

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE TOXICOLOGIE ENVIRONNEMENTALE

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT  
En Biochimie-Immunologie

### THEME

**Exploration de la réponse inflammatoire/antioxydante chez  
les rats Wistar sensibilisés à l'ovalbumine et soumis à une  
immunothérapie par un agoniste du TLR7 versus un extrait  
de plante de *Hedera algeriensis***

Présentée par : Halimi Imen

#### Membres de Jury:

Nom & Prénom	Grade	Etablissement de rattachement	Qualité
SBARTAI Hana	Pr.	Université Badji Mokhtar – Annaba	Présidente
BOURZAMA Ghania	MCA	Université Badji Mokhtar – Annaba	Examinatrice
ARIBI Mourad	Pr.	Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen	Examineur
BOUMENDJEL Amel	Pr.	Université Badji Mokhtar – Annaba	Directrice de thèse
FEKNOUS Nesrine	MCA	Université Chadli Bendjedid- Eltarf	Co-Directrice de thèse

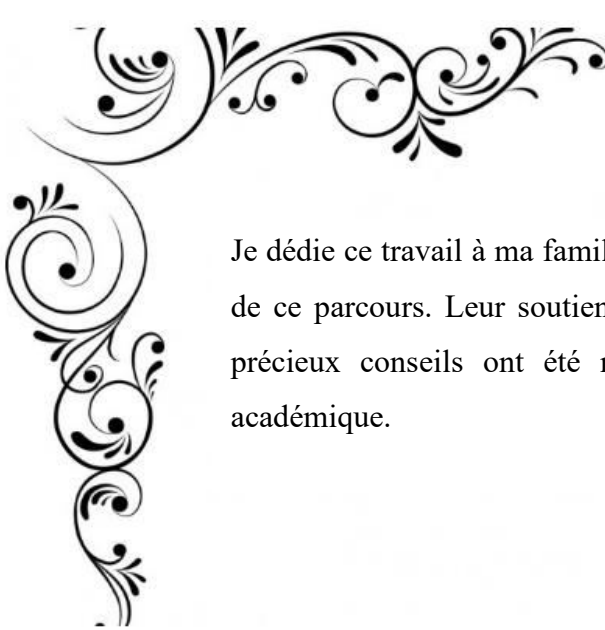
2024/2025

---

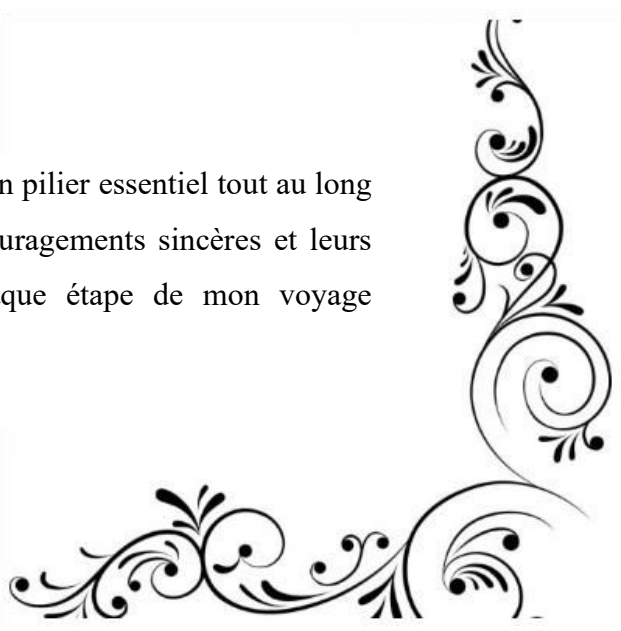
# ***DÉDICACE***

---

## DEDICACE



Je dédie ce travail à ma famille bien-aimée, qui a été un pilier essentiel tout au long de ce parcours. Leur soutien inébranlable, leurs encouragements sincères et leurs précieux conseils ont été ma force motrice à chaque étape de mon voyage académique.



---

# ***REMERCIEMENTS***

---



## Remerciements

**Louange à Allah, le Tout-Puissant, le Clément et le Miséricordieux, pour Ses innombrables bienfaits, ainsi que pour la force et la patience qu'Il m'a accordées tout au long de ce travail. C'est par Sa grâce que j'ai pu mener à bien cette recherche et surmonter les difficultés rencontrées.**

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadrante, Mme **BOUMENDJEL Amel**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour son accompagnement précieux, ses conseils avisés et son soutien indéfectible tout au long de cette recherche. Son expertise, sa rigueur scientifique et sa bienveillance ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail et à mon épanouissement en tant que chercheuse. Je vous suis profondément reconnaissante. Votre soutien a été une véritable source de motivation tout au long de ces années.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma co-encadrante Mme **FEKNOUS Nesrine**, MCA à l'Université d'El-Tarf. Sa rigueur scientifique, son encadrement bienveillant sur la paillasse et son expertise m'ont été d'une aide inestimable et m'ont permis d'acquérir des compétences essentielles. Je la remercie chaleureusement pour le temps qu'elle m'a consacré, pour son attention et son savoir-faire qu'elle a su me transmettre avec patience et méticulosité. Recevez toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Mme la **Professeure SBARTAI Hana**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui m'a fait l'honneur de présider le jury. Je la remercie pour sa disponibilité et l'intérêt porté à mon travail.

J'exprime également ma profonde gratitude à **Mr. Le Professeur ARIBI Mourad**, de l'Université de Tlemcen. Je lui suis reconnaissante d'avoir accepté d'examiner mon travail, en mettant à profit son expertise pour l'évaluer.

Mes sincères remerciements vont à **Mme BOURZAMA Ghania**, MCA à l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour avoir accepté d'évaluer mon travail et pour l'attention qu'elle lui portera.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Mr. le **Professeur MESSARAH Mahfoud**, directeur de mon laboratoire, pour son soutien et sa précieuse guidance. Son engagement et ses conseils m'ont été d'une grande aide tout au long de mon parcours de recherche.

Je remercie chaleureusement Mr le **Professeur BOUMENDJEL Mahieddine** pour son soutien, ses conseils avisés et son aide précieuse tout au long de ces années.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Messieurs les **Professeurs Mustafa Abdullah YILMAZ, Oguz ÇAKIR et Abbas TARHAN** pour m'avoir chaleureusement accueillie dans leur laboratoire à l'Université de Dicle, à Diyarbakır, en Turquie. Leur bienveillance, leur disponibilité et leurs conseils ont enrichi mon expérience lors de ce stage de courte durée.

Enfin, un immense merci à tous mes collègues du **laboratoire LBTE** pour leur soutien et leur collaboration tout au long de cette aventure scientifique. Travailler à vos côtés a été une expérience enrichissante et motivante. Votre aide et votre bonne humeur ont fait toute la différence. Merci à chacun de vous.



---

# ***RÉSUMÉS***

---

## RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était d'explorer les propriétés bioactives de *Hedera algeriensis*, en mettant l'accent sur ses composés phytochimiques, son activité antioxydante, inhibitrice des enzymes et antimicrobienne, ainsi que son potentiel effet protecteur dans un modèle expérimental d'asthme allergique. Les effets anti-inflammatoires et antioxydants de *Hedera algeriensis* ont été comparés à ceux de l'immunothérapie par imiquimod, un agoniste synthétique du récepteur Toll-like 7 (TLR7), utilisé dans la modulation de la réponse immunitaire. Pour cela, 48 rats Wistar mâles ont été répartis en huit groupes : un groupe témoin, un groupe sensibilisé à l'ovalbumine (OVA), et d'autres traités à la prednisolone (Pred), à l'extrait de *H. algeriensis* (Ha), à l'imiquimod (Imiq), ou à des combinaisons de ces traitements. Après 21 jours, les liquides du lavage broncho-alvéolaire (LBA) et le sang ont été analysés pour évaluer les cellules inflammatoires et les paramètres biochimiques. Les tissus pulmonaires, hépatiques, rénaux et spléniques ont été examinés pour mesurer le stress oxydatif et réaliser des analyses histopathologiques. Les niveaux de cytokine TNF- $\alpha$ , ont été quantifiés par ELISA dans les poumons. L'analyse phytochimique par LC-MS/MS a identifié quinze composés phénoliques dans l'extrait de *Hedera algeriensis*, dont l'acide quinique est le composant majoritaire et l'hespéridine, l'acide fumarique, l'aldéhyde protocatéchuïque, l'acide salicylique et la daidzine, détectés pour la première fois dans cette espèce, typiquement algérienne. L'extrait aqueux a montré une activité antioxydante, antidiabétique, antityrosinase et anti-Alzheimer, mais aucune activité antimicrobienne. La sensibilisation à l'OVA a induit une réponse inflammatoire marquée, caractérisée par une infiltration de cellules immunitaires dans le LBA et le sang, ainsi qu'une augmentation significative des marqueurs de stress oxydatif (MDA, PCO, AOPP, NO) et des niveaux de TNF- $\alpha$ . Ces modifications étaient associées à une diminution significative des enzymes antioxydantes (GPX, SOD, GST, catalase, GSH) et à des altérations histopathologiques des tissus pulmonaires, hépatiques et rénaux. Cependant, l'administration de l'imiquimod et de l'extrait de *H. algeriensis* a significativement atténué ces altérations, ramenant les paramètres oxydatifs et inflammatoires à des niveaux proches de ceux des témoins. Ces effets, probablement liés aux composés phénoliques, suggèrent une modulation immunitaire comparable à celle de l'imiquimod. Ainsi, cette étude met en évidence le potentiel thérapeutique de *Hedera algeriensis* dans le traitement de l'asthme allergique.

**Mots-clés :** Asthme allergique ; Lierre algérien (*Hedera algeriensis*) ; composés phénoliques ; LC-MS/MS ; imiquimod ; immunomodulation (TNF- $\alpha$ ) ; histopathologie ; stress oxydatif.

## ABSTRACT

The aim of this study was to explore the bioactive properties of *Hedera algeriensis*, focusing on its phytochemical compounds, antioxidant, enzyme inhibitory, and antimicrobial activities, as well as its potential protective effect in an experimental model of allergic asthma. The anti-inflammatory and antioxidant effects of *Hedera algeriensis* were compared with those of immunotherapy using imiquimod, a synthetic agonist of Toll-like receptor 7 (TLR7), used to modulate immune responses. For this purpose, 48 male Wistar rats were divided into eight groups: a control group, an ovalbumin (OVA)-sensitized group, and others treated with prednisolone (Pred), *H. algeriensis* extract (Ha), imiquimod (Imiq), or combinations of these treatments. After 21 days, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and blood were analyzed to evaluate inflammatory cells and biochemical parameters. Lung, liver, kidney, and spleen tissues were examined to assess oxidative stress and for histopathological analysis. TNF- $\alpha$  cytokine levels were quantified by ELISA in the lungs. Phytochemical analysis by LC-MS/MS identified fifteen phenolic compounds in the *Hedera algeriensis* extract, with quinic acid as the major component, along with hesperidin, fumaric acid, protocatechualdehyde, salicylic acid, and daidzin, detected for the first time in this typically Algerian species. The aqueous extract showed antioxidant, antidiabetic, anti-tyrosinase, and anti-Alzheimer activities, but no antimicrobial activity. Sensitization to OVA induced a marked inflammatory response, characterized by immune cell infiltration in the BALF and blood, as well as a significant increase in oxidative stress markers (MDA, PCO, AOPP, NO) and TNF- $\alpha$  levels. These changes were associated with a significant decrease in antioxidant enzymes (GPX, SOD, GST, catalase, GSH) and histopathological alterations in lung, liver, and kidney tissues. However, administration of imiquimod and *H. algeriensis* extract significantly alleviated these alterations, restoring oxidative and inflammatory parameters to levels close to those of the control group. These effects, probably related to phenolic compounds, suggest immune modulation comparable to that of imiquimod. Thus, this study highlights the therapeutic potential of *Hedera algeriensis* in the treatment of allergic asthma.

**Keywords:** Allergic asthma; Algerian ivy (*Hedera algeriensis*); phenolic compounds; LC-MS/MS ; imiquimod; immunomodulation (TNF- $\alpha$ ); histopathology; oxidative stress.

## ملخص

هدف هذه الدراسة هو استكشاف الخصائص الحيوية لنبات اللبلاب الجزائري (*Hedera algeriensis*)، مع التركيز على مركباته الكيميائية النباتية، ونشاطه المضاد للأكسدة، وقدرته على تثبيط الإنزيمات، وفعاليته المضادة للميكروبات، بالإضافة إلى تأثيره الوقائي المحتمل في نموذج تجريبي للربو التحسسي. تمت مقارنة التأثيرات المضادة للالتهاب والمضادة للأكسدة لنبات اللبلاب الجزائري مع تلك الخاصة بالعلاج المناعي باستخدام الإيميكومود، وهو رابط اصطناعي لمستقبل Toll-like 7 (TLR7)، ويُستخدم في تعديل الاستجابة المناعية. لهذا الغرض، تم تقسيم 48 جردًا من ذكور ويستار إلى ثماني مجموعات: مجموعة شاهدة، مجموعة مفرطة التحسس بالأوفالومين (OVA)، ومجموعات عولجت بالبريدنيزولون (Pred)، أو مستخلص اللبلاب الجزائري (Ha)، أو الإيميكومود (Imiq)، بالإضافة إلى مجموعات تلقت مزيجًا من هذه العلاجات. بعد 21 يومًا، تم تحليل غسل القصبات الهوائية (LBA) والدم لتقييم الخلايا الالتهابية والمعايير البيوكيميائية. كما تم فحص أنسجة الرئة والكبد والكلى والطحال لقياس الإجهاد التأكسدي وإجراء التحاليل النسيجية المرضية. تم قياس مستويات السيتوكين TNF- $\alpha$  في الرئتين باستخدام تقنية ELISA. كشفت التحاليل الفيتوكيميائية بتقنية LC-MS/MS عن وجود خمسة عشر مركبًا فينوليًا في مستخلص اللبلاب الجزائري، وكان حمض الكينيك هو المكون الرئيسي، إلى جانب الهيسبيردين، وحمض الفوماريك، والألدهيد البروتوكاتيكوي، وحمض الساليسيليك، والدايدزين، والتي تم الكشف عنها لأول مرة في هذا النوع النباتي الجزائري. المستخلص المائي أظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة، ومضادًا لمرض السكري، ومثبطًا لإنزيم التيروزيناز، ومضادًا لمرض ألزهايمر. أظهرت النتائج أن التحسيس بـ OVA أدى إلى استجابة التهابية واضحة، تميزت بتسلل الخلايا المناعية في سائل LBA والدم، بالإضافة إلى زيادة كبيرة في مؤشرات الإجهاد التأكسدي (MDA, PCO, AOPP, NO) ومستويات TNF- $\alpha$ . ارتبطت هذه التغيرات بانخفاض كبير في إنزيمات مضادات الأكسدة، (GPX, SOD, GST, catalase, GSH) وحدثت تغيرات نسيجية مرضية في أنسجة الرئة والكبد والكلى. أما إعطاء الإيميكومود ومستخلص اللبلاب الجزائري قد خفف بشكل ملحوظ من هذه التغيرات، وأعاد المعايير التأكسدية والالتهابية إلى مستويات قريبة من القيم الطبيعية. تشير هذه التأثيرات، والتي يُحتمل أن تكون مرتبطة بالمركبات الفينولية، إلى وجود تعديل مناعي مشابه لما يسببه الإيميكومود. وبذلك، تسلط هذه الدراسة الضوء على الإمكانيات العلاجية لنبات اللبلاب الجزائري في معالجة الربو التحسسي.

**الكلمات المفتاحية:** الربو التحسسي؛ اللبلاب الجزائري (*Hedera algeriensis*)؛ المركبات الفينولية؛ LC-MS/MS؛ الإيميكومود؛ تعديل المناعة (TNF- $\alpha$ )؛ علم الأمراض النسيجي؛ الإجهاد التأكسدي.



---

***LISTE DES  
ABRÉVIATIONS***

---

## Liste des abréviations

**ADP** : Acariens Domestiques Permanents.  
**AChE** : Acétylcholinestérase  
**AOPP** : Produit d'Oxydation Avancée des Protéines  
**LBA** : Lavage Bronchoalvéolaire  
**BChE** : Butyrylthiocholine estérase  
**BHT** : Hydroxytoluène Butylé  
**BPCO** : broncho-pneumopathie chronique obstructive  
**BSA** : Albumine de Sérum Bovin  
**CAT**: Catalase  
**CBP**: CREB binding protein  
**CD** : Cellules dendritiques  
**CE** : cellules épithéliales  
**CLI2** : cellule lymphoïde innée 2  
**CMLVR** : Cellules du Muscle Lisse des Voies Respiratoires.  
**CPA** : cellules présentatrices d'antigène  
**CSI** : corticostéroïdes inhalés  
**Duox1** : Dual oxydase 1  
**Duox2** : Dual oxydase 2  
**EAC** : Equivalents d'acarbose  
**EAK** : Equivalents d'Acide kojique  
**EBS** : extrait brut de saponines  
**ELISA** : Enzyme-Linked Immuno- Sorbent Assay (Dosage Immunoenzymatique)  
**EPS** : extraits purifiés de saponines  
**GALA** : Galanthamine  
**GM-CSF** : Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor  
**GPx** : Glutathione Peroxidase  
**GR** : Granulocytes  
**GSH** : Glutathione Réduit (L-glutathione reduced)  
**GST** : Glutathione-S-Transferase  
**Ha** : *Hedera algeriensis*  
**IL-4R $\alpha$**  : récepteur alpha de l'interleukine 4  
**Imiq** : Imiquimod  
**IRF4** : Interferon regulatory factor 4  
**Keap1-Nrf2-ARE** : Kelch-like ECH-associated protein 1-Nuclear factor erythroid 2 related factor 2-Antioxydant response element (Complexe Keap1-Nrf2-Élément de Réponse Antioxydant)  
**KI** : Iodure de Potassium  
**LPS** : lipopolysaccharide  
**LST** : Lymphopoïétine stromale thymique  
**Lymp** : Lymphocytes

**MAP** : macrophages alvéolaires pulmonaires  
**MAPKs** : Mitogen-Activated Protein Kinases (Protéines Kinases Activées par les Mitogènes)  
**MBP** : protéine basique majeure  
**MCV** : Mean Corpuscular Volume (Volume globulaire moyen)  
**MDA** : Malondialdéhyde  
**MEC** : matrice extracellulaire  
**MNT** : maladies non transmissibles  
**MO**: Monocytes  
**NDE** : neurotoxine dérivée des éosinophiles  
**NF- $\kappa$ B** : Facteur nucléaire-kappa B.  
**NKT** : Natural Killer T  
**NO** : Oxyde Nitrique  
**Nox** : NADPH Oxydase  
**OVA** : Ovalbumine  
**PAF** : facteur d'activation plaquettaire  
**PCE** : protéine cationique des éosinophiles  
**PCO** : Carbonyles Protéiques  
**PE** : peroxydase des éosinophiles  
**PGD<sub>2</sub>** : prostaglandine D<sub>2</sub>  
**PPAR- $\gamma$** : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma  
**Pred** : Prednisolone  
**RBC**: Red Blood Cells (globules rouges)  
**RE** : réticulum endoplasmique  
**RH2** : récepteur de l'histamine 2  
**RNS** : Espèces Réactives de l'Azote  
**ROS** : Espèces Réactives de l'Oxygène  
**SOD** : Superoxyde Dismutase  
**TCR** : Récepteur des lymphocytes T  
**TFH** : Follicular helper T cell  
**TL1A** : TNF like cytokine 1A  
**TLR** : Récepteur Toll-Like  
**TNF $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor Alpha (Facteur de Nécrose Tumorale Alpha)  
**WBC** : White Blood Cells (Globules Blancs)  
 **$\gamma\delta$ T**: (cellules) gamma-delta T

---

# ***LISTE DES FIGURES***

---

## Liste des figures

FIGURE 1 : REPRESENTATION D'UNE BRANCHE SAIN (A) ET D'UNE BRANCHE D'UN SUJET ASTHMATIQUE (B). .....	4
FIGURE 2 : PRINCIPALES VOIES IMMUNO-INFLAMMATOIRES IMPLIQUEES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ASTHME ALLERGIQUE .....	7
FIGURE 3 : MECANISMES IMMUNOLOGIQUES DE LA SENSIBILISATION ET DE LA REPOSE EFFECTRICE DANS L'ASTHME ALLERGIQUE .....	8
FIGURE 4 : ROLE CENTRAL DES LYMPHOCYTES TH2 ET DES CELLULES LYMPHOIDES INNEES (ILC2) DANS L'INFLAMMATION DE TYPE 2 ET LE REMODELAGE DES VOIES AERIENNES. ....	10
FIGURE 5 : IMPLICATION DU STRESS OXYDATIF DANS L'INFLAMMATION DE TYPE 2 ET LE REMODELAGE DES VOIES AERIENNES DANS L'ASTHME. ....	15
FIGURE 6 : STRUCTURE CHIMIQUE DE L'IMIQUIMOD .....	22
FIGURE 7 : LES FEUILLES, LES FLEURS ET LES FRUITS D'HEDERA ALGERIENSIS .....	29
FIGURE 8 : CARTE D'ANNABA MONTRANT LE SITE DE RECOLTE DE LA PLANTE « HEDERA ALGERIENSIS » SUR LES HAUTEURS DE SERAIDI (ANNABA).....	33
FIGURE 9 : PREPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX DE HEDERA ALGERIENSIS. ....	34
FIGURE 10 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DES INVESTIGATIONS EXPERIMENTALES MENEES IN VITRO SUR L'EXTRAIT AQUEUX DE LA PLANTE .....	34
FIGURE 11 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL <i>IN VIVO</i> . ....	41
FIGURE 12: PROTOCOLE EXPERIMENTAL D'ASTHME ALLERGIQUE. VOIES D'ADMINISTRATION ET REPARTITION DES TRAITEMENTS. ....	43
FIGURE 13 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DE LA TECHNIQUE D'HISTOLOGIE.....	48
FIGURE 14 : CHROMATOGRAMMES DES SUBSTANCES PHYTOCHIMIQUES STANDARD (A) ET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> (B) OBTENUS PAR LES ANALYSES LC-MS/MS. ....	51
FIGURE 15 : VARIATION DU TAUX DU FACTEUR DE NECROSE TUMORALE ALPHA CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	66
FIGURE 16 : VARIATION DES TAUX DE PCO DANS LES POUMONS CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX....	71
FIGURE 17 : VARIATION DES TAUX DU GLUTATHION REDUIT DANS LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX... ..	72
FIGURE 18 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA GLUTATHION PEROXYDASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	74
FIGURE 19 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA CATALASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	75
FIGURE 20 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	76
FIGURE 21 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA GLUTATHIONNE S TRANSFERASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	77
FIGURE 22 : CERCLE DES CORRELATIONS DES VARIABLES ISSUES DE L'ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES DES MARQUEURS DE L'INFLAMMATION BRONCHIQUE (EN BLEU) ET DU STRESS OXYDATIF (EN ROUGE). ....	78
FIGURE 23 : MICROGRAPHIES DE SECTIONS HEPATIQUES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX. ....	80
FIGURE 24: MICROGRAPHIES DES SECTIONS PULMONAIRES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX. ....	82
FIGURE 25: MICROGRAPHIES DE SECTIONS RENALES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX.....	84

---

# ***LISTE DES TABLEAUX***

---

## Liste des tableaux

TABLEAU 1 : PRINCIPALES ESPECES DE LIERRE ( <i>HEDERA SPP</i> ) ET LEUR REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	27
TABLEAU 2 : CLASSIFICATION BOTANIQUE DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	27
TABLEAU 3 : RENDEMENT, TENEURS EN POLYPHENOLS, FLAVONOÏDES ET TANINS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	50
TABLEAU 4 : PROFIL LC-MS/MS DES METABOLITES PHYTOCHIMIQUES IDENTIFIES DANS L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	52
TABLEAU 5 : ACTIVITES DPPH, FRAP ET CAT DANS L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> ( <i>Ha</i> ) .....	54
TABLEAU 6 : ACTIVITES INHIBITRICES ENZYMATIQUES DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	54
TABLEAU 7 : DIAMETRES D'INHIBITION EN FONCTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE L'EXTRAIT DE <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	55
TABLEAU 8 : VARIATION DU POIDS CORPOREL CHEZ LES RATS TEMOINS ET TRAITES .....	57
TABLEAU 9 : VARIATIONS DES POIDS ABSOLU (PA) ET RELATIF (PR) DES ORGANES CLES .....	58
TABLEAU 10 : VARIATION DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX....	61
TABLEAU 11 : NUMERATION CELLULAIRE DANS LE LIQUIDE DU LBA DES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.....	62
TABLEAU 12 : VARIATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	64
TABLEAU 13 : VARIATION DU TAUX DE MDA DANS LES ORGANES CLES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	67
TABLEAU 14 : VARIATION DU TAUX D'AOPP DANS LES ORGANES CLES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX. ....	69
TABLEAU 15 : VARIATION DU TAUX DE NO DANS LES ORGANES CLES DES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX....	70

---

# ***TABLE DES MATIÈRES***

---

DEDICACE .....	I
REMERCIEMENTS .....	II
RÉSUMÉ .....	III
ABSTRACT .....	IV
ملخص .....	V
LISTE DES ABREVIATIONS .....	VI
LISTE DES FIGURES .....	VIII
LISTE DES TABLEAUX .....	IX
INTRODUCTION .....	1
<b>1 CHAPITRE I. L'ASTHME ALLERGIQUE.....</b>	<b>4</b>
1.1 DEFINITION.....	4
1.2 EPIDEMIOLOGIE.....	5
1.3 PHYSIOPATHOLOGIE .....	5
1.3.1 Bronchoconstriction.....	6
1.3.2 Œdème des voies respiratoires .....	6
1.3.3 Remodelage des voies respiratoires.....	6
1.4 CELLULES ORCHESTRATRICES DE LA REPOSE IMMUNITAIRE DE TYPE 2 DANS L'ASTHME ALLERGIQUE .....	7
1.4.1 Mastocytes, cellules T gamma delta et cellules NKT.....	9
1.4.2 Cellules lymphoïdes innées de type 2 (CLI2).....	9
1.4.3 Basophiles.....	11
1.4.4 Cellules T auxiliaires de type 2 (TH2) .....	11
1.4.5 Cellules dendritiques (CD) présentatrices de l'allergène .....	12
1.4.6 Macrophages alvéolaires, interstitielles et infiltrantes dans les tissus .....	13
1.5 TRAITEMENT CLASSIQUE DE L'ASTHME ALLERGIQUE .....	14
1.6 RÔLE DU STRESS OXYDATIF DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ASTHME ALLERGIQUE .....	14
1.6.1 Source de Production des ROS.....	15
1.6.1.1 Sources cellulaires endogène des ROS .....	15
1.6.1.2 Sources exogènes des ROS .....	16
1.6.2 Déséquilibre redox au niveau cellulaire .....	17
1.6.3 Mécanismes antioxydants cellulaires .....	19
<b>2 CHAPITRE II L'IMIQUIMOD « AGONISTE DU TLR7 » .....</b>	<b>21</b>
2.1 DEFINITION.....	21
2.2 MECANISMES D'ACTION DE L'IMIQUIMOD .....	22
2.3 APPLICATION DE L'IMIQUIMOD DANS LE TRAITEMENT DE L'ASTHME ALLERGIQUE.....	23
2.4 UTILISATION CLINIQUE DE L'IMIQUIMOD .....	25
<b>3 CHAPITRE III : MONOGRAPHIE SUR LE LIERRE GRIMPANT D'ALGERIE <i>H. ALGERIENSIS</i> .....</b>	<b>26</b>
3.1 DEFINITION.....	26
3.2 CLASSIFICATION TAXONOMIQUE.....	26
3.3 DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE .....	28
3.4 DESCRIPTION BOTANIQUE .....	28

3.5	USAGES TRADITIONNELS.....	29
3.6	ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES DU GENRE <i>HEDERA</i> .....	30
3.6.1	Activité antioxydante et hépato-protectrice.....	30
3.6.2	Activité antiinflammatoire.....	30
3.6.3	Effet sur la fonction respiratoire.....	30
3.6.4	Activité cytotoxique .....	31
3.6.5	Activité antimicrobienne .....	31
<b>4</b>	<b>CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>32</b>
4.1	MATERIEL VEGETAL .....	32
4.2	ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET DIVERSES ACTIVITES BIOLOGIQUES <i>IN VITRO</i> .....	33
4.2.1	Préparation de l'extrait aqueux de <i>Hedera algeriensis</i> .....	33
4.2.2	Calcul du rendement.....	34
4.2.3	Dosages spectrophotométriques des composés phénoliques .....	34
4.2.3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	35
4.2.3.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	35
4.2.3.3	Dosage des tanins condensés.....	35
4.2.4	Dosage des composés bioactive par LC-MS/MS .....	35
4.2.5	Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	37
4.2.5.1	Méthode DPPH.....	37
4.2.5.2	Méthode FRAP.....	37
4.2.5.3	Capacité antioxydante totale .....	37
4.2.6	Tests de l'activités inhibitrices enzymatiques de l'extrait aqueux de <i>Hedera algeriensis</i> .....	38
4.2.6.1	Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et la Butyrylthiocholine estérase .....	38
4.2.6.2	Activité inhibitrice de la tyrosinase .....	38
4.2.6.3	Activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase .....	38
4.2.6.4	Activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase.....	39
4.2.7	Activité antimicrobienne .....	39
4.3	ACTIVITES BIOLOGIQUES <i>IN VIVO</i> DANS UN MODELE D'ASTHME EXPERIMENTAL.....	40
4.3.1	Préparation de l'extrait aqueux concentré d' <i>Hedera algeriensis</i> .....	40
4.3.2	Animaux et conditions d'élevage .....	40
4.3.3	Protocole expérimental .....	40
4.3.3.1	Formation des lots et traitements des rats .....	40
4.3.3.2	Sensibilisations des rats.....	42
4.3.3.3	Provocations des rats par aérosols.....	42
4.3.3.4	Administration de Prednisolone.....	42
4.3.3.5	Administration d'Imiquimod (R837) .....	42
4.3.3.6	Prélèvements du sang, du liquide du LBA et des organes clés .....	43
4.3.3.7	Préparation des homogénats de tissus .....	44
4.3.4	Evaluation des paramètres hématologiques.....	44
4.3.5	Evaluation des paramètres biochimiques et immunologiques .....	44
4.3.5.1	Dosage des protéines totales : .....	44
4.3.5.2	Dosage des paramètres biochimiques des fonctions rénale et hépatique.....	44
4.3.5.3	Dosage des gammaglobulines et du TNF-alpha.....	44
4.3.6	Evaluation des paramètres du stress oxydatif.....	45
4.3.6.1	Dosage de Malondialdéhyde (MDA).....	45
4.3.6.2	Dosage des Produits Avancés de l'Oxydation des Protéines (AOPP) .....	45
4.3.6.3	Dosage des protéines carbonylées (PCO).....	46
4.3.6.4	Dosage de l'oxyde nitrique (NO).....	46
4.3.6.5	Dosage du glutathion réduit (GSH).....	46
4.3.6.6	Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx).....	46

4.3.6.7	Dosage de l'activité enzymatique de la catalase .....	47
4.3.6.8	Dosage de la superoxyde dismutase (SOD) .....	47
4.3.6.9	Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) .....	47
4.3.7	Examen histopathologique .....	47
4.4	ANALYSE STATISTIQUE.....	48
<b>5</b>	<b>CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>49</b>
5.1	PROPRIETES <i>IN VITRO</i> DE L'EXTRAIT D' <i>HEDERA ALGERIENSIS</i> .....	49
5.1.1	Rendement d'extraction.....	49
5.1.2	Teneurs en polyphénols totaux .....	49
5.1.3	Teneurs en flavonoïdes Totaux.....	49
5.1.4	Teneurs en tannins condensés.....	49
5.1.5	Résultat de l'analyse de l'extrait aqueux par LC-MS/MS.....	50
5.1.6	Résultats de l'activité Antioxydante.....	53
5.1.6.1	Méthode DPPH.....	53
5.1.6.2	Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	53
5.1.6.3	Capacité antioxydante totale (CAT).....	53
5.1.7	Résultats de l'activité inhibitrice des enzymes.....	54
5.1.8	Résultats de l'activité antimicrobienne.....	54
5.2	PROPRIETES BIOLOGIQUES <i>IN VIVO</i> CHEZ LES RATS WISTAR SENSIBILISES A L'OVALBUMINE .....	55
5.2.1	Effet sur les poids corporel, relatifs et absolu des organes.....	55
5.2.2	Effet sur les paramètres hématologiques .....	59
5.2.3	Effet sur la numération des leucocytes dans le liquide du LBA.....	59
5.2.4	Effet sur les paramètres biochimiques et immunologiques .....	63
5.2.4.1	Le bilan Hépatique.....	63
5.2.4.2	Le Bilan Rénal .....	65
5.2.4.3	Réponse immunitaire .....	65
5.2.5	Effets sur les paramètres du stress oxydant .....	66
5.2.6	Corrélations entre les marqueurs de l'inflammation bronchique et ceux du stress oxydatif ..	78
5.2.7	Effet sur l'histologie des organes clés .....	79
5.2.7.1	Tissu hépatique .....	79
5.2.7.2	Tissu pulmonaire .....	81
5.2.7.3	Tissu rénal.....	83
	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>85</b>
	<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>100</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>102</b>

---

# ***INTRODUCTION***

---

# Introduction

---

## INTRODUCTION

L'Algérie, vaste pays du bassin méditerranéen, bénéficie d'une biodiversité végétale exceptionnelle, avec plus de 3000 espèces recensées, dont environ 15 % sont endémiques (Quezel & Santa, 1963 ; Medjahdi et al., 2009). Ce patrimoine phytogénétique, encore largement sous-exploité, représente une richesse inestimable pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques, notamment dans le traitement des maladies chroniques à médiation immunitaire. Dans un contexte mondial marqué par une recrudescence des pathologies inflammatoires chroniques, telles que l'asthme allergique, la valorisation des plantes médicinales locales apparaît non seulement comme un enjeu de santé publique, mais aussi comme une stratégie de souveraineté sanitaire durable (Benslama et al., 2020 ; Belkacem-Hanfi et al., 2021).

La pathologie asthmatique est un trouble pulmonaire courant caractérisé par une inflammation chronique, une production excessive de mucus, une constriction réversible et une hyperréactivité des voies respiratoires, souvent déclenchée par des allergènes (Arora and Ansari, 2019 ; Arora et al., 2022). Il s'accompagne d'un remodelage des voies respiratoires, résultant de changements structuraux et fonctionnels liés à une inflammation persistante (Fehrenbach et al., 2017). Sa prévalence annuelle croît d'environ 3,6 %, ce qui en fait un enjeu majeur de santé publique (Asher et al., 2020). L'asthme allergique est centré sur la réponse immunitaire TH2, induite par les lymphocytes CD4+ et les IgE, avec une production élevée de cytokines comme l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, ainsi qu'une accumulation d'éosinophiles (Kuruvilla et al., 2019). Les cellules lymphoïdes innées de type 2 (CLI2), exprimant GATA3, amplifient cette réponse (Hirose et al., 2017). Divers médiateurs inflammatoires (éosinophiles, neutrophiles, mastocytes, lymphocytes T, cellules dendritiques) jouent un rôle crucial dans la pathologie (Nair and Prabhavalkar, 2021a). Ces cytokines déclenchent des processus tels que l'activation des cellules épithéliales, la régulation du muscle lisse, le remodelage de la matrice et le recrutement cellulaire (Busse et al., 2021). L'IL-4 favorise la différenciation des lymphocytes T en TH2 et la production d'IgE (Boumendjel et al., 2006). Les lymphocytes TH1, notamment via le TNF- $\alpha$ , régulent négativement la réponse TH2 (Ku and Lin, 2016).

De plus, l'asthme induit un stress oxydatif important, lié à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par l'hypercapnie et l'acidose respiratoire (Pourmehdi et al., 2020). Ce stress oxydatif affecte les voies respiratoires, mais aussi les fonctions hépatiques et rénales (Daenen et al., 2019; Muriel and Gordillo, 2016). Le foie, organe de détoxification, produit

## Introduction

---

des ERO susceptibles d'endommager ses tissus, tout comme les reins, sensibles à ces radicaux via leur forte activité mitochondriale (Alirezaei, 2014; Daenen et al., 2019; Dean, 2010; Muriel and Gordillo, 2016).

Le traitement de cette pathologie chronique inclut des bronchodilatateurs de secours (salbutamol) et des corticostéroïdes pour le contrôle à long terme (Cai and Li, 2023). Ces glucocorticoïdes modulent la réponse TH2 et l'inflammation, agissant aussi sur la réponse TH1. La prednisolone, stéroïde anti-inflammatoire systémique, diminue les symptômes en réduisant la réaction immunitaire (Yoon et al., 2016). Néanmoins, certains patients résistent à ces traitements, ce qui a encouragé l'usage croissant de l'immunothérapie visant à rééquilibrer la réponse TH1/TH2. L'imiquimod, un agoniste synthétique de TLR7, a démontré son efficacité pour réduire l'inflammation et l'hyperréactivité dans des modèles murins d'asthme (Jin et al., 2006 ; Damm et al., 2012).

Malgré ces avancées, la recherche de traitements plus efficaces reste urgente. Les plantes médicinales, riches en molécules aux propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes, représentent une source prometteuse (Bejeshk et al., 2019). Plusieurs extraits végétaux ont montré des bénéfices dans l'asthme (Luo et al., 2014). Notre laboratoire a contribué depuis près d'une décennie à démontrer l'efficacité d'huiles végétales et d'extraits de plantes sur ce modèle (Zemmouri et al., 2017 ; Chekchaki, 2017 ; Khaldi et al., 2018 ; Zadam et al., 2023 ; Ounaceur et al., 2024 ; Ahmida et al., 2024 ; Messaoudi et al., 2025).

Parmi le patrimoine végétal méditerranéen, *Hedera algeriensis*, plante médicinale endémique de la famille des Araliaceae, reste peu étudiée. Contrairement à *Hedera helix*, dont les extraits aqueux sont utilisés via des préparations galéniques contre les affections respiratoires (Stauss-Grabo et al., 2011), *H. algeriensis* n'a pas encore été explorée, ni même exploitée. Notre étude est la première à identifier ses composés bioactifs, à mettre en exergue quelques-unes de ses propriétés biologiques *in vitro*, et surtout à évaluer son potentiel protecteur dans un modèle expérimental d'asthme.

Ainsi, cette étude vise à explorer les propriétés bioactives de *Hedera algeriensis*, en identifiant ses composés phytochimiques et en évaluant son activité antioxydante, antimicrobienne et inhibitrice enzymatique, ainsi que son effet protecteur potentiel dans un modèle murin d'asthme allergique. Les effets anti-inflammatoires et antioxydants de *H. algeriensis* ont été comparés à ceux de l'immunothérapie par imiquimod, décrit plus haut comme étant un agoniste synthétique du récepteur Toll-like 7 (TLR7), utilisé dans la modulation de la réponse immunitaire lors de l'asthme allergique.

Notre plan de thèse s'articule en deux parties principales :

## Introduction

---

- Une étude bibliographique composée de trois chapitres : le premier porte sur l'asthme allergique et son lien avec le stress oxydatif ; le second est consacré à l'imiquimod, un agoniste des récepteurs TLR7 ; le troisième présente une monographie de la plante *Hedera algeriensis*.
- La partie expérimentale combine des approches *in vitro* et *in vivo* pour évaluer les propriétés de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis*. L'étude phytochimique a été menée à l'aide de la LC-MS/MS pour identifier les composés bioactifs, et de techniques spectrophotométriques pour doser les polyphénols, flavonoïdes et tanins, ainsi que pour évaluer l'activité antioxydante, l'inhibition enzymatique et l'activité antimicrobienne.

Un modèle d'asthme allergique induit par l'ovalbumine chez le rat Wistar a été utilisé pour étudier les effets anti-inflammatoires, antioxydants et antiasthmatiques de l'extrait et de l'imiquimod. Les analyses ont porté sur la variation des cellules immunitaires, les paramètres biochimiques, les marqueurs de stress oxydatif, ainsi que sur des études histologiques du foie, des poumons et des reins, complétées par le dosage du TNF- $\alpha$ .

Enfin, nous présentons l'ensemble des résultats obtenus, suivis de leur discussion, et concluons par des perspectives de recherche.

---

***PARTIE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

---

---

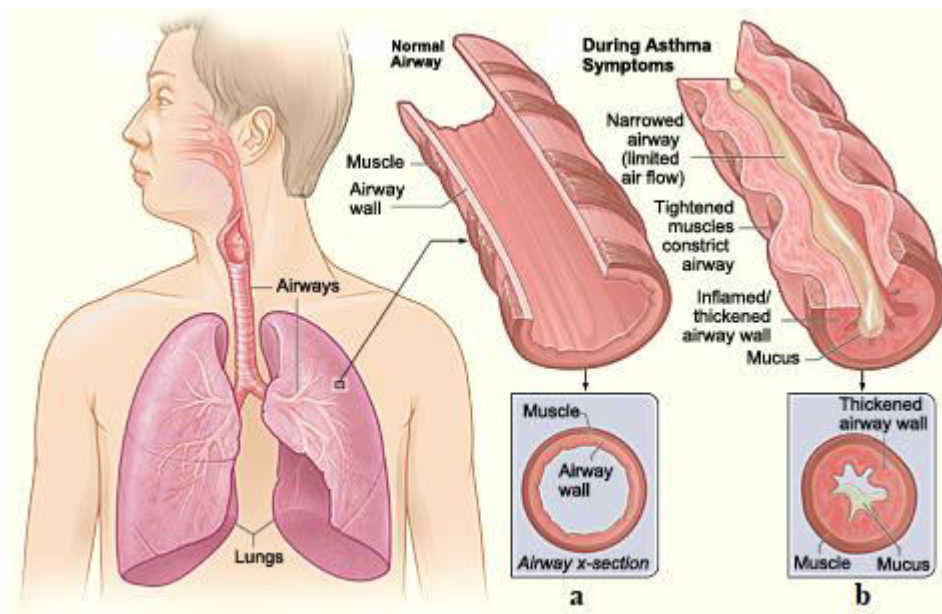
# *Chapitre I L'asthme allergique*

---

## 1 Chapitre I. L'asthme allergique

### 1.1 Définition

L'asthme allergique est défini comme une maladie inflammatoire caractérisée par des épisodes récurrents de bronchoconstriction et de sifflements respiratoires. Dans ce type d'asthme, il existe des lésions structurelles dues à une inflammation chronique, pouvant conduire à un remodelage des voies respiratoires (fig.1). Les interactions entre les gènes et l'environnement sont impliquées dans l'asthme allergique, et ses crises sont déclenchées par l'exposition aux allergènes. Environ les deux tiers des cas d'asthme sont allergiques (Jasemi et al., 2023).



**FIGURE 1 :** REPRESENTATION D'UNE BRONCHE SAINE (A) ET D'UNE BRONCHE D'UN SUJET ASTHMATIQUE (B).

(Sinyor and Perez, 2023)

Dans l'asthme allergique, les allergènes environnementaux induisent la formation accrue d'immunoglobuline E (IgE). Les IgE se lient à des récepteurs tels que le récepteur de haute affinité pour les IgE (FcεRI) sur les basophiles et les mastocytes. Les allergènes se fixent aux IgE, entraînant une cascade d'inflammation et la production de médiateurs pro-inflammatoires qui génèrent des symptômes aigus et chroniques des maladies allergiques des voies respiratoires (Hamelmann, 2007). Les complications de l'asthme allergique comprennent la toux, les sifflements respiratoires, l'essoufflement et l'oppression thoracique (Finotto, 2019). Le remodelage complexe des voies respiratoires est la principale caractéristique de l'asthme allergique (Bradding et al., 2024).

## 1.2 Épidémiologie

L'asthme, caractérisé par une inflammation et un rétrécissement des voies respiratoires, se manifeste fréquemment par une toux, des sifflements, une dyspnée et une oppression thoracique (Merhej and Zein, 2023). Il est souvent mal diagnostiqué et traité de manière sous-optimale (Aaron et al., 2017; Czira et al., 2022; Dunn et al., 2018). Par exemple, une étude canadienne prospective et multicentrique portant sur 613 patients ayant reçu un diagnostic d'asthme par un médecin a révélé que 203 (33,1 %) d'entre eux ne souffraient pas d'asthme. Cela souligne l'importance de confirmer le diagnostic d'asthme comme première étape de l'évaluation des patients présentant de l'asthme et de l'asthme sévère (Israel and Reddel, 2017). L'asthme est connu comme une maladie chronique non transmissible courante et reste un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. Il constitue une charge importante pour la santé et l'économie des individus et de la société, et entraîne des décès prématurés et une réduction de la qualité de vie dans le monde entier. En 2019, la Global Burden of Disease a estimé que l'asthme touchait jusqu'à 262 millions de personnes dans le monde et que l'asthme était l'une des principales causes pour lesquelles les gens vivent avec des problèmes de santé qui limitent leur vie quotidienne. (Collaborators and Ärnlov, 2020; GAR, 2022). L'accès aux thérapies de l'asthme est généralement limité, et les thérapies efficaces sont fréquemment inaccessibles et inabordables. Bien qu'il soit évitable avec des thérapies efficaces et des programmes d'éducation thérapeutique sur l'asthme, environ 1000 personnes meurent d'asthme chaque jour en raison d'une gestion sous-optimale et de la dépendance aux bêta-agonistes de secours plutôt qu'aux médicaments de contrôle. De nombreux gouvernements ont négligé l'asthme dans leurs plans visant à lutter contre les maladies non transmissibles (MNT) et ont peu progressé dans l'amélioration de l'accès à la prise en charge de l'asthme et aux médicaments, en particulier les corticostéroïdes inhalés (CSI), qui sont cruciaux pour le contrôle à long terme de l'asthme. Les preuves issues de la pandémie de COVID-19 en cours suggèrent que les CSI sont peu susceptibles d'avoir des effets indésirables sur l'issue de l'infection par le SARSCoV2 chez les asthmatiques, donc leur utilisation devrait continuer à être promue, soit seule soit en association avec un inhalateur de  $\beta$ 2-agoniste à action prolongée (GAR, 2022).

## 1.3 Physiopathologie

La limitation du flux d'air dans l'asthme est récurrente et causée par une variété de changements dans les voies respiratoires. Ceux-ci comprennent :

### 1.3.1 Bronchoconstriction

Dans l'asthme, l'événement physiologique dominant conduisant aux symptômes cliniques est le rétrécissement des voies respiratoires et une interférence subséquente avec le flux d'air. Lors des exacerbations aiguës de l'asthme, la contraction des muscles lisses bronchiques (bronchoconstriction) se produit rapidement pour rétrécir les voies respiratoires en réponse à divers stimuli, notamment les allergènes ou les irritants. La bronchoconstriction aiguë induite par les allergènes résulte d'une libération dépendante de l'IgE de médiateurs par les mastocytes, notamment l'histamine, la tryptase, les leucotriènes et les prostaglandines qui contractent directement les muscles lisses des voies respiratoires (Lemanske and Buss, 2003). L'aspirine et d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent également provoquer une obstruction aiguë des voies respiratoires chez certains patients, et des preuves indiquent que cette réponse non dépendante de l'IgE implique également la libération de médiateurs par les cellules des voies respiratoires (Stevenson and Szczeklik, 2006). De plus, d'autres stimuli (y compris l'exercice, l'air froid et les irritants) peuvent provoquer une obstruction aiguë des voies respiratoires. Les mécanismes régulant la réponse des voies respiratoires à ces facteurs sont moins bien définis, mais l'intensité de la réponse semble liée à l'inflammation des voies respiratoires. Le stress peut également jouer un rôle dans la précipitation des exacerbations de l'asthme. Les mécanismes impliqués doivent encore être établis et peuvent inclure une génération accrue de cytokines pro-inflammatoires.

### 1.3.2 Œdème des voies respiratoires

À mesure que la maladie devient plus persistante et l'inflammation plus progressive, d'autres facteurs limitent davantage le flux d'air (fig.2). Ceux-ci comprennent l'œdème, l'inflammation, l'hypersécrétion de mucus et la formation de bouchons de mucus, ainsi que des changements structurels, notamment l'hypertrophie et l'hyperplasie des muscles lisses des voies respiratoires. Ces derniers changements peuvent ne pas répondre au traitement habituel (Hallit, 2018).

### 1.3.3 Remodelage des voies respiratoires

Chez certaines personnes asthmatiques, la limitation du flux d'air peut être seulement partiellement réversible. Des changements structurels permanents peuvent survenir dans les voies respiratoires (fig.2), ceux-ci sont associés à une perte progressive de la fonction pulmonaire qui n'est pas empêchée ou totalement réversible par le traitement actuel. Le remodelage des voies respiratoires implique une activation de nombreuses cellules structurales, avec des changements permanents conséquents dans les voies respiratoires qui

augmentent l'obstruction des voies respiratoires et la réactivité des voies respiratoires et rendent le patient moins sensible à la thérapie. Ces changements structuraux peuvent inclure un épaississement de la membrane sous-basale, une fibrose sous-épithéliale, une hypertrophie et une hyperplasie des muscles lisses des voies respiratoires, une prolifération et une dilatation des vaisseaux sanguins, ainsi qu'une hyperplasie et une hypersécrétion des glandes mucineuses. La régulation du processus de réparation et de remodelage n'est pas bien établie, mais le processus de réparation et sa régulation sont probablement des événements clés pour expliquer la nature persistante de la maladie et les limites d'une réponse thérapeutique (St, 2006).

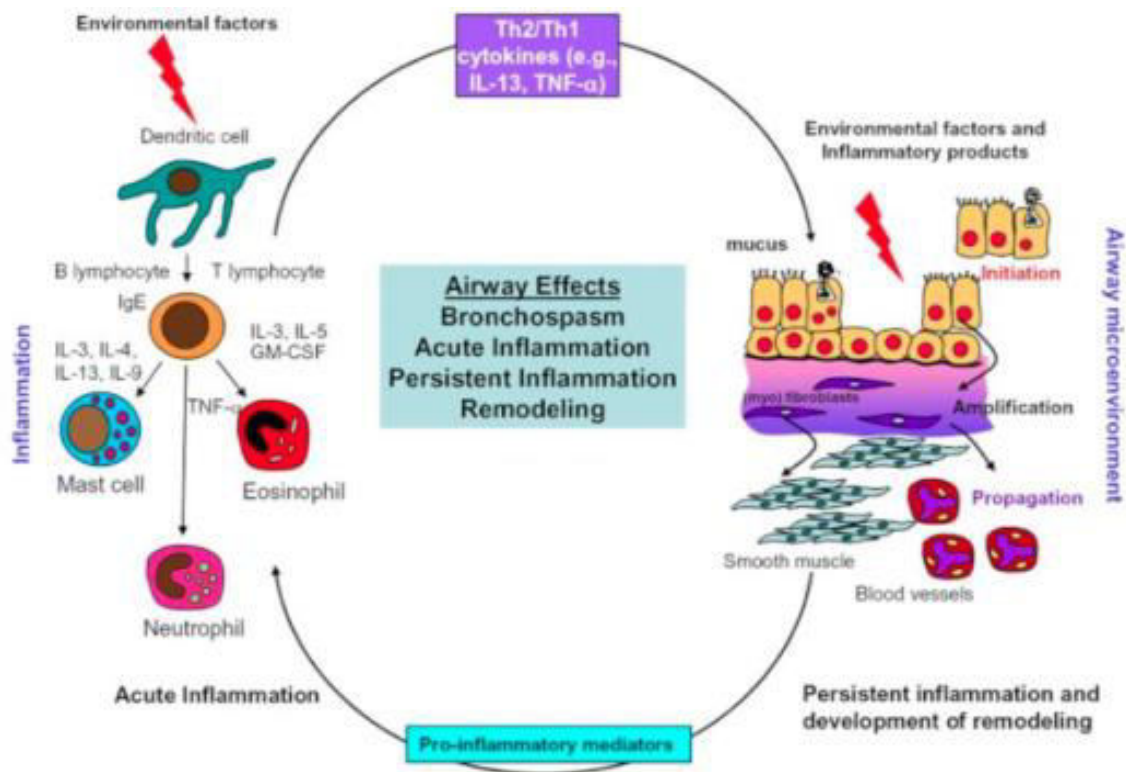


FIGURE 2 : PRINCIPALES VOIES IMMUNO-INFLAMMATOIRES IMPLIQUÉES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ASTHME ALLERGIQUE (Hallit, 2018)

GM-CSF : Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages, IgE : Immunoglobuline E, IL : Interleukine, TNF- $\alpha$  : Facteur de nécrose tumorale alpha, Th1/Th2 : Lymphocytes T auxiliaires de type 1 / de type 2.

#### 1.4 Cellules orchestratrices de la réponse immunitaire de type 2 dans l'asthme allergique

Fondamentalement, la sensibilisation allergique est une réponse immunitaire adaptative montée contre un allergène, résultant en une différenciation, une prolifération et un développement de lymphocytes TH2 spécifiques de l'allergène ; ainsi que la production d'IgE spécifiques de l'allergène, par des cellules plasmatisques à longue durée de vie (Akdis et al.,

2020) (Fig.3). Les lymphocytes TH2 ont été identifiés comme des éléments clés de la soi-disant "immunité de type 2", en fait cette phrase a été forgée sur la base de notre connaissance des cellules TH2. Les cytokines caractéristiques qu'ils produisent (IL-4, IL-13, IL-5) sont les principaux organisateurs de la réponse allergique (Akdis et al., 2016). L'IL-4 est le principal moteur de la différenciation des cellules TH2, cependant, les cellules TH2 elles-mêmes sont la principale source d'IL-4 dans l'allergie des voies respiratoires. Comprendre ce scénario de poule-œuf a été l'un des principaux axes de recherche en allergologie pendant environ 30 ans (Yoshimoto, 2018). La séquence exacte des événements de la différenciation des cellules TH2 et la source principale d'IL-4 au début de l'allergie restent encore à être identifiées.

Les mastocytes résidents des tissus, les cellules NKT, les cellules gamma-delta ( $\gamma\delta$ T), les CL12 (cellule lymphoïde innée de type 2) et les basophiles recrutés sont tous proposés comme des sources initiales d'IL-4 qui induisent la différenciation des cellules TH2 (Zhu, 2015).

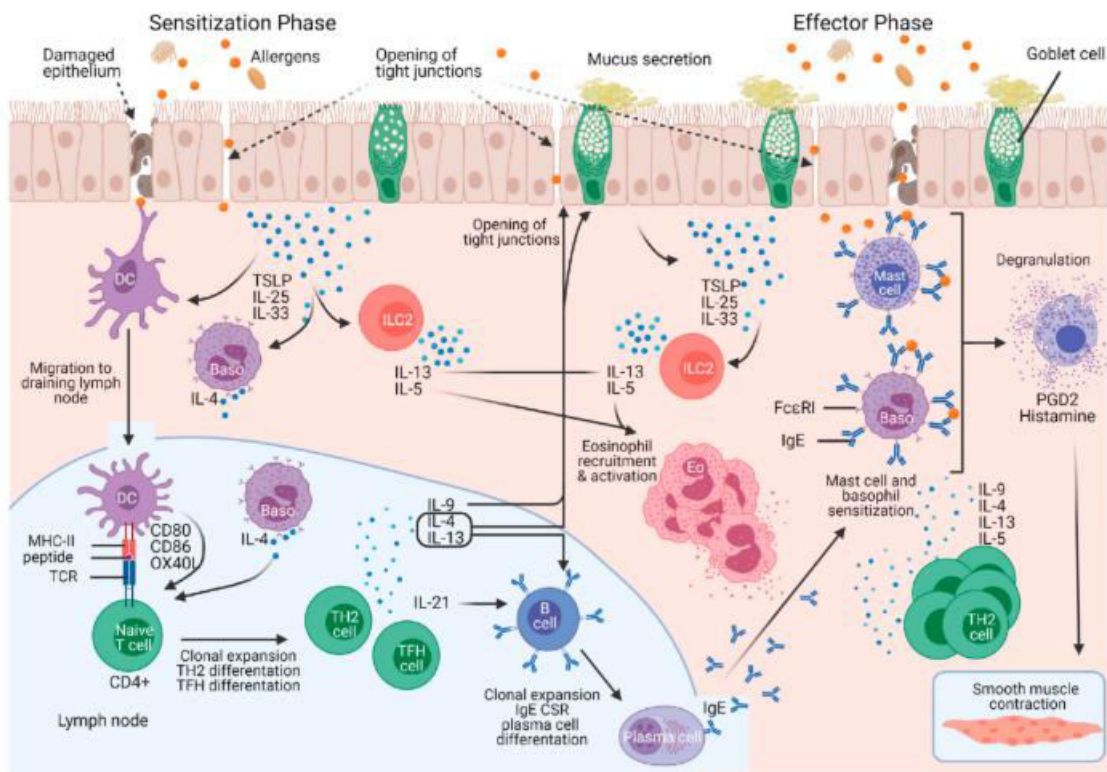


FIGURE 3 : MECANISMES IMMUNOLOGIQUES DE LA SENSIBILISATION ET DE LA REPONSE EFFECTRICE DANS L'ASTHME ALLERGIQUE (Kömlösi et al., 2022).

**DC** : Cellule dendritique, **TH2 cell** : Lymphocyte T auxiliaire de type 2, **TFH cell** : Lymphocyte T folliculaire auxiliaire, **B cell** : Lymphocyte B, **Plasm cell** : Plasmocyte, **Eo** : Éosinophile ; **Baso** : Basophile, **ILC2** : Cellules lymphoïdes innées de type 2, **TSLP** : Lymphopoïétine stromale thymique, **IL** : Interleukine, **FcεRI** : Récepteur de haute affinité pour les IgE, **IgE** : Immunoglobuline E, **MHC-II** : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II, **TCR** : Récepteur des lymphocytes T, **CD80/CD86** : Cluster de différenciation (Molécules de costimulation), **OX40L** : Ligand de la molécule OX40, **PGD2** : Prostaglandine D2, **TFH cell** : follicular helper T cell ; **CSR** : Class Switch Recombination.

### 1.4.1 Mastocytes, cellules T gamma delta et cellules NKT

Les mastocytes, les cellules T gamma delta et les cellules NKT sont des cellules résidentes des tissus, à longue durée de vie qui s'accumulent dans le poumon (Lambrecht et al., 2017). Bien que les cellules mastocytaires soient bien reconnues comme des acteurs clés des réponses allergiques aiguës chez les patients déjà sensibilisés, leur rôle dans le processus de sensibilisation est moins bien compris. En fait, les cellules mastocytaires expriment des récepteurs pour l'IL-33 et le LST (Lymphopoïétine stromale thymique), et peuvent produire des cytokines de type 2, telles que l'IL-13 en réponse aux alarmes (Tsuzuki et al., 2017). Un nombre élevé de mastocytes intra-épithéliaux est associé à une inflammation de type 2 dans l'asthme humain (Dougherty et al., 2010). Les cellules mastocytaires favorisent également la migration des cellules dendritiques chargées d'allergènes vers les ganglions lymphatiques dans des modèles murins (Reuter et al., 2010).

Les cellules NKT ont la capacité de sécréter de grandes quantités de cytokines lors de leur activation, notamment l'IL-4, l'IL-13 et l'IFN- $\gamma$  (Akdis et al., 2020). Elles sont activées en réponse aux antigènes lipidiques présentés via le CD1d sur les macrophages alvéolaires et les cellules dendritiques, et des modèles murins suggèrent que le récepteur de l'histamine 2 (RH2) est important pour contrôler leur activité dans le poumon (Ferstl et al., 2017).

Les cellules  $\gamma\delta$ T sont abondantes dans le poumon, représentant 8 à 20 % des lymphocytes résidents dans les tissus chez les souris. Dans un modèle murin d'inflammation allergique respiratoire, les cellules  $\gamma\delta$ T se sont révélées être des sources essentielles d'IL-4 lors de la sensibilisation. La signification in vivo de ces cellules au début de l'allergie des voies respiratoires chez l'homme restent à l'étude (Komlósi et al., 2022).

### 1.4.2 Cellules lymphoïdes innées de type 2 (CLI2)

Chez l'homme, les cellules lymphoïdes innées de type 2 (CLI2) jouent un rôle important dans l'asthme. Le nombre de CLI2 est augmenté dans le sang et dans le lavage broncho-alvéolaire des patients asthmatiques (Winkler et al., 2019). Chez les asthmatiques, l'exposition allergéniques entraînent également l'expression de TL1A (Tumor Necrosis Factor-Like Cytokine 1A), un ligand connu pour le récepteur DR3 exprimé par les CLI2. Ainsi, le TL1A induit par les allergènes pourrait contribuer à l'expansion et à l'activation des CLI2 humains (Machida et al., 2020). Une co-culture ex vivo des CLI2 avec des cellules épithéliales bronchiques humaines a montré que l'IL-13 dérivée des CLI2 pouvait perturber la fonction de barrière des cellules épithéliales pulmonaires (Sugita et al., 2018).

Le mécanisme par lequel les CLI2 contribuent aux réponses de type 2 dans les poumons commence à être élucidé grâce à l'utilisation de modèles murins (Figure 4). Cependant, les

résultats obtenus dans ces modèles sont difficiles à extrapoler aux patients asthmatiques, car les immunologistes ont principalement utilisé des modèles d'asthme allergique éosinophilique, qui ne reflètent pas l'asthme éosinophilique non allergique humain (Hammad and Lambrecht, 2021). Chez les souris, l'accumulation des CLI2 dans les poumons allergiques peut s'expliquer par le fait que l'exposition aux acariens suffit à induire la production d'IL-33 par les cellules épithéliales pulmonaires, un processus particulièrement favorisé en début de vie. Sous l'influence de l'IL-33, les CLI2 produisent de l'IL-13 et de l'IL-5, favorisant ainsi des caractéristiques clés de l'asthme, telles que l'éosinophilie tissulaire et l'hyperréactivité bronchique (Figure 4) (Hammad and Lambrecht, 2021). En outre, les CLI2 peuvent intervenir très tôt dans le processus de sensibilisation Th2 en favorisant la migration des cellules dendritiques (CD) vers les ganglions lymphatiques drainants via la libération d'IL-13 facilitant ainsi l'induction de l'immunité Th2 face aux allergènes (Halim et al., 2014).

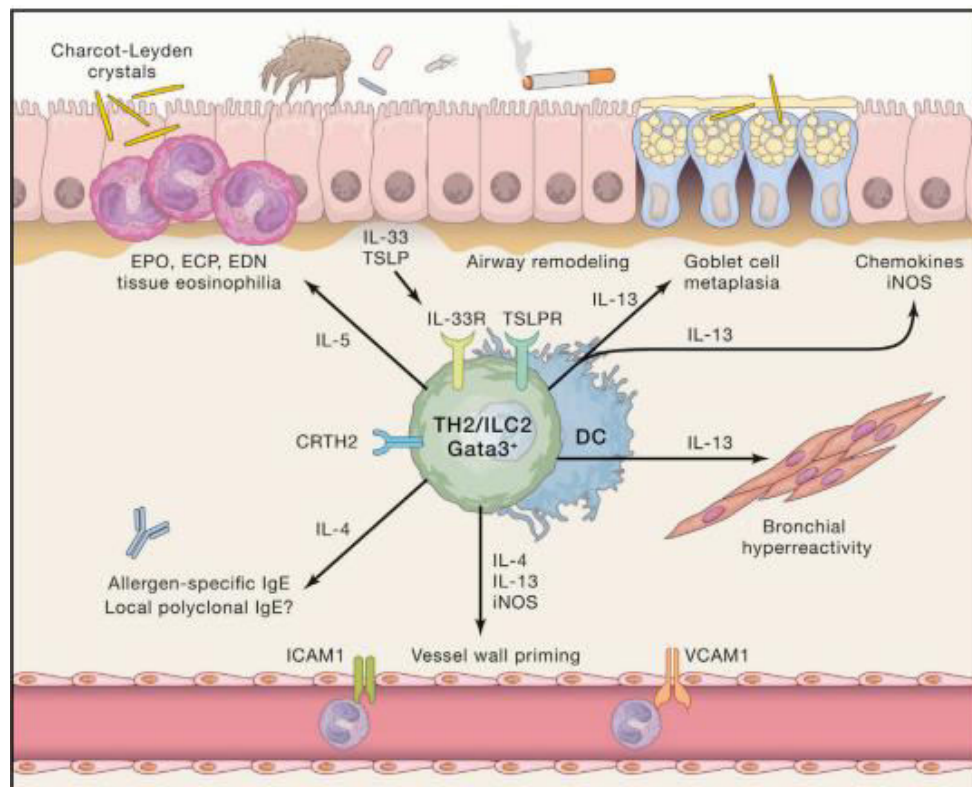


FIGURE 4 : RÔLE CENTRAL DES LYMPHOCYTES TH2 ET DES CELLULES LYMPHOÏDES INNÉES (ILC2) DANS L'INFLAMMATION DE TYPE 2 ET LE REMODELAGE DES VOIES AÉRIENNES.

(Hammad and Lambrecht, 2021)

**TH2** : Lymphocyte T auxiliaire de type 2, **ILC2** : Cellule lymphoïde innée de type 2, **DC** : Cellule dendritique, **Gata3<sup>+</sup>** : Facteur de transcription GATA3, **IL** : Interleukine, **TSLP** : Lymphopoïétine stromale thymique, **TSLPR** : Récepteur de la TSLP, **IL-33R** : Récepteur de l'interleukine 33, **CRTH2** : (Récepteur chimioattractant homologue exprimé sur les cellules TH2), **ICAM1** : Molécule d'adhésion intercellulaire 1, **VCAM1** : Molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1, **EPO** : Peroxydase des éosinophiles, **ECP** : Protéine cationique des éosinophiles, **EDN** : Neurotoxine dérivée des éosinophiles, **iNOS** : Synthase inductible de l'oxyde nitrique, **IgE** : Immunoglobuline E, **Charcot-Leyden crystals** : protéines cristallisées provenant des éosinophiles.

### 1.4.3 Basophiles

Les basophiles ont une origine développementale commune avec les mastocytes, cependant ce sont des cellules circulantes à courte durée de vie (leur durée de vie est d'environ 60 heures) qui peuvent être recrutées dans les tissus enflammés (Ohnmacht and Voehringer, 2009). Les basophiles sécrètent des quantités importantes d'IL-4 dans les réactions immunitaires de type 2 établies (Miyake et al., 2021). Les allergènes protéiques peuvent induire directement la production d'IL-4 par les basophiles murins, in vitro (Rosenstein et al., 2014). Les cytokines dérivées des épithéliums, telles que l'IL-33 et le LST (Siracusa et al., 2011; Suzukawa et al., 2008), peuvent activer les basophiles humains et induire leur prolifération et leur production d'IL-4, partiellement via l'induction de GM-CSF (Chhiba et al., 2017). Les basophiles sont recrutés dans les ganglions lymphatiques lors de la réponse primaire à l'exposition aux allergènes (Hammad et al., 2010). De plus, les basophiles semblent coopérer avec les cellules dendritiques dans l'initiation de la réaction immunitaire de type 2 (Tang et al., 2010).

### 1.4.4 Cellules T auxiliaires de type 2 (TH2)

L'asthme allergique est une maladie induite par les cellules Th2, cela provient de plusieurs études. Premièrement, des cellules Th2 spécifiques aux allergènes et leurs cytokines associées sont clairement présentes dans le lavage bronchoalvéolaire des patients asthmatiques et des souris atteintes d'asthme éosinophilique allergique (Tibbitt et al., 2019). Ensuite, des cellules Th2 spécifiques aux allergènes circulants, produisant des cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5, l'IL-13 et même l'IL-9, peuvent être trouvées dans le sang des patients asthmatiques allergiques (Seumois et al., 2020).

De plus, des études préliminaires réalisées sur des modèles murins asthmatiques induit par l'antigène inhalé ovalbumine (OVA) ont démontré que l'épuisement des cellules T CD4<sup>+</sup> empêchait le développement de l'asthme. À l'inverse, le transfert adoptif de cellules Th2 polarisées in vitro, issues de souris exprimant de manière transgénique un récepteur spécifique de l'antigène des cellules T (TCR) pour un peptide OVA, entraînait l'induction des caractéristiques de l'asthme (Hammad and Lambrecht, 2021).

Les cellules Th2 obtenues chez des humains atteints d'asthme de type 2 et chez des modèles murins d'asthme éosinophilique allergique présentent des profils d'expression génique similaires. Ces cellules produisent de fortes concentrations de cytokines Th2, expriment des récepteurs spécifiques reconnaissant les signaux dérivés de l'épithélium et, de manière inattendue, se caractérisent par l'expression du récepteur nucléaire PPAR- $\gamma$  (Tibbitt et al.,

2019). Le PPAR- $\gamma$  (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma) semble être essentiel dans les cellules Th2 pour conduire leur pathogénicité, car il contribue à la production de cytokines Th2 en augmentant l'expression du récepteur de l'IL-33 (Chen et al., 2017).

D'autre part, Des études réalisées sur des modèles d'asthme expérimentale induits par l'OVA ont montré que l'IL-4, en agissant sur le récepteur IL-4Ra, induit le changement de classe des immunoglobulines vers les IgE dans les cellules B, favorise l'hyperréactivité bronchique et induit l'expression de molécules d'adhésion telles que ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) et VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1). Ces molécules permettent l'extravasation des cellules inflammatoires, comme les éosinophiles, dans les poumons inflammés (Godar et al., 2018). Beaucoup de ces effets sont également induits par l'IL-13, qui utilise également le récepteur IL-4Ra pour la signalisation (Godar et al., 2018). Bien que l'on pensait initialement que l'IL-13 n'était pas impliquée dans la stimulation du changement de classe vers les IgE, une sous-population de cellules T folliculaires auxiliaires (TFH) produisant de l'IL-13 et augmentant les IgE anaphylactiques a récemment été identifiée chez les souris et les humains (Gowthaman et al., 2019).

#### **1.4.5 Cellules dendritiques (CD) présentatrices de l'allergène**

Après pénétration dans la sous-muqueuse, l'allergène est capté par les cellules présentatrices d'antigène (CPA), généralement les cellules dendritiques (CD), traité et présenté aux cellules T dans les tissus lymphoïdes secondaires ou tertiaires (par exemple, les ganglions lymphatiques hilaires). La migration des CD vers les organes lymphoïdes est essentielle pour optimiser les chances de rencontre avec les quelques cellules T naïves spécifiques de l'antigène en circulation (Kambayashi and Laufer, 2014). La présentation de l'allergène par les CD est une étape décisive qui détermine le résultat de la réaction immunitaire (Schuijs et al., 2019). Il a été démontré que les CD sont indispensables pour l'induction de l'immunité de type 2 chez les souris naïves. En particulier, les CD conventionnelles de type 2 (CD<sub>C2s</sub>) exprimant IRF4, CD11b<sup>+</sup> CD172<sup>+</sup> sont nécessaires et suffisantes pour la différenciation des cellules TH2 dans le poumon (Gao et al., 2013; Krishnaswamy et al., 2017).

Dans un modèle murin d'asthme induit par les ADP (Acariens Domestiques permanents), les réponses des cellules B médiées par les cellules TFH (Follicular helper T cell) dépendaient des CD<sub>C2s</sub> (Cellule dendritique conventionnelles Type 2) exprimant CXCR5 (récepteurs de Chimiochine) qui pouvaient migrer vers la même région des ganglions lymphatiques que les

cellules TFH, à la frontière des zones T-cellulaires-B-cellulaires, en raison de la reconnaissance des mêmes agents chimiotactiques qui recrutent également les cellules TFH (Krishnaswamy et al., 2017). La décision des CD d'induire des réponses tolérogéniques ou de type 2 est également déterminée par des signaux épithéliaux (de Kleer et al., 2016).

#### **1.4.6 Macrophages alvéolaires, interstitielles et infiltrantes dans les tissus**

Les macrophages alvéolaires pulmonaires (MAP) sont des cellules résidentes du tissu pulmonaire à longue durée de vie (Westphalen et al., 2014). En revanche, les monocytes et les macrophages dérivés des monocytes peuvent rapidement infiltrer les voies respiratoires en réponse à des signaux environnementaux et inflammatoires, ainsi qu'en réponse à l'exposition aux allergènes au niveau des barrières épithéliales (Guilliams et al., 2020). Ces cellules Présentent un haut degré de plasticité et, en fonction du microenvironnement tissulaire pulmonaire, elles peuvent modifier leur expression génique et leur profil de médiateurs entre les profils M1 (pro-inflammatoire) et M2 (anti-inflammatoire) (Sokolowska et al., 2014; Yang et al., 2021). Les macrophages alvéolaires, interstitiels et dérivés des monocytes jouent un rôle important dans la protection contre divers virus respiratoires, bactéries et champignons. Les modèles chez le rat et la souris ont révélé la fonction principalement immunosuppressive des MAP dans les allergies des voies respiratoires (Zasłona et al., 2014). Cela est partiellement médié par CD40 (Tang et al., 2001), TNF- $\alpha$  (Holt et al., 1993), PGE2 (Prostaglandine E2) (Speth et al., 2016) et la sécrétion d'exosomes qui exercent leur effet sur les cellules épithéliales (Bhattacharya and Westphalen, 2016), et peut être déficiente chez les patients asthmatiques (Tang et al., 2001). Il a été démontré dans des modèles de rats allergiques des voies respiratoires que les MAP pouvaient supprimer la capacité d'activation des cellules T des CD à la fois in vitro et in vivo (Lauzon-Joset et al., 2014). De même, la déplétion des MAP résidentes a entraîné une aggravation significative de l'inflammation allergique des voies respiratoires chez les souris (Zasłona et al., 2014). Les macrophages interstitiels pulmonaires peuvent également supprimer les réponses des cellules T par l'induction de cellules T régulatrices (Bedoret et al., 2009; Soroosh et al., 2013). Cependant, Les macrophages bronchiques chez les asthmatiques expriment moins de CD16 et de CD64, ce qui pourrait diminuer leurs activités phagocytaires et leurs capacités anti-inflammatoires (Moniuszko et al., 2007). Certaines expériences ont également démontré un rôle pro-inflammatoire pour les MAP dans le contexte de l'inflammation allergique des voies respiratoires. Dans des modèles murins, les MAP ont été identifiées comme des sources significatives d'IL-17 et leur déplétion a empêché le développement de l'inflammation

allergique et de l'hyperréactivité des voies respiratoires (Song et al., 2008). De plus, les MAP répondent à l'IgE via les récepteurs Fc avec une libération de plusieurs cytokines pro-inflammatoires et médiateurs lipidiques, ce qui pourrait perpétuer l'inflammation chronique et augmenter la bronchoconstriction dans les voies respiratoires asthmatiques (Komlósi et al., 2022).

### **1.5 Traitement classique de l'asthme allergique**

Le traitement de l'asthme vise soit la bronchoconstriction, soit les composantes de l'inflammation des voies respiratoires de la maladie. Des spasmodiques tels que l'histamine, les leucotriènes cystéinylés et la prostaglandine D2 libérés par les mastocytes et les basophiles des voies respiratoires favorisent la contraction des muscles lisses entraînant une bronchoconstriction, qui peut être prévenue par un traitement par des agonistes  $\beta$ -2 et des anti-leucotriènes. L'activation de l'épithélium et des cellules inflammatoires résidentes entraîne l'accumulation de cellules immunitaires, notamment des éosinophiles, des lymphocytes, des macrophages, des neutrophiles et des basophiles, qui favorisent un environnement tissulaire inflammatoire et contribuent à l'hypersécrétion de mucus, à l'hyperréactivité des voies respiratoires et au remodelage. Les corticostéroïdes sont efficaces pour supprimer l'inflammation des voies respiratoires et prévenir ainsi les exacerbations de l'asthme. Le taux de réponse variable aux thérapies de l'asthme dans la population de patients peut être lié à des différences génétiques entre les individus (Ranjbar et al., 2022).

### **1.6 Rôle du stress oxydatif dans la physiopathologie de l'asthme allergique**

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production de ROS et le système de défense antioxydant, entraînant des dommages cellulaires (Hybertson et al., 2011). La présence d'asthme tend à augmenter la production de ROS, et le système antioxydant dans les poumons est insuffisant pour le mitiger. Par conséquent, l'asthme peut conduire à un état de stress oxydatif dans le corps, ce qui aggrave l'hyperréactivité des voies respiratoires et l'inflammation des voies respiratoires (fig.5). Les ROS et les espèces réactives de l'azote (RNS) jouent des rôles vitaux dans la régulation du stress oxydatif. Pendant ce temps, les ROS sont impliqués dans le déclenchement des réponses inflammatoires en impactant les protéines de signalisation cellulaire, telles que NF $\kappa$ B, TLR MAPKs et Keap1-Nrf2-ARE (Kaspar et al., 2009; Mishra et al., 2018).

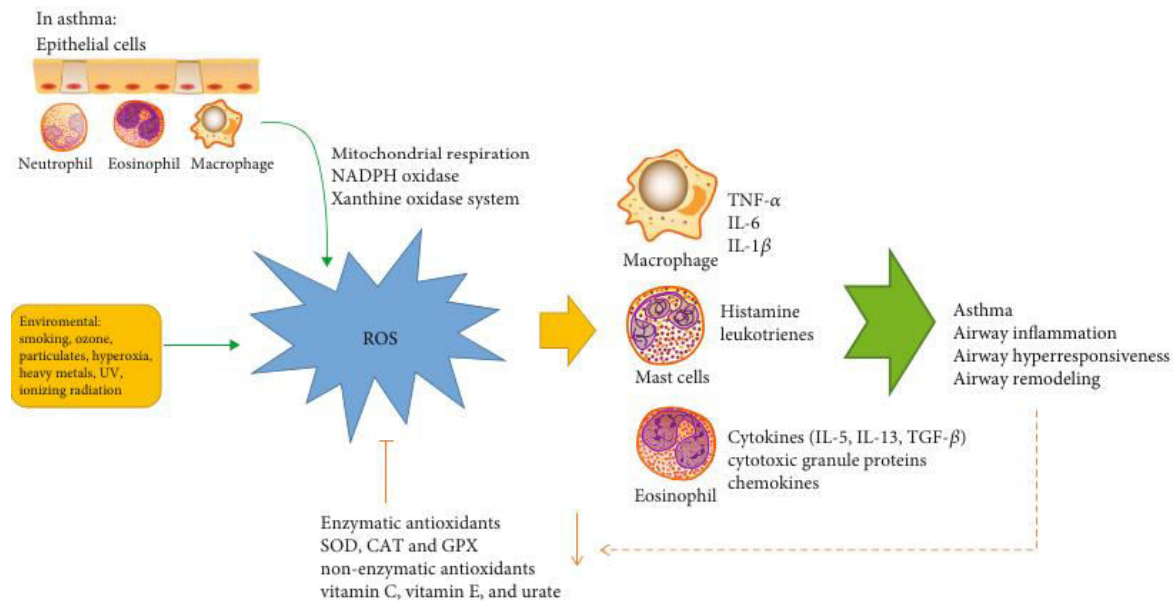


FIGURE 5 : IMPLICATION DU STRESS OXYDATIF DANS L'INFLAMMATION DE TYPE 2 ET LE REMODELAGE DES VOIES AERIENNES DANS L'ASTHME.

(Liu et al., 2022)

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène, **SOD** : Superoxyde dismutase, **CAT** : Catalase, **GPX** : Glutathion peroxydase, **TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha, **IL** : Interleukine, **IL-1 $\beta$**  : Interleukine 1 bêta, **TGF- $\beta$**  : Facteur de croissance transformant bêta.

## 1.6.1 Source de Production des ROS

### 1.6.1.1 Sources cellulaires endogène des ROS

Les ROS dérivés des cellules sont principalement libérés dans les poumons par des cellules inflammatoires telles que les éosinophiles, les neutrophiles et les macrophages, bien que les cellules résidentes, y compris les cellules épithéliales (CE), les cellules musculaires lisses des voies respiratoires (CMLVR) et les fibroblastes produisent également des ROS (Stock et al., 2019).

Le précurseur de la plupart des ROS intracellulaires est l'ion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), qui est produit à partir de l'oxygène moléculaire après avoir gagné un électron unique provenant de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries, ou à partir de l'oxydation du phosphate de nicotinamide adénine réduit (NADPH) catalysée par les NADPH oxydases (Nox) (Michaeloudes et al., 2017). Les ions  $O_2^{\bullet-}$  sont dismutés en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) par l'action des superoxyde dismutases (SOD) (Fridovich and Freeman, 1986). Le  $H_2O_2$  est une molécule plus stable, avec une demi-vie plus longue, capable de diffuser dans le cytosol et le noyau pour activer des voies de signalisation sensibles aux rédox. De plus, en présence

de "fer libre" ( $\text{Fe}^{2+}$ ), le  $\text{H}_2\text{O}_2$  peut être converti en radical hydroxyle hautement réactif ( $\bullet\text{OH}$ ) qui peut causer des dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et aux nucléotides (Valko et al., 2007). L'interaction du  $\text{H}_2\text{O}_2$  avec les halogénures, catalysée par les peroxydases des éosinophiles et des neutrophiles, conduit à la formation des hypohalogénures, l'acide hypobromeux ( $\text{HOBr}$ ) et l'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ). L'oxyde nitrique ( $\text{NO}$ ), produit lors de la conversion de l'acide aminé L-arginine en L-citrulline par les oxyde nitrique synthases (NOS), réagit avec  $\text{O}_2\bullet^-$  pour produire la molécule hautement réactive peroxydinitrite ( $\text{ONOO}^-$ ). Les hypohalogénures et le peroxydinitrite peuvent modifier les résidus de tyrosine par bromation, chlorination et nitration, respectivement, altérant la fonction des protéines (Sahiner et al., 2018).

Le réticulum endoplasmique (RE) est également une source d' $\text{H}_2\text{O}_2$  intracellulaire, Produite comme sous-produit du repliement des protéines. Les réactions métaboliques dans les peroxysomes, telles que l'oxydation des acides gras, l'oxydation des acides aminés et l'activité de la xanthine oxydase, sont également des sources d' $\text{O}_2\bullet^-$  intracellulaire et de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Maamoun et al., 2019).

En raison des différences dans leurs mécanismes d'activation, leur localisation subcellulaire et leur modèle d'expression tissulaire, les enzymes Nox ont des fonctions biologiques distinctes. De plus, leurs activités et leur expression sont étroitement régulées par des facteurs de transcription, des kinases et des phosphatases, tandis qu'elles modulent les voies de transduction du signal par des mécanismes dépendant du redox. Par conséquent, ils sont des régulateurs clés de la signalisation et de la fonction cellulaires et jouent un rôle clé dans les processus pathogènes (Schröder, 2020; Stock et al., 2019)

### 1.6.1.2 Sources exogènes des ROS

Divers agents environnementaux, tels que les allergènes et les polluants, contribuent à la production de ROS dans les voies respiratoires. Cette section aborde les principales sources exogènes impliquées dans le stress oxydatif pulmonaire.

Tout d'abord, les allergènes qui favorisent la production de ROS dans les poumons à la fois de manière indirecte, par l'activation des cellules immunitaires et structurelles, et directe, par la production intrinsèque de ROS. Les pollens sont des structures complexes qui, en plus de protéines antigéniques, contiennent également plusieurs autres protéines, y compris des enzymes Nox végétales. Boldogh et al. ont démontré que l'activité de Nox dans le pollen d'ambrosie induit la production de ROS dans les cellules épithéliales des voies respiratoires,

entraînant une production accrue d'IgE spécifiques de l'antigène et une inflammation allergique renforcée chez un modèle murin (Boldogh et al., 2005). Cependant, une étude ultérieure a rapporté que l'activité intrinsèque de la Nox du pollen n'induisait pas d'inflammation chez les souris exposées au pollen de bouleau, suggérant que l'effet des ROS dérivés du pollen peut dépendre du type de pollen et d'autres facteurs (Shalaby et al., 2013). Ensuite, les polluants gazeux et les matières particulaires (MP) sont des sources riches de ROS, et le stress oxydatif est un facteur majeur dans la toxicité pulmonaire et les effets pathologiques causés par la pollution de l'air (Vogel et al., 2020). Les MP sont produites par diverses sources, notamment les pots d'échappement des voitures, les émissions industrielles, la poussière fine et la construction. Leur toxicité pulmonaire dépend de leur taille, qui détermine à son tour leurs sites de dépôt, leurs propriétés chimiques, leur solubilité et leur persistance dans le corps (Huang et al., 2015). De plus, les métaux de transition dans les MP, y compris le Ni, le Cr, le Co et le Fe, catalysent la production de radicaux  $\bullet\text{OH}$  dans les poumons en utilisant la réaction de Fenton (Han et al., 2001). L'entrée de MP dans les voies respiratoires entraîne leur absorption par les CE (cellules épithéliales) et les macrophages, provoquant l'activation de mécanismes inflammatoires sensibles au stress oxydatif (Vogel et al., 2020). L'ozone, un constituant majeur de la pollution de l'air, est une importante source de ROS. Il est généré par la réaction des oxydes d'azote avec des composés organiques volatils, sous l'action du soleil. Normalement, l'ozone est neutralisé par des antioxydants hydrosolubles, notamment l'acide urique, le glutathion, l'ascorbate et l' $\alpha$ -tocophérol, dans le liquide de revêtement épithélial (Kelly et al., 1995). Cependant, des concentrations élevées d'ozone submergent les mécanismes antioxydants et génèrent des ROS et des produits d'oxydation lipidique réactifs qui agissent sur l'épithélium des voies respiratoires et les cellules immunitaires innées pour provoquer une lésion épithéliale et déclencher la libération de médiateurs pro-inflammatoires (Michaudel et al., 2018). La réponse inflammatoire résultante amplifie le stress oxydatif endogène par les ROS dérivés des CE des voies respiratoires et des neutrophiles (Wiegman et al., 2020).

### 1.6.2 Déséquilibre redox au niveau cellulaire

Les ROS sont désormais reconnus comme des médiateurs importants de la pathogenèse de l'asthme en induisant des réponses inflammatoires, ainsi que la remodelisation et l'hyperréactivité des voies respiratoires, comme le démontrent de nombreuses études utilisant des modèles *in vitro* et *in vivo* (Bazan-Socha et al., 2022; Comhair and Erzurum, 2010). Le déséquilibre redox dans les poumons asthmatiques a été identifié dès le début comme étant le

résultat d'une production accrue de ROS et d'une protection antioxydante atténuée dans les cellules inflammatoires infiltrantes et les cellules résidentes, ce qui est déclenché en réponse à l'exposition aux allergènes et aux oxydants exogènes (Comhair et al., 2000). Des études ultérieures ont examiné les mécanismes potentiels sous-jacents du stress oxydatif dans l'asthme. Les éosinophiles et les neutrophiles sont une source clé de ROS dans les poumons asthmatiques par le biais de leur explosion oxydative, qui dépend de  $O_2^{\bullet-}$  produit par Nox2 (Lacy et al., 2003).  $O_2^{\bullet-}$  est converti en  $H_2O_2$ , qui est utilisé par la peroxydase éosinophilique (PEO) et la myéloperoxydases neutrophilique (MPO) pour induire la nitration des protéines, l'halogénéation et la réticulation de la tyrosine (Sahiner et al., 2018). Pour les réactions d'halogénéation, la PEO utilise principalement le bromure tandis que la MPO utilise le chlorure. Les éosinophiles sanguins des patients asthmatiques sévères présentent une expression plus élevée de Nox2 par rapport aux asthmatiques légers/modérés et aux sujets sains (Gaurav et al., 2015). De même, les neutrophiles sanguins des patients asthmatiques montrent une production de ROS spontanée et stimulée plus élevée par rapport aux sujets sains, tandis que les neutrophiles des patients asthmatiques sévères présentent une production de ROS stimulée plus élevée par rapport aux neutrophiles des patients avec un asthme non sévère (Kim et al., 2019).. Le stress oxydatif médié par les éosinophiles et les neutrophiles peut donc jouer un rôle pathogène dans l'asthme éosinophilique et neutrophilique sévère, ainsi que lors des exacerbations. De manière intrigante, les éosinophiles activés dans les expectorations montrent une plus grande libération extracellulaire de  $O_2^{\bullet-}$  par rapport aux neutrophiles, en raison d'un assemblage différentiel de Nox2, suggérant que les éosinophiles peuvent avoir une plus grande capacité à causer des dommages tissulaires (Michaeloudes et al., 2022).

Le déséquilibre redox est également observé dans les cellules structurales des voies respiratoires asthmatiques. Les cellules épithéliales des voies respiratoires montrent une production accrue de ROS médiée par Duox1 et Duox2 dans l'asthme, tandis que Nox4 est élevé dans les cellules épithéliales des voies respiratoires asthmatiques et dans les cellules musculaires lisses des voies respiratoires (Wan et al., 2016). De plus, la peroxy-nitrite a été associée aux lésions épithéliales, à la libération de médiateurs inflammatoires, à l'insensibilité aux corticostéroïdes, à l'hyperréactivité des voies respiratoires et à la réduction de la fonction pulmonaire chez les patients asthmatiques. Par conséquent, les niveaux de ROS générés par l'activation des cellules inflammatoires ou par les polluants inhalés peuvent inhiber l'activité antioxydante par l'oxydation des protéines dans l'épithélium asthmatique, créant ainsi un cycle

futile de stress oxydatif, de lésions tissulaires et d'inflammation. Cependant, les cellules des voies respiratoires produisent également de faibles niveaux de ROS intracellulaires, qui agissent comme des médiateurs de signalisation régulant des fonctions cellulaires clés (Michaeloudes et al., 2022).

### 1.6.3 Mécanismes antioxydants cellulaires

Les ions  $O_2^{\bullet-}$  sont dismutés en  $H_2O_2$  par l'action des superoxyde dismutases (SOD), des enzymes ubiquitairement exprimées contenant des co-facteurs métalliques, qui se composent de trois isoformes. La superoxyde dismutase cuivre-zinc (CuZnSOD) est localisée dans le cytosol et représente 80 à 90 % de l'activité SOD intracellulaire. Le reste de l'activité SOD intracellulaire est dû à la superoxyde dismutase manganèse (MnSOD), localisée dans la matrice mitochondriale où elle dismute les ions  $O_2^{\bullet-}$  produits par la phosphorylation oxydative (Fridovich and Freeman, 1986). Une troisième isoforme de SOD, la SOD extracellulaire (EC-SOD), contient des ions Cu et Zn comme co-facteurs et est l'enzyme principale protégeant la MEC contre les dommages oxydatifs (Fattman et al., 2003). Les principaux mécanismes antioxydants éliminant le  $H_2O_2$  intracellulaire sont le glutathion, les peroxyredoxines et la catalase. Le glutathion est un tripeptide (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyl-glycine) contenant un groupe thiol (-SH) (Rahman et al., 2001). Sa concentration varie à travers les voies respiratoires et est particulièrement abondante dans le liquide de revêtement épithélial. La plupart du glutathion intracellulaire est localisé dans le cytoplasme, avec des concentrations plus faibles dans les mitochondries et le RE. Le glutathion est principalement trouvé sous forme thiol réduite (GSH), ce qui confère une protection antioxydante. Le GSH réduit les oxydants tels que le  $H_2O_2$ , et les peroxydes lipidiques et organiques, en s'oxydant en sa forme disulfure-oxydée (GSSG) par l'action de la glutathion peroxydase. La glutathion réductase utilise le NADPH pour réduire le GSSG en GSH, qui subit ensuite une oxydation supplémentaire créant un cycle redox (Lu, 2009). Le rapport GSH/GSSG est donc essentiel dans le maintien de l'homéostasie redox. Dans des conditions de stress oxydatif, les cellules maintiennent le rapport GSH/GSSG en induisant la synthèse de GSH ou en réduisant les niveaux de GSSG. Cette dernière est réalisée par la réduction de GSSG par le glutathion réductase ou par son exportation hors de la cellule (Mueller et al., 2005). Les peroxyredoxines sont des peroxydases thiol, localisées dans le cytoplasme, les mitochondries, le RE et les peroxysomes, qui réduisent le  $H_2O_2$  en eau (Lismont et al., 2019). Les peroxyredoxines sont restaurées à leur forme réduite par l'action du système thioredoxine/thioredoxine réductase, utilisant le NADPH comme co-facteur, complétant ainsi le cycle catalytique. La catalase est

une protéine tétramérique composée de quatre sous-unités identiques, chacune ayant un site actif contenant un groupe hème et NADPH. Elle est principalement localisée dans les peroxyosomes et décompose le  $H_2O_2$  en eau et en oxygène moléculaire par des réactions d'oxydation et de réduction alternatives se produisant à ses sites actifs (Fridovich and Freeman, 1986). Nrf2 est un facteur clé régulant l'équilibre redox cellulaire. Son activité est principalement contrôlée par Keap1, qui le cible pour une dégradation protéosomale. Les ROS modifient Keap1, permettant l'accumulation de Nrf2, qui active les gènes antioxydants via des coactivateurs comme CBP (C binding protéine) (Song et al., 2023; Zhu et al., 2005). Nrf2 est également régulé par la phosphorylation, des facteurs épigénétiques et des interactions protéiques (Michaeloudes et al., 2014).

---

***Chapitre II***  
***L'Imiquimod***  
***« agoniste du TLR7 »***

---

## 2 Chapitre II L'Imiquimod « agoniste du TLR7 »

### 2.1 Définition

Les agonistes des récepteurs de type Toll (TLR) sont récemment devenus d'intérêt en tant que nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement des allergies et de l'asthme (Aryan et al., 2014). Les TLR, qui sont un sous-ensemble de récepteurs de reconnaissance de pathogènes sensibles aux virus et aux bactéries, sont essentiels pour la réponse précoce contre l'infection. Leur activation entraîne une production immédiate de cytokines pro-inflammatoires et, le plus souvent, le développement d'une réponse de type Th1 (Kawai and Akira, 2011).

Le traitement avec des agonistes des TLR, seuls ou en tant qu'adjuvants dans l'immunothérapie spécifique aux allergènes, a été montré pour modifier et atténuer la réponse inflammatoire allergique (Connolly and O'Neill, 2012). En particulier, le traitement avec des agonistes de TLR7, qui reconnaissent l'ARN viral à brin simple, entraîne une réduction des niveaux de cytokines de type Th2, de l'éosinophilie, de l'hyperplasie des cellules caliciformes et des niveaux totaux d'IgE (Grela et al., 2011), ainsi qu'une hyperréactivité des voies respiratoires *in vivo* et une réactivité des voies respiratoires après une culture à long terme *in vitro* (Adner et al., 2013; Ekman et al., 2011). En clinique, les agonistes de TLR7 se sont révélés efficaces dans le traitement de la rhinite allergique saisonnière (Greiff et al., 2012).

Les agonistes de TLR7 sont d'un intérêt particulier car de nouvelles études ont démontré que l'agoniste prototypique, L'imiquimod (1-(2-méthylpropyl)-1H-imidazo(4,5-c) quinolin-4-amine)(fig.6), également connu sous le nom de S-26308 ou R-837, est le premier analogue nucléosidique non osidique (c'est-à-dire ne contenant pas de sucre) de la famille des imidazoquinoléines. Il s'agit d'une molécule organique tricyclique avec un composé hétérocyclique contenant de l'azote (N) et quatre atomes N, un composant quinoléine, un anneau 1H-imidazole et un groupe méthyle-propyle (Baumann and Baxendale, 2013). L'imiquimod appartient à la classe des modificateurs de la réponse immunitaire (Rudy, 2002). L'imiquimod (R-837), possède également la capacité d'induire des relaxations rapides des voies respiratoires *in vitro* et *in vivo*. Cela souligne davantage un rôle pour l'utilisation de ces agonistes dans le traitement de l'asthme (Larsson et al., 2016).

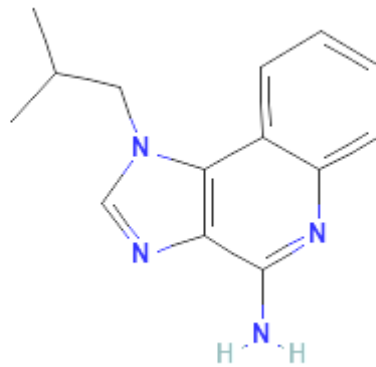


FIGURE 6 : STRUCTURE CHIMIQUE DE L'IMIQUIMOD  
(Baumann and Baxendale, 2013).

## 2.2 Mécanismes d'action de l'imiquimod

Les mécanismes exacts d'action de l'imiquimod n'ont pas encore été pleinement explorés. Néanmoins, il est bien documenté que l'imiquimod est un agoniste du TLR-7 (Hemmi et al., 2002; Walter et al., 2013), qui se lie aux cellules immunitaires activant le TLR-7. Le TLR-7 est exprimé à la surface endosomale des cellules présentatrices d'antigène et est couramment impliqué dans la reconnaissance des pathogènes (Arevalo et al., 2001). D'autres types de cellules activées par l'imiquimod comprennent les cellules tueuses naturelles, les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B, entraînant l'activation consécutive des protéines kinases et de facteurs de transcription en aval, y compris le facteur nucléaire(NF- $\kappa$ B), et la production de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines, y compris le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine (IL)-6, IL-8 , IL-12, l'interféron (IFN)- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  (Moarbess et al., 2008; Weber et al., 2013). L'induction de cytokines et les infiltrats cellulaires sous-jacents aux réponses immunitaires à médiation cellulaire entraînent la régression des verrues causées par l'infection à HPV (virus du papillome humain) (Sauder, 2000). Dans le cas de la leishmaniose cutanée, l'imiquimod présente une activité anti-leishmaniale via l'activation des TLR, la production de cytokines inflammatoires et l'induction de la libération d'oxyde nitrique (El Hajj et al., 2018). En effet, il a été démontré que l'imiquimod régule l'expression des TLR-7, TLR-11 et TLR-12, et médie ensuite l'activation de la voie MyD88 (myeloid differentiation primary response 88), aboutissant à l'induction d'une réponse immunitaire (Hamie et al., 2021). Il existe également des preuves indiquant que l'imiquimod, lorsqu'il est appliqué sur la peau, peut entraîner

l'activation des cellules de Langerhans, qui migrent ensuite vers les ganglions lymphatiques locaux pour activer le système immunitaire adaptatif (Arevalo et al., 2001).

Indépendamment de la liaison aux TLR, l'imiquimod peut également renforcer la signalisation pro-inflammatoire. En ce sens, l'imiquimod inhibe l'activité de l'adényl cyclase et supprime par conséquent les voies de signalisation des récepteurs à l'adénosine impliquées dans la régulation négative de l'inflammation (Ng and Levine, 2017). L'imiquimod a également été démontré pour inhiber la progression tumorale chez les animaux immunodéprimés, et son application topique inhibe puissamment l'angiogenèse induite par les tumeurs *in vivo*, de manière dépendante de la dose et du temps. Cet effet a été associé à la production induite par l'imiquimod de plusieurs cytokines, y compris l'IFN- $\gamma$ , le TNF- $\alpha$  et l'IL-18. Cela constitue une réponse efficace au traitement des tumeurs bénignes et pré-malignes associées au HPV, mais aussi des tumeurs prolifératives malignes précoces dépendantes de l'angiogenèse (Obeid et al., 2023).

### **2.3 Application de l'imiquimod dans le traitement de l'asthme allergique**

L'asthme allergique est un trouble respiratoire et immunitaire complexe et hétérogène et son incidence est en augmentation dans le monde entier. Actuellement, le traitement standard de l'asthme repose sur l'utilisation de corticostéroïdes pour tenter de supprimer la réaction inflammatoire se produisant dans l'arbre bronchique. Moisan et al. (2006) utilisant un modèle murin d'asthme allergique atopique impliquant une souche de souris hyperréactive à la méthacholine (A/J) ainsi qu'une souche hyporéactive (C57BL/6) sensibilisées et exposées à l'ovalbumine, nous démontrons que le traitement avec un ligand synthétique du récepteur Toll-like 7 (TLR7) (S-28463, un membre de la famille des imidazoquinolines) prévient le développement du phénotype asthmatique. Le traitement avec S-28463 a entraîné une réduction de la résistance et de l'élasticité des voies respiratoires après sensibilisation et exposition à l'ovalbumine. Cela s'est accompagné d'une réduction spectaculaire de l'infiltration des leucocytes, en particulier des éosinophiles, dans les poumons des souris C57BL/6 et A/J après la provocation à l'OVA. Le traitement avec S-28463 a également supprimé l'élévation du taux de sérum IgE ainsi que l'induction d'IL-4, IL-5 et IL-13 par la provocation à l'OVA. De même absence dans le changement dans le profil des cytokines de TH2 à TH1, car les niveaux d'IL-12p70 et d'IFN- $\gamma$  étaient réduits après le traitement par S-28463. Ces résultats démontrent clairement l'effet anti-inflammatoire des imidazoquinolines dans un modèle d'asthme allergique ainsi que le potentiel clinique des ligands TLR7 dans le traitement des maladies allergiques (Moisan et al., 2006).

Des agonistes de TLR7 ont été ajoutés aux voies respiratoires de cobayes après pré-contraction avec le carbachol *in vitro* ou de l'histamine *in vivo*. Des inhibiteurs pharmacologiques ont été utilisés pour disséquer les voies conventionnelles de bronchodilatation ; la tétradotoxine a été utilisée ou une vagotomie bilatérale a été réalisée pour évaluer l'implication neuronale. Des cellules musculaires lisses des voies respiratoires humaines (CMLVR) ont été utilisées pour déterminer l'effet des agonistes de TLR7 sur la mobilisation intracellulaire de  $Ca^{2+}$ . L'imiquimod, agoniste de TLR7 bien connu, relaxé rapidement les voies respiratoires pré- contractées *in vitro* et *in vivo*. Cette relaxation était indépendante de l'oxyde nitrique, du monoxyde de carbone et de la signalisation de l'AMPc, ainsi que de l'activité neuronale. L'imiquimod a induit la libération de  $Ca^{2+}$  à partir des réserves du réticulum endoplasmique dans les CMLVR, inhibant la libération de  $Ca^{2+}$  induite par l'histamine. Cette étude montre que l'imiquimod agit directement sur le muscle lisse des voies respiratoires pour induire une bronchodilatation, via une libération de  $Ca^{2+}$  intracellulaire indépendante de TLR7. L'effet est parallèle à celui d'autres composés bronchodilatateurs, comme la chloroquine, qui, tout comme l'imiquimod (Larsson et al., 2016).

Une étude menée par Xirakia et al. (2010) a montré que l'administration intranasale de R-848 (agoniste de TLR 7/8) a induit une réponse immunitaire transitoire caractérisée par la production d'interféron de type I et l'infiltration de cellules immunitaires innées dans les poumons. Cela a entraîné une suppression à long terme de la maladie allergique des voies respiratoires via deux processus moléculaires complémentaires : l'un médié par les interférons de type I, offrant une protection aiguë en inhibant directement les réponses effectrices Th2, et l'autre médié par les cellules T CD8 régulatrices immunitaires, induisant une protection durable en supprimant les réponses Th2 de manière dépendante de l'IFN- $\gamma$ .

L'administration intranasale de R-848 est un traitement efficace pour la maladie allergique des voies respiratoires. Elle détourne un processus immunitaire pro-inflammatoire déclenché par TLR7 pour entraîner une suppression durable de la maladie. Cela fournit des informations importantes sur l'efficacité et le mode d'action des ligands de TLR7 dans les modèles murins de maladies allergiques des voies respiratoires et ouvre la voie à leur application clinique chez l'homme (Xirakia et al.,2010).

### 2.4 Utilisation clinique de l'imiquimod

L'imiquimod est approuvé et disponible commercialement sous forme de crème à 2,5 %, 3,75 % ou 5 % pour le traitement des verrues génitales externes et du carcinome basocellulaire superficiel. Cependant, il est également utilisé pour des indications non conformes aux recommandations officielles, comme suit : les proliférations mélanocytaires, telles que le lentigo maligna, les nævus atypiques, ainsi que le lichen scléreux, l'alopecie areata, le sarcome de Kaposi et le molluscum contagiosum. La recherche sur l'imiquimod est encore un domaine actif. En effet, plus de 450 études ont été publiées sur ce sujet au cours de la dernière année seulement (à partir de mai 2023).

Une étude précédente a évalué l'effet potentialisateur de l'imiquimod sur la diphencyprone pour l'immunothérapie topique de l'alopecie areata et a rapporté que 77 % des patients ont présenté une amélioration des symptômes suite à l'ajout d'imiquimod (Díaz-Guimaraens et al., 2022). L'imiquimod a également été testé comme traitement topique chez des patients atteints du VIH et présentant des lésions squameuses intraépithéliales de haut grade, susceptibles d'évoluer en cancer anal (Palefsky et al., 2022). Comparé au groupe de surveillance active, le taux de survenue du cancer anal était inférieur de 57 % dans le groupe de traitement, ce qui suggère que le traitement des lésions squameuses intra-épithéliales de haut grade avec des médicaments tels que l'imiquimod protège contre le cancer anal (Palefsky et al., 2022). Une autre étude récente a décrit l'efficacité de l'imiquimod chargé dans des vésicules unilamellaires de petite taille sans phospholipides ciblant les hépatocytes, dans le traitement de l'hépatite B chronique (Al Fayez et al., 2022). Chez les patients atteints de lentigo malin, il a été démontré que l'imiquimod réduisait la surface du lentigo malin après un mois de traitement et pourrait être prescrit pour prévenir la progression de ces lésions vers la carcinogenèse (Daude et al., 2023). Dans une lignée de cellules de mélanome humain, l'imiquimod a induit la mort cellulaire par perméabilisation de la membrane lysosomale et la libération d'enzymes protéolytiques lysosomales, y compris les cathepsines, ce qui a entraîné un dysfonctionnement mitochondrial (Chang et al., 2022).

---

***Chapitre III***  
***Monographie sur le lierre***  
***grimpant d'Algérie Hedera***  
***algeriensis***

---

### 3 Chapitre III : Monographie sur le lierre grimpant d'Algérie *H. algeriensis*

#### 3.1 Définition

*Hedera.*, le genre lierre, (famille des Araliaceae) comprend environ 15 espèces réparties en Afrique du Nord, en Asie, en Macaronésie et en Europe (Ackerfield and Wen, 2002). Les membres du genre sont très appréciés en tant que plantes ornementales et sont fréquemment utilisés dans l'aménagement paysager et à l'intérieur. Les saponines triterpéniques et les composés phénoliques sont les principaux phytoconstituants signalés dans les espèces du genre *Hedera*. De nombreuses activités biologiques ont été rapportées pour les espèces de *Hedera*, notamment des activités molluscicides, antibactériennes, antivirales, antioxydantes, cytotoxiques, antidiabétiques, hépatoprotectrices et anti-inflammatoires. En raison de ses propriétés spasmolytiques et expectorantes, les feuilles de lierre étaient traditionnellement utilisées pour traiter les symptômes des infections des voies respiratoires supérieures (Khdaïr et al., 2010).

En outre, la Commission E allemande, coopérative scientifique européenne en phytothérapie. (ESCOP) et comité on Herbal Medicinal Products (HMPC) ont tous publié des monographies sur *H. helix* (Phytotherapy, 2003) et l'ont approuvé pour le traitement des symptômes des affections bronchiques inflammatoires chroniques ainsi que des catarrhes des voies respiratoires.

#### 3.2 Classification taxonomique

Malgré la présence de plusieurs espèces végétales connues sous le nom de lierre, telles que le Sumac vénéneux ou le lierre de Boston, le nom est généralement compris comme faisant référence aux plantes du genre *Hedera* (famille des Araliaceae), en particulier le lierre anglais, *H. helix* (Small, 2019). Le genre comprend environ 15 espèces et malgré son importance médicinale et économique considérable, sa taxonomie et sa classification manquent de consensus et sont considérées comme problématiques, de nombreuses études tentant de distinguer entre les différentes espèces et d'évaluer leurs relations phylogénétiques (Ackerfield and Wen, 2002). Dans le tableau (1) ci-dessous, toutes les espèces rapportées sont considérées comme des espèces acceptées et sont reconnues dans la Liste mondiale et Bibliographie des Araliaceae, publiée par les Jardins botaniques royaux de Kew (Osama et al., 2023).

Tableau 1 : Principales espèces de lierre (*Hedera spp*) et leur répartition géographique (Osama et al., 2023).

Nom scientifique	Nom commun	Lieu d'origine
<i>Hedera canariensis Willd</i>	Lierre des Canaries	Îles Canaries
<i>Hedera colchica K. Koch</i>	Lierre de Colchide	Géorgie et Turquie
<i>Hedera helix</i>	Lierre commun	Mondial
<i>Hedera nepalensis K. Koch</i>	Lierre chinois/himalayen	Chine, Népal, Himalaya
<i>Hedera rhombea Bean</i>	Lierre japonais	Japon, Corée, Taiwan
<i>Hedera scotica A. Chevall</i>	Lierre écossais/irlandais	Irlande, Écosse
<i>Hedera taurica (Hibberd)</i>	Lierre de Crimée	Crimée
<i>Hedera algeriensis</i>	Lierre algérien	Algérie

L'espèce spécifique de notre étude est *Hedera algeriensis*, elle relève du règne Plantae, du phylum Spermatophyta et du sous-phylum Angiospermae. Sur le plan de la classe, elle est classifiée comme Dicotylédones, puis elle appartient à l'ordre des Araliales, à la famille des Araliaceae, et enfin au genre *Hedera* (Tab.2)(Al-Snafi, 2018).

Tableau 2 : Classification botanique de *Hedera algeriensis* (Al-Snafi, 2018).

<b>Royaume</b>	Plantae
<b>Phylum</b>	Spermatophyte
<b>Subphylum</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Araliales
<b>Famille</b>	Araliaceae
<b>Genre</b>	<i>Hedera</i>
<b>Espèce</b>	<i>Hedera algeriensis</i>

---

### 3.3 Distribution géographique

Il était distribué en Afrique (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie); en Asie (Arménie, Géorgie, Fédération de Russie, Iran, Irak, Palestine, Liban, Syrie, Turquie); en Europe (Biélorussie, Lettonie, Lituanie, Moldavie, Ukraine, Autriche, Belgique, Allemagne, Hongrie, Tchécoslovaquie, Pays-Bas, Pologne, Suisse, Danemark, Irlande, Norvège, Suède, Royaume-Uni, Albanie, Bulgarie, Ancienne Yougoslavie, Italie, Roumanie, France, Portugal, Espagne); en Australasie (Australie, Nouvelle-Zélande); en Amérique du Nord (Canada, États-Unis) et il était largement cultivé (Al-Snafi, 2018).

### 3.4 Description botanique

C'est une plante vivace ligneuse à feuillage persistant (Fig. 6). La tige est longue, rampante ou grimpante et peut atteindre une longueur pouvant aller jusqu'à 30 mètres. Lorsqu'elle est vieille, les tiges peuvent atteindre un diamètre de plus de 10 cm et même produire un tronc court. La tige est attachée au substrat par de nombreuses petites racines produites à chaque nœud foliaire, qui portent des mycorhizes vasculaires-arbusculaires. Les feuilles vertes foncé, brillantes et coriaces sont persistantes, hétérophylles, et principalement lobées palmatément sur les tiges stériles tandis que celles sur les tiges florales sont ovales et plus grandes. Les feuilles de la plante ont généralement moins de 8 cm de diamètre, elles sont longues à vivre et ont une forte odeur lorsqu'elles sont écrasées. Les fleurs parfaites, parfois protandres, jaune-vert, de 5 à 7 mm de diamètre, sont regroupées en inflorescences terminales portées sur des tiges grimpantes atteignant la hauteur de la canopée. Le fruit, une drupe de 6 à 9 mm de diamètre, est vert devenant pourpre foncé/noir à maturité et contient de 2 à 5 graines (Strelau et al., 2018; Victor 2018).



FIGURE 7 : LES FEUILLES, LES FLEURS ET LES FRUITS D'HEDERA ALGERIENSIS

(Strelau et al., 2018 ; Victor 2018).

### 3.5 Usages traditionnels

Il était utilisé pour le rhume commun associé à la toux et pour le traitement symptomatique des troubles bronchiques inflammatoires aigus et chroniques (Sierocinski et al., 2021). Les feuilles étaient utilisées comme analgésiques et anti-inflammatoires, et les feuilles et les baies étaient consommées oralement comme expectorant pour le traitement de la toux et de la bronchite (Rashed, 2013). Les feuilles bouillies d'*Hedera helix* étaient appliquées sur la partie du corps affectée pour combattre la teigne, la gale et les vers. Il était utilisé pour traiter la dépression, comme stimulant, narcotique et hallucinogène selon la quantité consommée (Brussell, 2004). Une décoction des feuilles d'*Hedera* était utilisée dans le traitement du diabète en Turquie (Kültür, 2007). En application topique, il était utilisé comme apaisant et antiprurigineux, et comme traitement protecteur pour les fissures, écorchures, peau gercée et piqûres d'insectes (Kültür, 2007).

---

### 3.6 Activités pharmacologiques du genre *Hedera*

Bien que de nombreuses études aient mis en évidence les propriétés pharmacologiques du genre *Hedera*, notamment celles de *Hedera helix*, aucune investigation approfondie sur les activités biologiques n'a été menée jusqu'à présent sur *Hedera algeriensis*. La présente section synthétise les principales activités biologiques rapportées pour le genre *Hedera*, afin de situer scientifiquement notre travail et de souligner la pertinence de l'évaluation pharmacologique de *Hedera algeriensis*.

#### 3.6.1 Activité antioxydante et hépato-protectrice

L' $\alpha$ -hédérine et l'hédéracoside C possèdent une activité antioxydante démontrée par divers tests (DPPH, pouvoir réducteur, chélation, etc.), comparable à l' $\alpha$ -tocophérol, BHA et BHT (Gülçin et al., 2004). Le prétraitement à l' $\alpha$ -hédérine protège le foie contre la toxicité du tétrachlorure de carbone en réduisant les enzymes hépatiques, la peroxydation lipidique, et l'expression de P450 2E1, tout en préservant le glutathion (Lutsenko et al., 2010). Chez la souris, l'extrait d'*H. helix* a réduit les effets hépatotoxiques de l'acétaminophène, en abaissant les enzymes hépatiques et en rétablissant les niveaux d'enzymes antioxydantes (Moshai-Nezhad et al., 2019b).

#### 3.6.2 Activité antiinflammatoire

L'extrait éthanolique de *Hedera helix* a été testé pour ses propriétés anti-inflammatoires. Des L'extrait éthanolique de *H. helix* a montré une inhibition significative (88,89 %) de l'œdème de la patte induit par la formaline et a atténué les symptômes de l'arthrite (Rai, 2013). Les saponines brutes (EBS) et purifiées (EPS) ont révélé une activité anti-inflammatoire, l'EPS étant plus efficace (Süleyman et al., 2003). L'extrait sec de feuilles de lierre a diminué la libération d'IL-6 induite par le LPS, ce qui suggère un effet bénéfique sur les inflammations respiratoires (Osama et al., 2023 ; Schulte-Michels et al., 2016). L'hédéracoside C a réduit l'inflammation mammaire induite par *S. aureus*, en diminuant les cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ ) et en augmentant l'IL-10 (Muhammad et al., 2020).

#### 3.6.3 Effet sur la fonction respiratoire

*H. helix* est traditionnellement utilisée pour soulager la toux et les inflammations bronchiques grâce à ses propriétés expectorantes (Yu et al., 2015). Chez des enfants atteints de bronchite aiguë, le sirop Prospan® s'est montré aussi efficace que l'acétylcystéine, avec une disparition plus rapide des symptômes et une meilleure tolérance (Bolbot et al., 2004).

**3.6.4 Activité cytotoxique**

L'hédéragénine agit sur des cellules cancéreuses résistantes au cisplatine, en perturbant leurs mitochondries et en induisant leur mort (Kim et al., 2017). L'extrait de *H. helix* spp. *Rhizomatifera* a montré une meilleure efficacité que la doxorubicine contre des cellules Hep-G2 et MCF7 (Elsahafy et al., 2020). L'hédéragénine induit la mort des cellules du côlon par un stress mitochondrial (Liu et al., 2014) et bloque la voie Nrf2-ARE (Kim et al., 2017). L'extrait de *Hedera pastuchovii* a aussi montré une toxicité envers les cellules cancéreuses de l'ovaire et du poumon (Osama et al., 2023).

**3.6.5 Activité antimicrobienne**

Des espèces du genre *Hedera*, en particulier *Hedera helix*, présentent une activité antimicrobienne due à leurs composés phénoliques, comme l' $\alpha$ -hédérine et l'hédéracosite C. Ces derniers altèrent l'enveloppe cellulaire et provoquent la mort de levures (*Candida albicans*) ainsi que l'inhibition de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (*Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*) (Lutsenko et al., 2010).

---

# ***PARTIE EXPERIMENTALE***

---

---

# *Chapitre IV*

## *Matériel et méthodes*

---

#### 4 Chapitre IV. Matériel et méthodes

Avant d'aborder la partie expérimentale de ce travail, il convient de rappeler les principaux objectifs de cette étude, centrée sur l'exploration du potentiel bioactif de *Hedera algeriensis* et l'évaluation de son efficacité dans un modèle d'asthme allergique. Dans cette optique, notre recherche vise à valoriser une plante endémique méditerranéenne encore peu étudiée, en examinant ses propriétés biologiques dans un contexte d'inflammation allergique.

L'objectif principal est double : d'une part, caractériser les composés phytochimiques de l'extrait aqueux de *H. algeriensis* et évaluer ses activités antioxydante, antimicrobienne et inhibitrice enzymatique *in vitro* ; d'autre part, analyser son potentiel thérapeutique *in vivo* à l'aide d'un modèle expérimental d'asthme allergique induit chez le rat. L'efficacité de l'extrait est également comparée à celle de l'imiquimod, un immunomodulateur ciblant les récepteurs TLR7.

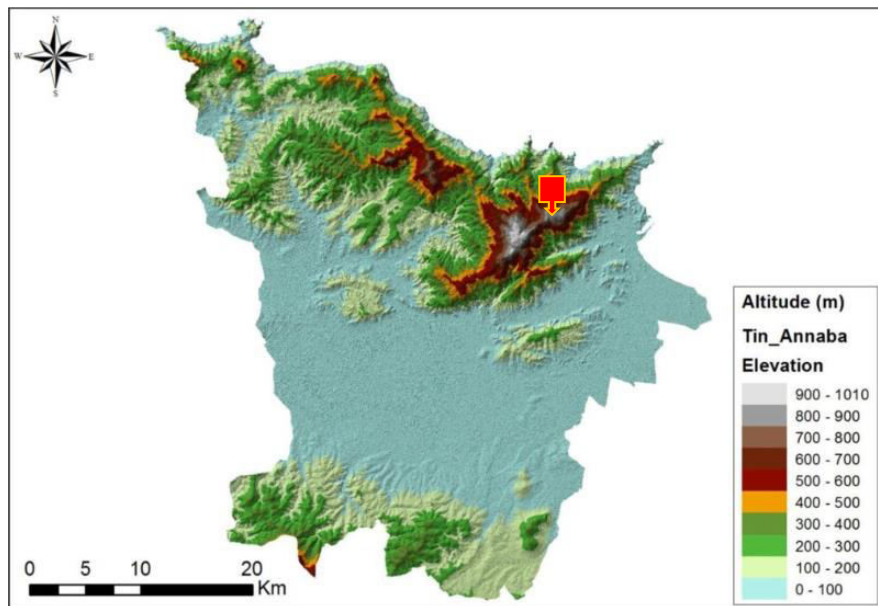
Ce travail s'inscrit dans une approche intégrative, combinant analyses phytochimiques, biologiques et histopathologiques, afin de mieux comprendre les effets protecteurs potentiels de cette plante et d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques naturelles contre l'asthme.

##### 4.1 Matériel végétal

Les feuilles de *Hedera algeriensis* ont été récoltées, en septembre 2021, dans la région de Seraïdi (36°55'00" N, 7°40'00" E), sur le mont de l'Edough à ± 860 m d'altitude, wilaya d'Annaba (Est de l'Algérie) (Fig.8).

La plante a été préalablement identifiée par le Professeur Tarek Hamel (Département de Biologie, Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie).

Cette espèce de lierre appartient à la famille des Araliaceae et est référencée dans l'herbier du Professeur Gérard de Belair (<http://gdebelair.com/>) sous le numéro de spécimen 031\_14. »



**FIGURE 8** : CARTE D'ANNABA MONTRANT LE SITE DE RECOLTE DE LA PLANTE « HEDERA ALGERIENSIS » SUR LES HAUTEURS DE SERAIDI (ANNABA)  
(<https://gifex.com/>)

## 4.2 Etude phytochimique et diverses activités biologiques *in vitro*

### 4.2.1 Préparation de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis*

Les feuilles de la plante ont été séchées, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine. À partir de cette poudre, un extrait aqueux a été préparé dans de l'eau distillée (fig.9). Le mélange a été agité magnétiquement à température ambiante pendant trois heures, à l'abri de la lumière et de l'air. Il a ensuite été homogénéisé, puis filtré une première fois à l'aide de papier filtre Whatman, avant d'être conservé au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation, conformément à la méthode décrite par Eguale et al. (2007). Cette première macération a été réalisée à raison de 10 g de poudre pour 100 mL d'eau distillée (ratio 1:10). Elle a été utilisée pour l'analyse phytochimique.

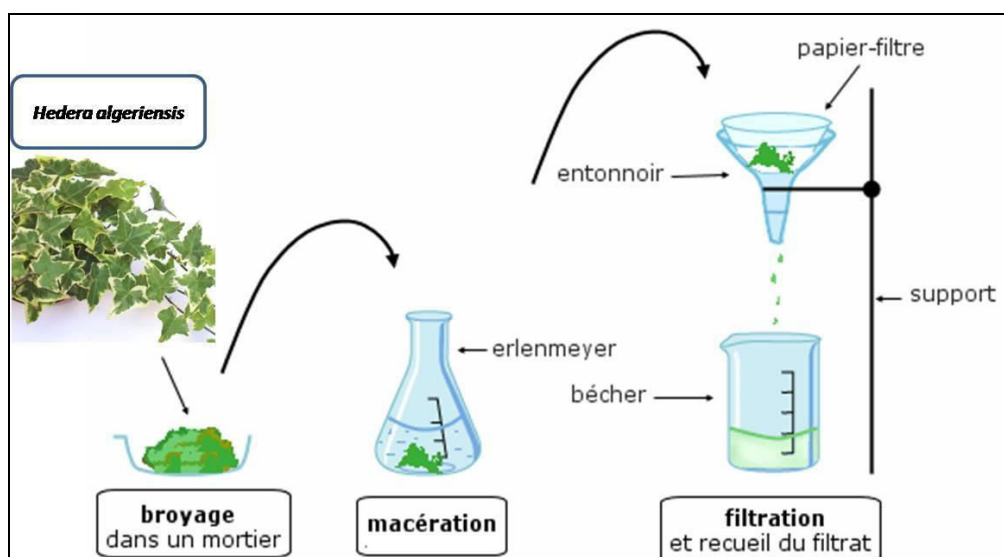


FIGURE 9 : PREPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX DE HEDERA ALGERIENSIS.

#### 4.2.2 Calcul du rendement

Le rendement (R) de l'extrait a été déterminé par la formule suivante :  $R (\%) = m / M \times 100$ .  
où : **m** : poids après agitation, **M** : Poids de la matière végétale de départ.

#### 4.2.3 Dosages spectrophotométriques des composés phénoliques

Afin de mieux comprendre les effets biologiques de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis*, une première étape essentielle a consisté à caractériser la composition phytochimique. Cette analyse a été menée parallèlement à l'évaluation de ses activités biologiques *in vitro* (voir Fig. 10).

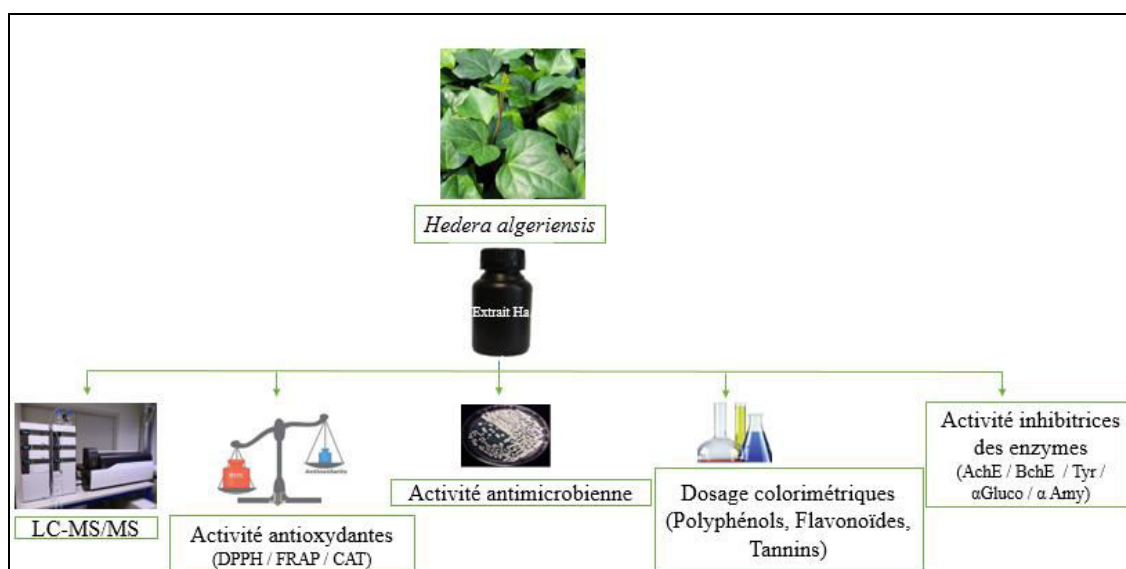


FIGURE 10 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DES INVESTIGATIONS EXPERIMENTALES MENEES IN VITRO SUR L'EXTRAIT AQUEUX DE LA PLANTE

#### 4.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La concentration en phénols totaux de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* a été déterminée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (Bouaziz et al., 2010). En bref, 50µL de l'extrait ont été ajoutés à 250µL du réactif Folin-Ciocalteu et 500µL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (20%). Après agitation au vortex, le volume est ajusté à 5 mL avec de l'eau distillée puis le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante. La densité optique (DO) est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm, réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contenu en phénols totaux a été déterminé à partir de l'équation du courbe étalon de l'acide gallique (ANNEXE 1). Les phénols totaux sont exprimés en mg d'acide gallique par g de la matière sèche.

#### 4.2.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de AlCl<sub>3</sub> Djeridane et al. (2006). En bref, une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) a été ajoutée à 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2 % dissous au méthanol). Après 15 minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc à une longueur d'onde de 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine (ANNEXE 2) Les résultats exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par g de la matière séchée.

#### 4.2.3.3 Dosage des tanins condensés

Le dosage des tannins a été réalisé selon la méthode de Julkunen-Tiitto (1985). En bref, 50 µL de l'extrait de plante dilué de façon appropriée, 3 mL de vanilline (4% dans le méthanol) et 1.5 mL de Hcl concentré ont été mélangés. Après 15 min, l'absorbance a été mesurée à  $\lambda = 500$  nm contre un blanc. Le contenu en tannins a été calculé à partir de l'équation du courbe étalon de la catéchine (ANNEXE 3). Les tannins ont été exprimés en mg équivalent de catéchine/g d'extrait.

#### 4.2.4 Dosage des composés bioactive par LC-MS/MS

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* a été réalisée par chromatographie liquide ultra-haute performance (UHPLC) couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS) développé et validé. Elle a été réalisée au sein du Centre de recherche et d'application en sciences et technologies (DÜBTAM) de l'Université de Dicle (en Turquie). Pour cela, un total de 53 standards phytochimiques (14 aglycones flavonoïdes, 13 glycosides flavonoïdes, 20 acides phénoliques, trois aldéhydes phénoliques, un benzopyrane, un glucoside stilbénoloïde et un biflavonoïde) ont été utilisés comme références

(Yilmaz, 2020). Un système de chromatographie liquide ultra-haute performance Shimadzu-Nexera a été utilisé pour effectuer l'évaluation quantitative des 53 phytochimiques. La chromatographie en phase inverse UHPLC était équipée d'un échantillonneur automatique (modèle SIL-30AC), d'un four à colonne (modèle CTO-10ASvp), de pompes binaires (modèle LC-30AD) et d'un dégazeur (modèle DGU-20A3R). Les conditions chromatographiques ont été optimisées pour obtenir une séparation optimale des 53 phytochimiques et surmonter les effets de suppression. Différentes colonnes telles que le modèle Agilent Poroshell 120 EC-C18 (150 mm×2,1 mm, 2,7 μm) et RP-C18 Inertsil ODS-4 (100 mm×2,1 mm, 2μm), différents phases mobiles (B) telles que l'acétonitrile et le méthanol, différents additifs de phase mobile tels que le formiate d'ammonium, l'acide formique, l'acétate d'ammonium et l'acide acétique, différentes températures de colonne telles que 25°C, 30°C, 35°C et 40°C ont été testées et appliquées. Des conditions optimales ont été obtenues.

Par conséquent, la séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne analytique en phase inverse Agilent Poroshell 120 EC-C18 (150 mm×2,1 mm, 2,7 μm). La température de la colonne a été réglée à 40°C. Le gradient d'élution était composé de l'éluant A (eau + 5 mM de formiate d'ammonium + 0,1% d'acide formique) et de l'éluant B (méthanol + 5 mM de formiate d'ammonium + 0,1% d'acide formique). Le profil d'élution par gradient suivant a été utilisé : 20-100% B (0-25 min), 100% B (25-35 min), 20% B (35-45 min). De plus, le débit de solvant et le volume d'injection ont été fixés à 0,5 mL/min et 5 μL, respectivement.

La détection par spectrométrie de masse a été effectuée à l'aide d'un spectromètre de masse en tandem Shimadzu LCMS-8040 équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI) fonctionnant en modes d'ionisation négative et positive. Les données LC-ESI-MS/MS ont été acquises et traitées par le logiciel Lab Solutions (Shimadzu). La méthode MRM (monitoring de multiples réactions) a été optimisée pour détecter et quantifier sélectivement les composés phytochimiques sur la base du dépistage de transitions précises d'ions phytochimiques précurseurs vers des ions fragments. Les énergies de collision (EC) ont été optimisées afin de générer une fragmentation photochimique optimale et une transmission maximale des ions produits souhaités. Les conditions de fonctionnement du MS étaient les suivantes : gaz de séchage (N<sub>2</sub>), débit 15 L/min ; gaz de nébulisation (N<sub>2</sub>), débit 3 L/min ; température DL 250°C ; température du bloc chauffant 400°C et température de l'interface 350°C.

#### 4.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

##### 4.2.5.1 Méthode DPPH

Le test utilisé pour mesurer le pouvoir anti-radicalaire d'un échantillon est celui décrit par Bouaziz et al. (2010). En bref, une quantité de 50 µL de l'extrait, testé à différentes concentrations, a été mélangée avec 5 mL d'une solution de DPPH méthanolique (60 mg/L). Après agitation, les solutions ont été conservées à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm par rapport à un témoin. Le résultat a été exprimé en IC<sub>50</sub>, la concentration de l'extrait (µg/mL) nécessaire pour inhiber 50% des radicaux DPPH. La plus forte activité anti-radicalaire correspond à la fraction qui possède l'IC<sub>50</sub> la plus faible

##### 4.2.5.2 Méthode FRAP

L'activité réductrice du fer attribuée à l'extrait de la plante est déterminée selon la méthode décrite par Pan et al. (2008). En bref, une quantité de 1 mL de l'extrait à différentes concentrations a été mélangée avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH = 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium à 1% (K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>). Les tubes ont été incubés à 50°C pendant 30 minutes dans un bain-marie, puis refroidis à température ambiante. De l'acide trichloroacétique (TCA) à 10% (2,5 mL) a été ajouté pour arrêter la réaction. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 3000g pendant 10 minutes. Le surnageant a été récupéré et mélangé avec 2,5 mL d'eau distillée et 500 µL d'une solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1%. L'absorbance a été mesurée à 700 nm. Les résultats ont été exprimés en EC<sub>50</sub>, la concentration de l'extrait (µg/mL) nécessaire pour réduire 50% des radicaux.

##### 4.2.5.3 Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait de plante, ainsi que des témoins positifs, sont déterminées par la méthode utilisant le phosphomolybdène, décrite par Prieto et al. (1999). Cette technique est basée sur la réduction ou le transfert d'électrons, par l'extrait de la plante, du molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en molybdène Mo (V) sous la forme MoO<sub>2</sub><sup>+</sup> avec formation du complexe phosphate/Mo (V), de couleur verdâtre à pH acide. En bref, une quantité de 100 µL de chaque échantillon sont mélangés à 1mL de la solution de réaction, composée par l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 0,6 M/L), le tampon phosphate (Tpo<sub>4</sub> à 28 mM/L) et le molybdate d'ammonium (MoNH<sub>4</sub> à 4 Mm/L). Les tubes sont ensuite incubés durant 90 mn à 95°C. Après incubation et refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance est déterminée à 695 nm contre un blanc contenant 1mL de la solution du réactif et 0.1 mL de méthanol, qui a été

incubée dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en mmol d'équivalent de trolox par /g. Les expériences ont été répétées 3 fois.

#### **4.2.6 Tests de l'activités inhibitrices enzymatiques de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis***

##### **4.2.6.1 Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et la Butyrylthiocholine estérase**

Une solution d'échantillon (1 mg/mL ; 50  $\mu$ L) a été mélangée avec du DTNB (acide 5,5-dithio-bis(2-nitrobenzoïque), Sigma, St. Louis, MO, États-Unis) (125  $\mu$ L) et une solution d'AChE [acétylcholinestérase (Electric ell AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma)] ou de BChE (BChE de sérum équin, EC 3.1.1.8, Sigma) (25  $\mu$ L) dans un tampon Tris-HCl (pH 8,0) dans une microplaque à 96 puits, puis incubée pendant 15 minutes à 25°C. La réaction a été initiée par l'ajout d'iodure d'acétylthiocholine (ATCI, Sigma) ou de chlorure de butyrylthiocholine (BTCl, Sigma) (25  $\mu$ L). De la même manière, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de la réaction sans la solution enzymatique (AChE ou BChE). Les absorbances des échantillons et des blancs ont été lues à 405 nm après une incubation de 10 minutes à 25°C. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon, et l'activité inhibitrice de la cholinestérase a été exprimée en équivalents de galanthamine (mgGALAE/g extrait) (Ak et al., 2020).

##### **4.2.6.2 Activité inhibitrice de la tyrosinase**

Une solution d'échantillon (1 mg/mL ; 25  $\mu$ L) a été mélangée avec une solution de tyrosinase (40  $\mu$ L, Sigma) et un tampon phosphate (100  $\mu$ L, pH 6,8) dans une microplaque à 96 puits, puis incubée pendant 15 minutes à 25°C. La réaction a été initiée par l'ajout de L-DOPA (40  $\mu$ L, Sigma). De la même manière, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de la réaction sans la solution enzymatique (tyrosinase). Les absorbances des échantillons et des blancs ont été lues à 492 nm après une incubation de 10 minutes à 25°C. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon, et l'activité inhibitrice de la tyrosinase a été exprimée en équivalents d'acide kojique (mgKAE/g extrait) (Ak et al., 2020).

##### **4.2.6.3 Activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase**

Une solution d'échantillon (1 mg/mL ; 25  $\mu$ L) a été mélangée avec une solution d' $\alpha$ -amylase (provenant du pancréas porcine, EC 3.2.1.1, Sigma) (50  $\mu$ L) dans un tampon phosphate (pH 6,9 avec 6 mM de chlorure de sodium) dans une microplaque à 96 puits, puis incubée pendant 10 minutes à 37°C. Après la pré-incubation, la réaction a été initiée par l'ajout d'une solution d'amidon (50  $\mu$ L, 0,05 %). De la même manière, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de la réaction sans la solution enzymatique ( $\alpha$ -amylase). Le

mélange réactionnel a été incubé pendant 10 minutes à 37°C. La réaction a ensuite été arrêtée par l'ajout de HCl (25 µL, 1 M), suivi de l'ajout de la solution d'iode-iodure de potassium (100 µL). Les absorbances des échantillons et des blancs ont été lues à 630 nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon, et l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase a été exprimée en équivalents d'acarbose (mmol ACE/g extrait) (Lobine et al., 2021).

#### 4.2.6.4 Activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase

Une solution d'échantillon (1 mg/mL ; 50 µL) a été mélangée avec du glutathion (50 µL), une solution d' $\alpha$ -glucosidase (provenant de *Saccharomyces cerevisiae*, EC 3.2.1.20, Sigma) (50 µL) dans un tampon phosphate (pH 6,8) et du PNPG (4-N-trophényl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, Sigma) (50 µL) dans une microplaque à 96 puits, puis incubée pendant 15 minutes à 37°C. De la même manière, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de la réaction sans la solution enzymatique ( $\alpha$ -glucosidase). La réaction a ensuite été arrêtée par l'ajout de carbonate de sodium (50 µL, 0,2 M). Les absorbances des échantillons et des blancs ont été lues à 400 nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon, et l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase a été exprimée en équivalents d'acarbose (mmol ACE/g extrait) (Lobine et al., 2021).

#### 4.2.7 Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Hedera algeriensis* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque en utilisant le milieu Mueller Hinton agar (MH). Trois concentrations différentes de l'extrait (5, 25, 50 mg/mL) ont été testées en triplicata contre les levures *Candida albicans* 90028 et *Rhodotorula sp.*, ainsi que contre les souches bactériennes cliniques et de références suivantes : *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus* ciprofloxacine résistant ; *Bacillus cereus* ; *Serratia sp.* ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Escherichia coli* 25922 ; *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* 27853 et *Acinetobacter sp.*. Des colonies bactériennes issues d'une jeune culture de 24 heures ont été prélevées afin de préparer une suspension bactérienne avec une turbidité équivalente à 0,5 Mc Farland. Dans des conditions aseptiques, les milieux MH ont étéensemencés avec chaque souche testée. Des disques de papier filtre stériles d'un diamètre de 6 mm ont été imprégnés avec 40 µL de chaque concentration préparée et placés sur la surface de la géloseensemencée.

Les boîtesensemencées ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 à 72 heures. Après la période d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés avec le pied à coulisse. Les résultats ont été exprimés en millimètres.

### 4.3 Activités biologiques *in vivo* dans un modèle d'asthme expérimental

#### 4.3.1 Préparation de l'extrait aqueux concentré d'*Hedera algeriensis*

En utilisant la poudre obtenue à partir des feuilles séchées, un second extrait aqueux a été préparé selon la méthode décrite précédemment (Figure 9, section 4.2.1.). Cette fois, la macération a été réalisée avec 5 g de poudre dans 30 mL d'eau distillée (ratio  $\approx$  1:6), conférant à l'extrait une concentration légèrement plus élevée que la première préparation (1:10). Cet extrait a été utilisé pour le traitement des rats Wistar, administré à raison de 1 mL/jour à une dose de 500 mg/kg, conformément aux données de l'étude de Khan et al.,2020 avec une légère adaptation.

#### 4.3.2 Animaux et conditions d'élevage

Quarante-huit rats mâles (Albino Wistar), pesant environ 100-150g, âgés de 6 à 8 semaines, ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Algérie. Tous les animaux étaient logés dans des cages nettoyées tous les deux jours et maintenus dans des conditions régulières de 25°C et d'un cycle de 12h lumière et 12h obscurité, avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. Avant le début des expériences, les rats ont bénéficié d'une période d'adaptation de 15 jours. Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées conformément aux recommandations du National Institute of Health (NIH) pour le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire, et ont été approuvées par le comité d'éthique de notre institution (MESRS) dans le cadre du projet PRFU : D01N01UN230120200008.

#### 4.3.3 Protocole expérimental

##### 4.3.3.1 Formation des lots et traitements des rats

Les animaux ont été répartis de manière aléatoire en huit groupes comme suit (fig.11) :

Groupe 1 : Groupe témoin (control).

Groupe 2 : Rats sensibilisés à l'ovalbumine (injection intrapéritonéale et inhalation) (OVA).

Groupe 3 : Rats traités uniquement par Prednisolone par voie orale tous les trois jours à une concentration de 15 mg/kg de poids corporel du rat (Pred).

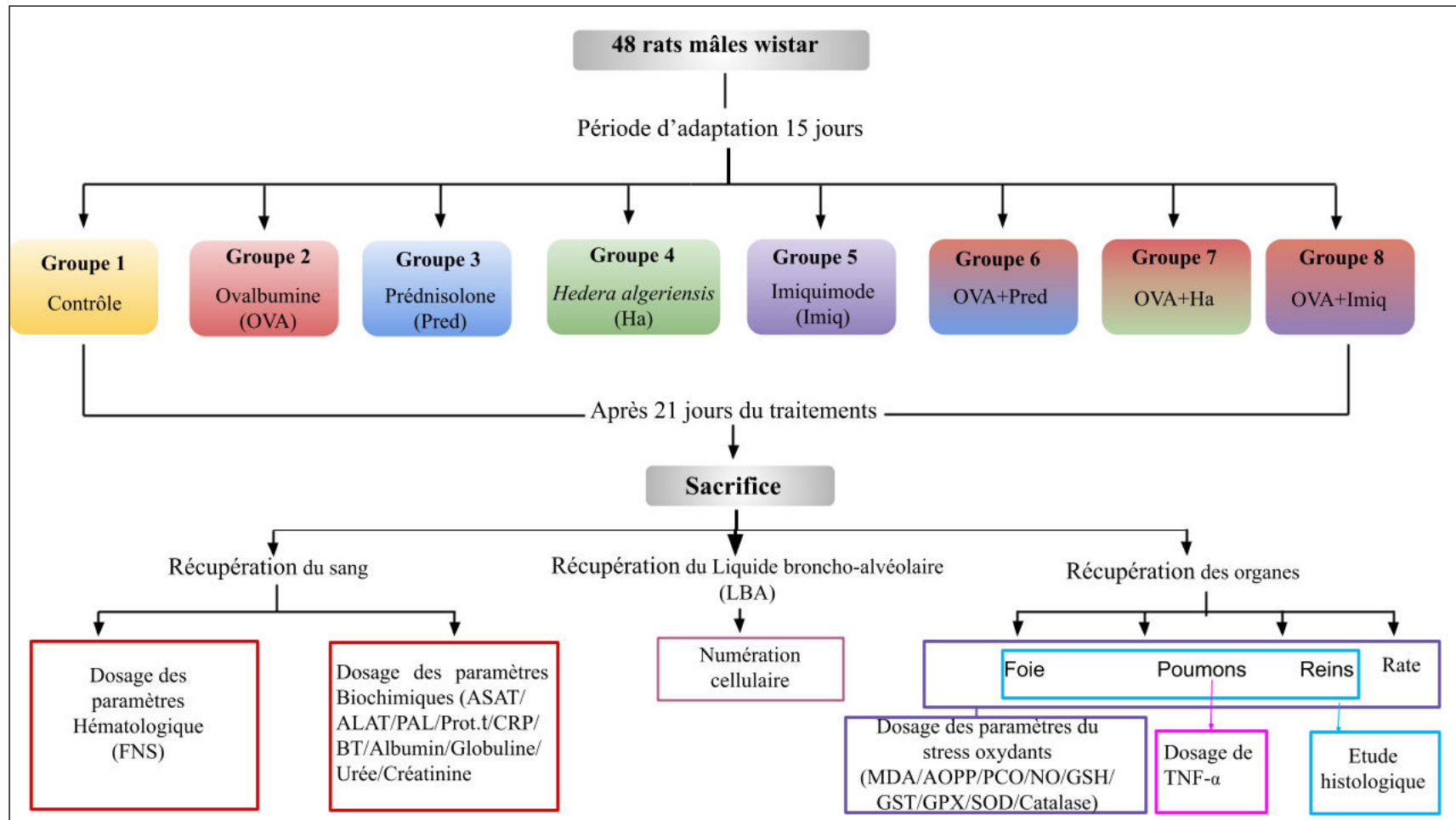
Groupe 4 : Rats traités uniquement avec l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* par gavage à une concentration de 500 mg/kg de poids corporel du rat (Ha).

Groupe 5 : Rats recevant uniquement une injection intrapéritonéale d'Imiquimod à une dose de 5 mg/kg de poids corporel du rat, une heure après chaque session de nébulisation (Imiq).

Groupe 6 : Rats sensibilisés et traités par la prednisolone (OVA+Pred).

Groupe 7 : Rats sensibilisés et traités par *Hedera algeriensis* (OVA + Ha).

Groupe 8 : Rats sensibilisés et traités par Imiquimod (OVA+Imiq).

FIGURE 11 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL *IN VIVO*.

#### 4.3.3.2 Sensibilisations des rats

Les rats ont été sensibilisés à l'ovalbumine (grade II, Réf. A5253-250G, Sigma Aldrich) selon une méthode induisant une inflammation aiguë avec un phénotype d'asthme allergique, conformément à la procédure décrite par Moerlose et al. (2005). La sensibilisation a été réalisée le premier jour (J1) et répétée jusqu'au troisième jour (J3) par voie intrapéritonéale (injection) en utilisant une solution d'ovalbumine à une dose de 1 mg/kg (de poids corporel) associée à un adjuvant d'hydroxyde d'aluminium (Al (OH<sub>3</sub>)) à 100 mg/mL (Fig.12) (Ghorani et al., 2018; Marefati et al., 2018).

#### 4.3.3.3 Provocations des rats par aérosols

Ainsi, aux 6<sup>ème</sup>, 9<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup>, 15<sup>ème</sup>, 18<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jours, les animaux ont été placés dans une chambre en Plexiglas munie d'une ouverture permettant le passage libre du nébulisat via un nébuliseur à compression (OMRON, NE-C29-E) à une dose de 1 % d'ovalbumine pendant une durée de 20 minutes. Les autres groupes de rats ont été exposés à un aérosol d'eau saline à 0,9 % pendant 20 minutes aux mêmes moments que le groupe précédent (Fig. 12).

#### 4.3.3.4 Administration de Prednisolone

L'administration de l'anti-inflammatoire Prednisolone (Sanofi Aventis Algérie spa Lot : 210389) a été effectuée pendant 7 jours à raison de 1 mL par jour tous les trois jours (du jour 3 au jour 21) par gavage à une concentration de 15 mg/kg de poids corporel du rat (Rana et al., 2016).

#### 4.3.3.5 Administration d'Imiquimod (R837)

L'Imiquimod (un ligand synthétique de TLR7) (Lot IMQ-41-03, Cat tlr1-imq, Invivogen) a été administré par injection intrapéritonéale le 6<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour à raison de 5 mg/kg de poids corporel du rat (Damm et al., 2012), une heure après chaque session de nébulisation (Fig 12).



centrifugés à 1500 tours par minute. Le culot résultant a été utilisé pour compter les globules blancs dans le LBA.

Après le sacrifice, les animaux ont été disséqués pour prélever le foie, les poumons, les reins et la rate. Chacun de ces organes a été divisé en deux parties : une première partie a été conservée dans le congélateur pour préparer l'homogénat et effectuer le dosage des paramètres liés au stress oxydatif et au TNF- $\alpha$ . L'autre partie a été fixée dans du formol en vue de la réalisation de coupes histologiques.

#### **4.3.3.7 Préparation des homogénats de tissus**

Les homogénats des tissus ont été préparés en broyant 1 gramme de tissus dans 2 mL de solution saline tamponnée au Tris (TBS) (50 mM de tris, 150 mM de NaCl, pH=7,4). Les homogénats ont été centrifugés (à 3500 tours par minute, 4°C, 35 minutes) et les surnageants ont été aliquotés puis utilisés pour la quantification du TNF- $\alpha$  et l'analyse des marqueurs du stress oxydatif.

#### **4.3.4 Evaluation des paramètres hématologiques**

Pour compter le nombre total de globules blancs et les niveaux de lymphocytes, de monocytes et de granulocytes dans le sang et le LBA, un automate d'hématologie (Blood Cell, ERMA INC, PCF-210 N) a été utilisé.

#### **4.3.5 Evaluation des paramètres biochimiques et immunologiques**

##### **4.3.5.1 Dosage des protéines totales :**

Le dosage des protéines totales a été effectué selon la méthode de Bradford (1976) avec l'utilisation de l'albumine sérique bovine (BSA) comme étalon. La procédure consistait à mélanger 50  $\mu$ L de l'échantillon avec 2,5 mL de réactif de Bradford contenant du Bleu de Coomassie Brillant G-250. Le mélange était ensuite agité et incubé pendant 5 minutes. L'absorbance a été mesurée à 595 nm.

##### **4.3.5.2 Dosage des paramètres biochimiques des fonctions rénale et hépatique**

Le dosage de tous les autres paramètres biochimiques : Les transaminases (ASAT, ALAT), les phosphatase Alcalines (PAL), les protéines totales, l'albumine, la protéine réactive C (CRP), la bilirubine totale, l'urée et la créatinine, ont été effectués sur les échantillons de sérum des différents groupes de rats, en utilisant un automate A15 (Analyseur automatique à accès aléatoire biosystème 15).

##### **4.3.5.3 Dosage des gammaglobulines et du TNF-alpha**

L'électrophorèse capillaire des protéines sériques a été réalisée à l'aide du système automatisé CAPILLARYS, basé sur la séparation en solution libre à travers 8 capillaires parallèles. Après

dilution, les échantillons sont injectés par aspiration puis soumis à un champ électrique, assurant la séparation des protéines, détectées par spectrophotométrie à 200 nm (longueur d'onde d'absorption des liaisons peptidiques). L'analyse a été réalisée avec le kit CAPILLARYS PROTEIN 6, selon les recommandations du fabricant (Capillarys Sebia). La migration des fractions suit l'ordre : gamma, bêta-2, bêta-1, alpha-2, alpha-1 globulines, et albumine. Pour cette étude, seul le pourcentage des gammaglobulines a été relevé et pris en compte dans les différents lots expérimentaux.

Le dosage du TNF- $\alpha$  dans l'homogénat pulmonaire est réalisé par la méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) sandwich en phase solide grâce au kit Invitrogen Rat TNF $\alpha$  (invitrogen REF: BMS 622 ; lot: 186640000). Un anticorps monoclonal spécifique du TNF- $\alpha$  avait été fixé au fond des puits de la microplaque (revêtement pendant 24 heures à 4°C). Cette étape est déjà réalisée par le fabricant lors de l'achat du kit. La liaison du TNF- $\alpha$  dans les puits est révélée par des anticorps anti-TNF- $\alpha$  couplés à la biotine, qui se lient ensuite au complexe streptavidine-peroxydase. La révélation est réalisée grâce au substrat de peroxydase (TetraMethylBenzidine (TMB)), qui devient bleu en présence de l'enzyme. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de TNF- $\alpha$  dosée. La DO est mesurée à 450 nm par le système MR-96A qui est un lecteur de microplaques Mindray. Les résultats finaux sont exprimés en pg/mL.

#### **4.3.6 Evaluation des paramètres du stress oxydatif**

##### **4.3.6.1 Dosage de Malondialdéhyde (MDA)**

Les peroxydes lipidiques ont été mesurés par la méthode de Buege and Aust (1978). En bref, 375  $\mu$ L d'homogénat de tissus ont été mélangés avec 150  $\mu$ L de TBS à pH 7,4, et 375  $\mu$ L de butylhydroxytoluène-trichloroacétique (1 % p/v de BHT dissous dans 20 % de TCA), et le mélange a été centrifugé à 1000 g pendant 10 min. Ensuite, 400  $\mu$ L du surnageant ont été mélangés avec 80  $\mu$ L de HCl et 320  $\mu$ L de réactif à l'acide thiobarbiturique (TBA), et le mélange a été incubé pendant 10 min dans un bain-marie bouillant. L'absorbance a été mesurée à 530 nm.

##### **4.3.6.2 Dosage des Produits Avancés de l'Oxydation des Protéines (AOPP)**

Pour l'analyse des Produits Avancés de l'Oxydation des Protéines (AOPP), la méthode décrite par Kayali et al. (2006) a été utilisée. La procédure consistait à ajouter 200  $\mu$ L d'homogénat à 100  $\mu$ L d'iodure de potassium (KI 1,16M) et 200  $\mu$ L d'acide acétique glacial. L'absorbance a été mesurée à 340 nm.

#### 4.3.6.3 Dosage des protéines carbonylées (PCO)

La mesure des carbonyles protéiques liés a été réalisée à 370 nm en utilisant la 2,4-dinitrophénylhydrazine, suivant la méthode de Levine et al. (1990). En bref, 100  $\mu$ L de l'échantillon ont été mélangés avec 500  $\mu$ L de solution DNPH-HCl (10 mM de DNPH, 2M de HCl) et laissés à température ambiante pendant une heure, avec agitation toutes les 15 minutes. Ensuite, 500  $\mu$ L de TCA à 20 % ont été ajoutés, et le mélange a été centrifugé à 1100 g pendant 3 minutes. Ensuite, le surnageant a été éliminé. Les pellets ont ensuite été lavés trois fois avec 1 mL d'éthanol-acétate d'éthyle (1:1), en laissant reposer l'échantillon pendant 10 minutes avant chaque centrifugation, et en éliminant le surnageant à chaque fois. La protéine précipitée a ensuite été redissoute dans 0,6 mL de solution de guanidine et laissée reposer pendant 15 minutes à 37°C. Le mélange a été centrifugé à 1100 g pendant 3 minutes, et l'absorbance a été mesurée à 370 nm.

#### 4.3.6.4 Dosage de l'oxyde nitrique (NO)

Le niveau de NO dans les tissus a été mesuré en utilisant la réaction de Griess (Rahman et al., 1996). Pour ce faire, un volume égal de réactif de Griess (composé de 5 % d'acide phosphorique avec 1 % de sulfanilamide et 0,1 % de N-naphtyl-éthylènediamine) a été mélangé avec les échantillons. Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Après incubation, l'absorbance des surnageants des échantillons a été mesurée à 540 nm.

#### 4.3.6.5 Dosage du glutathion réduit (GSH)

La méthode d' Ellman (1959) a été utilisée pour le dosage du GSH. La procédure consiste à mélanger 0,8 mL d'homogénat de tissus avec 0,2 mL d'acide sulfosalicylique (0,25 %). Après incubation dans un bain de glace pendant 15 minutes et centrifugation à 1000 g pendant 5 minutes, 0,5 mL du surnageant a été mélangé avec 1 mL de tampon Tris-EDTA (0,4 M de Tris, 0,02 M d'EDTA, pH 9,6) et 25  $\mu$ L de DTNB (0,01 M), et incubé pendant 5 minutes à température ambiante pour stabiliser la couleur. L'absorbance a été mesurée à 412 nm.

#### 4.3.6.6 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

La mesure de l'activité enzymatique de la GPx a été réalisée en utilisant la méthode de Flohé and Günzler (1984). La procédure consistait à mélanger 0,2 mL d'homogénat de tissus avec 0,4 mL de GSH (0,1 mM) et 0,2 mL de TBS et à incuber pendant 5 minutes à 25°C. Ensuite, 0,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) ont été ajoutés au mélange pour démarrer la réaction et ont été laissés pendant 10 minutes. Un volume de 1 mL de TCA (1 %) a été ajouté pour arrêter la réaction, et le mélange a été refroidi sur de la glace pendant 30 minutes. Après centrifugation

à 2000 g pendant 10 minutes, un volume de 0,48 mL du surnageant a été mélangé avec 2,2 mL de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et 0,32 mL de DTNB (1 mM), et incubé pendant 5 minutes à température ambiante pour stabiliser la couleur. L'absorbance a été mesurée à 412 nm.

#### **4.3.6.7 Dosage de l'activité enzymatique de la catalase**

La méthode de Aebi (1984) a été utilisée pour doser l'activité enzymatique de la catalase. La procédure consistait à mélanger 20  $\mu\text{L}$  d'homogénat de poumon avec 780  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (pH 7,5) et 200  $\mu\text{L}$  de peroxyde d'hydrogène (500 mM). L'absorbance a été enregistrée à 240 nm toutes les 15 secondes pendant 1 minute.

#### **4.3.6.8 Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)**

L'activité de la SOD a été évaluée en utilisant la méthode de Beyer and Fridovich (1987). Dans un mélange réactionnel, 50  $\mu\text{L}$  d'homogénat de poumon ont été mélangés avec 1 mL d'EDTA-Méthionine (0,3 mM), 1830  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (50 mM, pH 7,8), 85  $\mu\text{L}$  de tétrazolium bleu nitro (NBT 75  $\mu\text{M}$ ) et 22  $\mu\text{L}$  de riboflavine (2  $\mu\text{M}$ ). Le mélange a ensuite été incubé pendant 20 minutes à la lumière à température ambiante avant de mesurer l'absorbance à 560 nm par rapport à un blanc conservé dans l'obscurité.

#### **4.3.6.9 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)**

Pour mesurer l'activité de la GST, la méthode décrite par Habig et al. (1974) a été utilisée. La procédure consistait à mélanger 200  $\mu\text{L}$  d'homogénat de poumon avec 1200  $\mu\text{L}$  d'un mélange réactionnel contenant du 1-Chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB 1 mM) et du GSH (5 mM) dissous dans un tampon phosphate pH 6,5 (0,1 M). L'absorbance a été enregistrée à 340 nm toutes les 1 minute pendant 5 minutes.

#### **4.3.7 Examen histopathologique**

Après sacrifice des rats, les organes clés (foie, poumons et reins) ont été collectés et trempés dans un tampon de formol à 10%. Après fixation, les tissus ont ensuite été inclus dans de la paraffine. Les coupes de tissus (5  $\mu\text{m}$ ) ont été apposées sur des lames et colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) (Hould, 1984). Enfin, les tissus de chaque lot ont été examinés à l'aide d'un microscope optique et des microphotographies ont été prises. Les principales étapes sont illustrées dans la figure 13.

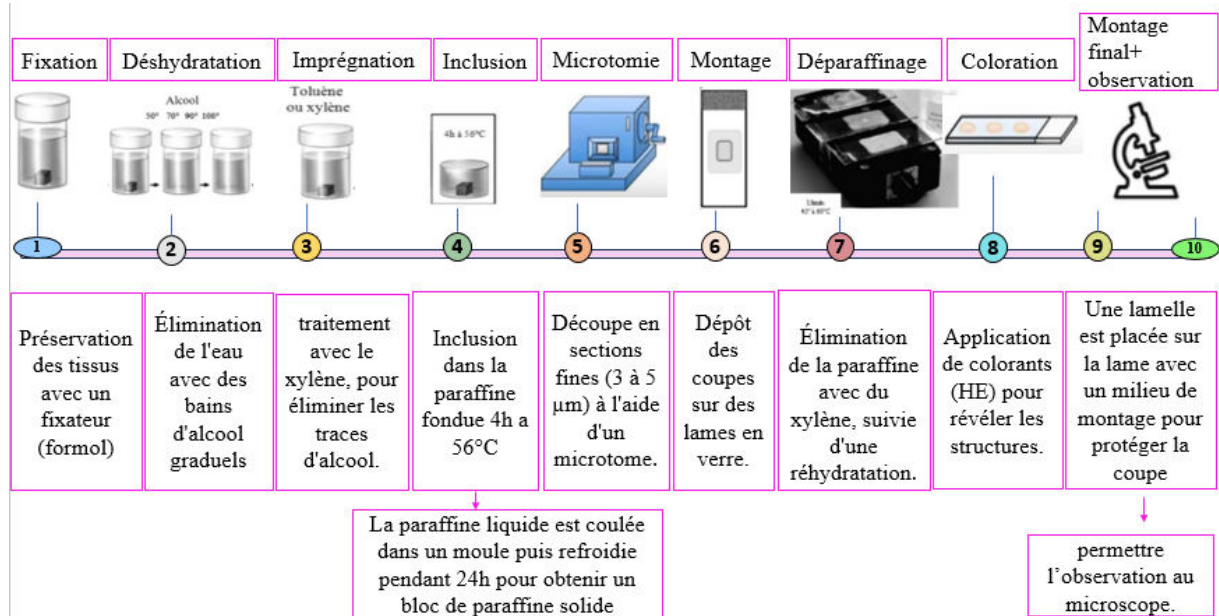


FIGURE 13 : DIAGRAMME RECAPITULATIF DE LA TECHNIQUE D'HISTOLOGIE

#### 4.4 Analyse statistique

Les données sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  SEM. L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée pour évaluer les comparaisons entre les groupes, et les tests de comparaison multiple de Tukey ont été suivis. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique Graph Pad Prism 8. Tous les tests statistiques ont été considérés comme significatifs à partir de  $p \leq 0,05$ . Comparaisons : tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et comparés au groupe sensibilisé à l'ovalbumine (OVA) (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur une matrice de données comprenant 24 échantillons (8 groupes  $\times$  3 rats), pour lesquels 16 paramètres biologiques (neuf inflammatoires et sept relatif au stress oxydatif) ont été mesurés.

---

# *Chapitre V*

## *Résultats et discussion*

---

## 5 Chapitre V : Résultats et discussion

Les résultats que nous avons obtenus à partir de l'évaluation phytochimique et biologique *in vitro* de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis*, ainsi que ceux issus de l'étude *in vivo* sur le modèle murin d'asthme allergique, sont présentés de façon succincte dans ce cinquième chapitre. L'analyse conjointe des données expérimentales et des références bibliographiques a permis de discuter de manière critique le potentiel thérapeutique de *Hedera algeriensis*.

### 5.1 Propriétés *in vitro* de l'extrait d'*Hedera algeriensis*

#### 5.1.1 Rendement d'extraction

L'extrait aqueux obtenu à partir des feuilles d'*Hedera algeriensis* présente un rendement de 12%, tableau (3).

#### 5.1.2 Teneurs en polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* a été réalisée en utilisant une courbe d'étalonnage établie à partir de solutions standard d'acide gallique à diverses concentrations (ANNEXE1). La concentration des polyphénols totaux dans l'extrait est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau (3). Les données obtenues révèlent que l'extrait contient une quantité de  $89,11 \pm 2,51$  mg EAG/g d'extrait.

#### 5.1.3 Teneurs en flavonoïdes Totaux

Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* a été effectué en utilisant la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). La quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait a été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations de quercétine comme standard (ANNEXE2). La teneur en flavonoïdes, présentée dans le tableau (3), est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g d'extrait). Les résultats obtenus révèlent que l'extrait contient une quantité de flavonoïdes égale à  $10,03 \pm 0,38$  mg QE/g d'extrait.

#### 5.1.4 Teneurs en tannins condensés

Le dosage des tanins a été effectué selon la méthode spectrophotométrique de la vanilline, avec la catéchine comme étalon de référence. La concentration en tanins est exprimée en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g d'extrait). La

quantification des tanins dans l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations (ANNEXE3). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (3), indiquant que l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* contient  $2,59 \pm 0,32$  mg EC/g d'extrait.

**TABLEAU 3** : RENDEMENT, TENEURS EN POLYPHENOLS, FLAVONOÏDES ET TANINS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *HEDERA ALGERIENSIS*.

Paramètres	Rendement (%)	Polyphénols totaux (mg GAE/g)	Flavonoïdes totaux (mg QE/g)	Tannins condensés (mgCE/g)
Extrait aqueux	12,55	$89,11 \pm 2,52$	$10,03 \pm 0,38$	$2,59 \pm 0,32$

### 5.1.5 Résultat de l'analyse de l'extrait aqueux par LC-MS/MS

L'analyse phytochimique réalisée dans la présente étude a montré que l'extrait était riche en acides phénoliques bioactifs, en flavonoïdes et en leurs dérivés. La figure (14) et le tableau (4) montrent l'évaluation phytochimique quantitative de l'extrait aqueux dérivé des feuilles de *Hedera algeriensis* par LC-MS/MS. L'analyse a révélé des concentrations significatives de quinze composés différents, classés par ordre décroissant de la concentration la plus élevée à la plus faible : acide quinique (131 302 mg/g), nicotiflorine (1 297 mg/g), hespéridine (0,952 mg/g), acide protocatéchuique (0,709 mg/g), acide chlorogénique (0,586 mg/g), astragaline (0,545 mg/g), acide fumarique (0,292 mg/g), acide p-coumarique (0,243 mg/g), rutine (0,240 mg/g) et aldéhyde protocatéchuique (0,142 mg/g). En outre, l'isoquercitine, l'acide caféique, l'acide salicylique, la naringénine et la daidzine ont été détectés à des concentrations de 0,095 mg/g ; 0,061 mg/g ; 0,045 mg/g ; 0,013 mg/g et 0,006 mg/g, respectivement.

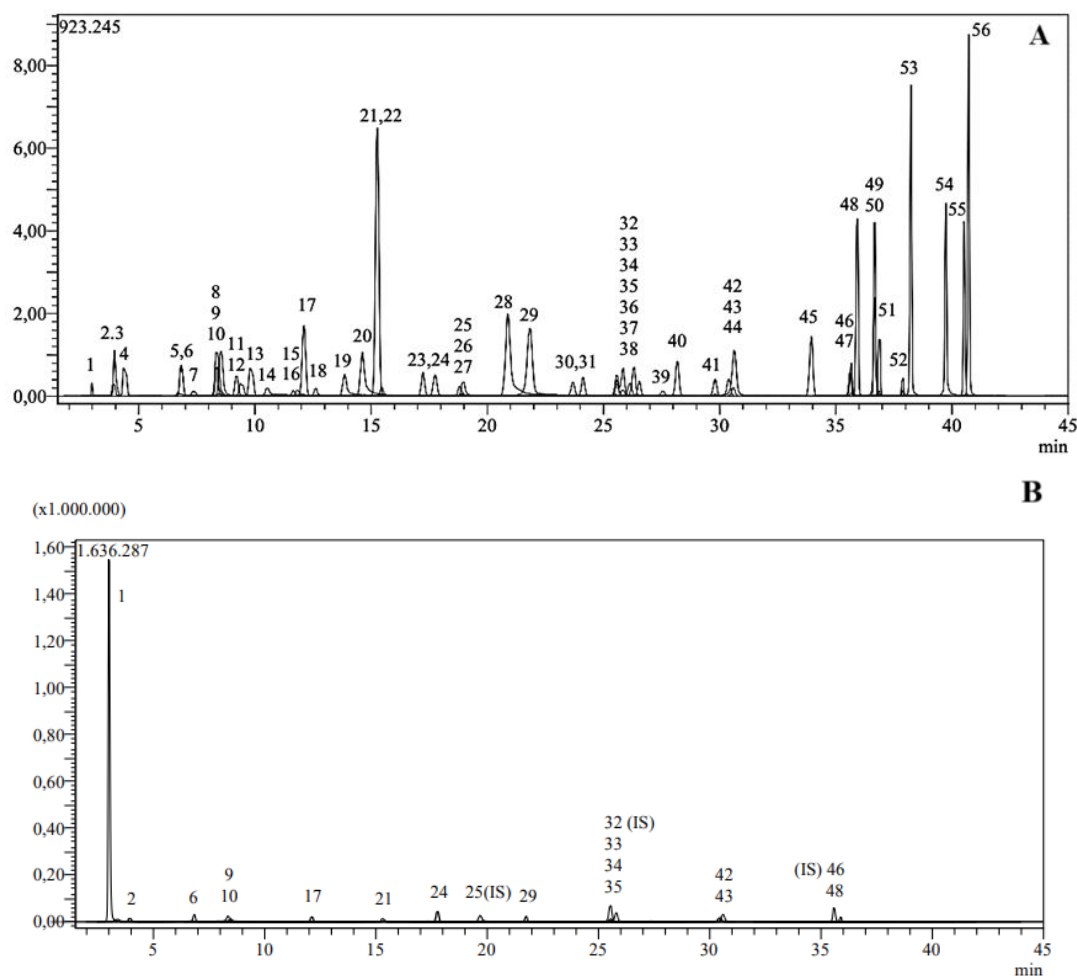


FIGURE 14 : CHROMATOGRAMMES DES SUBSTANCES PHYTOCHIMIQUES STANDARD (A) ET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *HEDERA ALGERIENSIS* (B) OBTENUS PAR LES ANALYSES LC-MS/MS.

L'axe des X correspond au temps de rétention (en minutes). L'axe des Y correspond à l'Intensité du signal ionique détecté (nombre de counts d'ions) multiplié par  $10^6$ , proportionnel à la quantité relative du métabolite. Les chiffres indiqués sur les pics correspondent aux métabolites nommés dans le tableau 4.

**TABLEAU 4 : PROFIL LC-MS/MS DES METABOLITES PHYTOCHIMIQUES IDENTIFIES DANS L'EXTRAIT AQUEUX DE *HEDERA ALGERIENSIS***

No	Analytes	RT <sup>a</sup>	M.I. (m/z) <sup>b</sup>	F.I. (m/z) <sup>c</sup>	AEHa (mg/g DW)	No	Analytes	RT <sup>a</sup>	M.I. (m/z) <sup>b</sup>	F.I. (m/z) <sup>c</sup>	AEHa (mg/g DW)
1	Acid Quinique	3.0	190.8	93.0	131,302	29	Acid Salicylique	21.8	137.2	65.0	0,045
2	Acid Fumarique	3.9	115.2	40.9	0,292	30	Cynaroside	23.7	447.0	284.0	N.D.
3	Acid Aconitique	4.0	172.8	129.0	N.D.	31	Miquelianin	24.1	477.0	150.9	N.D.
4	Acid Gallique	4.4	168.8	79.0	N.D.	32	Rutin-D3-IS <sup>b</sup>	25.5	612.2	304.1	N.A.
5	Epigallocatechin	6.7	304.8	219.0	N.D.	33	Rutine	25.6	608.9	301.0	0,24
6	A. Protocatechuique	6.8	152.8	108.0	0,709	34	isoquercitrin	25.6	463.0	271.0	0,095
7	Catechin	7.4	288.8	203.1	N.D.	35	Hespéridine	25.8	611.2	449.0	0,952
8	Acid Gentisique	8.3	152.8	109.0	N.D.	36	Acid <i>o</i> -Coumarique	26.1	162.8	93.0	N.D.
9	Acid Chlorogénique	8.4	353.0	85.0	0,586	37	Genistin	26.3	431.0	239.0	N.D.
10	Aldehyde Protocatechuique	8.5	137.2	92.0	0,142	38	Acid Rosmarinique	26.6	359.0	197.0	N.D.
11	Acid tannique	9.2	182.8	78.0	N.D.	39	Acid Ellagique	27.6	301.0	284.0	N.D.
12	Epigallocatechin gallate	9.4	457.0	305.1	N.D.	40	Cosmosiin	28.2	431.0	269.0	N.D.
13	Acid 1,5-dicafféoylquinique	9.8	515.0	191.0	N.D.	41	Quercitrin	29.8	447.0	301.0	N.D.
14	Acid 4-OH Benzoic	10.5	137.2	65.0	N.D.	42	Astragalin	30.4	447.0	255.0	0,545
15	Epicatechin	11.6	289.0	203.0	N.D.	43	Nicotiflorin	30.6	592.9	255.0/284.0	1,297
16	Acid Vanillique	11.8	166.8	108.0	N.D.	44	Fiséтин	30.6	285.0	163.0	N.D.
17	Acid Cafféique	12.1	179.0	134.0	0,061	45	Daidzein	34.0	253.0	223.0	N.D.
18	Acid Syringique	12.6	196.8	166.9	N.D.	46	Quercetin-D3-IS <sup>b</sup>	35.6	304.0	275.9	N.A.
19	Vanillin	13.9	153.1	125.0	N.D.	47	Quercetin	35.7	301.0	272.9	N.D.
20	Syringic aldehyde	14.6	181.0	151.1	N.D.	48	Naringenin	35.9	270.9	119.0	0,013
21	Daidzin	15.2	417.1	199.0	0,006	49	Hespéretin	36.7	301.0	136.0/286.0	N.D.
22	Epicatechin gallate	15.5	441.0	289.0	N.D.	50	Luteolin	36.7	284.8	151.0/175.0	N.D.
23	Piceid	17.2	391.0	135/106.9	N.D.	51	Genistein	36.9	269.0	135.0	N.D.
24	Acid <i>p</i> -Coumarique	17.8	163.0	93.0	0,243	52	Kaempferol	37.9	285.0	239.0	N.D.
25	Acid Ferulique -D3-IS <sup>b</sup>	18.8	196.2	152.1	N.A.	53	Apigenin	38.2	268.8	151.0/149.0	N.D.
26	Acid Ferulique	18.8	192.8	149.0	N.D.	54	Amentoflavone	39.7	537.0	417.0	N.D.
27	Acid Sinapique	18.9	222.8	193.0	N.D.	55	Chrysine	40.5	252.8	145.0/119.0	N.D.
28	Coumarine	20.9	146.9	103.1	N.D.	56	Acacétine	40.7	283.0	239.0	N.D.

<sup>a</sup>RT (Retention time): Temps de rétention ; <sup>b</sup>MI (Molecular ions) : ions moléculaires des analytes standards (rapport masse/charge :  $m/z$ ) ; <sup>c</sup>FI (Fragment Ions) : ions fragments (rapport masse/charge :  $m/z$ ) ; <sup>h</sup>IS (Internal standard) : étalon interne ; NA (Not applicable) : non applicable ; ND (Not detected) : non détecté ; DW (dry weight) : poids sec ; AEHa (aqueous extract of *Hedera algeriensis*) : extrait aqueux de Ha. Le surlignage gris correspond aux seuls métabolites détectés dans l'extrait aqueux de Ha.

### 5.1.6 Résultats de l'activité Antioxydante

Trois méthodes chimiques différentes ont été utilisées pour mettre en évidence le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* : le piégeage du radical libre DPPH, le test FRAP, et la détermination de la capacité antioxydante totale. Les résultats de cette étude sont initialement exprimés individuellement pour chacune des trois méthodes employées.

#### 5.1.6.1 Méthode DPPH

L'évaluation de l'inhibition du radical DPPH a été réalisée pour l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*. Les résultats sont présentés dans le Tableau (5). La capacité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* a été évaluée à partir de l'IC<sub>50</sub>, qui représente la concentration requise pour réduire de 50 % le radical DPPH. Le calcul d'IC<sub>50</sub> est réalisé à partir de la courbe pourcentage d'inhibition en fonction de concentration. Une valeur d'IC<sub>50</sub> plus faible indique une activité antioxydante plus importante pour un composé donné. L'extrait aqueux possède une activité antioxydante intéressante avec un IC<sub>50</sub> = 138,6 µg/ml.

#### 5.1.6.2 Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

La valeur EC<sub>50</sub> de *Hedera algeriensis* est représenté dans le tableau (5). L'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/complexe ferricyanide à la forme (Fe<sup>2+</sup>). Le passage de la couleur jaune à la couleur verte ainsi, une couleur intense signifie un puissant effet réducteur. Notre extrait présente un fort pouvoir antioxydant en termes de capacité de réduction ferrique, avec une EC<sub>50</sub> de 63,23 µg/ml.

#### 5.1.6.3 Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* a été évaluée en termes d'équivalents de trolox. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été réalisée simultanément dans des conditions identiques, en utilisant le trolox comme référence. La capacité antioxydante totale de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* est également apparait importante et de l'ordre de 1,09 (mmol TE/g).,

**TABLEAU 5 :** ACTIVITES DPPH, FRAP ET CAT DANS L'EXTRAIT AQUEUX DE *HEDERA ALGERIENSIS* (HA).

Paramètres	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	FRAP EC <sub>50</sub> (µg/mL)	CAT (mmol TE/g)
Extrait aqueux de Ha	138,6 ± 6,07	63,23±3	1,09 ± 0,015

### 5.1.7 Résultats de l'activité inhibitrice des enzymes

L'effet inhibiteur de l'extrait de *Hedera algeriensis* sur les enzymes AChE, BChE, tyrosinase,  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase a été évalué, et les résultats sont présentés dans le tableau (6). Par conséquent, l'extrait aqueux de Ha a montré une activité inhibitrice modéré sur l'AChE de  $1,73 \pm 0,01$  mg GALAE/g. Cependant, pour la BChE, l'extrait aqueux de Ha a révélé une inhibition faible de  $0,98 \pm 0,08$  mg GALAE/g. pour l'inhibition de tyrosinase notre plante a montré une activité inhibitrice élevée de  $20,94 \pm 1,37$  mg KAE/g. En ce qui concerne l'inhibition des enzymes glucidiques, l'extrait aqueux de Ha a montré une activité inhibitrice faible sur l' $\alpha$ -amylase de  $0,09 \pm 0,003$  mmol ACAE/g. Pour l' $\alpha$ -glucosidase, l'extrait aqueux de Ha a démontré une activité inhibitrice modérée de  $1,41 \pm 0,03$  mmol ACAE/g

**TABLEAU 6 :** ACTIVITES INHIBITRICES ENZYMATIQUES DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *HEDERA ALGERIENSIS*

Paramètres	AChE (mgEGALA/g)	BChE (mgEGALA/g)	Tyrosinase (mgEA/g)	$\alpha$ -Amylase (mmol EAC/g)	$\alpha$ -Glucosidase (mmol EAC/g)
Activités mesurées	$1,73 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,08$	$20,94 \pm 1,37$	$0,09 \pm 0,003$	$1,41 \pm 0,03$

### 5.1.8 Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Hedera algeriensis* contre les différentes souches microbiennes testées (cliniques et de référence) n'ont montré aucune zone d'inhibition de croissance, et ce dans toutes les concentrations testées (Tab.7). Ces résultats suggèrent une absence d'activité antimicrobienne de l'extrait dans les conditions expérimentales appliquées.

TABLEAU 7 : DIAMETRES D'INHIBITION EN FONCTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE L'EXTRAIT DE *HEDERA ALGERIENSIS*

Microorganismes	Concentrations (mg/mL)		
	5	25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Staphylococcus ciprofloxacine</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Bacillus cereus</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Serratia sp.</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Escherichia coli</i> 25922	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Escherichia coli</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Acinetobacter sp.</i> SC	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Candida albicans</i> 90028	<06mm	<06mm	<06mm
<i>Rhodotorula sp.</i>	<06mm	<06mm	<06mm

SC : souche clinique

## 5.2 Propriétés biologiques *in vivo* chez les rats wistar sensibilisés à l'ovalbumine

### 5.2.1 Effet sur les poids corporel, relatifs et absolu des organes

Tout au long du protocole expérimental, les rats ont été pesés un jour sur deux. Ceci nous a permis de calculer l'évolution du poids corporel dans les différents lots (tableau 8). Ainsi, nos résultats montrent une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) du gain de poids corporel chez les lots traités seul par Prednisolone, *Hedera algeriensis*, imiquimod et chez les lots traités par la combinaison (OVA + Pred / OVA + Ha / OVA + Imiq). Tout comme, on enregistre une diminution significative ( $p < 0,05$ ) dans le lot sensibilisé à l'ovalbumine et ceux comparativement au rats témoins. Alors que on note une diminution significative et même hautement significative du gain de poids corporel chez les lots traités par la combinaison (OVA + Pred / OVA + Ha) et OVA + Imiq respectivement, comparativement au lot sensibilisé par l'ovalbumine.

Nous avons également suivi l'évolution des poids absolu (PA) et relatif (PR) des organes clés suivants : le Foie, les poumons, les reins et la rate (tableau 9). Les résultats obtenus montrent

une diminution hautement significative du poids relatif du foie chez les rats traités par la combinaison (OVA + Ha) et (OVA + Pred) comparativement aux rats sensibilisés par l'ovalbumine (OVA) et aussi une diminution très hautement significative par rapport au lot témoins.

Concernant le poids relatif des reins, l'analyse des résultats obtenus montre une augmentation significative du poids relatif des reins chez le lot sensibilisé à l'ovalbumine par rapport au lot témoins, cependant le traitement par la combinaison (OVA + Pred / OVA + Ha / OVA + Imiq) montre une diminution significative, hautement et même très hautement significative respectivement. On note aussi une diminution hautement significative et très hautement significative dans le lot Pred et Ha et ceux comparativement au lot OVA.

Quant au poids relatif des poumons, comparativement aux rats témoins, on note une augmentation significative chez le lot sensibilisé à l'ovalbumine par rapport au lot Témoins, tandis qu'on enregistre une nette amélioration du poids relatif des poumons dans les lots sensibilisés et traités par *Hedera algeriensis*, Prednisolone, Imiquimod comparativement au lot sensibilisé à l'ovalbumine de même une diminution significative dans lot traité uniquement par la plante (Ha).

On n'enregistre aucune différence significative dans le poids relatif de la rate chez les différents lots.

TABLEAU 8 : VARIATION DU POIDS CORPOREL CHEZ LES RATS TEMOINS ET TRAITES.

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA+Pred	OVA+Ha	OVA+Imiq
<b>Poids Initial (g)</b>	221,83±30,47	192,75±8,24	192,5±15,59	203,25±7,67	162,66±8,50	198,66±15,16	193,4±6,5	158,5±6,35
<b>Poids Final (g)</b>	317,7±11,4	270±22,3***	262,5±28,3*	253,75±28,3*	230,66±4,73***###	252,75±18,2***	252,8±23***	226,7±29*
<b>Gain de poids (g)</b>	104,2±21,7	74,8±17,3*	70 ±14,3**	50,5±20,9**	66,67±7,51**	57,33±9,37**#	54,2±12*##	52±4,24***#

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± SEM. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001)

TABLEAU 9 : VARIATIONS DES POIDS ABSOLU (PA) ET RELATIF (PR) DES ORGANES CLES

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA+Pred	OVA+Ha	OVA+Imiq
<b>PA des poumons (g)</b>	3,39±0,31	2,61±0,06*	2,82±0,33	2,73±0,84	2,14±0,14	2,01±0,36	1,69±0,11	1,87±0,79 <sup>#</sup>
<b>PR des poumons (g/100g de PC)</b>	0,85±0,04	1,18±0,22*	0,96±0,18	0,80±0,04 <sup>#</sup>	0,88±0,03	0,83±0,17 <sup>##</sup>	0,71±0,03 <sup>###</sup>	0,67±0,01 <sup>###</sup>
<b>PA du foie (g)</b>	11,24±0,84	10,05±1,03 <sup>**</sup>	9,21±1,08 <sup>**</sup>	8,52±2,03	7,9±0,38 <sup>***##</sup>	6,85±0,89 <sup>***###</sup>	6,72±1,15 <sup>***###</sup>	8,07±1,05
<b>PR du foie (g/100g de PC)</b>	3,60±0,15	3,53±0,35	3,50±0,22	3,31±0,46	3,42±0,12	2,70±0,20 <sup>***##</sup>	2,66±0,23 <sup>***##</sup>	3,53±0,19
<b>PA des reins (g)</b>	1,96±0,14	1,85±0,05	1,76±0,15*	1,63±0,23	1,50±0,06 <sup>***##</sup>	1,56±0,06 <sup>***###</sup>	1,57±0,19 <sup>***##</sup>	1,44±0,20*
<b>PR des reins (g/100g de PC)</b>	0,63±0,03	0,71±0,01*	0,65±0,03 <sup>##</sup>	0,62±0,05 <sup>###</sup>	0,64±0,03	0,62±0,03 <sup>#</sup>	0,64±0,05 <sup>##</sup>	0,63±0,01 <sup>###</sup>
<b>PA de la rate (g)</b>	0,61±0,15	0,62±0,07	0,57±0,11	0,48±0,14	0,7±0,05	0,53±0,05	0,53±0,09	0,69±0,12
<b>PR de la rate (g/100g de PC)</b>	0,15±0,05	0,23±0,02	0,21±0,03	0,18±0,04	0,30±0,02	0,2±0,03	0,21±0,03	0,30±0,05

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± SEM. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001)

### 5.2.2 Effet sur les paramètres hématologiques

Le tableau (10) illustre les résultats de la formule numérique sanguine des rats témoins et traités après un protocole d'asthme allergique de 21 jours. L'analyse des résultats montre que la sensibilisation par l'ovalbumine a augmenté de manière significative le nombre total de globules blancs et les taux de lymphocytes, de monocytes et de granulocytes dans le sang par rapport au groupe témoin ( $p < 0,01$  pour le nombre total de globules blancs et les monocytes, et  $p < 0,05$  pour les lymphocytes et les granulocytes). Cependant, le traitement à l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* et l'injection intrapéritonéale d'imiquimod permet un rétablissement de ces valeurs chez les rats sensibilisés. Cela s'est manifesté par une diminution très hautement significative du taux des globules blancs et de lymphocytes ( $P < 0,01$ ), ainsi qu'une diminution significative des monocytes et des granulocytes ( $P < 0,05$ ). De même, il a été démontré que l'administration de prednisolone en tant que molécule de référence réduit significativement ces taux de cellules sanguines ( $P < 0,01$  pour les globules blancs et les lymphocytes, et  $P < 0,05$  pour les monocytes et les granulocytes).

Le tableau (10) montre également qu'il y a eu une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) du nombre moyen de globules rouges (GR) et très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de plaquettes dans le groupe OVA par rapport au groupe témoin. Notamment, le groupe OVA traité avec une dose de 500 mg/kg de Ha et 5 mg/kg d'Imiq a montré une réduction significative de la numération des GR et des plaquettes. En revanche, les niveaux de volume corpusculaire moyen (MCV) et d'hémoglobine (HB) dans le groupe OVA étaient inférieurs à ceux du groupe témoin ( $p < 0,05$ ), tandis que le groupe traité avec l'extrait de feuille de Ha et Imiq présentait des niveaux similaires à ceux du groupe témoin. De même, l'administration de prednisolone a révélé une amélioration significative de tous ces paramètres dans le sang des différents groupes expérimentaux, en particulier une restauration significative du MCV uniquement dans le lot OVA + Ha.

### 5.2.3 Effet sur la numération des leucocytes dans le liquide du LBA

Le résultat des variations des taux de leucocytes dans le liquide du LBA est présenté dans le tableau (11). Ce tableau montre une augmentation significative du taux de WBC et du pourcentage de monocytes ( $p < 0,05$ ) et une augmentation très hautement significative du pourcentage de lymphocytes ( $p < 0,001$ ), ainsi qu'une augmentation hautement significative des granulocytes dans le liquide broncho-alvéolaire chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine. D'autre part, le traitement des rats sensibilisés à l'ovalbumine avec l'extrait aqueux de *Hedera*

*algeriensis* diminue de manière significative les taux de WBC et de lymphocytes ( $p < 0,05$ ), ainsi que ceux des monocytes ( $p < 0,01$ ) et des granulocytes ( $p < 0,001$ ). De même, l'immunothérapie par l'imiquimod diminue de manière significative les WBC, les lymphocytes, les monocytes et les granulocytes ( $p < 0,001$ ). En outre, le traitement par la Prednisolone a significativement diminué les cellules inflammatoires (monocytes et granulocytes ( $p < 0,001$ ) par rapport au groupe OVA.

TABLEAU 10 : VARIATION DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA + Pred	OVA + Ha	OVA + Imiq
<b>WBC (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	9,05 $\pm$ 2,65	21,47 $\pm$ 2,63*	9,49 $\pm$ 1,50 <sup>##</sup>	9,23 $\pm$ 0,9 <sup>##</sup>	10,83 $\pm$ 0,15 <sup>##</sup>	12,25 $\pm$ 2,25 <sup>##</sup>	11,60 $\pm$ 1,59 <sup>##</sup>	11,43 $\pm$ 1,95 <sup>##</sup>
<b>Lymph (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	6,55 $\pm$ 2,65	16,33 $\pm$ 1,17*	7,8 $\pm$ 0,5 <sup>##</sup>	8,83 $\pm$ 1,04 <sup>##</sup>	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>##</sup>	8,5 $\pm$ 0,7 <sup>##</sup>	8,25 $\pm$ 1,25 <sup>##</sup>	5,28 $\pm$ 2,23 <sup>##</sup>
<b>Lymph (%)</b>	70,83 $\pm$ 1,16	88,30 $\pm$ 3,88 <sup>**</sup>	70 $\pm$ 16,9	82,27 $\pm$ 2,10 <sup>*#</sup>	84 $\pm$ 5,95*	59,50 $\pm$ 7,83 <sup>#</sup>	68,53 $\pm$ 2,58 <sup>##</sup>	75,73 $\pm$ 4,46 <sup>##</sup>
<b>MO (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	1,02 $\pm$ 0,62	2,15 $\pm$ 0,07 <sup>**</sup>	0,7 $\pm$ 0,2 <sup>##</sup>	1,06 $\pm$ 0,3 <sup>#</sup>	1,16 $\pm$ 0,61	1,3 $\pm$ 0,2 <sup>#</sup>	1,55 $\pm$ 0,35 <sup>#</sup>	0,95 $\pm$ 0,49 <sup>#</sup>
<b>MO (%)</b>	5,78 $\pm$ 1,28	10,93 $\pm$ 2,12 <sup>**</sup>	4,8 $\pm$ 0,67 <sup>##</sup>	7,46 $\pm$ 0,64 <sup>#</sup>	6,13 $\pm$ 1,42 <sup>#</sup>	10,5 $\pm$ 1,73*	7,17 $\pm$ 1,04 <sup>#</sup>	5,66 $\pm$ 0,76 <sup>##</sup>
<b>GR (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	1,15 $\pm$ 0,05	3,33 $\pm$ 0,55*	1,10 $\pm$ 0,36 <sup>##</sup>	1,63 $\pm$ 0,05 <sup>**#</sup>	1,25 $\pm$ 0,05	1,30 $\pm$ 0,20 <sup>#</sup>	1,55 $\pm$ 0,25 <sup>#</sup>	1,4 $\pm$ 0,1 <sup>#</sup>
<b>RBC (<math>\times 10^6/\mu\text{L}</math>)</b>	4,74 $\pm$ 0,12	9,23 $\pm$ 0,46 <sup>**</sup>	5,51 $\pm$ 0,34 <sup>##</sup>	4,39 $\pm$ 1,5 <sup>#</sup>	3,74 $\pm$ 0,43 <sup>###</sup>	5,29 $\pm$ 0,40 <sup>##</sup>	6,08 $\pm$ 0,16 <sup>***##</sup>	4,05 $\pm$ 2,20 <sup>#</sup>
<b>Hb (g/dl)</b>	15,05 $\pm$ 2,05	9 $\pm$ 0,8*	14,53 $\pm$ 1,60 <sup>##</sup>	12,66 $\pm$ 0,57 <sup>##</sup>	11 $\pm$ 1,02	13,5 $\pm$ 0,57 <sup>##</sup>	15,16 $\pm$ 0,4 <sup>##</sup>	15,10 $\pm$ 3,9 <sup>##</sup>
<b>MCV (fl)</b>	50,37 $\pm$ 2,35	43,27 $\pm$ 2,48*	51,23 $\pm$ 2,42 <sup>#</sup>	45,43 $\pm$ 6,36	46,20 $\pm$ 5,20	47,13 $\pm$ 6,25	48,3 $\pm$ 1,49 <sup>#</sup>	40,66 $\pm$ 1,75*
<b>Plaquette (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	419,7 $\pm$ 35,1	923 $\pm$ 65 <sup>***</sup>	419,3 $\pm$ 12,4 <sup>###</sup>	444 $\pm$ 17,7 <sup>###</sup>	355,7 $\pm$ 28 <sup>###</sup>	631,4 $\pm$ 83 <sup>#</sup>	484,5 $\pm$ 51 <sup>###</sup>	434 $\pm$ 50 <sup>###</sup>

Les valeurs sont données sous forme de moyenne  $\pm$  SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

TABLEAU 11 : NUMERATION CELLULAIRE DANS LE LIQUIDE DU LBA DES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA + Pred	OVA + Ha	OVA + Imiq
<b>WBC (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	3,70 $\pm$ 0,15	10,60 $\pm$ 0,41*	3,00 $\pm$ 0,10	2,30 $\pm$ 0,15	5,00 $\pm$ 0,10	9,00 $\pm$ 0,43	4 $\pm$ 0,19 <sup>#</sup>	6 $\pm$ 0,17 <sup>#</sup>
<b>Lym (%)</b>	28,60 $\pm$ 0,50	63,17 $\pm$ 6,25***	35,67 $\pm$ 6,20	35,10 $\pm$ 2,5	52,8 $\pm$ 2,20	47,9 $\pm$ 0,60	37,8 $\pm$ 2,20 <sup>#</sup>	46,73 $\pm$ 4,70
<b>MO (%)</b>	8,00 $\pm$ 1,90	4,20 $\pm$ 0,70*	4,60 $\pm$ 1,50	4,90 $\pm$ 1,27	6,23 $\pm$ 0,87	10,87 $\pm$ 1,90####	9,30 $\pm$ 0,65 <sup>##</sup>	11,53 $\pm$ 1,65 <sup>###</sup>
<b>GR (%)</b>	47,73 $\pm$ 2,72	73,83 $\pm$ 8,95**	54,23 $\pm$ 3,10	59,53 $\pm$ 3,44	34,20 $\pm$ 12,4	33,25 $\pm$ 10,40####	29,60 $\pm$ 11,26 <sup>###</sup>	26,73 $\pm$ 9,20 <sup>###</sup>

Les valeurs sont données sous forme de moyenne  $\pm$  SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

#### 5.2.4 Effet sur les paramètres biochimiques et immunologiques

Les résultats obtenus suite à l'analyse des paramètres biochimiques dans le sérum sont présentés dans le tableau (12) et regroupés comme suit :

##### 5.2.4.1 Le bilan Hépatique

###### Les transaminases (ASAT, ALAT)

La sensibilisation des rats à l'ovalbumine induit une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du taux de ASAT et une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) du taux de ALAT, comparativement aux groupes témoins. Par ailleurs, nous avons observé que l'administration de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* et le traitement par l'imiquimod induisent une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) des taux de transaminases par rapport à ceux du groupe sensibilisé à l'ovalbumine. De même, le traitement par la prednisolone induit une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) des taux de ASAT et de ALAT.

###### Phosphatase Alcaline (PAL)

Les résultats de la présente étude révèlent une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du taux de phosphatase alcaline chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine par rapport à ceux du groupe témoin. Tandis que les rats traités par l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et la prednisolone ont montré une réduction très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité de la PAL, on note également une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans le groupe qui reçoit le traitement par l'imiquimod comparativement aux rats asthmatiques sensibilisés à l'ovalbumine.

###### Protéines totales et albumine

Dans le groupe des rats sensibilisés à l'ovalbumine, nous avons constaté que celle-ci a induit une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de l'albumine et de la teneur sérique en protéines totales par rapport au groupe témoin. D'autre part, nous avons noté chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine recevant un extrait aqueux de *Hedera algeriensis* à une dose de 500 mg/kg et une immunothérapie à l'imiquimod à une dose de 5 mg/kg, une amélioration significative de la concentration de l'albumine et des protéines totales par rapport aux rats sensibilisé à l'ovalbumine. Cependant, le traitement par la prednisolone n'a montré aucune différence significative.

TABLEAU 12 : VARIATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Lots expérimentaux							
	Contrôle	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA + Pred	OVA + Ha	OVA + Imiq
Urée (mmol/L)	4,79±0,08	7,53±0,47**	5,65±0,5 <sup>#</sup>	3,61±1,34 <sup>#</sup>	4,63±0,5	5,19±0,3 <sup>##</sup>	6,29±0,3 <sup>**#</sup>	4,67±0,5 <sup>##</sup>
Créa (mmol/L)	39,33±1,15	61±1,73 <sup>***</sup>	47,33±9,29	51,67±3,71 <sup>*#</sup>	42±2,65 <sup>##</sup>	53,33±2,52 <sup>**#</sup>	48,67±3,51 <sup>*#</sup>	44,33±0,57 <sup>***</sup>
ASAT (UI/L)	129,33±8,5	153,33±5,13 <sup>*</sup>	126,7±10,1	124,3±9,2	133,67±4,62	120±5,57 <sup>##</sup>	129±4,58 <sup>##</sup>	133±6,08 <sup>##</sup>
ALAT (UI/L)	124,5±1,5	159,30±5,13 <sup>**</sup>	107±1,2 <sup>**##</sup>	82,67±9,61	135,67±4,62 <sup>##</sup>	122,5±3,5 <sup>##</sup>	132±1,73 <sup>*##</sup>	131,33±3,21 <sup>##</sup>
PAL (UI/L)	226,5±6,5	290±3,2 <sup>*</sup>	185±7,2 <sup>*##</sup>	154,67±3,5 <sup>*###</sup>	199±1,3 <sup>##</sup>	143±3 <sup>**###</sup>	152±6 <sup>**###</sup>	230,7±1,1 <sup>##</sup>
BT (µmol/L)	2±1,02	2,33±0,57	2,67±1,53	2,66±0,57	1,60±0,57	2,66±0,55	1,66±0,56	1,33±0,50
PROT. T (g/L)	56,65±1,81	62,33±0,57 <sup>*</sup>	59,7±1,48 <sup>##</sup>	59,08±0,11 <sup>##</sup>	52,11±1,88 <sup>##</sup>	60,08± 2.40	58,24±5,24 <sup>##</sup>	51,45±0,50 <sup>###</sup>
Albumine (g/L)	30,67±1,15	33,67±1,20 <sup>*</sup>	31±1,02 <sup>#</sup>	30,33±0,57 <sup>#</sup>	27,33±1,15 <sup>###</sup>	31,33±0,57	27,10±1,01 <sup>###</sup>	28,67±1,15 <sup>##</sup>
γ-Globuline (%)	5,30±0,17	9,16±0,45 <sup>**</sup>	5,75±0,75 <sup>##</sup>	5,50±0,75 <sup>##</sup>	5,60±0,8 <sup>#</sup>	8,40±0,7 <sup>**</sup>	7,80±0,4 <sup>**#</sup>	7,50±0,5 <sup>**#</sup>
CRP (mg/L)	27,33±2,52	38±2,65 <sup>**</sup>	26±1,3 <sup>##</sup>	25,5±2,02 <sup>##</sup>	23±1,05 <sup>##</sup>	24,2±2,65 <sup>##</sup>	23,33±3,06 <sup>##</sup>	18,67±1,53 <sup>**##</sup>

Les valeurs sont données sous forme de moyenne±SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

### **CRP et bilirubine totale**

L'induction de l'asthme allergique chez les rats par l'ovalbumine a entraîné une augmentation hautement significative de la CRP ( $p < 0,01$ ) par rapport aux rats témoins. En revanche, le traitement par l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* et le traitement par la prednisolone, ainsi que l'injection intrapéritonéale par l'imiquimod, ont conduit à une réduction hautement significative ( $p < 0,01$ ) du taux de CRP par rapport aux rats témoins. En ce qui concerne la concentration de la bilirubine totale, elle n'a pas varié dans tous les lots expérimentaux.

#### **5.2.4.2 Le Bilan Rénal**

##### **Urée & Créatinine**

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) et très hautement significative ( $p < 0,001$ ) des taux sériques d'urée et de créatinine respectivement dans le groupe sensibilisé à l'ovalbumine comparativement au groupe témoins. En revanche, on observe une diminution significative ( $p < 0,05$ ) chez le lot sensibilisé à l'ovalbumine et traité par *Hedera algeriensis*, ainsi qu'une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) chez les lots sensibilisés et traités par l'imiquimod. De même, l'administration de la prednisolone a montré une réduction significative et hautement significative des taux de créatinine et d'urée respectivement.

#### **5.2.4.3 Réponse immunitaire**

##### **Gammaglobulines**

D'après les résultats obtenus (Tab.12), une augmentation hautement significative du pourcentage de  $\gamma$ -globulines sériques est observée dans le lot sensibilisé à l'ovalbumine (OVA) par rapport au lot témoin. En revanche, les rats traités avec la combinaison OVA + Ha et OVA + Imiq présentent une amélioration significative de ce paramètre comparativement au groupe sensibilisé. Aucune différence significative n'est observée dans le groupe OVA + Pred par rapport aux rats sensibilisés à l'ovalbumine.

##### **TNF- $\alpha$**

Le niveau du biomarqueur inflammatoire TNF- $\alpha$  dans les poumons des rats sensibilisés à l'OVA était significativement élevé ( $p < 0,001$ ) par rapport au groupe témoin (Fig.15). Cependant, le traitement avec l'extrait aqueux de Ha et Imiq a remarquablement restauré les niveaux de TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ).

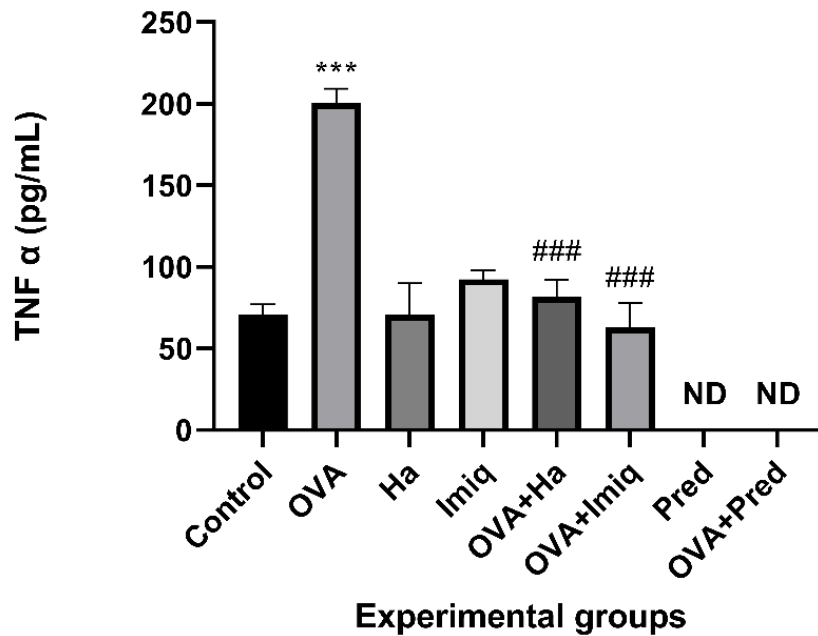


FIGURE 15 : VARIATION DU TAUX DU FACTEUR DE NECROSE TUMORALE ALPHA CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*\*\*) et au groupe sensibilisé à l'OVA (###). ND : non détecté

### 5.2.5 Effets sur les paramètres du stress oxydant

Dans la présente étude, le stress oxydatif a induit une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de la peroxydation lipidique (représenté par le taux de MDA) dans le foie, les poumons, les reins et la rate chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine comparativement au lot témoin. Cependant, le traitement par *Hedera algeriensis* et la Prednisolone et l'imiquimod a induit une diminution hautement significative voire même très hautement significative du taux de MDA dans les quatre organes. De plus, on note une amélioration très hautement significative du taux de MDA chez les lots traités uniquement avec Pred, Ha et Imiq (Tab.13).

TABLEAU 13 : VARIATION DU TAUX DE MDA DANS LES ORGANES CLES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Organe	Lots expérimentaux							
		Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA+Pred	OVA+Ha	OVA+Imiq
MDA (nmol/mg protéines)	Foie	0,27±0,01	0,61±0,02 <sup>***</sup>	0,19±0,02 <sup>###</sup>	0,18±0,01 <sup>###</sup>	0,17±0,01 <sup>###</sup>	0,37±0,05 <sup>##</sup>	0,30±0,05 <sup>##</sup>	0,21±0,03 <sup>###</sup>
	Poumons	0,89±0,06	1,72±0,09 <sup>***</sup>	0,84±0,007 <sup>###</sup>	0,82±0,03 <sup>###</sup>	0,81±0,004 <sup>###</sup>	1,05±0,12 <sup>###</sup>	0,92±0,03 <sup>###</sup>	0,97±0,06 <sup>###</sup>
	Reins	2,36±0,33	5,06±0,10 <sup>***</sup>	2,93±0,18 <sup>###</sup>	2,81±0,06 <sup>###</sup>	1,19±0,08 <sup>###</sup>	3,48±0,05 <sup>###</sup>	3,21±0,17 <sup>###</sup>	3,39±0,09 <sup>###</sup>
	Rate	0,53±0,005	0,90±0,03 <sup>***</sup>	0,42±0,05 <sup>###</sup>	0,49±0,05 <sup>###</sup>	0,52±0,03 <sup>###</sup>	0,45±0,02 <sup>###</sup>	0,65±0,007 <sup>##</sup>	0,64±0,003 <sup>##</sup>

Les valeurs sont données sous forme de moyenne  $\pm$  SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

La sensibilisation des rats à l'ovalbumine pendant un protocole d'asthme allergique de 21 jours a provoqué une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de la teneur cellulaire en AOPP dans le foie, les poumons, les reins et la rate comparativement aux lots témoins. Par ailleurs, l'administration de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*, de la prednisolone et de l'immunothérapie par l'imiquimod chez le lot sensibilisé a induit une amélioration par diminution très hautement significative par rapport au lot sensibilisé à l'ovalbumine. on note aussi une amélioration très hautement significative du taux d'AOPP chez les lots traités uniquement avec Pred, Ha et Imiq par rapport au lot OVA. (Tab.14).

Les concentrations de NO dans le foie, les poumons, les reins et la rate ont révélé une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) chez le groupe sensibilisé à l'ovalbumine, ainsi qu'une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) dans les poumons des lots traités par la combinaison (OVA + Pred) comparativement aux groupes témoins. En ce qui concerne l'administration de *Hedera algeriensis*, de la prednisolone et de l'imiquimod, elles ont induit un rétablissement des niveaux de NO par une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans le foie des lots traités par la combinaison (OVA + Pred/ OVA + Imiq), une diminution significative ( $p < 0,05$ ) pour le lot traité par la combinaison (OVA + Ha), et une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) voire très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans les poumons des lots traités par la combinaison (OVA + Ha) et (OVA + Imiq) respectivement. On note également une diminution significative ( $p < 0,05$ ) et hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans les reins traités par la combinaison (OVA + Pred/OVA + Ha) et (OVA + Imiq) respectivement. D'autre part, on enregistre une amélioration par diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans la rate des lots traités par la combinaison (OVA + Pred) et (OVA + Ha), ainsi qu'une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) pour le lot traité par la combinaison (OVA + Imiq), et tout cela comparativement aux lots OVA.

TABLEAU 14 : VARIATION DU TAUX D'AOPP DANS LES ORGANES CLES CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Organes	Lots expérimentaux							
		Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA+Pred	OVA+Ha	OVA+Imiq
AOPP (nmol/mg protéines)	Foie	4,28±0,20	8,52±0,49 <sup>***</sup>	3,76±0,30 <sup>###</sup>	3,54±0,35 <sup>###</sup>	3,52±0,35 <sup>###</sup>	4,10±0,52 <sup>###</sup>	4,35±0,61 <sup>###</sup>	4,11±0,29 <sup>###</sup>
	Poumons	0,92±0,07	4,23±0,40 <sup>***</sup>	0,97±0,13 <sup>###</sup>	1,009±0,08 <sup>###</sup>	1,12±0,25 <sup>###</sup>	1,65±0,29 <sup>###</sup>	1,69±0,23 <sup>###</sup>	1,40±0,07 <sup>###</sup>
	Reins	2,83±0,24	7,24±0,11 <sup>***</sup>	3,40±0,11 <sup>###</sup>	3,39±0,15 <sup>###</sup>	3,43±0,16 <sup>###</sup>	3,9±0,20 <sup>***###</sup>	3,36±0,12 <sup>###</sup>	3,86±0,11 <sup>***###</sup>
	Rate	0,59±0,04	2,47±0,29 <sup>***</sup>	0,65±0,04 <sup>###</sup>	0,61±0,10 <sup>###</sup>	0,65±0,02 <sup>###</sup>	0,79±0,008 <sup>###</sup>	1,02±0,07 <sup>###</sup>	0,97±0,02 <sup>###</sup>

Les valeurs sont données sous forme de moyenne  $\pm$  SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

TABLEAU 15 : VARIATION DU TAUX DE NO DANS LES ORGANES CLES DES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Paramètres	Organes	Lots expérimentaux							
		Control	OVA	Pred	Ha	Imiq	OVA+Pred	OVA+Ha	OVA+Imiq
NO ( $\mu\text{M/mL}$ )	Foie	8,81 $\pm$ 0,59	13,9 $\pm$ 0,57**	7,02 $\pm$ 0,89###	8,18 $\pm$ 0,73###	8,22 $\pm$ 0,35###	9,76 $\pm$ 0,76##	10,29 $\pm$ 0,85#	8,99 $\pm$ 0,73##
	Poumons	5,95 $\pm$ 0,42	17,10 $\pm$ 1,49**	8,47 $\pm$ 0,80###	6,67 $\pm$ 0,86###	6,65 $\pm$ 0,70###	10,66 $\pm$ 0,58*	9,26 $\pm$ 1,87##	8,96 $\pm$ 0,73###
	Reins	10,97 $\pm$ 0,92	27,83 $\pm$ 0,60**	18,01 $\pm$ 0,89#	13,03 $\pm$ 0,31##	12,95 $\pm$ 0,81##	20,03 $\pm$ 2,15#	15,92 $\pm$ 0,74#	14,70 $\pm$ 1,24##
	Rate	2,82 $\pm$ 0,26	5,04 $\pm$ 0,32**	2,72 $\pm$ 0,19###	2,92 $\pm$ 0,48##	1,97 $\pm$ 0,23###	2,91 $\pm$ 0,24###	3,17 $\pm$ 0,61###	3,32 $\pm$ 0,73##

Les valeurs sont données sous forme de moyenne  $\pm$  SEM Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001) et au groupe sensibilisé à l'OVA (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

La variation des concentrations de PCO est présentée dans la Fig.16. Les tissus pulmonaires des rats sensibilisés à l'OVA ont montré une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de la production de PCO par rapport aux groupes témoins. L'administration seule de Pred, de l'Imiq et de l'extrait aqueux de Ha a entraîné une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ). D'autre part, on note une amélioration très hautement significative chez les rats sensibilisés à l'OVA et traités par l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et l'imiquimod et de manière hautement significative ( $p < 0,01$ ) chez les rats sensibilisés à l'OVA et traités par la Pred par rapport au groupe OVA.

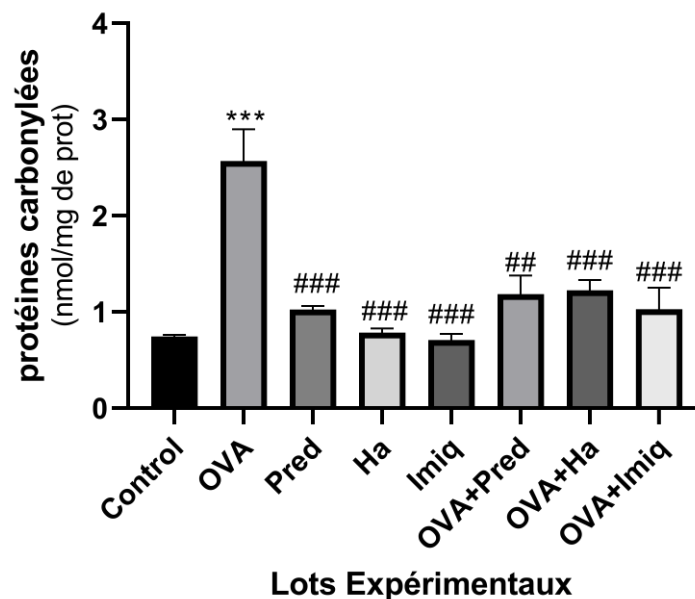


FIGURE 16 : VARIATION DES TAUX DE PCO DANS LES POUMONS CHEZ LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

D'après les résultats de la Fig. (17), on constate qu'il existe une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) du taux de GSH au niveau du foie, des poumons, des reins et de la rate chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine. De plus, on note une réduction significative ( $p < 0,05$ ) dans le foie des lots traités par (OVA + Ha) et dans les poumons des lots traités par l'imiquimod seul, ainsi que dans la combinaison (OVA + Pred), comparativement au groupe de rats témoins. En revanche, on enregistre un rétablissement par une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) voire même très hautement significative ( $p < 0,001$ ) du taux de GSH dans le foie des lots traités par la combinaison (OVA + Ha / OVA + Imiq) et (OVA + Pred). Quant aux poumons, on note une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ )

dans les lots traités par la combinaison (OVA + Pred / OVA + Ha / OVA + Imiq). De plus, on constate dans les reins une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) et significative ( $p < 0,05$ ) dans les lots traités par la combinaison (OVA + Pred) et (OVA + Ha / OVA + Imiq) respectivement. En outre, on observe une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) et significative ( $p < 0,05$ ) dans la rate des lots traités par la combinaison (OVA + Ha) et (OVA + Imiq) respectivement, on ne note aucune différence significative dans la rate des lots traités par la combinaison (OVA + Pred).

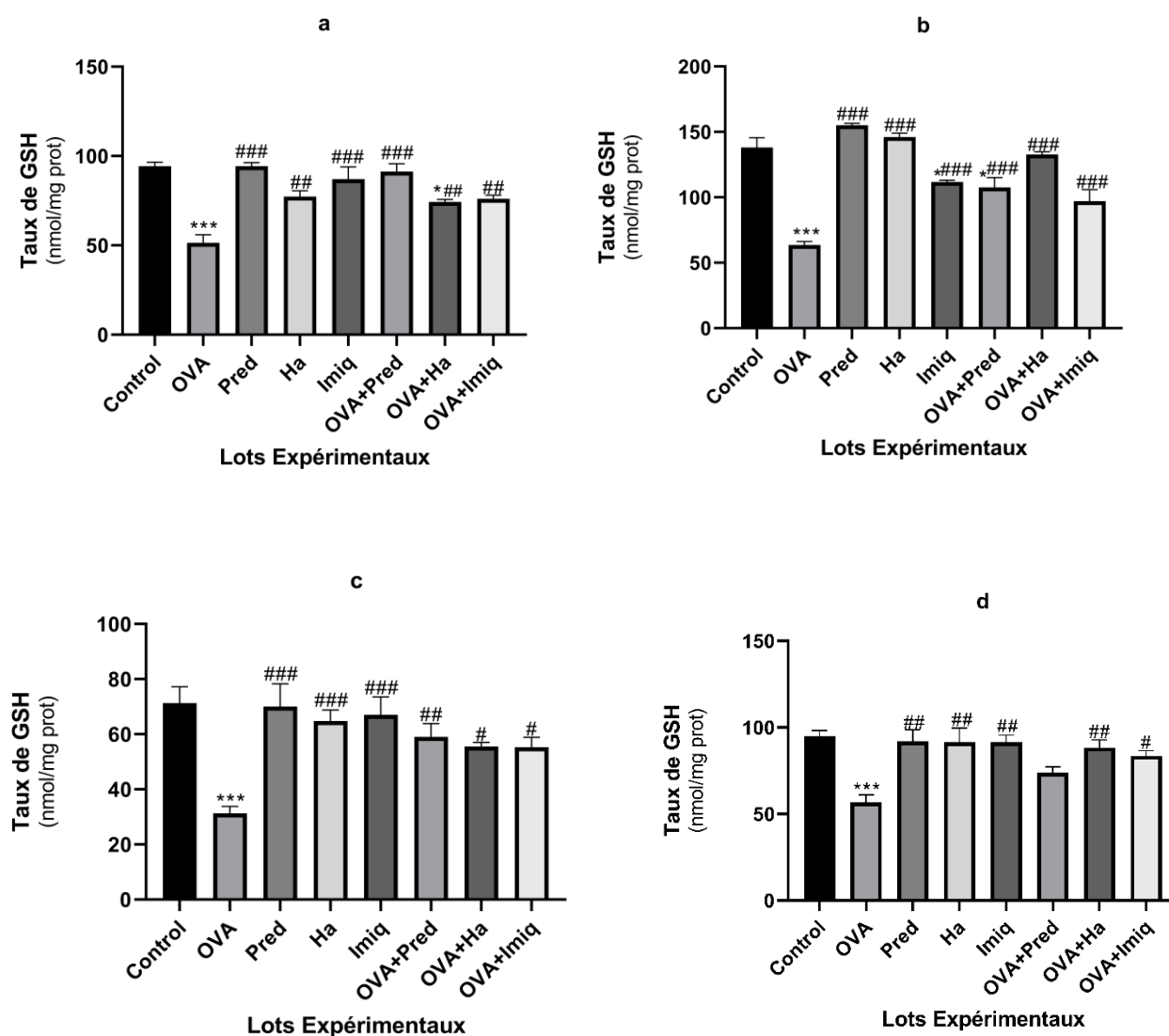


FIGURE 17 : VARIATION DES TAUX DU GLUTATHION REDUIT DANS LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX.

(A) : Foie ; (B) : Poumons ; (C) : Reins ; (D) : Rate. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

Les résultats du dosage de l'activité enzymatique de la GPx au niveau du foie, des poumons, des reins et de la rate sont illustrés dans la (Fig.18). On constate qu'il existe une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité de la GPx dans tous les organes étudiés entre le lot témoin et le lot sensibilisé (OVA), ainsi qu'une diminution significative dans les poumons et les reins des lots traités par la combinaison (OVA+Imiq). De plus, une diminution hautement significative est observée dans les reins des lots traités par la combinaison (OVA+Ha) comparativement au lot témoin. Cependant, le traitement des rats sensibilisés avec la prednisolone induit une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration de la GPx dans les organes étudiés. D'autre part, le traitement par l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* induit, dans le lot sensibilisé à l'ovalbumine, une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans le foie, hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans la rate et les reins, et significative ( $p < 0,05$ ) dans les poumons. Ensuite, le traitement des rats sensibilisés par l'imiquimod induit également une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans les reins, hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans le foie et la rate, et significative ( $p < 0,05$ ) dans les poumons, comparativement aux lots sensibilisés à l'ovalbumine.

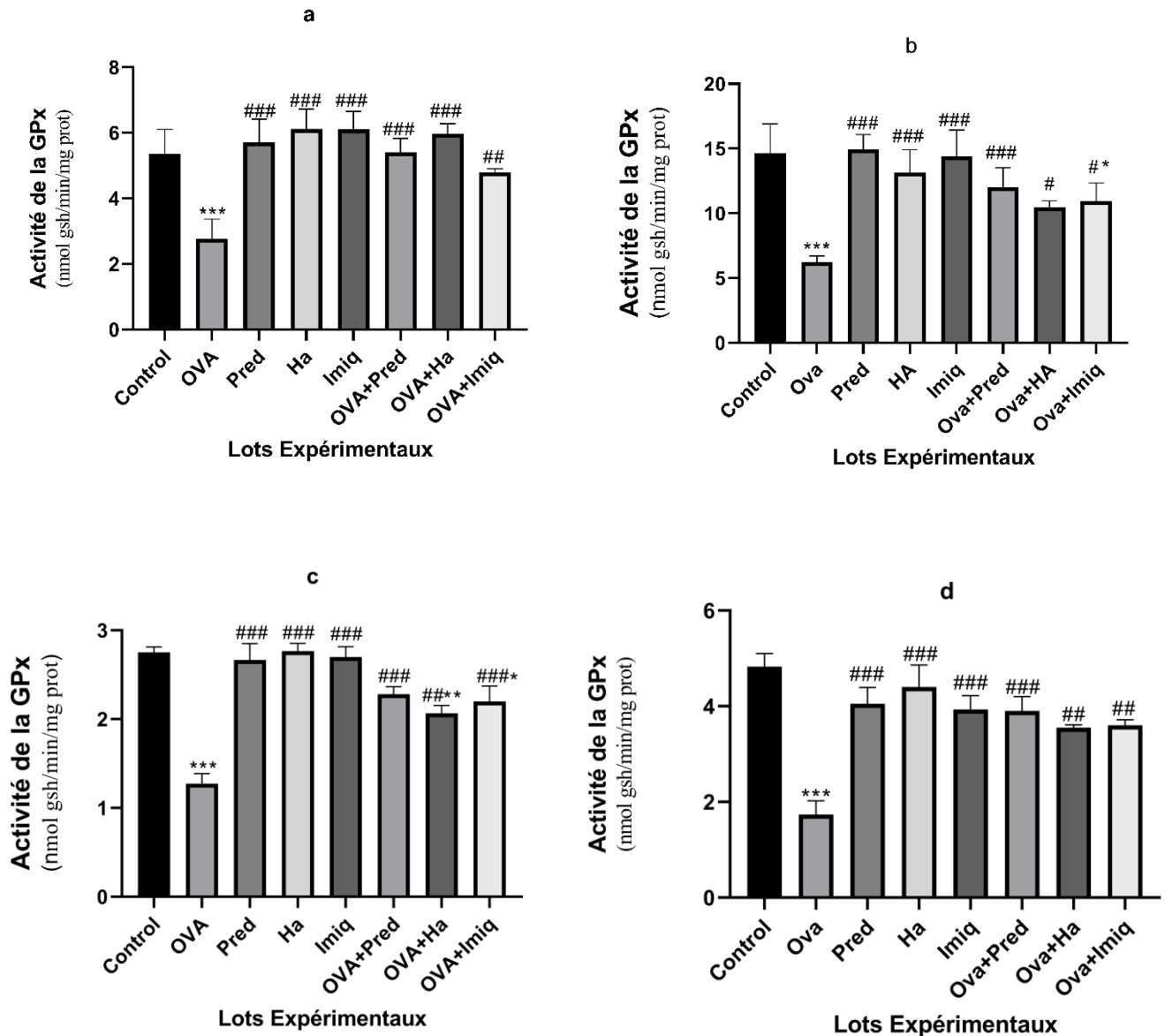


FIGURE 18 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA GLUTATHION PEROXYDASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

(A) : Foie ; (B) : Poumons ; (C) : Reins ; (D) : Rate. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

Les résultats obtenus dans la Fig.19 montrent une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité de la catalase dans le foie, les poumons, les reins et la rate. Cette diminution est améliorée de façon très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans le foie, les poumons, les reins des rats traités avec *Hedera algeriensis* et l'imiquimod dans les groupes (OVA + Ha) et (OVA + Imiq), Et de façon très hautement significative dans le foie, et hautement significative dans les poumons, les reins et la rate du groupe traité par la prednisolone (OVA + Pred), par rapport au groupe OVA.

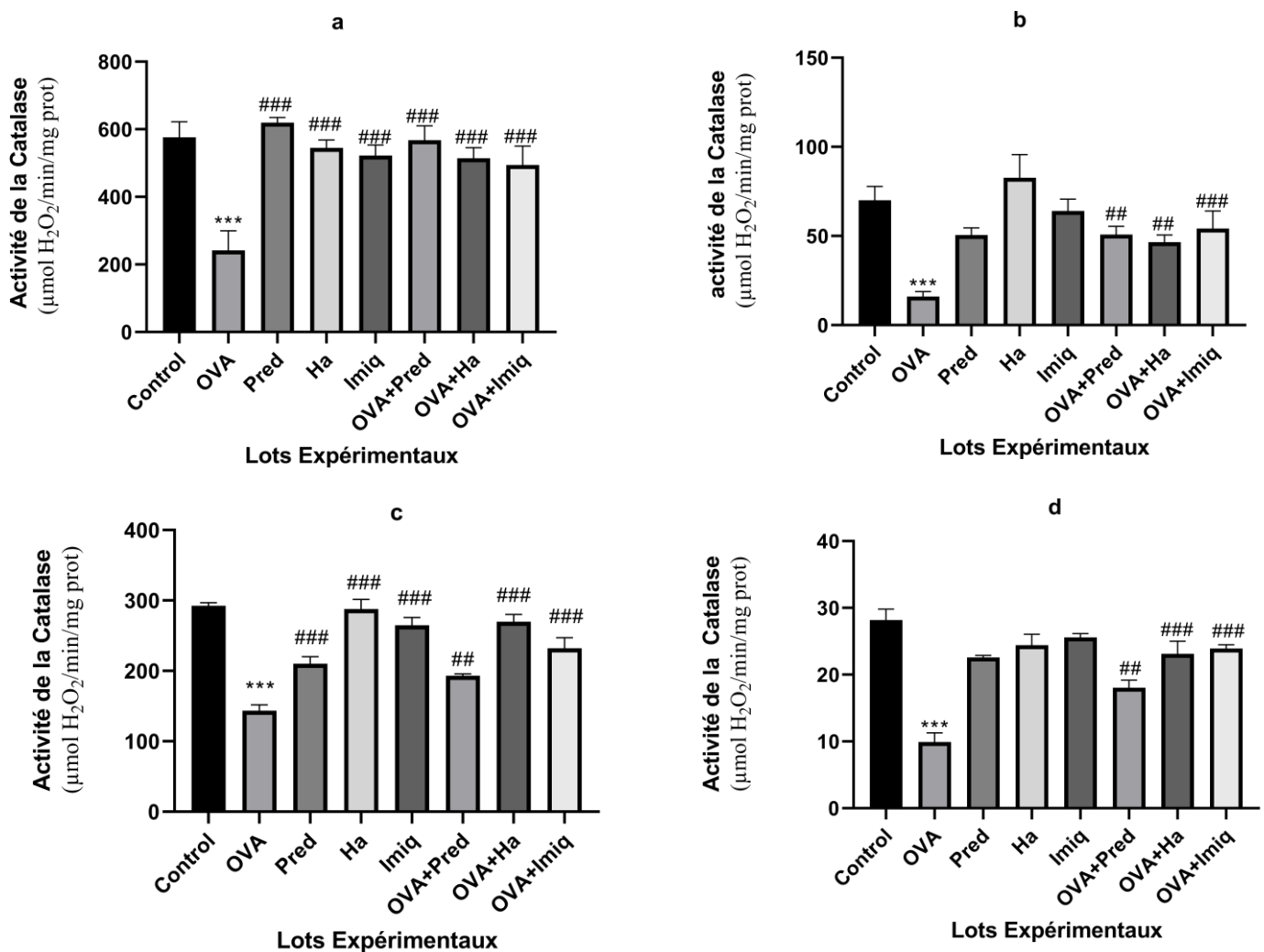


FIGURE 19 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA CATALASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

(A) : Foie ; (B) : Poumons ; (C) : Reins ; (D) : Rate. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

Nos résultats montrent une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) de l'activité enzymatique de la SOD dans le foie chez les lots OVA, ainsi qu'une diminution significative ( $p < 0,05$ ) dans les reins et une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans les poumons et la rate, comparativement au groupe témoin. De plus, le traitement avec *Hedera algeriensis* et l'imiquimod dans les lots (OVA + Ha / OVA + Imiq) aboutit à une amélioration significative du taux de SOD dans tous les organes étudiés par rapport au lot OVA. De même, le traitement avec la prednisolone montre une amélioration hautement significative ( $p < 0,01$ ) dans le foie, les reins et la rate, et très hautement significative dans les poumons du lot (OVA + Pred) par rapport au lot OVA (Fig.20).

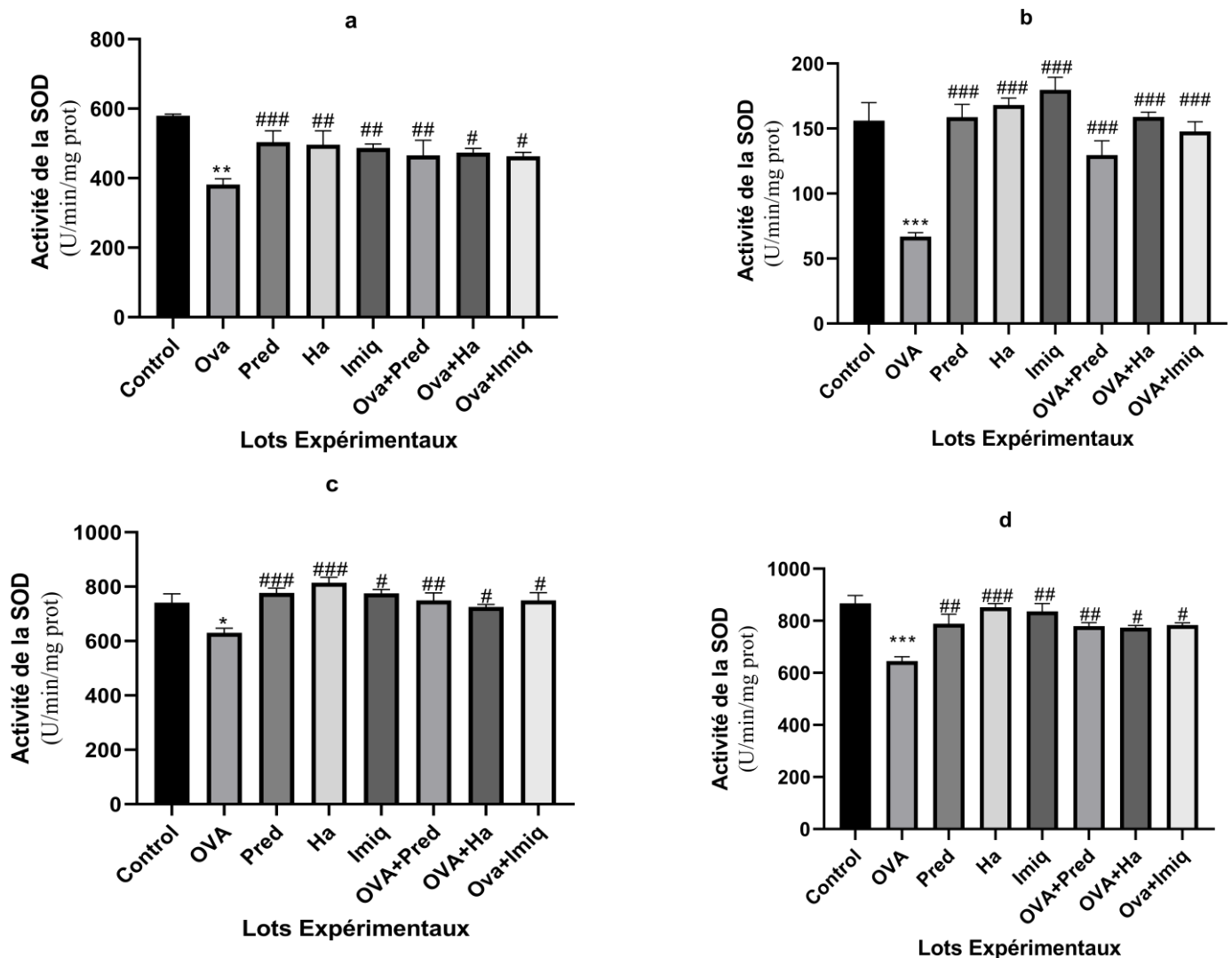


FIGURE 20 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

(A) : Foie ; (B) : Poumons ; (C) : Reins ; (D) : Rate. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA (# $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$ ).

La sensibilisation des rats par l'ovalbumine provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité enzymatique de la GST dans tous les organes étudiés par rapport aux rats témoins. Tandis qu'on observe une restauration par une augmentation très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité de la GST dans le foie, les reins et hautement significative dans les poumons des rats sensibilisés et traités par la prednisolone, l'*Hedera algeriensis* et l'imiquimod. On observe également une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) et significative ( $p < 0,05$ ) dans la rate des lots traités par la combinaison (OVA + Pred / OVA + Imiq) et (OVA + Ha) respectivement par rapport aux lots sensibilisés à l'ovalbumine (Fig.21).

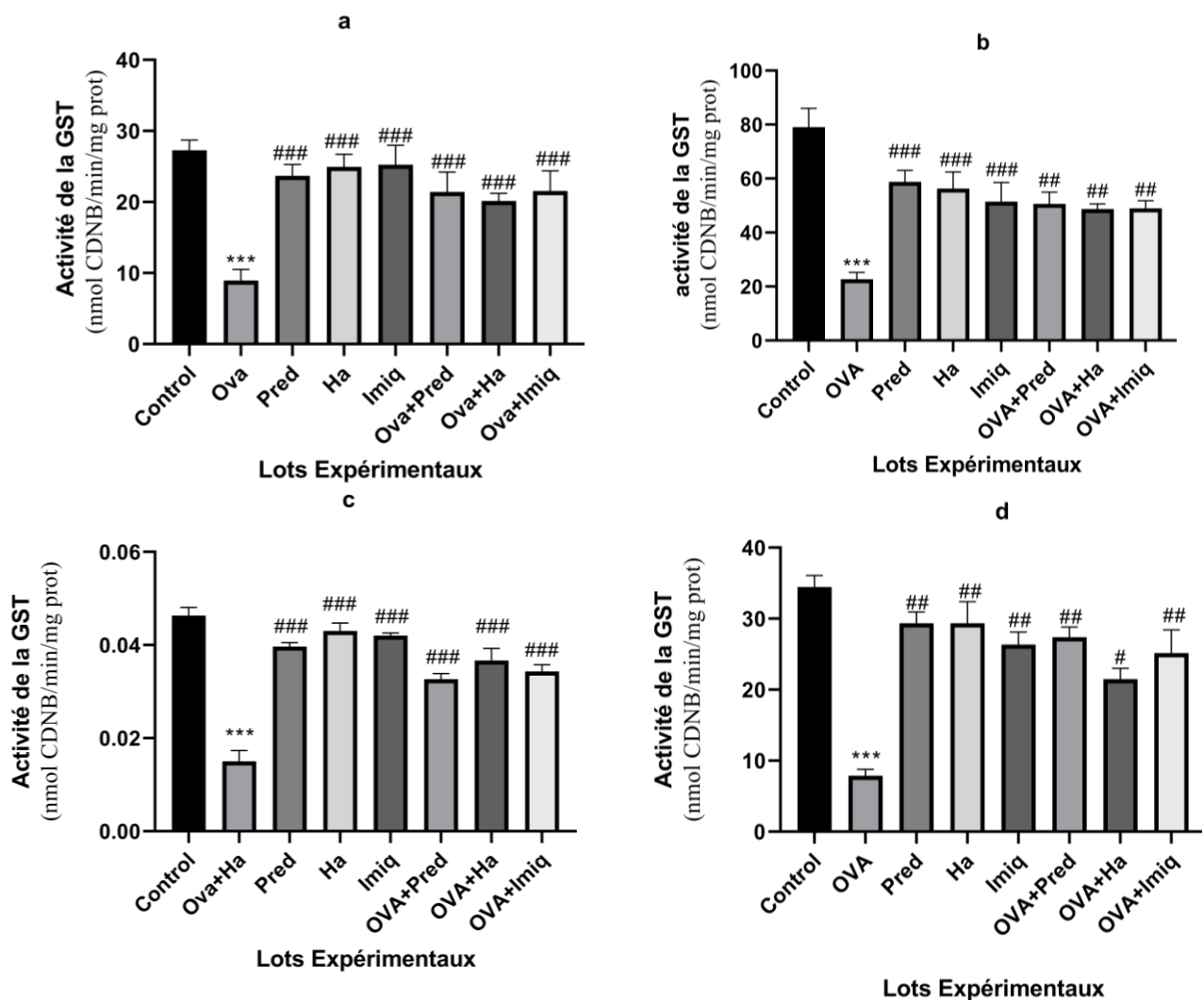


FIGURE 21 : VARIATION DE L'ACTIVITE DE LA GLUTATHIONNE S TRANSFERASE DANS LES DIFFERENTS LOTS EXPERIMENTAUX.

(A) : Foie ; (B) : Poumons ; (C) : Reins ; (D) : Rate. Tous les groupes traités ont été comparés au groupe témoin ( $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$ ) et au groupe sensibilisé à l'OVA ( $#p < 0,05$ ,  $##p < 0,01$ ,  $###p < 0,001$ ).

### 5.2.6 Corrélations entre les marqueurs de l'inflammation bronchique et ceux du stress oxydatif

La projection des variables dans l'espace a été obtenue par ACP (Figure 22). L'axe 1 est exprimé vers son pôle négatif par la SOD, la GST et la GPx, et vers son pôle positif par certains marqueurs de l'inflammation bronchique (tels que les globules blancs, les lymphocytes, les granulocytes et les protéines totales dans le sang, ainsi que les niveaux de TNF- $\alpha$ ) ainsi que certains marqueurs du stress oxydatif (comme les niveaux de MDA, AOPP, NO et PCO), qui présentent de bonnes corrélations entre eux. Quant à l'axe 2, il est défini par les monocytes, qui sont opposés au GSH. L'examen de la matrice de corrélation entre les variables révèle la présence de groupes de variables bien corrélées entre elles : Une corrélation positive forte et significative entre les globules blancs, les lymphocytes, les protéines totales dans le sang et les niveaux de TNF- $\alpha$  avec les niveaux de MDA, AOPP, PCO et NO. Une corrélation négative forte et significative a été observée entre les globules blancs, les lymphocytes, les protéines totales sanguines et le TNF- $\alpha$  avec les paramètres du stress oxydatif GPx, GST et SOD.

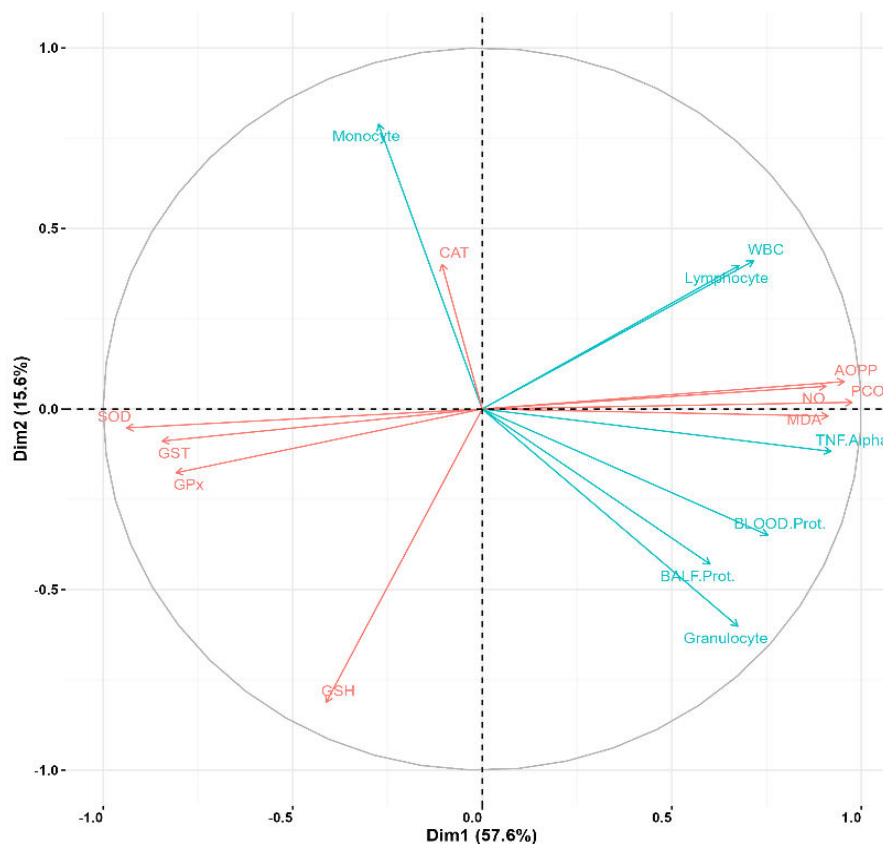


FIGURE 22 : CERCLE DES CORRÉLATIONS DES VARIABLES ISSUES DE L'ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES DES MARQUEURS DE L'INFLAMMATION BRONCHIQUE (EN BLEU) ET DU STRESS OXYDATIF (EN ROUGE).

### 5.2.7 Effet sur l'histologie des organes clés

#### 5.2.7.1 Tissu hépatique

Dans cette étude histologique, différents lots de rats ont été examinés pour évaluer les effets de divers traitements sur le parenchyme hépatique (Fig.23). Le lot contrôle présente une morphologie hépatique normale, avec une architecture lobulaire intacte et des hépatocytes réguliers. En revanche, le lot exposé à l'OVA montre des altérations significatives, telles qu'un élargissement des sinusoides, une souffrance cellulaire caractérisée par une ballonnisation et une clarification cytoplasmique, ainsi qu'un infiltrat inflammatoire dense. De plus, une congestion vasculaire importante est observée dans les espaces portes. Dans le lot traité uniquement par la prednisolone, *Hedera algeriensis* et l'imiquimod, le parenchyme hépatique présente une histologie similaire à celle des rats témoins, sans modification morphologique ou cellulaire notable. Pour les rats exposés à l'OVA et traités avec la prednisolone, on observe une amélioration significative des altérations histologiques, avec une réduction de l'inflammation, de la congestion vasculaire et de l'élargissement des sinusoides, ainsi qu'une diminution des signes de souffrance hépatocytaire.

Dans le lot des rats traités avec l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* en combinaison avec l'OVA, les altérations du parenchyme hépatique persistent mais sont minimisées, avec une réduction de l'inflammation, de la congestion vasculaire et des modifications cellulaires. Enfin, pour les rats exposés à l'OVA et traités avec l'imiquimod, les altérations morphologiques sont minimales, avec une inflammation discrète et des signes de souffrance cellulaire légers à absents. Ces observations suggèrent des effets protecteurs potentiels de traitements sur le foie en présence de stimuli inflammatoires.

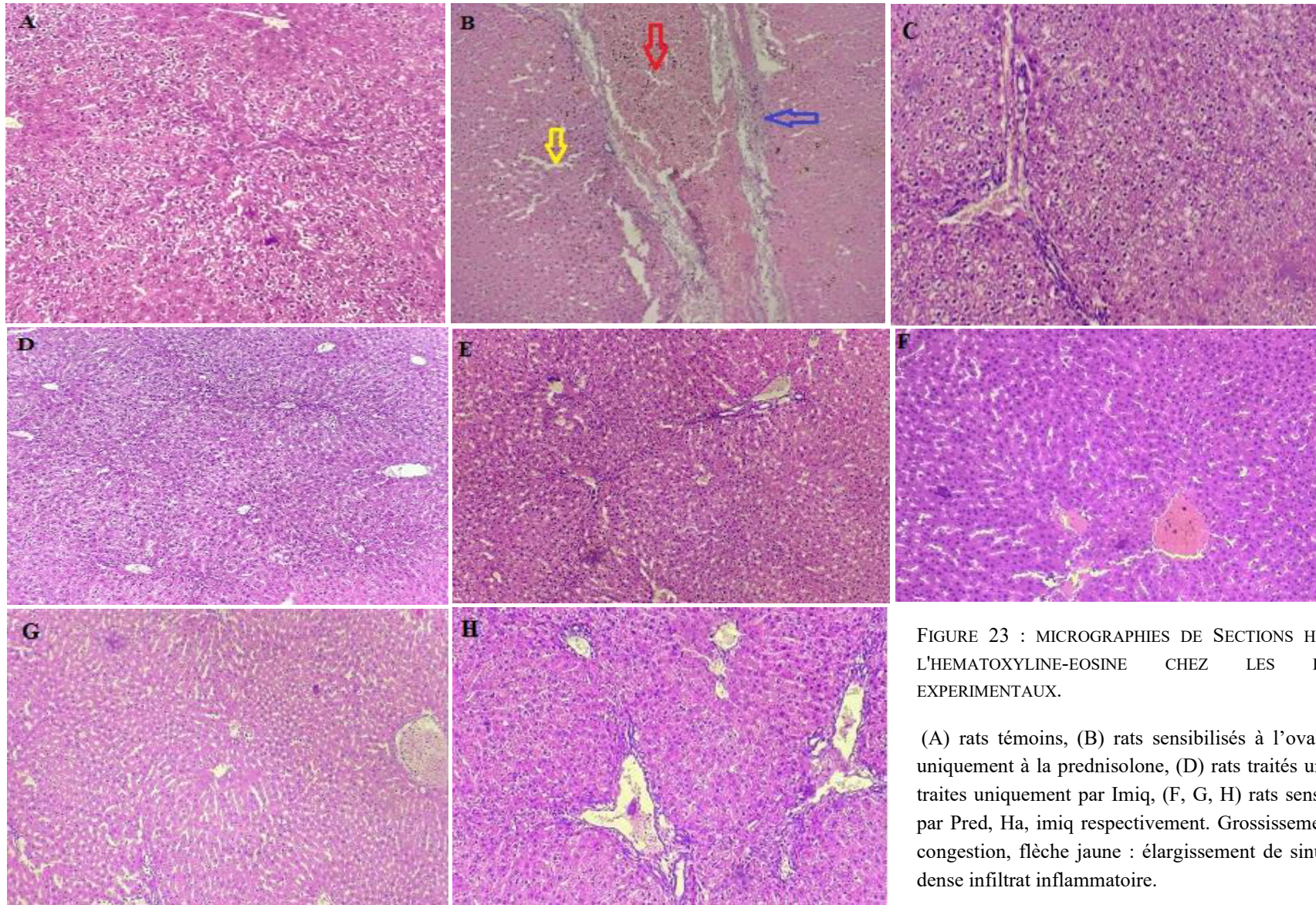


FIGURE 23 : MICROGRAPHIES DE SECTIONS HEPATIQUES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX.

(A) rats témoins, (B) rats sensibilisés à l'ovalbumine, (C) rats traités uniquement à la prednisolone, (D) rats traités uniquement à Ha, (E) rats traités uniquement par Imiq, (F, G, H) rats sensibilisés à l'OVA et traités par Pred, Ha, imiq respectivement. Grossissement (x10). Flèche rouge : congestion, flèche jaune : élargissement de sinusoïde, flèche bleue : un dense infiltrat inflammatoire.

**5.2.7.2 Tissu pulmonaire**

L'analyse histologique du tissu pulmonaire est présentée à la figure (24). L'examen microscopique du groupe témoin a révélé une morphologie alvéolaire normale et une structure normale du parenchyme pulmonaire alvéolaire. Les lumières alvéolaires sont tapissées de cellules pneumocytaires régulières, tandis que les parois bronchiques sont tapissées d'un épithélium pseudostratifié de type respiratoire. D'autre part, la sensibilisation à l'OVA a induit des changements histologiques par rapport au groupe témoin, en particulier une altération du parenchyme pulmonaire, un infiltrat inflammatoire interstitiel composé de petits lymphocytes réguliers, une hypersécrétion de mucus, une hyperplasie des cellules de gobelet et une congestion vasculaire. Le traitement par les trois thérapies (Pred, Ha et Imiq) a permis d'améliorer l'architecture du tissu pulmonaire. Nous avons également observé que les phénomènes de congestion étaient moins importants, que l'infiltrat inflammatoire était moins dense et que l'hypersécrétion de mucus avait disparu. De plus, une légère hyperplasie des cellules de gobelet a été observée.

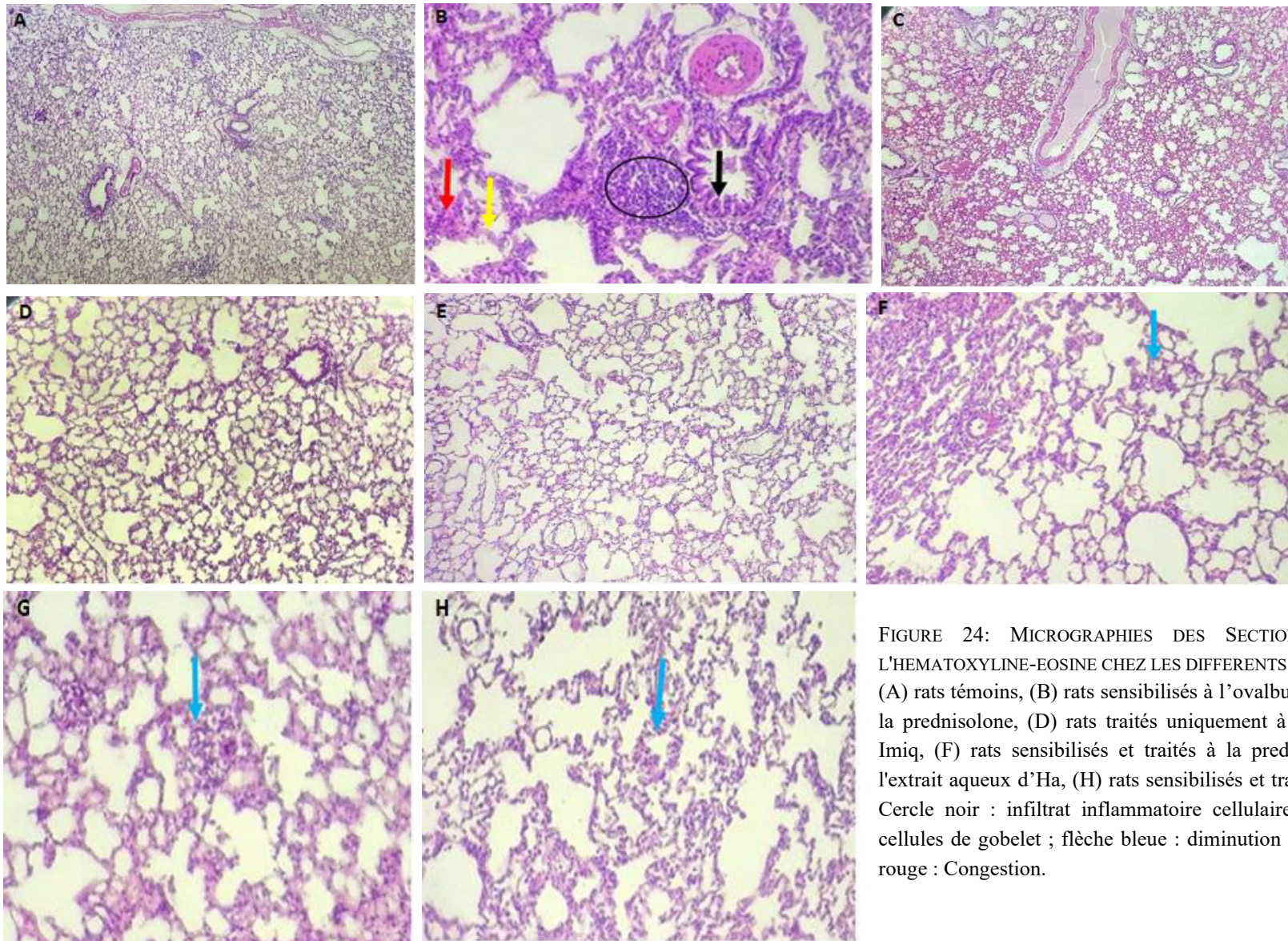


FIGURE 24: MICROGRAPHIES DES SECTIONS PULMONAIRES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX. (A) rats témoins, (B) rats sensibilisés à l'ovalbumine, (C) rats traités uniquement à la prednisolone, (D) rats traités uniquement à Ha, (E) rats traités uniquement à Imiq, (F) rats sensibilisés et traités à la pred, (G) rats sensibilisés et traités à l'extrait aqueux d'Ha, (H) rats sensibilisés et traités à l'imiq. Grossissement (x10). Cercle noir : infiltrat inflammatoire cellulaire ; flèche noire : hyperplasie des cellules de goblet ; flèche bleue : diminution de l'infiltrat inflammatoire ; flèche rouge : Congestion.

### 5.2.7.3 Tissu rénal

Les reins des lots témoins montrent un parenchyme rénal normal comportant des tubules proximaux et distaux réguliers ainsi que des glomérules de Malpighi entourés par une capsule de Bowman. En revanche, Les reins des lots sensibilisés à l'ovalbumine montrent un parenchyme rénal marqué par une congestion vasculaire (présence d'hématies) et des phénomènes inflammatoires représentés par un infiltrat lymphocytaire réalisant quelques renforcements nodulaires. D'autre part, les reins des lots traités uniquement par l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et de l'immunothérapie à l'imiquimod et la corticothérapie par la prédnisolone montrent une architecture rénale semblable aux reins témoins. Pour les lots sensibilisés à l'ovalbumine et traités par *Hedera algeriensis* et imiquimod, le parenchyme rénal présente une architecture conservée sans altérations histologiques décelables (pas d'infiltrat inflammatoire lymphocytaire, pas d'atrophie glomérulaire, pas de congestion). Cependant, le lot sensibilisé à l'ovalbumine et traité avec le prednisolone montre des altérations histologiques minimales, un infiltrat inflammatoire lymphocytaire discret et, par endroits, une atrophie des glomérules de Malpighi (Fig.25).

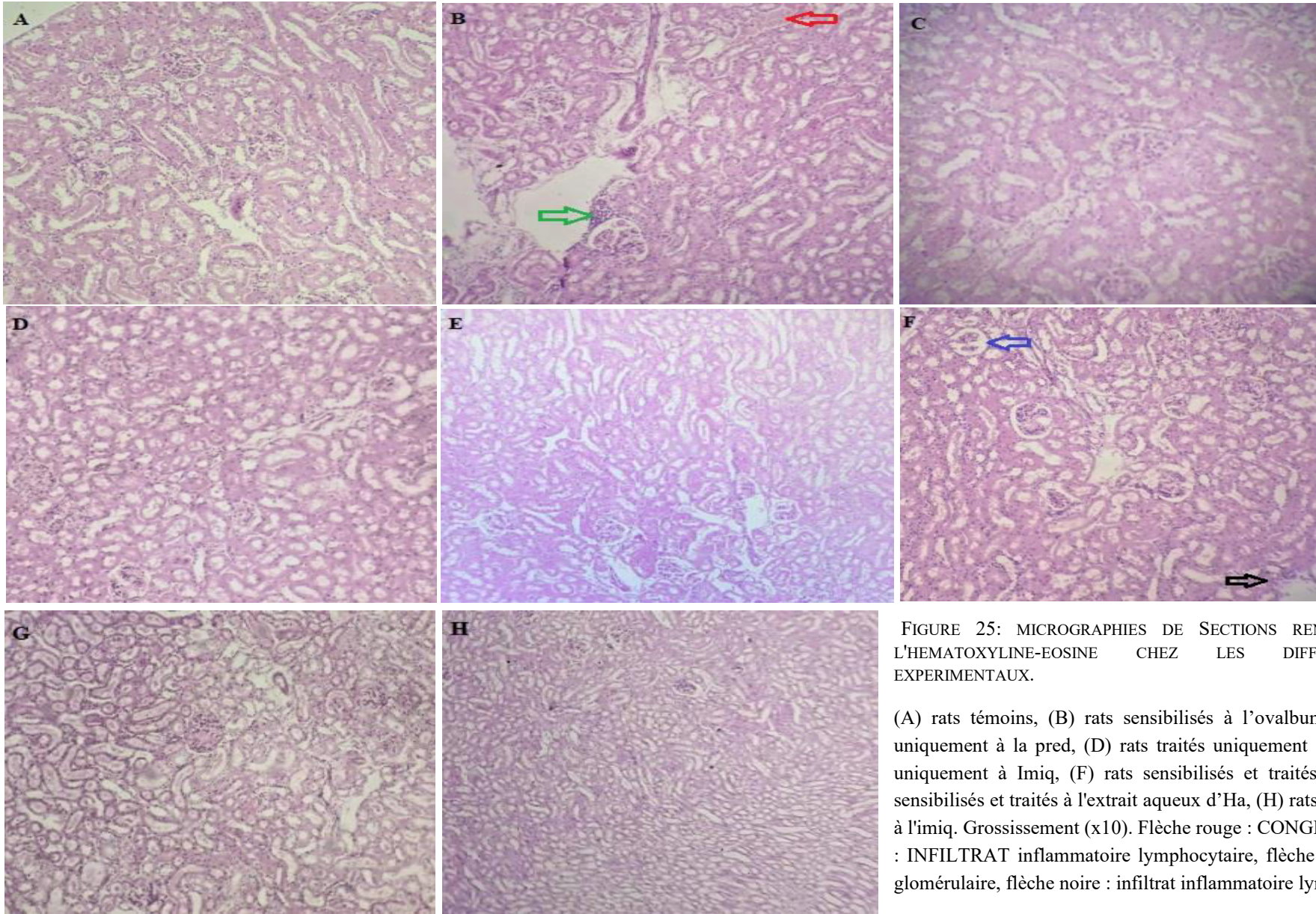


FIGURE 25: MICROGRAPHIES DE SECTIONS RENALES COLOREES A L'HEMATOXYLINE-EOSINE CHEZ LES DIFFERENTS GROUPES EXPERIMENTAUX.

(A) rats témoins, (B) rats sensibilisés à l'ovalbumine, (C) rats traités uniquement à la pred, (D) rats traités uniquement à Ha, (E) rats traités uniquement à Imiq, (F) rats sensibilisés et traités à la pred, (G) rats sensibilisés et traités à l'extrait aqueux d'Ha, (H) rats sensibilisés et traités à l'imiq. Grossissement (x10). Flèche rouge : CONGESTION, flèche verte : INFILTRAT inflammatoire lymphocytaire, flèche bleue : une atrophie glomérulaire, flèche noire : infiltrat inflammatoire lymphocytaire discret.

### Discussion

L'asthme allergique constitue un problème de santé publique mondial, particulièrement préoccupant en pédiatrie en raison de sa prévalence élevée (Han et al., 2022). C'est principalement dans ce contexte que s'inscrit la présente recherche au cours de laquelle nous avons induit un asthme expérimental chez le rat Wistar, dans l'objectif de déterminer si l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* pouvait exercer des effets bénéfiques, en comparaison à l'imiquimod, sur les effets délétères de l'asthme, tout en évaluant une série de paramètres (biochimiques, hématologiques, immunologiques, histologiques, ainsi que ceux liés au stress oxydatif). Actuellement, les corticoïdes représentent la classe thérapeutique la plus utilisée pour soulager les symptômes de cette pathologie. Toutefois, leur usage prolongé est associé à d'importants effets secondaires (Yang et al., 2022). D'autres alternatives, comme l'immunothérapie, montrent un potentiel croissant, notamment chez les patients atteints de formes sévères de la maladie (Esmailzadeh et al., 2020). Cependant, leur coût élevé constitue un frein à leur accessibilité, surtout comparé aux traitements des formes légères à modérées. Dans cette optique, l'exploration de molécules bioactives d'origine végétale représente une piste prometteuse. Il est désormais bien établi que l'inflammation caractéristique de l'asthme est étroitement liée à une augmentation du stress oxydatif dans les voies respiratoires. Plusieurs études antérieures ont montré que l'administration d'extraits de plantes médicinales à des modèles animaux asthmatiques pouvait réduire le stress oxydatif et l'inflammation allergique (Ounaceur et al., 2024 ; Zemmouri et al., 2017). Parmi ces plantes, nous avons porté notre attention sur le lierre algérien *Hedera algeriensis*, une espèce à feuilles persistantes de la famille des Araliaceae, largement répandue en Algérie. À notre connaissance, aucune étude n'a évalué, ni sa richesse potentielle en composés bioactifs, encore moins son effet sur l'asthme allergique. En amont, notre démarche expérimentale *in vitro* visait à identifier les métabolites phytochimiques spécifiques présents dans l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*, éventuellement responsables de ses activités biologiques, que nous avons explorés en évaluant ses effets antiasthmatiques et antioxydants dans le contexte de l'asthme allergique (étude *in vivo*). En parallèle, cette étude a évalué l'efficacité de l'extrait aqueux de la plante en comparaison avec une immunothérapie par imiquimod, un agoniste des récepteurs TLR7, toujours dans le modèle murin d'asthme induit par l'ovalbumine (OVA). L'imiquimod est reconnu pour son action immunomodulatrice et sa capacité à piéger les radicaux libres, contribuant ainsi à atténuer l'inflammation allergique des voies respiratoires.

**Phytochimie et activités biologiques *in vitro***

Depuis plusieurs années, la recherche sur les plantes médicinales connaît un essor considérable. Les études phytochimiques et les évaluations biologiques se sont multipliées, en raison des effets thérapeutiques observés. Cet engouement s'inscrit également dans une dynamique de valorisation de la biodiversité, notamment dans les régions riches en flore endémique, où les ressources végétales offrent un potentiel considérable pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques. Cette richesse végétale, ancrée dans le patrimoine naturel, est également au cœur des savoirs traditionnels. En effet, la médecine traditionnelle repose depuis longtemps sur l'utilisation d'extraits de plantes riches en métabolites secondaires, qui jouent un rôle fondamental dans les activités biologiques (Hussein and El-Anssary, 2019).

Dans le cadre de notre étude, nous avons obtenu un bon rendement d'extraction (12,55 %), témoignant à la fois de la richesse des parties aériennes en composés hydrophiles, notamment en polyphénols et flavonoïdes, et de l'efficacité de la macération, méthode d'extraction en lien avec l'usage traditionnel de la plante sous forme de tisanes. En effet, les feuilles de lierre sont traditionnellement consommées en tisane ou sous forme d'extrait aqueux pour soulager la toux et faciliter le dégagement des voies respiratoires (Pecoraro et al, 2024). D'ailleurs, l'analyse, LC-MS/MS de l'extrait aqueux de la plante, a révélé une teneur élevée en composés phénoliques confirmant la richesse en composés bioactifs, avec la détection de 15 composés, incluant des composés non phénoliques (acide quinique, acide fumarique), des acides phénoliques (acide protocatéchuique, acide chlorogénique, acide p-coumarique, acide caféique, acide salicylique), un aldéhyde phénolique (aldéhyde protocatéchuique), et des flavonoïdes (nicotiflorine, hespéridine, astragaline, rutine, isoquercitine, naringénine, daidzine). Certains de ces composés (hespéridine, daidzine, aldéhyde protocatéchuique, acide fumarique, acide salicylique) n'ont pas été identifiés dans les études antérieures sur *Hedera* (Ahchouch et al., 2024 ; Sen et al., 2023), soulignant l'originalité chimique de *H. algeriensis*. Les techniques spectroscopiques ont également permis de mettre en évidence la concentration totale en polyphénols qui s'élevait à 89,11 mg EAG/g d'extrait, tandis que les flavonoïdes et les tanins condensés présentaient respectivement des concentrations de 10,03 mg QE/g et 2,59 mg EC/g. Ces valeurs sont nettement supérieures à celles rapportées pour *Hedera helix* par Bezruk et al. (2022), qui ont trouvé des concentrations de polyphénols allant de 0,033 à 2,92 mg EAG/g et de flavonoïdes de 0,031 à 0,281 mg/g. De même, Salma et al. (2018) ont rapporté des teneurs en polyphénols de  $39,16 \pm 0,48$  mg/g et en flavonoïdes de  $2,25 \pm 0,05$  mg/g. Une autre étude menée par Pop et al. (2017) sur des feuilles de *H. helix* issues de

Roumanie a relevé une teneur en polyphénols de  $1,03 \pm 0,09$  mg GAE/g et en flavonoïdes de  $0,87 \pm 0,01$  mg RE/g. Par contre, nos résultats montrent une faible teneur en tanins condensés dans l'extrait aqueux de feuilles de *Hedera algeriensis*, avec 2,59 mg/g d'extrait. Ces variations pourraient s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les techniques d'extraction et les méthodes analytiques employées, mais surtout les conditions environnementales (climat, type de sol), la période de récolte et le stade phénologique des plantes. En effet, plusieurs études ont montré que la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes du lierre varie selon l'ensoleillement, les caractéristiques pédoclimatiques, et la provenance géographique. D'autres ont démontré l'effet marqué de la région de collecte sur la composition qualitative et quantitative des métabolites secondaires du lierre, notamment les acides phénoliques, flavonoïdes et saponines, mettant en évidence la polymorphie chimique induite par le climat et le sol (Bezruk et al, 2022 ; Gallego-Narbón et al, 2024).

Partant de cette caractérisation phytochimique, nous avons évalué les activités biologiques, en particulier l'activité antioxydante, afin de relier la composition chimique aux effets potentiels de l'extrait. Ainsi, l'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide de trois tests complémentaires : DPPH, FRAP et la capacité antioxydante totale. Les résultats obtenus par la méthode DPPH sont exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50% des radicaux ( $IC_{50}$ ). L' $IC_{50}$  de l'extrait aqueux de *H. algeriensis* était de 138,6  $\mu$ g/ml, un résultat comparable à ceux obtenus par Baharfar et al. (2015) sur *Hedera pastuchovii* ( $IC_{50} = 139,02$   $\mu$ g/ml) et par Pop et al. (2017) sur *H. helix* ( $IC_{50} = 122,47 \pm 9,31$   $\mu$ g/ml). Cette activité antioxydante peut être attribuée à la capacité des composés à donner des atomes d'hydrogène (Saiah et al., 2016). Cependant, le test FRAP, mesurant le pouvoir réducteur des antioxydants en évaluant leur capacité à céder des atomes d'hydrogène et à rompre les chaînes de radicaux libres, a montré que le pouvoir réducteur de l'extrait s'élevait à 63,16  $\mu$ g/mL. Šuran et al. (2021) ont également rapporté une activité antioxydante significative pour divers extraits de plantes dont *H. helix* à l'aide du test FRAP. Par comparaison, Qabaha et al. (2024) ont rapporté une valeur de  $9,5 \pm 0,9$  mmol  $Fe^{2+}$ /g DW pour l'extrait éthanolique de *H. helix*. La méthode au phosphomolybdate a révélé une capacité réductrice de  $1,09 \pm 0,015$  mmol TE/g, supérieure à celles rapportées par Bezruk et al. (2020), dont les valeurs variaient entre 0,027 et 0,688 mg/g.

Au-delà de leur pouvoir antioxydant, les composés bioactifs présents dans l'extrait de *Hedera algeriensis* pourraient également interagir avec certaines enzymes clés impliquées dans diverses pathologies humaines. Dans cette optique, et dans le but d'explorer plus largement le potentiel thérapeutique de cette espèce, nous avons entrepris, pour la première fois à notre

connaissance, l'évaluation de ses activités inhibitrices vis-à-vis d'enzymes biologiquement et cliniquement pertinentes (AChE, BChE, tyrosinase,  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase) associées aux maladies neurodégénératives, aux troubles pigmentaires et au diabète de type II. Ainsi, l'extrait aqueux de feuilles de *Hedera algeriensis* a présenté une activité modérée d'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), avec une valeur de 1,73 mg GALAE/g, et une inhibition plus faible de la butyrylcholinestérase (BChE), mesurée à  $0,98 \pm 0,08$  mg GALAE/g. Ces résultats suggèrent un effet neuroprotecteur potentiel de l'extrait, en particulier dans le contexte de la maladie d'Alzheimer, où la stimulation des niveaux d'acétylcholine dans le cerveau est associée à une amélioration des fonctions cognitives (Santos et al., 2018 ; Lobine et al., 2021). En effet, les deux enzymes AChE et BChE sont impliquées dans la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur clé de la mémoire. L'AChE est prédominante aux stades précoces de la maladie, tandis que la BChE joue un rôle accru dans les stades avancés, lorsque l'activité de l'AChE diminue. L'inhibition combinée de ces deux enzymes constitue donc une stratégie thérapeutique prometteuse. L'effet observé pourrait être attribué à la richesse en composés phénoliques de l'extrait, tels que l'acide chlorogénique, l'acide protocatéchique, l'acide caféique, l'acide salicylique et l'acide *p*-coumarique. Ces molécules sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à protéger les neurones contre les dommages oxydatifs, ainsi qu'à moduler les voies impliquées dans la mémoire et l'apprentissage (Caruso et al., 2022). Ces résultats préliminaires soutiennent ainsi l'intérêt de *Hedera algeriensis* comme source potentielle d'inhibiteurs naturels des cholinestérases, avec des perspectives intéressantes dans la prévention ou le ralentissement du déclin cognitif associé à la maladie d'Alzheimer. Par ailleurs, l'extrait a montré une forte activité inhibitrice de la tyrosinase ( $20,94 \pm 1,37$ ), pouvant s'expliquer par la présence d'acide chlorogénique, connu pour inhiber la mélanogenèse via l'inhibition de la tyrosinase (Li et al., 2014). Concernant la gestion du diabète de type II, l'inhibition des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase représente une stratégie thérapeutique efficace pour limiter l'hyperglycémie postprandiale. Nos travaux ont montré une activité inhibitrice notable contre les enzymes impliquées dans la digestion des glucides, avec des valeurs respectives de  $0,09 \pm 0,003$  mg EACA/g pour l' $\alpha$ -amylase et  $1,41 \pm 0,03$  mg EACA/g pour l' $\alpha$ -glucosidase. Ces résultats suggèrent un potentiel antidiabétique, en particulier par la réduction de l'hyperglycémie postprandiale. De tels effets sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature. En effet, Oboh et al. (2015) ont montré que les acides phénoliques peuvent exercer une action antidiabétique en inhibant les enzymes  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase. De même, Johnston et al. (2003) ont indiqué que l'acide chlorogénique, issu de l'estérification de l'acide caféique et de l'acide

quinique, possède des propriétés antioxydantes et permet de ralentir la libération du glucose dans le sang. Plus généralement, la gestion glycémique est une approche thérapeutique cruciale pour le traitement du diabète de type II et la prévention des complications cardiovasculaires. Dans ce contexte, les inhibiteurs d'enzymes digestives, notamment l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$ -amylase, sont recommandés pour réduire la conversion des glucides en glucose au niveau intestinal (Yilmaz et al., 2023).

Parallèlement à l'étude des activités enzymatiques, une autre facette essentielle de cette investigation a consisté à évaluer le potentiel antimicrobien de l'extrait de *Hedera algeriensis*, dans le but de compléter le profil bioactif de la plante. Pour cela, il a été testé sur les souches suivantes : les bactéries Gram positives : *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus* ciprofloxacine résistante (souche clinique), *Bacillus cereus* (souche clinique) ; les bactéries Gram négatives : *Serratia sp.* (souche clinique), *Klebsiella pneumoniae* (souche clinique), *Escherichia coli* 25922, *Escherichia coli* (souche clinique), *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Acinetobacter sp.* (souche clinique) ; et les levures fongiques : *Candida albicans* 90028 et *Rhodotorula sp.* Nos résultats montrent que notre plante ne possède pas d'activité antimicrobienne, et en cela notre résultat diffère de ceux obtenus par Uddin et al. (2011) qui ont évalué l'activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle et de méthanol de *Hedera helix*, montrant une activité contre trois souches bactériennes Gram positives (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*) et deux Gram négatives (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*). Une autre étude menée par Suica-Bunghez et al. (2020) similaire à nos résultats a montré l'absence de l'activité antimicrobienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. En revanche, une légère activité contre *Aspergillus niger* et une bonne activité antifongique contre *Candida albicans* a été observée. L'absence de l'activité antimicrobienne de notre plante dans ces conditions expérimentales pourrait être expliquée par le fait que les composés bioactifs de la plante pourraient être spécifiques à d'autres microorganismes, ou que l'extrait pourrait nécessiter une concentration plus élevée pour exprimer une activité. Il convient également de rappeler que la concentration de l'extrait aqueux utilisée pour les essais *in vitro* était relativement faible, avec un ratio de 1:10, tandis qu'une concentration plus élevée a été utilisée pour les tests *in vivo*, avec un ratio de 1:6. Cette différence pourrait également expliquer l'absence d'activité antimicrobienne observée *in vitro* dans notre étude. Plusieurs facteurs pourraient affecter l'activité antibactérienne des extraits aqueux, notamment l'origine de la plante et les méthodes d'extraction. L'extrait aqueux selon certains auteurs présente généralement peu ou pas d'activité antimicrobienne par rapport aux extraits non-polaires ceci pourrait être dû à une solubilité plus faible des

composés bioactifs à activité antimicrobienne dans les solvants polaires par rapport aux solvants non-polaires (Bhattacharjee et al. 2011 ; Pakdel et al., 2017). De plus, les conditions expérimentales, les méthodes d'extraction et les souches microbiennes testées peuvent varier considérablement d'une étude à l'autre, ce qui pourrait expliquer les différences observées par rapport à l'espèce *Hedera helix*, soulignant ainsi la nécessité de considérer les variations interspécifiques et méthodologiques lors de l'interprétation des résultats. Ces divergences mettent en lumière la complexité des propriétés biologiques des plantes du genre *Hedera* et la nécessité de poursuivre les recherches pour mieux comprendre les facteurs influençant leurs activités antimicrobiennes.

Prise dans leur ensemble, ces observations renforcent l'intérêt porté à *Hedera algeriensis* en tant que source naturelle de composés bioactifs. En effet, les résultats obtenus mettent en évidence la richesse phytochimique de l'extrait aqueux, notamment en composés phénoliques aux propriétés biologiques variées. Au-delà de son potentiel inhibiteur sur plusieurs enzymes clés impliquées dans des maladies neurodégénératives et métaboliques, telles que la maladie d'Alzheimer et le diabète de type II, et de son modeste effet antifongique, l'extrait présente également une activité antioxydante significative. Ces données soutiennent l'intérêt pharmacologique de cette plante et justifient des investigations approfondies en vue de sa valorisation comme agent thérapeutique naturel, notamment dans les pathologies chroniques où l'inflammation et le stress oxydatif jouent un rôle central, à l'instar de l'asthme allergique. C'est dans cette perspective qu'une seconde phase expérimentale a été entreprise afin d'évaluer les effets préventifs de l'extrait d'*H. algeriensis* dans un modèle d'asthme allergique induit.

#### **Effets *in vivo* dans un modèle d'asthme expérimental**

Pour explorer les effets de *Hedera algeriensis* dans un modèle expérimental d'asthme, une attention particulière a été portée en premier lieu aux variations de poids corporel et aux modifications morphométriques d'organes, indicateurs clés d'une atteinte systémique ou inflammatoire. Ainsi, l'exposition à l'ovalbumine (OVA) a induit une perte pondérale significative chez les animaux sensibilisés par rapport aux témoins. Cette diminution pourrait résulter d'une réponse inflammatoire systémique, d'une réduction de l'appétit ou d'une augmentation de la dépense énergétique associée à l'état inflammatoire chronique de l'asthme allergique, comme l'ont montré Kim et al. (2011) et Wouters (2000). L'administration d'*Hedera algeriensis*, de prednisolone ou d'imiquimod a également réduit le poids corporel, possiblement par des effets métaboliques, une perte d'appétit ou l'amertume de la plante. La prednisolone peut altérer l'équilibre énergétique (Bray, 2000), tandis que l'imiquimod peut

engendrer un malaise diminuant l'ingestion alimentaire (Mutz et al., 2017). Les rats exposés à l'OVA ont montré une augmentation significative du poids relatif des poumons, indicative d'un œdème pulmonaire et d'une accumulation de mucus, conforme aux observations d'El-Kashef (2018) et Zemmouri et al. (2017). Ce phénomène correspond aux caractéristiques classiques de l'asthme allergique avec inflammation et infiltration cellulaire (Temelkovski et al., 1998). Une hausse du poids relatif des reins a également été constatée, pouvant refléter une inflammation ou une rétention hydrique secondaire (Holgate, 2012). En revanche, les traitements par l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*, l'imiquimod ou la prednisolone ont significativement diminué les poids relatifs des poumons, reins et foie, suggérant une atténuation des processus inflammatoires et œdémateux induits par l'OVA. Enfin, le poids relatif de la rate est resté stable, indiquant l'absence d'impact morphologique notable sur cet organe lymphoïde, que ce soit par la sensibilisation ou les traitements.

Au-delà des altérations morphométriques observées, nous avons approfondi notre analyse en étudiant les paramètres hématologiques et cellulaires associés à la réponse inflammatoire systémique et locale. Ces analyses ont porté sur les populations cellulaires circulantes et broncho-alvéolaires afin de caractériser l'impact de la sensibilisation à l'ovalbumine et l'effet des différents traitements sur les profils leucocytaires, érythrocytaires et plaquettaires. C'est ainsi que nous avons observé une augmentation significative du nombre total de leucocytes (WBC), granulocytes, lymphocytes et monocytes dans le sang et le liquide de lavage broncho-alvéolaire des rats sensibilisés par rapport aux témoins, en accord avec Kandhare et al. (2013). Cette réponse inflammatoire caractéristique de l'asthme allergique a également été décrite chez l'homme par Adamko et al. (2003), ainsi que dans des modèles animaux (Boskabady et al., 2010; Thakur et al., 2019). Le traitement par l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*, comparable à l'imiquimod et à la prednisolone, a significativement réduit ce recrutement cellulaire inflammatoire dans le sang et le liquide du LBA, confirmant ainsi un effet anti-inflammatoire potentiel de ces approches thérapeutiques. Par ailleurs, une augmentation du nombre de globules rouges (RBC) a été observée chez les rats sensibilisés, possiblement due à l'hypoxie liée au rétrécissement des voies respiratoires, stimulant l'érythropoïèse compensatoire (Vosooghi et al., 2013). Ce phénomène a été atténué par les traitements étudiés, suggérant une amélioration de la fonction respiratoire. De plus, une diminution du volume corpusculaire moyen (MCV) et du taux d'hémoglobine (Hb) dans le groupe OVA est cohérente avec une anémie inflammatoire rapportée dans ce type de pathologie (Chekchaki, 2017). Enfin, le nombre de plaquettes, qui jouent un rôle clé dans l'inflammation allergique via les récepteurs IgE et la libération de médiateurs comme la sérotonine et le CCL5, a été

augmenté chez les rats sensibilisés (Turkalj & Banic, 2019). Chez des modèles murins d'asthme, les plaquettes sensibilisées migrent vers les poumons et contribuent activement à la réponse inflammatoire (Turkalj & Banic, 2019). L'atténuation de cette thrombocytose par l'extrait d'*Hedera algeriensis*, l'imiquimod et la prednisolone soutient l'existence d'un effet anti-inflammatoire puissant, susceptible d'améliorer l'intégrité de la barrière épithéliale et de limiter la progression de l'inflammation.

Outre les altérations hématologiques qui traduisent une activation systémique de l'inflammation, l'asthme allergique implique également un déséquilibre profond des médiateurs immunitaires et pro-inflammatoires. Il est donc essentiel de souligner le rôle des médiateurs pro-inflammatoires dans la pathogenèse de l'asthme, tels que le TNF- $\alpha$  et le NO. En effet, ce dernier joue un rôle pro-inflammatoire crucial dans l'asthme, notamment au niveau de la muqueuse des voies respiratoires (Ricciardolo, 2003). Dans notre étude, nous avons observé une augmentation significative du NO dans les poumons, le foie, les reins et la rate des rats sensibilisés à l'ovalbumine (OVA), comparativement aux témoins. Cette élévation concorde avec les résultats rapportés par Moon et al. (2008). Selon Prado et al. (2011), des concentrations élevées de NO peuvent entraîner une vasodilatation, une fuite plasmatique, une sécrétion excessive de mucus et une activation indirecte des cellules Th2, notamment via le recrutement des éosinophiles. L'administration de prednisolone, d'Imiquimod et de l'extrait de *Hedera algeriensis* a permis d'atténuer significativement l'inflammation asthmatique induite par l'OVA, parallèlement à une inhibition marquée de la production de NO. En plus de l'implication du NO dans la réponse inflammatoire asthmatique, un autre médiateur clé attire l'attention par son rôle central dans l'orchestration de l'inflammation : le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ). Ce dernier s'intègre dans un réseau cytokinaire où les réponses Th2 dominantes, soutenues par des interactions avec les cytokines Th1, favorisent la production d'IgE et l'amplification de l'inflammation allergique (Luo et al., 2022). Des études antérieures ont démontré que les macrophages alvéolaires de patients asthmatiques sécrètent du TNF- $\alpha$  en réponse à l'ovalbumine. Cette cytokine pro-inflammatoire est impliquée dans plusieurs affections respiratoires chroniques, dont la BPCO et l'asthme bronchique. Son élévation reflète donc son implication directe dans la progression de ces maladies (Kubysheva et al., 2020). Dans notre modèle expérimental, nous avons relevé une augmentation significative des taux de TNF- $\alpha$  dans le tissu pulmonaire des rats exposés à l'OVA. Ces résultats sont en accord avec ceux de Khazdair et al. (2019), Shakerinasab et al. (2022) et Ayakannu et al. (2019), qui mettent en évidence l'implication du TNF- $\alpha$  dans le développement et la régulation de l'asthme. Ce médiateur contribuerait notamment à la

migration des cellules inflammatoires vers les voies respiratoires, ainsi qu'à l'induction de molécules d'adhésion et de protéines pro-inflammatoires (Rana et al., 2016). Par ailleurs, Jin et al. (2006) ont montré que l'Imiquimod réduit l'infiltration lymphocytaire induite par l'OVA dans les voies respiratoires et diminue l'hyperréactivité bronchique, en inhibant les cytokines Th2 tout en favorisant la réponse Th1. Dans notre étude, *Hedera algeriensis* et l'Imiquimod ont également montré une efficacité comparable. Tous deux ont induit une réduction significative de la libération de TNF- $\alpha$  dans le tissu pulmonaire, traduisant une modulation immunitaire favorable, avec une atténuation de la réponse Th2 et une diminution de l'inflammation dans notre modèle murin d'asthme.

Par ailleurs, l'examen histopathologique des poumons corrobore l'inflammation sévère observée dans le groupe OVA, avec infiltrat inflammatoire massif, congestion et hyperplasie des cellules caliciformes. La réduction marquée de ces lésions dans les groupes traités, notamment avec l'extrait d'*Hedera algeriensis*, illustre l'atténuation de la réponse inflammatoire bronchique, en accord avec les marqueurs systémiques mesurés.

Au-delà de la sphère locale des médiateurs pulmonaires tels que le NO et le TNF- $\alpha$ , et du tissu pulmonaire en lui-même, l'asthme induit également une réponse inflammatoire systémique qui mérite d'être examinée. Dans cette perspective, l'évaluation de biomarqueurs circulants comme les gammaglobulines et la protéine C-réactive (CRP) permet d'appréhender l'ampleur de l'inflammation systémique induite par la sensibilisation allergénique. L'analyse électrophorétique des protéines sériques a révélé une augmentation significative du pourcentage de gammaglobulines chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine, par rapport aux témoins. Cette élévation traduit une stimulation de la réponse immunitaire humorale, associée à une production accrue d'immunoglobulines E spécifiques dirigées contre l'antigène (Doorley et al., 2017). Ce résultat concorde avec les caractéristiques de l'inflammation chronique des voies respiratoires, marquées par l'activation des lymphocytes B et leur différenciation en plasmocytes, entraînant une sécrétion exacerbée d'anticorps (Feldman et al., 2017). En revanche, les traitements administrés, à savoir l'imiquimod et l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis*, ont permis de réduire significativement ce taux de gammaglobulines, suggérant une modulation de la réponse immunitaire, avec inhibition partielle de la production d'anticorps. Cette modulation témoigne d'un effet immunosuppresseur et/ou anti-inflammatoire des traitements, confirmant leur efficacité à atténuer l'inflammation systémique induite par la sensibilisation à l'ovalbumine.

L'inflammation bronchique induite par la sensibilisation allergénique a également entraîné une augmentation significative de la CRP sérique dans le groupe OVA, en comparaison au

groupe témoin. La CRP, marqueur bien établi de l'inflammation et des lésions tissulaires (AL-Daami, 2020), s'élève dans des contextes inflammatoires chroniques, comme l'ont également rapporté Al-Hindy et al. (2021), Kumar et al. (2023) et Bazan-Socha et al. (2022). Cette élévation pourrait aggraver les lésions pulmonaires existantes. Par ailleurs, l'augmentation de la CRP peut être interprétée comme une conséquence directe de l'inflammation systémique dans l'asthme. Le tissu pulmonaire endommagé pourrait aussi constituer une source de signaux persistants stimulant sa production, impliquant ainsi la CRP dans le maintien de l'état inflammatoire (Monadi et al., 2016).

Une réduction de la CRP sérique, observée notamment sous prednisolone, traduit un retour vers un état physiologique normal. De manière similaire, une diminution hautement significative de la CRP a été observée chez les rats traités avec l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et l'imiquimod, même en présence de la sensibilisation allergénique. Ces résultats soutiennent l'hypothèse d'une action anti-inflammatoire des composés bioactifs présents dans *Hedera algeriensis*. Chez *Hedera helix*, espèce proche, les flavonoïdes, composés phénoliques, polyacétylènes et saponosides sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes.

Après avoir examiné les modifications des paramètres inflammatoires systémiques, reflétant l'état immunitaire via les  $\gamma$ -globulines et la CRP, nous avons élargi notre analyse aux altérations des fonctions hépatique et rénale. L'ovalbumine, utilisée dans notre modèle comme allergène de référence, induit une réponse immunitaire de type Th2 caractéristique de l'asthme, avec production de cytokines pro-inflammatoires pouvant entraîner des effets systémiques au-delà du tissu pulmonaire. En effet, le foie, organe à forte immunotolérance en raison de sa micro-architecture et de sa composition cellulaire spécialisée, est également exposé à ces médiateurs inflammatoires via la circulation systémique. Une inflammation chronique, même d'origine extra-hépatique, peut ainsi perturber l'axe intestin-foie et provoquer des lésions hépatiques (Wiest et al., 2017 ; Zheng & Tian, 2019). C'est dans cette optique que nous avons évalué l'impact de la sensibilisation à l'ovalbumine, ainsi que l'éventuel effet protecteur de l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et de l'imiquimod, à travers la mesure de biomarqueurs hépatiques (ALT, AST, PAL) et une étude histopathologique du foie. Les résultats montrent que, dans le groupe OVA, les taux sériques de ces enzymes étaient significativement augmentés, accompagnés d'une altération marquée de l'architecture hépatique par rapport au groupe témoin. Ces observations concordent avec celles de Jia et al. (2023) et Khaldi et al. (2022), et confirment que l'inflammation induite par l'ovalbumine peut entraîner une élévation de ces enzymes, marqueurs fiables de toxicité

hépatique (Singh et al., 2011). Par ailleurs, une élévation de ces enzymes a été associée à la sévérité de l'asthme, en lien avec une altération du transport de l'oxygène et une hypoxie hépatique (Iribarren et al., 2001). En revanche, les groupes traités par la prednisolone, l'imiquimod ou l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* ont montré une amélioration significative des taux d'ALT, AST et PAL, ainsi qu'une restauration quasi normale de l'architecture hépatique (réduction de l'inflammation, moindre congestion vasculaire, sinusoides faiblement dilatés, absence notable d'anomalies cellulaires), suggérant une activité hépatoprotectrice. La plupart des protéines sériques, dont l'albumine, étant synthétisées par le foie, l'évaluation de la protéinémie permet de distinguer une fonction hépatique normale d'un dysfonctionnement (Kennelly et al., 2015). Dans notre étude, la sensibilisation à l'ovalbumine a entraîné une augmentation des taux sériques d'albumine, en accord avec les résultats de Nair & Prabhavalkar (2021b). Ces résultats biochimiques sont étayés par les observations histopathologiques hépatiques, montrant, chez les rats sensibilisés à l'ovalbumine, une congestion hépatique, un élargissement des sinusoides et un infiltrat inflammatoire dense. Ces altérations sont nettement atténuées dans les groupes traités, en particulier avec l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* et l'imiquimod, confirmant leur effet protecteur au niveau hépatique.

Sur le plan rénal, une augmentation hautement significative de la créatinine et de l'urée sériques a été observée dans le groupe OVA, accompagnée de lésions tissulaires rénales. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Abdelmawgood et al. (2023). L'élévation de ces biomarqueurs traduit un dysfonctionnement rénal, secondaire à l'inflammation systémique (Small et al., 2013), et constitue un indicateur classique d'insuffisance rénale (Liu et al., 2013). Il est bien établi que l'asthme peut être associé à des complications rénales, un concept évoqué par le terme « asthme rénal ». Lors des crises aiguës, l'augmentation de l'effort respiratoire et l'hypoxie qui en résulte peuvent provoquer une rhabdomyolyse, une déshydratation, et donc une insuffisance rénale aiguë (Ejaz et al., 2017). L'analyse histologique rénale confirme également les lésions induites par la sensibilisation à l'ovalbumine, avec présence d'infiltrats inflammatoires lymphocytaires, d'atrophie glomérulaire et de congestion. À l'instar des observations hépatiques, les traitements, notamment ceux combinés à *Hedera algeriensis* ou à l'imiquimod, permettent de limiter ces dommages, traduisant une restauration partielle de l'architecture rénale.

Ainsi, nos résultats suggèrent que l'imiquimod et l'extrait aqueux de *Hedera algeriensis* possèdent un potentiel hépato- et néphroprotecteur, en maintenant les niveaux normaux des biomarqueurs hépatiques et rénaux et en préservant l'intégrité histologique du foie et des

reins. Ces effets protecteurs sont appuyés par les travaux de Ali et al. (2022), qui ont démontré les propriétés hépatoprotectrices de l'extrait de feuilles de lierre dans un modèle d'hépatotoxicité induite par l'isoniazide chez le lapin, ainsi que par ceux de Moshai-Nezhad et al. (2019a), ayant montré l'effet protecteur de ce même extrait contre la néphrotoxicité induite par le paracétamol chez la souris.

L'asthme se caractérise par une inflammation chronique des voies respiratoires, impliquant l'infiltration de leucocytes, notamment les éosinophiles et les neutrophiles, qui libèrent des médiateurs cytotoxiques, enzymes protéolytiques et espèces réactives de l'oxygène (ROS), aggravant les lésions bronchiques (Bloemen et al., 2007 ; Prussin and Metcalfe, 2006 ; Pearlman, 1999). Cette cascade inflammatoire crée un microenvironnement propice au stress oxydatif, dont le rôle dans la dégradation tissulaire et les dysfonctionnements cellulaires est désormais bien établi. Le stress oxydatif, en induisant des altérations biomoléculaires via l'accumulation de ROS, est reconnu comme un acteur clé dans la physiopathologie de l'asthme (Adam-Bonci et al., 2021). Plusieurs études ont mis en évidence un déséquilibre oxydant/antioxydant chez les asthmatiques, marqué par une élévation des produits de peroxydation lipidique et des carbonyles protéiques (Ajayi et al., 2022).

Afin de mieux caractériser l'implication du stress oxydatif dans notre modèle expérimental d'asthme, nous avons évalué plusieurs biomarqueurs clés du déséquilibre redox, permettant d'apprécier l'ampleur des dommages oxydatifs induits et l'effet potentiel des traitements sur la restauration de l'homéostasie cellulaire.

Dans notre étude, nous avons observé une augmentation marquée de la concentration de MDA, indicateur de la peroxydation lipidique, dans le foie, les poumons, les reins et la rate des rats sensibilisés à l'ovalbumine (OVA), comparativement au groupe contrôle, ce qui est conforme aux données rapportées dans la littérature (Ahmad et al., 2022 ; Moshai-Nezhad et al., 2019b ; Rouibah et al., 2022). Ces élévations pourraient indiquer une oxydation des lipides et des dommages aux membranes cellulaires dans les tissus pulmonaires, hépatiques, rénaux et spléniques, associés à une diminution de la capacité antioxydante endogène (Jedli et al., 2022). En effet, la formation de ROS induite par l'ovalbumine peut déclencher l'oxydation des lipides et des protéines, entraînant la formation de peroxydes lipidiques et de carbonyles protéiques, responsables de lésions de l'endothélium vasculaire. Ce mécanisme est considéré comme un événement clé dans le développement de l'athérosclérose, exposant ainsi les patients asthmatiques à un risque accru de complications cardiovasculaires (Al-Harbi et al., 2015). Nos résultats montrent effectivement une augmentation significative des niveaux de PCO (carbonyles protéiques) et d'AOPP (produits finaux de l'oxydation des protéines)

dans les homogénats de foie, rein, poumon et rate chez les rats du groupe OVA. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Tokac et al. (2017) et Khaldi et al. (2018). L'administration d'*Hedera algeriensis*, d'imiquimod ou de prednisolone (Pred) aux rats sensibilisés a permis de réduire significativement les niveaux de MDA, PCO et AOPP, en atténuant les lésions tissulaires induites par les ROS. Cette protection est attribuée à la richesse en composés phénoliques de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*, susceptibles d'inhiber la formation des produits oxydés des lipides et des protéines.

Par ailleurs, les cellules pulmonaires, hépatiques, rénales et spléniques disposent de multiples systèmes de défense antioxydante. Ceux-ci comprennent des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion S-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPx), ainsi que des composants non enzymatiques, dont le glutathion réduit (GSH), principal thiol intracellulaire non protéique. Le GSH et la catalase jouent un rôle essentiel dans l'atténuation de la fibrose et des lésions cellulaires pulmonaires chez les patients asthmatiques (Rogers et Cismowski, 2018). Selon Martínez-Martos et al. (2014), le GSH est un antioxydant biologique majeur qui inhibe la formation de radicaux libres, et sa diminution reflète généralement une élévation du stress oxydatif.

Dans notre étude, une baisse significative des concentrations de GSH a été observée dans le groupe OVA, probablement en lien avec son épuisement secondaire à la peroxydation lipidique et à la production excessive de ROS (Xiao et al., 2022). Ce déficit en GSH pourrait activer la voie NF- $\kappa$ B, un facteur central dans les maladies inflammatoires respiratoires et la surexpression des gènes pro-inflammatoires (Usmani et al., 2023). Toutefois, une amélioration significative des niveaux de GSH a été notée dans les groupes traités par l'extrait d'*Hedera algeriensis*, l'imiquimod et la prednisolone.

La SOD et la catalase sont également des enzymes essentielles pour la neutralisation des ROS. La SOD convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, que la catalase décompose ensuite en eau et en oxygène, protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif (Nantapong et al., 2019). Nos résultats, en accord avec ceux de Benetti et al. (2013), montrent une diminution significative de l'activité de la SOD et de la catalase dans les poumons, le foie, les reins et la rate des rats sensibilisés, comparativement aux témoins, ce qui est également cohérent avec les travaux de Ezz-Eldin et al. (2020).

Par ailleurs, la GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en oxydant le GSH en GSSG, tandis que la GST participe à la détoxification cellulaire en catalysant la conjugaison du GSH avec les composés électrophiles (Ajayi et al., 2022). Dans notre étude, une diminution de l'activité de la GPx et de la GST a été constatée dans les tissus étudiés du

groupe OVA par rapport au groupe témoin. Ces observations rejoignent celles de Min-Chang et al. (2014) et Abdelmawgood et al. (2023), confirmant que l'exposition à l'ovalbumine induit un stress oxydatif important, comme en témoigne la réduction significative de l'activité des enzymes antioxydantes et du taux de GSH dans les tissus pulmonaires, hépatiques, rénaux et spléniques.

L'administration de prednisolone a permis d'atténuer ce stress oxydatif, comme cela a été rapporté dans des modèles murins d'asthme allergique avec d'autres corticostéroïdes tels que la dexaméthasone (Ito et al., 2008). Toutefois, l'administration d'*Hedera algeriensis* et d'imiquimod s'est révélée également efficace en améliorant significativement les niveaux de GSH et l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, GST, SOD, CAT).

Des recherches antérieures ont identifié l' $\alpha$ -hederine et l'héderacoside C comme principaux métabolites actifs des extraits de lierre (Shawky et El Sohafy, 2020). Toutefois, dans notre étude, l'effet protecteur observé pourrait être attribué à la richesse de notre extrait aqueux en composés phytochimiques, notamment l'acide quinique, constituant majoritaire, reconnu pour ses propriétés antioxydantes (Aydemir et al., 2024) et anti-inflammatoires (Yilmaz et al., 2023). De plus, l'acide protocatéchique a été démontré comme capable d'augmenter l'activité de la GPx et de la catalase, tout en réduisant les niveaux de MDA (Kakkar et Bais, 2014). D'autres composés présents dans l'extrait, tels que l'acide chlorogénique, l'astragaline, l'acide p-coumarique, la rutine, l'isoquercitrine, l'acide caféique et la naringénine, possèdent également des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

Par ailleurs, Nadeem et al. (2016) ont rapporté des résultats similaires à ceux de notre étude : l'administration intranasale d'un ligand synthétique du TLR-7 a réduit l'inflammation et l'hyperréactivité des voies respiratoires en stimulant la défense antioxydante via le facteur nucléaire Nrf2, en réponse à la production excessive de ROS, activant notamment les voies Nrf2-Cu/Zn SOD.

Afin d'explorer les relations potentielles entre les marqueurs du stress oxydatif et les indicateurs de l'inflammation, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée à partir de l'ensemble des données recueillies. Cette approche multivariée a permis de révéler une corrélation significative entre l'intensité du stress oxydatif et les niveaux des biomarqueurs inflammatoires mesurés dans le tissu pulmonaire, le sang et le liquide de lavage broncho-alvéolaire (BALF). Ce résultat corrobore les observations de Bazan-Socha et al. (2022), qui ont mis en évidence une association entre la réponse systémique au stress oxydatif dans l'asthme et la gravité de la maladie, la fonction pulmonaire, les marqueurs de

remodelage des voies respiratoires, ainsi que les biomarqueurs inflammatoires sanguins et broncho-alvéolaires.

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a évalué l'effet de *Hedera algeriensis* dans un modèle d'asthme allergique, ni caractérisé son profil moléculaire bioactif de manière aussi détaillée. Notre étude met en évidence cinq composés bioactifs jamais rapportés auparavant dans le genre *Hedera*. Bien que ces composés soient connus dans d'autres plantes pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, immunomodulatrices et antiallergiques (Yilmaz et al., 2023 ; Ekinçi Akdemir et al., 2016 ; Boğa et al., 2016 ; Zhang et al., 2021), leur identification dans *Hedera algeriensis* est inédite. Nos résultats démontrent que *Hedera algeriensis*, tout comme l'imiquimod, exerce un effet protecteur significatif contre l'inflammation pulmonaire, le stress oxydatif et les médiateurs immunologiques (TNF- $\alpha$ ) chez les animaux sensibilisés. L'effet anti-inflammatoire et antioxydant de *Hedera algeriensis* s'est révélé équivalent, voire supérieur, à celui de la prédnisolone, suggérant ainsi un potentiel thérapeutique prometteur dans le traitement de l'asthme allergique.

---

## *Conclusion et perspectives*

---

### Conclusion et perspectives

Cette étude s'inscrit dans la continuité de nos travaux sur la phytothérapie appliquée à un modèle expérimental d'asthme allergique validé dans la littérature, que nous adoptons au sein de notre laboratoire de recherche (LBTE). Elle met en lumière le potentiel thérapeutique d'une espèce locale dans la gestion des maladies inflammatoires chroniques, et notamment de l'asthme.

Il est important de souligner que l'espèce *Hedera algeriensis*, dont l'épithète spécifique rappelle son origine algérienne, fait partie intégrante du patrimoine végétal national. Sa valorisation dans un contexte thérapeutique renforce l'intérêt de la recherche endogène et du développement de solutions naturelles issues de la biodiversité locale.

Cette étude représente donc la première investigation approfondie des propriétés phytochimiques et bioactives de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis*. Grâce à une méthode LC-MS/MS rigoureusement validée, nous avons identifié 15 composés phytochimiques, dont cinq n'avaient jamais été détectés auparavant dans le genre *Hedera* : l'hespéridine, l'acide fumarique, l'aldéhyde protocatéchique, l'acide salicylique et la daidzine. La richesse de l'extrait en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés explique ses propriétés antioxydantes, neuroprotectrices, antidiabétiques et inhibitrices d'enzymes (tyrosinase, AChE, BChE,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase), confirmant ainsi son potentiel thérapeutique. Dans un modèle expérimental d'asthme allergique induit par l'ovalbumine chez le rat Wistar, nous avons comparé les effets préventifs de l'extrait aqueux d'*Hedera algeriensis* à ceux de l'immunothérapie par imiquimod (agoniste du TLR7) et de la prednisolone (traitement de référence). Les résultats ont montré que l'extrait d'*Hedera algeriensis* et l'imiquimod atténuent significativement l'inflammation et le stress oxydatif, comme en témoignent la réduction des biomarqueurs oxydatifs, l'augmentation des enzymes antioxydantes, la diminution des niveaux de TNF- $\alpha$  dans les tissus pulmonaires, ainsi que la normalisation des paramètres biochimiques et histologiques au niveau hépatique, rénal et pulmonaire. Ces effets, confirmés par l'analyse histologique, sont comparables à ceux de la prednisolone et de l'imiquimod, suggérant que *Hedera algeriensis* pourrait constituer une alternative naturelle prometteuse pour le traitement de l'asthme allergique.

## Conclusion et perspectives

---

Les perspectives futures incluent l'exploration des mécanismes moléculaires de l'extrait d'*Hedera algeriensis* via l'étude de l'expression des gènes inflammatoires et antioxydants (NF- $\kappa$ B, cytokines) par RT-qPCR. L'étude d'autres activités biologiques *in vitro* et l'optimisation des formulations (nanoparticules, microencapsulation) pourraient améliorer son efficacité. Enfin, la validation dans des modèles précliniques avancés, suivie d'essais cliniques, sera essentielle pour confirmer son potentiel thérapeutique.

---

## *Références bibliographiques*

---

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aaron, S.D., Vandemheen, K.L., FitzGerald, J.M., Ainslie, M., Gupta, S., Lemiere, C., Field, S.K., McIvor, R.A., Hernandez, P., Mayers, I., Mulpuru, S., Alvarez, G.G., Pakhale, S., Mallick, R., Boulet, L.P., Canadian Respiratory Research, N., 2017. Reevaluation of Diagnosis in Adults With Physician-Diagnosed Asthma. *JAMA* 317, 269-279.
- Abdelmawgood, I.A., Mahana, N.A., Badr, A.M., Mohamed, A.S., Al Shawoush, A.M., Atia, T., Abdelrazak, A.E., Sakr, H.I., 2023. Echinochrome Ameliorates Physiological, Immunological, and Histopathological Alterations Induced by Ovalbumin in Asthmatic Mice by Modulating the Keap1/Nrf2 Signaling Pathway. *Mar Drugs* 21, 455.
- Ackerfield, J., Wen, J., 2002. A morphometric analysis of *Hedera L.* (the ivy genus, Araliaceae) and its taxonomic implications. *J Adansonia* 24, 197-212.
- Adam-Bonci, T.I., Bonci, E.A., Parvu, A.E., Herdean, A.I., Mot, A., Taulescu, M., Ungur, A., Pop, R.M., Bocsan, C., Irimie, A., 2021. Vitamin D Supplementation: Oxidative Stress Modulation in a Mouse Model of Ovalbumin-Induced Acute Asthmatic Airway Inflammation. *Int J Mol Sci* 22, 7089.
- Adamko, D., Odemuyiwa, S.O., Moqbel, R., 2003. The eosinophil as a therapeutic target in asthma: beginning of the end, or end of the beginning? *J Current opinion in pharmacology* 3, 227-232.
- Adner, M., Starkhammar, M., Georen, S.K., Dahlen, S.E., Cardell, L.O., 2013. Toll-like receptor (TLR) 7 decreases and TLR9 increases the airway responses in mice with established allergic inflammation. *Eur J Pharmacol* 718, 544-551.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro, In: *Methods in enzymology*. Elsevier, 121-126.
- Ahchouch, H., Al-Moubaraki, A.H., Noor, E.A., Hadfi, A., Driouiche, A., Bammou, L., Belkhaouda, M.h., Salghi, R., Chafiq, M., Chaouiki, A., (2024). From Nature to Protection: Unleashing the Protective Potential of *Hedera Helix* Leaves against Corrosion in Harsh Acidic Environments using Experimental and Theoretical Insights. *Arabian Journal of Chemistry* 17, 105593.
- Ahmad, S.B., Rashid, S.M., Wali, A.F., Ali, S., Rehman, M.U., Maqbool, M.T., Nadeem, A., Ahmad, S.F., Siddiqui, N., 2022. Myricetin (3,3',4',5,5',7-hexahydroxyflavone) prevents ethanol-induced biochemical and inflammatory damage in the liver of Wistar rats. *Hum Exp Toxicol* 41, 9603271211066843.
- Ahmida, M., Zadam, M.H., Boumendje, A., Messarah, M., Moncef, Z., Hocine, D., Bensouici, C., Boumendjel, M., 2024. UPLC-MS/MS Analysis and Evaluation of the Photoprotective, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Enzymatic Properties of Ethyl Acetate and n-Butanol Fractions from Algerian *Juniperus oxycedrus L.* Leaves. *Tropical Journal of Natural Product Research* 8.
- Ajayi, B.O., Olajide, T.A., Olayinka, E.T.J., 2022. 6-gingerol attenuates pulmonary inflammation and oxidative stress in mice model of house dust mite-induced asthma. *Advances in Redox Research* 5, 100036.
- Ak, G., Zengin, G., Sinan, K.I., Mahomoodally, M.F., Picot-Allain, M.C.N., Cakır, O., Bensari, S., Yılmaz, M.A., Gallo, M., Montesano, D., 2020. A comparative bio-evaluation and

## Références bibliographiques

---

- chemical profiles of *Calendula officinalis* L. extracts prepared via different extraction techniques. *Applied sciences* 10, 5920.
- Akdis, C.A., Arkwright, P.D., Bruggen, M.C., Busse, W., Gadina, M., Guttman-Yassky, E., Kabashima, K., Mitamura, Y., Vian, L., Wu, J., Palomares, O., 2020. Type 2 immunity in the skin and lungs. *Allergy* 75, 1582-1605.
- Akdis, M., Aab, A., Altunbulakli, C., Azkur, K., Costa, R.A., Cramer, R., Duan, S., Eiwegger, T., Eljaszewicz, A., Ferstl, R., 2016. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor  $\beta$ , and TNF- $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Journal of Allergy Clinical Immunology* 138, 984-1010.
- AL-Daami, H.S.B., Ghada Hamid Naji, Hayder Abdul- Amir Makki AL-Hindy 2020. High-sensitivity C-Reactive protein assessment in bronchial asthma: Impact of exhaled Nitric Oxide and body mass index. *Sys Rev Pharm* 11, 705-711.
- Al-Harbi, N.O., Nadeem, A., Al-Harbi, M.M., Imam, F., Al-Shabanah, O.A., Ahmad, S.F., Sayed-Ahmed, M.M., Bahashwan, S.A., 2015. Oxidative airway inflammation leads to systemic and vascular oxidative stress in a murine model of allergic asthma. *Int Immunopharmacol* 26, 237-245.
- Al-Hindy, H.A.-A.M., Al-Athari, A.J.H., Mousa, M.J., Safa, J.H., Obeed, S.H., 2021. The utility of serum IL-1 $\beta$  and CRP together with fractional exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma in adults. *J NeuroQuantology* 19, 119.
- Al-Snafi, A.E., 2018. Pharmacological and therapeutic activities of *Hedera helix*-A review. *J Iosr J. Pharm* 8, 41-53.
- Al Fayez, N., Rouhollahi, E., Ong, C.Y., Wu, J., Nguyen, A., Bottger, R., Cullis, P.R., Witzigmann, D., Li, S.D., 2022. Hepatocyte-targeted delivery of imiquimod reduces hepatitis B virus surface antigen. *J Control Release* 350, 630-641.
- Ali, S., Ali, U., Bangulzai, M.A., Malik, H., Anwer, A., Abbas, M., 2022. Hepatoprotective effects of ivy leaves extract in isoniazid induced hepatotoxicity in rabbits. *Rawal Medical Journal* 47, 494-494.
- Alirezai, M., 2014. Betaine as a methyl donor and an antioxidant agent in levodopa-induced hyperhomocysteinemia and oxidative stress in rat's kidney. *IJVM* 8, 91-99.
- Arevalo, I., Ward, B., Miller, R., Meng, T.C., Najjar, E., Alvarez, E., Matlashewski, G., Llanos-Cuentas, A., 2001. Successful treatment of drug-resistant cutaneous leishmaniasis in humans by use of imiquimod, an immunomodulator. *Clin Infect Dis* 33, 1847-1851.
- Arora, P., Ansari, S., 2019. Role of various mediators in inflammation of asthmatic airways. *J Asthma-Biological Evidences*, 1-14.
- Arora, P., ANSARI, S.H., Nainwal, a.L.M., 2022. *Clerodendrum serratum* extract attenuates production of inflammatory mediators in ovalbumin-induced asthma in rats. *Turkish Journal of Chemistry* 46, 330-341.
- Aryan, Z., Holgate, S.T., Radzioch, D., Rezaei, N., 2014. A new era of targeting the ancient gatekeepers of the immune system: toll-like agonists in the treatment of allergic rhinitis and asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 164, 46-63.
- Asher, M.I., Garcia-Marcos, L., Pearce, N.E., Strachan, D.P., 2020. Trends in worldwide asthma prevalence. *Eur Respir J* 56.
- Ayakannu, R., Abdullah, N.A., Radhakrishnan, A.K., Lechimi Raj, V., Liam, C.K., 2019. Relationship between various cytokines implicated in asthma. *Hum Immunol* 80, 755-763.

## Références bibliographiques

---

- Aydemir, M.E., Takim, K., Yilmaz, M.A., 2024. Characterization of phenolic components of black teas of different origins and the effect of brewing duration on quality properties. *Food Sci Nutr* 12, 494-507.
- Baharfar, R., Rahmani, Z., Mohseni, M., Azimi, R., 2015. Evaluation of the antioxidant and antibacterial properties of ethanol extracts from berries, leaves and stems of *Hedera pastuchovii* Woron. ex Grossh. *Nat Prod Res* 29, 2145-2148.
- Batista, N.V., Pereira, R.V., Noviello, M.L., Dourado, L.P., Perez, D.A., Foureaux, G., Ferreira, A.J., Ferreira, A.V., Cara, D.C., 2014. Prolonged ingestion of ovalbumin diet by sensitized mice improves the metabolic consequences induced by experimental food allergy. *Clin Exp Immunol* 178, 416-427.
- Baumann, M., Baxendale, I.R., 2013. An overview of the synthetic routes to the best selling drugs containing 6-membered heterocycles. *Beilstein J Org Chem* 9, 2265-2319.
- Bazan-Socha, S., Wójcik, K., Olchawa, M., Sarna, T., Pięta, J., Jakięła, B., Soja, J., Okoń, K., Zarychta, J., Zaręba, L., 2022. Increased oxidative stress in asthma—relation to inflammatory blood and lung biomarkers and airway remodeling indices. *J Biomedicines* 10, 1499.
- Bedoret, D., Wallemacq, H., Marichal, T., Desmet, C., Quesada Calvo, F., Henry, E., Closset, R., Dewals, B., Thielen, C., Gustin, P., de Leval, L., Van Rooijen, N., Le Moine, A., Vanderplasschen, A., Cataldo, D., Drion, P.V., Moser, M., Lekeux, P., Bureau, F., 2009. Lung interstitial macrophages alter dendritic cell functions to prevent airway allergy in mice. *J Clin Invest* 119, 3723-3738.
- Bejeshk, M.A., Samareh Fekri, M., Najafipour, H., Rostamzadeh, F., Jafari, E., Rajizadeh, M.A., Masoumi-Ardakani, Y., 2019. Anti-inflammatory and anti-remodeling effects of myrtenol in the lungs of asthmatic rats: Histopathological and biochemical findings. *Allergol Immunopathol (Madr)* 47, 185-193.
- Belkacem-Hanfi, N., Benslama, A., & Gherib, M. (2021). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies respiratoires dans la région de Sétif (Nord-Est Algérien). *PhytoChem & BioSub Journal*, 15(1), 45–56.
- Benetti, L.R., Campos, D., Gurgueira, S.A., Vercesi, A.E., Guedes, C.E., Santos, K.L., Wallace, J.L., Teixeira, S.A., Florenzano, J., Costa, S.K., Muscara, M.N., Ferreira, H.H., 2013. Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo. *Eur J Pharmacol* 698, 463-469.
- Benslama, A., Hanfi, N., & Meddah, B. (2020). Composition phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes médicinales algériennes. *Revue des Sciences Biologiques*, 31(2), 123–134.
- Beyer Jr, W.F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical biochemistry* 161, 559-566.
- Bezruk, I., Marksa, M., Georgiyants, V., Ivanauskas, L., Raudone, L., 2020. Phytogeographical profiling of ivy leaf (*Hedera helix* L.). *J Industrial Crops Products* 154, 112713.
- Bezruk, I., Materiienko, A., Gubar, S., Proskurina, K., Budanova, L., Ivanauskas, L., Georgiyants, V., 2022. Estimation of the influence of the environmental factors on the accumulation of phytochemicals and antioxidant capacity in the ivy leaves (*Hedera helix* L.). *Nat Prod Res* 36, 1014-1019.
- Bhattacharya, J., Westphalen, K. 2016. Macrophage-epithelial interactions in pulmonary alveoli. In: *Seminars in immunopathology*, 461-469.

## Références bibliographiques

---

- Bloemen, K., Verstraelen, S., Van Den Heuvel, R., Witters, H., Nelissen, I., Schoeters, G., 2007. The allergic cascade: review of the most important molecules in the asthmatic lung. *J Immunology letters* 113, 6-18.
- Boğa, M., Alkan, H., Ertaş, A., Oral, E.V., Yılmaz, M.A., Yeşil, Y., Gören, A.C., Temel, H., Kolak, U., 2016. Phytochemical profile and some biological activities of three *Centaurea* species from Turkey. *J Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 15, 1865-1875.
- Boldogh, I., Bacsi, A., Choudhury, B.K., Dharajiyi, N., Alam, R., Hazra, T.K., Mitra, S., Goldblum, R.M., Sur, S., 2005. ROS generated by pollen NADPH oxidase provide a signal that augments antigen-induced allergic airway inflammation. *The Journal of clinical investigation* 115, 2169-2179.
- Boskabady, M.H., Eslamizade, M.J., Tabatabaei, A., Nemati, H., Mansouri, F., 2010. [Effect of inhaled fluticasone on lung inflammation administered during and after guinea pig sensitization]. *Arch Bronconeumol* 46, 215-222.
- Bouaziz, M., Jemai, H., Khabou, W., Sayadi, S., 2010. Oil content, phenolic profiling and antioxidant potential of Tunisian olive drupes. *J Sci Food Agric* 90, 1750-1758.
- Boumendjel, A., Tawk, L., Malefijt Rde, W., Boulay, V., Yssel, H., Pene, J., 2006. IL-27 induces the production of IgG1 by human B cells. *Eur Cytokine Netw* 17, 281-289.
- Bradding, P., Porsbjerg, C., Cote, A., Dahlen, S.E., Hallstrand, T.S., Brightling, C.E., 2024. Airway hyperresponsiveness in asthma: the role of the epithelium. *J Allergy Clin Immunol*.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72, 248-254.
- Brussell, D.E., 2004. Medicinal plants of mt. Pelion, greece. *J Economic Botany* 58, S174-S202.
- Buege, J.A., Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation, In: *Methods in enzymology*. Elsevier, 302-310.
- Busse, W.W., Kraft, M., Rabe, K.F., Deniz, Y., Rowe, P.J., Ruddy, M., Castro, M., 2021. Understanding the key issues in the treatment of uncontrolled persistent asthma with type 2 inflammation. *Eur Respir J* 58.
- Cai, Z., Li, L., 2023. Anti-asthmatic Activity of Liriodendrin Against Ovalbumin-Induced Asthma in Mice via Attenuating TNF- $\alpha$ . *J Revista Brasileira de Farmacognosia* 33, 936-944.
- Caruso, G., Godos, J., Privitera, A., Lanza, G., Castellano, S., Chillemi, A., Bruni, O., Ferri, R., Caraci, F., Grosso, G., 2022. Phenolic acids and prevention of cognitive decline: Polyphenols with a neuroprotective role in cognitive disorders and Alzheimer's disease. *Nutrients* 14, 819.
- Chang, S.H., Lin, P.Y., Wu, T.K., Hsu, C.S., Huang, S.W., Li, Z.Y., Liu, K.T., Kao, J.K., Chen, Y.J., Wong, T.W., Wu, C.Y., Shieh, J.J., 2022. Imiquimod-induced ROS production causes lysosomal membrane permeabilization and activates caspase-8-mediated apoptosis in skin cancer cells. *J Dermatol Sci* 107, 142-150.
- Chekchaki, N., 2017. Effets phyto-thérapeutiques comparatifs entre l'huile et l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* sur les paramètres immunologiques et ceux du stress oxydant dans un modèle d'asthme expérimental. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba,

## Références bibliographiques

---

- Chen, T., Tibbitt, C.A., Feng, X., Stark, J.M., Rohrbeck, L., Rausch, L., Sedimbi, S.K., Karlsson, M.C.I., Lambrecht, B.N., Karlsson Hedestam, G.B., Hendriks, R.W., Chambers, B.J., Nylen, S., Coquet, J.M., 2017. PPAR-gamma promotes type 2 immune responses in allergy and nematode infection. *Sci Immunol* 2, eaal5196.
- Chhiba, K.D., Hsu, C.-L., Berdnikovs, S., Bryce, P.J., 2017. Transcriptional heterogeneity of mast cells and basophils upon activation. *The Journal of Immunology* 198, 4868-4878.
- Collaborators, G., Ärnlöv, J., 2020. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *J The Lancet* 396, 1223-1249.
- Comhair, S.A., Bhatena, P.R., Dweik, R.A., Kavuru, M., Erzurum, S.C., 2000. Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic response. *Lancet* 355, 624.
- Comhair, S.A., Erzurum, S.C., 2010. Redox control of asthma: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 12, 93-124.
- Connolly, D.J., O'Neill, L.A., 2012. New developments in Toll-like receptor targeted therapeutics. *Curr Opin Pharmacol* 12, 510-518.
- Czira, A., Turner, M., Martin, A., Hinds, D., Birch, H., Gardiner, F., Zhang, S., 2022. A systematic literature review of burden of illness in adults with uncontrolled moderate/severe asthma. *Respir Med* 191, 106670.
- Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F., Bammens, B., 2019. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 34, 975-991.
- Damm, J., Wiegand, F., Harden, L.M., Gerstberger, R., Rummel, C., Roth, J., 2012. Fever, sickness behavior, and expression of inflammatory genes in the hypothalamus after systemic and localized subcutaneous stimulation of rats with the Toll-like receptor 7 agonist imiquimod. *Neuroscience* 201, 166-183.
- Daude, M., Dinulescu, M., Nguyen, J.M., Maillard, H., Le Duff, F., Machet, L., Beylot-Barry, M., Legoupil, D., Wierzbicka-Hainaut, E., Bedane, C., Leccia, M.T., Debarbieux, S., Meyer, N., Monestier, S., Bens, G., Denis, M.G., Bossard, C., Vergier, B., Khammari, A., Dreno, B., 2023. Efficacy of imiquimod in the management of lentigo maligna. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 37, 1785-1791.
- de Kleer, I.M., Kool, M., de Bruijn, M.J., Willart, M., van Moorlegghem, J., Schuijs, M.J., Plantinga, M., Beyaert, R., Hams, E., Fallon, P.G., Hammad, H., Hendriks, R.W., Lambrecht, B.N., 2016. Perinatal Activation of the Interleukin-33 Pathway Promotes Type 2 Immunity in the Developing Lung. *Immunity* 45, 1285-1298.
- Dean, J.B., 2010. Hypercapnia causes cellular oxidation and nitrosation in addition to acidosis: implications for CO<sub>2</sub> chemoreceptor function and dysfunction. *J Appl Physiol* (1985) 108, 1786-1795.
- Díaz-Guimaraens, B., Saceda-Corralo, D., Hermosa-Gelbard, Á., Moreno-Arrones, Ó.M., Dominguez-Santas, M., Suarez-Valle, A., Vañó-Galván, S., 2022. Imiquimod-enhanced immunotherapy with diphencyprone for patients with alopecia areata. *J Dermatologic Therapy* 35, e15516.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J Food chemistry* 97, 654-660.
- Doorley, L.A., LeMessurier, K.S., Iverson, A.R., Palipane, M., Samarasinghe, A.E., 2017. Humoral immune responses during asthma and influenza co-morbidity in mice. *Immunobiology* 222, 1064-1073.

## Références bibliographiques

---

- Dougherty, R.H., Sidhu, S.S., Raman, K., Solon, M., Solberg, O.D., Caughey, G.H., Woodruff, P.G., Fahy, J.V., 2010. Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in TH2-high asthma. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 125, 1046-1053. e1048.
- Dunn, R.M., Busse, P.J., Wechsler, M.E., 2018. Asthma in the elderly and late-onset adult asthma. *Allergy* 73, 284-294.
- Egualé, T., Tilahun, G., Debella, A., Feleke, A., Makonnen, E., 2007. *Haemonchus contortus*: in vitro and in vivo anthelmintic activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. *Exp Parasitol* 116, 340-345.
- Ejaz, S., Nasim, F., Ashraf, M., Ahmad, S., 2017. Hematological and biochemical profile of patients suffering from non-atopic asthma. *J Insights chest dis* 2, 6.
- Ekinci Akdemir, F.N., Gulcin, I., Karagoz, B., Soslu, R., Alwasel, S.H., 2016. A comparative study on the antioxidant effects of hesperidin and ellagic acid against skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31, 114-118.
- Ekman, A.K., Adner, M., Cardell, L.O., 2011. Toll-like receptor 7 activation reduces the contractile response of airway smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 652, 145-151.
- El-Kashef, D.H., 2018. Nicorandil alleviates ovalbumin-induced airway inflammation in a mouse model of asthma. *Environ Toxicol Pharmacol* 59, 132-137.
- El Hajj, R., Bou Youness, H., Lachaud, L., Bastien, P., Masquefa, C., Bonnet, P.A., El Hajj, H., Khalifeh, I., 2018. EAPB0503: An Imiquimod analog with potent in vitro activity against cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* and *Leishmania tropica*. *PLoS Negl Trop Dis* 12, e0006854.
- Ellman, M.J., 1959. A spectrophotometric method for determination of reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem* 74, 214-226.
- Elsohafy, S., Shams, S., Sallam, S., Nassra, R.A., 2020. B: Phytochemical investigation and cytotoxic activity of *Hedera helix* ssp *rhizomatifera* leaves. *J Records of Pharmaceutical Biomedical Sciences* 4, 68-77.
- Esmailzadeh, A., Tahmasebi, S., Athari, S.S., 2020. Chimeric antigen receptor -T cell therapy: Applications and challenges in treatment of allergy and asthma. *Biomed Pharmacother* 123, 109685.
- Ezz-Eldin, Y.M., Aboseif, A.A., Khalaf, M.M., 2020. Potential anti-inflammatory and immunomodulatory effects of carvacrol against ovalbumin-induced asthma in rats. *Life Sci* 242, 117222.
- Fattman, C.L., Schaefer, L.M., Oury, T.D., 2003. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med* 35, 236-256.
- Fehrenbach, H., Wagner, C., Wegmann, M., 2017. Airway remodeling in asthma: what really matters. *J Cell tissue research* 367, 551-569.
- Feldman, S., Kasjanski, R., Poposki, J., Hernandez, D., Chen, J.N., Norton, J.E., Suh, L., Carter, R.G., Stevens, W.W., Peters, A.T., Kern, R.C., Conley, D.B., Tan, B.K., Shintani-Smith, S., Welch, K.C., Grammer, L.C., Harris, K.E., Kato, A., Schleimer, R.P., Hulse, K.E., 2017. Chronic airway inflammation provides a unique environment for B cell activation and antibody production. *Clin Exp Allergy* 47, 457-466.
- Ferstl, R., Frei, R., Barcik, W., Schiavi, E., Wanke, K., Ziegler, M., Rodriguez-Perez, N., Groeger, D., Konieczna, P., Zeiter, S., 2017. Histamine receptor 2 modifies iNKT cell activity within the inflamed lung. *J Allergy* 72, 1925-1935.

## Références bibliographiques

---

- Finotto, S. 2019. Resolution of allergic asthma. In: Seminars in Immunopathology, Berlin/Heidelberg, 665-674.
- Flohé, L., Günzler, W.A. 1984. Assays of glutathione peroxidase, In: Methods in enzymology. Elsevier, 114-120.
- Fridovich, I., Freeman, B., 1986. Antioxidant defenses in the lung. Annu Rev Physiol 48, 693-702.
- Gallego-Narbón A., Narbona E., Coca-de-la-Iglesia M., Valcárcel V., Geography and associated bioclimatic factors differentially affect leaf phenolics in three ivy species (*Hedera L.*) across the Iberian Peninsula, Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, Volume 65, 2024, 125822.
- Gao, Y., Nish, S.A., Jiang, R., Hou, L., Licon-Limon, P., Weinstein, J.S., Zhao, H., Medzhitov, R., 2013. Control of T helper 2 responses by transcription factor IRF4-dependent dendritic cells. Immunity 39, 722-732.
- GAR, 2022. The global asthma report. Retrieved from [http://globalasthmareport.org/resources/Global Asthma Report 2022.pdf](http://globalasthmareport.org/resources/Global_Asthma_Report_2022.pdf). Accessed on 1 Nov 2022.
- Gaurav, R., Bewtra, A.K., Agrawal, D.K., 2015. Chloride Channel 3 Channels in the Activation and Migration of Human Blood Eosinophils in Allergic Asthma. Am J Respir Cell Mol Biol 53, 235-245.
- Ghorani, V., Marefati, N., Shakeri, F., Rezaee, R., Boskabady, M., Boskabady, M.H., 2018. The Effects of *Allium Cepa* Extract on Tracheal Responsiveness, Lung Inflammatory Cells and Phospholipase A2 Level in Asthmatic Rats. Iran J Allergy Asthma Immunol 17, 221-231.
- Gifex. (s.d.). *Carte d'Annaba*. Consulté le 12 juin 2024, sur <https://gifex.com/>
- Godar, M., Deswarte, K., Vergote, K., Saunders, M., de Haard, H., Hammad, H., Blanchetot, C., Lambrecht, B.N., 2018. A bispecific antibody strategy to target multiple type 2 cytokines in asthma. J Allergy Clin Immunol 142, 1185-1193 e1184.
- Gowthaman, U., Chen, J.S., Zhang, B., Flynn, W.F., Lu, Y., Song, W., Joseph, J., Gertie, J.A., Xu, L., Collet, M.A., 2019. Identification of a T follicular helper cell subset that drives anaphylactic IgE. Science 365, eaaw6433.
- Greiff, L., Cervin, A., Ahlstrom-Emanuelsson, C., Almqvist, G., Andersson, M., Dolata, J., Eriksson, L., Hogestatt, E., Kallen, A., Norlen, P., Sjolín, I.L., Widegren, H., 2012. Repeated intranasal TLR7 stimulation reduces allergen responsiveness in allergic rhinitis. Respir Res 13, 53.
- Grela, F., Aumeunier, A., Bardel, E., Van, L.P., Bourgeois, E., Vanoirbeek, J., Leite-de-Moraes, M., Schneider, E., Dy, M., Herbelin, A., Thieblemont, N., 2011. The TLR7 agonist R848 alleviates allergic inflammation by targeting invariant NKT cells to produce IFN-gamma. J Immunol 186, 284-290.
- Guilliams, M., Thierry, G.R., Bonnardel, J., Bajenoff, M., 2020. Establishment and Maintenance of the Macrophage Niche. Immunity 52, 434-451.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2004. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy:  $\alpha$ -hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. J Planta medica 70, 561-563.
- 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. Proc Natl Acad Sci U S A 71, 3879-3882.

## Références bibliographiques

---

- Halim, T.Y., Steer, C.A., Matha, L., Gold, M.J., Martinez-Gonzalez, I., McNagny, K.M., McKenzie, A.N., Takei, F., 2014. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. *Immunity* 40, 425-435.
- Hallit, S., 2018. Wheezing phenotypes and risk factors in early life. Université de Bordeaux, Hamelmann, E., 2007. The rationale for treating allergic asthma with anti-IgE. *J European Respiratory Review* 16, 61-66.
- Hamie, M., Najm, R., Deleuze-Masquefa, C., Bonnet, P.A., Dubremetz, J.-F., El Sabban, M., El Hajj, H., 2021. Imiquimod targets toxoplasmosis through modulating host toll-like receptor-MyD88 signaling. *J Frontiers in Immunology* 12, 629917.
- Hammad, H., Lambrecht, B.N., 2021. The basic immunology of asthma. *Cell* 184, 1469-1485.
- Hammad, H., Plantinga, M., Deswarte, K., Pouliot, P., Willart, M.A., Kool, M., Muskens, F., Lambrecht, B.N., 2010. Inflammatory dendritic cells—not basophils—are necessary and sufficient for induction of Th2 immunity to inhaled house dust mite allergen. *Journal of Experimental Medicine* 207, 2097-2111.
- Han, J., Zhang, S., Jiang, B., Wang, J., Ge, X., Wu, B., Zhang, S., Wang, D., 2022. Sesquiterpene lactones from *Xanthium sibiricum* Patr. alleviate asthma by modulating the Th1/Th2 balance in a murine model. *Phytomedicine* 99, 154032.
- Han, J.Y., Takeshita, K., Utsumi, H., 2001. Noninvasive detection of hydroxyl radical generation in lung by diesel exhaust particles. *Free Radic Biol Med* 30, 516-525.
- Hemmi, H., Kaisho, T., Takeuchi, O., Sato, S., Sanjo, H., Hoshino, K., Horiuchi, T., Tomizawa, H., Takeda, K., Akira, S., 2002. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *J Nature immunology* 3, 196-200.
- Hirose, K., Iwata, A., Tamachi, T., Nakajima, H., 2017. Allergic airway inflammation: key players beyond the Th2 cell pathway. *Immunol Rev* 278, 145-161.
- Holt, P.G., Oliver, J., Bilyk, N., McMenemy, C., McMenemy, P.G., Kraal, G., Thepen, T., 1993. Downregulation of the antigen presenting cell function(s) of pulmonary dendritic cells in vivo by resident alveolar macrophages. *J Exp Med* 177, 397-407.
- Hould, R., 1984. "Méthode de Fontana." *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Paris, France, Maloine.
- Hussein, R.A., El-Anssary, A.A., 2019. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *J Herbal medicine* 1, 11-30.
- Hybertson, B.M., Gao, B., Bose, S.K., McCord, J.M., 2011. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med* 32, 234-246.
- Inci, H., Izol, E., Yilmaz, M.A., Ilkaya, M., Bingol, Z., Gulcin, I., 2023. Comprehensive Phytochemical Content by LC/MS/MS and Anticholinergic, Antiglaucoma, Antiepilepsy, and Antioxidant Activity of *Apilarnil* (Drone Larvae). *Chem Biodivers* 20, e202300654.
- Iribarren, C., Sidney, S., Lydick, E., Sorel, M.E., Eisner, M.D., 2001. The association between asthma, asthma therapeutic classes and hepatic enzyme elevation among adult HMO members. *J Comprehensive therapy* 27, 133-139.
- Israel, E., Reddel, H.K., 2017. Severe and Difficult-to-Treat Asthma in Adults. *N Engl J Med* 377, 965-976.
- Ito, K., Herbert, C., Siegle, J.S., Vuppusetty, C., Hansbro, N., Thomas, P.S., Foster, P.S., Barnes, P.J., Kumar, R.K., 2008. Steroid-resistant neutrophilic inflammation in a mouse model of an acute exacerbation of asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 39, 543-550.

## Références bibliographiques

---

- Jasemi, S.V., Khazaei, H., Morovati, M.R., Joshi, T., Aneva, I.Y., Farzaei, M.H., Echeverría, J., 2023. Phytochemicals as treatment for allergic asthma: Therapeutic effects and mechanisms of action. *J Phytomedicine*, 155149.
- Jedli, O., Ben-Nasr, H., Zammel, N., Rebai, T., Saoudi, M., Elkahoui, S., Jamal, A., Siddiqui, A.J., Sulieman, A.E., Alreshidi, M.M., Naili, H., Badraoui, R., 2022. Attenuation of ovalbumin-induced inflammation and lung oxidative injury in asthmatic rats by *Zingiber officinale* extract: combined in silico and in vivo study on antioxidant potential, STAT6 and TNF-alpha pathways. *3 Biotech* 12, 191.
- Jia, B., Shang, J., Zeng, H., Wang, X., Fang, M., Xu, L., Liu, X., Wu, K., Gong, Z., Yang, Q., 2023. Hepatoprotective Effects of Rosmarinic Acid on Ovalbumin-Induced Intestinal Food Allergy Mouse Model. *Molecules* 28.
- Jin, S.X., Yin, K.S., Bian, T., Sun, P.L., 2006. Imiquimod attenuates airway inflammation and decreases the expression of thymus and activation regulated chemokine in allergic asthmatic mice. *Chin Med J (Engl)* 119, 412-416.
- Johnston, K.L., Clifford, M.N., Morgan, L.M., 2003. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am J Clin Nutr* 78, 728-733.
- Julkunen-Tiitto, R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural food chemistry* 33, 213-217.
- Kakkar, S., Bais, S., 2014. A review on protocatechuic Acid and its pharmacological potential. *ISRN Pharmacol* 2014, 952943.
- Kambayashi, T., Laufer, T.M., 2014. Atypical MHC class II-expressing antigen-presenting cells: can anything replace a dendritic cell? *J Nature Reviews Immunology* 14, 719-730.
- Kandhare, A.D., Bodhankar, S.L., Singh, V., Mohan, V., Thakurdesai, P.A., 2013. Anti-asthmatic effects of type-A procyanidine polyphenols from cinnamon bark in ovalbumin-induced airway hyperresponsiveness in laboratory animals. *Biomedicine Aging Pathology* 3, 23-30.
- Kaspar, J.W., Niture, S.K., Jaiswal, A.K., 2009. Nrf2:INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 47, 1304-1309.
- Kaur, G., Shivanandappa, T.B., Kumar, M., Kushwah, A.S., 2020. Fumaric acid protect the cadmium-induced hepatotoxicity in rats: owing to its antioxidant, anti-inflammatory action and aid in recast the liver function. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 393, 1911-1920.
- Kawai, T., Akira, S., 2011. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *J Immunity* 34, 637-650.
- Kayali, R., Cakatay, U., Akcay, T., Altug, T., 2006. Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat. *Cell Biochem Funct* 24, 79-85.
- Kazmi, Z., Zeeshan, S., Khan, A., Malik, S., Shehzad, A., Seo, E.K., Khan, S., 2020. Anti-epileptic activity of daidzin in PTZ-induced mice model by targeting oxidative stress and BDNF/VEGF signaling. *Neurotoxicology* 79, 150-163.
- Kelly, F.J., Mudway, I., Krishna, M., Holgate, S., 1995. The free radical basis of air pollution: focus on ozone. *J Respiratory medicine* 89, 647-656.

## Références bibliographiques

---

- Kennelly, P.J., Murray, R.K., Jacob, M., Varghese, J. 2015. Plasma proteins & immunoglobulins In Rodwel V.W., Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Editors. Harpers illustrated biochemistry 31<sup>st</sup> edition LANGE medical book.
- Khalidi, T., Chekchaki, N., Boumendjel, M., Taibi, F., Abdellaoui, M., Messarah, M., Boumendjel, A., 2018. Ameliorating effects of *Nigella sativa* oil on aggravation of inflammation, oxidative stress and cytotoxicity induced by smokeless tobacco extract in an allergic asthma model in Wistar rats. *Allergol Immunopathol (Madr)* 46, 472-481.
- Khalidi, T., Chekchaki, N., Rouibah, Z., Chouala, K., Cheniti, H., Boumendjel, M., Taibi, F., Messarah, M., Boumendjel, A., 2022. Preventive effects of oral administration of *Nigella sativa* oil against smokeless tobacco induced toxicity and oxidative stress in the liver and kidney of allergic asthma induced rats. *J Toxicology Environmental Health Sciences* 14, 291-300.
- Khan, S., Adil, A., Naeem, S., Jaffar, N., Khatoon, H., Ansar, H., Shafiq, Y., 2020. Evaluation of Acute and Chronic Antidiabetic Activity of Ivy (*Hedera helix L.*) Aqueous Leaf Extract in Rat Model. *PJBS* 23, 1357-1368.
- Khazdair, M.R., Anaeigoudari, A., Kianmehr, M., 2019. Anti-Asthmatic Effects of *Portulaca Oleracea* and its Constituents, a Review. *J Pharmacopuncture* 22, 122-130.
- Khair, A., Mohammad, M.K., Tawaha, K., Al-Hamarsheh, E., Alkhatib, H.S., Al-Khalidi, B., Bustanji, Y., Najjar, S., Hudaib, M., 2010. A Validated RP HPLC-PAD Method for the Determination of Hederacoside C in Ivy-Thyme Cough Syrup. *Int J Anal Chem* 2010.
- Kim, E.H., Baek, S., Shin, D., Lee, J., Roh, J.L., 2017. Hederagenin Induces Apoptosis in Cisplatin-Resistant Head and Neck Cancer Cells by Inhibiting the Nrf2-ARE Antioxidant Pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2017, 5498908.
- Kim, S.H., Uganbayar, U., Trinh, H.K.T., Pham, D.L., Kim, N., Kim, M., Sohn, H., Park, H.S., 2019. Evaluation of Neutrophil Activation Status According to the Phenotypes of Adult Asthma. *Allergy Asthma Immunol Res* 11, 381-393.
- Komlósi, Z.I., van de Veen, W., Kovács, N., Szűcs, G., Sokolowska, M., O'Mahony, L., Akdis, M., Akdis, C.A., 2022. Cellular and molecular mechanisms of allergic asthma. *J Molecular aspects of medicine* 85, 100995.
- Krishnaswamy, J.K., Gowthaman, U., Zhang, B., Mattsson, J., Szeponik, L., Liu, D., Wu, R., White, T., Calabro, S., Xu, L., 2017. Migratory CD11b<sup>+</sup> conventional dendritic cells induce T follicular helper cell-dependent antibody responses. *J Science immunology* 2, eaam9169.
- Ku, C.M., Lin, J.Y., 2016. Farnesol, a sesquiterpene alcohol in essential oils, ameliorates serum allergic antibody titres and lipid profiles in ovalbumin-challenged mice. *Allergol Immunopathol (Madr)* 44, 149-159.
- Kubysheva, N., Boldina, M., Eliseeva, T., Soodaeva, S., Klimanov, I., Khaletskaya, A., Bayrasheva, V., Solovyev, V., Villa-Vargas, L.A., Ramirez-Salinas, M.A., Salinas-Rosales, M., Ovsyannikov, D.Y., Batyrshin, I., 2020. Relationship of Serum Levels of IL-17, IL-18, TNF-alpha, and Lung Function Parameters in Patients with COPD, Asthma-COPD Overlap, and Bronchial Asthma. *Mediators Inflamm* 2020, 4652898.
- Kültür, Ş., 2007. Medicinal plants used in Kirklareli province (Turkey). *Journal of ethnopharmacology* 111, 341-364.

## Références bibliographiques

---

- Kumar, A., Jat, K.R., Sankar, J., Lakshmy, R., Lodha, R., Kabra, S.K., 2023. Role of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in assessment of asthma control in children. *J Asthma* 60, 1466-1473.
- Kuruville, M.E., Lee, F.E., Lee, G.B., 2019. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 56, 219-233.
- Lacy, P., Abdel-Latif, D., Steward, M., Musat-Marcu, S., Man, S.F., Moqbel, R., 2003. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. *J Immunol* 170, 2670-2679.
- Lambrecht, B.N., Persson, E.K., Hammad, H., 2017. Myeloid Cells in Asthma. *Microbiol Spectr* 5, 739-757.
- Larsson, O.J., Manson, M.L., Starkhammar, M., Fuchs, B., Adner, M., Kumlien Georen, S., Cardell, L.O., 2016. The TLR7 agonist imiquimod induces bronchodilation via a nonneuronal TLR7-independent mechanism: a possible role for quinoline in airway dilation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 310, L1121-1129.
- Lauzon-Joset, J., Marsolais, D., Langlois, A., Bissonnette, E., 2014. Dysregulation of alveolar macrophages unleashes dendritic cell-mediated mechanisms of allergic airway inflammation. *J Mucosal immunology* 7, 155-164.
- Lemanske, R.F., Buss, W., 2003. Allergic disorders: Asthma. *J Allergic Clin Immunol* 111, 502-519.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stadtman, E.R., 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186, 464-478.
- Li, H.R., Habasi, M., Xie, L.Z., Aisa, H.A., 2014. Effect of chlorogenic acid on melanogenesis of B16 melanoma cells. *Molecules* 19, 12940-12948.
- Lismont, C., Revenco, I., Fransen, M., 2019. Peroxisomal Hydrogen Peroxide Metabolism and Signaling in Health and Disease. *Int J Mol Sci* 20, 3673.
- Liu, B.-X.-Z., Zhou, J.-Y., Li, Y., Zou, X., Wu, J., Gu, J.-F., Yuan, J.-R., Zhao, B.-J., Feng, L., Jia, X.-B., 2014. Hederagenin from the leaves of ivy (*Hedera helix* L.) induces apoptosis in human LoVo colon cells through the mitochondrial pathway. *J BMC complementary alternative medicine* 14, 1-10.
- Liu, D.W., Zhen, X.G., Liang, Y., Jing, X.G., Zhang, T.S., Zhang, G.J., Liu, Z.S., 2013. Persistent asthma increases the risk of chronic kidney disease: a retrospective cohort study of 2354 patients with asthma. *Chin Med J (Engl)* 126, 4093-4099.
- Liu, K., Hua, S., Song, L., 2022. PM2.5 Exposure and Asthma Development: The Key Role of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev* 2022, 3618806.
- Lobine, D., Pairyanen, B., Zengin, G., Yilmaz, M.A., Ouelbani, R., Bensari, S., Ak, G., Abdallah, H.H., Imran, M., Mahomoodally, M.F., 2021. Chemical Composition and Pharmacological Evaluation and of *Toddalia asiatica* (Rutaceae) Extracts and Essential Oil by in Vitro and in Silico Approaches. *Chem Biodivers* 18, e2000999.
- Lu, S.C., 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med* 30, 42-59.
- Luo, W., Hu, J., Xu, W., Dong, J., 2022. Distinct spatial and temporal roles for Th1, Th2, and Th17 cells in asthma. *Front Immunol* 13, 974066.
- Luo, Y., Cobb, R.E., Zhao, H., 2014. Recent advances in natural product discovery. *Curr Opin Biotechnol* 30, 230-237.

## Références bibliographiques

---

- Lutsenko, Y., Bylka, W., Matlawska, I., Darmohray, R., 2010. *Hedera helix* as a medicinal plant. *Herba Polonica* 56, 83-96.
- Maamoun, H., Benameur, T., Pintus, G., Munusamy, S., Agouni, A., 2019. Crosstalk between oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER) stress in endothelial dysfunction and aberrant angiogenesis associated with diabetes: a focus on the protective roles of heme oxygenase (HO)-1. *J Frontiers in Physiology* 10, 409056.
- Machida, K., Aw, M., Salter, B.M.A., Ju, X., Mukherjee, M., Gauvreau, G.M., O'Byrne, P.M., Nair, P., Sehmi, R., 2020. The Role of the TL1A/DR3 Axis in the Activation of Group 2 Innate Lymphoid Cells in Subjects with Eosinophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 202, 1105-1114.
- Medjahdi, B., Aouadi, R., & Benabdeli, K. (2009). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 18, 35–42.
- Marefati, N., Eftekhari, N., Kaveh, M., Boskabadi, J., Beheshti, F., Boskabady, M.H., 2018. The Effect of *Allium cepa* Extract on Lung Oxidant, Antioxidant, and Immunological Biomarkers in Ovalbumin-Sensitized Rats. *Med Princ Pract* 27, 122-128.
- Martínez-Martos, J.M., Mayas, M.D., Carrera, P., de Saavedra, J.M.A., Sánchez-Agosta, R., Arrazola, M., Ramírez-Expósito, M.J., 2014. Phenolic compounds oleuropein and hydroxytyrosol exert differential effects on glioma development via antioxidant defense systems. *Journal of Functional Foods* 11, 221-234.
- Merhej, T., Zein, J.G. 2023. Epidemiology of Asthma: Prevalence and Burden of Disease, In: *Precision Approaches to Heterogeneity in Asthma*. Springer, 3-23.
- Messaoudi, Y., Feknous, N., Badouna, B., Feknous, S., Boumendjel, A., Messarah, M., , Boumendjel, M., 2025. Antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of *Arisarum vulgare* extracts on Wistar rats asthma model. . *Latin American Journal of Pharmacy*. 44, 298-312
- Michaeloudes, C., Abubakar-Waziri, H., Lakhdar, R., Raby, K., Dixey, P., Adcock, I.M., Mumby, S., Bhavsar, P.K., Chung, K.F., 2022. Molecular mechanisms of oxidative stress in asthma. *Mol Aspects Med* 85, 101026.
- Michaeloudes, C., Bhavsar, P.K., Mumby, S., Chung, K.F., Adcock, I.M., 2017. Dealing with Stress: Defective Metabolic Adaptation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Pathogenesis. *Ann Am Thorac Soc* 14, S374-S382.
- Michaeloudes, C., Mercado, N., Clarke, C., Bhavsar, P.K., Adcock, I.M., Barnes, P.J., Chung, K.F., 2014. Bromodomain and extraterminal proteins suppress NF- $\kappa$ B-mediated antioxidant gene expression. *The Journal of Immunology* 192, 4913-4920.
- Michaudel, C., Mackowiak, C., Maillet, I., Fauconnier, L., Akdis, C.A., Sokolowska, M., Dreher, A., Tan, H.T., Quesniaux, V.F., Ryffel, B., Togbe, D., 2018. Ozone exposure induces respiratory barrier biphasic injury and inflammation controlled by IL-33. *J Allergy Clin Immunol* 142, 942-958.
- Min-Chang, G., Wei-Hong, T., Zhen, X., Jie, S., 2014. Effects of Selenium-Enriched Protein from *Ganoderma lucidum* on the Levels of IL-1 beta and TNF- alpha , Oxidative Stress, and NF- kappa B Activation in Ovalbumin-Induced Asthmatic Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014, 182817.

## Références bibliographiques

---

- Mishra, V., Banga, J., Silveyra, P., 2018. Oxidative stress and cellular pathways of asthma and inflammation: Therapeutic strategies and pharmacological targets. *Pharmacol Ther* 181, 169-182.
- Miyake, K., Shibata, S., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., 2021. Basophils and their effector molecules in allergic disorders. *J Allergy* 76, 1693-1706.
- Moarbess, G., Deleuze-Masquefa, C., Bonnard, V., Gayraud-Paniagua, S., Vidal, J.R., Bressolle, F., Pinguet, F., Bonnet, P.A., 2008. In vitro and in vivo anti-tumoral activities of imidazo[1,2-a]quinoxaline, imidazo[1,5-a]quinoxaline, and pyrazolo[1,5-a]quinoxaline derivatives. *Bioorg Med Chem* 16, 6601-6610.
- Moerloose, K.B., Pauwels, R.A., Joos, G.F., 2005. Short-term cigarette smoke exposure enhances allergic airway inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 172, 168-172.
- Moisan, J., Camateros, P., Thuraisingam, T., Marion, D., Koohsari, H., Martin, P., Boghdady, M.L., Ding, A., Gaestel, M., Guiot, M.C., Martin, J.G., Radzioch, D., 2006. TLR7 ligand prevents allergen-induced airway hyperresponsiveness and eosinophilia in allergic asthma by a MYD88-dependent and MK2-independent pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 290, L987-995.
- Monadi, M., Firouzbahi, A., Hosseini, A., Javadian, Y., Sharbatdaran, M., Heidari, B., 2016. Serum C-reactive protein in asthma and its ability in predicting asthma control, a case-control study. *Caspian J Intern Med* 7, 37-42.
- Moniuszko, M., Bodzenta-Lukaszyk, A., Kowal, K., Dabrowska, M., 2007. Bronchial macrophages in asthmatics reveal decreased CD16 expression and substantial levels of receptors for IL-10, but not IL-4 and IL-7. *Folia Histochem Cytobiol* 45, 181-189.
- Moon, D.O., Kim, M.O., Lee, H.J., Choi, Y.H., Park, Y.M., Heo, M.S., Kim, G.Y., 2008. Curcumin attenuates ovalbumin-induced airway inflammation by regulating nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 375, 275-279.
- Moshaie-Nezhad, P., Faed Maleki, F., Hosseini, S., Yahyapour, M., Iman, M., Khamesipour, A.J.B., *Histochemistry*, 2019a. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hedera helix* extract on acetaminophen induced oxidative stress and hepatotoxicity in mice. 94, 313-319.
- Moshaie-Nezhad, P., Faed Maleki, F., Hosseini, S.M., Yahyapour, M., Iman, M., Khamesipour, A., 2019b. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hedera helix* extract on acetaminophen induced oxidative stress and hepatotoxicity in mice. *Biotech Histochem* 94, 313-319.
- Mueller, C.F., Widder, J.D., McNally, J.S., McCann, L., Jones, D.P., Harrison, D.G., 2005. The role of the multidrug resistance protein-1 in modulation of endothelial cell oxidative stress. *Circ Res* 97, 637-644.
- Muhammad, A., Aftab, S., Arshad, Z., Chen, Y., Wang, Y., Yang, M., Talha, U., Mengyao, G., Ganzhen, D., 2020. Hederacoside-C Inhibition of *Staphylococcus aureus*-Induced Mastitis via TLR2 & TLR4 and Their Downstream Signaling NF- $\kappa$ B and MAPKs Pathways In Vivo and In Vitro. *J Inflammation* 43, 579-594.
- Muriel, P., Gordillo, K.R. 2016. Role of oxidative stress in liver health and disease. In (J Oxidative Medicine Cellular Longevity, Hindawi).
- Nadeem, A., Siddiqui, N., Al-Harbi, N.O., Al-Harbi, M.M., Ahmad, S.F., 2016. TLR-7 agonist attenuates airway reactivity and inflammation through Nrf2-mediated antioxidant

## Références bibliographiques

---

- protection in a murine model of allergic asthma. *The international journal of biochemistry cell biology* 73, 53-62.
- Nair, P., Prabhavalkar, K., 2021a. Anti-asthmatic effects of saffron extract and salbutamol in an ovalbumin-induced airway model of allergic asthma. *J Sinusitis* 5, 17-31.
- Nair, P., Prabhavalkar, K., 2021b. Anti-asthmatic effects of saffron extract and salbutamol in an ovalbumin-induced airway model of allergic asthma. *J Sinusitis* 5, 17-31.
- Nantapong, N., Murata, R., Trakulnaleamsai, S., Kataoka, N., Yakushi, T., Matsushita, K., 2019. The effect of reactive oxygen species (ROS) and ROS-scavenging enzymes, superoxide dismutase and catalase, on the thermotolerant ability of *Corynebacterium glutamicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, 5355-5366.
- Ng, E., Levine, V., 2017. Role of topical therapy: imiquimod. *J Lentigo Maligna Melanoma: Challenges in Diagnosis Management* 139-151.
- Obeid, J., Shaito, A., El Hajj, H., Deleuze-masquefa, C., Bonnet, P.-A., El-Sabban, M., Saliba, J., 2023. Biological applications of imiquimod analogues: An update. *World Academy of Sciences Journal* 5, 1-11.
- Oboh, G., Agunloye, O.M., Adefegha, S.A., Akinyemi, A.J., Ademiluyi, A.O., 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 26, 165-170.
- Ohnmacht, C., Voehringer, D., 2009. Basophil effector function and homeostasis during helminth infection. *Blood* 113, 2816-2825.
- Osama, S., El Sherei, M., A Al-Mahdy, D., M Refaat, M., Bishr, M., Salama, O., 2023. Genus *Hedera*: a comprehensive review of its phytoconstituents, diverse pharmacological activities and medicinal properties. *J Egyptian Journal of Chemistry* 66, 203-245.
- Ounaceur, L.S., Djaber, N., Ounaceur, A., Atoui, L., Djefjel, K.B., Boudjil, S., Garri, Z., Ghadab, H., Touaibia, D., Lankar, A., 2024. In vivo determination of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the aqueous extract of *Syzygium aromaticum* (clove) in an asthmatic rat model. *J Cellular Molecular Biology* 70.
- Palefsky, J.M., Lee, J.Y., Jay, N., Goldstone, S.E., Darragh, T.M., Dunlevy, H.A., Rosa-Cunha, I., Arons, A., Pugliese, J.C., Vena, D., Sparano, J.A., Wilkin, T.J., Bucher, G., Stier, E.A., Tirado Gomez, M., Flowers, L., Barroso, L.F., Mitsuyasu, R.T., Lensing, S.Y., Logan, J., Aboulafia, D.M., Schouten, J.T., de la Ossa, J., Levine, R., Korman, J.D., Hagensee, M., Atkinson, T.M., Einstein, M.H., Cracchiolo, B.M., Wiley, D., Ellsworth, G.B., Brickman, C., Berry-Lawhorn, J.M., Group, A.I., 2022. Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer. *N Engl J Med* 386, 2273-2282.
- Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F., 2008. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *J Food chemistry* 106, 1264-1270.
- Pearlman, D.S., 1999. Pathophysiology of the inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol* 104, S132-137.
- Pecoraro L, Peterle E, Dalla Benetta E, Piazza M, Chatziparasidis G, Kantar A. Well-Established and Traditional Use of Vegetal Extracts as an Approach to the "Deep Roots" of Cough. *Children (Basel)*. 2024 May 11;11(5):584.

## Références bibliographiques

---

- Phytotherapy, E.S.C.o., 2003. E/S/C/O/P monographs: the scientific foundation for herbal medicinal products. Thieme.
- Pop, C.E., Parvu, M., ARSENE, A.L., Parvu, A.E., Vodnar, D.C., Tarcea, M., Toiu, A.M., Vlase, L., 2017. Investigation of antioxidant and antimicrobial potential of some extracts from *Hedera helix* L. *J gut* 4, 11.
- Pourmehdi, A., Sakhaei, Z., Alirezaei, M., Dezfoulian, O., 2020. Betaine effects against asthma-induced oxidative stress in the liver and kidney of mice. *Mol Biol Rep* 47, 5729-5735.
- Prado, C.M., Martins, M.A., Tiberio, I.F., 2011. Nitric oxide in asthma physiopathology. *ISRN Allergy* 2011, 832560.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *J Analytical biochemistry* 269, 337-341.
- Prussin, C., Metcalfe, D.D., 2006. 5. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 117, S450-456.
- Qabaha, K., Abbadi, J., Yaghmour, R., Hijawi, T., Naser, S.A., Al-Rimawi, F., 2024. Unveiling the antibacterial and antioxidant potential of *Hedera helix* leaf extracts: recent findings. *Can J Physiol Pharmacol* 102, 26-32.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962–1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tomes I & II)*. CNRS Éditions, Paris.
- Rahman, I., Morrison, D., Donaldson, K., MacNee, W., 1996. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 154, 1055-1060.
- Rahman, I., Mulier, B., Gilmour, P.S., Watchorn, T., Donaldson, K., Jeffery, P.K., MacNee, W., 2001. Oxidant-mediated lung epithelial cell tolerance: the role of intracellular glutathione and nuclear factor-kappaB. *Biochem Pharmacol* 62, 787-794.
- Rai, A., 2013. The Antiinflammatory and Antiarthritic Properties of Ethanol Extract of *Hedera helix*. *Indian J Pharm Sci* 75, 99-102.
- Rana, S., Shahzad, M., Shabbir, A., 2016. *Pistacia integerrima* ameliorates airway inflammation by attenuation of TNF-alpha, IL-4, and IL-5 expression levels, and pulmonary edema by elevation of AQP1 and AQP5 expression levels in mouse model of ovalbumin-induced allergic asthma. *Phytomedicine* 23, 838-845.
- Ranjbar, M., Whetstone, C.E., Omer, H., Power, L., Cusack, R.P., Gauvreau, G.M., 2022. The genetic factors of the airway epithelium associated with the pathology of asthma. *J Genes* 13, 1870.
- Rashed, K.N.Z., 2013. Comparison of Antioxidant Potential of *Dimocarpus Longan* Lour. Extracts and the main Phytoconstituents. *International Journal of Science Inventions Today* 2, 487-491.
- Reuter, S., Dehzad, N., Martin, H., Heinz, A., Castor, T., Sudowe, S., Reske-Kunz, A.B., Stassen, M., Buhl, R., Taube, C., 2010. Mast cells induce migration of dendritic cells in a murine model of acute allergic airway disease. *Int Arch Allergy Immunol* 151, 214-222.
- Ricciardolo, F.L., 2003. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax* 58, 175-182.
- Rogers, L.K., Cismowski, M.J., 2018. Oxidative stress in the lung—the essential paradox. *Current opinion in toxicology* 7, 37-43.
- Rosenstein, R.K., Bezbradica, J.S., Yu, S., Medzhitov, R., 2014. Signaling pathways activated by a protease allergen in basophils. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, E4963-4971.

## Références bibliographiques

---

- Rosheen, Sharma, S., Utreja, D., 2023. Salicylic Acid: Synthetic Strategies and Their Biological Activities. *J ChemistrySelect* 8, e202204614.
- Rouibah, Z., Ben Mensour, A., Rekik, O., Boumendjel, M., Taibi, F., Bouaziz, M., El Feki, A., Messarah, M., Boumendjel, A., 2022. Chemical composition, antioxidant activities, in an allergic asthma model, of *Olea europaea* L. leaf extracts from Collo (Skikda, Algeria). *Drug Chem Toxicol* 45, 197-208.
- Rudy, S.J., 2002. Imiquimod (Aldara): modifying the immune response. *Dermatol Nurs* 14, 268-270.
- Saeedavi, M., Goudarzi, M., Mehrzadi, S., Basir, Z., Hasanvand, A., Hosseinzadeh, A., 2022. Sinapic acid ameliorates airway inflammation in murine ovalbumin-induced allergic asthma by reducing Th2 cytokine production. *Life Sci* 307, 120858.
- Sahiner, U.M., Birben, E., Erzurum, S., Sackesen, C., Kalayci, O., 2018. Oxidative stress in asthma: Part of the puzzle. *Pediatr Allergy Immunol* 29, 789-800.
- Saiah, H., Allem, R., Kebir, F., 2016. Antioxidant and antibacterial activities of six Algerian medicinal plants. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci* 8, 367-374.
- Salma, U., Khan, T., Shah, A.J., 2018. Antihypertensive efficacy of extract of *Hedera helix* in high salt-induced hypertensive Sprague-Dawley rats. *J Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 11, 473-479.
- Santos, T.C.d., Gomes, T.M., Pinto, B.A.S., Camara, A.L., Paes, A.M.D.A., 2018. Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. *Frontiers in Pharmacology* 9, 1192.
- Sauder, D.N., 2000. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. *J Am Acad Dermatol* 43, S6-11.
- Schröder, K., 2020. NADPH oxidases: Current aspects and tools. *J Redox biology* 34, 101512.
- Schuijs, M.J., Hammad, H., Lambrecht, B.N., 2019. Professional and 'amateur' antigen-presenting cells in type 2 immunity. *J Trends in immunology* 40, 22-34.
- Schulte-Michels, J., Runkel, F., Gokorsch, S., Häberlein, H., 2016. Ivy leaves dry extract EA 575<sup>®</sup> decreases LPS-induced IL-6 release from murine macrophages. *J Die Pharmazie- An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 71, 158-161.
- Sen, N.B., Guzelmeric, E., Vovk, I., Glavnik, V., Kırmızıbekmez, H., Yesilada, E., 2023. Phytochemical and Bioactivity Studies on *Hedera helix* L.(Ivy) Flower Pollen and Ivy Bee Pollen. *J Antioxidants* 12, 1394.
- Seumois, G., Ramirez-Suastegui, C., Schmiedel, B.J., Liang, S., Peters, B., Sette, A., Vijayanand, P., 2020. Single-cell transcriptomic analysis of allergen-specific T cells in allergy and asthma. *Sci Immunol* 5, eaba6087.
- Shakerinasab, N., Bejeshk, M.A., Pourghadamyari, H., Najafipour, H., Eftekhari, M., Mottaghipisheh, J., Omidifar, N., Azizi, M., Rajizadeh, M.A., Doustimotlagh, A.H., 2022. The Hydroalcoholic Extract of *Nasturtium officinale* Reduces Lung Inflammation and Oxidative Stress in an Ovalbumin-Induced Rat Model of Asthma. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022, 5319237.
- Shalaby, K.H., Allard-Coutu, A., O'Sullivan, M.J., Nakada, E., Qureshi, S.T., Day, B.J., Martin, J.G., 2013. Inhaled birch pollen extract induces airway hyperresponsiveness via oxidative stress but independently of pollen-intrinsic NADPH oxidase activity, or the TLR4–TRIF pathway. *The Journal of Immunology* 191, 922-933.

## Références bibliographiques

---

- Shawky, E., El Sohafy, S.M., 2020. Untargeted and targeted chemical profiling for efficacy-directed discrimination of *Hedera helix* L. subspecies using HPTLC-image analysis and HPTLC/MS. *Industrial crops products* 145, 111980.
- Sierocinski, E., Holzinger, F., Chenot, J.F., 2021. Ivy leaf (*Hedera helix*) for acute upper respiratory tract infections: an updated systematic review. *Eur J Clin Pharmacol* 77, 1113-1122.
- Singh, A., Bhat, T., Sharma, O., 2011. Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *J Clin Toxicol* 4, 2161-0495.
- Sinyor, B., Perez, L.C. 2023. Pathophysiology of asthma, In: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- Siracusa, M.C., Saenz, S.A., Hill, D.A., Kim, B.S., Headley, M.B., Doering, T.A., Wherry, E.J., Jessup, H.K., Siegel, L.A., Kambayashi, T., Dudek, E.C., Kubo, M., Cianferoni, A., Spergel, J.M., Ziegler, S.F., Comeau, M.R., Artis, D., 2011. TSLP promotes interleukin-3-independent basophil haematopoiesis and type 2 inflammation. *Nature* 477, 229-233.
- Small, E., 2019. 58. Ivy (*Hedera* species)—virtues and vices of the world’s most popular ornamental vine. *J Biodiversity* 20, 62-74.
- Small, I., Moreira, A., Couto, M., 2013. Practical approach to managing exercise-induced asthma in children and adults. *Prim Care Respir J* 22, 126-129.
- Sokolowska, M., Chen, L.-Y., Eberlein, M., Martinez-Anton, A., Liu, Y., Alsaaty, S., Qi, H.-Y., Logun, C., Horton, M., Shelhamer, J.H., 2014. Low Molecular Weight Hyaluronan Activates Cytosolic Phospholipase A2 $\alpha$  and Eicosanoid Production in Monocytes and Macrophages\* $\blacklozenge$ . *J Journal of Biological Chemistry* 289, 4470-4488.
- Song, C., Luo, L., Lei, Z., Li, B., Liang, Z., Liu, G., Li, D., Zhang, G., Huang, B., Feng, Z.H., 2008. IL-17-producing alveolar macrophages mediate allergic lung inflammation related to asthma. *J Immunol* 181, 6117-6124.
- Song, Y., Qu, Y., Mao, C., Zhang, R., Jiang, D., Sun, X., 2023. Post-translational modifications of Keap1: the state of the art. *Front Cell Dev Biol* 11, 1332049.
- Soroosh, P., Doherty, T.A., Duan, W., Mehta, A.K., Choi, H., Adams, Y.F., Mikulski, Z., Khorram, N., Rosenthal, P., Broide, D.H., Croft, M., 2013. Lung-resident tissue macrophages generate Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells and promote airway tolerance. *J Exp Med* 210, 775-788.
- Speth, J.M., Bourdonnay, E., Penke, L.R.K., Mancuso, P., Moore, B.B., Weinberg, J.B., Peters-Golden, M., 2016. Alveolar epithelial cell-derived prostaglandin E2 serves as a request signal for macrophage secretion of suppressor of cytokine signaling 3 during innate inflammation. *The Journal of Immunology* 196, 5112-5120.
- St, H., 2006. The mechanisms, diagnosis, and management of severe asthma in adults. *J Lancet* 368, 780-793.
- Stauss-Grabo, M., Atiye, S., Warnke, A., Wedemeyer, R., Donath, F., Blume, H.J., 2011. Observational study on the tolerability and safety of film-coated tablets containing ivy extract (Prospan<sup>®</sup> Cough Tablets) in the treatment of colds accompanied by coughing. *Phytomedicine* 18, 433-436.
- Stevenson, D.D., Szczeklik, A., 2006. Clinical and pathologic perspectives on aspirin sensitivity and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 118, 773-786; quiz 787-778.

## Références bibliographiques

---

- Stock, C.J.W., Michaeloudes, C., Leoni, P., Durham, A.L., Mumby, S., Wells, A.U., Chung, K.F., Adcock, I.M., Renzoni, E.A., Lindahl, G.E., 2019. Bromodomain and Extraterminal (BET) Protein Inhibition Restores Redox Balance and Inhibits Myofibroblast Activation. *Biomed Res Int* 2019, 1484736.
- Strelau, M., Clements, D.R., Benner, J., Prasad, R., 2018. The biology of Canadian weeds: 157. *Hedera helix* L. and *Hedera hibernica* (G. Kirchn.) Bean. *J Canadian journal of plant science* 98, 1005-1022.
- Sugita, K., Steer, C.A., Martinez-Gonzalez, I., Altunbulakli, C., Morita, H., Castro-Giner, F., Kubo, T., Wawrzyniak, P., Rückert, B., Sudo, K., 2018. Type 2 innate lymphoid cells disrupt bronchial epithelial barrier integrity by targeting tight junctions through IL-13 in asthmatic patients. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 141, 300-310. e311.
- Suica-Bunghez, I.R., SORESCU, A.A., DONCEA, S.M., Constantin, M., Raut, I., Rodica Mariana, I., 2020. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial characterization of *Hedera helix* L. extract. *Journal of Plant Development* 27.
- Süleyman, H., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2003. Acute and chronic antiinflammatory profile of the ivy plant, *Hedera helix*, in rats. *J Phytomedicine* 10, 370-374.
- Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Starčević, K., Tlak Gajger, I., Vranješ, M., Radić, B., Radić, S., Kosalec, I., Vlainić, J., 2021. Nonaqueous polyethylene glycol as a safer alternative to ethanolic propolis extracts with comparable antioxidant and antimicrobial activity. *J Antioxidants* 10, 978.
- Suzukawa, M., Iikura, M., Koketsu, R., Nagase, H., Tamura, C., Komiya, A., Nakae, S., Matsushima, K., Ohta, K., Yamamoto, K., Yamaguchi, M., 2008. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *J Immunol* 181, 5981-5989.
- Tang, C., Ward, C., Reid, D., Bish, R., O'Byrne P, M., Walters, E.H., 2001. Normally suppressing CD40 coregulatory signals delivered by airway macrophages to TH2 lymphocytes are defective in patients with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 107, 863-870.
- Tang, H., Cao, W., Kasturi, S.P., Ravindran, R., Nakaya, H.I., Kundu, K., Murthy, N., Kepler, T.B., Malissen, B., Pulendran, B., 2010. The T helper type 2 response to cysteine proteases requires dendritic cell–basophil cooperation via ROS-mediated signaling. *J Nature immunology* 11, 608-617.
- Thakur, V.R., Khuman, V., Beladiya, J.V., Chaudagar, K.K., Mehta, A.A., 2019. An experimental model of asthma in rats using ovalbumin and lipopolysaccharide allergens. *Heliyon* 5, e02864.
- Tibbitt, C.A., Stark, J.M., Martens, L., Ma, J., Mold, J.E., Deswarte, K., Oliynyk, G., Feng, X., Lambrecht, B.N., De Bleser, P., Nysten, S., Hammad, H., Arsenian Henriksson, M., Saeys, Y., Coquet, J.M., 2019. Single-Cell RNA Sequencing of the T Helper Cell Response to House Dust Mites Defines a Distinct Gene Expression Signature in Airway Th2 Cells. *Immunity* 51, 169-184 e165.
- Tokac, M., Bacanlı, M., Dumlu, E.G., Aydin, S., Engin, M., Bozkurt, B., Yalçın, A., Özcan, E., Kilic, M., Başaran, N., 2017. The ameliorative effects of pycnogenol® on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 14, 257.

## Références bibliographiques

---

- Tsuzuki, H., Arinobu, Y., Miyawaki, K., Takaki, A., Ota, S.I., Ota, Y., Mitoma, H., Akahoshi, M., Mori, Y., Iwasaki, H., Niuro, H., Tsukamoto, H., Akashi, K., 2017. Functional interleukin-33 receptors are expressed in early progenitor stages of allergy-related granulocytes. *Immunology* 150, 64-73.
- Turkalj, M., Banic, I. 2019. The role of platelets in allergic inflammation and asthma, In: *Asthma-Biological Evidences*. IntechOpen Rijeka, Croatia.
- Uddin, G., Rauf, A., Qaisar, M., Latif, A., Ali, M., 2011. Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *Hedera helix* L. *Middle-East J Sci Res* 8, 198-202.
- Usmani, K., Jain, S.K., Yadav, S., 2023. Mechanism of action of certain medicinal plants for the treatment of asthma. *J Ethnopharmacol* 317, 116828.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39, 44-84.
- Victor, R.G.W., John D. Byrd., 2018. English Ivy (*Hedera helix* L.). Technical Report., 1.
- Vogel, C.F., Van Winkle, L.S., Esser, C., Haarmann-Stemmann, T., 2020. The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors—Implications for pollution mediated stress and inflammatory responses. *J Redox biology* 34, 101530.
- Vosooghi, S., Mahmoudabady, M., Neamati, A., Aghababa, H., 2013. Preventive effects of hydroalcoholic extract of saffron on hematological parameters of experimental asthmatic rats. *Avicenna J Phytomed* 3, 279-287.
- Walter, A., Schafer, M., Cecconi, V., Matter, C., Urosevic-Maiwald, M., Belloni, B., Schonewolf, N., Dummer, R., Bloch, W., Werner, S., Beer, H.D., Knuth, A., van den Broek, M., 2013. Aldara activates TLR7-independent immune defence. *Nat Commun* 4, 1560.
- Wan, W.-Y.H., Hollins, F., Haste, L., Woodman, L., Hirst, R.A., Bolton, S., Gomez, E., Sutcliffe, A., Desai, D., Chachi, L., 2016. NADPH oxidase-4 overexpression is associated with epithelial ciliary dysfunction in neutrophilic asthma. *J Chest* 149, 1445-1459.
- Weber, A., Zimmermann, C., Mausberg, A.K., Kieseier, B.C., Hartung, H.P., Hofstetter, H.H., 2013. Induction of pro-inflammatory cytokine production in thymocytes by the immune response modifiers Imiquimod and Gardiquimod™. *J International Immunopharmacology* 17, 427-431.
- Westphalen, K., Gusarova, G.A., Islam, M.N., Subramanian, M., Cohen, T.S., Prince, A.S., Bhattacharya, J., 2014. Sessile alveolar macrophages communicate with alveolar epithelium to modulate immunity. *Nature* 506, 503-506.
- Wiegman, C.H., Li, F., Ryffel, B., Togbe, D., Chung, K.F., 2020. Oxidative Stress in Ozone-Induced Chronic Lung Inflammation and Emphysema: A Facet of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Front Immunol* 11, 1957.
- Wiest, R., Albillos, A., Trauner, M., Bajaj, J.S., Jalan, R., 2017. Targeting the gut-liver axis in liver disease. *J Hepatol* 67, 1084-1103.
- Winkler, C., Hochdorfer, T., Israelsson, E., Hasselberg, A., Cavallin, A., Thorn, K., Muthas, D., Shojaee, S., Luer, K., Muller, M., Mjosberg, J., Vaarala, O., Hohlfeld, J., Pardali, K., 2019. Activation of group 2 innate lymphoid cells after allergen challenge in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 144, 61-69 e67.
- Xiao, X., Chen, M., Zhang, Y., Li, L., Peng, Y., Li, J., Zhou, W., 2022. Hemin-incorporating DNA nanozyme enabling catalytic oxygenation and GSH depletion for enhanced photodynamic therapy and synergistic tumor ferroptosis. *Journal of Nanobiotechnology* 20, 410.

## Références bibliographiques

---

- Xirakia, C., Koltsida, O., Stavropoulos, A., Thanassopoulou, A., Aidinis, V., Sideras, P., Andreakos, E., 2010. Toll-like receptor 7–triggered immune response in the lung mediates acute and long-lasting suppression of experimental asthma. *American journal of respiratory critical care medicine* 181, 1207-1216.
- Yang, J., Scicluna, B.P., van Engelen, T.S.R., Bonta, P.I., Majoor, C.J., Van't Veer, C., de Vos, A.F., Bel, E.H., van der Poll, T., 2021. Transcriptional changes in alveolar macrophages from adults with asthma after allergen challenge. *Allergy* 76, 2218-2222.
- Yang, Z., Li, X., Fu, R., Hu, M., Wei, Y., Hu, X., Tan, W., Tong, X., Huang, F., 2022. Therapeutic Effect of Renifolin F on Airway Allergy in an Ovalbumin-Induced Asthma Mouse Model In Vivo. *Molecules* 27, 3789.
- Yilmaz, M.A., 2020. Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *J Industrial Crops Products* 149, 112347.
- Yilmaz, M.A., Cakir, O., Izol, E., Tarhan, A., Behcet, L., Zengin, G., 2023. Detailed Phytochemical Evaluation of a Locally Endemic Species (*Campanula baskilensis*) by LC-MS/MS and Its In-Depth Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities. *Chem Biodivers* 20, e202301182.
- Yoon, S.Y., Hong, G.H., Kwon, H.S., Park, S., Park, S.Y., Shin, B., Kim, T.B., Moon, H.B., Cho, Y.S., 2016. S-adenosylmethionine reduces airway inflammation and fibrosis in a murine model of chronic severe asthma via suppression of oxidative stress. *Exp Mol Med* 48, e236.
- Yoshimoto, T., 2018. The hunt for the source of primary interleukin-4: how we discovered that natural killer T cells and basophils determine T helper type 2 cell differentiation in vivo. *J Frontiers in immunology* 9, 356725.
- Yu, M., Shin, Y.J., Kim, N., Yoo, G., Park, S., Kim, S.H., 2015. Determination of saponins and flavonoids in ivy leaf extracts using HPLC-DAD. *J Chromatogr Sci* 53, 478-483.
- Zadam, M.H., Ahmida, M., Djaber, N., Ounacer, L.S., Sekiou, O., Taibi, F., Bencheikh, R., Chouala, K., Boudjema, K., Tichati, L., Zaafour, M., Boumendjel, A., Messarah, M., Boumendjel, M., 2023. In-vivo anti-inflammatory effects of Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*) aqueous extracts collected from the National Park of El-Kala (North-East, Algeria). *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 69, 245-254.
- Zasłona, Z., Przybranowski, S., Wilke, C., van Rooijen, N., Teitz-Tennenbaum, S., Osterholzer, J.J., Wilkinson, J.E., Moore, B.B., Peters-Golden, M., 2014. Resident alveolar macrophages suppress, whereas recruited monocytes promote, allergic lung inflammation in murine models of asthma. *The Journal of Immunology* 193, 4245-4253.
- Zemmouri, H., Sekiou, O., Ammar, S., El Feki, A., Bouaziz, M., Messarah, M., Boumendjel, A., 2017. *Urtica dioica* attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. *Pharm Biol* 55, 1561-1568.
- Zhang, S., Gai, Z., Gui, T., Chen, J., Chen, Q., Li, Y., 2021. Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid and Protocatechuic Aldehyde: Old Wine in a New Bottle. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021, 6139308.
- Zheng, M., Tian, Z., 2019. Liver-Mediated Adaptive Immune Tolerance. *Front Immunol* 10, 2525.

## Références bibliographiques

---

- Zhu, H., Itoh, K., Yamamoto, M., Zweier, J.L., Li, Y., 2005. Role of Nrf2 signaling in regulation of antioxidants and phase 2 enzymes in cardiac fibroblasts: protection against reactive oxygen and nitrogen species-induced cell injury. *FEBS Lett* 579, 3029-3036.
- Zhu, J., 2015. T helper 2 (Th2) cell differentiation, type 2 innate lymphoid cell (ILC2) development and regulation of interleukin-4 (IL-4) and IL-13 production. *Cytokine* 75, 14-24.

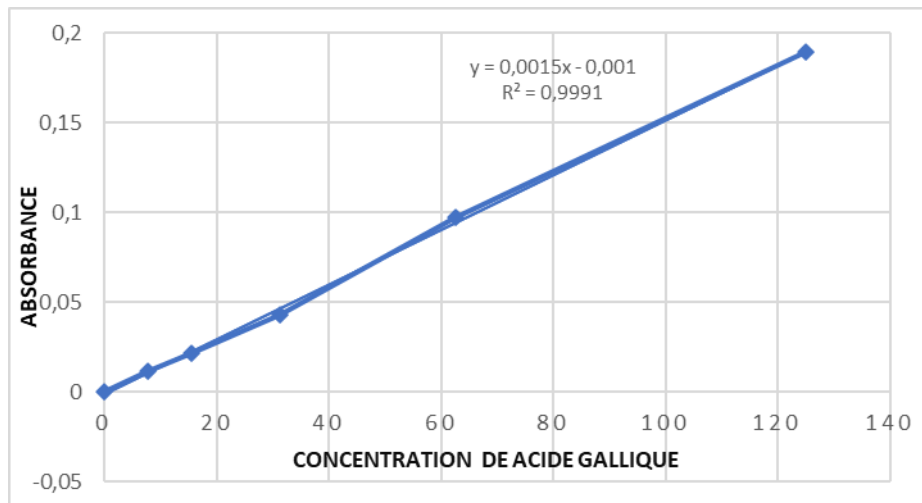
---

# ***ANNEXE***

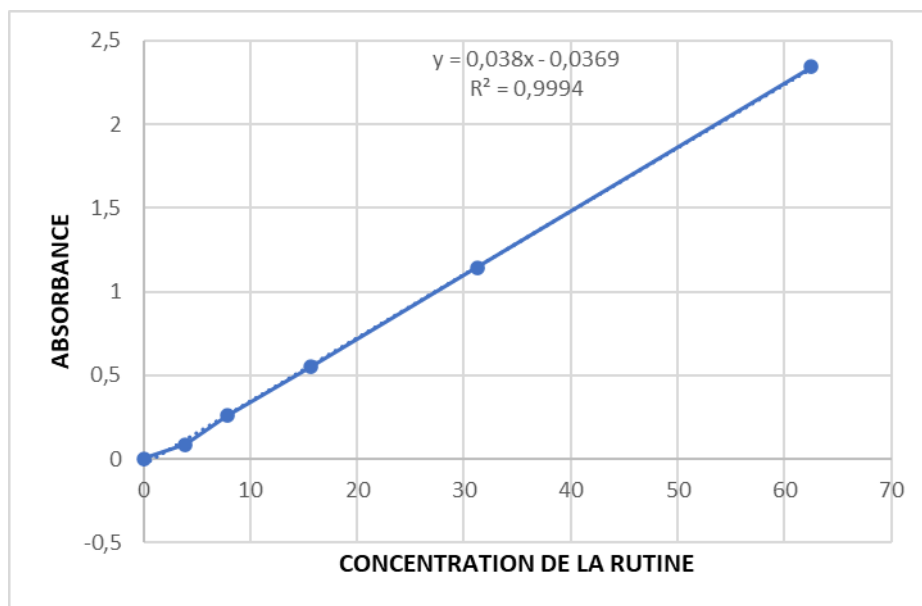
---

## Annexe

### ANNEXE 1 : courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

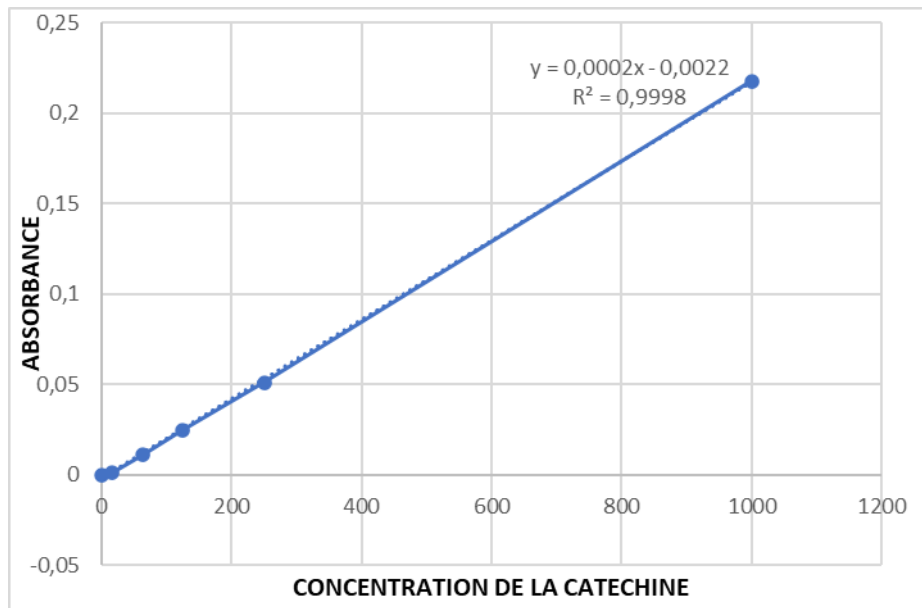


### ANNEXE 2 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux

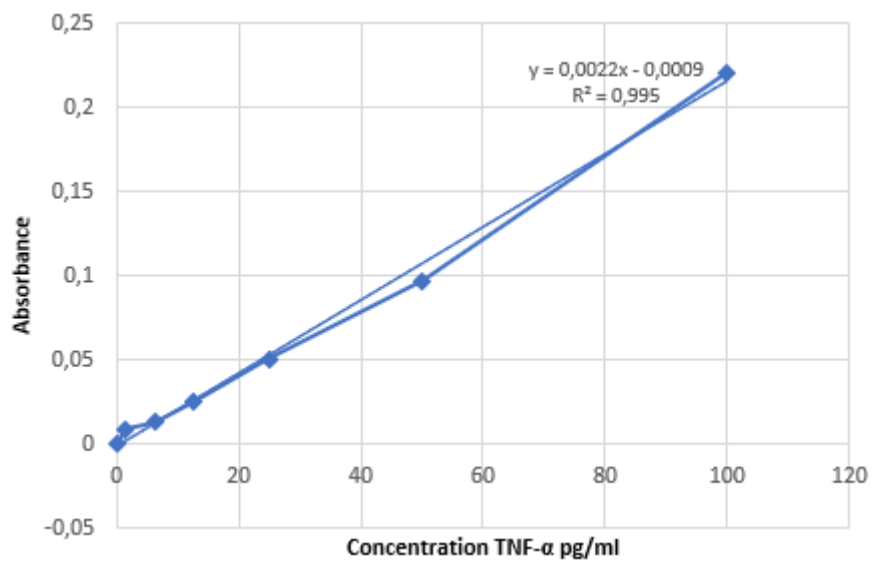


## Annexe

### ANNEXE 3 : courbe d'étalonnage des tanins condensés



### ANNEXE 4 : Courbe d'étalonnage de TNF alpha

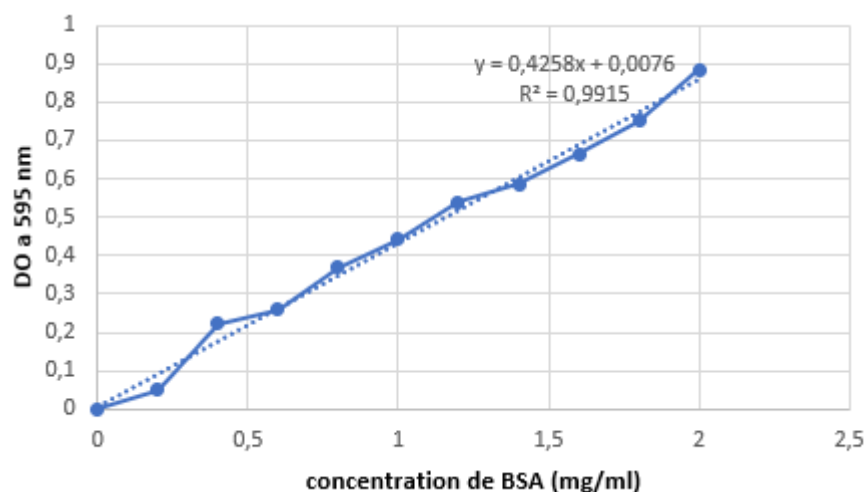


### ANNEXE 5 : Préparation des solutions

#### 1) Dosage des protéines par la méthode de Bradford

**Réactif de Bradford** : Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95%). Agiter par pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution). Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

#### Gamme d'étalonnage de BSA



#### 2) Dosage de MDA

-La solution du tampon TBS (pH 7,4) : 0,6057g de Tris (50 mM) et 0.877g Na Cl (150 mM) dans 100 ml d'eau distillé et ajuster le pH par NaOH ou HCl.

-La solution de Tris - TBA : 1.73g de TBA (120 mM) dans 100ml d'une solution Tris (26 mM).

-La solution de TCA – BHT : 1g de BHT (Butyl hydroxytoluene) dans 100 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%.

-La solution d'H Cl (0,6 M) : 5.1569 ml de H Cl 36% dans 100ml d'eau distillé.

#### 3) Dosage de l'AOPP

-Tampon phosphate (pH=7.4) :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (0.1M) : 3,4 g dans 240 ml d'eau distillée

- $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0.1M): 4,8 g dans 240 ml d'eau distillée.

-Iodure de potassium (KI, 1.16 M) : 4.46 g dans 23,16 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ .

#### 4) Dosage des protéines carbonylées

-La solution de DNPH: 4.5 mg de DNPH dans 1 ml de HCl (2N).

## Annexe

---

-La solution du HCl (2N): Pour préparer une solution de 2N, il faut ajouter 24 ml d'eau distillée à 4 ml de HCl (12N).

-La solution de TCA (20 %): 20 mg de TCA dans 100 ml d'eau distillée

-Ethanol : éthyl acétate: (1v :1v)

-La solution de Guanidine-HCl (6M): 573,216 g/litre.

### 5) Dosage du glutathion réduit

-L'acide salicylique (0,25%) : Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée

-Tampon Tris + EDTA (0,4 M Tris + 0,02 M EDTA), pH 9,6: dissoudre 48,45 g Tris + 5,84 g EDTA dans 1000 ml d'eau.

-DTNB (0,01 M) : Dissoudre 20 mg DTNB dans 5 ml de méthanol absolu.

### 6) Dosage de L'activité enzymatique de la GPx

Solution du GSH (0.1 mM) : dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 mL d'eau distillée.

Solution TCA (1 %) : dissoudre 1g TCA dans 100 mL d'eau distillée.

Solution DTNB (1,0 mM) : dissoudre 100 mg DTNB dans 250 mL de méthanol absolu.

### 7) Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4) :

Solution A, dissoudre 6,24 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2 H<sub>2</sub>O) dans 200 ml d'eau distillée.

Solution B, dissoudre 14.32 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (12 H<sub>2</sub>O) dans 200 ml d'eau distillée.

Mélanger 16 ml de la solution A avec 84 ml de la solution B.

### 8) Dosage de l'activité enzymatique de la SOD

-Le tampon phosphate (50 mM, PH = 7, 8): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 4,476g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 1,95g : dans 250ml d'eau distillée.

-La solution de Na<sub>2</sub> – EDTA : 50mg dans 50 ml de tampon phosphate.

-La solution EDTA – Méthionine (0,1 mM, 13 mM) : 11,16 ml (Na<sub>2</sub> – EDTA) + 580 mg Méthionine et compléter à 100 ml par le tampon phosphate.

-La solution de NBT (75 µM) : 10, 79 mg dans 5ml de tampon phosphate.

-La solution de Riboflavine (2 µM) : 10 mg dans 100 ml de tampon phosphate.

### 9) Dosage de l'activité enzymatique de la GST

-Tampon phosphate (0.1 M, pH 6) :

Solution A, dissoudre 3.58g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (12 H<sub>2</sub>O) dans 100 ml d'eau distillée.

Solution B, dissoudre 1.38 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2 H<sub>2</sub>O) dans 100 ml d'eau distillée.

Mélanger 12.3 ml de la solution A avec 87.7 ml de la solution B

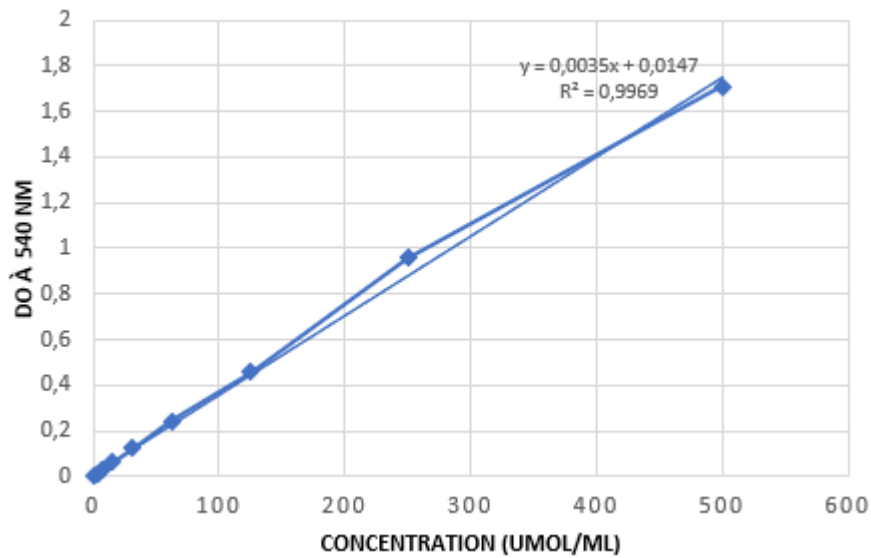
## Annexe

---

-Mixture de CDNB (1mM)+ GSH (5mM) :

Dissoudre 20,26 mg CDNB et 153.65 mg GSH dans 1 ml d'éthanol absolu puis dans 100 ml de tampon phosphate.

### 10) courbe d'étalonnage NO



<https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.16.2024.3725-3747>



African Journal of Biological Sciences

Journal homepage: <http://www.afjbs.com>



Research Paper

Open Access

## Phytochemical Profile, Antioxidant Activity, and Hepatoprotective Effects of *Hedera algeriensis* Aqueous Extract in Ovalbumin-Induced Liver Damage in Wistar Rats

Halimi Imen<sup>1</sup>, Feknous Nesrine<sup>1,2</sup>, Khelef Yahia<sup>3</sup>, Chenna Houssem<sup>1,4</sup>, Saouchi Nouelhouda<sup>1</sup>, Bakhouche Nour elhouda<sup>1</sup>, Sahraoui Rayane<sup>1</sup>, Boulkamh Oussama<sup>1</sup>, Mustafa Abdullah Yilmaz<sup>5</sup>, Oguz Cakir<sup>5</sup>, Gokhan Zengin<sup>6</sup>, Boumendjel Mahieddine<sup>1</sup>, Messarah Mahfoud<sup>1</sup>, Boumendjel Amel<sup>1\*</sup>

### Affiliations:

<sup>1</sup>Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

<sup>2</sup>Laboratoire de Recherche sur la Biodiversité et la Pollution des Ecosystèmes. Université Chadli Bendjedid El-Tarf. Algeria

<sup>3</sup>Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Natural Science and Life, Echahid Hamma Lakhdar University, BP 789, 39000 El-Oued, Algeria

<sup>4</sup>Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques, Nouvelle ville Ali Menjli, Constantine, Algeria

<sup>5</sup>Dicle University Science and Technology Research and Application Center, 21280, Diyarbakir, Turkiye

<sup>6</sup>Physiology and Biochemistry Laboratory, Department of Biology, Science Faculty, Selcuk University, Konya, 42130, Turkey

### \*Corresponding author:

Boumendjel Amel

Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

Telephone: 00213 662062038

Email: [amelibis@yahoo.fr](mailto:amelibis@yahoo.fr)

[amel.boumendjel@univ-annaba.org](mailto:amel.boumendjel@univ-annaba.org)

Volume 6, Issue 16, Dec 2024

Received: 15 Oct 2024

Accepted: 25 Nov 2024

Published: 09 Dec 2024

[doi:10.48047/AFJBS.6.16.2024.3725-3747](https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.16.2024.3725-3747)

**Abstract:**

This study investigates the phytochemical profile and *in vitro* antioxidant activity of the aqueous extract of *Hedera algeriensis* (AEHa), as well as its hepatoprotective effects *in vivo* against oxidative stress and liver damage induced by ovalbumin (OVA) sensitization in a rat model of allergic inflammation. The bioactive compounds (total polyphenols, total flavonoids, and condensed tannins) and antioxidant activities (DPPH, FRAP, TAC) of AEHa were analyzed. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) was used to characterize its phytochemical profile. Twenty-four male Wistar rats were divided into four groups: Group 1 (Control): rats receiving no treatment, Group 2 (OVA-sensitized): rats receiving OVA, Group 3 (AEHa): rats treated with AEHa at a dose of 500 mg/kg by gavage, and Group 4 (OVA+AEHa): OVA-sensitized rats treated with AEHa. Serum biochemical parameters, oxidative stress markers, and liver histology were evaluated. The phytochemical analysis revealed that AEHa was rich in polyphenolic compounds and exhibited significant antioxidant activity. FTIR analysis identified various chemical functional groups in AEHa, indicating its richness in bioactive compounds. Furthermore, AEHa administration effectively protected against OVA-induced liver dysfunction by reducing the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), albumin, and globulin. Additionally, AEHa decreased malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), and advanced oxidation protein products (AOPP), while increasing levels of reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPX), and catalase, and improving liver histology. These findings suggest that the bioactive compounds in *Hedera algeriensis* provide antioxidant and hepatoprotective effects. Therefore, this plant could serve as a source of bioactive natural products, potentially initiating new pharmaceutical research.

**Keywords:** *Hedera algeriensis*, Antioxidant, Hepatoprotective, Oxidative stress, Inflammation, FTIR.

**Introduction**

Allergic asthma is a chronic inflammatory lung condition affecting the airways. It is characterized by heightened sensitivity of the bronchi and reversible obstruction of airflow, which may ultimately result in structural changes to the airway wall. Currently, asthma is a serious public health issue worldwide, with its prevalence and severity steadily increasing in both industrialized and developing countries (Hough et al., 2020). The pathogenesis of asthma is driven by inflammatory cells that produce high amounts of endogenous oxidants, such as hydrogen peroxide and superoxide, leading to a redox imbalance in the airways. This imbalance occurs when antioxidant defenses are overwhelmed, resulting in the accumulation of reactive oxygen species (ROS) and triggering oxidative stress. Oxidative stress exacerbates inflammation and can have systemic effects, affecting not only the lungs but also other critical organs, including the liver (Li, 2015; Michaeloudes, 2022).

The liver plays a pivotal role in maintaining metabolic homeostasis and detoxification, acting as a primary site for metabolizing endogenous and exogenous substances, including inflammatory mediators. In inflammatory diseases, such as allergic asthma, the liver's function can be significantly compromised due to increased production of reactive nitrogen species and

ROS. These molecules contribute to systemic oxidative stress and inflammation by activating transcription factors such as nuclear factor Kappa-B and mitogen-activated protein kinases. These pathways drive the production of inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor-alpha, which can exacerbate damage to both the lungs and the liver. Küpffer cells, the liver's resident macrophages, are key players in this process, linking systemic inflammation to hepatic dysfunction (Barnabas et al., 2023). Despite the primary focus on the lungs in asthma research, investigating hepatic involvement in inflammatory and oxidative stress responses provides critical insights into the systemic nature of the disease. The liver's central role in metabolic processes and its vulnerability to inflammatory mediators make it a crucial organ for studying the broader impacts of allergic asthma. Furthermore, oxidative stress in the liver can have cascading effects on overall health, emphasizing the importance of addressing hepatic dysfunction in systemic inflammatory diseases (Wang et al., 2024). Few studies have specifically explored the extra-pulmonary effects of allergic asthma, highlighting the importance of this research in bridging this knowledge gap.

With growing awareness of the side effects associated with synthetic drugs, there has been renewed interest in natural compounds that support health and well-being. Antioxidants, particularly polyphenols, have been suggested as potential therapeutic agents for mitigating the severity of asthma (Rouibah et al, 2019; Arora et al., 2022, Ahmida et al, 2024). Countless medicinal plants and their derived compounds have shown promise in the treatment of chronic inflammatory diseases, including asthma. This is the case of several Araliaceae such as *Hedera helix*, known for its use in the treatment of bronchial diseases and which has given rise to several experimental studies in animal models (Khan et al, 2020). On the other hand, *Hedera algeriensis*, a member of the Araliaceae family, has not given rise to any experimental studies, not even to elucidate its chemical composition. But it is certainly known for its use in traditional medicine for its therapeutic potential against acute and chronic respiratory diseases. So, to the best of our knowledge, this is the first study to explore the *in vivo* and *in vitro* effects of this plant, providing novel insights into its potential applications. Plants compounds are known for their hepatoprotective, anti-inflammatory, and antioxidant properties, which help maintain redox balance in the liver and mitigate systemic oxidative damage (Luca et al., 2020; Chenna et al, 2024). By focusing on the liver, this research seeks to illuminate not only the systemic impacts of allergic asthma but also the potential role of natural antioxidants, such as those found in *Hedera algeriensis*, in addressing the underexplored hepatic damage caused by inflammation and oxidative stress.

## Materials and methods

## Chemical Reagents

All reagents were of premium quality and purchased from Sigma-Aldrich.

## *In vitro* study

### Plant collection and extraction

The leaves of *Hedera Algeriensis* were collected from Annaba, located in eastern Algeria. The plant was identified by Professor Tarek HAMEL a botanist at the Annaba University, and is referenced in the herbarium of Prof. Gérard de Belair (<http://gdebelair.com/>) under the Voucher number 031\_14. A maceration of 10g of crushed *Hedera Algeriensis* leaves was carried out in 100 mL of distilled water for 24 hours at room temperature and in darkness. The mixture was then filtered using filter paper and the filtrate was collected for further analysis. The extraction yield was calculated by dividing the mass of the extract obtained after maceration by the initial mass of the plant material used, and then multiplying the result by 100 to obtain the percentage yield.

### Total Polyphenol Assay

The determination of total polyphenols was carried out according to the colorimetric method using the Folin-Ciocalteu phenolic reagent (Bouaziz et al., 2010). Briefly, 50  $\mu$ L of the extract were added to 250  $\mu$ L of Folin-Ciocalteu reagent and 500  $\mu$ L of sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (20%). After vortexing, the volume was adjusted to 5 mL with distilled water, and the mixture was incubated for 30 minutes at room temperature. The absorbance was measured at 765 nm. The total phenolic content was determined from the calibration curve equation of gallic acid. Total phenols are expressed in mg of gallic acid per gram of dry weight.

### Total Flavonoid Assay

The quantification of flavonoids was performed using the  $\text{AlCl}_3$  method (Djeridane et al., 2006). An amount of 1 mL of extract was added to 1 mL of  $\text{AlCl}_3$  solution (2% dissolved in methanol). After 15 minutes of incubation, the absorbance was measured against a blank at 430 nm. Total flavonoid concentrations were determined from the calibration curve of rutin. The results were expressed in milligrams of quercetin equivalents per gram of dry weight.

### Condensed Tannin Assay

The quantification of tannins was performed using the method of Julkunen-Tiitto (1985). A volume An amount of 50  $\mu$ L of the extract was added to 3 mL of the vanillin solution (4%) prepared in methanol; then 1,5 mL of concentrated HCl was added. The tubes were then incubated in the dark at room temperature for 20 minutes. The absorbance was measured at 500 nm. The tannin content was calculated from the standard curve equation of catechin. The results were expressed in milligrams of catechin equivalent per gram of dry weight.

### **DPPH Assay**

The test used to measure the DPPH radical-scavenging activity was described by Bouaziz et al. (2010). An amount of 50  $\mu$ L of the extract, tested at various concentrations, were mixed with 5 mL of a methanolic DPPH solution (60 mg/L). After shaking, the solutions were kept in the dark for 30 minutes. The absorbance was then measured at 517 nm against a blank. The result was expressed as IC<sub>50</sub>, the extract concentration ( $\mu$ g/mL) required to inhibit 50% of DPPH radicals.

### **FRAP Assay**

The iron reducing activity was determined according to the method described by Pan et al. (2008). An amount of 1 mL of the extract at different concentrations was mixed with 2.5 mL of a 0.2 M phosphate buffer solution (pH = 6.6) and 2.5 mL of a 1% potassium ferricyanide K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> solution. The tubes were incubated at 50°C for 30 minutes in a water bath, then cooled to room temperature. Trichloroacetic acid (TCA) at 10% (2.5 mL) was added to stop the reaction. The tubes were then centrifuged at 3000g for 10 minutes. The supernatant was collected and mixed with 2.5 mL of distilled water and 500  $\mu$ L of a 1% ferric chloride (FeCl<sub>3</sub>) solution. Absorbance was measured at 700 nm. The results were expressed as EC<sub>50</sub>, the extract concentration ( $\mu$ g/mL) required to reduce 50% of the radicals.

### **Total antioxidant capacity assay**

The total antioxidant activity was measured by the Phosphomolybdenum method described by Berk et al. (2011). An amount of 0.3 mL of the extract was mixed with 3 mL of reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate and 4 mM ammonium molybdate). the absorbance was measured at 695 nm after a 90 min incubation at 95°C. The result was expressed as Trolox equivalents (TEs/g extract).

### **FTIR analysis**

FTIR spectroscopy was used to investigate the aqueous extract of *Hedera algeriensis* using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). FTIR spectra were recorded in the range of 4000 to 500 cm<sup>-1</sup>. The peaks obtained in the IR spectrum represent the functional groups of the sample.

### **In vivo study**

#### **Experimental animals**

Twenty-four Wistar male rats, aged 6-8 weeks and weighing 100-150g, were procured from the Pasteur Institute of Algeria. These rats were housed under standard conditions, provided with food and water ad libitum, and kept in sterile group enclosures. All experiments followed

international guidelines for the care and use of laboratory animals and were approved by our institution's ethics committee under the project PRFU: D01N01UN230120200008.

### **Experimental design**

Wistar rats were divided randomly into four groups. Each group contained 6 rats as follows

Group 1: Control rats received saline water through intraperitoneal injection and inhalation and treated orally only with distilled water.

Group 2: OVA-sensitized rats, received OVA through intraperitoneal injection and inhalation

Group 3: Rats treated only with an aqueous extract of *Hedera algeriensis* (AEHa) at a dose of 500 mg/kg by gavage khan (2020).

Group 4: OVA-sensitized rats and treated with an aqueous extract of *Hedera algeriensis* (OVA+AEHa).

### **Experimental asthma protocol**

The method employed in this study to induce asthma followed by Merefati et al. (2018). Rats were sensitized with an intraperitoneal injection of 1mg/kg OVA mixed with 100 mg aluminum hydroxide during the first three days. For aerosol exposure, rats inhaled 1% OVA once every two days on days 6, 9, 12, 15, 18, and 21 for 20 minutes each day (Figure 1).

### **Administration of the aqueous extract of *Hedera algeriensis***

The aqueous extract of *Hedera algeriensis* was administered for twenty days at a rate of 1mL per day every day (except first day) by gavage at a concentration of 500 mg/Kg BW of rat (figure 1).

### **Sample collection**

Twenty-four hours after the last aerosol exposure, rats were sacrificed, and blood was collected to assess serum biochemical parameters (ALT, AST, ALP, Albumin and globulin). Liver homogenates were also prepared to measure oxidative stress biomarkers (MDA, AOPP, NO, GSH, GPX, GST, SOD and Catalase). Additionally, liver samples were used to evaluate OVA-induced histopathological changes.

### **Quantification of serum biochemical parameters**

The biochemical parameters were assessed in serum samples using an A15 analyzer (Automated Random-Access Analyzer Biosystem 15).

### **Quantification of oxidative stress biomarkers**

**MDA:** The MDA assessment method, as previously described by Buege and Aust (1978).

**AOPP:** The AOPP assay follows the protocol described by Kayali et al. (2006).

**NO:** The measurement of NO levels was conducted following the procedure outlined by Rahman et al. (1996).

**GSH:** The Ellman (1959) method was used for GSH quantification.

**GPx:** The GPx assay was conducted following the procedure outlined by Flohé and Günzler (1984).

**GST:** GST activity was measured according to Habig et al. (1974).

**SOD:** SOD activity was assessed following the method described by Beyer Jr and Fridovich (1987).

**Catalase:** catalase activity was determined using the method of Aebi (1984).

### **Liver histology**

The liver was removed and fixed in 10% formalin for histological examination. Tissue sections were prepared, stained with hematoxylin and eosin (H&E), and observed under a light microscope.

### **Statistical analysis**

All experimental measurements are expressed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test using GraphPad Prism 8 software. When  $p \leq 0.05$ , the variance is considered statistically significant.

## **Results**

### **Yield, and the content of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins**

The aqueous extract from *Hedera algeriensis* leaves yielded approximately 12,5%. The results for the quantitative determination of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins in the AEHa are shown in Table 1. The phytochemical analysis of AEHa revealed that the amounts of total phenolics, total flavonoids and condensed tannins in aqueous extract were  $89,11 \pm 2,52$  mg GAE/g DW,  $10,03 \pm 0,38$ mg QE/g DW and  $2,59 \pm 0,32$  mg CE/g DW, respectively.

### ***In vitro* Antioxidant activity**

The scavenging activity of the AEHa showed an  $IC_{50}$  of  $138.6 \pm 6.07$   $\mu$ g/mL. The ferric reducing antioxidant power showed a reductive potential with an  $EC_{50}$  of  $63.23 \pm 3$   $\mu$ g/mL. Additionally, the total antioxidant capacity had a value of  $1,09 \pm 0,015$  (mmol TE/g) (Table 2).

### **FTIR results**

The infrared spectral analysis was performed to identify the types of functional groups present in the AEHa. Figure 2 illustrates the FTIR spectrum of the AEHa, and Table 3 represents the peaks values with their corresponding functional groups. FTIR analysis of the AEHa revealed

several functional groups. Bands at  $3744.10\text{ cm}^{-1}$  and  $3382.27\text{ cm}^{-1}$  indicate O-H stretching vibrations (alcohols, phenols, amines). The peaks at  $2914.63\text{ cm}^{-1}$  and  $2846.59\text{ cm}^{-1}$  correspond to C-H stretching vibrations of aliphatic chains. The band at  $2114.46\text{ cm}^{-1}$  suggests the presence of alkynes or nitriles. A significant peak at  $1729.64\text{ cm}^{-1}$  corresponds to C=O stretching, typical of carbonyl compounds. Additional bands at  $1617.60\text{ cm}^{-1}$ ,  $1369.98\text{ cm}^{-1}$ ,  $1312.57\text{ cm}^{-1}$ , and  $1244.80\text{ cm}^{-1}$  indicate aromatic and aliphatic C=C, C-H, and C-N vibrations. The peaks at  $1149.77\text{ cm}^{-1}$  and  $1022.92\text{ cm}^{-1}$  is associated with C-O stretching, confirming the presence of alcohols, carbohydrates, and amides. Lastly,  $776.30\text{ cm}^{-1}$  corresponds to aromatic C-H bending vibrations.

### **Effect of AEHa on Serum Biochemical Parameters**

The results of serum biochemical analyses are presented in Table 4. The OVA group showed significantly increased levels of AST, ALT, and ALP ( $p < 0.01$  for ALT and  $p < 0.05$  for AST and ALP) compared to the control rats, with significantly higher levels of albumin and globulin. ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively). Moreover, treatment with the AEHa showed an improvement in these parameters.

### **Effect of AEHa on Liver Antioxidant and Oxidative Stress Biomarkers**

Table 5 illustrates the data concerning liver oxidative stress markers. Levels of MDA, AOPP, and NO were significantly higher in the OVA group compared to the control group ( $p < 0.001$  for MDA and AOPP, and  $p < 0.01$  for NO). However, the administration of the aqueous extract alone in the AEHa group reduced the levels of these markers compared to the OVA group. Additionally, the administration of the aqueous extract in the OVA+AEHa group also decreased these parameters.

### **Effect of AEHa on Liver Antioxidant Enzymes (GPx, GST, CAT, and SOD) and GSH Levels**

Results regarding liver antioxidants such as GSH levels, GPx, GST, SOD, and catalase activity are shown in Figure 3. GSH levels were significantly decreased ( $p < 0.001$ ) in the OVA group compared to the control group. Subsequently, the activities of GPx, GST, SOD, and catalase were also significantly reduced ( $p < 0.001$ ) in the OVA group compared to the control. Furthermore, the administration of the aqueous extract alone in the AEHa group and in the OVA+AEHa group restored all these antioxidant parameters compared to the OVA group.

### **Effect of AEHa on liver histopathology**

In the histological study, different groups of rats were examined to assess the effects of treatment with AEHa on hepatic parenchyma. The control group exhibits normal hepatic morphology, with intact lobular architecture and regular hepatocytes (Figure 4). Conversely,

the group exposed to OVA shows significant alterations, such as sinusoidal enlargement, cellular injury characterized by ballooning and cytoplasmic clarification, as well as dense inflammatory infiltrate. Additionally, significant vascular congestion was observed in portal spaces. In the group treated solely with AEHa, the hepatic parenchyma exhibited histology similar to that of control rats, with no cellular modifications. In the group of rats sensitized to OVA and treated with the AEHa hepatic parenchymal alterations persisted but were minimized, with a reduction in inflammation, vascular congestion, and cellular modifications.

## Discussion

In the present study, *in vitro* analysis revealed that the AEHa contains significant bioactive compounds and exhibits notable antioxidant activity. FTIR analysis confirmed the presence of characteristic functional groups such as hydroxyls ( $\text{-OH}$ ), carbonyls ( $\text{C=O}$ ), aromatic double bonds ( $\text{C=C}$ ), alcohols and glucosides ( $\text{C-O}$ ,  $\text{C-O-C}$ ), aliphatic and aromatic bonds ( $\text{C-H}$ ), alkyne ( $\text{C}\equiv\text{C}$ ) or nitrile ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ) groups, and amines ( $\text{C-N}$ ), suggesting a rich composition of secondary metabolites with potential antioxidant properties. Additionally, treatment with AEHa protected the liver against ROS and inflammation by suppressing inflammation and oxidative stress, restoring serum biochemical markers of liver function, and improving hepatic tissue architecture in a rat model. Furthermore, a decrease in MDA, AOPP, and NO levels, along with an increase in antioxidant enzymes such as GST, GPX, SOD, catalase and GSH, was observed. To the best of our knowledge, this study is the first to investigate the content of polyphenols, flavonoids, condensed tannins as well as antioxidant activity of AEHa, FTIR profile, and its hepatoprotective effects in ovalbumin-induced experimental asthma.

A large group of structurally varied molecule, including polyphenols, flavonoids, all possess one or more hydroxyl groups attached to benzene rings. These hydroxyl groups are fundamental to their chemical structure and play a crucial role in their biological activity and health benefits (Yilmaz et al., 2018). This study evaluated the total phenolic content, total flavonoid content, and condensed tannins in the aqueous extract of *Hedera algeriensis* leaves. The findings showed that the extract contained  $89.11\pm 2.52$  mg GAE/g DW of total phenolics,  $10.03\pm 0.38$  mg QE/g DW of total flavonoids, and  $2.59\pm 0.32$  mg CE/g DW of condensed tannins. This content of polyphenols and flavonoids is higher than that previously reported by Bezruk et al. (2022), which have found values ranging from 0.033 to 2.92 mg EAG/g and from 0.031 to 0.281 mg/g respectively for leaves of *Hedera helix*. Salma et al. (2018) reported a concentration of  $39.16 \pm 0.48$  mg/g for polyphenols and  $2.25 \pm 0.05$  mg/g for flavonoid from *Hedera helix*. Another investigation conducted by Pop et al. (2017) on the ethanolic extract of

*Hedera helix* L. leaves from Romania reported lower values compared to ours. They found a polyphenol content of  $1.03 \pm 0.09$  (mg GAE/g) and flavonoid content of  $0.87 \pm 0.01$  (mg RE/g). To evaluate the hydrogen atom donation ability of aqueous extracts of *Hedera algeriensis*, the stable free radical DPPH was used. A lower IC<sub>50</sub> value means the extract has a stronger ability to neutralize radicals, indicating better antioxidant activity. In this case, AEHa showed a moderate scavenging activity, with an IC<sub>50</sub> value of 138.6 µg/mL. These findings are consistent with those reported by Baharfar et al. (2015) demonstrating that the IC<sub>50</sub> of the aqueous extract of *Hedera pastuchovii* was 139.02 µg/ml, and to those obtained by Pop et al. (2017), showing that the IC<sub>50</sub> of *Hedera helix* was  $122.47 \pm 9.31$  µg/ml.

The ferric ion reduction capacity of a substance can be utilized to assess its antioxidant potential by donating electrons to radicals, thereby rendering them more stable and less reactive (Gözcü et al., 2023). The ferric ion reducing power of AEHa was assessed in this study. The extract demonstrated a reducing power (EC<sub>50</sub>) of 63.23 µg/mL, indicating its ability to convert ferric ions to ferrous ions. according to Saiah et al. (2016) the methanolic extract of *Hedera* possesses a high ferric reducing antioxidant power, with  $373.58 \pm 4.25$  mM Fe (II) Eq/g extract. The total antioxidant capacity was measured using the phosphomolybdate method, which is based on the reduction of molybdate to molybdenum. Our results show that the concentration of the AEHa, which exhibits significant reducing capacity, was  $1.09 \pm 0.015$  mmol Trolox/g extract. This is higher than the values obtained by Bezruk et al. (2020), who found that antioxidant capacities ranged from 0.027 to 0.688 mg/g.

When the results were compared with the literature, minor discrepancies were observed. This difference in antioxidant activity and the content of polyphenols, flavonoids, and tannins could be attributed to various factors: the environment (climate, soil type), harvest period, plant maturity stage, extraction technique, and the method and the solvent used for the assay can affect the composition of bioactive products and their biological properties (Dişli and Yeşilada, 2019).

The chemical composition of the AEHa was revealed by FTIR analysis, which also showed the presence of several functional groups associated with antioxidant compounds. The presence of organic components such as aromatics, phenols, carboxylic acids, and alcohols further supports the extract's high antioxidant content (Patkar and Khan, 2024). These findings are comparable with the study conducted by Suica-Bunghez et al. (2020) on *Hedera helix*, where similar functional groups were identified through FTIR.

The antioxidant activity of AEHa is attributed to its richness in bioactive compounds. For example, in the study carried out by Ahchouch et al. (2024), an HPLC-DAD analysis was

conducted on the leaf extract of *Hedera helix*, which belongs to the same genus as our plant, and revealed six phenolic compounds (p-hydroxybenzoic acid, naringenin, rutin, quercetin, kaempferol, trans-chalcone). Additionally, chemical analyses show that *Hedera helix* leaves are abundant in diverse phytochemicals, including sterols, tannins, terpenoids, glycosides, phenols, emetine alkaloids, flavonoids, saponins, volatile and fixed oils, vitamins, carbohydrates, reducing sugars, and minerals. Moreover, research using disease models and clinical trials has highlighted their potential therapeutic effects, such as anti-inflammatory, analgesic, cough suppressant, expectorant, anticancer, antimicrobial, anticoagulant, and smooth muscle relaxant properties (Shokry et al., 2022).

The liver has a wide range of functions, including detoxification, protein synthesis and the production of enzymes. Typically, when evaluating liver function tests, the discussion includes ALT, AST, ALP, total protein, globulins, and albumin. These tests can show the location of hepatic injury, and the patterns of elevation may be helpful in differential diagnosis (Lala et al., 2023). The hepato-protective effect of Ha was established by serum biochemical markers AST, ALT and ALP followed by histopathological examination. Our results also revealed that serum levels of AST, ALT, and ALP were significantly increased in the OVA-treated group, along with altered liver tissue architecture compared to the control group. These findings agree with the results of Jia et al. (2023) and Khaldi et al. (2022). The rise in transaminase activity has been seen as a marker for the severity of liver inflammation in asthma. This increase is thought to be caused by inadequate gas exchange, leading to reduced hepatic oxygenation and subsequent liver cell damage.

The assessment of protein levels is useful for distinguishing between normal liver function and impaired liver function, as the liver synthesizes most plasma proteins, including albumins and globulins (Kennelly et al., 2015). Our findings demonstrate that sensitization to ovalbumin increased the levels of albumin, and globulins in the liver of the OVA group compared to the control group. Our data are consistent with the results obtained by Nair and Prabhavalkar (2021). However, Administration of the aqueous extract of *Hedera algeriensis* in the OVA sensitized group and treated with the AEHa (OVA+AEHa) exhibited a significant potential protective effect against liver injury and mitigated hepatocellular damage, as confirmed by our histological study, in comparison to the OVA group. This ameliorative effect aligns with the findings of Adil et al. (2017) who found that the aqueous extract of *Hedera helix* possesses a hepatoprotective effect in rats treated with carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity.

Oxidative stress, driven by an imbalance favoring pro-oxidant mechanisms over antioxidant defenses, is a key factor in asthma pathogenesis. For example, inflammatory cells that secrete

peroxidases cause protein carbonylation, resulting in sustained oxidative damage to proteins, lipids, and cell membranes, which can overwhelm the antioxidant defenses and contribute to allergic diseases (Ali,2023; Panedy,2023).

Our study revealed that OVA sensitization significantly increased liver levels of MDA, AOPP, and NO. In biological systems, antioxidant enzymes such as SOD, catalase, glutathione reductase, GPx, GSH, and GST are essential for protecting against oxidative stress. SOD converts superoxide radicals into H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>, which are then broken down into water and oxygen by catalase and GPx. glutathione reductase helps regenerate GSH by converting its oxidized form (GSSG), while GST detoxifies various electrophilic compounds by conjugating them with GSH, thereby sustaining proper intracellular GSH levels. Collectively, these enzymes mitigate the damage caused by free radicals. Indeed, superoxide dismutase (SOD) converts harmful superoxide radicals into hydrogen peroxide, which is then broken down into water and oxygen by catalase and glutathione peroxidase (GPx). Glutathione reductase regenerates reduced glutathione (GSH) from its oxidized form, maintaining intracellular antioxidant defenses. These coordinated actions ensure protection against oxidative damage (Katsoulis, 2003; Schaffer and Baronnikova, 2012). In our study, sensitization with OVA caused a significant reduction in liver antioxidant enzymes (GPx, GST, SOD, and catalase) and GSH content. These results are consistent with those obtained by Abdelmawgood et al. (2023). The administration of AEHa in the OVA+AEHa groups suppressed ovalbumin-induced oxidative liver damage. This was evidenced by enhanced antioxidant enzyme activity, including elevated levels of SOD, catalase, GPx, GST, and GSH, along with decreased MDA, AOPP, and NO levels, demonstrating its antioxidant and hepatoprotective effects. This was further supported by histological findings. Similarly, Moshai-Nezhad et al. (2019) demonstrated the hepatoprotective and antioxidant effects of *Hedera helix* extract on acetaminophen-induced oxidative stress and hepatotoxicity in mice. It has been previously shown that natural products can alleviate pathological aspects at the liver level by inhibiting oxidative stress and inflammation in animals treated with xenobiotics and/or allergens (Berrouague et al, 2019; Khaldi et al, 2022).

### **Conclusion**

From the above results, it is evident that AEHa exhibited both *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity. This was demonstrated by a decrease in the levels of MDA, AOPP, and NO, and an increase in the levels of GPx, GST, SOD, catalase, and GSH content. AEHa prevented oxidative damage as well as histopathological and functional alterations in the liver. The FTIR analysis, performed for the first time on an extract of *Hedera algeriensis*, further corroborated

these findings by identifying functional groups characteristic of bioactive compounds, such as polyphenols, flavonoids, and tannins, which contribute to the antioxidant and hepatoprotective effects observed. This is further supported by the high levels of phytochemical compounds identified.

### List of abbreviations

AEHa: Aqueous extract of <i>Hedera algeriensis</i>	GAE: Gallic acid equivalent
ALP: Alkaline Phosphatase	GPX: Glutathione peroxidase
ALT: Alanine aminotransferase	GSH: L-glutathione reduced
AOPP: Advanced Oxidation Protein Product	GST: Glutathione -S- Transferase
AST: Aspartate aminotransferase	MDA: Malondialdehyde
CE: Catechin equivalent	NO: Nitric oxide
DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	OVA: Ovalbumin
DW: Dry weight	QE: Quercetin equivalent
FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power	ROS: Reactive oxygen species
	SOD: Superoxide dismutase
	TAC: Total antioxidant capacity

### References

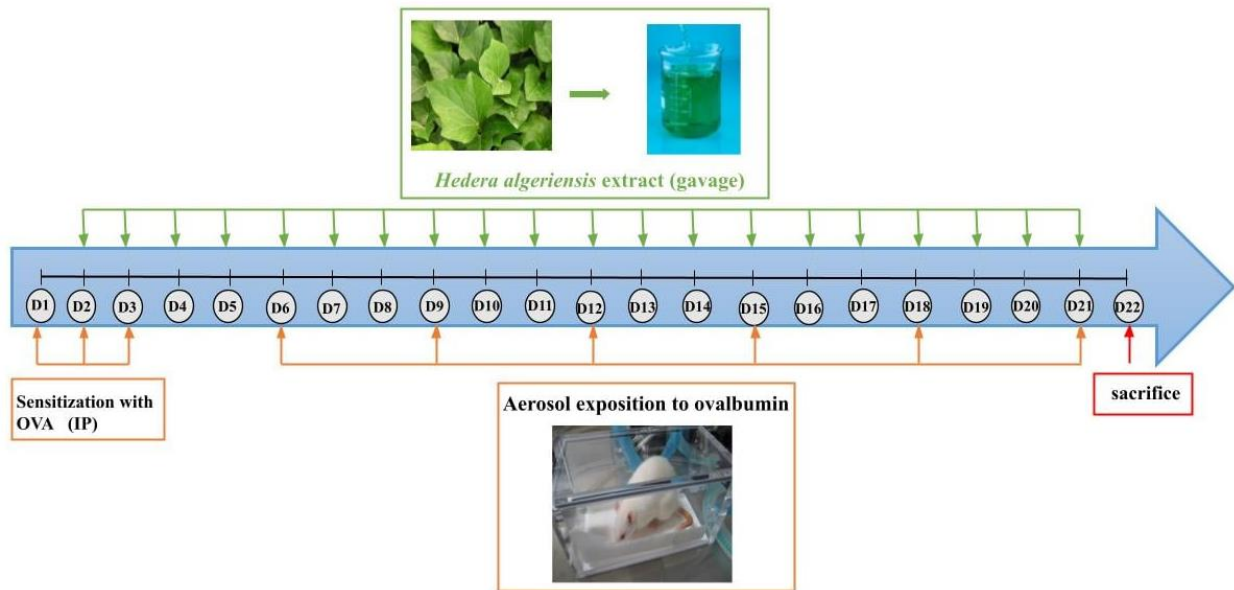
- Abdelmawgood, I.A., Mahana, N.A., Badr, A.M., Mohamed, A.S., Al Shawoush, A.M., Atia, T., Abdelrazak, A.E. and Sakr, H.I. (2023). Echinochrome Ameliorates Physiological, Immunological, and Histopathological Alterations Induced by Ovalbumin in Asthmatic Mice by Modulating the Keap1/Nrf2 Signaling Pathway. *Mar Drugs* 21(8), 455.
- Adil, A., Khan, S.S., Naeem, S., Ikram, R. and Jaffer, N. (2017). Evaluation of acute and chronic hepatoprotective activity of *Hedera helix* L. Aqueous leaf extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat model. *Arch. Phytopathol* 34, 1-15.
- Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*, In: *Methods in enzymology*. Elsevier, 121-126.
- Ahchouch, H., Al-Moubaraki, A.H., Noor, E.A., Hadfi, A., Driouiche, A., Bammou, L., Belkhaouda, M.H., Salghi, R., Chafiq, M. and Chaouiki, A. (2024). From Nature to Protection: Unleashing the Protective Potential of *Hedera helix* Leaves against Corrosion in Harsh Acidic Environments using Experimental and Theoretical Insights. *Arabian Journal of Chemistry* 17(2), 105593.

- Ahmida M., Zadam M.H., Djaber N., Khaldi T., Bensouici C., Khattabi L., Amara H., Zaafour M., Boumendjel A., Messarah M., Boumendjel M. (2024). Exploring the In Vitro and In Vivo Therapeutic Efficacy of Juniperus oxycedrus Cade Oil: Antioxidant, Anti-inflammatory, and Anti-asthmatic Effects in an Allergic Asthma Model *Cellular and Molecular Biology* 70 (7): 58-65.
- Ali, N.H., Rehman, S., Naqvi, M., Reshi, M.R., Gulati, K. and Ray, A. (2023). Withania somnifera extract ameliorates airway inflammation and oxidative stress in ovalbumin-induced bronchial asthma in rats. *South African Journal of Botany* 155, 310-317.
- Arora, P., Ansari, S.H. and Nainwal, A.L.M. (2022). Clerodendrum serratum extract attenuates production of inflammatory mediators in ovalbumin-induced asthma in rats. *Turkish Journal of Chemistry* 46(2), 330-341.
- Baharfar, R., Rahmani, Z., Mohseni, M. and Azimi, R. (2015). Evaluation of the antioxidant and antibacterial properties of ethanol extracts from berries, leaves and stems of *Hedera pastuchovii* Woron. ex Grossh. *Nat Prod Res* 29(22), 2145-2148.
- Barnabas, M., Awakan, O.J., Rotimi, D.E., Akanji, M.A. and Adeyemi, O.S. (2023). Exploring redox imbalance and inflammation for asthma therapy. *Mol Biol Rep* 50(9), 7851-7865.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S.A. and Sarikurkcü, C. (2011). Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *African Journal of Biotechnology* 10(44), 8902-8908.
- Berrouague S., Rouag M., Khaldi T., Boumendjel A., Boumendjel M., Taibi F., Messarah M., (2019). Efficacy of Allium sativum oil to alleviate tebuconazol-induced oxidative stress in the liver of adult rats, *Cellular and Molecular Biology* 65(8), 23-31.
- Beyer Jr, W.F. and Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry* 161(2), 559-566.
- Bezruk, I., Marksa, M., Georgiyants, V., Ivanauskas, L., and Raudone, L. (2020). Phytogeographical profiling of ivy leaf (*Hedera helix* L.). *J Industrial Crops Products* 154, 112713.
- Bezruk, I., Materiienko, A., Gubar, S., Proskurina, K., Budanova, L., Ivanauskas, L. and Georgiyants, V. (2022). Estimation of the influence of the environmental factors on the accumulation of phytochemicals and antioxidant capacity in the ivy leaves (*Hedera helix* L.). *Nat Prod Res* 36, 1014-1019.
- Bouaziz, M., Jemai, H., Khabou, W. and Sayadi, S. (2010). Oil content, phenolic profiling and antioxidant potential of Tunisian olive drupes. *J Sci Food Agric* 90(10), 1750-1758.

- Buege, J.A. and Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation, In: Methods in enzymology. Elsevier, 302-310.
- Chenna H., Khelef Y., Halimi I., Yilmaz MA., Çakir O., Djouder C., Tarhan A., Idoughi K., Boumendjel M., Boumendjel A., Messarah M. (2024). Potential Hepatoprotective Effect of *Matricaria Pubescens* on High-Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Rats. Chemistry and Biodiversity, e202302005 (1 of 12).
- Dişli, M. and Yeşilada, E. (2019). Türkiye’de bitkisel tıbbi ürünler (Türkiye’de bitkisel ürünlerin standardizasyonu, üretimi ve taşıması). Journal of Biotechnology Strategic Health Research 3, 13-21.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. J Food Chemistry 97(4), 654-660.
- Ellman, M.J. (1959). A spectrophotometric method for determination of reduced glutathione in tissues. Anal Biochem 74(1), 214-226.
- Flohé, L. and Günzler, W.A. (1984). Assays of glutathione peroxidase, In: Methods in enzymology. Elsevier, 114-120.
- Gözcü, S., Akşit, Z., Şimşek, S., Kandemir, A., Aydın, A., Yılmaz, M.A. and Akşit, H. (2023). Phytochemical analysis and biological evaluation of *Ferulago setifolia* K. Koch. J Journal of the Science of Food Agriculture. 104(3), 1382-1390.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I.M. and Jakoby, W.B. (1974). The identity of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. Proc Natl Acad Sci U S A 71(10), 3879-3882.
- Hough, K.P., Curtiss, M.L., Blain, T.J., Liu, R.M., Trevor, J., Deshane, J.S. and Thannickal, V.J. (2020). Airway Remodeling in Asthma. Front Med (Lausanne) 7, 191.
- Jia, B., Shang, J., Zeng, H., Wang, X., Fang, M., Xu, L., Liu, X., Wu, K., Gong, Z. and Yang, Q. (2023). Hepatoprotective Effects of Rosmarinic Acid on Ovalbumin-Induced Intestinal Food Allergy Mouse Model. Molecules 28(2)788.
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural Food Chemistry. 33(2), 213-217.
- Katsoulis, K., Kontakiotis, T., Leonardopoulos, I., Kotsovili, A., Legakis, I.N. and Patakas, D. (2003). Serum total antioxidant status in severe exacerbation of asthma: correlation with the severity of the disease. J Asthma. 40(8), 847-854.

- Kayali, R., Cakatay, U., Akcay, T. and Altug, T. (2006). Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat. *Cell Biochem Funct* 24(1), 79-85.
- Kennelly, P.J., Murray, R.K., Jacob, M., Varghese, J.J.R.V., Bender, D.A. and Botham, K.M. (2015). Plasma proteins & immunoglobulins. *Harpers Illustrated Biochemistry* 31.
- Khaldi, T., Chekchaki, N., Rouibah, Z., Chouala, K., Cheniti, H., Boumendjel, M., Taibi, F., Messarah, M. and Boumendjel, A. (2022). Preventive effects of oral administration of *Nigella sativa* oil against smokeless tobacco induced toxicity and oxidative stress in the liver and kidney of allergic asthma induced rats. *J Toxicology Environmental Health Sciences*. 14(3), 291-300.
- khan, S.S., 2020. Evaluation of Acute and Chronic Antidiabetic Activity of Ivy (*Hedera helix*.L) Aqueous Leaf Extract in Rat Model. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 23, 1357-1368.
- Lala, V., Zubair, M. and Minter, D. (2023). Liver function tests. *J StatPearls*.
- Li, S., Tan, H.Y., Wang, N., Zhang, Z.J., Lao, L., Wong, C.W. and Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci* 16(11), 26087-26124.
- Luca, S.V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Wozniak, K., Aprotosoai, A.C. and Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Crit Rev Food Sci Nutr* 60(4), 626-659.
- Marefati, N., Eftekhar, N., Kaveh, M., Boskabadi, J., Beheshti, F. and Boskabady, M.H. (2018). The Effect of *Allium cepa* Extract on Lung Oxidant, Antioxidant, and Immunological Biomarkers in Ovalbumin-Sensitized Rats. *Med Princ Pract* 27(2), 122-128.
- Michaeloudes, C., Abubakar-Waziri, H., Lakhdar, R., Raby, K., Dixey, P., Adcock, I.M., Mumby, S., Bhavsar, P.K. and Chung, K.F. (2022). Molecular mechanisms of oxidative stress in asthma. *Mol Aspects Med* 85, 101026.
- Moshaie-Nezhad, P., Faed Maleki, F., Hosseini, S.M., Yahyapour, M., Iman, M. and Khamesipour, A. (2019). Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hedera helix* extract on acetaminophen induced oxidative stress and hepatotoxicity in mice. *Biotech Histochem* 94(5), 313-319.
- Nair, P. and Prabhavalkar, K. (2021). Anti-asthmatic effects of saffron extract and salbutamol in an ovalbumin-induced airway model of allergic asthma. *J Sinusitis* 5(1), 17-31.
- Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J. and Huang, F. (2008). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan Lour.*) peel. *J Food Chemistry* 106(3), 1264-1270.

- Pandey, V., Yadav, V., Singh, R., Srivastava, A. and Subhashini (2023). beta-Endorphin (an endogenous opioid) inhibits inflammation, oxidative stress and apoptosis via Nrf-2 in asthmatic murine model. *Sci Rep* 13(1), 12414.
- Patkar, S.S. and Khan, S.Y. (2024). Evaluation of Antioxidant Activity and FTIR Spectroscopic Analysis of Bark Extracts of *Psydrax dicoccos* Gaertn. *international journal of plant environment* 10(2), 279-285.
- Pop, C.E., Parvu, M., Arsene, A.L., Parvu, A.E., Vodnar, D.C., Tarcea, M., Toiu, A.M. and Vlase, L. (2017). Investigation of antioxidant and antimicrobial potential of some extracts from *Hedera helix L.* *J Gut* 4(11).
- Rahman, I., Morrison, D., Donaldson, K. and MacNee, W. (1996). Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 154(4), 1055-1060.
- Saiah, H., Allem, R. and Kebir, F. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of six Algerian medicinal plants. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci* 8(1), 367-374.
- Salma, U., Khan, T. and Shah, A.J. (2018). Antihypertensive efficacy of extract of *Hedera helix* in high salt-induced hypertensive Sprague-Dawley rats. *J Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 11(8), 473-479.
- Schaffer, W. and Bronnikova, T. (2012). Peroxidase-ROS interactions. *J Nonlinear Dynamics* 68, 413-430.
- Shokry, A., El-Shiekh, R., Kamel, G. and Ramadan, A. (2022). Phytochemical contents, biological activities and therapeutic applications of *Hedera helix* (ivy leaf) extracts: a review. *The Natural Products Journal* 12(4), 22-32.
- Victoni, T., Barreto, E., Lagente, V. and Carvalho, V.F. (2021). Oxidative imbalance as a crucial factor in inflammatory lung diseases: could antioxidant treatment constitute a new therapeutic strategy? *J Oxidative Medicine Cellular Longevity*, 6646923.
- Wang, Y., Li, C., Li, Z., Moalin, M., Hartog, G.J.d. and Zhang, M. (2024). Computational Chemistry Strategies to Investigate the Antioxidant Activity of Flavonoids—An Overview. *J Molecules* 29(11), 2627.
- Yilmaz, M.A., Ertas, A., Yener, I., Akdeniz, M., Cakir, O., Altun, M., Demirtas, I., Boga, M. and Temel, H. (2018). A comprehensive LC–MS/MS method validation for the quantitative investigation of 37 fingerprint phytochemicals in *Achillea* species: A detailed examination of *A. coarctata* and *A. monocephala*. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis* 154, 413-424.



**Figure 1.** Diagram illustrating the protocol for inducing the experimental model of allergic asthma, along with the treatment using *Hedera algeriensis*.

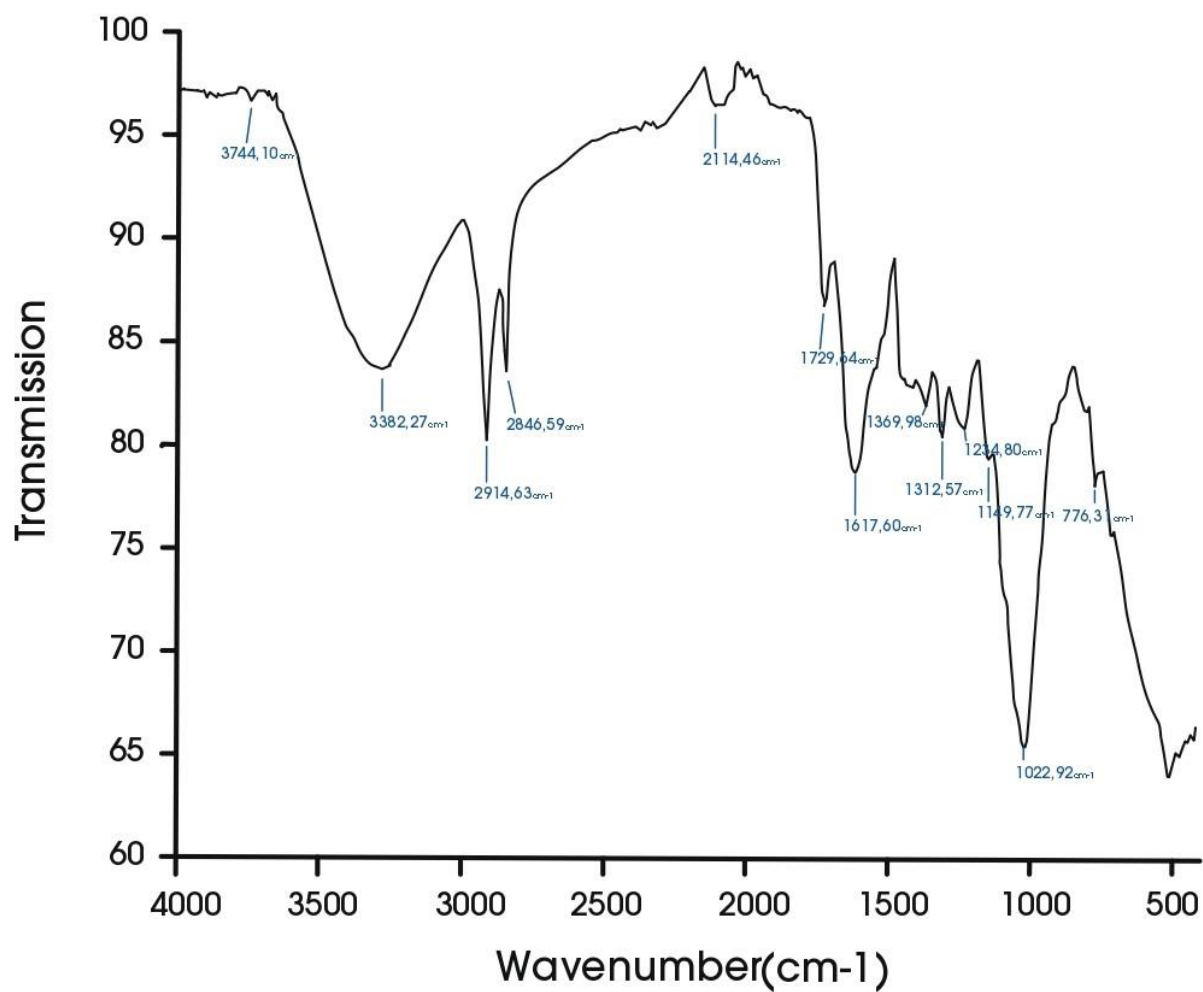
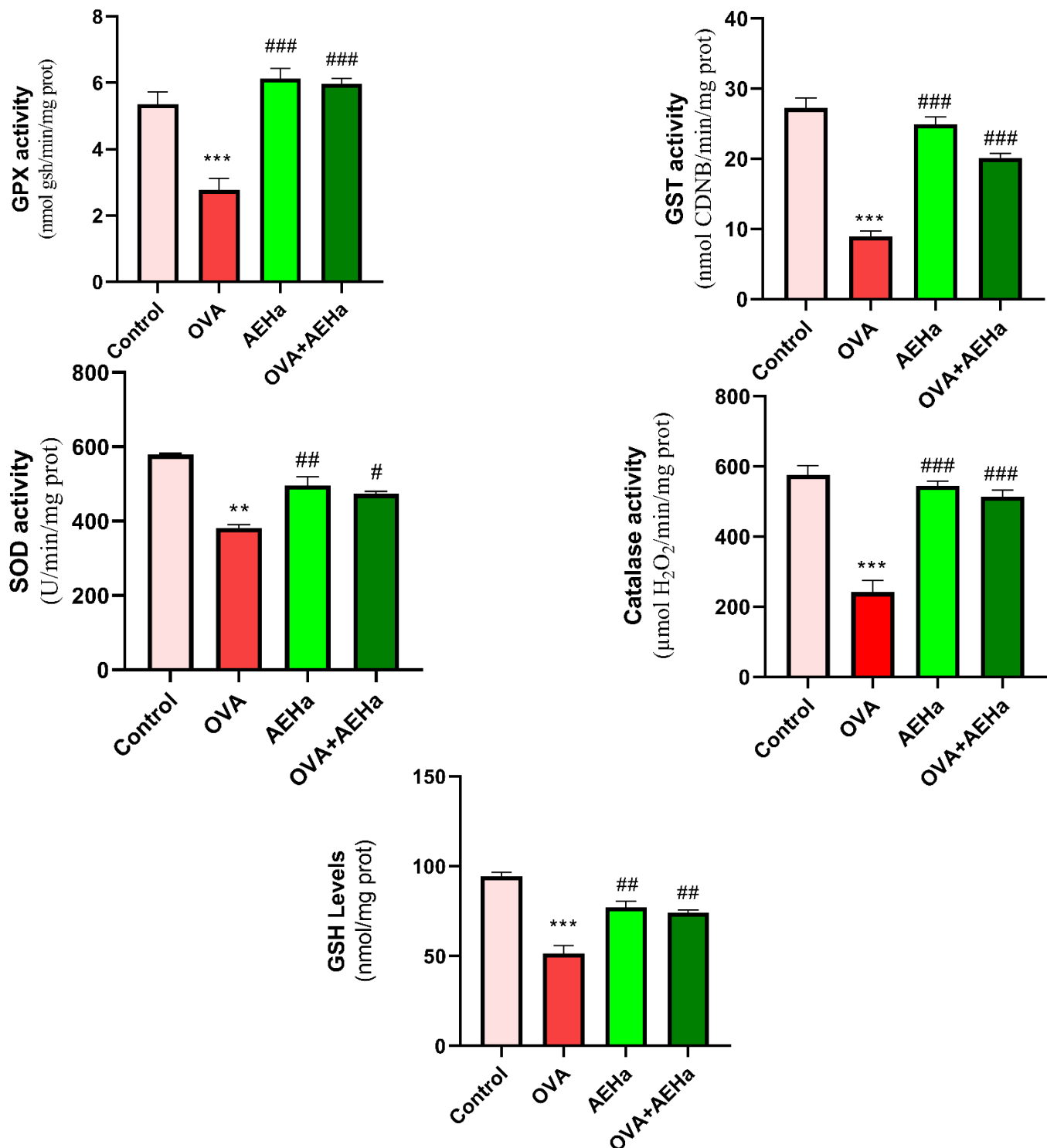
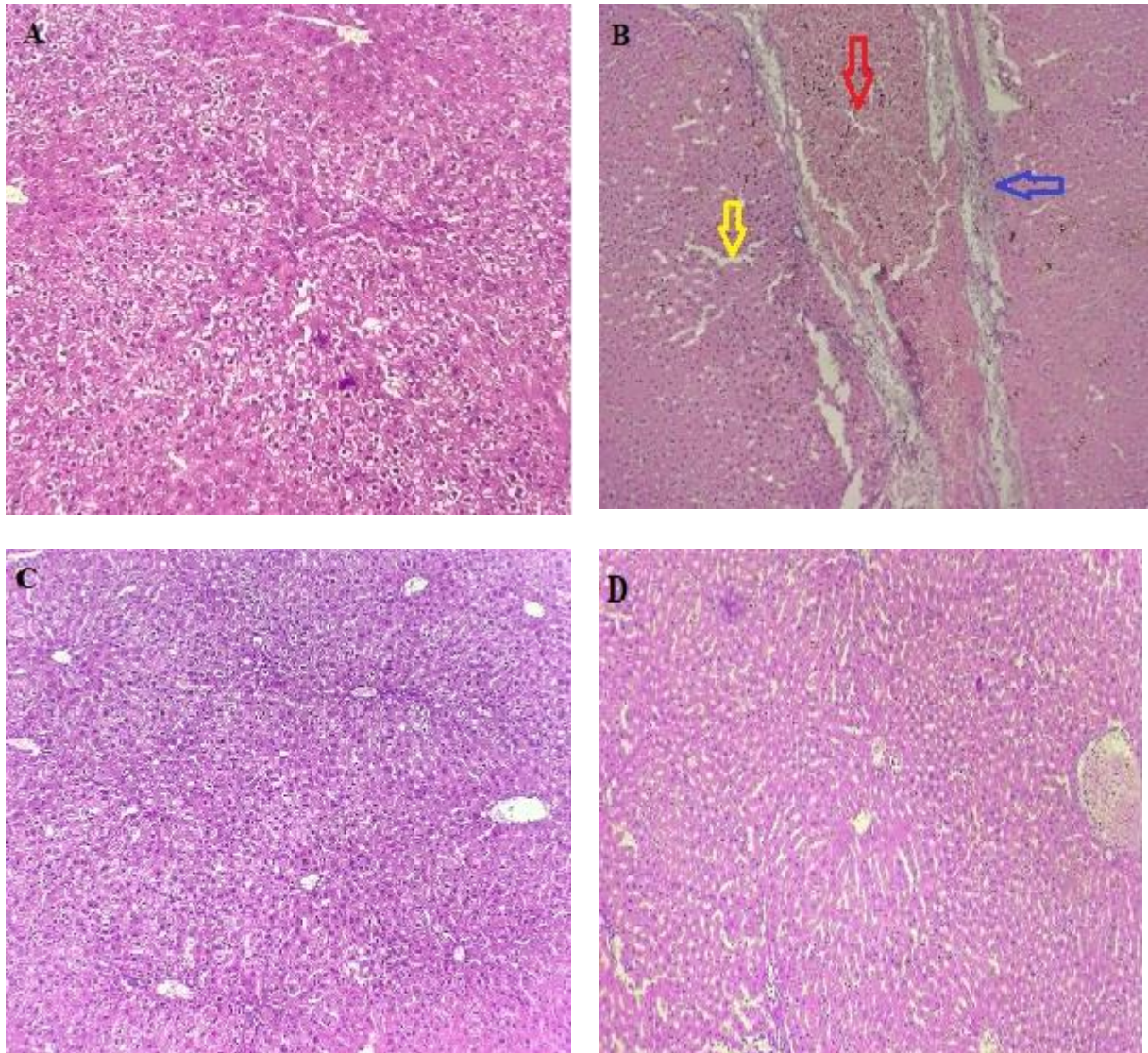


Figure 2. FTIR spectrum of the AEHa.



**Figure 3.** Effect of AEHa on Liver Antioxidant Enzymes (GPx, GST, CAT, and SOD) and GSH Levels. The values represent the means for 6 mice in each group,  $\pm$ SEM. Significant difference: OVA group compared to the control (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ), and OVA+AEHa compared to the OVA group (# $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$ ). OVA: ovalbumin, AEHa: Aqueous extract of *Hedera algeriensis*, GPx: glutathione peroxidase; GST: glutathione S-transferase; GSH: L-glutathione reduced; SOD: superoxide dismutase.



**Figure 4.** Representative micrographs (X10) of histological section stained with hematoxylin-eosin showing the liver. (A) Control rats, (B) Ovalbumin-sensitized rats, (C) Rats treated only with AEHa, (D) rats sensitized and treated with aqueous extract (OVA+AEHa). red arrow: congestion, yellow arrow: sinusoidal dilation, blue arrow: dense inflammatory infiltrate

**Table 1.** Yield, Total polyphenols, Total flavonoids, Condensed tannins content in the AEHa.

Parameters Extract	Yield (%)	Total polyphenols (mg GAE/g DW)	Total flavonoids (mg QE/g DW)	Condensed tannins (mg CE/g DW)
AEHa	12,50	89,11 ± 2,52	10,03 ± 0,38	2,59 ± 0,32

Data are expressed as means ± SEM of triplicate replications. GAE: gallic acid equivalents; QE: quercetin equivalents; CE: catechin equivalents; DW: dry weight, AEHa: aqueous extract of *Hedera algeriensis*.

**Table 2.** DPPH free radical scavenging activity (IC<sub>50</sub> values), ferric reducing antioxidant power (FRAP: EC<sub>50</sub> values) and Total antioxidant capacity (TAC) in AEHa.

Parameters Extract	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	FRAP EC <sub>50</sub> (µg/mL)	TAC (mmol TE/g)
AEHa	138,60 ± 6,070	63,23 ± 3,000	1,09 ± 0,015

Data are expressed as means ± SEM of triplicate replications. EC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>: inhibiting concentration at 50%, TE: Trolox equivalents, AEHa: aqueous extract of *Hedera algeriensis*.

**Table 3.** FTIR Peak Values and Their Interpretation of the AEHa.

Peak values (cm <sup>-1</sup> )	Assigned Functional Group
3744.10	Free O-H stretching vibration (alcohols, phenols)
3382.27	Bonded O-H or N-H stretching vibration (alcohols, amines)
2914.63	Asymmetric C-H stretching vibration (aliphatic chains)
2846.59	Symmetric C-H stretching vibration (aliphatic chains)
2114.46	C≡C (alkynes) or C≡N (nitriles) stretching vibration
1729.64	C=O stretching vibration (carbonyl groups: aldehydes, ketones, esters, carboxylic acids)
1617.60	C=C stretching vibration (aromatic or aliphatic double bonds)
1369.98	C-H deformation vibration (methyl groups)
1312.57	C-N stretching vibration (amines)
1244.80	C-O stretching vibration (alcohols, esters)
1149.77	C-O and C-O-C stretching vibration (alcohols, carbohydrates)
1022.92	C-O or C-N stretching vibration (alcohols, amides, carbohydrates)
776.30	Out-of-plane C-H bending vibration (aromatic rings)

**Table 4.** Effect of AEHa on Serum Biochemical Parameters.

Parameters	Groups			
	Control	OVA	AEHa	OVA+ AEHa
AST (UI/L)	129,33 ± 8,50	153,33 ± 5,13*	124,30 ± 9,20	129,00 ± 4,58##
ALT (UI/L)	124,50 ± 1,50	159,30 ± 5,13**	82,67 ± 9,61	132,00 ± 1,73##
ALP (UI/L)	226,50 ± 6,50	290,00 ± 3,20*	154,67 ± 3,50###	152,00 ± 6,00###
Albumin (g/L)	30,67 ± 1,15	33,67 ± 1,20*	30,33 ± 0,57#	27,10 ± 1,01##
Globulin (%)	5,30 ± 0,70	9,16 ± 0,45**	5,50 ± 0,75##	7,80 ± 0,40#

The values represent the means for 6 mice in each group ± SEM. Significant difference: OVA group compared to the control (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001), and OVA+AEHa compared to the OVA group (#p< 0.05, ##p<0.01, ###p<0.001). OVA: ovalbumin, AEHa: Aqueous extract of *Hedera algeriensis*. AST: Aspartate Aminotransferase, ALT: Alanine Aminotransferase, ALP: Alkaline Phosphatase.

**Table 5.** Effect of AEHa on the hepatic levels of MDA, AOPP and NO.

Parameters	Groups			
	Control	OVA	AEHa	OVA+ AEHa
MDA (nmol/mg prot)	0,27 ± 0,01	0,61 ± 0,02***	0,81 ± 0,01###	0,30 ± 0,05###
AOPP (nmol/mg prot)	4,28 ± 0,20	8,52 ± 0,49***	3,54 ± 0,35###	4,35 ± 0,61###
NO (µmol)	8,81 ± 0,59	13,90 ± 0,57**	8,18 ± 0,73###	10,29 ± 0,85#

The values represent the means for 6 mice in each group ± SEM. Significant difference: OVA group compared to the control (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001), and OVA+AEHa compared to the OVA group (#p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001). OVA: ovalbumin, AEHa: Aqueous extract of *Hedera algeriensis*. MDA: Malondialdehyde, AOPP: Advanced Oxidation Protein Product, NO: Nitric oxide.

---

# **Communications Internationales**

---

**CERTIFICATE**

*Of*

**PARTICIPATION**

**Imen Halimi**

has participated in 1st International Conference on Innovative Academic Studies on 10-13 September in 2022  
at Konya/Turkey.

**PAPER TITLE**

*Anti-inflammatory effect of aqueous extract of Hedera algeriensis in  
wistar rats sensitized to ovalbumin*

**PRESENTATION TYPE**

*Oral*



**ICIAS**



**ICIAS 2022 CONFERENCE CHAIRMAN  
Asst. Prof. Dr. Umut ÖZKAYA**

**CERTIFICATE**

*Of*

**PARTICIPATION**

**Imen Halimi**

has participated in 2nd International Conference on Engineering and Applied Natural Sciences on 15-18  
October in 2022 at Konya/Turkey.

**PAPER TITLE**

*Hepatoprotective effect of aqueous extract of Hedera algeriensis in  
wistar rats sensitized to ovalbumin*

**PRESENTATION TYPE**

*Oral*



**ICEANS  
2022**



**ICEANS 2022 CONFERENCE CHAIRMAN  
Asst. Prof. Dr. Umut ÖZKAYA**

**JICOA'22**

The 5th International Days on Organic  
Chemistry of Annaba

**LCOA and LSBO**

**BADJI MOKHTAR ANNABA UNIVERSITY**

**SCIENCES FACULTY**

**CHEMISTRY DEPARTMENT**

## CERTIFICATE




This certificate is awarded to **Ms. Imen HALIMI** for the participation in “**the 5th International Days on Organic Chemistry of Annaba**” -**JICOA'22**- with a **Poster** presentation entitled:

*Phytochemical study and potential antioxidant activity of the aqueous extract of Hedera algeriensis*

**Co-authors:** Lynda Sabrina OUNACEUR, Housseem CHENNA, Mahfoud MESSARAH, Amel BOUMENDJEL.

**Topic:** *Phytochemistry*

*President of the session*

Pr Nassima BOUZEMJ  


*President of JICOA'22*

Pr. Salah Eddine DJILANI  




**CERTIFICATE**

*Of*

**PARTICIPATION**

**Imen Halimi**

has participated in 1st International Conference on Scientific and Academic Research on 10-13 December in  
2022 at Konya/Turkey.

**PAPER TITLE**

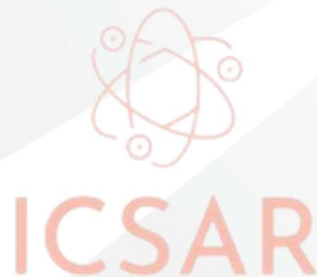
*Hedera algeriensis attenuates inflammation induced by ovalbumin  
in wistar rats*

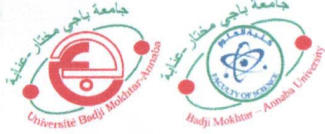
**PRESENTATION TYPE**

*Oral*

**ICSAR 2022 CONFERENCE CHAIRMAN**

**Asst. Prof. Dr. Umut ÖZKAYA**





People's Democratic Republic of Algeria, Ministry of High Education and Scientific Research  
Badji Mokhtar University-Annaba. Faculty of Sciences - Department of Biochemistry  
Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology



## CERTIFICATE OF ATTENDENCE

*HALIMI Imen*

For attending : **Applied Research in Food Sciences, Health and Environment (1st IS-ARFSHE 23)**  
December, 17-18th 2023, Annaba

And Presenting an **Poster Communication** entitled :



**Ameliorative effect of aqueous extract of *Hedera algeriensis* against oxidative stress in the liver in an experimental asthma model**

**Authors :** HALIMI Imen, CHENNA Housseem, FEKNOUS Nesrine, MESSARAH Mahfoud, BOUMENDJEL Amel.

**President of the Scientific Committee**

  
**Pr Boudjema SAMRAOUI**  
President of Scientific Committee  
1st ISARFSHE 2023

**Head of Biochemistry Department**

  
  
الأستاذة الدكتورة  
براتيس زيادان

---

# **Communications nationales**

---



Ref: 22/BS/ENSET/NCASAM/2023

# CERTIFICATE OF ATTENDANCE

## Imene HALIMI

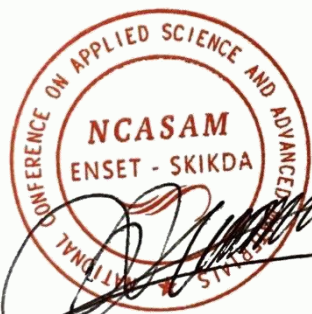
CO-AUTHOR(S): Chenna Houssef, Messarah Mahfoud, Boumendjel Amel

BIOLOGICAL SCIENCES SESSION - PAPER TITLED

**The protective effect of the aqueous extract of *Hedera algeriensis* against lung inflammation and oxidative stress in ovalbumin-induced experimental asthma model**

FOR PARTICIPATION AS POSTER PRESENTATION IN

**2<sup>nd</sup> National Conference on Applied Science and  
Advanced Materials, NCASAM-2023,  
October 23-25, 2023 - ENSET-Skikda**



MANIFESTATION PRESIDENT,  
Dr. Hani BOUBEKRI

PROGRAM COMMITTEE CHAIR,  
Dr. Fayçal MEZIRI



ENSET ASSISTANT DIRECTOR,  
Dr. Fayçal OUMELAZ



# ATTESTAION DE PARTICIPATION

## SEMINAIRE UNIVERS, TERRE, NATURE & VIE



Tlemcen le 24 Novembre 2024

Le président du séminaire atteste que :

**Halimi Imen**, PhD student, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria, Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology,

**Chenna Housseem**, PhD, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria, Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology,

**Feknous Nesrine**, Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria, Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology,

**Messarrah Mahfoud**, Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria, Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology,

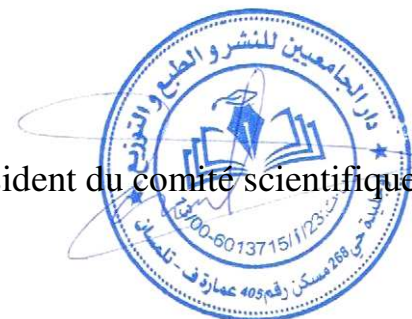
**Boumendjel Amel**, Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria, Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology,

ont participé **au séminaire univers, terre, nature & vie** organisé par la Startup Pedagogic and Scientific Conferences and Publications Tlemcen en collaboration avec la Maison des Universitaires pour l'édition, l'imprimerie et la diffusion Tlemcen ainsi que le Bureau d'Etudes d'Archives de Documentations et d'Informations Tlemcen qui s'est tenu **le 24 Novembre 2024 à Tlemcen** par **une communication orale** intitulée :

**Evaluation of the Protective Effect of the Aqueous Extract of Hedera algeriensis on Ovalbumin-Induced Kidney Oxidative Stress in Wistar Rats**



Le président du séminaire



Le président du comité scientifique



LES JOURNEES NATIONALES  
DEL'AGRO-ECO-BIOTECHNOLOGIE

# Attestation de Participation

CETTE ATTESTATION EST ATTRIBUÉE À

**IMEN HALIMI**

université badji mokhtar annaba



Pour avoir participé aux **2<sup>èmes</sup> Journées Nationales sur l'Agro-éco-biotechnologie (JNAEB-2)** organisées par le **Laboratoire De Recherche De Biotechnologie Des Productions Végétales** (Faculté SNV – Université Blida 01) en collaboration avec le **Centre de Recherche en Agropastoralisme – CRAPast (Djelfa)**, le 05 Décembre 2024. Avec une présentation **Affichée**, intitulée : « **Analyse par LC-MS/MS et activité antioxydante de l'extrait aqueux de Hedera algeriensis** »

Co-auteurs : Chenna Housseem, Feknous Nesrine, Messarah Mahfoud, Boumendjel Mahieddine, Boumendjel Amel

**PRÉSIDENT DU COMITÉ D'ORGANISATION**

**Dr. Hoceme DEGAÏCHIA**

Directeur de division de recherche  
« Biologie de la plante, phytotechnie et  
Valorisation de la biomasse végétale  
au sein du centre de recherche en  
agropastoralisme »



**CODE DE VÉRIFICATION**

**V1Q9Y**

Utilisez ce code pour vérifier  
l'authenticité de cette attestation  
sur le site

[www.authentification.crapast.dz](http://www.authentification.crapast.dz)



**DIRECTEUR DU LABORATOIRE**

**Dr. ZOUAOUI Ahmed**

Directeur du Laboratoire  
de Recherche de Biotechnologie  
des Productions Végétales

05 DEC. 2024