5.5.2.               | Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)                              | 43 |
| 5.5.3.               | Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)  | 43 |
| 5.5.4.               | Dosage du Malon dialdéhyde (MDA)  | 43 |
| 5.5.5.               | Evaluation de l'activité du superoxyde dismutase (SOD)  | 44 |
| 5.5.6.               | Dosage de l'activité enzymatique du Catalase (CAT)  | 44 |
| 5.6.                 | Étude histologique  | 45 |
| 5.7.                 | Analyse statistique   | 46 |
| <b>Chapitre II :</b> | <b>Résultats</b>  |    |
| 1.                   | Étude phytochimique de la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> L                                | 48 |
| 1.1.                 | Le rendement d'extraction des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> L                       | 48 |
| 1.2.                 | Analyse quantitative des Flavonoïdes totaux et les Polyphénols totaux                           | 48 |
| 1.2.1.               | Teneur en Polyphénols totaux  | 48 |
| 1.2.2.               | Teneur en flavonoïdes   | 48 |
| 1.3                  | Activité antioxydante d'extrait du <i>Rosmarinus Officinalis</i> L                              | 49 |
| 2.                   | Effet du traitement sur de la fonction rénale   |    |
| 2.1.                 | Effet du traitement sur les paramètres biochimiques sanguins : urée, créatinine et acide urique | 50 |
| 2.2.                 | Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant du tissu rénal                         | 51 |
| 2.2.1                | Glutathion réduit (GSH)   | 51 |
| 2.2.2.               | Glutathion -S-transférase (GST)   | 53 |
| 2.2.3.               | Malon dialdéhyde (MDA)  | 53 |
| 2.2.4.               | Catalase (CAT)  | 54 |
| 2.2.5.               | Glutathion Peroxydase (GPx)   | 55 |
| 2.2.6.               | Super Oxyde Dismutase (SOD)   | 56 |
| 2.3.                 | Effet du traitement sur l'histologie des reins  | 57 |
| 3.                   | Effet du traitement sur de la fonction hépatique  | 59 |
| 3.1.                 | Effet du traitement sur les paramètres sanguins   | 59 |
| 3.2.                 | Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant du tissu hépatique                     | 60 |
| 3.2.1.               | Glutathion réduit (GSH)   | 61 |

## Sommaire

|                       |                                      |     |
|-----------------------|--------------------------------------|-----|
| 3.2.2.                | Glutathion -S-transférase (GST)      | 62  |
| 3.2.3.                | Malon dialdéhyde (MDA)               | 62  |
| 3.2.4.                | Catalase (CAT)                       | 63  |
| 3.2.5.                | Glutathion Peroxydase (GPx)          | 64  |
| 3.2.6.                | Super Oxyde Dismutase (SOD)          | 65  |
| 3.3.                  | Évaluation histopathologique de foie | 66  |
| <b>Chapitre III :</b> | <b>Discussion</b>                    | 69  |
|                       | Conclusion et perspective            | 83  |
|                       | Références                           | 85  |
|                       | Annexes                              | 109 |
|                       | Publication                          | 119 |

# Introduction

### Introduction

Les métaux lourds présentent une cytotoxicité selon la dose du métal, suite à une génération des radicaux libres conduisant à un stress oxydant (Briffa et *al.*,2020). Cet état du stress oxydant peut causer de graves dommages aux macromolécules vitales dans les cellules, provoquer la croissance ou la mort anormales de cellules, une expression défectueuse des gènes et des récepteurs, des maladies immunologiques, la mutagenèse et d'autres problèmes (Srivastava et *al.*,2017).

Le sol contient naturellement du nickel. La poussière, la nourriture, l'eau et les objets comme « les pièces de monnaie », les piles rechargeables et les bijoux sont quelques-unes des façons dont les gens sont exposés au nickel. C'est un contaminant environnemental qui peut causer le cancer (McCormick,2017). Les organes (les reins, le foie, les poumons) , l'hématopoïèse, la reproduction et le développement ne sont que quelques-uns des tissus que l'exposition au nickel peut empoisonner. Le corps réagira probablement défensivement à l'accumulation de ce corps toxique (Irshad et *al.*,2021).

Pour l'instant, il est largement admis que le stress oxydant ne soit pas une maladie en soi, il a été engagé dans de plusieurs maladies comme facteur déclencheur ou lié à des complications au cours de leur évolution (Hemantaranjan,2007).

La supplémentation des molécules antioxydantes telle que ; le sélénium, la vit C, la vit A, polyphénols, flavonoïdes, les caroténoïdes et d'autres antioxydants sont essentiels pour prévenir les dégâts radicalaires (Gunti et *al.*,2022).

Le sélénium comprend comme un cofacteur de l'enzyme antioxydante glutathion peroxydase, Son implication revêt une importance majeure dans la protection du corps contre les agressions causées par les radicaux libres oxygénés. Il est présent dans la majorité des tissus végétaux et animaux ainsi que dans la croûte terrestre (Gunti et *al.*,2022).

Les plantes médicinales voient leur efficacité s'accroître de manière constante au cours des dernières années. Par conséquent, La médecine traditionnelle est souvent désignée comme le principal type de soins pour 80 % de la population mondiale. Lorsqu'on a analysé les ordonnances médicales d'autres pays, on a découvert que 38 % d'entre elles contenaient une composante végétale et que 65 % d'entre elles étaient directement ou indirectement dérivées de plantes (Van Wyk et Wink,2018).

## INTRODUCTION

La flore vasculaire algérienne est d'une grande diversité, avec plus de 4000 espèces et sous-espèces, ce qui en fait un véritable réservoir phylogénétique. En dépit du fait que la flore médicinale de l'Algérie est encore inconnue, Près de 80% des individus utilisent des plantes médicinales pour se soigner, ce qui en fait une ressource importante pour la grande majorité des Africains ruraux. Nous avons examiné au *Rosmarinus officinalis.L* (famille des Lamiacées), d'origine Méditerranéen, dans un but d'améliorer la diversité des plantes en Algérie (Bouasla et Bouasla, 2017). La culture de cette plante s'étend à travers le monde en raison de ses avantages culinaires méditerranéens, en raison de son statut d'antioxydant naturel sûr, elle est utilisée à la fois dans les conservateurs alimentaires et la médecine traditionnelle par L'EFSA « l'Autorité européenne de sécurité des aliments ». (Yashin et *al.*,2017)

De nombreuses recherches suggèrent que le romarin peut avoir des propriétés antioxydantes, anti inflammatoires, antidiabétiques, anticancéreuses et thérapeutiques pour traiter les troubles hépatique et rénaux liés au stress. L'extrait hydroalcoolique de romarin a démontré son efficacité pour améliorer les agressions radicalaires au niveau rénal et hépatique par la présence de polyphénols et les flavonoïdes (Topal et Gulcin, 2022 ; Yashin et *al.*,2017).

Par conséquent, L'objectif de cette étude est d'approfondir la compréhension des effets protecteurs du sélénium en conjonction avec une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*) contre la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité induites par le nickel chez le rat Wistar.

Nous avons structuré notre travail en deux grandes parties, l'une théorique et l'autre pratique.

Dans la première partie théorique, nous avons présenté une étude bibliographique décrivant les notions essentielles liées au contexte global de notre travail (le nickel, le sélénium et le *Rosmarinus officinalis*).

Dans la deuxième partie pratique, nous avons développé dans un premier chapitre le matériel utilisé et les méthodes réalisées pour l'étude phytochimique, dosage des paramètres biochimiques sanguins et tissulaires ainsi que l'étude histologique. Dans les deux derniers chapitres nous avons exposé et discuté les résultats obtenus dans cette étude.

**Partie**

**Bibliographique**

# Chapitre 1 : Nickel et stress oxydant

### 1. NICKEL

#### 1.1. Définition

Le nickel se trouve naturellement dans l'environnement, principalement dans les minéraux silicatés à la surface et dans les minerais de sulfure qui sont existés dans les sols. Dans la nature, l'oxygène (oxygènes) et le soufre sont les principaux composants des composés du nickel (sulfures). Au niveau des minerais sulfurés, arséniuré, antimoniuré, oxydés ou silicatés, la présentation du nickel est dans la croûte terrestre en quantités d'environ 0,009 %. En outre, le nickel est aussi présent dans l'air sous la forme de particules en suspension lors de la libération par l'activité humaine ou certains phénomènes de la nature, y compris les éruptions volcaniques, les feux de forêt et Les astres de l'atmosphère supérieure. (Pillet, 2005).

#### 1.2. Utilisations

Les applications utilisant le nickel comme matériau pur sont beaucoup moins nombreuses que celles utilisant des alliages avec des composants supplémentaires, comme celles de nombreux autres métaux. (Schalenbach et *al.*, 2018).

Ainsi, plusieurs produits des secteurs industriel, militaire, des transports, maritime, architectural et des biens publics ont besoin de nickel comme matière première. (Jones et *al.*, 2023).

La majorité (62 %) du nickel est utilisée dans les aciers inoxydables. En raison de sa dureté et de ses propriétés de résistance à la corrosion, il est également un composant de plusieurs alliages (12%). Les autres utilisations comprennent les traitements de surface (10 %), les batteries nickel-cadmium et les catalyseurs nickel-aluminium (Maurya et *al.*, 2021).

En plus de l'exploitation minière, de la fusion, de l'affinage des métaux, de la fabrication d'alliages et du recyclage des métaux, le nickel et ses principaux composés ont une large variété d'utilisations industrielles dans les secteurs de l'automobile, de la construction navale, de l'électricité, du pétrole, des aliments et de la chimie. (Kumaraswamy et *al.*, 2021). En outre, le nickel est utilisé pour fabriquer des alliages non ferreux qui sont utilisés, par exemple, dans la fabrication d'ustensiles de cuisine, d'outils, de bijoux et de pièces de monnaie. La production de pigments minéraux pour les métaux et la céramique, ainsi que la production de revêtements métalliques électrolytiques, nécessitent également cet élément (nickelage) (Viczek et *al.*, 2020)

Les applications du nickel pur, comme celles de nombreux autres métaux, sont beaucoup moins importantes que celles des alliages. Par conséquent, plus de 300 000 produits des secteurs industriel, militaire, des transports et maritime sont fabriqués à partir de nickel. On l'utilise dans la production d'aciers spéciaux et inoxydables (Kate et *al.*,2018)

Les applications supplémentaires comprennent les traitements de surface(10 %), les piles au nickel-cadmium et les catalyseurs nickel-aluminium. De plus, le nickel et ses composés primaires sont existé dans plusieurs variété d'applications industrielles dans les industries de l'automobile, de la construction navale, de l'électricité, du pétrole, de l'alimentation et de la chimie, en plus des mines, de la fusion, de l'affinage des métaux, de la fabrication d'alliages et du recyclage des métaux. (Tayar et *al.*,2020).

### **Propriétés**

#### **1.1.1. Propriétés physiques**

La forme massive du nickel, qui est un métal blanc bleuâtre, lustré, malléable et ductile, peut également être trouvée sous la forme d'une poudre grise. Il a des propriétés magnétiques et est un bon conducteur d'électricité et de chaleur. En outre, il a la capacité de réparer les gaz, en particulier l'hydrogène (Briffa et *al.*,2020).

Les propriétés physiques primaires du nickel et des oxydes de nickel qui sont examinées dans le fichier sont décrites dans le Tableau 01 (Sanchez et *al.*,2021).

#### **1.1.2. Propriétés chimiques**

Le nickel n'est presque pas affecté par l'oxygène à température ambiante, mais à mesure qu'il chauffe. Il est revêtu d'une mince couche de monoxyde de nickel, le seul sous-produit du processus entre 300 et 700 °C. La poudre de nickel pyrophorique est produite lorsque l'hydrogène est utilisé pour réduire l'oxyde entre 250 et 350 °C ; à 450 °C, l'oxyde dans 50 degrés d'air explose. Le métal est résistant aux halogènes dans le froid et en l'absence d'humidité ; Il est attaqué par l'eau et forme des halogénures à la surface ; Les halogènes réactent sans éclat dans la chaleur. Le nickel se volatilise entre 45 et 70 °C dans un flux de monoxyde de carbone, créant du nickel carbonyle dans un procédé utilisé pour raffiner les métaux. (Jamrack,2014).

**Tableau 01** : Propriétés physicochimiques du nickel (Sanchez et *al.*,2021).

|  |                                       |
|--|---------------------------------------|
| Symbole chimique   | Ni                                    |
| Numéro atomique  | 28                                    |
| Masse atomique   | 58,71                                 |
| Structure cristalline  | Cubique à face centrée (a = 0,352 nm) |
| Densité (à 20°C)   | 8,902 g/cm <sup>3</sup>               |
| Température de fusion  | 1452°C                                |
| Température d'ébullition   | 2732°C                                |
| Résistivité électrique à 20°C  | 6,9 μ ohm.cm                          |
| Conductibilité thermique à 0-100°C   | 90,9 W / (m.K)                        |
| Configuration électronique   | [2, 8,8] 3d8 4s2                      |
| Isotopes   | De 56 à 66                            |
| A l'état naturel, le nickel est un mélange de 5 isotopes stables (58, 60, 61,62 et 64) et de 6 autres instables. |                                       |

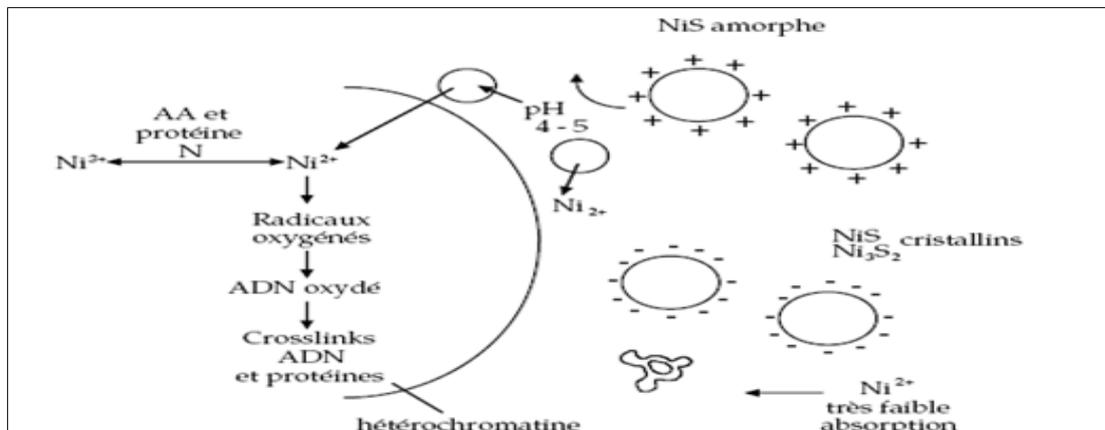
## 1.2. Métabolisme

La liaison du nickel à l'albumine sérique se produit au niveau d'un résidu d'histidine chez les humains, les rats et les bovins. Le nickel est également lié à l'albumine, à la L-histidine et à 12 macroglobulines (Kasprzak et *al.*,2003).

Indépendamment de la méthode d'administration, L'absorption du nickel et de ses oxydes est limitée. Un complexe ternaire d'albumine-nickel histidine est responsable de leur mouvement dans tout le corps. L'urine élimine la grande majorité du nickel qui a été absorbé. S'il est consommé, la majorité du nickel est éliminée dans les feces. (Kasprzak et Salnikow,2007).

Les effets du nickel lorsqu'il entre dans la cellule sont déterminés par sa solubilisation et les doses actuelles d'ions Ni<sup>2+</sup>. (Buxton et *al.*,2019). La captation cellulaire est directement liée à la capacité des dérivés de nickel à accroître les taux intracellulaires. Les structures cristallines NiS s'accumulent au niveau des vacuoles cytoplasmiques à l'extrémité du noyau, lorsqu'une acidité progressive se produit avec libération de Ni<sup>2+</sup> et des interactions préférentielles avec les régions hétéros chromatiques. Ensuite, les complexes ADN-protéine et les cassures de brins sont créés. (Gao et *al.*,2020).

L'inhibition de la transcription du gène suppresseur de tumeur après la méthylation de l'ADN et les altérations structurales de chromatine est une autre interaction (Chen et *al.*,2017).



**Figure 01.** Mécanisme de phagocytose sélective et de dissolution plasmatique des ions  $Ni^{2+}$  au noyau et réactifs lors de leur entrée dans le noyau (Saifi et *al.*,2018)

### 1.3. Toxicité

#### 1.3.1. Toxicité aiguë

Les problèmes digestifs sont principalement causés by l'intoxication accidentelle via ingestion orale (diarrhée, nausées, vomissements et douleurs abdominales), des maux de tête et de l'asthénie, qui sont parfois accompagnés de bradycardie et d'hypothermie légère. Ces symptômes disparaissent rapidement, bien que dans certaines situations, leur durée puisse s'étendre sur quelques jours (Fatullayeva et *al.*,2021)

Un employé a souffert d'une détresse respiratoire aiguë qui a été mortelle 13 jours après avoir inhalé une concentration estimée à plusieurs centaines de mg/m<sup>3</sup> pendant une heure et demie. Il y a eu plusieurs intoxications historiques, parfois mortelles, liées à l'inhalation de poussières de nickel. Outre l'effet mécanique habituel sur la poussière, les contacts oculaires ne provoquent pas de lésions évidentes, l'absorption cutanée est limitée et aucun effet global n'est enregistré par cette voie. Le nickel et ses oxydes n'irritent pas la peau saine. (Filon et *al.*,2016).

### 1.3.2. Toxicité chronique

En ce qui concerne les allergènes cutanés courants, le nickel est reconnu depuis longtemps. Selon une étude de 1979, la sensibilité au nickel touche environ 1 % des mâles et 9 % des femelles de la population générale (Hostýnek et *al.*,2019)

Le plus souvent, la rencontre quotidienne avec des objets du quotidien fait prendre conscience (bijoux, boutons, pièces, ustensiles divers...). L'exposition au travail représenterait 20 % des cas d'allergie. Les dermatoses récurrentes de l'eczéma sont développées par 40 à 50 % de ceux qui ont été exposés au nickel à plusieurs reprises par contact avec le métal et ses constituants. (Bhattacharyya et *al.*,2009).

Les cas d'asthme ont été associés à l'inhalation de sel de nickel, et les patients atteints d'eczéma peuvent développer une rhinite, une urticaire et d'autres maladies. L'exposition au nickel ou à ses oxydes est rarement mise en cause ; le nickelage électrolytique est utilisé pour traiter les surfaces et provoque ces réactions. Il n'y a pas de caractéristiques particulières aux crises, qui peuvent survenir quelques minutes après l'exposition ou des heures plus tard. Cependant, dans certaines procédures, il est important de déterminer l'exposition à d'autres allergènes respiratoires comme le chrome ou le cobalt. (Neziri et *al.*,2020 ; Tramontana et *al.*,2020).

Plusieurs études ont été réalisées sur les conséquences à long terme du nickel sur l'appareil respiratoire. Certaines de ces études suggèrent un risque accru de bronchite chronique ou de problèmes de fonction pulmonaire. Pourtant, les travailleurs étaient constamment exposés à une variété de contaminants (comme lors du soudage), il est donc impossible d'attribuer le développement de ces troubles au nickel ou à ses oxydes seuls. (Buxton et *al.*,2019).

La production de radicaux libres après que le nickel et ses oxydes ont été exposés, ingérés ou inhalés.

## 2. Stress oxydant

Le stress oxydant est caractérisé par un déséquilibre entre les pro-oxydant (générateur de radicaux libre) et les antioxydants (La capacité de l'organisme a géré les radicaux libres.) favorisation des ions d'oxygène potentiellement nocifs dans une cellule ou un compartiment cellulaire (Carmo de Carvalho et *al.*,2022 ; Innocenzi et Stagi, 2023).

Une molécule est considérée comme un oxydant si elle prend un ou plusieurs électrons, le convertissant en une substance réduite. Le caractère oxydant de la molécule d'O<sub>2</sub> est démontré par son avidité pour les électrons en raison de sa structure électrique. (Sumdani et *al.*,2022).

Les espèces réactives d'oxygène et d'azote (ERO et ERN) constituent le système peroxydant, l'augmentation des ERO et ERN peut être due à une augmentation de leur production ou à une diminution du système antioxydant chargé de leur neutraliser (Roy et *al.*, 2023 ; Kiran et *al.*, 2023).

### **2.1. Radicaux libres**

Plusieurs mécanismes physiologiques conduisent à la production de radicaux libres, étant considérés comme bénéfiques pour l'organisme tant qu'ils demeurent à des niveaux tolérables. (Magherini et *al.*, 2019).

Les radicaux libres sont des composés chimiques instables dont l'orbite extérieure contient un électron unique ou non apparié. Ils ont aussi un niveau très élevé de réactivité et de paramagnétisme dû au moment de rotation magnétique de l'électron non apparié. (Bhattacharya, 2015 ; Zhu et *al.*, 2023 ; Wang et *al.*, 2003).

Grâce à sa capacité d'existence avec un électron qui ne correspond pas à l'oxygène est à l'origine de la formation des oxydants radicaux et non radicaux du système de peroxydation. Ces oxydants sont regroupés en deux catégories : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN) (Yzydorczyk. 2018)

### **2.2. Effet des radicaux libres sur l'organisme**

#### **2.2.1. Peroxydation lipidique**

Les radicaux libres perdent des électrons des lipides dans les membranes cellulaires en raison de la peroxydation des lipides, ce qui entraîne des dommages cellulaires. Les acides gras polyinsaturés sont principalement affectés par la réaction en chaîne des radicaux libres en raison de leur forte réactivité. (Sajib et Undeland, 2020).

#### **2.2.2. Oxydation et protéine**

Les radicaux libres oxygénés sont entraînés des modifications dans les différentes structures des protéines par les différents mécanismes de fragmentation et d'oxydation des acides aminés, ainsi que la synthèse de dérivés protéiques carbonylés, sont abordés dans cette étude. (Valko et *al.*, 2016).

#### **2.2.3. Oxydation de l'ADN**

Les molécules d'ADN subissent des dommages oxydatifs dus aux radicaux libérés ou aux métabolites d'oxygène dans le processus d'oxydation. ces dommages peuvent s'agissant des

certaines sources, tels que le stress oxydatif, les radiations ionisantes, ou la directe action des dérivés actifs de l'oxygène. L'oxydation de l'ADN a un fort impact sur les guanines, faisant de la production de 8-oxo-guanine l'un des additifs les plus étudiés. (Coppède, 2021).

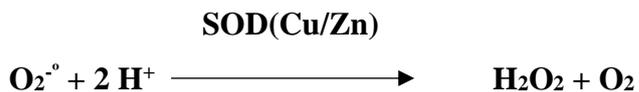
### 2.3. Systèmes de défense antioxydant

Pour se défendre contre les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ERO), l'organisme déploie un ensemble complexe de mécanismes de défense antioxydante.

#### 2.3.1. Systèmes de défense antioxydant enzymatique

##### 2.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

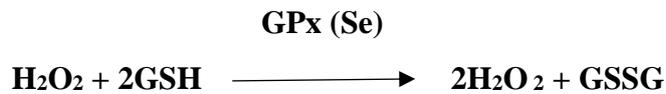
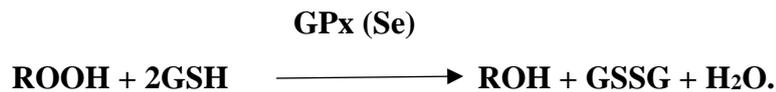
Le Cu/Zn-SOD cytosolique et extracellulaire est présent chez l'homme. Chaque sous-unité a un ion  $Zn$  non catalytique et un ion  $Cu^{2+}$  qui sont en charge de l'activité SOD, ou la démultiplication de l'anion superoxyde conformément au processus : (Maurya et Namdeo 2021).



Il existe une troisième forme qui se situe dans le site actif de la mitochondrie et qui contient du manganèse (Mn-SOD). Cette protéine est issue du noyau, elle n'est donc pas présente dans les hématies, son activité catalytique est similaire à celles des *Cu/Zn-SOD*. Un autre rôle des SOD est de régénérer la vitC. L'efficacité de l'action antioxydante des SOD est limitée car en éliminant l'anion superoxyde, elles génèrent du peroxyde d'hydrogène. (Maurya et Namdeo 2021).

##### 2.3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

Il existe de nombreux gènes GPx, mais les modifications post-transcriptionnelles et post-traductionnelles sont principalement responsables de l'existence des versions intra et extracellulaires. Une forme hautement glycosylée du foie est présente dans le plasma. Toutes ces enzymes sont homo-tétramériques et sélénio-dépendantes, ce qui signifie qu'un atome de sélénium (Se) est présent dans leur site actif à la place d'un sulfate de cystéine. Le glutathion (GSH) est un substrat nécessaire, et l'hydroperoxyde (ROOH), souvent  $H_2O_2$ , est le deuxième. GPx fonctionne à travers son groupe de sélénol, et deux molécules de GPx sont nécessaires pour la transformation d'une molécule d'hydroperoxyde. Comme ces deux GSH s'oxydent en GSSG (forme oxydée), il est indispensable que la GPx soit couplée au système de régénération du GSH (forme réduite active). (Maurya et Namdeo 2021).



### 2.3.1.3. Catalase (CAT)

L'enzyme intracellulaire catalase est produite au niveau des globules rouges et le foie, se trouve principalement dans les peroxysomes. Il accélère la réaction de détoxification de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , qui est typiquement provoquée par SOD. (Ighodaro & Akinloye, 2018).



### 2.3.2. Systèmes de défense non-enzymatique

Les cellules ont recours à plusieurs réactions antioxydantes et consomment une quantité importante d'énergie pour évaluer leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les oligoéléments (cuivre, zinc, cobalt...etc.), les vitE (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes fournis par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (Engwa et al., 2022). La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitE est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases (Aziz et al., 2019).

#### 2.3.2.1. Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tripeptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. C'est principalement un thiol (-SH) dans les cellules, l'albumine étant son équivalent plasmatique, où il est effectivement réduit (GSH). Sa forme oxydée (GSSG) est relativement faible en concentration dans des circonstances physiologiques (Lepedda & Formato, 2020).

Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer, les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : *co* facteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (Lepedda & Formato, 2020).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Lepedda & Formato, 2020).

### 2.3.2.2. La vitamine C

La majorité des mammifères ont la capacité de synthétiser la vitamine C à partir de foie et les reins. Contrairement à l'homme qui doit ingérer environ 100mg de vitamine C par jour grâce à une alimentation riche en fruits. (Marik, 2020).

La vitamine C est avant tout, un excellent piègeur des *ERO* ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle empêche également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : Aide à maintenir le système immunitaire en bon état de fonctionnement, adhésion la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que des mécanismes de métabolisation du fer (Marik, 2020).

### 2.3.2.3. La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols « constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone » et les tocotriénols (qui diffèrent des *tocols* par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement restants, T  $\alpha$ -et l  $\gamma$ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (*ROO*) pour former un radical tocophérols, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Les apports journaliers d' $\alpha$ -tocophérol sont de l'ordre de 10mg (Szymańska et al.,2020).

### 2.3.2.4. Oligo-éléments

Le cuivre (*Cu*), le zinc (*Zn*), le manganèse (*Mn*), le sélénium (*Se*) et le fer (*Fe*) sont des éléments essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la *SOD* mitochondriale a besoin de manganèse, la *SOD* cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la *GPx* de sélénium (Żwierzeło et al.,2020).

## **Chapitre 2 : Le Sélénium**

### 1. Historique

C'est en 1957 que Schwarz et Foltz. (Zwolak,2020) démontrèrent son fonction critique chez les mammifères par son inclusion dans l'alimentation, ce qui empêche la dégénérescence nécrotique du foie. L'administration de sélénium et/ou de vitamine E a ainsi protégé ou traité un certain nombre de dystrophies musculaires et de maladies cardiovasculaires chez les animaux. Bien que le mécanisme d'action du sélénium soit inconnu, de nombreuses recherches ont indiqué que le sélénium et la vitamine E travaillent ensemble pour protéger les membranes cellulaires. En montrant que le sélénium est présent dans le site actif de l'enzyme glutathion peroxydase (GSH-Px) chez les mammifères, Rotruck distingue le mode d'action de cette enzyme de celui de la vitamine E. La supplémentation en sélénite de sodium a démontré la réversibilité des symptômes cliniques liés à l'insuffisance de sélénium, soulignant le rôle critique du sélénium chez l'homme pour la première fois dans les années 1980 : douleurs musculaires (Alcolea et Pérez-Silanes,2020 ; Schomburg,2022).

### 2. Propriétés physicochimiques

Un métalloïde du groupe VI du tableau périodique (oxygène, soufre, polonium et tellure), le sélénium (symbole Se, numéro atomique 34) fait partie de la famille des métalloïdes. Ses caractéristiques physicochimiques sont semblables à celles du soufre (S). (Goswami et Kostova,2022 ; Lichtfouse et al.,2021).

C'est un élément peu commun qui peut être trouvé dans de nombreuses formes isotopiques et est souvent présent sous forme de traces. Entre ceux d'un métal et d'un non-métallique, ses caractéristiques physico-chimiques tombent au milieu. Il existe principalement en milieu biologique des formes de séléniure, de sélénium élémentaire, de sélénite, de sélénate, ainsi que des formes organiques, dans les mêmes états de valence que ces éléments (-2, 0, +4, +6). (Nikam et al.,2022).

Il existe dans le corps sous forme de séléniol (R-Se-H) ou de sélénoether (R-Se-R). Pour créer les composés de type sélénium Sélénométhionine (Se-Met) et Sélénocystéine, il peut également être couplé au soufre (R-S-Se-H ou R-S-S-S-R) ou substitué au soufre dans les acides aminés contenant du soufre (Se-Cys). (Williams et al.,2011)

### 3. Métabolisme

Le sélénium a une efficacité d'absorption intestinale élevée (50 à 95 %). Que le statut de sélénium soit suffisant ou non, la forme de l'apport de sélénium et la présence d'autres aliments jouent tous un rôle. Bien que le corps puisse utiliser à la fois des formes organiques et inorganiques de sélénium, leurs métabolismes sont distincts. (Hadrup et Ravn-Haren,2021). Lorsqu'il est administré par gavage à des animaux (rats, souris et chiens), le taux d'absorption gastro-intestinale est plus élevé (> 80 % que dans les repas). (Kuršvietienė et al.,2020).

Les protéines plasmatiques de la circulation transportent le sélénium absorbé pour être dispersé dans tout le corps. Les organes spécifiques qui accumulent le sélénium comprennent le foie (15 %), les reins (5 %), le cerveau (1 %) et le pancréas (0,5 %). (Dávila-Vega et al.,2022 ; Rehman et al.,2021). En ce qui concerne le métabolisme du sélénium, le foie fonctionne comme un stockage pour un échange rapide avec le sang tandis que les réserves dans les muscles servent de dépôt pour un échange plus lent. (Mehdi et al.,2013).

La forme chimique du sélénium consommé influe sur sa métabolisation. En utilisant le transport anionique, le sélénite pénètre les cellules et se combine rapidement avec le glutathion pour former la sélénodiglutathion. (**Figure 02**) (Kim et al.,2021 ; Lv et al.,2021).

Les dérivés méthyliques du sélénium, comme le méthylsélénol, le diméthyl sélénium et le triméthyle sélénium, ou sélénosucres, sont éliminés dans l'urine (60 %) et/ou dans les poumons. (**Voir figure 03**) (Alhasan et al.,2019)

Chez le rat, l'excrétion est triphasique :

- Une excrétion rapide s'effectue en fonction de la dose administrée et de la concentration en sélénium alimentaire dans la première phase.
- Le taux d'excrétion dans la deuxième phase est intermédiaire entre les phases 1 et 3.
- La phase trois se caractérise par une période prolongée d'excrétion faible et constante, qui correspond à un renouvellement corporel à long terme. La demi-vie est de 103 jours, le taux d'élimination ne dépend plus de la posologie mais est influencé par les niveaux de sélénium dans l'alimentation.

Dans la nourriture du rat, une dose de 1 ppm est éliminée à 67% dans l'urine et à 10% dans les fèces, tandis que l'élimination respiratoire est inférieure à 10%. (Lei et al.,2022).



distinction entre les concentrations de sélénium qui sont bénéfiques ou néfastes pour la santé. (Kuršvietienė et al.,2020)

### **4.1. Activité antioxydante du Sélénium**

Le sélénium est essentiel pour le fonctionnement d'enzymes anti oxydantes tel que :

#### **4.1.1. La glutathion peroxydase (GPx)**

Chaque molécule de glutathion peroxydase comprend quatre molécules de sélénium, la présence de sélénium est observée dans la glutathion peroxydase (GPx) sous forme de résidu de sélénocystéine au site actif de l'enzyme. (Tupikina,2022). L'une des principales défenses contre les agressions causées par les radicaux libres d'oxygène est fournie par des enzymes antioxydantes, telles que GPx. (Flohé et al.,2022). Les GPx détoxifient les peroxydes d'hydrogène et hydro peroxydes organiques (Kruk et al.,2019).

#### **4.1.2. Thiorédoxine réductase**

Le sélénium agit également comme un antioxydant essentiel au site actif de la thiorédoxine réductase, où il est présent en tant que groupe séléno (-SeH). (Hariharan et Dharmaraj, 2020).

La thiorédoxine réductase, une protéine à faible teneur en particules nécessaire à la réduction des biomolécules oxydées, Il est localisé dans le cytoplasme des cellules et facilite la réduction de la thiorédoxine. La diminution de la thiorédoxine serait un mécanisme essentiel pour contrôler la prolifération cellulaire normale et maligne ainsi que la mort cellulaire programmée. (Tretter et al.,2021).

En éliminant les ponts de disulfure intramoléculaires et en facilitant la régénération de composés comme les vitamines C et E qui sont réduites, la thiorédoxine réductase joue un rôle important dans les réactions antioxydantes. (Pisoschi et al.,2021).

#### **4.1.3. Sélénoprotéine P**

Elle est principalement localisée dans le plasma et a la particularité de posséder 10 atomes de *Se* par polypeptide (Minich,2022). La sélénoprotéine maintient l'équilibre intracellulaire et extracellulaire pro- et anti-oxydant en conjonction avec d'autres molécules de type enzymatique « superoxyde dismutase, catalase », ou non (vitamine *E*, *C*, caroténoïdes, groupes thiols, polyphénols, co enzyme *QIO*). (Al-Mubarak et al.,2021).

Au lieu du glutathion, l'acide aminé sélénométhionine, que l'on trouve dans les protéines en quantités infimes, pourrait également catalyser la réduction du peroxy-nitrite, réduisant ainsi le stress oxydatif. (Lamarche et *al.*,2021).

### **4.2. Rôle immun modulateur**

Les capacités de modulation immunitaire du sélénium complètent l'activité anti-radicalaire. Sa fonction d'inhibiteur phagocytaire et par l'activation, la prolifération et la différenciation lymphocytaire a un rôle modulant dans la réponse immunologique et inflammatoire. (Naveenkumar et *al.*,2022).

### **4.2. Autres rôles biologiques du sélénium**

#### **4.3.1 Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds**

D'autres activités critiques du sélénium, comme sa participation à la détoxification des métaux lourds (cadmium, mercure, plomb), ou son effet stimulant sur le métabolisme des xénobiotiques organiques, complètent les tâches fondamentales décrites ci-dessus (Briffa et *al.*,2020).

#### **4.3.2 Métabolisme de l'acide arachidonique**

Le sélénium contrôle l'agrégation plaquettaire en intervenant à différents niveaux dans le contrôle des métabolites oxygénés de l'acide arachidonique. Lorsqu'il y a une carence en sélénium, il y a une augmentation de la création de TXA2 et une diminution de la synthèse de PGI2, ce qui provoque l'agrégation plaquettaire à activer. (Junior et *al.*,2019).

## **5. Répartition du sélénium dans L'organisme**

Selon l'apport de sélénium, qui est le résultat de la quantité de sélénium présente dans le sol, le corps humain peut contenir entre 3 et 14,6 mg de sélénium.

Le foie et les reins sont deux organes riches en sélénium. La concentration de sélénium la plus élevée par unité de poids se trouve dans le site rénal primaire pour la production de glutathion peroxydase plasmatique. En constituant 45 % du sélénium total, le muscle squelettique semble servir d'organe de stockage du sélénium (Dai et *al.*,2019 ; Hadrup et Ravn-Haren,2021).

## **6. Besoins et apports alimentaires**

Bien que de nombreuses études estiment qu'un apport de 90µg est nécessaire pour atteindre l'activité optimale de glutathion peroxydase plasmatique, les apports alimentaires recommandés pour le sélénium spécifié aux États-Unis en 2000 sont de 55µg/j, quel que soit le

sexe, qui ont été jugés suffisants. (Turrubiates-Hernández et *al.*,2020). D'autres chercheurs pensent également que cet apport est insuffisant en raison du fait que la synthèse de diverses protéines de sélénium est contrôlée différemment selon les apports de sélénium. Enfin, de nombreuses études appuient l'utilisation de suppléments nutritionnels pour réduire les risques de cancer. (Vinceti et *al.*,2022).

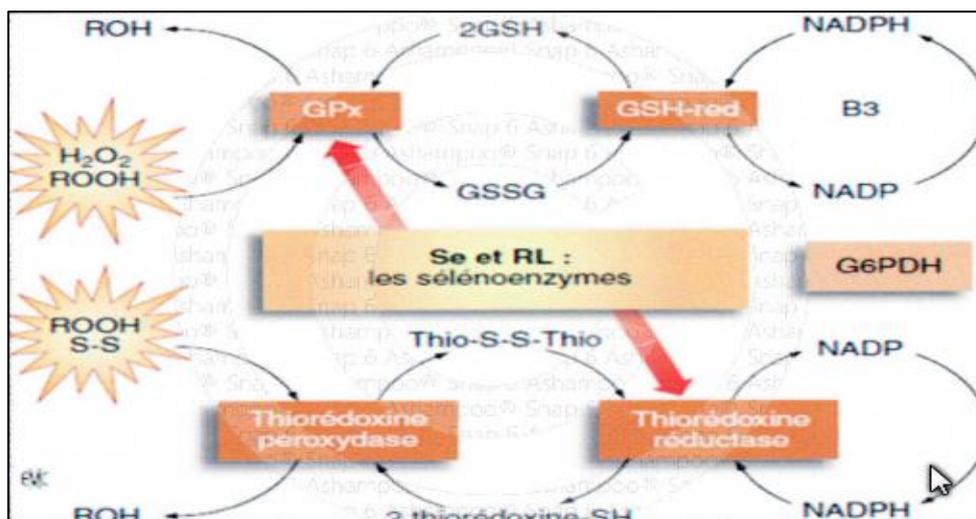
Les plus fortes concentrations de sélénium peuvent se trouver dans les régimes protéiques, qui comprennent la viande, le poisson, les crustacés, les abats, les œufs et les céréales. Néanmoins, la biodisponibilité de ces aliments varie, allant de 20 à 50% pour les produits de la mer à plus de 80% pour les céréales ou la levure de bière. Pourtant, le niveau de sélénium des céréales est étroitement lié à la teneur en sélénium des sols où elles ont été cultivées. De tous les nutriments importants, l'apport en sélénium varie le plus. La quantité de cet oligo-élément dans la chaîne alimentaire varie considérablement selon la région, selon le type de sol, son pH et les méthodes de fertilisation utilisées (Filipović et *al.*,2019).

**Tableau 2** : Apports quotidiens recommandés en sélénium (Kieliszek et *al.*,2022)

|                    |                |                 |
|--------------------|----------------|-----------------|
| Enfants            | Filles 25-60µg | Garçons 25-60µg |
| Adolescents        | Filles 30-70µg | Garçons 30-70µg |
| Adultes            | Femmes 30-70µg | Hommes 30-70µg  |
| Femmes enceintes   | 30-70µg        | -               |
| Femmes allaitantes | 30-70µg        | -               |

## 7. Mode d'action

La principale fonction du sélénium est une activité antioxydante sous forme de coenzyme glutathion-péroxydase, responsable des peroxydes détoxifiants ; sa toxicité est attribuée à son interférence avec le métabolisme et la fonction du composé sulfuré. Les groupes thiol (-SH) des déshydrogénases sont remplacés par des groupes (SeH), qui inhibent l'enzyme. Cela affecte les systèmes enzymatiques impliqués dans la respiration cellulaire. (Weaver et Skouta,2022).



**Figure 04.** Mécanisme d'action du sélénium (Kuria et *al.*,2021).

## 8. Carence en sélénium

La principale façon d'obtenir le sélénium est par la nourriture. Un régime qui manque de sélénium est la principale cause d'un déficit. En raison de l'importance du sélénium comme oligo-élément, des problèmes comme le retard mental, l'infertilité masculine, les déficiences immunologiques, les maladies cardiovasculaires, les myopathies et / ou les cardiomyopathies pourraient résulter d'un manque de sélénium. (Kieliszek et *al.*,2022). Un niveau insuffisant de sélénium peut entraîner une augmentation des risques de certains cancers et une accélération des processus de vieillissement. (Alehagen et *al.*,2021). Le stress oxydatif, qui résulte de la réponse immunitaire innée, est lié à la majorité des maladies infectieuses. L'un des premiers effets d'un déficit en sélénium ou d'un dysfonctionnement significatif d'une sélénoprotéine impliqué dans l'élimination des radicaux libres est le dysfonctionnement de la réponse inflammatoire et, par conséquent, l'aggravation de l'infection. (Schweizer et Fabiano,2022).

Les maladies de « Keshan » et de « Kashin-Beck » sont deux troubles qui peuvent résulter d'une grave carence en sélénium. La cardiomyopathie congestive, une maladie mortelle, affecte Keshan. On l'a trouvé dans la région de *Keshan*, dans l'est de la Chine, où les niveaux de sélénium dans le sol sont particulièrement faibles. (Hou et *al.*,2021)

## 9. Supplémentation en sélénium

Depuis l'identification de la cause de la maladie de « Keshan » et l'éradication presque complète de celle-ci, par un apport systématique de *Sélénite* de sodium aux habitants de cette

région, elle est principalement motivée par ses bienfaits préventifs du cancer et de certaines maladies cardiovasculaires. (Barchielli et *al.*,2022).

Les dommages causés par les radicaux libres contribuent au processus de mort cellulaire. La vitamine C, E, le  $\beta$  carotène et le sélénium sont des micronutriments antioxydants non enzymatiques qui stimulent la défense intracellulaire et protègent les cellules de l'oxydation. (Engwa et *al.*,2022).

### 10. Toxicité de sélénium

Même dans les régions de sélénium où les niveaux de sélénium dans le sol et l'eau sont extrêmement élevés, la sélénose chronique ou aiguë (le maladie de `Keshan`) due à une intoxication alimentaire au sélénium est rare chez les humains. Cela comprend les plantes, les semences et les céréales qui, lorsqu'elles sont consommées en quantité suffisante, peuvent bien soutenir le sélénium. Les paysans qui utilisent les produits de leurs terres sont ainsi exposés à une toxicité non industrielle. Le traitement de ces intoxications consiste à ingérer de la vitamine A, de la méthionine, des sulfates et des arsenates au lieu d'injecter les chélateurs typiques et inefficaces. Elles sont le plus souvent le résultat de rencontres non intentionnelles ou professionnelles (contamination industrielle). (Gebreyessus et Zewge,2019)

Des problèmes gastro-intestinaux, irritations bronchiques et cutanées, une odeur distincte de la peau et de l'haleine sont les principaux signes cliniques d'intoxication chez les travailleurs exposés à la fumée élevée en sélénium (odeur d'ail). La consommation de sélénium n'est pas dangereuse jusqu'à 1000 $\mu$ g/j. La dose sans risque d'effets nocifs a été établie à une valeur maximale de 5 $\mu$ g/kg/j (Adewale et *al.*,2022).

## **Chapitre 03 *Rosmarinus Officinalis***

### 1. Généralité

Des recherches pharmaceutiques ont récemment été effectuées pour déterminer la composition chimique de plusieurs propriétés thérapeutiques des plantes.

La médecine traditionnelle utilise des plantes médicinales parce qu'elles ont une variété d'avantages thérapeutiques.

Plusieurs de leurs composants ont été reproduits chimiquement, et de nouvelles combinaisons ont été découvertes par l'industrie pharmaceutique. Lorsqu'ils agissent, ils produisent des substances chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou des combinaisons de substances chimiques. (Anand et al.,2019).

**Métabolites primaires** : les molécules nécessaires de la vie végétale qui ne présentent qu'une activité pharmacologique de base, (les enzymes, les glucides comme la cellulose, les lipides l'amidon ...) (Grenez, 2019).

**Métabolites secondaires** : les paramètres les plus complexes. Parmi celles-ci on peut prendre quelques familles chimiques les plus courants : les alcaloïdes les polyphénols, les terpénoïdes (Grenez, 2019)

La décoction, la macération et l'infusion sont toutes des méthodes utilisées pour préparer les herbes médicinales. Une ou plusieurs pièces, comme une racine, une feuille ou une fleur, peuvent être utilisées. (Bourais et al.,2022).

L'une des plantes thérapeutiques utilisées depuis l'Antiquité est le *Rosmarinus officinalis* L. Il continue d'être inclus dans la liste des traitements utilisés par les tradipraticiens dans toute la région méditerranéenne. En outre, il aurait des qualités curatives. (Dafni et al.,2020).

### 2. Description de la plante (*Rosmarinus officinalis* L)

Dans la nature, le romarin (*Rosmarinus officinalis* sp.), arbuste appartenant à la famille des Lamiacées, se trouve dans la région méditerranéenne. Étant une plante largement utilisée en médecine traditionnelle. Les utilisations traditionnelles du romarin comme épice culinaire comprennent la modification et/ou l'amélioration des goûts alimentaires.



**Figure 05.** Fleurs et feuilles de *Rosmarinus officinalis* L (González-Minero et *al.*,2020)

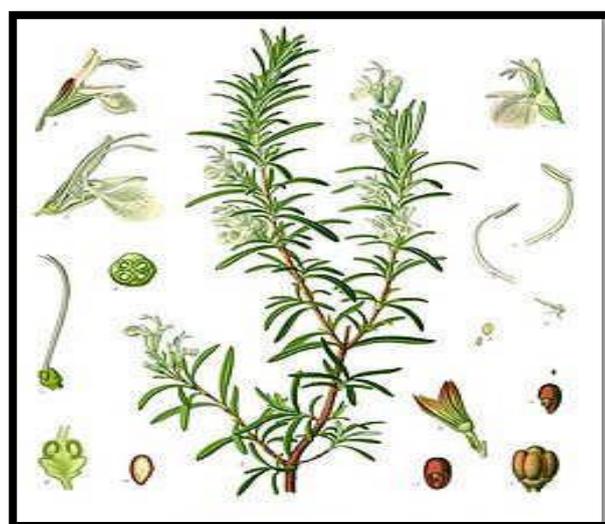
L'industrie alimentaire s'y intéresse particulièrement parce que c'est l'une des sources de produits chimiques bioactifs les plus utilisées aujourd'hui. En réalité, cette plante remplit de nombreuses fonctions pharmacologiques, y compris des fonctions hépato protectrices, antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antinociceptives, antithrombotiques et antifongiques. (de Macedo et *al.*,2020).

Le romarin est utilisé pour un certain nombre de choses, y compris stimuler la production de bile, réguler la digestion et traiter les blessures. Pour ces raisons, il est également important dans les industries, l'agriculture, la médecine, et la fabrication de produits pharmaceutiques. Le produit chimique composants de la plante de *romarin* sont 20%  $\alpha$ -pinene, 20% cineol, 18% camphre, 6%  $\beta$ -pinen 1borneol, 5% mirsen, 3% acétate de bornicyl, 2% terpineol, limonène, terpineol et cariophyllen (Begum).

### 3. Classification du (*Rosmarinus officinalis* L)

*Rosmarinus officinalis* L dans la classification des végétaux (Napoli et *al.*,2020).

Règne : Plantes  
 Embranchement : Spermaphytes  
 Sous-Embranchement : Angiospermes  
 Classe : Dicotylédones  
 Sous-Classe : Gamopétales  
 Ordre : Tubiflorales  
 Sous-Ordre : Lamiales  
 Famille : Lamiacées  
 Genre : *Rosmarinus*  
 Espèce : *officinalis*



**Figure 06.** Aspects morphologies du romarin (De oliveira et *al.*,2019)

#### 4. Utilisations de la plante

Pour éviter la dégradation oxydative et microbiologique potentielle des aliments, le romarin est fréquemment utilisé dans les activités alimentaires. En raison de la présence d'acides poly phénoliques, les extraits de plantes ont une activité antioxydante importante qui est également utilisé pour préserver les aliments et les huiles lipidiques (Kaur et al.,2021).

En médecine traditionnelle, le romarin favorise la fonction hépatique et biliaire lorsque des problèmes digestifs sont présents, facilite la digestion, soulage les maux de tête et les migraines, et traite les maux de tête et les migraines. Les rhumatismes et les problèmes circulatoires peuvent être traités à l'extérieur en l'utilisant. En plus de traiter les maladies oculaires et d'agir comme un antibactérien, il est hypoglycémique. Pour la conservation des pâtes de dattes et comme emménagogue, *Rosmarinus officinalis* L. est traditionnellement utilisé dans la région de Béchar (qui provoque ou régule le cycle menstruel) (Rehman et al.,2020).

#### 5. Composition chimique

D'après « Xiao et al.,2008 », l'extrait méthanolique contenait un taux élevé en Sucrose, Succinate, Fumarate, Malonate, et en acides phénoliques, mais un niveau bas en Fructose, Glucose.

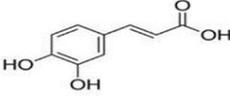
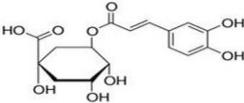
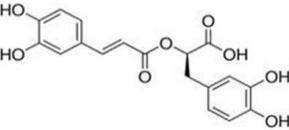
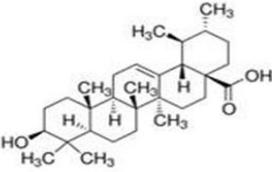
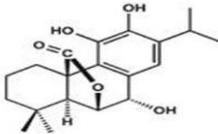
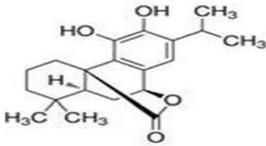
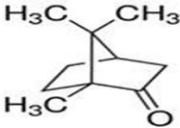
**Tableau 03** : Les variations de la composition chimique de romarin (Abada et al.,2020 ; Melito et al.,2019).

| Composants actifs   | Principes chimiques   |
|---|---|
| Environ 50% du parfum aromatique distinctif trouvé dans les feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> se trouve dans l'huile essentielle. | Cinéole, pinène, d'acétate, de camphre ordinaire, camphène et bornéol |
| <i>Rosmarinus officinalis</i> a des di-terpènes phénoliques comme antioxydants primaires.   | Carnosol, acide carnosique, rosmarol, iso-rosmanol                    |
| Les lamiacées sont des plantes dicotylédones qui produisent principalement des flavones.  | Apigénine, lutéoline, di-osmetine, di-metoxi-flavone                  |
| Les molécules chimiques qui ont de forme acide phénolique contient des fonctions carboxyliques et hydroxyles.                             | Chlorogénique, a. Caféique, et a. rosmarinique                        |

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

La composition chimique de romarin dans son ensemble résulte du lieu de récolte et de croissance, ainsi que du moment de récolte dans le cycle végétatif (Barut et *al.*,2022)

**Tableau 04** : Structures chimiques des composés présents dans le romarin (Lešnik et Bren 2021)

| Nom des composés    | Structure chimique   |
|---------------------|--|
| Acide Caféique      |    |
| Acide chlorogénique |    |
| Apha-pinène         |    |
| Acide rosmarinique  |  |
| Acide ursolique     |  |
| Rosmanol            |  |
| Carnasol            |  |
| Camphre             |  |

### 6. Propriétés pharmacologiques

Les plantes ayant des qualités thérapeutiques peuvent également être utilisées comme additifs alimentaires, condiments ou dans le brassage de boissons sanitaires. Ce sont soit les mêmes parties de la plante pour ces fonctions variées ou des parties de la plante séparées (Alara et *al.*,2021).

#### 6.1. Activité Antioxydante

Comme les *ROS* sont le principal facteur du vieillissement cellulaire, ils provoquent des dommages oxydatifs. L'extrait de romarin a des mécanismes antioxydants qui sont classés comme non enzymatiques (comme les vitamines, les minéraux et les polyphénols) ou enzymatiques (comme superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) systèmes qui protègent les tissus et les cellules contre *ROS*. (Hamed et *al.*,2020).

Bien que les huiles essentielles de la plante et les extraits de méthanol contiennent tous deux des quantités importantes d'antioxydants, tandis que ce dernier contient principalement de l'acide coromarique et de l'acide rosmarinique, on en déduit que les premiers ont une plus grande capacité à neutraliser les radicaux libres (Napoli et *al.*,2020).

Nous avons examiné comment l'acide rosmarinique affectait les enzymes antioxydantes du foie, des reins et des tissus des rats. Il en résulte une augmentation de l'activité de *SOD*, de *CAT*, et une diminution de *MDA*(malondialdéhyde) (indicateur de peroxydation lipidique) (Hitl et *al.*,2021).

#### 6.2. Activité hépato protectrices

De nombreuses études, dont la dernière a été utilisée pour évaluer la puissance de l'extrait méthanolique de romarin pour tester les caractéristiques biochimiques et histologiques spécifiques des cellules hépatiques, ont été menées pour explorer l'effet protecteur du romarin sur le foie. (Luis Martínez-Rodríguez et *al.*,2019).

#### 6.3. Activité anti-inflammatoire

En médecine traditionnelle, le romarin est apprécié pour ses effets thérapeutiques dans la prise en charge des maladies inflammatoires ainsi que le soulagement de l'inconfort gastro-intestinal et respiratoire, y compris l'asthme bronchique. Des huiles essentielles biologiquement actives et des terpènes comme l'acide carnosique, le *carosol* et l'acide rosmarinique ont été

montrés dans plusieurs recherches expérimentales pour avoir des effets anti-inflammatoires et analgésiques (Wani et *al.*,2021)

### 6.4. Activité anti-proliférative

Les composés les plus répandus dans l'extrait végétal, comme l'acide carnosique, le carnosol et l'acide romarin, ont provoqué l'apoptose dans des cellules cancéreuses en provoquant la production d'oxyde nitrique et d'acide carnosique. Rosemary a démontré d'importantes activités antiprolifératives contre un certain nombre ces cellules cancéreuses humaines. (Allegra et *al.*,2020).

### 6.5. Activités Antibactérienne

Le romarin est une plante médicinale utilisée pour traiter une variété de troubles infectieux. Son huile essentielle et son extrait méthanolique sont des agents antibactériens très efficaces contre les 5souches bactériennes suivantes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* (Fazeli-Nasab et *al.*,2021).

Il a été démontré que les bactéries gram-négatives sont particulièrement sensibles aux effets antibactériens de l'huile essentielle de romarin : *Escherichia. Coli* et les bactéries gram positif *Staphylococcus. aureus* (Liu et *al.*,2020).

## 7. Pharmacocinétique

L'absorption rapide dans le système digestif et la détection dans le plasma du métabolisme des polyphénols, en particulier des flavonoïdes, suggèrent que ces composés sont disponibles pour discerner leurs effets biologiques. En effet, des études *in vitro* ont démontré que les flavonoïdes peuvent entrer dans la circulation sanguine en quantités qui les font avoir des effets positifs, passer par le système digestif et entrer dans la circulation plasmatique. (Pérez-Gregorio et *al.*,2020).

## 8. Mode d'action

La phosphorylation de l'ADP est empêchée par certains composés phénoliques dans les huiles essentielles d'agir directement sur les régions hydrophobes des protéines de la membrane phospholipidique comme l'ATPase ou en interférant avec la capacité des protons à se déplacer librement dans la membrane (Gourich et *al.*,2022)

### 9. Toxicité des plantes médicinales

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par :

#### 9.1. La toxicité intrinsèque des constituants :

Les constitutions des plantes médicinales sont des mélanges complexes. Les alcaloïdes, les hétérosides, les stéroïdes et les tanins sont parmi les composés qui composent leur composition souvent mal définie qui ont une activité biologique. Ces derniers composés ont une toxicité intrinsèque à des concentrations particulières, comme tous les produits chimiques bioactifs. (Attard et *al.*,2015).

#### 9.2. L'identification imprécise des composants :

D'après (Mistry et *al.*,2021), Pour un des Constituants actifs de la préparation à base de plantes est inconnu, a le potentiel de causer des conséquences toxiques majeures ou est mal identifier, la préparation pourrait devenir toxique.

**Partie**

**Pratique**

# **Chapitre 01 : Matériel et Méthode**

### 1. Plante

Le partie de la plante utilisé dans la présente étude est représenté par les feuilles de la *Rosmarinus officinalis* L de la région d'El-Hammamet, c'est une commune de la wilaya de Tébessa du Nord-Est de l'Algérie. Les feuilles fraîchement récoltées, ont été séchés pendant 15 jours puis conservés jusqu'à l'extraction.

### 2. Matériel chimique

Le chlorure du nickel ( $\text{NiCl}_2$  ; numéro CAS 7718-54-9), a été acheté auprès de Sigma (St. Louis, MO). Sélénite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) fourni par Sigma-Aldrich (Allemagne). Tous les autres produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique.

### 3. Matériel biologique

Il s'agit des souches de rats *Wistar* Albinos de sexe mâle, et dont le poids se situe entre  $150 \pm 25$  g, ils ont été fournis de centre Pasteur. Les rats obtenus ont été répartis en cinq rats par groupe. Ils ont été soumis à 10 jours d'adaptation dans notre animalerie, dont les conditions d'élevage sont les suivantes : les cages utilisées sont spéciales en polyéthylène tapissés de litière constituée par des copeaux du bois renouvelé chaque jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, équipés par des biberons d'eau et un accès libre à la nourriture, la température de l'animalerie voisine de  $25^\circ\text{C}$ , une photopériode naturelle de 12/12H.

### 4. Méthodes

#### 4.1. Préparation du l'extrait méthanolique du *Rosmarinus officinalis*

L'extraction a été effectuée par la méthode de macération, 10 g de feuilles séchées et broyées de *Rosmarinus officinalis* ont été dissoutes dans 100 ml de méthanol à 99,8 %, à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant trois jours avec évaporation dans l'évaporateur pendant 90 minutes chaque jour pour l'extraction des métabolites actifs. En 4<sup>ème</sup> jour filtration du macérât sur papier Wattman N°1 avant en utilisant l'évaporateur, le solvant s'évapore sous pression à une température de  $50^\circ\text{C}$ . (figure 01). La poudre résultante représente l'extrait méthanolique sec de *Rosmarinus officinalis* et était entreposée à  $4^\circ\text{C}$  dans des flacons en verre teinté avant d'être utilisée.

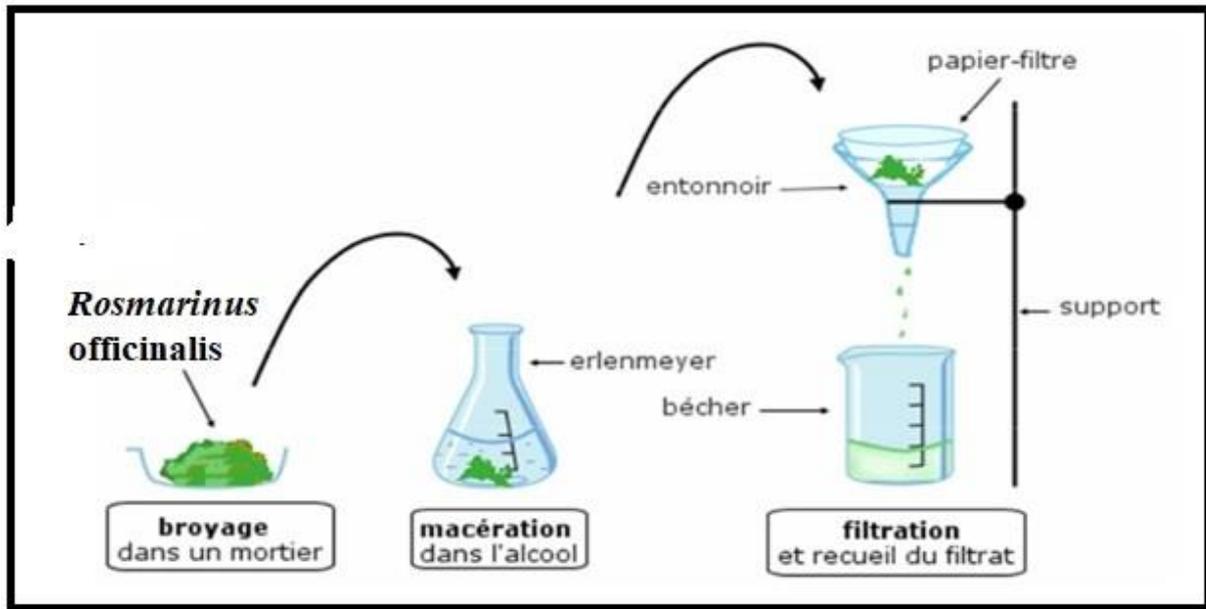


Figure 07. Schéma récapitulatif d'extraction du *Rosmarinus officinalis*



A : Macération



B : Filtration



C : Séparation

Figure 08. Etapes de l'extraction solide liquide

## 4.2. Etude *in vitro*

### 4.2.1. Détermination du Rendement

Le rendement est calculé selon la formule suivant :

$$100 \times \frac{\text{masse de l'extrait après évaporation du solvant}}{\text{masse matière végétale utilisée pour l'extraction}}$$

### 4.2.2 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (Müller et al., 2010).

Le réactif FCR, constitué par ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange ( $W_8O_{23}$ ) et de ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750-765nm.

### 4.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïde total

#### Principe de la réaction :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre  $Al^{+3}$  et les flavonoïdes. La méthode de (Topçu et al., 2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits. On utilise un lecteur Microplaque (**Perkin Elmer, Enspire**) pour mesurer l'absorbance

#### Préparation des solutions :

Pour 1M Potassium acétate ( $CH_3COOK$ ) on dissout 9.80g de ( $CH_3COOK$ ) dans 100ml d'eau distillé pour obtenir la solution  $S_1$

Pour 10% nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_3, 9H_2O$ ) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

#### Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol pour obtenir la solution  $S_2$ .

## 4.3. Évaluation de l'activité Antioxydante

Actuellement une grande diversité des méthodes analytiques est accessible pour évaluer la capacité antioxydante. Dans notre étude, l'activité antioxydante de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L est évaluée par les méthodes : DPPH, ABTS, CUPRAC, activité chélatrice de métal.

### 4.3.1. Test de Piégeage du radical DPPH

Cette technique est réalisée suivant la méthode de « Blois », Afin de tester l'activité antiradicalaire d'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L par l'utilisation du radical

DPPH. Son principe est de donner un atome d'hydrogène au DPPH « Sigma,  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  :MM=394,33 » en présence d'un antioxydant. Dans cette méthode colorimétrique, les antioxydants se comportent comme des donneurs d'atomes d'hydrogène en réduisant le radical libre stable diphénylpicryl-hydrazyl (DPPH) soluble dans le méthanol ou l'éthanol, de couleur violette en forme réduite non radicalaire, diphénylpicryl-hydrazyl (DPPH-H), et de couleur jaune (Blois, 1958) En solution, il présente une absorbance maximale à 517nm ; lors d'une réaction avec un antioxydant, sa réduction se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de (DPPH).

Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6mg de DPPH dans un volume de 100ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à  $-20^{\circ}C$  à l'abri de la lumière. L'absorbance est 517nm dans le spectrophotomètre.

### 4.3.2. Activité de piégeage ABTS

Test ABTS L'activité antiradicalaire a été également évaluée par le test de décoloration du radical cation  $ABTS^{+}$  selon la technique utilisée par (Khan et al.,2012). L'ABTS a été dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7nM. La solution du radical cation  $ABTS^{+}$  a été obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2,45nM. La solution  $ABTS^{+}$  a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de  $0,700 \pm 0,02$  à 734nm avant l'utilisation. Ensuite, 1,5ml de la solution d' $ABTS^{+}$  a été mélangé avec 50  $\mu$ l d'extrait ou de la référence (acide ascorbique) à différentes concentrations (250 - 125 - 62,5 - 31,25 - 15,62 - 7,81 $\mu$ g/ml). Les absorbances sont mesurées à 734nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé et les résultats exprimés en Pourcentage d'Inhibition (PI) et en  $CI_{50}$ .

### 4.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La méthode (d'Apak et al.,2007) a été utilisé avec peu de modifications pour déterminer la capacité de réduction des ions cuivriques ( $Cu^{2+}$ ) des extraits. En bref, 0,25ml (0,01M) de solution de  $CuCl_2$ , 0,25ml ( $7,5 \times 10^{-3}M$ ) de solution de néocuproïne éthanolique et 0,25ml (1M) de tampon  $CH_3COOH_4$  ont été ajoutés à un tube à essai, cela a été suivi par l'ajout de 0,25ml (0,25mg/ml) de l'extrait. Le volume total de réaction était le volume a été ajusté à 2ml

avec de l'eau distillée. Le mélange résultant a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes et l'absorbance a été mesurée à 450nm. Une absorbance accrue indique une capacité de réduction accrue qui est exprimée en équivalent d'acide ascorbique (AAE).

### 4.3.4. Activité chélatrice des métaux

L'activité chélatrice des extraits de  $Fe^{2+}$  a été mesurée à l'aide de Ferrin « Decker et Welch, 1990 » avec une modification. La solution d'extrait (80 $\mu$ L dissous dans de l'éthanol à différentes concentrations) a été ajoutée à 40 $\mu$ L de  $FeCl_2$  0,2mM. La réaction a été initiée par l'ajout de 80 $\mu$ L de ferène à 0,5%. Le mélange est agité vigoureusement et laissé à température ambiante pendant 10min. Après le mélange atteint l'équilibre, l'absorbance a été mesurée à 593nm. L'activité chélatrice a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ de l'activité chélatrice du métal} = [A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Où  $A_{\text{contrôle}}$  est l'absorbance de l'échantillon témoin libre et  $A_{\text{échantillon}}$  est l'absorbance de l'échantillon en présence du chélateur. La concentration de l'extrait fournissant 50% du métal L'activité de chélation ( $CI_{50}$ ) a été calculée à partir du graphique du pourcentage d'effets de chélation de  $Fe^{2+}$  par rapport à la concentration d'extrait. L'EDTA et la quercétine ont été utilisées comme antioxydants la comparaison de l'activité.

## 5. Etude *in vivo*

### 5.1 Protocole expérimental

56 rats ont été répartis en 8 groupes de 7 rats pour chacun, comme suit :

- ❖ Groupe T : Témoin (T) non traités
- ❖ Groupe Ni : Nickel (Ni) traité par chlorure de nickel à la dose de 10mg/kg/jour (Iqbal et al.,2020) par voie orale pendant une durée de 28 jours.
- ❖ Groupe Ro : Extrait (Ex) traité par l'extrait recevant 100mg/kg/jour (Kayashima et al.,2020) par voie orale pendant une durée de 28jours
- ❖ Groupe Se : Rats traités par le Sélénium par voie orale (gavage) la dose 2 mg/kg de poids corporelle. (Zhang et al.,2019)
- ❖ Groupe Ni, Ro : traité par chlorure de nickel à la dose de 10mg/kg/jour, voie orale pendant une durée de 28 jours et l'extrait du *Rosmarinus officinalis* L à la dose de 100 mg/kg/jour.
- ❖ Groupe Ni, Se : mixture (MIX) traité par la mixture de nickel à la dose de 10mg/kg/jour et le Sélénium par voie orale à la dose 2 mg/kg de poids corporelle.

- ❖ Groupe Se, Ro : traité par le Sélénium par voie orale à la dose 2 mg/kg de poids corporelle voie orale et l'extrait du *Rosmarinus officinalis* L à la dose de 100 mg/kg/jour pendant une durée de 28 jours.
- ❖ Groupe Ni, Ro, Se : groupe traité par chlorure de nickel à la dose de 10mg/kg/jour, le Sélénium par voie orale à la dose 2 mg/kg de poids corporelle voie orale et l'extrait du *Rosmarinus officinalis* L à la dose de 100 mg/kg/jour pendant une durée de 28 jours.

Ce traitement s'est poursuivi pendant 28 jours par voie orale pour tous les groupes.

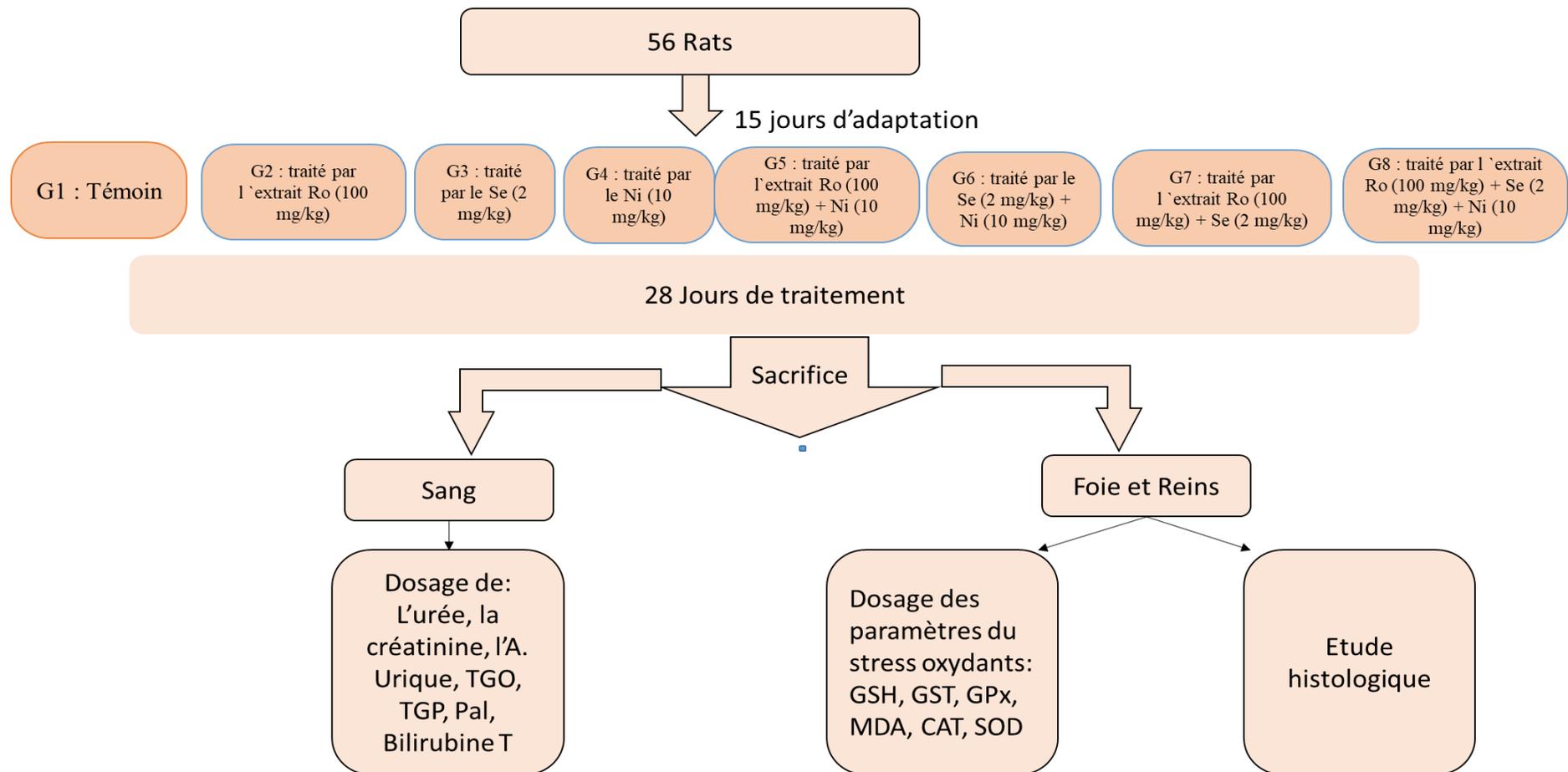


Figure 09. Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude *in vivo*

## 5.2 Prélèvement de sang et des organes

Après 28 jours, les rats ont été sacrifiés et le sang est immédiatement recueilli dans un tube sec polyéthylène étiqueté pour chaque groupe. Ce dernier est centrifugé à 3000t/min pendant 15minutes. Le foie et les reins a été prélevés, rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0.9%, puis pesées. Un fragment du foie et rein de chaque animale ont été conservés dans une solution de formaldéhyde à 30%, jusqu'au moment de faire les coupes histologiques. Le deuxième fragment est maintenu à (-20°C) pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

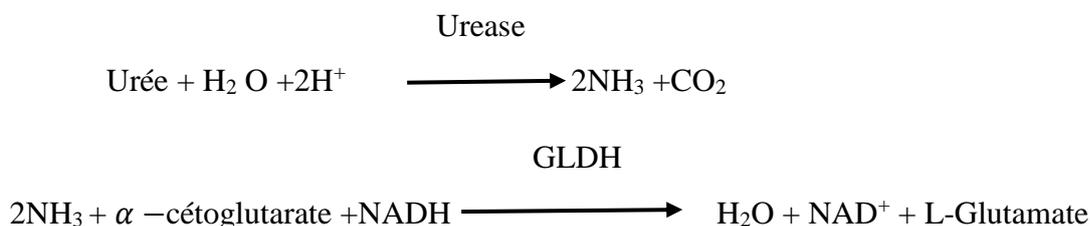
## 5.3 Méthodes de dosage des paramétrés biochimiques

### 5.3.1 Dosage de la créatinine

La créatinine a été déterminée à l'aide de la technique de **Murray (1984)**.

### 5.3.2 Dosage de l'urée

La technique de l'urée a été utilisée pour effectuer le test de l'urée (Kaplan, 1984), avec les réactions suivantes :

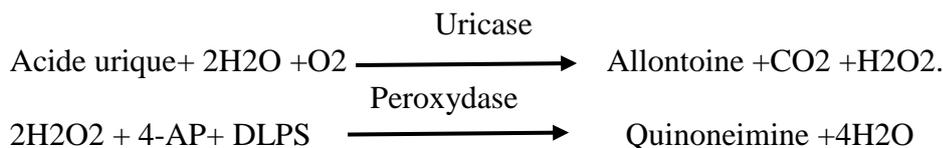


### 5.3.3 Dosage de l'acide urique

Nous avons utilisé des boîtes pour effectuer ce dosage (Spinreact). (**Annex 02**)

#### *Principe*

L'action de l'uricase est l'oxydation de l'acide urique en l'allotoïne et le peroxyde d'hydrogène. Le composant rouge de la quinonéimine est formé par le peroxyde par les actions de POD-4 aminophénazone (4-AP) et 2-4 dichlorophénol sulfate (DLPS).

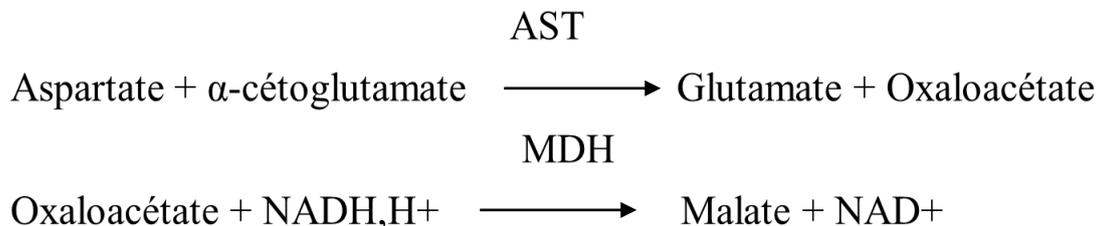


### 5.3.4 Dosage des protéines tissulaires

La concentration des protéines se fait selon la méthode de Bradford (1976).

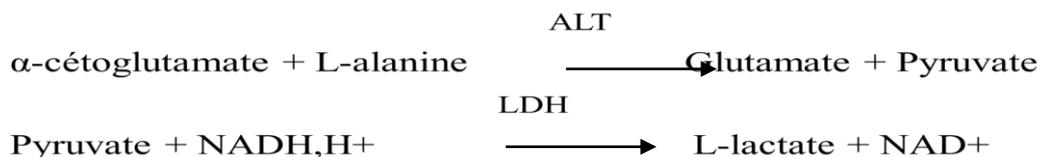
### 5.4.5 Dosage d'Aspartate aminotransférase

Pour effectuer ce dosage, nous avons utilisé la méthode de « Reitman ,1957 ; Murray,1984 »:



### 5.4.6 Dosage d'Alanine aminotransférase

L'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase se fait à l'aide de la technique de Murray (1984). Selon la réaction suivante :



### 5.4.7 Dosage de la phosphatase alcaline

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets (Spinreact). Le phosphate de phosphonitrophényle est hydrolysé par phosphatase alcaline à un pH de 10,4 pour produire du phosphonitrophénol et du phosphate (Rosalki et *al*, 1993). (**Annex 02**), selon la réaction suivante :



### 5.4.8 Dosage de la bilirubine totale

L'approche colorimétrique a été utilisée pour déterminer la quantité de bilirubine (Spinreact). À un pH acide, la bilirubine et l'acide sulfanilique di-azotique se combinent pour

former l'azo-bilirubine. Avec la bilirubine directe (bilirubine conjuguée), cette réaction se produit instantanément ; cependant, avec la bilirubine totale (bilirubine conjuguée), elle doit être solubilisée dans le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) (Malloy *et al*, 1937) (**Annex 02**).

### 5.5. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant

- Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de **Weckbeker et Cory (1988)**.
- L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. En utilisation l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme substrat.
- La mesure de l'activité de GST est déterminée selon la méthode de **Habig et al (1974)**.
- Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode **d'Esterbauer et al (1992)**.
- L'activité enzymatique de la SOD est évaluée selon **Beauchamp et Fridovich (1971)**.
- L'activité enzymatique de la CAT est évaluée selon (**Aebi, 1984**).

### 5.6. Étude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau de l'*Institut Pasteur*, Alger laboratoire d'anatomie pathologie suivant la technique classique de (Houlot. 1984) :

- L'organe du foie et des reins de chaque animal sont retirés de bain alcoolique et sont coupés à l'aide de couteaux tranchant afin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 0,5 à 1 cm<sup>2</sup> et une épaisseur proche de 0.5mm.
- Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

#### **Déshydratation :**

Les tissus doivent ensuite traverser des bains d'alcool à l'éthylène glycol plus concentrés (70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100 %), car les échantillons sont déshydratés pendant 18 heures pour éliminer l'eau dans les tissus. Grâce à des automates spéciaux, la déshydratation peut être accélérée par l'agitation.

#### **L'enrobage et la microtomie :**

Ensuite, les tissus sont immergés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Lorsque les tissus ont été conservés et trempés dans la paraffine, ils passent à la phase de revêtement, qui consiste à mettre le tissu imprégné à l'intérieur d'un bloc de paraffine qui, lorsqu'il se solidifie, permettra de couper le tissu. Cette procédure utilise des dispositifs « station d'enrobage », tels qu'un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée, pour

solidifier rapidement le bloc de paraffine maintenant le tissu à l'intérieur d'un réservoir de paraffine qui est maintenu à l'état liquide par un système de chauffage. Avec des outils spécialisés appelés « Microtomes », des coupes aussi fines que quelques microns (3 µm en moyenne) sont possibles. Ces coupes sont dispersées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées à la lame à l'aide d'eau gélatineuse chaude.

### Coloration

La méthode de coloration de l'hématoxyline-éosine a été utilisée. La coloration suit les étapes suivantes :

- Placer les lames 1 h à l'étuve à 58°C pour une meilleure adhésion des coupes sur les lames.
- Déparaffiner les lames par deux bains de xylène pendant 05 min chacun.
- Réhydrater les lames par trois bains d'alcool / éthanol à degrés croissants (absolu, 96°,90°) pendant 2 min chacun.
- Rincer à l'eau courante.
- Colorer les lames à l'hématoxyline de Harris pendant 45 sec suite rincer les lames à l'eau courante pendant 40 sec (jusqu'à ce que l'eau devienne claire).
- Colorer les lames avec l'éosine à 2% pendant 01 min puis rincer à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau devienne claire.
- Déshydrater les lames dans trois bains d'alcool / éthanol à degré croissants (alcool 90%, éthanol 96%, éthanol absolu) chacun reste 1 min.
- Eclaircir les lames par trois bains de xylène de 2 min chacun, Sécher des lames pendant 10 min à l'étuve ventilée à 58°C.

Ensuite montage des lames et l'élimination des bulles d'air.

### 5.5. Analyse statistique

L'analyse statistique est effectuée une analyse de la variance (ANOVA) :  $p < 0,05$  est considéré comme significatif., une analyse par des méthodes non paramétriques grâce au logiciel GraphPad prism 8.1. La comparaison entre les moyennes est réalisée à l'aide du test « Tukey post hoc test.

## **Chapitre 02 : Résultats**

## Résultats

### 1. Étude phytochimique de la plante *Rosmarinus officinalis* L

#### 1.1. Rendement d'extraction des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L

L'extrait méthanolique a été préparé à partir des feuilles sèches de *Rosmarinus officinalis* dont le rendement est présenté dans le Tableau 05.

**Tableau 05** : Rendement d'extraction Méthanolique des feuilles de *Rosmarinus officinalis*

| <i>Rosmarinus officinalis</i> | Poids du matériel végétal (g) | Poids d'extrait sec (g) | Rendement (%) |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------|
|                               | 100                           | 18,76                   | 18,76         |

Le rendement est exprimé en pourcentage, a été déterminé par rapport à 100 g des feuilles sèches de la plante et a donnée 18,76 %.

#### 1.2. Analyse quantitative des Flavonoïdes totaux et les Polyphénols totaux

##### 1.2.1. Teneur en Polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux de l'extrait méthanolique de Ro a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations (**Annexe 01, figure 01**). La quantité des phénols totaux dans l'extrait est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans (**le tableau 06**). Ces résultats révèlent une teneur en polyphénols équivalente de  $27,66 \pm 0,04$  mg EAG/g d'extrait.

##### 1.2.2. Teneur en flavonoïdes

La quantité de flavonoïdes dans l'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la quercétine comme un standard à différentes concentrations (**Annexe 01, figure 02**). La teneur en flavonoïdes (**le tableau 06**) est exprimée en milligramme équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Les résultats obtenus montrent que l'extrait renferme une quantité de flavonoïdes égale à  $8,47 \pm 0,05$  mg EQ/g d'extrait.

## RESULTATS

**Tableau 06** : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes l'extrait de *Rosmarinus officinalis*(1mg/ml)

| Extrait composés                         | Polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait) | Flavonoïdes totaux (mg QE/g d'extrait) |
|--|---|--|
| Extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> | 27,66±0,04                              | 8,47±0,05                              |

- Teneur en Polyphénols totaux a exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L.
- Teneur en Flavonoïdes totaux a exprimées en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L.

### 1.3. Activité antioxydante de l'extrait du *Rosmarinus officinalis*

L'analyse des résultats de l'activité chélatrice du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), de l'extrait de Ro révèle un fort pourcentage équivalent à  $63.56 \pm 0.97$ , si on le compare avec le chélateur des métaux (EDTA). L'étude de l'activité antioxydante a montré que notre extrait présente une activité importante de piégeage des radicaux DPPH, une quantité de  $24,69 \pm 0,31$   $\mu$ g capable d'inhiber 50% des radicaux DPPH (**tableau 07**). En plus le résultat du test ABTS des feuilles d'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*, a dévoilé une forte activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique ( $CI_{50} = 22,34$   $\mu$ g/ml), et ceci en se référant aux antioxydants synthétiques, le BHA ( $CI_{50} = 11.82$   $\mu$ g/ml), et le BHT ( $CI_{50} = 10.38$   $\mu$ g/ml). Par contre, une activité moins que  $\alpha$ -Tocophérol ( $CI_{50} = 38,51$   $\mu$ g/ml).

**Tableau 07** : Détermination de l'activité chélatrice des métaux et de l'activité antioxydante de l'extrait du *Rosmarinus officinalis* par différentes méthodes.

|                                       | ABTS ( $\mu$ g/ml) | DPPH ( $\mu$ g/ml) | CUPRAC ( $\mu$ g/ml) | Métal chélation ( $\mu$ g/ml) |
|---------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------------------|
| <b>Extrait RO</b>                     | 22,34±0,94         | 24,69±0,31         | 15.08±0.85           | 63.56±0.97                    |
| <b>BHA</b>                            | 11,82±0,09         | 13,74±0,15         | 24,40±0,69           | Non Étudié                    |
| <b>BHT</b>                            | 10,38±0,59         | 11,56±0,25         | 3.64±0.11            | Non Étudié                    |
| <b><math>\alpha</math>-Tocophérol</b> | 38,51±0,54         | 27,79±0,15         | 66,72±0,81           | Non Étudié                    |
| <b>EDTA</b>                           | Non Étudié         | Non Étudié         | Non Étudié           | 95,20±0,13                    |

## 2. Effet du traitement sur la fonction rénale

**2.1. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques sanguins : urée, créatinine et acide urique**

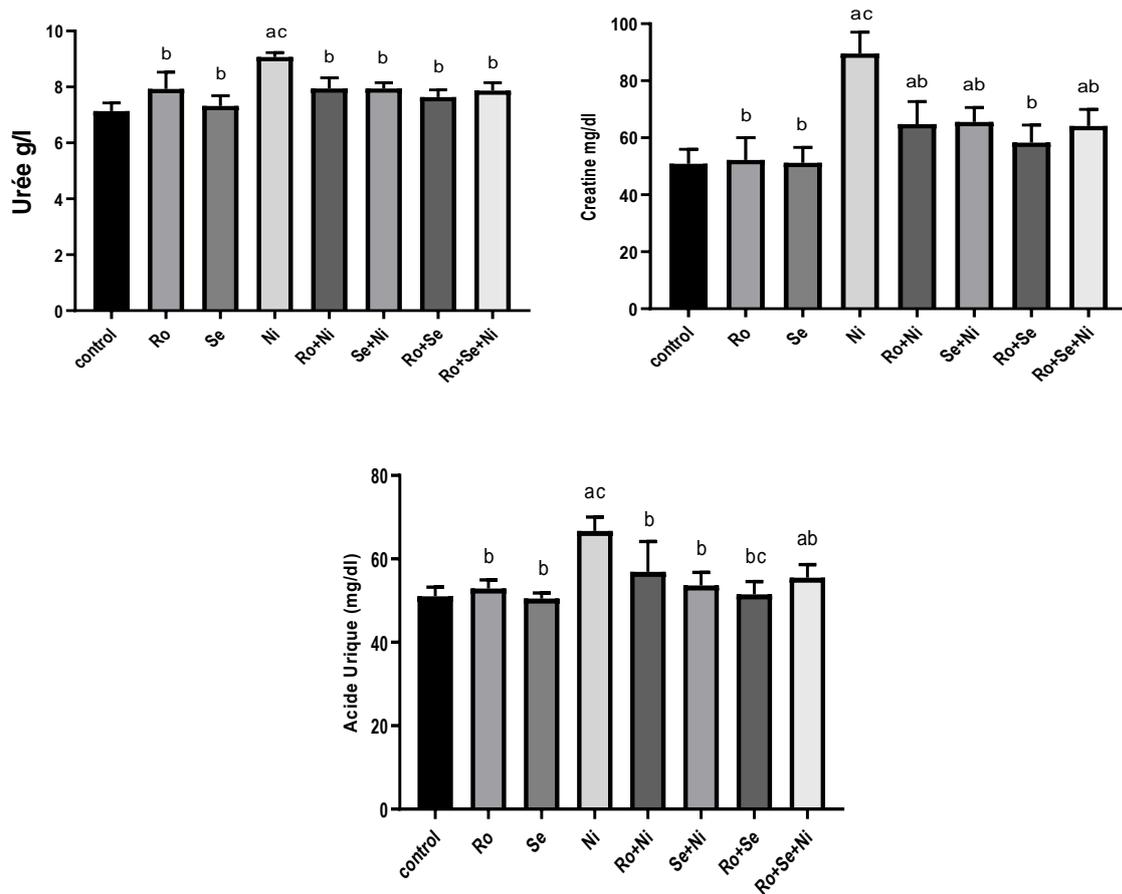
Nous résultats montrent une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de la concentration sérique de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique chez le groupe exposé au nickel par rapport au témoin (**Tableau 8, figures 11**).

Chez les groupes exposés au nickel et traités par le sélénium et/ou l'extrait de Ro, nos résultats indiquent une réduction de la concentration sérique de l'urée de la créatinine et de l'acide urique avec une différence hautement significative ( $p < 0.01$ ) pour les groupes (Se+Ni), (Ro+Se+Ni) et significative ( $p < 0.05$ ) pour le groupe (Ro+Ni) par rapport au groupe exposé au nickel (Ni).

**Tableau 08 :** Variation des concentrations sériques de l'urée, la créatinine et de l'acide urique chez les rats témoins et traité après 28 jours de traitement.

|          | Urée (mmol/l)                  | Créatinine ( $\mu\text{mol/l}$ ) | A. Urique ( $\mu\text{mol/l}$ ) |
|----------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Témoin   | 7,10 $\pm$ 0,21                | 49,81 $\pm$ 5,07                 | 50,12 $\pm$ 4,96                |
| Ro       | 7,59 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>   | 46,93 $\pm$ 4,90 <sup>b</sup>    | 52,38 $\pm$ 3,18 <sup>b</sup>   |
| Se       | 7,37 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>   | 50,52 $\pm$ 1,30 <sup>b</sup>    | 51,39 $\pm$ 3,34 <sup>b</sup>   |
| Ni       | 9,08 $\pm$ 0,32 <sup>a,c</sup> | 66,55 $\pm$ 2,33 <sup>a,c</sup>  | 69,50 $\pm$ 4,75 <sup>a,c</sup> |
| Ro+Ni    | 7,40 $\pm$ 0,34 <sup>b</sup>   | 42,64 $\pm$ 4,96 <sup>b</sup>    | 56,87 $\pm$ 4,64 <sup>a,b</sup> |
| Se+Ni    | 7,05 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>   | 53,63 $\pm$ 3,16 <sup>b</sup>    | 66,37 $\pm$ 3,88 <sup>a,b</sup> |
| Ro+Se    | 7,63 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>   | 51,53 $\pm$ 3,04 <sup>b,c</sup>  | 58,29 $\pm$ 3,90 <sup>b</sup>   |
| Ro+Se+Ni | 7,69 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>   | 55,93 $\pm$ 3,11 <sup>a,b</sup>  | 64,16 $\pm$ 3,66 <sup>a,b</sup> |

(a) Différence par rapport au témoin. (c) différence par rapport au groupe mixture. (b) différence par rapport au groupe Nickel ( $P \leq 0,05$ )



**Figure 11.** Variation des concentrations sériques de l'urée, la créatinine et l'acide urique chez les rats témoins et traités après 28 jours du traitement.

**2.2. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant du tissu rénal**

L'exposition des rats au chlorure du nickel a provoqué un état du stress oxydant qui se manifeste par diminution de la défense enzymatique tissulaire (GPx, GST, CAT, SOD), non enzymatique (GSH), avec augmentation de la peroxydation lipidique (MDA) (**Tableau 09, figures ; 12,13,14,15,16,17,18**)

**Tableau 09 :** Variation de la teneur du tissu rénal en glutathion réduit, en Malondialdéhyde et l'activité enzymatique de GPx, GST, CAT et SOD chez rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

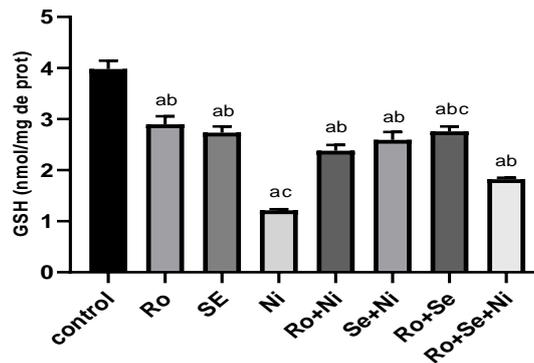
|          | GSH<br>(nmol/mg)  | GST<br>(nmol/min/mg) | CAT<br>(nmol/min/mg) | MDA<br>(nmol/mg)  | GPx ( $\mu$ mol<br>GSH/mg) | SOD<br>(IU/mg)   |
|----------|-------------------|----------------------|----------------------|-------------------|----------------------------|------------------|
| Témoin   | 3.982 $\pm$ 0.11  | 5.016 $\pm$ 0.11     | 1.639 $\pm$ 0.06     | 9.426 $\pm$ 0.07  | 0.527 $\pm$ 0.06           | 47.53 $\pm$ 1.01 |
| Ro       | 2.897 $\pm$ 0.15  | 5.747 $\pm$ 0.06     | 1.511 $\pm$ 0.02     | 8.07 $\pm$ 0.05   | 0.598 $\pm$ 0.02           | 47.34 $\pm$ 0.45 |
| Se       | 2.736 $\pm$ 0.12  | 5.132 $\pm$ 0.06     | 1.424 $\pm$ 0.07     | 9.954 $\pm$ 0.35  | 0.394 $\pm$ 0.02           | 43.89 $\pm$ 0.75 |
| Ni       | 1.216 $\pm$ 0.017 | 9.785 $\pm$ 0.06     | 0.455 $\pm$ 0.03     | 21.11 $\pm$ 0.13  | 0.137 $\pm$ 0.01           | 32.56 $\pm$ 1.01 |
| Ro+Ni    | 2.380 $\pm$ 0.11  | 6.001 $\pm$ 0.12     | 1.110 $\pm$ 0.06     | 12.670 $\pm$ 0.08 | 0.492 $\pm$ 0.03           | 40.76 $\pm$ 0.30 |
| Se+Ni    | 2.594 $\pm$ 0.15  | 5.994 $\pm$ 0.13     | 1.279 $\pm$ 0.05     | 11.67 $\pm$ 0.03  | 0.397 $\pm$ 0.03           | 41.63 $\pm$ 0.64 |
| Ro+Se    | 2.759 $\pm$ 0.09  | 4.721 $\pm$ 0.21     | 1.426 $\pm$ 0.04     | 9.972 $\pm$ 0.13  | 0.473 $\pm$ 0.01           | 43.73 $\pm$ 0.93 |
| Ro+Se+Ni | 1.824 $\pm$ 0.02  | 5.871 $\pm$ 0.05     | 1.143 $\pm$ 0.05     | 14.30 $\pm$ 0.13  | 0.301 $\pm$ 0.03           | 40.02 $\pm$ 0.30 |

### 2.2.1. Glutathion réduit (GSH)

Le traitement des rats par le chlorure du nickel, à une dose de 10 mg/kg du poids corporel pendant 28 jours, a provoqué une diminution très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de la teneur du tissu rénal en glutathion réduit, et hautement significative ( $P \leq 0,01$ ), chez les rats traités par la combinaison (Ro+Ni) et (Se+Ni) par rapport aux témoins (figure 12, tableau 09).

En plus, les rats traités par l'extrait de Ro, sélénium et la combinaison extrait et sélénium (Ro + Se), montrent une variation significative ( $P \leq 0,01$ ) du taux de GSH comparativement au groupe témoin.

En revanche, chez le groupe traité par la combinaison (Ro+Se+Ni), existe une différence hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de la teneur du tissu rénal en GSH comparativement aux rats traités par le nickel. il existe une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) chez le groupe traité par la combinaison (Ro+Ni) et (Ni+Se) par rapport au groupe traité par le nickel

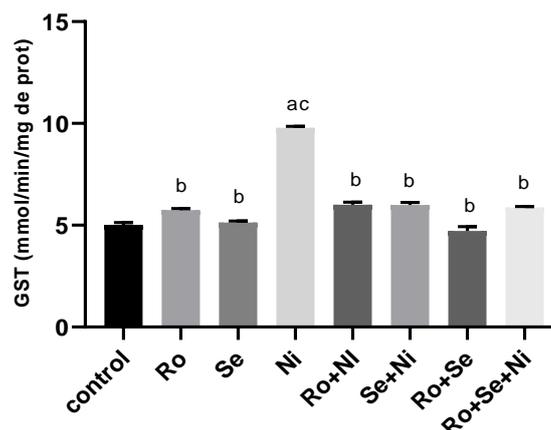


**Figure 12.** Variation de la teneur du tissu rénal en glutathion réduit chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 2.2.2. Glutathion -S-transférase (GST)

L'administration du nickel par voie orale pendant 28 jours chez les rats a induit une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) rénale par rapport aux rats témoins. Tandis que, nous n'avons enregistré aucun changement significatif de cette activité chez les rats traités par ; la combinaison (Ro+Se+Ni); le sélénite de sodium (Se) et l'extrait seul (Ro) comparés aux rats témoins.

D'après nos résultats, on constate que les rats des groupes traités par les combinaisons (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni), présentent une diminution de l'activité de la GST rénale avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) par rapport au groupe des rats traités par le nickel (Ni) (Tableau 09, figure 13).

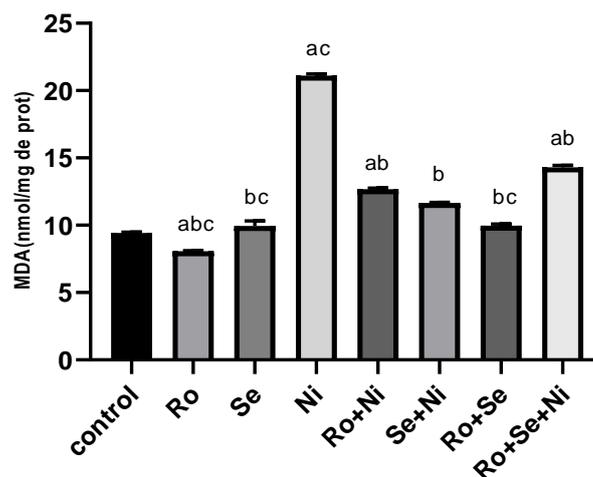


**Figure 13.** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase rénale chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement

**2.2.3. Malon dialdéhyde (MDA)**

D'après les résultats obtenus on constate une augmentation avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de la concentration du Malon dialdéhyde dans le tissu rénal chez les rats traités par le nickel (Ni), significative ( $p \leq 0,05$ ), chez le groupe traité par la combinaison (Ro+Ni), et hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez le groupe traité par (Ro+Se+Ni) par rapport aux rats témoins. Tandis que les rats traités par l'extrait (Ro), le sélénium seul (Se) et la combinaison (Ro+Se), ne montrent aucune variation significative du taux de MDA en comparaison avec le groupe témoin.

Par ailleurs, la comparaison avec le groupe exposé au nickel (Ni), montre une diminution du MDA rénal avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ), chez le groupe des rats traités avec les combinaisons (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se), hautement significative ( $P \leq 0,01$ ), chez le groupe des rats traités par la combinaison (Ro+Se+Ni). (**Tableau 09, figure 14**).



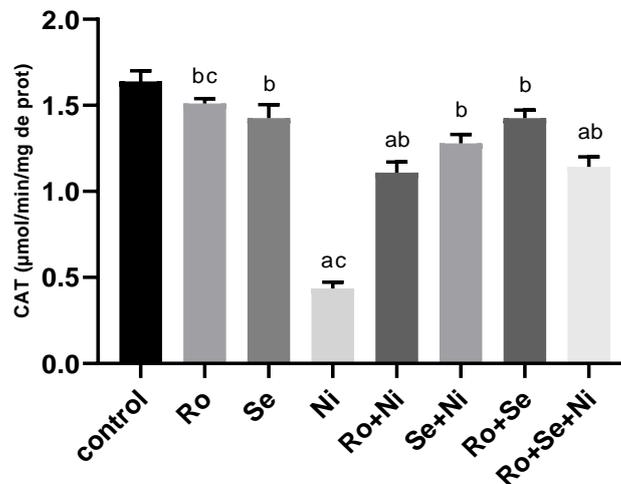
**Figure 14.** Variation de la concentration du Malon dialdéhyde dans le tissu rénal (nmol/mg prot) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

**2.2.4. Catalase (CAT)**

Concernant l'effet oxydatif du nickel, nos résultats indiquent une diminution de l'activité enzymatique de la catalase dans le tissu rénal avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ), chez les rats exposés au nickel par rapport aux témoins.

Cependant, la comparaison des groupes traités (Ro), (Se), (Ro+Se), (Ni +Se), (Ro+Ni) et (Ro+Se+Ni) avec le groupe exposé au nickel (Ni), a démontré une augmentation de l'activité

de la catalase rénale avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) (**Tableau 09, figure 15**).

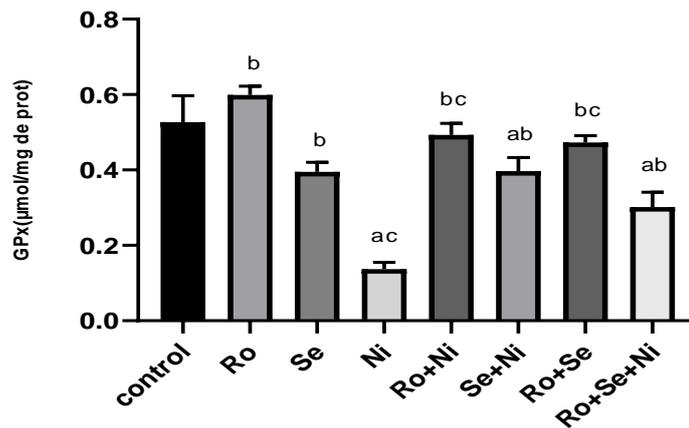


**Figure 15.** Variation de l'activité enzymatique de la catalase rénale ( $\mu\text{mol}/\text{mg prot}$ ) chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement

### 2.2.5. Glutathion Peroxydase (GPx)

D'après les résultats obtenus on constate que le traitement des rats par le chlorure de nickel a provoqué une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) par rapport aux rats témoins. Une diminution hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de l'activité de la GPx a été enregistré chez les rats traités par la combinaison (Ro+Se+Ni), significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats traités par la combinaison (Se+Ni) comparés au groupe témoin. Aucune différence significative de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) n'a été enregistré chez les rats traités ; par le Se uniquement et l'extrait Ro par rapport aux témoins.

Alors que, nos résultats ont révélé une augmentation de l'activité enzymatique de la GPx rénale avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ), chez les groupes (Ro+Ni) et (Se+Ni), et hautement significative ( $P \leq 0,01$ ), chez les groupes (Ro+Se+Ni) et (Ro+Se), comparés au groupe traité par le nickel (Ni) (**Tableau 09, figure 16**).

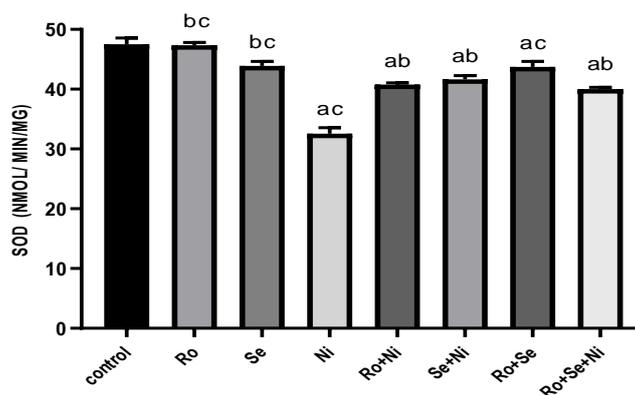


**Figure 16.** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement

### 2.2.6. Super Oxyde Dismutase (SOD)

L'évaluation de l'activité enzymatique de la SOD a montré une diminution hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) chez le groupe traité par le nickel (Ni), significative ( $p \leq 0,05$ ), chez les groupes traités par (Ro+Ni), (Se+Ni), (Ro+Se) et (Ro+Se+Ni) par rapport aux témoins. En revanche, aucune différence significative n'a été observée chez le groupe (Ro) et (Se) comparés au témoin.

D'après nos résultats, nous avons enregistré une augmentation avec une différence hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez le groupe traité par la combinaison (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se) et une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) par rapport au groupe traité par nickel (Tableau 09, figure 17).



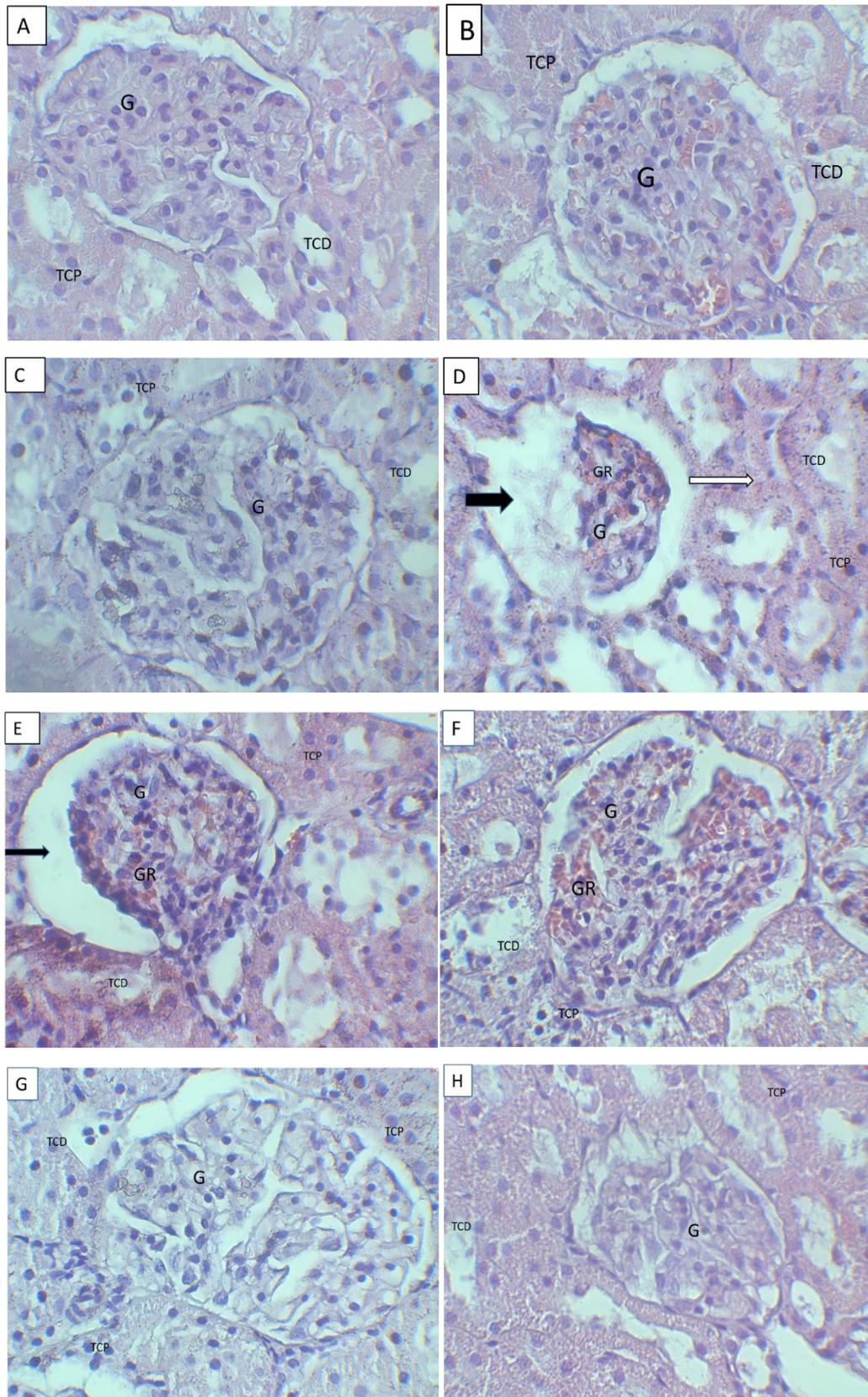
**Figure 17.** Variation de l'activité enzymatique de la Superoxyde Dismutase (nmol/mg prot) chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 2.3. Effet du traitement sur l'histologie des reins

Les glomérules du cortex rénal du rein témoin avaient une taille uniforme et une membrane clairement définie.

Les rats du groupe traités avaient une architecture du cortex rénal significativement différente, avec la plupart des foyers hémorragiques glomérules nécrotiques, des tissus interstitiels et une nécrose du tube rénal.

Les glomérules sont plus gros et moins arrondis dans les groupes de nickel, traités au sélénium et/ou à l'extrait de *Rosmarinus officinalis* (dilaté). Contrairement à ce qui a été montré dans le groupe contaminé au nickel, l'architecture du cortex rénal est encore plus intacte malgré les changements observés dans les lots les plus récents.



**Figure 18.** Coupes histologiques du rein de rat témoin (A), rat traité par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* (B), rat traité par le sélénium (C), rat traité par le nickel (D), rat traité par la combinaison (Ro+Ni) (E), rat traité par la combinaison (Se+Ni) (F), rat traité par la combinaison (Ro+Se) (G) et rat traité par la combinaison (Ro+Se+Ni) (H). Hématoxyline- Eosine, Gr : x 400.

G : glomérule, GR : globules rouges, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal

Les flèches indiquent :  $\Rightarrow$  nécrose des cellules épithéliales des tubules proximaux,  $\blackrightarrow$  nécrose glomérulaire

### 3. Effet du traitement sur de la fonction hépatique

#### 3.1.Effet du traitement sur les paramètres sanguins

Concernant les activités enzymatiques, nos résultats montrent une augmentation avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase (ALT), de l'aspartate aminotransférase (AST) et de la phosphatase alcaline (PAL) chez le groupe exposé au nickel par rapport au témoin (**tableau 10, figures 19**).

Pour les différents traitements combinés au nickel, nous constatons une diminution hautement significative des activités enzymatiques de l'ALT et de la PAL ( $p \leq 0.01$ ), chez les groupes (Ro+Ni) (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni) en comparaison avec le groupe traité par le nickel (Ni). Tandis que l'activité enzymatique de l'AST montre une diminution hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) chez les groupes (Ro+Ni) (Se+Ni) et très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez le groupe (Ro+Se+Ni) par rapport au groupe exposé au nickel (Ni).

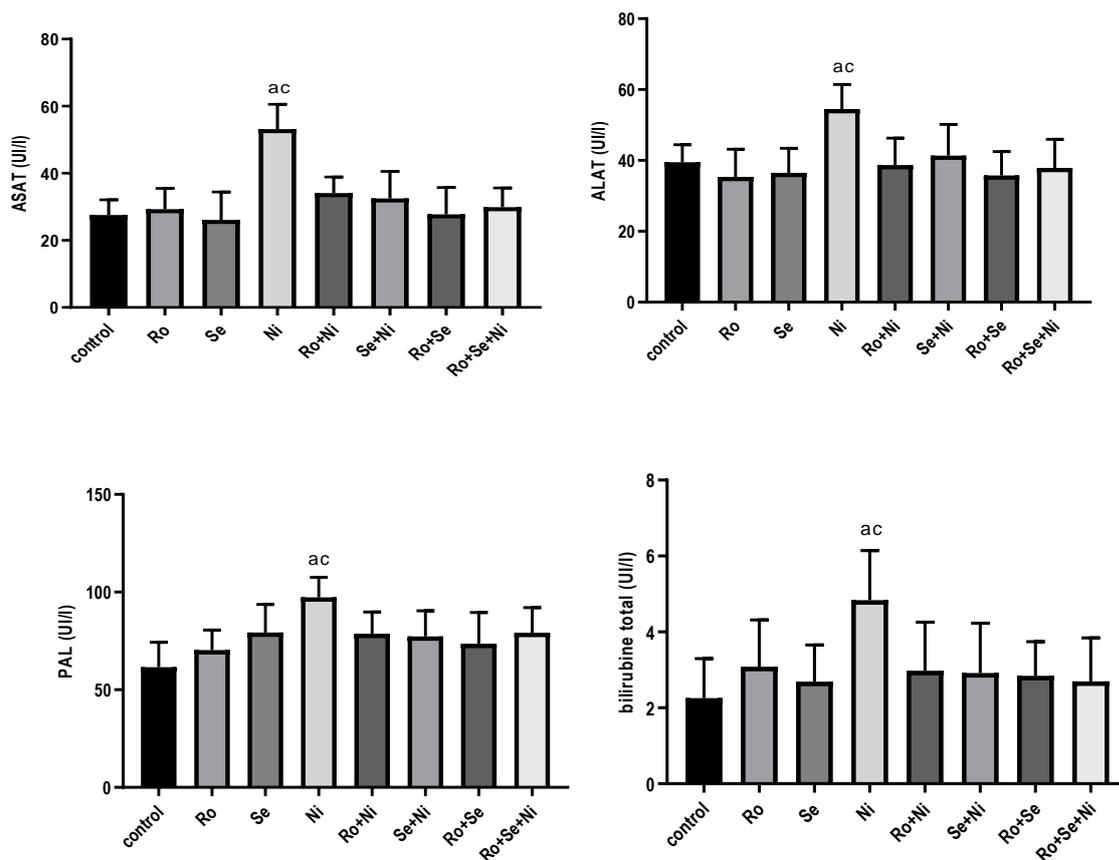
Nos résultats montrent aussi une élévation très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) de la concentration sérique de la bilirubine totale chez le groupe exposé au nickel en comparaison avec le témoin. Cependant, nous constatons une diminution claire de la concentration de la bilirubine totale avec une différence hautement significative ( $p \leq 0.01$ ), chez le groupe (Ro+Se+Ni), significative ( $p \leq 0.05$ ), chez les groupes (Ro+Ni) et (Se+Ni), par rapport au groupe exposé au nickel (Ni) (**Tableau 10, figure 19**).

**Tableau 10** : Variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la phosphatase alcaline, et de la concentration sérique de la bilirubine totale, chez les groupes témoins et traités après 28 jours de traitement

|          | AST (U/L)                 | ALT(U/L)                  | PAL(U/L)                  | Bilirubine Totale (mg/l) |
|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Témoin   | 27,61±2,86                | 39,47±3,13                | 61,52±8,11                | 2,47±0,66                |
| Ro       | 30,08±4,67 <sup>b</sup>   | 35,38±4,90 <sup>b</sup>   | 70,08±6,71 <sup>b</sup>   | 3,04±0,82 <sup>b</sup>   |
| Se       | 26,09±5,27 <sup>b</sup>   | 36,47±4,40 <sup>b</sup>   | 73,36±9,10 <sup>b</sup>   | 2,69±0,61 <sup>b</sup>   |
| Ni       | 53,17±4,67 <sup>a,c</sup> | 56,51±3,32 <sup>a,c</sup> | 97,33±6,43 <sup>a,c</sup> | 4,77±0,63 <sup>a,c</sup> |
| Ro+Ni    | 34,11±3,01 <sup>a,b</sup> | 38,72±4,78 <sup>b</sup>   | 78,69±7,01 <sup>a,b</sup> | 2,97±0,83 <sup>b</sup>   |
| Se+Ni    | 32,52±5,49 <sup>a,b</sup> | 41,36±5,16                | 76,35±9,30                | 2,91±0,72 <sup>b</sup>   |
| Ro+Se    | 28,38±4,55 <sup>b</sup>   | 35,73±4,26 <sup>b</sup>   | 69,71±9,14 <sup>b</sup>   | 2,84±0,57 <sup>b</sup>   |
| Ro+Se+Ni | 29,56±3,61 <sup>b</sup>   | 37,92±5,10 <sup>b</sup>   | 79,18±8,13 <sup>a,b</sup> | 2,69±0,70 <sup>b</sup>   |

(a) différence par rapport au témoin. (c) différence par rapport au groupe mixture. (b) différence par rapport au groupe Nickel ( $P \leq 0,05$ ).

(b)



**Figure 19.** Variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la phosphatase alcaline, et de la concentration sérique de la bilirubine totale, chez les groupes témoin et traités après 28 jours de traitement

### 3.2.Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant du tissu hépatique

L'étude des résultats des paramètres de la défense antioxydante ainsi que la peroxydation des lipides a montré que le nickel a provoqué un état du stress oxydatif sévère au niveau du tissu hépatique et qui se manifeste par une diminution de la teneur du tissu en glutathion réduit, diminution de l'activité des enzymes anti oxydantes avec une augmentation de la concentration d'un marqueur de la peroxydation des lipides qui est le Malon dialdéhyde. La supplémentation du RO et / ou le sélénium a diminué significativement l'état du stress oxydant (tableau 11, figures 20,21,22,23,24,25).

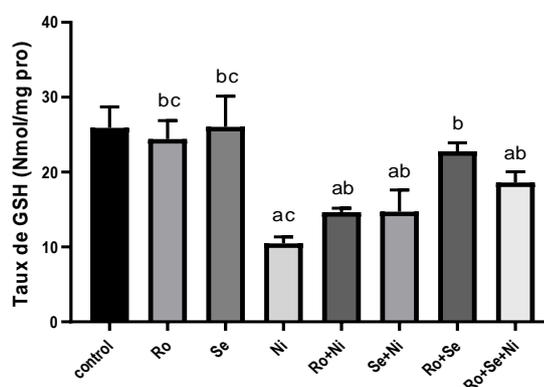
**Tableau 11** : Variation de la teneur du tissu hépatique en glutathion réduit, en Malondialdéhyde et l'activité enzymatique de GPx, GST, CAT et SOD chez rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

|          | GSH<br>(nmol/mg p) | GST<br>(nmol/min/mgP) | CAT<br>(nmol/min/mgP) | MDA<br>(nmol/mgP) | GPx ( $\mu$ mol<br>GSH/mgP) | SOD<br>(IU/mgP)  |
|----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------------|------------------|
| Témoin   | 25.93 $\pm$ 2.79   | 18.21 $\pm$ 0.41      | 5.692 $\pm$ 0.46      | 10.18 $\pm$ 0.78  | 1.874 $\pm$ 0.11            | 9.165 $\pm$ 0.34 |
| Ro       | 24.41 $\pm$ 2.48   | 16.60 $\pm$ 0.40      | 4.838 $\pm$ 0.39      | 11.79 $\pm$ 0.94  | 1.722 $\pm$ 0.24            | 9.929 $\pm$ 0.08 |
| Se       | 26.06 $\pm$ 4.08   | 15.46 $\pm$ 0.31      | 4.382 $\pm$ 0.19      | 11.81 $\pm$ 1.12  | 1.499 $\pm$ 0.13            | 8.113 $\pm$ 0.13 |
| Ni       | 10.48 $\pm$ 0.87   | 8.74 $\pm$ 0.19       | 2.106 $\pm$ 0.17      | 18.58 $\pm$ 0.23  | 0.481 $\pm$ 0.06            | 3.115 $\pm$ 0.18 |
| Ro+Ni    | 14.64 $\pm$ 0.55   | 12.34 $\pm$ 0.26      | 3.987 $\pm$ 0.27      | 13.76 $\pm$ 1.07  | 1.365 $\pm$ 0.08            | 6.158 $\pm$ 0.25 |
| Se+Ni    | 14.72 $\pm$ 2.90   | 11.65 $\pm$ 0.26      | 3.689 $\pm$ 0.29      | 13.91 $\pm$ 0.12  | 1.321 $\pm$ 0.08            | 5.775 $\pm$ 0.21 |
| Ro+Se    | 22.79 $\pm$ 1.12   | 15.17 $\pm$ 0.27      | 4.727 $\pm$ 0.29      | 10.44 $\pm$ 0.09  | 1.866 $\pm$ 0.08            | 8.432 $\pm$ 0.31 |
| Ro+Se+Ni | 18.61 $\pm$ 1.43   | 11.47 $\pm$ 0.26      | 3.981 $\pm$ 0.17      | 14.70 $\pm$ 0.15  | 1.475 $\pm$ 0.09            | 6.022 $\pm$ 0.22 |

### 3.2.1. Glutathion réduit (GSH)

L'analyse de la concentration tissulaire en glutathion réduit, montre une diminution avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez le groupe traité par le Nickel, hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) chez les groupes (Ro+Ni), (Se+Ni), (Ro+Se+Ni) comparés au groupe témoin.

Alors que la comparaison avec le groupe traité par le nickel (Ni), montre une augmentation avec une différence hautement significative ( $p \leq 0.01$ ), de la teneur du tissu hépatique en GSH, chez le groupe (Ro+Se+Ni), et significative ( $p \leq 0.05$ ) chez les groupes (Ro+Ni) et (Se+Ni) (**Tableau 11, figure 20**).

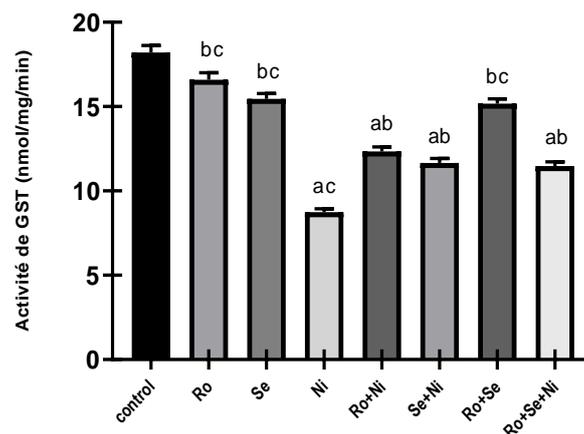


**Figure 20.** Variation de la teneur du tissu hépatique en glutathion réduit chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 3.2.2. Glutathion -S-transférase (GST)

L'administration du nickel par voie orale pendant 28 jours chez les rats induit une diminution très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) par rapport aux rats témoins. Alors que, nous n'avons enregistré aucune différence significative chez les rats traités par ; l'extrait de Ro seul et le Se seul. En revanche, une diminution hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez les groupes (Ro+Ni), (Se+Ni) et la mixture (Ro+Se+Ni) comparés aux rats témoins.

Selon nos résultats, une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) a été enregistré avec une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) chez le groupe (Ro+Ni), (Se+Ni) et la combinaison (Ro+Se+Ni), et hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez le groupe (Ro+Se) par rapport les rats traités par le Nickel. (**Tableau 11, figure 20**).



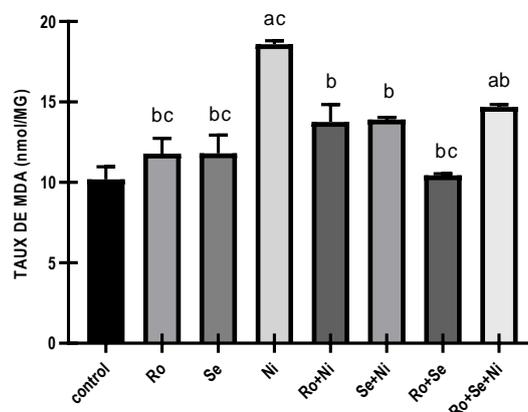
**Figure 21.** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement

### 3.2.3. Malon dialdéhyde (MDA)

D'après les résultats obtenus on observe une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de la teneur du tissu hépatique en malon dialdéhyde chez les rats traités par le nickel et significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats de la combinaison (Ro+Se+Ni), par rapport aux rats témoins.

Tandis que les rats traités par l'extrait de Ro, le sélénium seul et les combinaisons (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se) ne montrent aucune différence significative du taux de MDA en comparaison avec le groupe témoin. Alors que, la comparaison avec le groupe des rats traités

par le nickel montre une diminution de la concentration en MDA avec une différence hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez le groupe de la combinaison (Ro+Se+Ni), significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats de la (Ro+Ni) (Se+Ni) (**Tableau 11, figure 21**).

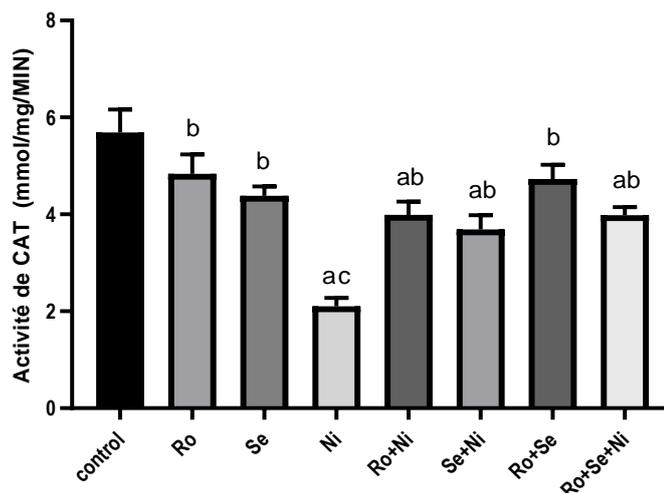


**Figure 22.** Variation de la concentration du malon dialdéhyde dans le tissu hépatique chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 3.2.4. Catalase (CAT)

L'analyse des résultats indiquent que l'activité de la catalase a été diminuée avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) chez les rats exposés au nickel (Ni), hautement significative ( $P \leq 0.01$ ) chez les groupes (Ro+Ni), (Se+Ni) et la mixture (Ro+Se+Ni), et aucune différence significative chez les groupes (Ro) et (Se) par rapport aux témoins.

Nous avons constaté une augmentation de l'activité de la catalase avec une différence hautement significative ( $P \leq 0.01$ ), chez les groupes (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni), très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ), chez le groupe (Ro+Se) comparés au groupe traité par le nickel (Ni) (**Tableau 11, figure 22**).

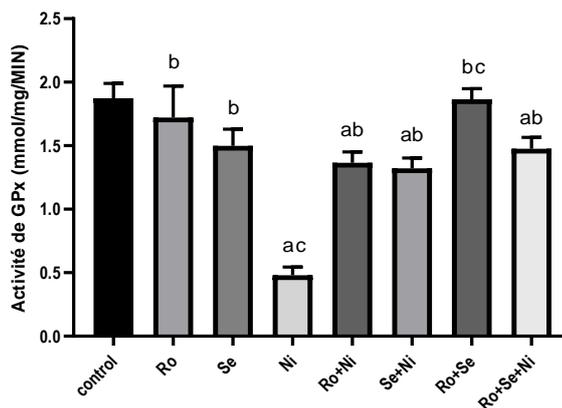


**Figure 23.** Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 3.2.5. Glutathion Peroxydase (GPx)

L'étude de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans le tissu hépatique a montré une diminution avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ), chez le groupe traité par le nickel (Ni), et significative ( $P \leq 0,01$ ) chez les groupes traités par les combinaisons (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni) par rapport au témoin. En revanche, nous n'avons enregistré aucune différence significative de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) chez les rats traités par le sélénium (Se), et par l'extrait du *Rosmarinus officinalis* (Ro) par rapport aux témoins.

La comparaison avec le groupe des rats traités par le nickel (Ni), a révélé une augmentation avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de l'activité GPx, chez le groupe (Ro+Se) et hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez les groupes des combinaisons (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni) (**Tableau 11, figure 23**).

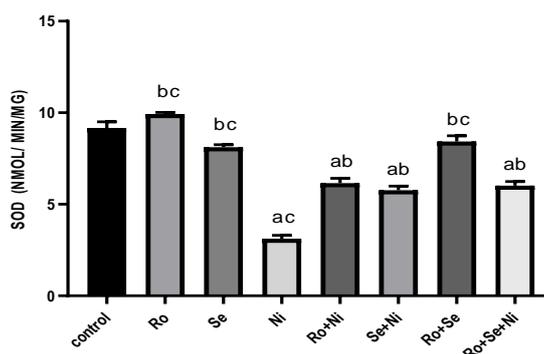


**Figure 24.** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

### 3.2.6. Super Oxyde Dismutase (SOD)

L'évaluation de l'activité enzymatique de la SOD a montré une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) chez les groupes des rats traités par le nickel (Ni), significative ( $p \leq 0,05$ ), chez les groupes (Se+Ni), (Ro+Se) et (Ro+Se+Ni) par rapport aux témoins. Néanmoins aucune différence significative n'a été enregistré chez les groupes (Ro), (Se) et (Ro+Se) comparés au témoin.

Une augmentation avec une différence hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) de l'activité enzymatique de la SOD a été enregistré chez les groupes (Ro+Ni), (Se+Ni) et (Ro+Se+Ni) et très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) chez les rats des groupes (Ro), (Se) et (Ro+Se) par rapport au groupe traité par nickel (**Tableau 11, figure 25**).



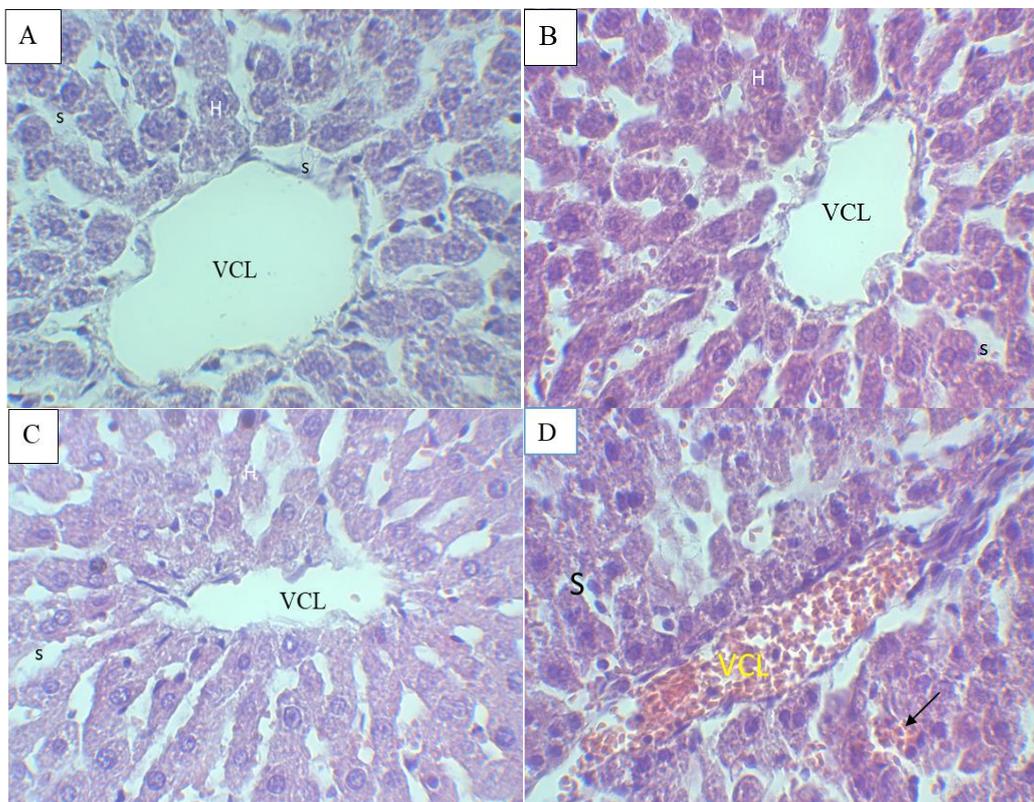
**Figure 25.** Variation de l'activité enzymatique de la super oxyde dismutase (SOD) dans le tissu hépatique chez les groupes des rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

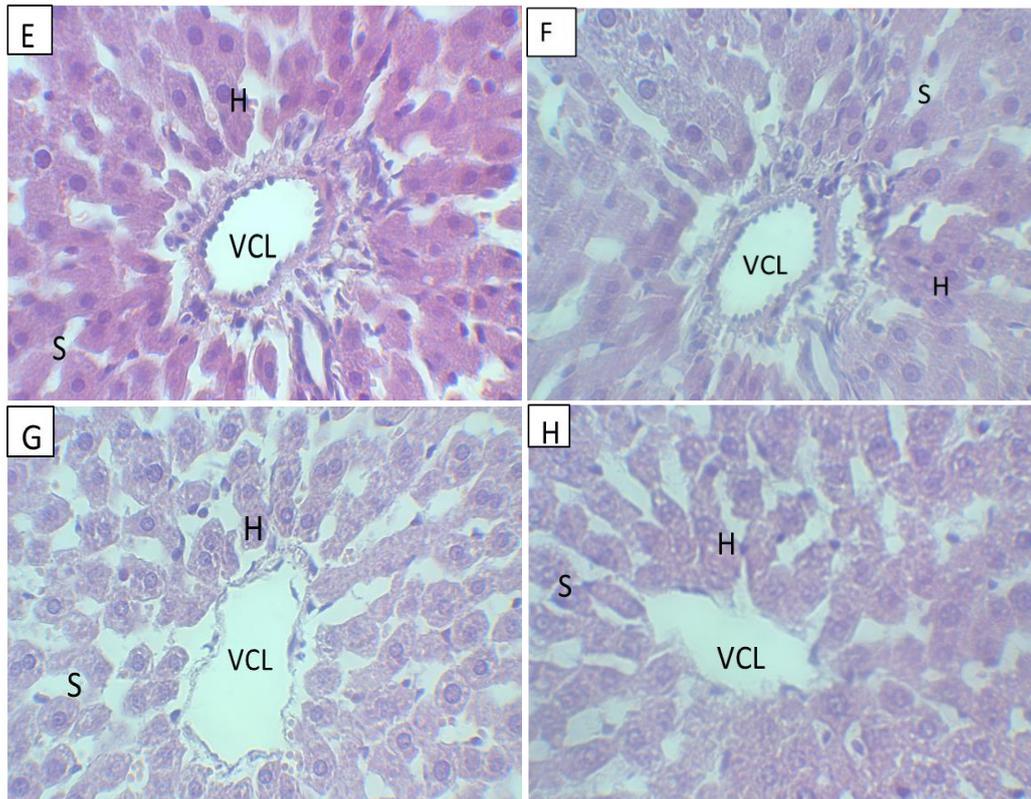
### 3.3.Effet du traitement sur l'histologie du foie

L'observation microscopique des coupes du foie des rats témoins(A), traités par : le *Rosmarinus officinalis* (B), le sélénium (C), la combinaison Ro+Se (G), a montré une architecture histologique hépatique normale caractérisée par une veine centrale visible et des hépatocytes à l'état normal avec un cytoplasme granuleux avec absence d'infiltration de lymphocytes.

Cependant, l'examen du foie des rats traités par le nickel (D) a révélé une déformation absolue de l'architecture hépatocellulaire qui a généré des dommages au niveaux des hépatocytes autour de la veine centrale, une nécrose et une dégénérescence vacuolaire cytoplasmique.

Néanmoins, le traitement des rats par le *Rosmarinus officinalis* et /ou le sélénium a presque restauré les altérations sévères causées par le nickel (Ro+Ni), (Se+Ni), (Ro+Se+Ni) (les groupes E, F et H) respectivement.





**Figure 26.** Coupes histologiques du foie de rat témoin (A), rat traité par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* (B), rat traité par le sélénium (C), rat traité par le nickel (D), rat traité par la combinaison (Ro+Ni) (E), rat traité par la combinaison (Se+Ni) (F), rat traité par la combinaison (Ro+Se) (G) et rat traité par la combinaison (Ro+Se+Ni) (H). Hématoxyline- Eosine, Gr : x 400.

**H** : Cellules Hépatiques, **vcl** : Veine Centrolobulaire, **S** : Sinusoïdes. → Nécrose

## **Chapitre 03 : Discussion**

Le nickel est un métal lourd extrêmement toxique pour l'homme et l'animal. Le contact avec des objets comme les bijoux ou de la monnaie, ou l'inhalation de la poussière, la consommation de la nourriture et de l'eau contaminés au nickel peuvent provoquer des intoxications voire des maladies graves. Cette dernière représente la première source de l'intoxication par le nickel (Das et al., 2010 ; khan et al.,2022). Une fois consommé, le nickel est rapidement absorbé par l'appareil digestif dans le sang, puis dans certains organes cibles, principalement le foie et les reins (Egorova et Ananikov, 2016). Parce que le foie contient un système enzymatique impliqué dans le processus de détoxification qui peut neutraliser tous les composés toxiques, le foie sert d'organe primaire du corps pour éliminer les déchets toxiques (Chen, 2011). Par ailleurs, le rein est également un organe d'excrétion urinaire. Il permet l'élimination des déchets corporels, empêchant l'accumulation de substances toxiques dans le sang (Hauser et al.,2021).

Notre recherche est fondée sur l'étude de la toxicité ainsi que les effets oxydatifs du nickel sur le fonctionnement hépatique et rénal. La toxicité d'un xénobiotique pour un organisme peut être modifiée en raison d'une exposition préalable, d'une exposition simultanée ou d'une exposition subséquente à un autre xénobiotique. Les effets peuvent être additionnés ou amplifiés, ou ils peuvent être combattus (Pichardo et al.,2017). Ces dernières années, une attention particulière a été accordée sur l'utilisation à grande échelle de matériaux végétaux bioactifs naturels à des fins médicinales, des oligo-éléments et de vitamines et qui peuvent réduire les effets des toxiques, des cancérogènes et des oxydants sur la santé humaine et animale (Karahan, 2023). Ainsi, au cours de cette recherche nous avons étudié les effets des suppléments du Sélénium et de l'extrait méthanolique du *Rosmarinus officinalis* L sur la toxicité du nickel, qui peut se manifester par des troubles physiologique, biochimiques, hématologiques et altérations histologiques à travers l'induction du stress oxydatif chez les rats males.

Dans la première partie de notre travail, des composés bioactifs provenant des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L ont été extraits au moyen d'un solvant polaire le méthanol. Une étude approfondie a été menée au moyen de plusieurs essais pour explorer le pouvoir antioxydant (le dosage de la capacité de piégeage des radicaux DPPH, la capacité de piégeage ABTS, la capacité antioxydante réductrice cuivrique et le dosage de l'activité chélatrice des métaux). Par ailleurs, de nombreuses informations sur la composition chimique de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* ont également été étudiées.

## DISCUSSION

L'analyse des résultats de l'étude phytochimique de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* a révélé un rendement d'extraction égale à 18,76 %, une teneur en phénols totaux de  $27,66 \pm 0,04$  mg EAG/g ms. Nos résultats sont meilleurs que ceux trouvés par Lahouel et al., (2020), pour la même espèce (le rendement 34,78 % et une teneur en phénols totaux de  $25,10 \pm 0,66$  mg EAG/g ms). Néanmoins, les extraits de Ro Égyptiens et Marocains se distinguent par une teneur en phénol de l'ordre de 45% et 52% (Vladimir-Knežević et al.,2021). Ces variations de concentration de phénol peuvent s'expliquer par un large éventail de facteurs, y compris les différences génotypiques, les variables géographiques et climatiques, le moment de la récolte et les coutumes culturelles (Melito et al.,2019).

La teneur totale en flavonoïdes dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L est de l'ordre de  $8,47 \pm 0,05$  mg de quercétine QE / g d'extrait. Notre résultat est supérieur à celui de l'extrait éthanolique ( $5,96 \pm 0,59$  mg de quercétine QE / g d'extrait) mentionné par Althobaiti,(2020). La plupart des recherches précédentes sur différentes espèces de plantes ont démontré que le méthanol absolu est recommandé pour l'extraction des flavonoïdes (Vladimir-Knežević et al.,2021). Ces flavonoïdes sont hautement actifs de façon chimique et biologique.

La forte concentration de composés phénoliques et flavonoïdes dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L est liée aux propriétés antioxydantes de la plante (Kabubii et al.,2023). Dans cette étude, les activités antioxydantes de *Rosmarinus officinalis* ont été déterminés par quatre méthodes : l'évaluation de pouvoir de piégeage des radicaux DPPH, l'activité de piégeage ABTS, la capacité antioxydante réductrice cuivrique et le dosage du métal chélatons activités.

En raison de leur capacité à produire de l'hydrogène, les antioxydants peuvent inhiber l'activité des radicaux libres DPPH (Topal et Gulcin,2022). L'extrait n'a besoin que d'une petite concentration pour inhiber 50% de DPPH ( $24,69 \pm 0,31 \mu\text{g} / \text{L}$ ) car il est supposé avoir une activité antioxydante importante. L'activité antioxydante de notre extrait est supérieure à celle trouvée par Gonzaliz et al., (2020) ( $13,27 \pm 2,23 \mu\text{g} / \text{L}$ ) pour le même extrait de la même espèce. Toutefois nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Dhouibi et al., (2023) ; Nie et al., (2019), qui ont trouvé des activités égales à  $26,35 \pm 0,72 \mu\text{g} / \text{L}$  et  $23,09 \pm 0,47 \mu\text{g} / \text{L}$  respectivement.

Afin de mesurer la perte de couleur lorsqu'un antioxydant est ajouté au chromophore bleu-vert ABTS+, une méthode différente pour évaluer l'activité antiradicalaire de l'extrait de

## DISCUSSION

*Rosmarinus officinalis* est applicable pour les antioxydants hydrophiles et lipophiles (Dolghi et al., 2022).

La décoloration ABTS<sup>+</sup> est remplacée par ABTS par l'extrait *Rosmarinus officinalis* L. Les résultats de l'ABTS de *Rosmarinus officinalis* a montré une concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres équivalente à (CI<sub>50</sub>=22,34±0.94 µg/ml) concernant la perfusion de *Rosmarinus officinalis* L à celle rapportée par (Topal et Gulcin,2022) (CI<sub>50</sub>=75,08±0.64 µg/ml). La méthode CUPRAC repose sur la réduction de Cu<sup>2+</sup> en Cu<sup>+</sup> à pH neutre par des réductases (antioxydants) présentes dans un éluât et utilise le produit de réaction néocuproïne en cuivre (II) comme oxydant chromogène (Gonzaliz et al.,2020 ; Dhouibi et al., 2023). Le résultat du CUPRAC de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L a dévoilé une forte activité antioxydante (CE<sub>50</sub>=15.08±0.85 µg/ml) est similaire à celle décrite par (Dolghi et al., 2022) (CE<sub>50</sub>=19.70±0.61 µg/ml). Une activité plus élevée que la perfusion de *Rosmarinus officinalis* a également été détectée, selon le travail de Topal et Gulcin,(2022) (CE<sub>50</sub>=11.33±0.35 µg/ml). Les activités de chélation du Fe<sup>2+</sup> (IC<sub>50</sub>=63.56±0.97µg/ml) de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L dépend également de la population et En comparaison, la IC<sub>50</sub> de l'acide gallique standard est égale à 52,6 µg/ml. Néanmoins, les activités chélatrices de Fe<sup>2+</sup> de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L n'était pas significativement corrélée avec le contenu total des polyphénols ou des flavonoïdes. Une faible corrélation similaire a été observée dans plusieurs résidus végétaux aromatiques et attribuée au fait que seuls les polyphénols ayant des groupes hydroxyles et/ou cétones voisins dans leurs structures chimiques sont capables de chélater les métaux divalents, ainsi que la présence possible d'autres composés dans les extraits qui pourraient agir comme chélateurs (Šamec et al.,2021)

De nombreuses études in vivo utilisant des modèles animaux montrent que les effets cancérigènes et toxiques du nickel sur certains organes, y compris le foie et les reins, sont bien documentés (Das et al.,2018).

C'est pourquoi que nous nous sommes concentrés dans la deuxième partie de cette étude sur les effets toxiques et oxydatifs du nickel sur la fonction hépatique et rénale chez un modèle animal ; le rat Wistar.

Les analyses expérimentales montrent que la toxicité du nickel, a provoqué une hémolyse et donc une augmentation du catabolisme de l'hémoglobine, l'une des causes de l'hyperbilirubinémie. De plus, nos résultats ont montré que la toxicité du nickel a entraîné une augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (AST/ALT) et de la phosphatase

alcaline (ALP), ce qui explique clairement l'effet hépatotoxique du nickel. Cette hépatotoxicité peut rendre le foie incapable de synthétiser les protéines y compris l'albumine, et d'éliminer la bilirubine ce qui explique l'hypo-albuminémie et l'hyper bilirubinémie de notre étude. En raison des effets du stress oxydatif, ce dernier est capable de faire la mort cellulaire des hépatocytes par nécrose. Pour se faire, il produit continuellement des radicaux libres qui mènent à la lyse cellulaire et libère des constituants cellulaires, comme les transaminases, dans le milieu extracellulaire (Lakka et al., 2023). Cependant, l'extrait de RO et/ou le sélénium ont réduit les effets toxiques du nickel sur l'activité enzymatique des transaminases (AST/ALT) et de la PAL. Ces antioxydants peuvent stabiliser les membranes des cellules hépatiques et protéger les hépatocytes des effets nocifs du nickel, et peuvent réduire le flux d'enzymes dans le sang. (Boey et Ho, 2020 ; Gunti et al., 2022).

Selon l'effet sur les reins, nos résultats ont également montré une augmentation de taux sérique d'urée, d'acide urique et de la créatinine. Ces paramètres biochimiques agissent comme marqueurs biologiques du dysfonctionnement rénal et des dommages cellulaires causés par ce métal. L'évaluation de l'urée et de la créatinine est particulièrement importante pour apprécier la fonction rénale lors de l'utilisation de la filtration glomérulaire. (Gekle, 2017 ; Randjelovic et al., 2012 ; Abouelghar et al., 2020). Les concentrations élevées de l'urée et de la créatinine peuvent être dues à une dégradation des protéines du corps sous l'effet des hormones glucocorticoïdes, qui jouent un rôle important dans ce processus. (Ge et al., 2021 ; Zheng et al., 2022 ; Lahouel et al., 2020 ; Benkhedir et al., 2023).

En raison de son activité métabolique élevée et de la variété des fonctions, en particulier celles liées à la concentration et à l'excrétion des xénobiotiques, le rein est particulièrement sensible à l'action des substances toxiques d'un point de vue physiologique. (Faria et al., 2019; Briffa et al., 2020). Le nickel s'accumule au niveau des reins, en provoquant des lésions des glomérules et des tubules conduisant à l'éruption des protéines (microalbuminurie), indiquant la présence d'une insuffisance rénale avec diminution de la filtration glomérulaire (Amudha et Pari, 2011).

Cependant, l'augmentation de la concentration sérique de l'acide urique dans notre étude est due à la dégradation intense du matériel génétique (ADN et ARN) (Borghi et al., 2022 ; Yang et al., 2023). Autrement, le niveau élevé de l'acide urique circulant peut-être un indicateur de la défense du corps contre les effets nocifs des radicaux libres, qui augmente la production de substances antioxydantes endogènes parmi lesquelles, l'acide urique qui empêche les

changements oxydatifs dans les enzymes endothéliales et préserve l'aptitude de l'endothélium à méditer sur les dilatations vasculaires pour faire face au stress oxydatif (Hermes-Lima,2004 ; Kang et Ha,2014).

Notez que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L et le sélénium ont réduit l'effet oxydatif du nickel, conduisant à une réduction de la concentration d'acide urique, d'urée et de créatinine. Ce résultat est confirmé par de nombreux chercheurs qui ont clairement expliqué le rôle de l'activité antioxydante de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L et le sélénium contre la formation de radicaux libres dans les reins. (Hassanen et al.,2020 ; Placha et al.,2014 ; Virk et al.,2014).

L'analyse des résultats de notre étude, a démontré une diminution de la teneur tissulaire (foie et reins), en glutathion réduit (GSH), en présence du Nickel. Des résultats similaires ont été déclarés par d'autres études (Bonaventura et al., 2018 ; Chen et al.,2013). Dans les cellules animales, le glutathion est l'antioxydant non enzymatique le plus important. Il est également impliqué dans plusieurs processus qui sont essentiels pour les fonctions biologiques appropriées, tels que la détoxification des xénobiotiques via la glutathion-S-transférase (GST). De plus, le GSH est considéré comme un composant essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire en raison de sa propriété de réduction et de son rôle dans le métabolisme cellulaire. (Demirci-Çekiç et al.,2022 ; Sarıkaya et Doğan,2020).

En outre, en raison du niveau élevé des radicaux libres y compris le superoxyde, le taux de GSH est réduit. Ce tripeptide est composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycine : le groupe actif est représenté par le groupe thiol (-SH) des résidus de cystéine (Bains et Bains,2015 ; Aldini et al.,2018 ; Gaucher et al.,2018).

Par contre, le traitement par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium peut prévenir les dégâts en éliminant les toxiques du corps ou en encapsulant le métal. Une des raisons de cette amélioration est que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* est l'un des antioxydants biologiques actifs capables de protéger la membrane contre le stress oxydatif en raison de ses caractéristiques liposolubles (Schlieck et al.,2021 ; Amaral et al.,2018).

Cela peut s'expliquer par l'effet de récupération de l'extrait et du sélénium sur les radicaux oxygénés, ce qui signifie qu'au lieu d'être neutralisés par le GSH, les radicaux libres créés par le nickel seront capturés par l'extrait et le sélénium, maintenant ainsi la quantité habituelle de glutathion dans les cellules hépatiques (Alharby et al.,2021 ; Danso et al.,2023).

## DISCUSSION

La glutathion peroxydase (GPx), est une enzyme antioxydante importante qui régule le niveau de ROS ; elle dépend fortement de la concentration de glutathion ; l'équilibre de ce système enzymatique peut être nécessaire pour éliminer le superoxyde d'anion et les peroxydes produits dans les tissus (Jena et al.,2023 ; Andrés et al.,2022). La GPx peut réduire non seulement le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau, mais aussi les hydroperoxydes formés par l'oxydation des acides gras insaturés et donc protégé les cellules contre les dommages induits par le nickel (Šulinskienė et al.,2019).

D'après nos résultats, les rats traités par le nickel présentent une activité enzymatique de la GPx plus faible que le groupe témoin. Cette diminution est principalement due à l'excès de production de peroxyde d'hydrogène et à l'épuisement du sélénium et du GSH lors de la détoxification du nickel (Amudha et Pari, 2011 ; Prasad et al.,2006). En revanche, nous avons enregistré une amélioration significative de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) chez les rats après l'administration de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L et/ou de sélénium par rapport aux témoins. Cela démontre l'importance de ces composants dans l'action des enzymes antioxydantes endogènes (Fedala et al.,2022 ; Naiel et al.,2019 ; Benkhedir et al.,2023).

Le sélénium tant que cofacteur des sélénoenzymes joue un rôle important dans l'activation de ces enzymes y compris la glutathion peroxydase (Weaver et al.,2022 ; Kalimuthu et al.,2022). En outre, l'extrait de *Rosmarinus officinalis* peut réduire les dommages oxydatifs en agissant sur les radicaux libres (El-Demerdash et al.,2021 ; Benkhedir et al.,2023), nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Lahouel et al.,2020 ; Sahu et al.,2020).

Concernant la glutathion S-transférase (GST), enzymes impliquées dans le transport et l'élimination des substances réactives, l'activité de GST est utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif. (Vaish et al.,2020)

Nos résultats indiquent une augmentation extrêmement importante de la GST tissulaire (hépatique et rénale). L'augmentation de l'activité de GST est fortement corrélée avec la diminution des niveaux de GSH, et un type de défense qui traduit la détoxification des xénobiotiques dans le corps pour permettre leur élimination, et une réponse physiologique pour compenser les altérations causées par les radicaux libres et qui suggère que les xénobiotiques conjugués au GSH sont catalysés par la GST pour réduire son effet toxique (Mordi et al.,2015) Des recherches similaires sur des rats ont révélé une déplétion de GST (Amudha et Pari, 2011 ; Yokota et al.,2019). L'activité de la GST est influencée par divers paramètres, notamment la

type de xénobiotique, la concentration, la période d'exposition et les espèces. Cette enzyme est essentielle pour la détoxification des xénobiotiques et a une forte capacité à diminuer les peroxydes lipidiques (Helaoui et al.,2022 ; Akinwumi et al.,2020). Le traitement par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* a réduit les dommages oxydatifs causés par le Ni, ce qui a entraîné une diminution considérable de la GST. La diminution de l'activité enzymatique de GST induit un grand couplage intermédiaire des électrophiles avec le GSH (Krzyżowski et al.,2020).

De plus, le traitement au sélénium a diminué l'activité de la GST, qui sont en accord avec les travaux de (Tichati et al.,2020). Ces résultats s'expliquent par les propriétés antioxydantes importantes du l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et du sélénium, qui permettent une protection de l'organisme contre l'hépatotoxicité et à la néphrotoxicité. Il a été démontré que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium travaillent ensemble pour offrir une protection importante contre les maladies et les processus dégénératifs causés par le stress oxydatif (Abu-Zeid et al.,2021 ; El-Demerdash et al.,2021 ; De Oliveira et al.,2019 ; Fedala et al.,2022).

Des expériences ont démontré que le stress oxydatif dans les systèmes biologiques est souvent causé par un déséquilibre entre la génération d'espèces oxydantes et les défenses antioxydantes cellulaires. (Kruk et al.,2019 ; Garcia-Caparros et al.,2021)

La peroxydation des lipides est la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés (AGPI), et sa présence dans les membranes biologiques modifie la fonction et l'intégrité structurale des membranes (Mukerjee et al.,2021 ; Harun,2021).

Le Malon dialdéhyde (MDA) est l'aldéhyde le plus répandu produit par la peroxydation lipidique et peut donc être considérée comme indicateur de la peroxydation lipidique (LPO) (Patil et Wadekar,2021).

Il a été démontré que l'injection de nickel favorise la création d'espèces d'oxygène activées, ce qui peut endommager les lipides, les membranes cellulaires et l'ADN. Le nickel contribue également à la peroxydation des lipides dans le foie et les reins. (Begum et al.,2022 ; Renu et al.,2021 ; Iqbal et al.,2021)

Le traitement par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium est révélée très efficace pour réduire les dommages oxydatifs induits par le Ni, ce qui a entraîné une diminution considérable de la peroxydation des lipides hépatiques et rénale (Mitra et al.,2022 ; Mishra et Chandra,2022)

Il a été démontré que la supplémentation en antioxydants protège l'organisme contre le stress oxydatif en stimulant les défenses antioxydantes cellulaires. Les antioxydants peuvent prévenir ou atténuer les conséquences néfastes du stress oxydatif dans divers tissus (D'Angelo et Rosa,2020 ; Engwa et al.,2022). Il a également été proposé que le sélénium a une fonction importante dans la prévention de la production de MDA (peroxydation lipidique) et qui est un cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes (Staneviciene et al.,2022 ; Pečjak et al.,2022).

La formation du radical pyroxyde (ROO.) qui se transforme en hydroperoxyde (ROOH) par un court-circuit en présence de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* pendant la phase de propagation de la peroxydation lipidique est l'une des actions indirectes de l'extrait pour réduire les niveaux de peroxydation lipidique (Vahalová et Cifra,2022 ; Abbaszadeh et al.,2020).

Selon nos résultats, une diminution très considérable de l'activité enzymatique de la catalase (CAT), chez le groupe traité par le nickel par rapport au témoin. La catalase est essentielle pour protéger l'organisme des dommages qui sont dus au stress oxydatif. (Liu et al.,2023 ; Jayaseelan et al.,2014)

En outre, l'augmentation observée de l'activité de la catalase dans le foie et les reins chez les rats traités par les combinaisons (Ni avec Ro et/ou Se), peut être attribuée à l'action indirecte du Ro et du Se visant à réduire les quantités d'espèces réactives d'oxygène (Anyachor et al.,2022 ; Cempel et Nickel,2006 ; Farouk et Al-Amri,2019 ; Fedala et al.,2022).

L'enzyme super oxyde dismutase (SOD) catalyse la réduction du radical superoxyde, en peroxyde d'hydrogène, qui est ensuite détoxifié par l'enzyme catalase. (Maurya et Namdeo, 2021). Des études menées par Amudha, & Pari (2011) ont également rapporté une réduction de l'activité de ces enzymes (SOD et CAT), par le naringin dans le tissu rénal, ce qui est en accord avec nos données.

Le traitement par le nickel a également entraîné une diminution de l'activité SOD, confirmant l'étude de (salah et al.,2021). Cela pourrait être le résultat d'une accumulation intracellulaire de ROS avec des lésions hépatiques subséquentes, ou elle pourrait être due à la liaison directe du métal au site actif de cette enzyme (Paithankar et al.,2021). La présente étude a révélé que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium provoquent des action antioxydantes en récupérant les espèces réactives d'oxygène (ROS) et en augmentant l'enzyme antioxydante cellulaire superoxyde dismutase, ce qui concorde avec les résultats de : (El-

Demerdash et *al.*,2021 ; Lahouel et *al.*,2020 ; salah et *al.*,2021 ; Fedala et *al.*,2022). Qui ont constaté que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium avaient un effet de piégeage du peroxyde d'hydrogène et inhibaient la chaîne d'oxydation induite par l'initiation d'un radical hydrophile.

Les rats exposés au nickel présentent des altérations remarquables des tissus hépatiques et rénaux qui peuvent s'expliquer par les effets toxiques du nickel causés par la production de radicaux libres oxygénés et l'augmentation des niveaux cellulaires de peroxydation des lipides, qui ont un impact défavorable sur les composants de la membrane hépatocytaire (Guo et *al.*,2020 ; Ijomone et *al.*,2018).

Tous ces résultats ont été prouvés par les résultats de l'études histologique. L'étude histologique des reins des rats traités par le nickel à une dose de 10 mg/ kg pc/j a montré une nécrose tubulaire et glomérulaire créant un foyer hémorragique nécrotique. Ces modifications histologiques traduisent les altérations de la fonction rénale. Ces perturbations histologiques sont confirmées par l'augmentation de l'urée et de la créatinine sériques qui sont des indicateurs du fonctionnement rénal et leur augmentation signifie une atteinte de la fonction des néphrons (Mahmoudi et *al.*, 2015). Le traitement par le Ro et/ ou le Se a prévenir les modifications histologiques et a protéger les reins des dégâts qui peuvent être causés par le nickel, ce qui en accord avec les travaux de (Pérez-Sánchez et *al.*,2019 ; Khalil et *al.*,2019), sur les souches cellulaire et la maigre, *Argyrosomus regius*, alevins respectivement.

Alors que l'étude histologique du foie a dévoilé un foyer de nécrose hémorragique Centro-lobulaire, le parenchyme hépatique présente des zones de stéatose micro vacuolaire ponctuées d'hépatocytes aux noyaux pycnotiques. Le traitement des rats par le *Rosmarinus officinalis* et/ou le sélénium a protégé le tissu hépatique des dommages radicalaires du nickel, ce résultat se concorde avec ceux de (Aboulhoda et *al.*,2020 ; De Oliveira et *al.*,2019), qui ont travaillé sur l'hépatotoxicité de zinc et amélioration du rôle du sélénium chez les rats.



**Conclusion**

**et**

**Perspective**

### Conclusion

Nos résultats démontrent que l'intoxication au nickel chez les rats mâles adultes entraîne des effets oxydatives, hépatotoxiques et néphrotoxiques qui peuvent se résumer comme suit :

- ✓ L'aspect biochimique démontre que le nickel a causé des changements dans les paramètres biochimiques, y compris les indicateurs de la fonction hépatique et rénale : ainsi que l'augmentation des niveaux d'urée, de créatinine, d'acide urique, de bilirubine totale et de l'activité enzymatique des marqueurs hépatiques AST, ALT, et l'ALP augmentent également dans ce travail. De plus, l'albumine s'est effondrée ; ces altérations sont corrigées par l'ajout de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L et le sélénium.
- ✓ Le système antioxydant cellulaire est modifié par l'effet oxydatif du nickel, qui se caractérise par un impact direct sur l'activité enzymatique de la glutathion *peroxydase* (GSH-Px), glutathion-S- transférase, catalase et superoxyde dismutase (SOD) et glutathion (GSH). Tandis que, lorsque le nickel et l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium sont utilisés ensemble, le système antioxydant a clairement amélioré.
- ✓ Le foie de rats exposés par nickel présente des altérations tissulaires notables, selon l'histologie. La combinaison de la nécrose hépatique et des anomalies de la veine Centro lobulaire définit ces changements histologiques. L'histopathologie des reins a révélé d'autres lésions tissulaires caractérisées par une nécrose tubulaire. Notez que comparativement aux groupes exposés au nickel, ces indications histopathologiques sont moins significatives dans les groupes traités avec l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et le sélénium

### Perspective

- ❖ Déterminer le taux de nickel dans le sang et les autres organes cibles, y compris le foie et les reins.
- ❖ Effectuer des expérimentations in vitro de la toxicité du nickel aux niveaux moléculaire et cellulaire en fonction des qualités protectrices de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et/ou le Sélénium.
- ❖ Une recherche sur les doses et durées de traitement *Rosmarinus officinalis* in vitro visant à déterminer si elles ont des effets positifs sur les cultures de cellules rénales et hépatiques.
- ❖ Le principe active responsable des effets thérapeutiques souhaités en cas d'intoxication à le Nickel devrait être identifiée et isolée

# Référence



- Abada, M. B., Hamdi, S. H., Masseoud, C., Jroud, H., Bousshih, E., & Jemâa, J. M. B. (2020). Variations in chemotypes patterns of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils and applications for controlling the date moth *Ectomyelois ceratoniae* (Pyralidae). *South African Journal of Botany*, *128*, 18-27.
- Abbaszadeh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R., & Hadi, N. (2020). Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, *144*, 111893.
- Abdel-Megeed, R. M. (2021). Probiotics: a promising generation of heavy metal detoxification. *Biological trace element research*, *199*(6), 2406-2413.
- Abouelghar, G. E., El-Bermawy, Z. A., & Salman, H. M. (2020). Oxidative stress, hematological and biochemical alterations induced by sub-acute exposure to fipronil (COACH®) in albino mice and ameliorative effect of selenium plus vitamin E. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 7886-7900.
- Aboulhoda, B. E., Abdeltawab, D. A., Rashed, L. A., Abd Alla, M. F., & Yassa, H. D. (2020). Hepatotoxic Effect of Oral Zinc Oxide Nanoparticles and the Ameliorating Role of Selenium in Rats: A histological, immunohistochemical and molecular study. *Tissue and Cell*, *67*, 101441.
- Abu-Zeid, E. H., Fattah, D. M. A., Arisha, A. H., Ismail, T. A., Alsadek, D. M., Metwally, M. M., ... & Khalil, A. T. (2021). Protective prospects of eco-friendly synthesized selenium nanoparticles using *Moringa oleifera* or *Moringa oleifera* leaf extract against melamine induced nephrotoxicity in male rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *221*, 112424.
- Adewale, G. G., Olajide, P. A., Omowumi, O. S., Okunlola, D. D., Taiwo, A. M., & Adetuyi, B. O. (2022). Toxicological Significance of the Occurrence of Selenium in Foods. *World News of Natural Sciences*, *44*, 63-88.
- Akinwumi, K. A., Jubril, A. J., Olaniyan, O. O., & Umar, Y. Y. (2020). Ethanol extract of *Nigella sativa* has antioxidant and ameliorative effect against nickel chloride-induced hepatorenal injury in rats. *Clinical phytoscience*, *6*(1), 1-12.

## REFERENCE

- Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Tiwari, R., Yattoo, M. I., Karthik, K., ... & Dhama, K. (2021). Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health—a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 1-29.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Alcolea, V., & Pérez-Silanes, S. (2020). Selenium as an interesting option for the treatment of Chagas disease: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 206, 112673.
- Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free radical research*, 52(7), 751-762.
- Alehagen, U., Opstad, T. B., Alexander, J., Larsson, A., & Aaseth, J. (2021). Impact of selenium on biomarkers and clinical aspects related to ageing. A review. *Biomolecules*, 11(10), 1478.
- Alharby, H. F., Hasanuzzaman, M., Al-Zahrani, H. S., & Hakeem, K. R. (2021). Exogenous selenium mitigates salt stress in soybean by improving growth, physiology, glutathione homeostasis and antioxidant defense. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(2), 373-388.
- Alhasan, R., Nasim, M. J., Jacob, C., & Gaucher, C. (2019). Selenoneine: A unique reactive selenium species from the blood of tuna with implications for human diseases. *Current Pharmacology Reports*, 5, 163-173.
- Allegra, A., Tonacci, A., Pioggia, G., Musolino, C., & Gangemi, S. (2020). Anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L.: mechanisms of action and therapeutic potentials. *Nutrients*, 12(6), 1739.
- Al-Mubarak, A. A., van der Meer, P., & Bomer, N. (2021). Selenium, selenoproteins, and heart failure: current knowledge and future perspective. *Current heart failure reports*, 18, 122-131.
- Althobaiti, F. (2020). Antibacterial Activity And Genotoxicity Effect of Ethanolic Leaves Extract of *Rosmarinus Officinalis*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(3), 2165-2172.
- Amaral, A. B., Silva, M. V. D., & Lannes, S. C. D. S. (2018). Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Science and Technology*, 38, 1-15.

## REFERENCE

Amudha, K., & Pari, L. (2011). Beneficial role of naringin, a flavanoid on nickel induced nephrotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 193(1), 57-64.

Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.

Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Juan, C. A., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2022). Chemistry of Hydrogen Peroxide Formation and Elimination in Mammalian Cells, and Its Role in Various Pathologies. *Stresses*, 2(3), 256-274.

Anyachor, C. P., Dooka, D. B., Orish, C. N., Amadi, C. N., Bocca, B., Ruggieri, F., ... & Orisakwe, O. E. (2022). Mechanistic considerations and biomarkers level in nickel-induced neurodegenerative diseases: An updated systematic review. *IBRO Neuroscience Reports*.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.

Attard, E., Attard, H., Tanti, A., Azzopardi, J., Sciberras, M., Pace, V., ... & Inglott, A. S. (2015). The Phytochemical Constitution of Maltese Medicinal Plants—Propagation, Isolation and Pharmacological Testing. *Phytochemicals-Isolation, Characterisation and Role in Human Health*.

Aziz, M. A., Diab, A. S., & Mohammed, A. A. (2019). Antioxidant categories and mode of action (pp. 3-22). London, UK: IntechOpen.



Bains, V. K., & Bains, R. (2015). The antioxidant master glutathione and periodontal health. *Dental research journal*, 12(5), 389.

Banerjee, M., Chakravarty, D., Kalwani, P., & Ballal, A. (2022). Voyage of selenium from environment to life: Beneficial or toxic?. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(11), e23195.

Barchielli, G., Capperucci, A., & Tanini, D. (2022). The role of selenium in pathologies: An updated review. *Antioxidants*, 11(2), 251.

## REFERENCE

- Barut, M., Cavdar, A. S., Tansı, L. S., & Karaman, S. (2022). Variation in Essential Oil Content and Chemical Composition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) at Various Growth Stages in the Mediterranean Region. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(10), 1862-1870.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Begum, A., Sandhya, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria*, 12(1), 61-74.
- Begum, W., Rai, S., Banerjee, S., Bhattacharjee, S., Mondal, M. H., Bhattarai, A., & Saha, B. (2022). A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. *RSC advances*, 12(15), 9139-9153.
- Benkhedir, A., Boussekine, S., Saker, H., Gasmi, S., & Benali, Y. (2023). Beneficial effects of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus Numidicus* on key enzymes of carbohydrate metabolism in alloxan induced diabetic rats. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12(4), e9507-e9507.
- Bhattacharya, S. (2015). Reactive oxygen species and cellular defense system. Free radicals in human health and disease, 17-29.
- Bhattacharyya, K. G., Sarma, J., & Sarma, A. (2009). *Azadirachta indica* leaf powder as a biosorbent for Ni (II) in aqueous medium. *Journal of hazardous materials*, 165(1-3), 271-278.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Boey, A., & Ho, H. K. (2020). All roads lead to the liver: metal nanoparticles and their implications for liver health. *Small*, 16(21), 2000153.
- Bonaventura, R., Zito, F., Chiaramonte, M., Costa, C., & Russo, R. (2018). Nickel toxicity in *P. lividus* embryos: Dose dependent effects and gene expression analysis. *Marine environmental research*, 139, 113-121.
- Borghi, C., Agnoletti, D., Cicero, A. F. G., Lurbe, E., & Virdis, A. (2022). Uric acid and hypertension: a review of evidence and future perspectives for the management of cardiovascular risk. *Hypertension*, 79(9), 1927-1936.

## REFERENCE

Bouasla, A., & Bouasla, I. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 36, 68-81.

Bourais, I., Elmarrkechy, S., Taha, D., Mourabit, Y., Bouyahya, A., El Yadini, M., ... & Iba, N. (2022). A Review on Medicinal Uses, Nutritional Value, and Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antidiabetic, and Anticancer Potential Related to Bioactive Compounds of *J. regia*. *Food Reviews International*, 1-51.

Briffa, J., Sinagra, E., & Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691.

Brigelius-Flohé, R. (2021). Vitamin E research: Past, now and future. *Free Radical Biology and Medicine*, 177, 381-390.

Buxton, S., Garman, E., Heim, K. E., Lyons-Darden, T., Schlekat, C. E., Taylor, M. D., & Oller, A. R. (2019). Concise review of nickel human health toxicology and ecotoxicology. *Inorganics*, 7(7), 89.

*e*

Calderón Guzmán, D., Juárez Olguín, H., Osnaya Brizuela, N., Hernández Garcia, E., & Lindoro Silva, M. (2019). The use of trace and essential elements in common clinical disorders: roles in assessment of health and oxidative stress status. *Nutrition and cancer*, 71(1), 13-20.

Carmo de Carvalho e Martins, M. D., Martins, da Silva Santos Oliveira, A. S., da Silva, L. A. A., Primo, M. G. S., & de Carvalho Lira, V. B. (2022). Biological indicators of oxidative stress [Malondialdehyde, Catalase, Glutathione Peroxidase, and Superoxide Dismutase] and their application in nutrition. In *Biomarkers in Nutrition* (pp. 1-25). Cham: Springer International Publishing.

Cempel, M., & Nikel, G. J. P. J. S. (2006). Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. *Polish journal of environmental studies*, 15(3).

Chauhan, R., Awasthi, S., Srivastava, S., Dwivedi, S., Pilon-Smits, E. A., Dhankher, O. P., & Tripathi, R. D. (2019). Understanding selenium metabolism in plants and its role as a beneficial element. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(21), 1937-1958.

Chen, C. H. (2011). *Activation and detoxification enzymes: functions and implications*. Springer Science & Business Media.

## REFERENCE

- Chen, J., Han, J., & Wang, J. (2013). Prevention of cytotoxicity of nickel by quercetin: the role of reactive oxygen species and histone acetylation. *Toxicology and Industrial Health*, 29(4), 360-366.
- Chen, Q. Y., Brocato, J., Laulich, F., & Costa, M. (2017). Mechanisms of nickel carcinogenesis. *Essential and non-essential metals: carcinogenesis, prevention and cancer therapeutics*, 181-197.
- Coppedè, F. (2021). Mutations involved in premature-ageing syndromes. The application of clinical genetics, 279-295.
- D*
- D'Angelo, S., & Rosa, R. (2020). Oxidative stress and sport performance. *Sport Science*, 13(Suppl 1), 18-22.
- Dafni, A., Petanidou, T., Vallianatou, I., Kozhuharova, E., Blanche, C., Pacini, E., ... & Benitez, G. (2020). Myrtle, basil, Rosemary, and three-lobed sage as ritual plants in the monotheistic religions: an historical–ethnobotanical comparison. *Economic Botany*, 74, 330-355.
- Dai, Z., Imtiaz, M., Rizwan, M., Yuan, Y., Huang, H., & Tu, S. (2019). Dynamics of selenium uptake, speciation, and antioxidant response in rice at different panicle initiation stages. *Science of the Total Environment*, 691, 827-834.
- Danso, O. P., Asante-Badu, B., Zhang, Z., Song, J., Wang, Z., Yin, X., & Zhu, R. (2023). Selenium Biofortification: Strategies, Progress and Challenges. *Agriculture*, 13(2), 416.
- Das, K. K., Das, S. N., & Dhundasi, S. A. (2010). Nickel: molecular diversity, application, essentiality and toxicity in human health. *Biometals, Molecular Structures, Binding Properties and Applications*. New York, USA, Nova Science Publishers Inc, 33-58.
- Das, K. K., Reddy, R. C., Bagoji, I. B., Das, S., Bagali, S., Mullur, L., ... & Biradar, M. S. (2018). Primary concept of nickel toxicity—an overview. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 30(2), 141-152.
- Dávila-Vega, J. P., Gastelum-Hernández, A. C., Serrano-Sandoval, S. N., Serna-Saldívar, S. O., Guitiérrez-Uribe, J. A., Milán-Carrillo, J., ... & Guardado-Félix, D. (2022). Metabolism and Anticancer Mechanisms of Selocompounds: Comprehensive Review. *Biological Trace Element Research*, 1-19.

## REFERENCE

de Macedo, L. M., Santos, É. M. D., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2020). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and its topical applications: A review. *Plants*, 9(5), 651.

De Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & De Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1), 5.

Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 38(3), 674-677.

Demirci-Çekiç, S., Özkan, G., Avan, A. N., Uzunboy, S., Çapanoğlu, E., & Apak, R. (2022). Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 209, 114477.

Dhouibi, N., Manuguerra, S., Arena, R., Messina, C. M., Santulli, A., Kacem, S., ... & Mahdhi, A. (2023). Impact of the Extraction Method on the Chemical Composition and Antioxidant Potency of *Rosmarinus officinalis* L. Extracts. *Metabolites*, 13(2), 290.

Dolghi, A., Coricovac, D., Dinu, S., Pinzaru, I., Dehelean, C. A., Grosu, C., ... & Sarau, C. A. (2022). Chemical and Antimicrobial Characterization of *Mentha piperita* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils and In Vitro Potential Cytotoxic Effect in Human Colorectal Carcinoma Cells. *Molecules*, 27(18), 6106.

8

Egorova, K. S., & Ananikov, V. P. (2016). Which metals are green for catalysis? Comparison of the toxicities of Ni, Cu, Fe, Pd, Pt, Rh, and Au salts. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(40), 12150-12162.

El-Demerdash, F. M., El-Sayed, R. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). *Rosmarinus officinalis* essential oil modulates renal toxicity and oxidative stress induced by potassium dichromate in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 67, 126791.

Elsamadony, M., Elreedy, A., Mostafa, A., Fujii, M., Gescher, J., Shakeri Yekta, S., ... & Pant, D. (2021). Perspectives on potential applications of nanometal derivatives in gaseous bioenergy pathways: mechanisms, life cycle, and toxicity. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(29), 9563-9589.

## REFERENCE

Engwa, G. A., Nweke, F. N., & Nkeh-Chungag, B. N. (2022). Free Radicals, Oxidative Stress-Related Diseases and Antioxidant Supplementation. *Alternative Therapies in Health & Medicine*, 28(1).

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341-390.

*F*

Faria, J., Ahmed, S., Gerritsen, K. G., Mihaila, S. M., & Masereeuw, R. (2019). Kidney-based in vitro models for drug-induced toxicity testing. *Archives of toxicology*, 93, 3397-3418.

Farouk, S., & Al-Amri, S. M. (2019). Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 333-347.

Fatullayeva, S., Tagiyev, D., & Zeynalov, N. (2021). A review on enterosorbents and their application in clinical practice: Removal of toxic metals. *Colloid and Interface Science Communications*, 45, 100545.

Fazeli-Nasab, B., Valizadeh, M., Hassanzadeh, M. A., & Beigomi, M. (2021). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Olive and Rosemary Leave Extracts Prepared with Different Solvents Against Antibiotic-Resistant *Escherichia coli*. *International Journal of Infection*, 8(3).

Fedala, A., Adjroud, O., Bennoune, O., Abid-Essefi, S., Foughalia, A., & Timoumi, R. (2022). Nephroprotective efficacy of selenium and zinc against potassium dichromate-induced renal toxicity in pregnant wistar albino rats. *Biological Trace Element Research*, 200(11), 4782-4794.

Filipović, N., Veselinović, L., Ražić, S., Jeremić, S., Filipič, M., Žegura, B., ... & Stevanović, M. (2019). Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres for prolonged release of selenium nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 96, 776-789.

Filon, F. L., Bello, D., Cherrie, J. W., Sleenwenhoek, A., Spaan, S., & Brouwer, D. H. (2016). Occupational dermal exposure to nanoparticles and nano-enabled products: Part I—Factors

## REFERENCE

affecting skin absorption. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 536-544.

Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). [12] Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 114-120). Academic Press.

Flohé, L., Toppo, S., & Orian, L. (2022). The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 187, 113-122.

G

Gao, J., Zhang, H., Xiong, P., Yan, X., Liao, C., & Jiang, G. (2020). Application of electrophysiological technique in toxicological study: from manual to automated patch-clamp recording. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 133, 116082.

Garcia-Caparrós, P., De Filippis, L., Gul, A., Hasanuzzaman, M., Ozturk, M., Altay, V., & Lao, M. T. (2021). Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. *The Botanical Review*, 87, 421-466.

Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P., & Parent, M. (2018). Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants*, 7(5), 62.

Ge, J., Liu, L. L., Cui, Z. G., Talukder, M., Lv, M. W., Li, J. Y., & Li, J. L. (2021). Comparative study on protective effect of different selenium sources against cadmium-induced nephrotoxicity via regulating the transcriptions of selenoproteome. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 215, 112135.

Gebreeyessus, G. D., & Zewge, F. (2019). A review on environmental selenium issues. *SN Applied Sciences*, 1, 1-19.

Gekle, M. (2017). Kidney and aging—A narrative review. *Experimental gerontology*, 87, 153-155.

González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), 77.

Goswami, A. K., & Kostova, I. (2022). Medicinal and Biological Inorganic Chemistry. In *Medicinal and Biological Inorganic Chemistry*. De Gruyter.

## REFERENCE

Gourich, A. A., Bencheikh, N., Bouhrim, M., Regragui, M., Rhafouri, R., Drioiche, A., ... & Zair, T. (2022). Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Four Moroccan North Middle Atlas Medicinal Plants' Essential Oils: *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha pulegium* L., *Salvia officinalis* L., and *Thymus zygis* subsp. *gracilis* (Boiss.) R. Morales. *Chemistry*, 4(4), 1775-1788.

GRENEZ, E. P. (2019). Phytothérapie-exemples de pathologies courantes l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation [Thèse]. Lille : Université de Lille département de pharmacie.

Gunti, L., Dass, R. S., & Mahata, P. K. (2022). Multifaceted Role of Phyto-assisted Selenium Nanoparticles (SeNPs) in Biomedical and Human Therapeutics. In *Selenium and Nano-Selenium in Environmental Stress Management and Crop Quality Improvement* (pp. 437-458). Cham: Springer International Publishing.

Guo, H., Liu, H., Jian, Z., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., ... & Tang, H. (2020). Immunotoxicity of nickel: Pathological and toxicological effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 111006.

*H*

Habig, W. H., Pabst, M. J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I. M., & Jakoby, W. B. (1974). The identity of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(10), 3879-3882.

Hadrup, N., & Ravn-Haren, G. (2021). Absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) of oral selenium from organic and inorganic sources: A review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 67, 126801.

Hamed, H., Boulila, S., Ghrab, F., Kallel, R., Boudawara, T., & El Feki, A. (2020). The preventive effect of aqueous extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves against the nephrotoxicity of carbon tetrachloride in mice. *Archives of physiology and biochemistry*, 126(3), 201-208.

Hariharan, S., & Dharmaraj, S. (2020). Selenium and selenoproteins: It's role in regulation of inflammation. *Inflammopharmacology*, 28, 667-695.

Harun, H. (2021). Lipid peroxidation: aging kidney. *Accenting Lipid Peroxidation*, 133.

## REFERENCE

- Hassanen, N. H., Fahmi, A., Shams-Eldin, E., & Abdur-Rahman, M. (2020). Protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against diethylnitrosamine-induced renal injury in rats. *Biomarkers*, 25(3), 281-289.
- Hauser, P. V., Chang, H. M., Yanagawa, N., & Hamon, M. (2021). Nanotechnology, nanomedicine, and the kidney. *Applied Sciences*, 11(16), 7187.
- Helaoui, S., Boughattas, I., El Kribi-Boukhris, S., Mkhinini, M., Alphonse, V., Livet, A., ... & Banni, M. (2022). Assessing the effects of nickel on, eg, *Medicago sativa* L. nodules using multidisciplinary approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(51), 77386-77400.
- Hemantaranjan, A. (2007). *Environmental physiology*. Scientific Publishers.
- Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. *Functional metabolism: regulation and adaptation*, 1, 319-66.
- Hitl, M., Kladar, N., Gavarić, N., & Božin, B. (2021). Rosmarinic acid–human pharmacokinetics and health benefits. *Planta medica*, 87(04), 273-282.
- Hostýnek, J. J., Reagan, K. E., & Maibach, H. I. (2019). Nickel allergic hypersensitivity: prevalence and incidence by country, gender, age, and occupation. In *Nickel and the Skin* (pp. 39-82). CRC Press.
- Hou, J., Zhu, L., Chen, C., Feng, H., Li, D., Sun, S., ... & Sun, D. (2021). Association of selenium levels with the prevention and control of Keshan disease: A cross-sectional study. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126832.
- S*
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Ijomone, O. M., Okori, S. O., Ijomone, O. K., & Ebokaiwe, A. P. (2018). Sub-acute nickel exposure impairs behavior, alters neuronal microarchitecture, and induces oxidative stress in rats' brain. *Drug and chemical toxicology*, 41(4), 377-384.
- Innocenzi, P., & Stagi, L. (2023). Carbon dots as oxidant-antioxidant nanomaterials, understanding the structure-properties relationship. A critical review. *Nano Today*, 50, 101837.

## REFERENCE

Iqbal, J., Abbasi, B. A., Ahmad, R., Mahmoodi, M., Munir, A., Zahra, S. A., ... & Capasso, R. (2020). Phytogetic synthesis of nickel oxide nanoparticles (NiO) using fresh leaves extract of *Rhamnus triquetra* (wall.) and investigation of its multiple in vitro biological potentials. *Biomedicines*, 8(5), 117.

Iqbal, S., Jabeen, F., Peng, C., Shah, M. A., Ijaz, M. U., Rasul, A., ... & Kłodzińska, E. (2021). Nickel nanoparticles induce hepatotoxicity via oxidative and nitrative stress-mediated apoptosis and inflammation. *Toxicology and Industrial Health*, 37(10), 619-634.

Irshad, K., Rehman, K., Fiayyaz, F., Sharif, H., Murtaza, G., Kamal, S., & Akash, M. S. H. (2021). Role of heavy metals in metabolic disorders. *Endocrine Disrupting Chemicals-induced Metabolic Disorders and Treatment Strategies*, 203-219.

*J*

Jamrack, W. D. (2014). *Rare Metal Extraction by Chemical Engineering Techniques: International Series of Monographs on Chemical Engineering*. Elsevier.

Jayaseelan, C., Rahuman, A. A., Ramkumar, R., Perumal, P., Rajakumar, G., Kirthi, A. V., ... & Marimuthu, S. (2014). Effect of sub-acute exposure to nickel nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 220-228.

Jena, A. B., Samal, R. R., Bhol, N. K., & Duttaroy, A. K. (2023). Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, 114606.

Jones, B., Nguyen-Tien, V., & Elliott, R. J. (2023). The electric vehicle revolution: Critical material supply chains, trade and development. *The World Economy*, 46(1), 2-26.

Junior, E. L., Leite, H. P., & Konstantyner, T. (2019). Selenium and selenoproteins: from endothelial cytoprotection to clinical outcomes. *Translational Research*, 208, 85-104.

*K*

Kabubii, Z. N., Mbaria, J. M., Mathiu, M. P., Wanjohi, J. M., & Nyaboga, E. N. (2023). Evaluation of seasonal variation, effect of extraction solvent on phytochemicals and antioxidant activity on *Rosmarinus officinalis* grown in different agro-ecological zones of Kiambu County, Kenya. *CABI Agriculture and Bioscience*, 4(1), 1-10.

## REFERENCE

- Kalimuthu, K., Keerthana, C. K., Mohan, M., Arivalagan, J., Christyraj, J. R. S. S., Firer, M. A., ... & Lee, Y. J. (2022). The emerging role of selenium metabolic pathways in cancer: New therapeutic targets for cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 123(3), 532-542.
- Kalimuthu, K., Keerthana, C. K., Mohan, M., Arivalagan, J., Christyraj, J. R. S. S., Firer, M. A., ... & Lee, Y. J. (2022). The emerging role of selenium metabolic pathways in cancer: New therapeutic targets for cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 123(3), 532-542.
- Kang, D. H., & Ha, S. K. (2014). Uric acid puzzle: dual role as anti-oxidant and pro-oxidant. *Electrolytes & Blood Pressure: E & BP*, 12(1), 1.
- Kaplan, A. (1984). Urea Clin Chem. Pbl. The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1257-1260.
- Karahan, F. (2023). Evaluation of trace element and heavy metal levels of some ethnobotanically important medicinal plants used as remedies in Southern Turkey in terms of human health risk. *Biological Trace Element Research*, 201(1), 493-513.
- Kasprzak, K. S., & Salnikow, K. (2007). Nickel toxicity and carcinogenesis. *Nickel and its surprising impact in nature*, 2, 619-660.
- Kasprzak, K. S., Sunderman Jr, F. W., & Salnikow, K. (2003). Nickel carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1-2), 67-97.
- Kate, R. S., Khalate, S. A., & Deokate, R. J. (2018). Overview of nanostructured metal oxides and pure nickel oxide (NiO) electrodes for supercapacitors: A review. *Journal of Alloys and Compounds*, 734, 89-111.
- Kaur, R., Gupta, T. B., Bronlund, J., & Kaur, L. (2021). The potential of rosemary as a functional ingredient for meat products-a review. *Food Reviews International*, 1-21.
- Kayashima, T., Nagao, K., Umino, M., Kaikiri, H., Shibata, S., & Matsubara, K. (2020). Anti-stress effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract on intestinal goblet cells and immobility of forced-swimming test in BALB/c mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 84(11), 2385-2389.
- Khalil, H. S., Mansour, A. T., Goda, A. M. A., & Omar, E. A. (2019). Effect of selenium yeast supplementation on growth performance, feed utilization, lipid profile, liver and intestine histological changes, and economic benefit in meagre, *Argyrosomus regius*, fingerlings. *Aquaculture*, 501, 135-143.

## REFERENCE

- Khan, I. F. T. I. K. H. A. R., BILAL, A., SHAKEEL, K., & MALIK, F. T. (2022). Effects of Nickel Toxicity on Various Organs of The Swiss albino Mice. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 43, 1-12.
- Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S., & Ahmed, M. (2012). Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 1-7.
- Kieliszek, M., & Bano, I. (2022). Selenium as an important factor in various disease states: a review. *EXCLI journal*, 21, 948-966.
- Kieliszek, M., Bano, I., & Zare, H. (2022). A comprehensive review on selenium and its effects on human health and distribution in middle eastern countries. *Biological Trace Element Research*, 200(3), 971-987.
- Kim, S. J., Choi, M. C., Park, J. M., & Chung, A. S. (2021). Antitumor effects of selenium. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11844.
- Kıran, T. R., Otlu, O., & Karabulut, A. B. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1-11.
- Kruk, J., Aboul-Enein, H. Y., Kładna, A., & Bowser, J. E. (2019). Oxidative stress in biological systems and its relation with pathophysiological functions: the effect of physical activity on cellular redox homeostasis. *Free radical research*, 53(5), 497-521.
- Krzyżowski, M., Baran, B., Łozowski, B., & Francikowski, J. (2020). The effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil fumigation on biochemical, behavioral, and physiological parameters of *Callosobruchus maculatus*. *Insects*, 11(6), 344.
- Kumaraswamy, J., Kumar, V., & Purushotham, G. (2021). A review on mechanical and wear properties of ASTM a 494 M grade nickel-based alloy metal matrix composites. *Materials Today: Proceedings*, 37, 2027-2032.
- Kuria, A., Tian, H., Li, M., Wang, Y., Aaseth, J. O., Zang, J., & Cao, Y. (2021). Selenium status in the body and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(21), 3616-3625.
- Kuršvietienė, L., Mongirdienė, A., Bernatoniene, J., Šulinskienė, J., & Stanevičienė, I. (2020). Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status. *Antioxidants*, 9(1), 80.

*L*

- Lahouel, Z., Kharoubi, O., Boussadia, A., Bekkouche, Z., & Aoues, A. (2020). Effect of Aluminium and Aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* on rat Brain: Impact on Neurobehavioral and Histological study. *Journal of drug delivery and therapeutics*, 10(4), 179-187.
- Lakka, N., Pai, B., Mani, M. S., & Dsouza, H. S. (2023). Potential diagnostic biomarkers for lead-induced hepatotoxicity and the role of synthetic chelators and bioactive compounds. *Toxicology Research*, 12(2), 178-188
- Lamarche, J., Ronga, L., Szpunar, J., & Lobinski, R. (2021). Characterization and quantification of selenoprotein P: Challenges to mass spectrometry. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6283.
- Lei, X. G., Combs Jr, G. F., Sunde, R. A., Caton, J. S., Arthington, J. D., & Vatamaniuk, M. Z. (2022). Dietary selenium across species. *Annual Review of Nutrition*, 42, 337-375.
- Lepedda, A. J., & Formato, M. (2020). Oxidative modifications in advanced atherosclerotic plaques: a focus on in situ protein sulfhydryl group oxidation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.
- Lešnik, S., & Bren, U. (2021). Mechanistic Insights into Biological Activities of Polyphenolic Compounds from Rosemary Obtained by Inverse Molecular Docking. *Foods*, 11(1), 67.
- Lichtfouse, E., Morin-Crini, N., Bradu, C., Boussouga, Y. A., Aliaskari, M., Schäfer, A. I., ... & Crini, G. (2021). Technologies to remove selenium from water and wastewater. In *Emerging Contaminants Vol. 2: Remediation* (pp. 207-304). Cham: Springer International Publishing.
- Liu, T., Wang, J., Gong, X., Wu, X., Liu, L., & Chi, F. (2020). Rosemary and tea tree essential oils exert antibiofilm activities in vitro against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 83(7), 1261-1267.
- Liu, Y., Ma, W., Liu, Q., Liu, P., Qiao, S., Xu, L., ... & Zhang, Z. (2023). Decreased thioredoxin reductase 3 expression promotes nickel-induced damage to cardiac tissue via activating oxidative stress-induced apoptosis and inflammation. *Environmental Toxicology*, 38(2), 436-450.
- Luis Martínez-Rodríguez, J., Gutiérrez-Hernández, R., Araceli Reyes-Estrada, C., Judith Granados-López, A., Pérez-Veyna, O., Arcos-Ortega, T., & Adrián López, J. (2019).

## REFERENCE

Hepatoprotective, Antihyperlipidemic and Radical Scavenging Activity of Hawthorn (*Crataegus oxyacantha*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on Alcoholic Liver Disease. *Alternative Therapies in Health & Medicine*, 25(4).

Lv, Q., Liang, X., Nong, K., Gong, Z., Qin, T., Qin, X., ... & Zhu, Y. (2021). Advances in research on the toxicological effects of selenium. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106, 715-726.

*M*

Magherini, F., Fiaschi, T., Marzocchini, R., Mannelli, M., Gamberi, T., Modesti, P. A., & Modesti, A. (2019). Oxidative stress in exercise training: The involvement of inflammation and peripheral signals. *Free radical research*, 53(11-12), 1155-1165.

Malloy, H. T., & Evelyn, K. A. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *Journal of Biological Chemistry*, 119(2), 481-490.

Marik, P. E. (2020). Vitamin C: an essential “stress hormone” during sepsis. *Journal of thoracic disease*, 12(Suppl 1), S84.

Maurya, A. K., Pandey, C., & Chhibber, R. (2021). Dissimilar welding of duplex stainless steel with Ni alloys: A review. *International Journal of Pressure Vessels and Piping*, 192, 104439.

Maurya, R., & Namdeo, M. (2021). Superoxide dismutase: a key enzyme for the survival of intracellular pathogens in host. *Reactive Oxygen Species*.

Maurya, R., & Namdeo, M. (2021). Superoxide dismutase: a key enzyme for the survival of intracellular pathogens in host. *Reactive Oxygen Species*.

McCormick, A. L. (2018). *Nickel*. Enslow Publishing, LLC.

Mehdi, Y., Hornick, J. L., Istasse, L., & Dufrasne, I. (2013). Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18(3), 3292-3311.

Melito, S., Petretto, G. L., Chahine, S., Pintore, G., & Chessa, M. (2019). Seasonal variation of essential oil in *Rosmarinus officinalis* leaves in Sardinia. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X19864005.

## REFERENCE

- Mendonça, J. D. S., Guimarães, R. D. C. A., Zorgetto-Pinheiro, V. A., Fernandes, C. D. P., Marcelino, G., Bogo, D., ... & Nascimento, V. A. D. (2022). Natural antioxidant evaluation: A review of detection methods. *Molecules*, 27(11), 3563.
- Minich, W. B. (2022). Selenium metabolism and biosynthesis of selenoproteins in the human body. *Biochemistry (Moscow)*, 87(Suppl 1), S168-S177.
- Mishra, B., & Chandra, M. (2022). Evaluation of phytoremediation potential of aromatic plants: A systematic review. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100405.
- Mistry, S., Singh, S. K., Patel, A., & Patel, S. (2021). Medicinal plant poisoning and herb-drug interaction: a review. *Journal of Advanced Scientific Research*, 12(01), 28-35.
- Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A., ... & Simal-Gandara, J. (2022). Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University-Science*, 101865.
- Mordi, J. C., Uzuegbu, U. E., & Okunima, A. (2015). Alteration in antioxidant enzyme activities by nickel-induced hepatotoxicity in wistar rats: Ameliorating effect of the aqueous extract of myristica fragrans (nutmeg). *Biokemistri*, 27(4), 145-145.
- Mukerjee, S., Saeedan, A. S., Ansari, M. N., & Singh, M. (2021). Polyunsaturated fatty acids mediated regulation of membrane biochemistry and tumor cell membrane integrity. *Membranes*, 11(7), 479.
- Müller, H., Sperling, W., Köhrmann, M., Huttner, H. B., Kornhuber, J., & Maler, J. M. (2010). The synthetic cannabinoid Spice as a trigger for an acute exacerbation of cannabis induced recurrent psychotic episodes. *Schizophrenia research*, 118(1-3), 309-310.
- Murray, R. L. (1984). Creatinine. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*.
- Murry, R (1984). Aspartate aminotransferase. *Clin. Chem. Toronto*. pp 1112-1116.
- N*
- Naiel, M. A., Ismael, N. E., & Shehata, S. A. (2019). Ameliorative effect of diets supplemented with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on aflatoxin B1 toxicity in terms of the performance, liver histopathology, immunity and antioxidant activity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 511, 734264.

## REFERENCE

Napoli, E., Siracusa, L., & Ruberto, G. (2020). New tricks for old guys: Recent developments in the chemistry, biochemistry, applications and exploitation of selected species from the Lamiaceae Family. *Chemistry & biodiversity*, 17(3), e1900677.

Naveenkumar, S., Venkateshan, N., & Muthukumaran, A. (2022). Selenium Nanoparticles: Treatments in Tissue Engineering for Alcoholic Cardiomyopathy. In *Nanomaterials for Energy Conversion, Biomedical and Environmental Applications* (pp. 235-253). Singapore : Springer Nature Singapore.

Neziri, B., Devaja, S., Kutllovci, N., & Krasniqi, S. (2020). Avoidance of Nickel Contact Alleviate Respiratory Recurrent Symptoms in Asthmatic Patient. *Journal of International Dental and Medical Research*, 13(3), 1239-1241.

Nie, J. Y., Li, R., Wang, Y., Tan, J., Tang, S. H., & Jiang, Z. T. (2019). Antioxidant activity evaluation of rosemary ethanol extract and their cellular antioxidant activity toward HeLa cells. *Journal of food biochemistry*, 43(7), e12851.

Nikam, P. B., Salunkhe, J. D., Minkina, T., Rajput, V. D., Kim, B. S., & Patil, S. V. (2022). A review on green synthesis and recent applications of red nano Selenium. *Results in Chemistry*, 100581.

Nocentini, A., Bonardi, A., Pratesi, S., Gratteri, P., Dani, C., & Supuran, C. T. (2022). Pharmaceutical strategies for preventing toxicity and promoting antioxidant and anti-inflammatory actions of bilirubin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 487-501.



Paithankar, J. G., Saini, S., Dwivedi, S., Sharma, A., & Chowdhuri, D. K. (2021). Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction. *Chemosphere*, 262, 128350.

Patil, K. S., & Wadekar, R. R. (2021). Lipid Peroxidation: A Signaling Mechanism in Diagnosis of Diseases. *Accenting Lipid Peroxidation*, 13.

Pečjak, M., Leskovec, J., Levart, A., Salobir, J., & Rezar, V. (2022). Effects of dietary vitamin E, vitamin C, selenium and their combination on carcass characteristics, oxidative stability and breast meat quality of broiler chickens exposed to cyclic heat stress. *Animals*, 12(14), 1789.

## REFERENCE

- Pérez-Gregorio, R., Soares, S., Mateus, N., & de Freitas, V. (2020). Bioactive peptides and dietary polyphenols: Two sides of the same coin. *Molecules*, 25(15), 3443.
- Pérez-Sánchez, A., Barrajon-Catalán, E., Ruiz-Torres, V., Agulló-Chazarra, L., Herranz-López, M., Valdés, A., ... & Micol, V. (2019). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract causes ROS-induced necrotic cell death and inhibits tumor growth in vivo. *Scientific Reports*, 9(1), 808.
- Pichardo, S., Cameán, A. M., & Jos, A. (2017). In vitro toxicological assessment of cylindrospermopsin: A review. *Toxins*, 9(12), 402.
- PILLET, M. (2005). Nickel assesment geologian tutkimuskeskus, erac environmental risk assesment centre , 2-19.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.
- Placha, I., Takacova, J., Ryzner, M., Cobanova, K., Laukova, A., Stropfova, V., ... & Faix, S. (2014). Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *British Poultry Science*, 55(1), 105-114.
- Prasad, L., Khan, T. H., Jahangir, T., & Sultana, S. (2006). Chemomodulatory effects of Terminalia chebula against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(4), 233-239.
- D*
- Randjelovic, P., Veljkovic, S., Stojiljkovic, N., Velickovic, L., Sokolovic, D., Stoilkovic, M., & Ilic, I. (2012). Protective effect of selenium on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*, 35(2), 141-148.
- Rehman, A., John, P., & Bhatti, A. (2021). Biogenic selenium nanoparticles: Potential solution to oxidative stress mediated inflammation in rheumatoid arthritis and associated complications. *Nanomaterials*, 11(8), 2005.
- Rehman, M. U., Ahmad, S. B., Shah, A., Kashani, B., Ahmad, A., Mishra, R., ... & Rasool, S. (2020). An overview of the pharmacological properties and potential applications of lavender and cumin. *The Global Floriculture Industry*, 83-115.

## REFERENCE

- Reitman, S., & Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American journal of clinical pathology*, 28(1), 56-63.
- Renu, K., Chakraborty, R., Myakala, H., Koti, R., Famurewa, A. C., Madhyastha, H., ... & Gopalakrishnan, A. V. (2021). Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium)-induced hepatotoxicity—A review. *Chemosphere*, 271, 129735.
- Rosalki, S. B., Foo, A. Y., Burlina, A., Prellwitz, W., Stieber, P., Neumeier, D., ... & Bodenmüller, H. (1993). Multicenter evaluation of Iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clinical chemistry*, 39(4), 648-652.
- Roy, Z., Bansal, R., Siddiqui, L., & Chaudhary, N. (2023). Understanding the Role of Free Radicals and Antioxidant Enzymes in Human Diseases. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 24(10), 1265-1276.
- S*
- Saad Algarni, T., Abduh, N. A., Al Kahtani, A., & Aouissi, A. (2022). Photocatalytic degradation of some dyes under solar light irradiation using ZnO nanoparticles synthesized from *Rosmarinus officinalis* extract. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 15(2), 460-473.
- Sahu, C., Dwivedi, D. K., & Jena, G. B. (2020). Zinc and selenium combination treatment protected diabetes-induced testicular and epididymal damage in rat. *Human & experimental toxicology*, 39(9), 1235-1256.
- Saifi, M. A., Khan, W., & Godugu, C. (2018). Cytotoxicity of nanomaterials: Using nanotoxicology to address the safety concerns of nanoparticles. *Pharmaceutical nanotechnology*, 6(1), 3-16.
- Sajib, M., & Undeland, I. (2020). Towards valorization of herring filleting by-products to silage 2.0: Effect of temperature and time on lipid oxidation and non-enzymatic browning reactions. *LWT*, 127, 109441.
- Sanchez, S., Smith, P., Xu, Z., Gaspard, G., Hyde, C. J., Wits, W. W., ... & Clare, A. T. (2021). Powder Bed Fusion of nickel-based superalloys: A review. *International Journal of Machine Tools and Manufacture*, 165, 103729.

## REFERENCE

- Sarıkaya, E., & Doğan, S. (2020). Glutathione peroxidase in health and diseases. *Glutathione system and oxidative stress in health and disease*, 49.
- Schalenbach, M., Speck, F. D., Ledendecker, M., Kasian, O., Goehl, D., Mingers, A. M., ... & Mayrhofer, K. J. (2018). Nickel-molybdenum alloy catalysts for the hydrogen evolution reaction: Activity and stability revised. *Electrochimica acta*, 259, 1154-1161.
- Schlieck, T. M. M., Petrolli, T. G., Bissacotti, B. F., Copetti, P. M., Bottari, N. B., Morsch, V. M., & da Silva, A. S. (2021). Addition of a blend of essential oils (cloves, rosemary and oregano) and vitamin E to replace conventional chemical antioxidants in dog feed: Effects on food quality and health of beagles. *Archives of Animal Nutrition*, 75(5), 389-403.
- Schomburg, L. (2022). Selenoprotein P–Selenium transport protein, enzyme and biomarker of selenium status. *Free Radical Biology and Medicine*.
- Schweizer, U., & Fabiano, M. (2022). Selenoproteins in brain development and function. *Free Radical Biology and Medicine*, 190, 105-115.
- Srivastava, S., Singh, D., Patel, S., & Singh, M. R. (2017). Role of enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress in autoimmune disorders. *International journal of biological macromolecules*, 101, 502-517.
- Staneviciene, I., Sulinskiene, J., Sadauskiene, I., Liekis, A., Ruzgaite, A., Naginiene, R., ... & Viezeliene, D. (2022). Effect of Selenium on the Iron Homeostasis and Oxidative Damage in Brain and Liver of Mice. *Antioxidants*, 11(7), 1216.
- Šulinskienė, J., Bernotienė, R., Baranauskienė, D., Naginienė, R., Stanevičienė, I., Kašauskas, A., & Ivanov, L. (2019). Effect of zinc on the oxidative stress biomarkers in the brain of nickel-treated mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Sumdani, M. G., Islam, M. R., Yahaya, A. N. A., & Safie, S. I. (2022). Recent advancements in synthesis, properties, and applications of conductive polymers for electrochemical energy storage devices: A review. *Polymer Engineering & Science*, 62(2), 269-303.
- Szymańska, R., Nowicka, B., Trela, A., & Kruk, J. (2020). Vitamin E: Structure and forms. In *Molecular nutrition* (pp. 67-90). Academic Press.

*T*

## REFERENCE

Tayar, S. P., Yeste, M. P., Ramirez, M., Cabrera, G., Bevilaqua, D., Gatica, J. M., ... & Cantero, D. (2020). Nickel recycling through bioleaching of a Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> commercial catalyst. *Hydrometallurgy*, *195*, 105350.

Tichati, L., Trea, F., & Ouali, K. (2020). Potential role of selenium against hepatotoxicity induced by 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in albino Wistar rats. *Biological trace element research*, *194*, 228-236.

Topal, M., & Gulcin, İ. (2022). Evaluation of the in vitro antioxidant, antidiabetic and anticholinergic properties of rosmarinic acid from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *43*, 102417.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, *103*(3), 816-822.

Tramontana, M., Bianchi, L., Hansel, K., Agostinelli, D., & Stingeni, L. (2020). Nickel allergy: epidemiology, pathomechanism, clinical patterns, treatment and prevention programs. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, *20*(7), 992-1002.

Tretter, V., Hochreiter, B., Zach, M. L., Krenn, K., & Klein, K. U. (2021). Understanding cellular redox homeostasis: A challenge for precision medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(1), 106.

Tupikina, E. Y. (2022). Non-covalent interactions in the glutathione peroxidase active center and their influence on the enzyme activity. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *20*(28), 5551-5557.

Turrubiates-Hernández, F. J., Márquez-Sandoval, Y. F., González-Estevez, G., Reyes-Castillo, Z., & Muñoz-Valle, J. F. (2020). The relevance of selenium status in rheumatoid arthritis. *Nutrients*, *12*(10), 3007.

U

Ulrich, K., & Jakob, U. (2019). The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radical Biology and Medicine*, *140*, 14-27.

V

## REFERENCE

- Vahalová, P., & Cifra, M. (2022). Biological autoluminescence as a perturbation-free method for monitoring oxidation in biosystems. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*.
- Vairetti, M., Di Pasqua, L. G., Cagna, M., Richelmi, P., Ferrigno, A., & Berardo, C. (2021). Changes in glutathione content in liver diseases: an update. *Antioxidants*, 10(3), 364.
- Vaish, S., Gupta, D., Mehrotra, R., Mehrotra, S., & Basantani, M. K. (2020). Glutathione S-transferase: A versatile protein family. *3 Biotech*, 10, 1-19.
- Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C. J., Kuča, K., & Musílek, K. (2016). Redox-and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of toxicology*, 90, 1-37.
- Van Wyk, B. E., & Wink, M. (2018). *Medicinal plants of the world*. CABI.
- Vašková, J., Kočan, L., Vaško, L., & Perjési, P. (2023). Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*, 28(3), 1447.
- Viczek, S. A., Aldrian, A., Pomberger, R., & Sarc, R. (2020). Origins and carriers of Sb, As, Cd, Cl, Cr, Co, Pb, Hg, and Ni in mixed solid waste—a literature-based evaluation. *Waste management*, 103, 87-112.
- Vinceti, M., Filippini, T., Jablonska, E., Saito, Y., & Wise, L. A. (2022). Safety of selenium exposure and limitations of selenoprotein maximization: Molecular and epidemiologic perspectives. *Environmental Research*, 211, 113092.
- Virk, P., Elobeid, M., Hamad, S., Korany, Z., Al-Amin, M., Daghestani, M., ... & Mirghani, N. M. (2013). Ameliorative effects of *Embilica officinalis* and *Rosmarinus officinalis* on cadmium-induced oxidative stress in Wistar rats. *J Med Plant Res*, 7(14), 805-818.
- Vladimir-Knežević, S., Perković, M., Zagajski Kučan, K., Mervić, M., & Rogošić, M. (2021). Green extraction of flavonoids and phenolic acids from elderberry (*Sambucus nigra* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) using deep eutectic solvents. *Chemical Papers*, 1-9.
- 
- Wang, L., Yu, H., Ullah, R. S., Haroon, M., Fahad, S., Li, J., ... & Nazir, A. (2018). Recent progress in the electron paramagnetic resonance study of polymers. *Polymer Chemistry*, 9(24), 3306-3335.

## REFERENCE

Wani, A. R., Yadav, K., Khursheed, A., & Rather, M. A. (2021). An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microbial Pathogenesis*, *152*, 104620.

Weaver, K., & Skouta, R. (2022). The selenoprotein glutathione peroxidase 4: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities. *Biomedicines*, *10*(4), 891.

Weaver, K., & Skouta, R. (2022). The selenoprotein glutathione peroxidase 4: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities. *Biomedicines*, *10*(4), 891.

Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, *40*(3), 257-264.

Williams, K. M., Dudgeon, R. P., Chmely, S. C., & Robey, S. R. (2011). Reaction of platinum (II) diamine and triamine complexes with selenomethionine. *Inorganica chimica acta*, *368*(1), 187-193.

*z*

Xiao, C., Dai, H., Liu, H., Wang, Y., & Tang, H. (2008). Revealing the metabonomic variation of rosemary extracts using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*(21), 10142-10153.

*y*

Yang, J., Feng, P., Ling, Z., Khan, A., Wang, X., Chen, Y., ... & Li, X. (2023). Nickel exposure induces gut microbiome disorder and serum uric acid elevation. *Environmental Pollution*, 121349.

Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., & Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. *Antioxidants*, *6*(3), 70.

Yildiz, A., Kaya, Y., & Tanriverdi, O. (2019). Effect of the interaction between selenium and zinc on DNA repair in association with cancer prevention. *Journal of Cancer Prevention*, *24*(3), 146.

## REFERENCE

Yokota, S., Nakamura, K., & Kamata, R. (2019). A comparative study of nickel nanoparticle and ionic nickel toxicities in zebrafish: histopathological changes and oxidative stress. *The Journal of Toxicological Sciences*, 44(11), 737-751.

✍

Zeliger, H. (2011). *Human toxicology of chemical mixtures*. William Andrew.

Zhang, X., Gan, X., E, Q., Zhang, Q., Ye, Y., Cai, Y., ... & Liang, C. (2019). Ameliorative effects of nano-selenium against NiSO<sub>4</sub>-induced apoptosis in rat testes. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(7), 467-477.

Zhao, X. E., Zuo, Y. N., Qu, X., Sun, J., Liu, L., & Zhu, S. (2019). Colorimetric determination of the activities of tyrosinase and catalase via substrate-triggered decomposition of MnO<sub>2</sub> nanosheets. *Microchimica Acta*, 186, 1-7.

Zheng, S., Hameed Sultan, A., Kurtas, P. T., Kareem, L. A., & Akbari, A. (2022). Comparison of the effect of vitamin C and selenium nanoparticles on gentamicin-induced renal impairment in male rats: a biochemical, molecular and histological study. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 1-11.

Zhu, L., Luo, M., Zhang, Y., Fang, F., Li, M., An, F., ... & Zhang, J. (2023). Free radical as a double-edged sword in disease: Deriving strategic opportunities for nanotherapeutics. *Coordination Chemistry Reviews*, 475, 214875.

Żwieręło, W., Styburski, D., Maruszewska, A., Piorun, K., Skórka-Majewicz, M., Czerwińska, M., ... & Gutowska, I. (2020). Bioelements in the treatment of burn injuries—The complex review of metabolism and supplementation (copper, selenium, zinc, iron, manganese, chromium and magnesium). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126616.

Zwolak, I. (2020). The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: an updated review of scientific literature. *Biological trace element research*, 193(1), 44-63.

# **Annexe**

## Annexe 01

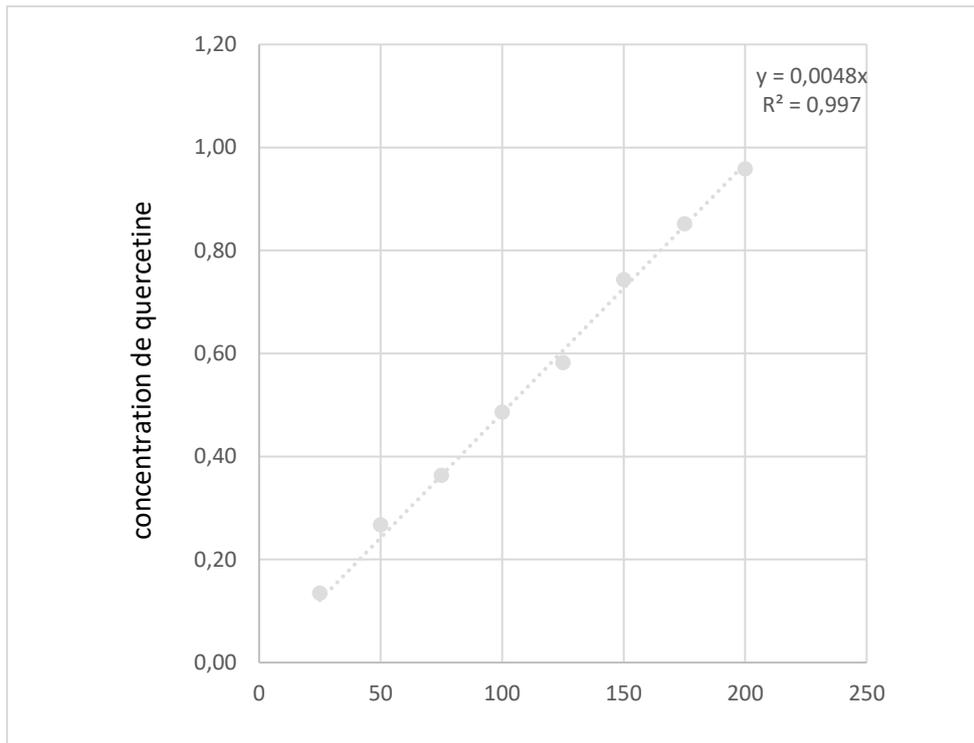


Figure. 01 Courbe d'étalonnage d'Acide Gallique

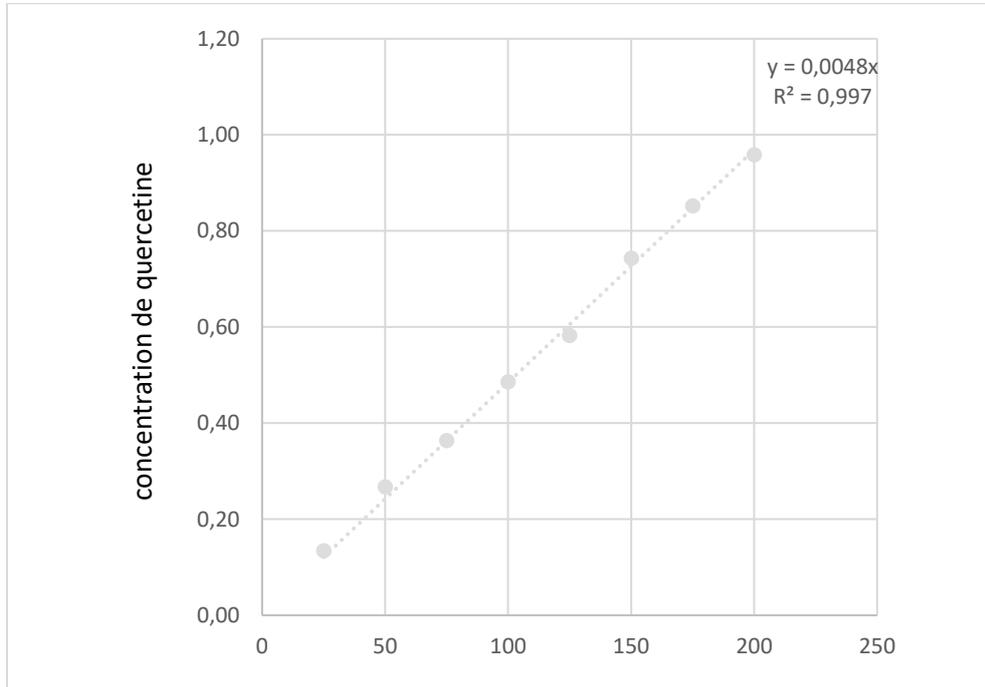


Figure. 02 Courbe d'étalonnage de Quercétine