

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

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

Spécialité : Immunotoxicologie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Contribution à l'étude des activités anti-inflammatoires et antidiabétiques de la camomille romaine *Chamaemelum nobile*

Présentée par : Mr ZADAM Mostapha Hichem

Membres de Jury :

Président	LADJAMA Ali	Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba
Directeur de thèse	BOUMENDJEL Mahieddine	Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba
Examineur	HOUALI Karim	Professeur, Université Mouloud Mammeri-Tizi Ouzou
Examinatrice	FEKNOUS Nesrine	Maître de Conférences A, Univ. Chadli Bendjedid-El-Tarf
Examineur	BOUTEBBA Aissa	Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Année universitaire : 2023 /2024

DÉDICACES

Dédicace

À mes très chers parents, Zine-eddine & Nassira

Leur aide inestimable tout au long de ces années d'études ainsi que le leur soutien indéfectible m'ont permis d'évoluer et de réaliser un rêve... la thèse de doctorat !

Je la leur dédie...

À Ma tendre sœur, Abir

À Mon frère Réda

Aux membres de la famille Zadam

A tous ceux à qui je tiens et que j'aime... ils se reconnaîtront à travers ce témoignage !

A la mémoire de mes chers grands-parents

Remerciements

Je remercie **ALLAH**, le Tout Puissant, le Tout Miséricordieux, pour toutes les facilités et les bonnes personnes qu'il a mis sur mon chemin afin d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier les personnes suivantes :

Mon directeur de thèse, Pr **BOUMENDJEL Mahieddine**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail. Je vous remercie pour vos conseils pratiques, techniques et scientifiques tout au long de cette formation. Je voudrais également souligner vos qualités scientifiques et humaines, lesquelles m'ont permis après chaque entretien d'être inspiré et motivé afin de mettre ce travail en exécution le plus efficacement possible. Eternelle reconnaissance.

A Monsieur le Pr **LADJAMA Ali**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury et également pour les connaissances transmises durant mon cursus au Département de Biochimie de l'Université Badji Mokhtar Annaba.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté de donner de leur attention et de leur temps afin d'examiner ce travail : Pr **HOUALI Karim** Professeur à l'Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Dr **FEKNOUS Nesrine** Maître de Conférences à l'Université Chadli Bendjedid El-Tarf, et enfin le Pr **BOUTEBBA Aissa**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba.

La Professeure **BOUMENDJEL Amel**, pour nous avoir donné l'occasion de suivre sa formation doctorale, pour ses compétences mises à notre disposition, pour son soutien scientifique et moral, pour sa disponibilité afin de mener à bien la finalisation de ce document de thèse, mes sincères remerciements.

Le Professeur **MESSARAH Messarah**, Directeur du Laboratoire de Biochimie et de Toxicologie Environnementale, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser mon travail au sein de son laboratoire.

Je remercie également Professeure **TAIBI faiza** pour son aide précieuse et sa présence auprès de nous durant les premières années de cette thèse.

Le Dr **SEKIOU Omar**, Maître de Recherches en Immunologie, pour l'accompagnement dans le protocole du diabète expérimental. Son atelier nous a fortement aidé dans l'accomplissement du protocole au sein du laboratoire LBTE.

A toute l'équipe de recherche du LBTE et du département de Biochimie : **AHMIDA Meriem, DJABER Nesrine, OUNACEUR Lynda Sabrina, BENCHEIKH Rym, CHOUALA Khadidja, BOUDJEMA Kahina, TICHATI Lazhar...** Votre contact au quotidien fut un plaisir sur le plan professionnel et personnel... Je vous souhaite à toutes et à tous franc succès !

A Monsieur **ZAAFOUR Moncef**, Maître de Conférences au Département de Biologie de l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour l'aide prodiguée au départ de cette thèse ainsi que pour l'identification des espèces. Votre sortie en retraite est une perte pour l'université.

Aussi, mes remerciements vont à toute l'équipe du Service d'Anatomie Pathologique à l'Hôpital Ibn Rochd Annaba, pour leur chaleureux accueil ainsi que pour les facilités offertes dans la réalisation des coupes histologiques, tout particulièrement le Docteur **AYAICHIA Assia**.

A Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de cette thèse.

Résumé

Ce travail a pour but d'étudier l'effet anti-inflammatoire, antioxydant et antidiabétique de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile*, dans un modèle de rat Wistar en utilisant deux protocoles (asthme expérimental, diabète expérimental). L'extrait de la camomille romaine a été utilisé contre une inflammation bronchique induite expérimentalement par un allergène l'ovalbumine à raison de 10 µg d'Ovalbumine adsorbée sur 1 mg d'hydroxyde d'aluminium administré par voie intra-péritonéale et inhalé par voie intra-nasale. Ce même extrait a également été testé sur un diabète expérimental provoqué à raison de 150 mg d'alloxane injectés par voie intra-péritonéale à des rats mâles de la souche Wistar. Dans un premier temps, et afin de mesurer l'intensité de l'inflammation bronchique, nous avons procédé à l'évaluation des taux d'interleukine-4, les protéines totales dans le liquide du lavage broncho-alvéolaire et les poumons. Par la suite, les paramètres du stress oxydant ont été analysés dans les érythrocytes ainsi que les poumons. De plus, un dosage des paramètres biochimiques a été réalisé pour l'exploration fonctionnelle hépatique et rénale. Enfin, une étude histopathologie des poumons, a été réalisée. Nos résultats ont montré des perturbations biochimiques au niveau du liquide broncho-alvéolaire, tel que l'augmentation des taux de leucocytes et de lymphocytes associé à une forte peroxydation lipidique. Ces perturbations du système de défense antioxydant enzymatique (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion-S-transférases) et non-enzymatique (glutathion) ainsi que les changements histopathologies ont montré un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire, un œdème modéré des alvéoles, une congestion vasculaire et une suffusion hémorragie confirmant la présence d'un état inflammatoire. L'administration de l'extrait aqueux de la camomille romaine (20mg/kg/jours) à des rats sensibilisés a provoqué une amélioration significative des niveaux de MDA dans les poumons ($2,09 \pm 0,61$ nmol/mg prot) avec une amélioration des taux de GSH ($0,53 \pm 0,16$ µmol/mg prot), GPx ($0,81 \pm 0,33$ µmol GSH/mg de prot), GST($0,76 \pm 0,12$ mol /min /mg de prot), catalase ($92,64 \pm 07,83$ mol H₂O₂/mg prot) et très hautement significative de la SOD ($134,70 \pm 18,01$ UT/mg de prot) avec une amélioration très hautement significative des niveaux de MDA ($1,66 \pm 0,15$ nmol/mg prot) de la GSH ($0,75 \pm 0,27$ µmol/mg prot), GPx($0,79 \pm 0,17$ µmol GSH/mg de prot), GST($0,70 \pm 0,19$ mol /min /mg de prot), catalase ($133,30 \pm 65,59$ mol H₂O₂/mg prot) et SOD ($225,30 \pm 29,84$ UT/mg de prot) au niveau des érythrocytes ainsi qu'une réduction de l'infiltration cellulaire inflammatoire, une discrète dilatation des bronchioles avec un discret œdème des alvéoles et une morphologie des cellules normales. Dans un second temps, et afin de mesurer l'intensité du diabète, le taux de glycémie a été mesuré tout au long de l'expérimentation et les paramètres du stress oxydant sont analysés dans le pancréas. Enfin, une étude histopathologie du pancréas a été réalisée. Nos résultats ont montré des perturbations du système de défense antioxydant enzymatique (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion-S-transférases) et non-enzymatique (glutathion) ainsi que des changements histopathologiques, démontrés par une dégénérescence des îlots de Langerhans. Le traitement par l'extrait aqueux à des rats sensibilisés à l'alloxane a montré un effet anti-diabétique à travers l'amélioration très hautement significative des niveaux de MDA ($0,68 \pm 0,23$ nmol/mg prot) de la GSH ($0,62 \pm 0,13$ µmol/mg prot), GPx($0,77 \pm 0,15$ µmol GSH/mg de prot), GST($0,76 \pm 0,05$ mol /min /mg de prot), catalase ($61,00 \pm 1,39$ mol H₂O₂/mg prot) et SOD ($91,90 \pm 0,97$ UT/mg de prot) au niveau pancréatique ainsi qu'un retour à la normale de presque toutes les perturbations métaboliques et histologiques. Ces résultats nous permettent de conclure à la présence d'une activité anti-inflammatoire et antidiabétique de notre plante.

Mots-clés: Camomille romaine, anti-inflammatoire, anti-diabétique, antioxydant, MDA, SOD, GPx, IL-4.

Abstract

The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory, antioxidant, and antidiabetic effects of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in a Wistar rat model using two experimental protocols (experimental asthma and experimental diabetes). The Roman chamomile extract was utilized against experimentally induced bronchial inflammation using an allergen, ovalbumin, at a dose of 10 µg of ovalbumin adsorbed on 1 mg of aluminum hydroxide, administered intraperitoneally and inhaled intranasally. The same extract was also tested on experimental diabetes induced by injecting 150 mg of alloxan intraperitoneally into male Wistar rats. Initially, to measure the intensity of bronchial inflammation, we evaluated interleukin-4 levels and total protein content in the bronchoalveolar lavage fluid and lungs. Subsequently, oxidative stress parameters were analyzed in erythrocytes and lungs. Additionally, biochemical parameters were assessed for hepatic and renal functional exploration. Finally, a histopathological study of the lungs was conducted. Our results demonstrated biochemical disturbances in the bronchoalveolar fluid, such as increased leukocyte and lymphocyte levels associated with significant lipid peroxidation. These perturbations in the enzymatic (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferases) and non-enzymatic (glutathione) antioxidant defense systems, as well as histopathological changes, revealed a lymphoplasmacytic inflammatory infiltrate, moderate alveolar edema, vascular congestion, and hemorrhagic suffusion, confirming the presence of an inflammatory state. Administration of the aqueous extract of Roman chamomile (20 mg/kg/day) to sensitized rats induced a significant improvement in MDA levels in the lungs (2.09 ± 0.61 nmol/mg prot) with enhanced levels of GSH (0.53 ± 0.16 µmol/mg prot), GPx (0.81 ± 0.33 µmol GSH/mg/ prot), GST (0.76 ± 0.12 mol /min /mg/ prot), catalase (92.64 ± 07.83 mol H₂O₂/mg prot), and a highly significant increase in SOD (134.70 ± 18.01 UT/mg/prot). Moreover, there was a highly significant improvement in erythrocyte levels of MDA (1.66 ± 0.15 nmol/mg prot), GSH (0.75 ± 0.27 µmol/mg prot), GPx (0.79 ± 0.17 µmol GSH/mg/ prot), GST (0.70 ± 0.19 mol /min /mg/ prot), catalase (133.30 ± 65.59 mol H₂O₂/mg prot), and SOD (225.30 ± 29.84 UT/mg/prot), as well as a reduction in inflammatory cell infiltration, mild bronchiolar dilation with slight alveolar edema, and normal cell morphology.

Secondly, to measure diabetes intensity, blood glucose levels were monitored throughout the experiment, and oxidative stress parameters were analyzed in the pancreas. A histopathological study of the pancreas was also performed. Our results showed disturbances in the enzymatic (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferases) and non-enzymatic (glutathione) antioxidant defense systems, as well as histopathological changes demonstrated by degeneration of the islets of Langerhans. Treatment with the aqueous extract in alloxan-sensitized rats demonstrated an anti-diabetic effect through highly significant improvements in pancreatic levels of MDA (0.68 ± 0.23 nmol/mg prot), GSH (0.62 ± 0.13 µmol/mg prot), GPx (0.77 ± 0.15 µmol GSH/mg/ prot), GST (0.76 ± 0.05 mol /min /mg/ prot), catalase (61.00 ± 1.39 mol H₂O₂/mg prot), and SOD (91.90 ± 0.97 UT/mg/prot), as well as a return to normal of almost all metabolic and histological disturbances. These results allow us to conclude the presence of anti-inflammatory and antidiabetic activities in our plant extract.

Keywords: Roman chamomile, anti-inflammatory, anti-diabetic, antioxidant, MDA, SOD, GPx, IL-4.

Liste des figures

FIGURE 1. BRONCHE PULMONAIRE NORMALE ET ASTHMATIQUE	4
FIGURE 2. PREVALENCE DE L'ASTHME SELON L'AGE ET LE SEXE EN ALGERIE	4
FIGURE 3. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA CASCADE INFLAMMATOIRE DANS L'ASTHME ALLERGIQUE.....	8
FIGURE 4. REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UNE BRONCHE NORMALE (A GAUCHE) ET D'UNE BRONCHE AYANT SUBI UN REMODELAGE (A DROITE).....	8
FIGURE 5. MECANISME DE SECRETION DE L'INSULINE PAR LES CELLULES BETA PANCREATIQUE.....	10
FIGURE 6. REPRESENTATION DU MECANISME DE L'INSULINORESISTANCE (PETERSEN ET AL., 2018).....	13
FIGURE 7. INFLUENCE DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO) SUR LES CELLULES BETA DANS LE DIABETE DE TYPE 1 (ZAJEC ET AL., 2022)	14
FIGURE 8. PLANCHE D'ILLUSTRATION DES DIFFERENTES PARTIES DE <i>CHAMAEMELUM NOBILE</i>	24
FIGURE 9. LOCALISATION GEOGRAPHIQUE DE LA CAMOMILLE ROMAINE	25
FIGURE 10. CARTE DE LA REGION DE LA RECOLTE	31
FIGURE 11. CHAMP DE CAMOMILLE ROMAINE (REGION D'EL-TARF)	32
FIGURE 12. SECHAGE DE LA PLANTE AVANT BROYAGE	32
FIGURE 13. PREPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX.....	33
FIGURE 14. FILTRATION DE L'EXTRAIT AQUEUX DE LA PLANTE	34
FIGURE 15. METHODE DE RACLAGE	35
FIGURE 16. DISPOSITIF EXPERIMENTAL D'ELEVAGE DES RATS BLANC	36
FIGURE 17. STRUCTURE MOLECULAIRE DE L'ALLOXANE	37
FIGURE 18. POSOLOGIE DU GLUCOPHAGE UTILISE	38
FIGURE 19. IDENTIFICATION INDIVIDUELLE DES RATS	42
FIGURE 20. DOSAGE DE LA GLYCEMIE	43
FIGURE 21. LECTEUR ACCU CHEK	44
FIGURE 22. SOLUTION DE L'EXTRAIT AQUEUX ET SOLUTION GLUCOPHAGE.....	46
FIGURE 23. GAVAGE DES RATS	46
FIGURE 24. RESUME GRAPHIQUE DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL UTILISE	47
FIGURE 25. SCHEMA RECAPITULATIF DU PROTOCOLE DU DIABETE EXPERIMENTAL	48
FIGURE 26. SCHEMA RECAPITULATIF DU PROTOCOLE D'ATHME EXPERIMENTAL	50
FIGURE 27. PROTOCOLE EXPERIMENTAL	51
FIGURE 28. PROVOCATION DES ANIMAUX PAR AEROSOL	51
FIGURE 29. REACTION DU DIALDEHYDE MALONIQUE AVEC L'ACIDE THIOBARBITURIQUE	53
FIGURE 30. PRINCIPE DE DOSAGE DU GLUTATHION	54
FIGURE 31. SCHEMA DU PRINCIPE DE LA TECHNIQUE ELISA SANDWICH UTILISEE	56
FIGURE 32. POURCENTAGE D'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT DE <i>CHAMAEMELUM NOBILE</i>	59
FIGURE 33. VARIATIONS DES PARAMETRES DE STRESS OXYDATIFS AU NIVEAU DES POUMONS	63
FIGURE 34. VARIATIONS DES PARAMETRES DE STRESS OXYDATIFS AU NIVEAU DES ERYTHROCYTES	64

FIGURE 35. COUPE HISTOLOGIQUE DU PARENCHYME PULMONAIRE (GROSSISEMENTS X25).....	65
FIGURE 36. EFFETS DU TRAITEMENT ORAL AVEC L'EXTRAIT DE LA CAMOMILLE ROMAINE SUR LA GLYCEMIE	69
FIGURE 37. VARIATION DES PARAMETRES DU STRESS OXYDANTS AU NIVEAU DU PANCREAS	71
FIGURE 38. COUPE HISTOLOGIQUE DU PANCREAS (GROSSISEMENTS X25)	72

Liste des tableaux

TABLEAU I. FACTEURS DECLENCHANT L'ASTHME	7
TABLEAU II. CARACTERISTIQUES RESPECTIVES DES DIABETES DE TYPE 1 ET 2	11
TABLEAU III. CONSTITUTION DES LOTS DES RATS POUR LE MODELE DE DIABETE	42
TABLEAU IV. CALCULS DES DOSES D'ALLOXANE UTILISEES POUR CHAQUE ANIMAL.....	45
TABLEAU V. RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE LA CAMOMILLE ROMAINE	59
TABLEAU VI. VARIATION DU POIDS CORPORELS, POIDS RELATIFS ET ABSOLU DU POUMON.....	61
TABLEAU VII. VARIATIONS DES CELLULES DE LA LIGNEE LEUCOCYTAIRE AU NIVEAU DU LIQUIDE BRONCHO-ALVEOLAIRE (LBA).....	62
TABLEAU VIII. VARIATIONS DES PARAMETRES DE STRESS OXYDATIF ET DE IL-4 AU NIVEAU DES POUMONS	62
TABLEAU IX. VARIATIONS DES PARAMETRES DE STRESS OXYDATIF ET DE IL-4 AU NIVEAU DES ERYTHROCYTES	64
TABLEAU X. VARIATION DES PARAMETRES DE LA GLYCEMIE SANGUINE	68
TABLEAU XI. VARIATION DU POIDS CORPORELS, ET ABSOLU DU PANCREAS	70
TABLEAU XII. VARIATIONS DES PARAMETRES DE STRESS OXYDATIFS AU NIVEAU DU PANCREAS	70

Liste des annexes

ANNEXE 1. COMPOSITION DE L'ALIMENT POUR 1 KILOGRAMME DE NOURRITURE (ONAB, BEJAÏA)	94
ANNEXE 2. SOLUTIONS UTILISEES POUR LE DOSAGE DES PARAMETRES DU STRESS OXYDANT	95
ANNEXE 3. REACTIFS UTILISES POUR LE DOSAGE DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE	96
ANNEXE 4. REACTIFS UTILISES POUR LE DOSAGE DE LA CATALASE	97
ANNEXE 5. PREPARATION DES SOLUTIONS (ELISA)	98
ANNEXE 6. GAMME D'ETALONNAGE DE L'ACIDE GALLIQUE	100
ANNEXE 7. GAMME D'ETALONNAGE DE LA QUERCETINE.....	100
ANNEXE 8. GAMME D'ETALONNAGE DE LA CATECHINE.....	101
ANNEXE 9. GAMME D'ETALONNAGE DES PROTEINES	101
ANNEXE 10. GAMME D'ETALONNAGE DE L'IL-4	102

Liste des abréviations

AINS	Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdien
DC	Dendritic cell
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
FcεRI	Récepteur de forte affinité pour l'IgE
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion S-transférase
HRB	Hyperréactivité bronchique
IFN	Interféron
IgE	Immunoglobulines E
IL-4	Interleukine 4
NF-κB	Nuclear factor-kappa B
Nrf2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
PAF	Platelet activating factor
PGE2	Prostaglandine E2 ;
PGF2	Prostaglandine F2 ;
PGD2	Prostaglandine D2
PPAR-γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PRR	Récepteurs de l'immunité innée
RBP-4	Retinol-binding protein
RE	Réticulum endoplasmique
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SOD	Superoxyde dismutase
TARC	Thymus activation-regulated chemokine
TGF-β	Tumor growth factor
Th1	T helper 1 cell
Th2	T helper 2 cell
TLR-4	Toll Like Receptor 4
TNF	Tumour Necrosis Factor
TNF-α	Tumor necrosis factor
TQ	Thymoquinone
TSLP	Lymphopoiétine stromale thymique

Table des matières

RESUME	I
ABSTRACT	II
ملخص	III
LISTE DES FIGURES.....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	VI
LISTE DES ANNEXES	VII
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VIII
TABLE DES MATIERES	IX
INTRODUCTION	1
1 CHAPITRE I. L'ASTHME ALLERGIQUE	4
1.1 PREVALENCE DE LA MALADIE	4
1.2 FACTEURS INFLUENÇANT L'EXPRESSION DE L'ASTHME.....	5
1.2.1 <i>Facteurs prédisposants</i>	5
1.2.1.1 Terrain atopique.....	5
1.2.1.2 Le tabac.....	5
1.2.1.3 Le sexe.....	6
1.2.1.4 L'alimentation	6
1.2.1.5 Obésité.....	6
1.2.2 <i>Facteurs environnementaux</i>	6
1.2.2.1 Les allergènes.....	6
1.2.3 <i>Autre facteurs</i>	7
1.2.4 <i>Physiopathologie de l'asthme</i>	7
2 CHAPITRE II. LE DIABETE	10
2.1 DEFINITION.....	10
2.2 METABOLISME ET CONTROLE DE LA GLYCEMIE	10
2.2.1 <i>Diabète type 1</i>	11
2.2.2 <i>Diabète type 2</i>	11

2.3	FACTEURS DE RISQUE	12
2.3.1	<i>Facteurs de risque du diabète type 1</i>	12
2.3.2	<i>Facteurs de risque du diabète type 2</i>	12
2.4	PHYSIOPATHOLOGIE DU DIABETE	12
2.4.1	<i>L'insulinorésistance</i>	12
2.4.2	<i>Déficit de l'insulinosécrétoire</i>	13
3	CHAPITRE III. STRESS OXYDANT	16
3.1	DEFINITION	16
3.2	GENERATION DU STRESS OXYDANT	16
3.3	SOURCES DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO)	16
3.3.1	<i>Les espèces réactives de l'oxygène endogènes</i>	16
3.3.1.1	Les mitochondries	16
3.3.1.2	Les peroxysomes	17
3.3.1.3	Le réticulum endoplasmique	17
3.3.1.4	Phagocytose	17
3.3.2	<i>Les espèces réactives de l'oxygène exogène</i>	18
3.3.2.1	Ultraviolet	18
3.3.2.2	Pollution, ozone	18
3.3.2.3	Fumée de tabac, alcool	18
3.4	EFFETS SUR L'ORGANISME DU STRESS OXYDANT	19
3.4.1	<i>Effets moléculaires</i>	19
3.4.1.1	Altération des membranes lipidiques.....	19
3.4.1.2	Altération de l'ADN	19
3.4.1.3	Altération des protéines.....	19
3.5	PRINCIPALES AFFECTIONS LIEES AU STRESS OXYDANT	19
3.5.1	<i>Athérosclérose</i>	19
3.5.2	<i>Cancers</i>	20
3.5.3	<i>Diabète de type 2</i>	20
3.5.4	<i>Maladies neurodégénératives</i>	20
3.5.5	<i>Maladies rhumatismales</i>	20

4	CHAPITRE IV. CAMOMILLE ROMAINE (CHAMAEMELUM NOBILE)	22
4.1	ÉTYMOLOGIE :	22
4.2	DESCRIPTION DE LA CAMOMILLE ROMAINE	23
4.3	ORIGINE ET DISTRIBUTION	25
4.4	COMPOSITION CHIMIQUE	26
4.4.1	<i>Les phénols</i>	26
4.4.2	<i>Les tanins</i>	26
4.4.3	<i>Les flavonoïdes</i>	26
4.5	LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DE LA CAMOMILLE ROMAINE	27
4.5.1	<i>Effets anti-inflammatoire et analgésique</i>	27
4.5.2	<i>Effet hypoglycémiant</i>	27
4.5.3	<i>Effet anticancéreux</i>	28
4.5.4	<i>Effet antioxydant</i>	28
5	MATERIEL ET METHODES.....	31
5.1	OBJECTIFS VISES.....	31
5.2	MATERIEL VEGETAL	31
5.2.1	<i>Récolte et cueillette du matériel végétal</i>	31
5.2.2	<i>Préparation de l'extrait aqueux</i>	33
5.3	MATERIEL ANIMAL	35
5.3.1	<i>Les rats de la souche Wistar</i>	35
5.3.2	<i>Conditions d'élevage</i>	36
5.4	REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES	37
5.4.1	<i>Présentation de l'Alloxane</i>	37
5.4.2	<i>Présentation de l'ovalbumine</i>	37
	<i>Définition de glucophage</i>	38
5.5	METHODES D'ETUDE.....	39
5.5.1	<i>Etude de la composition chimique de la camomille romaine</i>	39
5.5.1.1	Dosage des phénols totaux	39
5.5.1.1.1	Principe.....	39

5.5.1.1.2	Mode opératoire	39
5.5.1.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
5.5.1.2.1	Principe.....	39
5.5.1.2.2	Mode opératoire	39
5.5.1.3	Dosage des tanins condensés.....	40
5.5.1.3.1	Principe.....	40
5.5.1.3.2	Mode opératoire	40
5.5.2	<i>Etude de l'activité antioxydante in vitro</i>	40
5.5.2.1	Dosage du DPPH.....	40
5.5.2.1.1	Principe.....	40
5.5.2.1.2	Mode opératoire	40
5.6	PROTOCOLE D'ETUDE DU DIABETE	42
5.6.1	<i>Protocole expérimental</i>	42
5.6.1.1	Constitution des lots des rats	42
5.6.1.2	Pesée.....	42
5.6.1.3	Dosage du glucose.....	42
5.6.1.3.1	Prélèvement sanguins	43
5.6.1.3.2	Mesures glycémiques	43
5.6.1.4	Induction du diabète sucré expérimental chez les rats	44
5.6.1.4.1	Le diabète induit par l'alloxane	44
5.6.1.4.2	Préparation de l'eau + sucre.....	45
5.6.1.5	Préparation de la solution glucophage	46
5.6.1.6	Le traitement.....	46
5.7	PROTOCOLE D'ETUDE DE L'ASTHME	49
5.7.1	<i>Protocole expérimental</i>	49
5.7.2	<i>L'élevage</i>	49
5.7.3	<i>Formation des lots et traitements des rats</i>	49
5.7.4	<i>Sacrifice</i>	52
5.8	DOSAGE DES PARAMETRES DU STRESS OXYDANT.....	53
5.8.1	<i>Dosage des protéines</i>	53

5.8.1.1	Principe	53
5.8.2	<i>Dosage du Malondialdehyde (MDA)</i>	53
5.8.2.1	Principe	53
5.8.3	<i>Détermination du taux de glutathion réduit</i>	53
5.8.3.1	Principe	53
5.8.4	<i>Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase</i>	54
5.8.4.1	Principe	54
5.8.5	<i>Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase</i>	54
5.8.5.1	Principe	54
5.8.6	<i>Dosage de l'activité enzymatique de la catalase</i>	55
5.8.6.1	Principe	55
5.8.7	<i>Dosage de l'activité des glutathion-S-transférases GSTs</i>	55
5.8.7.1	Principe	55
5.9	DOSAGE ELISA DE L'IL-4	55
5.9.1	<i>Préparation de la gamme</i>	56
5.9.2	<i>Etapas du dosage ELISA</i>	56
5.10	EXAMEN HISTOPATHOLOGIE	57
5.10.1	<i>Fixation</i>	57
5.10.2	<i>Enrobage et obtention des blocs</i>	58
5.10.3	<i>Confection des coupes</i>	58
5.10.4	<i>Coloration et montage</i>	58
5.11	ANALYSES STATISTIQUES	58
6	RESULTATS ET DISCUSSION	59
6.1	RESULTAT DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE LA CAMOMILLE ROMAINE 59	
6.2	RESULTATS DU PROTOCOLE D'ASTHME EXPERIMENTAL	61
6.2.1	<i>Effets du traitement de la plante et la sensibilisation de l'OVA sur la lignée leucocytaire</i>	61
6.2.2	<i>Dosage des protéines totales</i>	61
6.2.3	<i>Variation des paramètres du stress oxydant au niveau du poumon et des érythrocytes</i>	62
6.2.4	<i>Au niveau pulmonaire</i>	62

6.2.5	<i>Au niveau érythrocytaire</i>	63
6.2.6	<i>Etude histologique des coupes de poumons</i>	64
6.2.7	<i>Discussion</i>	65
6.3	RESULTATS DU PROTOCOLE DE DIABETE EXPERIMENTAL	68
6.3.1	<i>Effets de l'administration orale de la camomille sur la glycémie</i>	68
6.3.2	<i>variation du poids corporels</i>	69
6.3.3	<i>Au niveau du pancréas</i>	70
6.4	ETUDE HISTOLOGIE DES COUPES DE PANCREAS	71
6.4.1	<i>Discussion</i>	72
CONCLUSION		77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		80
ANNEXES DE LA THESE		94

Introduction

L'asthme et le diabète sont des maladies chroniques qui constituent un problème de santé publique du fait de leur augmentation constante durant ces dernières décennies. Ces pathologies sont en partie dues à des déséquilibres internes entre les pro-oxydants et les antioxydants disponibles naturellement dans l'organisme. Le stress oxydant résulte du déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, comme la carence en substances nutritives protectrices et antioxydantes nécessaires dans le régime alimentaire peuvent affecter négativement l'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants dans l'organisme. (Sadatsafavi et *al.*, 2015). Pour maintenir l'équilibre antioxydant/pro-oxydant, l'organisme humain est protégé contre le stress oxydatif par un système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique aussi bien endogène qu'exogène, agissant synergiquement pour renforcer le système antioxydant spontané qui peut être défaillant dans certaines conditions, une supplémentation en molécules antioxydantes naturelles est nécessaire. Le traitement de ces pathologies nécessite la prescription de fortes doses de corticoïdes, ce qui expose les personnes à des effets secondaires augmentant le risque de diabète, particulièrement chez les patients prédisposés ayant des facteurs de risques tels que le diabète familial, l'obésité, le syndrome métabolique (Uppal et *al.*, 2023). De nombreuses études se sont donc orientées vers la phytothérapie comme solution de soutien à la médecine en revenant vers les connaissances empiriques. Elle demeure, le recours principal pour une grande majorité des populations n'ayant pas accès aux services de la médecine moderne (Nick et *al.*, 2018). Plusieurs traitements empiriques utilisent les plantes et tout leur bagage phytochimique afin d'atténuer certains symptômes ou de guérir certaines pathologies. Ces substances phytochimiques permettent donc de prévenir, de traiter ou de réduire plusieurs maladies, notamment le diabète et l'asthme, tout en évitant les effets secondaires des médicaments synthétiques (Yomna, 2012).

En Algérie, l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales est connue depuis la nuit des temps. Elle s'est formalisée avec la venue des scientifiques arabo-musulmans tels que Ibn Al Baytar, qui a inventorié et formalisé l'utilisation des ressources phytogénétiques de l'Algérie d'antan. Notre recherche s'est donc intéressée à une plante poussant à l'état spontané dans la région de l'Est algérien, la camomille romaine (*Chamaemelum nobile*) appartenant à la famille des Asteraceae. Cette dernière, largement présente en Afrique du Nord, se décline en plusieurs genres, voire plusieurs dizaines d'espèces et variétés. Certaines occupent les prairies

et les forêts. Une grande diversité de taxons existe, parmi lesquels nous citerons : Camomille romaine (*Chamaemelum nobile*) ; Anthémis fétide (*Anthemis cotula*) ; Santoline petit cyprès (*Santolina chamaecyparissus*) ; Matricaire perforée ou Matricaire inodore (*Tripleurospermum inodorum*) ; Grande Camomille (*Tanacetum parthenium*) ; Petite Camomille, (*Matricaria recutita*). Ces espèces sont utilisées par les autochtones en médecine humaine et vétérinaire.

Nos recherches ont porté sur l'extraction et l'analyse chimique puis l'étude des activités biologiques de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile*. Plusieurs études sur cette plante ont révélé de puissants effets antioxydants, anti-inflammatoires (Danciu et al., 2018 ; Cicco et al., 2023) antibactériennes (Das et al., 2019 ; Kazemian et al., 2018), antidiabétiques, anti-allergiques, anti-antispasmodiques, expliqués par sa richesse en composés phénoliques tels que les polyphénols, les tannins, les flavonoïdes...etc. (Haghi et al., 2014, Jianping et al., 2014, Ghaed et al., 2015). En Algérie plusieurs études ont été réalisées *in vitro* sur les activités biologiques de la camomille comme celle de Bekhit et al. (2022) sur deux extraits, (éthanolique et aqueux) obtenus à partir des parties aériennes de *Matricaria chamomilla* cultivée au Nord-ouest algérien. Une autre étude a été réalisée, également *in vitro*, sur la matricaire du Sahara et la camomille du Sahara provenant des régions de Tamanrasset et Béchar (Reguia et al., 2017). Aucune étude *in vivo*, n'a été réalisée sur les espèces algériennes, plus particulièrement sur *Chamaemelum nobile*, notamment en ce qui concerne ces deux pathologies (diabète et asthme) et les processus physiologiques de réparation que peuvent engendrer les consommations de tisanes de la camomille romaine.

Dans ce contexte global, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités anti-inflammatoires et antidiabétiques de la camomille romaine *Chamaemelum nobile* poussant à l'état spontané dans la région de l'Est algérien.

Ainsi, notre travail de recherche s'articule sur les points suivants :

- Une partie de synthèse bibliographique qui cadre le sujet de recherche
- Une partie expérimentale composée de matériel et méthodes et résultats et discussion

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

1 CHAPITRE I. L'asthme allergique

L'asthme est une pathologie chronique caractérisée par une inflammation des voies aériennes aboutissant à une obstruction bronchique réversible (Taillé, 2019). Elle se manifeste par une dyspnée expiratoire sifflante, une toux sèche (prédominance nocturne), une oppression thoracique (Hammad, 2021), qui résulte de la conjonction de facteurs innés (terrain génétique) et de facteurs acquis (allergènes, toxiques, agents infectieux...etc.) (Toskala et al, 2015).

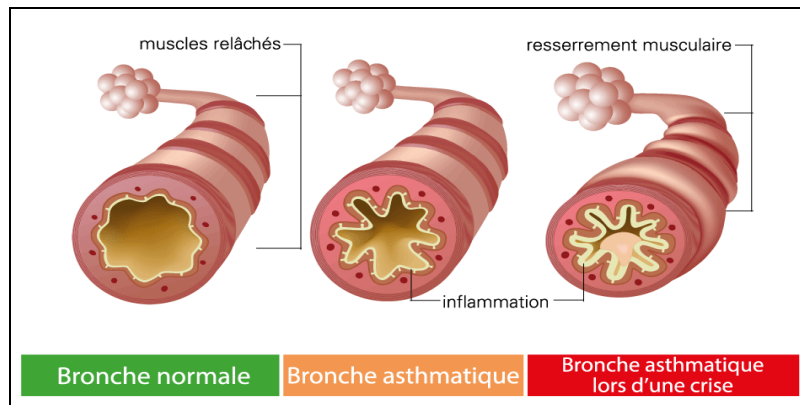


Figure 1. Bronche pulmonaire normale et asthmatique

(Association Pulmonaire du Québec, 2020)

1.1 Prevalence de la maladie

L'asthme est une maladie inflammatoire complexe qui constitue un important problème de santé publique, avec plus de 300 millions de personnes dans le monde atteints d'un asthme bronchique (Dharmage, 2019) et plus de 250000 morts par an (Pearce et al., 2007 ; Delmas & Fuhrman, 2010 ; The global asthma report, 2014). En Algérie, elle est classée en troisième position parmi les pathologies chroniques les plus courantes. Sa prévalence est de 3,45% avec pas moins de 4% de la population adulte, soit plus d'un million et demi d'Algériens avec 1000 décès par an et près de 8% des enfants ont un asthme bronchique (Nafti et al., 2009).

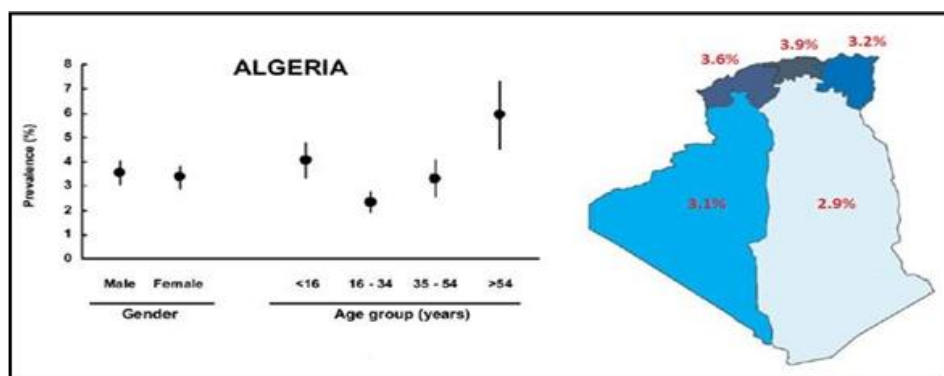


Figure 2. Prévalence de l'asthme selon l'age et le sexe en Algérie

1.2 Facteurs influençant l'expression de l'asthme

L'asthme est un trouble respiratoire chronique multifactoriel influencé par des facteurs prédisposant (génétique le terrain atopique) et facteurs déclenchant environnementaux tel que

- les allergènes : les acariens, les animaux domestiques (Gergen et *al*, 2018),
- la pollution de l'air,
- infections respiratoires virales (le virus respiratoire syncytial, les rhinovirus)

Certains déclencheurs (l'exercice physique, le froid, le stress, les irritants des lieux de travail...) seraient responsables des crises d'asthme chez quelques groupes d'asthmatiques. (Janssens et *al.*, 2013).

1.2.1 Facteurs prédisposants

1.2.1.1 Terrain atopique

L'asthme est caractérisé par des épisodes aigus de crises d'asthme, une respiration sifflante et parfois des déclin irréversibles de la fonction pulmonaire, il est devenu évident que l'asthme a également une composante importante du système immunitaire. Les rôles de nombreuses cellules immunitaires et médiatrices ont été décrits, Il existe un lien clair entre l'asthme et l'atopie, bien que ce lien ne soit pas absolu. Les personnes atopiques sont plus sensibles à développer un l'asthme, tous les individus atopiques ne développent pas d'asthme, et tous les asthmatiques n'ont pas des réponses allergiques élevées de manière détectable la réponse immunitaire se caractérise par des taux sériques élevés d'immunoglobulines E (IgE), une libération excessive de médiateurs allergiques par les mastocytes, une infiltration d'éosinophiles dans les poumons et une inflammation des voies respiratoires et un T helper 1 asymétrique (Th1) et les réponses Th2 (Toskala and Kennedy, 2015).

1.2.1.2 Le tabac

Le tabac est un facteur de risque dans le développement de l'asthme. Plusieurs recherches ont démontré un lien entre le tabagisme et le risque de développer l'asthme. Cette corrélation a été étudiée pendant une année sur des patients atteints de rhinite allergique. Selon ces études le tabagisme actif était fortement prédictif du développement d'un nouvel asthme chez les personnes allergiques adultes. Plusieurs études épidémiologiques ont également démontré une forte corrélation entre le tabagisme chez les parents et le développement de l'asthme chez les

enfants (Toskala and Kennedy, 2015). Le risque pourrait être diminué avec l'arrêt paternel même si les mères continuaient à fumer (Harju et *al*, 2016).

1.2.1.3 Le sexe

Au cours de l'enfance, les garçons sont exposés à la maladie asthmatique plus que les filles (Sears, 2008). A la puberté, la tendance s'inverse et à l'âge adulte l'asthme apparaît chez la femme de façon plus grave et plus difficile à contrôler que chez l'homme, surtout en ce qui concerne l'asthme non-allergique. Cette différenciation se voit à partir de 35 ans (Leynaert et *al*, 2012). Ceci est due à des facteurs biologiques surtout hormonaux (Jridi et *al.*, 2015) ainsi qu'à des facteurs environnementaux (Siracusa, 2013).

1.2.1.4 L'alimentation

Le changement des habitudes alimentaires expose la population à un risque élevé de la maladie asthmatique causée par la consommation de produits transformés. Par contre, une alimentation riche en fruits, légumes et poissons diminue le risque d'exposition à cette maladie (Rasmussen et *al*, 2014).

1.2.1.5 Obésité

L'obésité et l'asthme touchent des millions d'individus à travers le monde (Shore, 2006). Les chiffres annoncent que 39% des adultes de plus de 20 ans à travers le monde sont en surpoids et 13% sont obèses. Elle interagit avec plusieurs maladies respiratoires comme le syndrome d'apnée de sommeil et les bronchopneumopathies chroniques obstructives (Özbey, 2019).

1.2.2 Facteurs environnementaux

1.2.2.1 Les allergènes

Les allergènes sont des antigènes qui provoquent une réponse immunitaire par la production d'immunoglobulines de type E (IgE). Parmi ces allergènes (Fahima, 2014).

- Le pollen des plantes déclenche des rhinites allergiques polliniques
- Les pneumallergènes comme les phanères d'animaux
- Le tabagisme passif ou la fumée de cheminée
- Les acariens de la poussière domestique.

Tous ces allergènes peuvent s'accompagner d'asthme.

1.2.3 Autre facteurs

Les infections virales, bactériennes, l'activité physique et le stress ainsi que certain médicament comme les bêtabloquants (L'aspirine ou d'autre anti-inflammatoire non-stéroïdien (AINS) peuvent provoquer l'asthme ou déclencher des symptômes de l'asthme (Global Initiative for Asthma, 2020).

Tableau I. Facteurs déclenchant l'asthme

Facteurs liés à l'hôte	Facteurs environnementaux
<ul style="list-style-type: none">➤ Génétiques: gènes (ADAM33, CHI3L1, DPP10)➤ Hyperréactivité bronchique➤ Inflammation des voies aériennes➤ Obésité➤ Sexe (Enfants : garçons+++Adultes : femmes +++)➤ Stress➤ Emotions fortes	<ul style="list-style-type: none">➤ Allergènes : acariens domestiques, animaux à fourrure, champignons, pollen, moisissures➤ Allergènes et sensibilisateurs professionnels (ex : farine, laboratoire, rongeurs, peintures)➤ Infections (principalement virales)➤ Exposition à la fumée de tabac➤ Pollution de l'air intérieur et extérieur➤ Régime alimentaire➤ Certains médicaments (ex : Paracétamol)

(Global Initiative for Asthma, 2017)

1.2.4 Physiopathologie de l'asthme

L'asthme est une maladie multifactorielle, dont la physiopathologie est complexe caractérisé par 3 processus : l'hyperréactivité, l'inflammation et le remodelage bronchique (Shastri et *al*, 2021). L'inflammatoire se développe en contact de l'allergène avec les cellules épithéliales et la réponse allergique est initiée par les cellules dendritiques qui libèrent des médiateurs chimiques et le remodelage bronchique se caractérise par un épaississement des parois bronchiques et les cellules caliciformes qui produisent du mucus avec un déséquilibre de l'expression des métalloprotéinases qui dégradent ces protéines avec leur accumulation formant une fibrose et une inflammation chronique irréversible (Shastri et *al*, 2021).

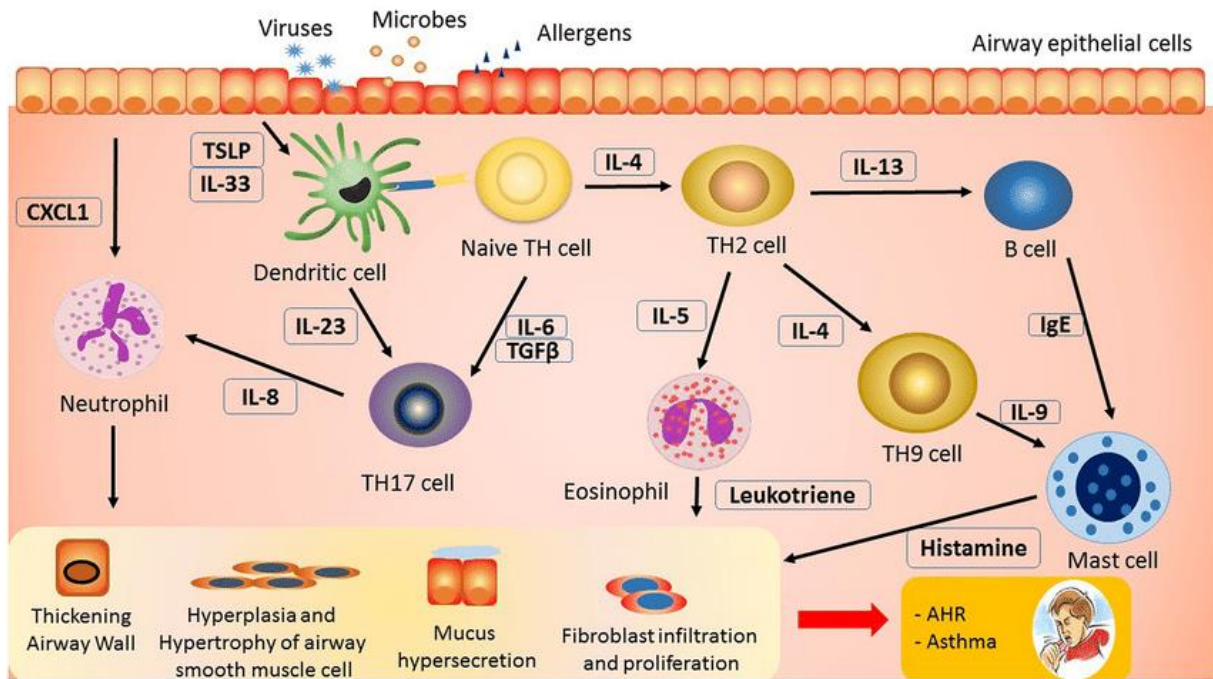


Figure 3. Représentation schématique de la cascade inflammatoire dans l'asthme allergique (Shastri et al, 2021)

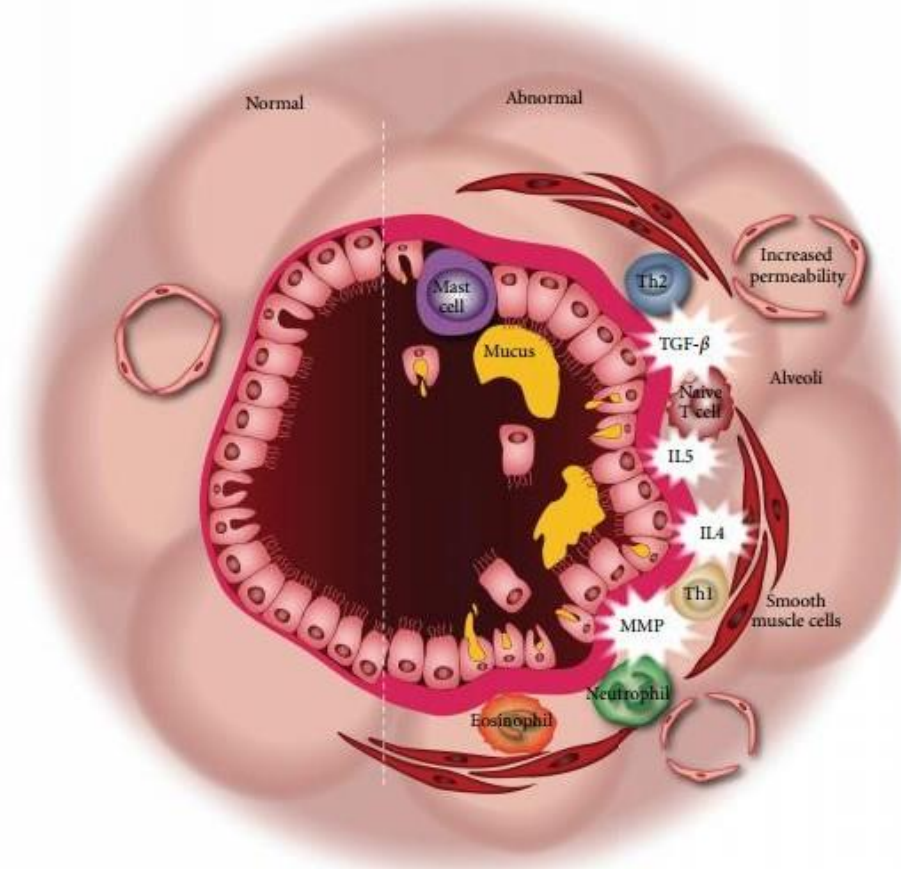


Figure 4. Représentation schématique d'une bronche normale (à gauche) et d'une bronche ayant subi un remodelage (à droite)

Chapitre II
Le diabète

2 CHAPITRE II. Le diabète

2.1 Définition

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une hyperglycémie accompagnée par des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline (De Fronzo et *al.*, 2015). Cette hyperglycémie expose l'organisme à des complications à long terme, touchant les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins. Il existe deux types de diabète

- le diabète de type 1 auto-immun résultant d'une carence en insuline par une destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas
- le diabète type 2 résultant d'une combinaison de carence en insuline et d'insulinorésistance des tissus périphériques tel que le muscles, le foie et le tissu adipeux (Ozougwu et *al.*, 2013)

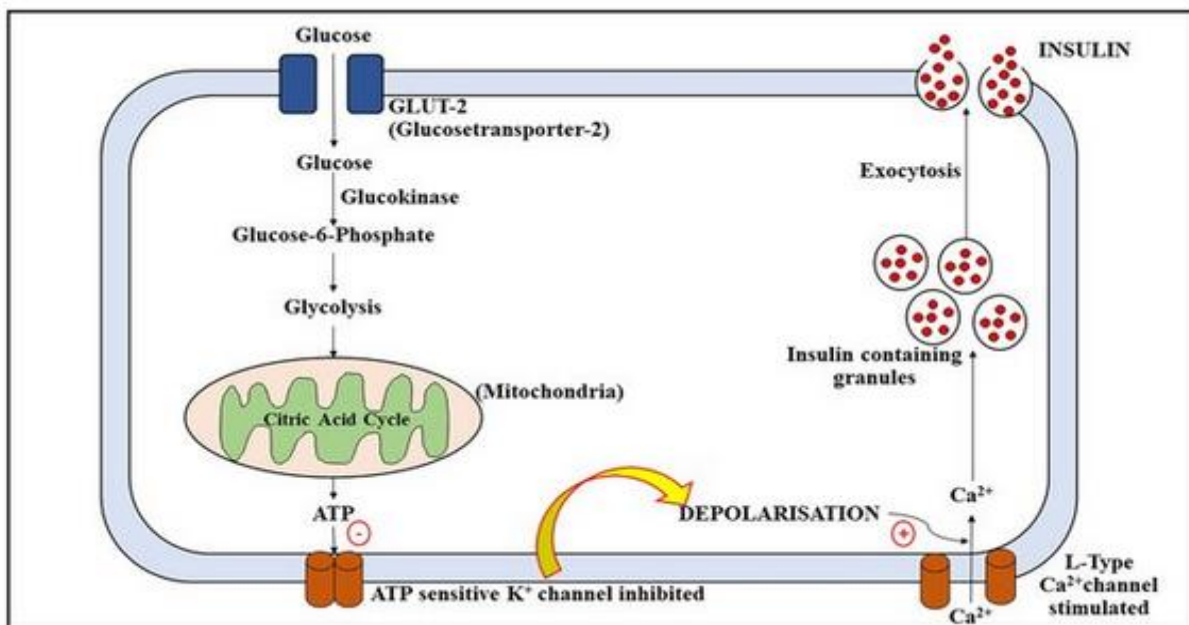


Figure 5. Mécanisme de sécrétion de l'insuline par les cellules bêta pancréatique

(Arora et *al.*, 2021)

2.2 Métabolisme et contrôle de la glycémie

La régulation de la glycémie à environ 1 g/L soit 5 mmol/L permet le maintien de l'équilibre glycémique. Lorsque la glycémie est supérieure à 1 g/L, suite à un repas, l'insuline, synthétisée par le pancréas est activée et permet au glucose de rentrer directement dans les

cellules via des transporteurs spécifiques ou d'être stocké sous forme de glycogène, par glycogénogenèse.

Lors des hypoglycémies (glycémie inférieure à 1 g/L), après un jeûne ou une activité physique le glucagon, synthétisé par les cellules alphas du pancréas, va permettre de déstocker les réserves de glycogène situées dans le foie et le muscle, par glycogénolyse ceci par dégradation du glycogène en glucose-6-phosphate (G6P) puis en glucose et celui-ci est libéré dans la circulation sanguine (Röder, 2016)

2.2.1 Diabète type 1

Le diabète de type 1 ou insulino-dépendant est caractérisé par une carence absolue ou quasi absolue en insulino-sécrétion. Il survient généralement chez les enfants de façon aiguë avec une symptomatologie qui se développe en quelques jours caractérisé par un amaigrissement, une polyurie, une polydypsie (Kahanovitz, 2017).

2.2.2 Diabète type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant représente environ 90% des cas. C'est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie > 1,26 g/L qui résulte d'une production inadéquate d'insuline et un état de résistance à l'insuline des tissus périphériques (foie, muscles, tissus adipeux). Il se manifeste beaucoup plus tard dans la vie à l'âge adulte (bien qu'il soit diagnostiqué de plus en plus chez le sujet jeune, obèse) (Galicía, 2020).

Tableau II. Caractéristiques respectives des diabètes de type 1 et 2

Caractéristique	Diabète de type 1	Diabète de type 2
Antécédent familiaux du même type	Rare	Fréquent
Age de survie	Souvent avant 20 ans	Souvent après 35ans
Démarrage	Rapide et brutal	Lent et insidieux
Symptologie	Bruyante	Pauvre voire absente
Corpulence	Normale ou maigre	Surcharge pondéral, obésité
Cétose	Souvent présente	Souvent absent
Etiologie	Facteurs immunologiques et environnementaux	Facteurs génétiques et nutritionnels
Fréquence	Entre 5 à 10%	90%
Principale cause de mortalité	Insuffisance rénal	Insuffisance rénal Maladie cardiovasculaire

(Galicía, 2020)

2.3 Facteurs de risque

2.3.1 Facteurs de risque du diabète type 1

Les mécanismes d'action de D1 sont bien connus. Il résulte d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques et environnementaux (Traversi, 2020).

2.3.2 Facteurs de risque du diabète type 2

L'appartenance ethnique, les antécédents familiaux, le surpoids, l'obésité, la suralimentation, la sédentarité et le tabagisme représentent les facteurs de risques du D2.

La prévalence du syndrome métabolique, de l'obésité et du diabète de type 2 ne cessent de croître d'année en année à travers le monde, et dépassent largement les premières prédictions de l'OMS réalisées au début des années 2000.

Chez l'Homme, il existe de nombreux arguments épidémiologiques en faveur d'un lien entre expositions à certains polluants et survenue d'un syndrome métabolique ou d'un diabète de type 2 (Ismail et *al.*, 2021).

2.4 Physiopathologie du diabète

2.4.1 L'insulinorésistance

L'insulinorésistance est un processus associant des mécanismes complexes entre réaction inflammatoire, accumulation d'acides gras, stress oxydant et dysfonction mitochondriale. Il résulte d'une diminution de l'action de l'insuline par un défaut de captation du glucose au sein des tissus cibles : les muscles, le foie et le tissu adipeux. Le tissu adipeux participe à la pathogénèse du diabète par production des adipokines (hormones et cytokines) grâce aux adipocytes qui régulent l'utilisation et le stockage des nutriments dans les autres tissus.

L'obésité s'accompagne d'une libération accrue de résistine, de RBP4 (rétinol-binding protein-4) et de TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) responsables d'une moindre sensibilité des tissus à l'insuline (Rehman, 2016).

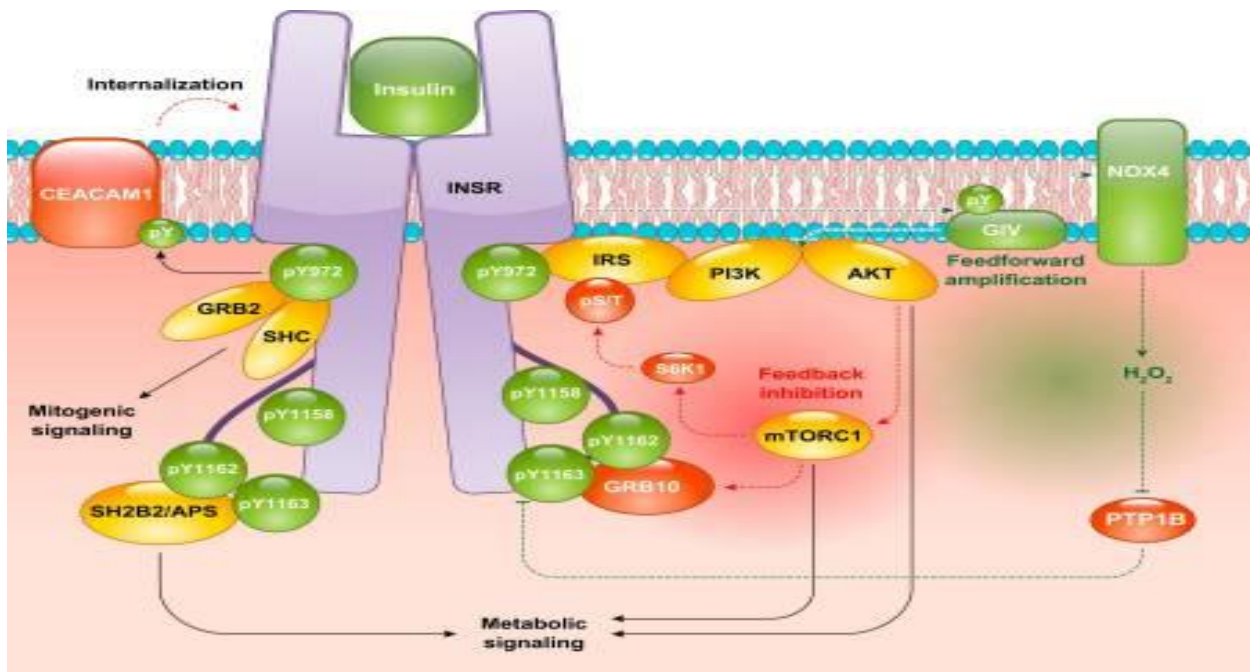


Figure 6. Représentation du mécanisme de l'insulinorésistance (Petersen *et al.*, 2018)

2.4.2 Déficit de l'insulinosécrétoire

Le diabète de type 2 s'accompagne d'un défaut de sécrétion d'insuline sur le plan quantitatif et qualitatif en réduisant la sécrétion de l'insuline par l'apoptose des cellules β du pancréas.

Les taux élevés de cytokines et de chimiokines au niveau des îlots des diabétiques de type 2 expliquent le processus inflammatoire.

L'hyperglycémie et excès d'acides gras libres induit des dysfonctions des cellules β et aboutit à leur apoptose par glucolipotoxicité. Elle entraîne une surcharge de travail au niveau du réticulum endoplasmique (RE), conduisant à un stress du RE pouvant conduire à la mort des cellules par autophagie.

La surproduction des espèces oxygénoréactives par l'hyperglycémie et la pauvreté des cellules β en enzymes antioxydantes est susceptible de développer un stress oxydatif conduisant à une mort cellulaire par apoptose. (Donath et Shoelson, 2011).

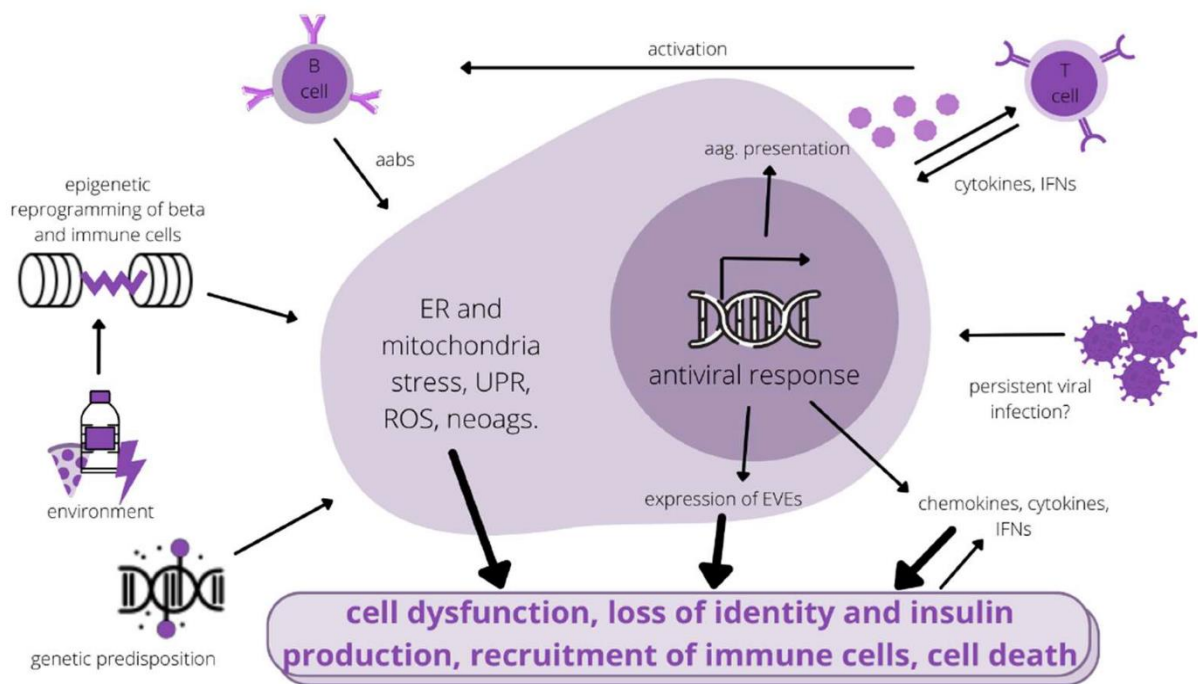


Figure 7. Influence des espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur les cellules bêta dans le diabète de Type 1 (Zajec et al., 2022)

Chapitre III
STRESS OXYDANT

3 CHAPITRE III. STRESS OXYDANT

3.1 Définition

L'être vivant a besoin de l'oxygène pour assurer certaines fonctions vitales (respiration, production d'énergie ...) une partie de ces molécules produisent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) toxique pour l'organisme touchent l'ensemble des tissus et exposent l'être humain à plusieurs pathologies elles sont éliminées par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques grâce à une alimentation équilibré (fruits et légumes) riche en molécules antioxydants tel que (les minéraux, des oligoéléments comme le sélénium, le cuivre, le zinc et des vitamines E , C...). (Bartz, 2010).

3.2 Génération du stress oxydant

Ce type de stress est généré par l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau cellulaire. Les ERO primaires se subdivisent en deux groupes : le groupe des dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électrons célibataires) mais très toxiques comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'anion peroxyde O_2^{2-} , le peroxyde nitrite $ONOO^-$ et les radicaux libres oxygénés qui eux possèdent un électron célibataire sur leurs couches externes (l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et l'oxyde nitrique NO^{\bullet}). L'interaction entre les ERO primaires et les biomolécules permet la formation des ERO secondaires comme les radicaux peroxydes RO_2^{\bullet} (Sies, 2020).

3.3 Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

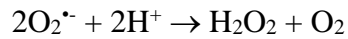
3.3.1 Les espèces réactives de l'oxygène endogènes

Les ERO endogène proviennent du métabolisme mitochondrial (Pattwell and Jackson, 2004), du peroxydosome et du réticulum endoplasmique (De and Baudhuin, 1966). Les différentes espèces réactives de l'oxygène sont le radical superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde, alkoxyde.

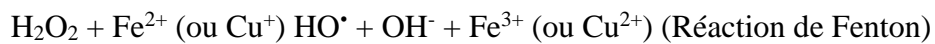
3.3.1.1 Les mitochondries

Les mitochondries permettent la synthèse d'énergie cellulaire par la production d'ATP. Elles sont impliquées dans la thermogénèse, dans l'homéostasie ionique (notamment du calcium et du potassium) et dans l'apoptose (Napolitano, 2021). La chaîne respiratoire est la principale source d'ERO endogènes à l'échelle de la cellule. On estime que 2 à 5% des électrons

s'échappent à différents niveaux de la chaîne respiratoire aboutissant à la formation des ERO. Le premier produit toxique généré à partir de l'O₂ est l'anion superoxyde O₂^{•-}. Il est ensuite converti en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par les superoxydes dismutases (SOD) présentes au niveau de l'espace inter membranaire de la mitochondrie selon la réaction suivante :



Bien que le H₂O₂ soit moins réactif que l'anion superoxyde, il peut se décomposer en radical hydroxyle (OH[•]) très toxique en présence de fer ferreux (Fe²⁺) ou de cuivre.



L'OH[•] est lui-même à l'origine de nombreuses autres espèces oxydantes par perte d'un électron ou d'un proton (Napolitano, 2021).

3.3.1.2 Les peroxysomes

Le peroxysome a le pouvoir de synthétiser et de dégrader plusieurs composants cellulaires tel que les acides gras, les polyamines, les glyoxylates, certains acides aminés, la majorité des xénobiotiques et les eicosanoides (produits de dégradation de l'acide arachidonique) par certaines enzymes qui sont α et β -oxydases. Ces réactions d'oxydation nécessitent un recrutement massif d'O₂ au niveau du peroxysome. La libération d'électrons lors des réactions d'oxydo-réduction aboutit à la formation du peroxyde d'hydrogène H₂O₂, O₂^{•-}, OH[•] et le NO[•] (Del Río, 2016).

3.3.1.3 Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique lisse (REL) est le siège de détoxification des drogues liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques. De ce fait, le REL constitue un site important de réactions oxydatives permettant ainsi la dégradation des produits toxiques. La principale enzyme impliquée dans ces réactions est le SOD cytochrome P450 qui catalyse des réactions d'oxydation des acides gras insaturés et des xénobiotiques ; il en résulte une production importante d'ERO (Di Meo et *al.*, 2016)

3.3.1.4 Phagocytose

La phagocytose est un processus cellulaire qui permet l'élimination des agents étrangers, comme bactéries, des débris cellulaires. Grâce à la lignée leucocytaire (macrophages, les polynucléaires neutrophiles) avec une dégradation indépendante de l'oxygène permettant le

déversement de ces substances bactéricides dans le phagosome. ces composé de la NADPH-oxydase (NO_x) s'assemblent à la membrane du phagosome. Leur activation permet la production de formes réactives de l'oxygène. Une fois phagocytée, les ERO synthétisées par la NADPH-oxydase vont détruire l'agent responsable puis les déchets sont expulsés. (Choudhari et *al.*, 2014)

3.3.2 Les espèces réactives de l'oxygène exogène

3.3.2.1 Ultraviolet

L'absorbition des UVA par les chromophores vont former un oxygène singulet qui réduit l' O_2 en anion superoxyde (O_2^-) transformé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis réduit à son tour en radical hydroxyle (OH) par la réaction de Fenton. OH qui réagit avec les protéines, les lipides et l'ADN (Gambini et *al.*, 2013).

3.3.2.2 Pollution, ozone

L'ozone O_3 interagit avec les antioxydants présents dans le fluide de l'épithélium bronchique comme la vitamine C, l'acide urique et permet la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire cela est à l'origine d'une réponse inflammatoire favorisant la production d'espèces réactives de l'oxygène (stress oxydant) (Bhattacharyya et *al.*, 2014).

3.3.2.3 Fumée de tabac, alcool

L'inhalation de bouffée de cigarette correspond à la libération de molécules oxydantes dont 1014 sont des radicaux libres de l'oxygène qui provoquent un stress oxydant des études ont démontré que les fumeurs atteints de BPCO (Bronchopneumonie chronique obstructive) ont une élévation du taux plasmatique de produits issus de la peroxydation lipidique ainsi que de l'augmentation des concentrations en $\text{TNF-}\alpha$ et IL-8 dans les expectorations de ces malades (Strobel, 2011).

3.4 Effets sur l'organisme du stress oxydant

3.4.1 Effets moléculaires

3.4.1.1 Altération des membranes lipidiques

La peroxydation lipidique entraîne une désorganisation des lipides membranaires causé par les radicaux libres qui ont arracher un atome d'hydrogène aux chaînes latérales d'acides gras des lipides pour former des radicaux alkyles qui vont interagir avec l'oxygène pour former des radicaux peroxydes, ce qui conduit à une lyse cellulaire (Valgimigli, 2023).

3.4.1.2 Altération de l'ADN

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que les désoxyriboses peuvent être la cible des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle OH[•]. Par exemple, la guanine peut réagir avec ce radical pour former la 8-OH-désoxyguanosine qui va s'apparier à l'adénine au lieu de s'associer normalement à la cytosine. Cela entraîne des mutations au sein de l'ADN. Il existe des systèmes de réparation de l'ADN mais lorsqu'ils sont débordés, ces systèmes ne sont plus suffisants et cela entraîne des altérations du matériel génétique qui peuvent engendrer des mutations, des cancers...

3.4.1.3 Altération des protéines

Les acides aminés interagissent avec les radicaux libres ont altérant leur structures parmi eux :

- l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine
- AA de soutien comme le collagène (vieillesse)
- les protéines circulantes (transferrine, albumine),
- protéines à chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane)
- les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine).

3.5 Principales affections liées au stress oxydant

3.5.1 Athérosclérose

L'athérosclérose est une maladie chronique caractérisée par la formation de plaques d'athérome, consistant en l'accumulation de lipoprotéines de basse densité (LDL), de leucocytes, de cellules spumeuses, la migration des cellules musculaires lisses (CML) et

l'altération des cellules endothéliales (ECs).le stress oxydant est impliqué dans les pathologies cardiovasculaires par l'oxydation des lipoprotéines de basses densités, les LDL, L'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) provoque une inflammation vasculaire qui donne des plaques athéromateuses (Jezovnik et *al.*, 2007)

3.5.2 Cancers

Le radical hydroxyle HO• semble être le principal responsable des dommages oxydatifs sur l'ADN ce qui va entraîner des mutations pouvant être cancérogènes pour l'organisme (Pizzino et *al.*, 2017).

3.5.3 Diabète de type 2

L'hyperglycémie, les dyslipidémies sont à l'origine de la production accrue des SRO conduisant à un stress oxydant et une diminution de la compliance vasculaire, ce qui peut entraînant des micro-angiopathies et macro-angiopathies qui caractérisent le diabète de type 2, comme la rétinopathie, neuropathie-diabétique et l'insuffisance coronaire (Asmat et *al.*, 2016)

3.5.4 Maladies neurodégénératives

Ce sont des affections débilitantes qui entraînent une dégénérescence et/ou une mort progressive des cellules nerveuses. L'alpha-synucléine (protéine neuronale) semble être à l'origine de ces pathologies. Dans les démences à corps de Lewy et dans les lésions cérébrales neurodégénératives, l'alpha-synucléine est retrouvée principalement sous forme nitrée, ce qui résulte de sa réaction avec des espèces radicalaires.De plus, l'augmentation des radicaux libres seraient impliqués plus ou moins directement dans le vieillissement cognitif (Pizzino et *al.*, 2017).

3.5.5 Maladies rhumatismales

Le stress oxydant est impliqué dans l'arthrose par l'activation de l'IL-1 β qui diminue l'expression du collagène et stimule la production de monoxyde de carbone aboutissant à la formation de ONOO- qui attaque directement les télomères de l'ADN du chondrocyte. (Mahajan et *al.*, 2004).

Chapitre IV
CAMOMILE ROMAINE
(Chamaemelum nobile)

4 Chapitre IV. CAMOMILE ROMAINE (*Chamaemelum nobile*)

La camomille romaine (*Chamaemelum nobile*) mieux connue sous son synonyme *Anthemis nobilis* est une plante herbacée vivace tonique amère, et stomachique, antispasmodique et analgésique de la famille des Astéracées originaire des régions d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc) et de la côte atlantique d'Europe (Portugal, Espagne, France, Royaume-Uni, Irlande). Utilisée à des fins culinaires, médicinales et cosmétiques, cette plante aromatique est reconnue comme un remède universel pour ses propriétés cicatrisantes possédant des effets antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires, hypoglycémiants, antioxydants...etc.

4.1 Étymologie :

Chamaemelum est la désignation du nom latin de la petite camomille par le chercheur pline, *nobile* désigne le terme « célèbre, noble ».

Position systématique

Classification APG III (2009)

Domaine	Eukaryota
Sous-domaine	Bikonta
Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Astéridées
Clade	Campanulidées
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
— non-classé —	Mediterranean clade
Sous-tribu	Santolininae
Genre	<i>Chamaemelum</i>
Nom binominal	<i>Chamaemelum nobile</i> L.

4.2 Description de la camomille romaine

Chamaemelum nobile est une plante herbacée vivace (hémicryptophyte) tonique amer, stomachique et antispasmodique de la famille des astéracées. La plante mesure 10 à 30 cm de haut, à souche rampante, à croissance lente, une fois écrasée elle dégage une agréable odeur de pomme parfumée.

Ses feuilles sessiles, longues de 1 à 5 cm, sont finement divisées en lobes courts et étroits. Elles sont alternées bi à tripennées.

Ses tiges sont velues, ramifiées, diffusion et rayonnante. Ils peuvent se terminer par des capitules parfumés, solitaires au bout des branches, jusqu'à 3 cm de diamètre.

Ces capitules mesurent de 18 à 25 mm de largeur, ils sont solitaires, blancs avec un disque de fleurons tubulaires jaunes, à longues pétioles. L'involucre des capitules est réduit à 2 rangées de bractées serrées et emboîtées. C'est à partir de ce capitule que l'huile essentielle est extraite, mais la plante entière aurait aussi de grandes vertus (Pillonel *et al.*, 2012).

Le plus souvent utilisé en infusion, de préférence en dehors des repas. En usage externe, l'huile de camomille romaine est utilisée dans les frictions contre les rhumatismes. Il possède des propriétés anti-inflammatoires, hypoglycémiques anti oxydantes, antibactériennes, antifongiques, hypotensives, cicatrisantes, insecticides, anti agrégation plaquettaire, bronchodilatateurs, endocriniens et de nombreux autres effets (Ma *et al.*, 2007).

Il est utilisé pour le traitement symptomatique des troubles gastro-intestinaux et les applications externes d'extraits et de lotions sont recommandées comme répulsif, émollient, dans le traitement des troubles cutanés et pour l'irritation ou l'inconfort oculaire de diverses étiologies.

En outre, il est utilisé comme un analgésique dans les maladies de la cavité buccale, de l'oropharynx, ou les deux et, comme un bain de bouche pour l'hygiène buccale (Srivastava *et al.*, 2010.).

Pour une croissance optimale de la camomille romaine, il faut de la lumière avec une humidité atmosphérique moyenne et des températures moyennes, le tout dans un environnement marin. Le sol doit être acide avec l'humidité résiduelle et non salée.



Figure 8. Planche d'illustration des différentes parties de *Chamaemelum nobile*

- | | |
|-----------------------------|--|
| 1. Fleur de camomille | 8. Base florale avec feuilles en coupe longitudinale |
| 2. Capitule en coupe | 9. Feuilles paille de camomille |
| 3. Fleur ligulée femelle | 10. Fruits akènes |
| 4. Fleur tubulé | 11. Coupes longitudinales |
| 5. Coupe d'une fleur tubulé | 12. Coupe transversale |
| 6. Etamine | 13. Coupe longitudinales |
| 7. Base de fleur | 14. Pollen |

4.3 Origine et distribution

Chamaemelum nobile a été largement distribuée en Asie, en Europe, en Afrique et en Amérique du Nord (Sharafzadeh et Alizadeh, 2011). Elle est également cultivée dans les pays suivants :

- Afrique : Algérie et Maroc
- Europe: Irlande, France, Portugal, Espagne, Italie, Belgique, Allemagne, Slovaquie, Suisse...etc.
- Australasie : Australie et Nouvelle-Zélande
- Amérique du Nord: États-Unis d'Amérique.

En Algérie, *Chamaemelum nobile* est largement distribuée dans toute la périphérie Nord du pays. Cette camomille se trouve dans les landes herbeuses, les pelouses, les bords de routes, les pentes, sur les sols légers et sableux.

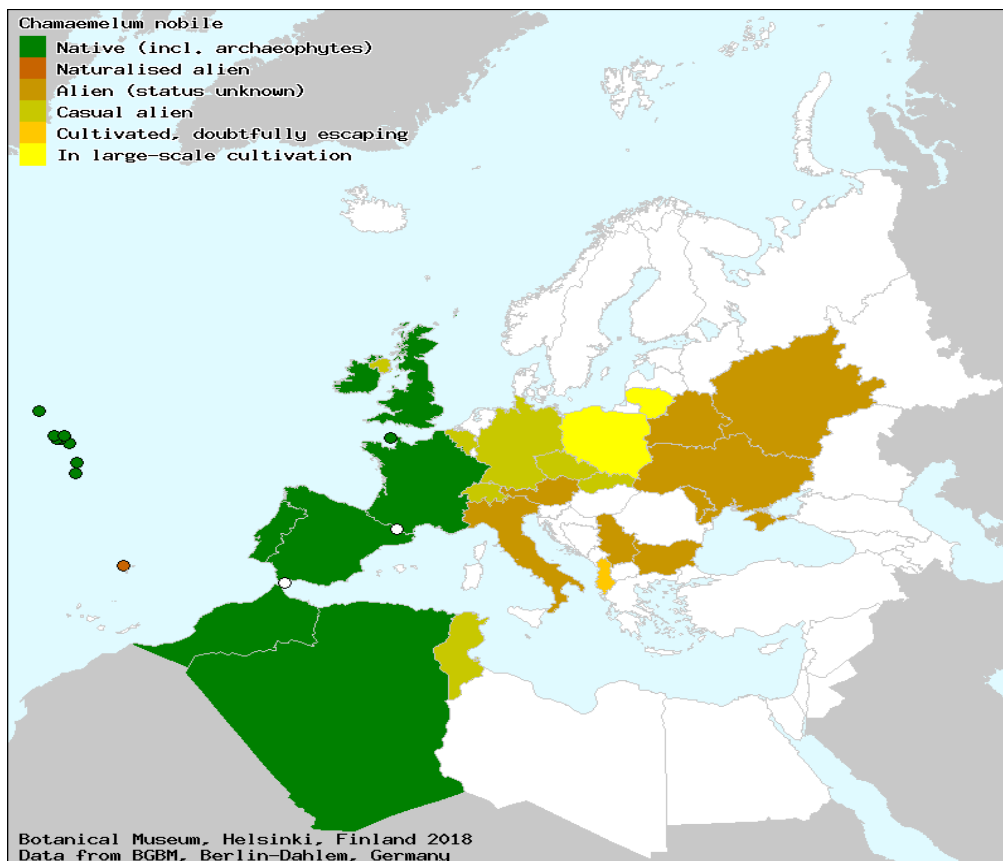


Figure 9. Localisation géographique de la camomille romaine

http://euromed.luomus.fi/euromed_map.php?taxon=289406&size=medium

4.4 Composition chimique

Les végétaux ont la capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. Comme des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides et acides nucléiques), ainsi que des métabolites secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans les domaines de la pharmacologie, l'agroalimentaire et la parapharmacie. La Camomille romaine comporte des lactones sesquiterpéniques à hauteur de 0,6%. Ce sont essentiellement des germacranolides (nobile, 3-épinobiline et dérivés) responsables de l'amertume attribué à la camomille. L'odeur caractéristique de la camomille est due à la présence de 4 à 15 ml/kg d'huile essentielle composé à 85% d'esters mono-et bifonctionnels d'acides et d'alcools aliphatiques en C4, C5 ainsi que des acides phénols (dont l'acide octulosonique), des coumarines et des flavonoïdes, glucosides de l'apigénol et glucoside du lutéolol (Masato Tsuru, 2016).

4.4.1 Les phénols

Ces molécules possèdent un noyau benzénique et un groupe hydroxyle. Ils sont solubles dans les solvants polaires. Ils peuvent avoir des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antivirales, comme l'acide rosmarinique (Macheix et *al.*, 2005).

4.4.2 Les tanins

Les plantes contiennent des tanins à des degrés plus ou moins élevés ce qui leur confère un goût amer et des propriétés astringentes, antiseptiques et antioxydantes (Iserin, 2001).

4.4.3 Les flavonoïdes

Ce sont des composés phénoliques qui protègent les plantes des herbivores et contrôlent le transport des auxines (une classe d'hormones végétales) ils existent des flavonoïdes hétérosidiques et lipophiliques possédant de nombreux vertus thérapeutiques (anti-inflammatoire, anti-oxydante, hépatoprotectrice et antivirales...). (Iserin, 2001).

4.5 Les activités biologiques de la camomille romaine

4.5.1 Effets anti-inflammatoire et analgésique

La camomille est largement utilisée dans le monde pour ses principales utilisations sédatif, anxiolytique, antispasmodique, ainsi que pour le traitement de l'irritation cutanée et l'inflammation. Plusieurs études ont confirmé le pouvoir anti-inflammatoire de cette plante grâce aux propriétés antioxydantes des polyphénols par exemple l'étude sur la carraghénane injecté sur les pattes de souris provoquant une inflammation, des douleurs et un œdème via une augmentation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique de *Chamaemelum nobile* est capable d'inhiber le développement de l'œdème de la patte. De plus, un prétraitement oral avec un extrait éthanolique a réduit de manière significative la production de cytokines pro-inflammatoires, y compris l'interleukine (IL- 1), le facteur de nécrose tumorale TN (TNF) et IL-6. L'extrait éthanolique de la camomille romaine a montré un effet nettoyant radical en inhibant la peroxydation lipidique, en augmentant les activités des enzymes antioxydantes et en réduisant les dommages oxydatifs (Tvarijonaviciute, 2018).

Une autre étude a confirmé effet anti-inflammatoire de de la camomille contre le psoriasis vulgaire au cour du traitement, il a été observé qu'il y avait une amélioration significative des signes de psoriasis vulgaire, ainsi que l'amélioration de l'état inflammatoire dû à la réduction des rougeurs et l'amélioration de l'aspect et de la quantité des plaques b squameux cela est du au constituants de l'huile essentielle de camomille parmi ces composants, le chamazulène confère un pouvoir anti-inflammatoire et cicatrisant (Tainá et al ,2019).

En 2017, une autre étude a été réalisée in vivo pour évaluer l'effet analgésique et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de camomille romaine (par rapport à l'ibuprofène) .Les chercheurs ont observé au cour de l'étude que l'huile essentielle de *C. nobile* conférait une protection contre l'effet analgésique de la douleur thermique alors que les effets analgésiques de l'ibuprofène ne duraient que pendant les deux premières heures de l'étude (Olukayode, 2017)

4.5.2 Effet hypoglycémiant

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie résultant de défauts de sécrétion d'insuline (Raccah, 2004). Le diabète sucré prend deux formes principales ; type 1 et type 2. Avant la découverte de l'insuline, la phytothérapie était utilisée

comme traitement. Des recherches ont prouvé l'effet bénéfique de nombreuses plantes médicinales telles que *Chamaemelum nobile*.

En 2004, une étude a été menée dans le but d'évaluer l'effet hypoglycémiant d'un extrait aqueux de camomille. Cette étude est réalisée sur une population de rats en comparant des rats normaux et des rats diabétiques. Dont le diabète est induit par la streptozotocine (STZ). Après 15 jours d'administration orale de *Chamaemelum nobile*, ils ont observé une réduction de la concentration de glucose sans affecter la concentration basale d'insuline (Al-Snafi, 2016).

En 2015, une étude a été menée pour démontrer l'effet de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile* sur 64 patients (homme et femme) âgés de 40 à 60 ans atteints de diabète de type 2.

Des échantillons de sang ont été prélevés puis testés. Les résultats ont montré que *Chamaemelum nobile* a diminué la concentration d'HbA1C, le taux d'insuline sérique, le cholestérol total et les triglycérides par comparaison au groupe témoin (Rafrat, 2015).

4.5.3 Effet anticancéreux

Il a été démontré que l'administration de l'extrait de camomille exerce de puissants effets inhibiteurs de la croissance sur les cellules tumorales et une réduction significative de la viabilité des cellules dans diverses lignées de cellules cancéreuses humaines. L'exposition à la camomille a induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses mais pas dans les cellules normales à des doses similaires. L'étude représente la première démonstration rapportée des effets anticancéreux de la camomille (Evans, 2009)

4.5.4 Effet antioxydant

Les espèces réactives oxygénées (ERO) sont impliquées dans des processus physiologiques à des faibles quantités. Cependant, l'excès de la production des ERO peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, et donne lieu au stress oxydatif qui sera impliqué dans diverses pathologies à savoir les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, les cancers, les maladies inflammatoires, le vieillissement, etc. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes pour éliminer ou minimiser le dommage oxydatif. Selon le type, les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant les ERO, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant les métaux de transition libres ou en générant des molécules biologiques antioxydantes d'importance. Les réactions radicalaires sont

omniprésentes chez les êtres vivants, et sont impliquées plus ou moins directement dans la reproduction, la modification des gènes et la défense contre les maladies. Les effets antioxydants de *Chamaemelum nobile* ont été évalués à l'aide de quatre tests différents :

- La capacité de piéger les radicaux libres en utilisant DPPH,
- Réduction du pouvoir et inhibition de la peroxydation lipidique à l'aide du système modèle β -carotène
- Linoléate (acide gras insaturé) dans les liposomes
- Détermination avec l'acide thiobarbiturique TBARS dans les homogénats cérébraux

Plusieurs études ont démontré le pouvoir antioxydant de la camomille romaine grâce aux composés phénoliques présents dans la plante comme l'étude décrite par Guimarães *et al*, 2001 qui a évalué le pouvoir antioxydant de la camomille romaine par la capacité de piéger les radicaux libres en utilisant DPPH ainsi que la Réduction du pouvoir et inhibition de la peroxydation lipidique à l'aide du système modèle β -carotène, le test TBARS dans des homogénats de cerveau les résultats obtenus montrent que la camomille possède un pouvoir antioxydant élevé et celle utilisée par Farhoudi en 2017 qui a utilisé la capacité de piéger les radicaux libres en utilisant DPPH. **Farhoudi (2017)** a observé que la camomille romaine avait une forte activité antioxydante.

PARTIE EXPERIMENTALE

5 Matériel et méthodes

5.1 Objectifs visés

L'objectif de notre présente étude est d'évaluer les propriétés biologiques et médicinales de la camomille romaine (*Chamaemelum nobile*) échantillonnée dans la région d'El-Tarf, à travers l'étude de l'effet anti-inflammatoire, antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux et ce dans un modèle expérimental animal sur le rat Wistar.

5.2 Matériel végétal

5.2.1 Récolte et cueillette du matériel végétal

On retrouve cette plante sur les bordures de routes, les landes herbeuses, les gazons, sur des sols légers et sableux à l'Est Algérien. La cueillette de la camomille romaine a été effectuée au mois d'Avril, mai et juin de l'année 2018, précisément à la daïra de Bouteldja (wilaya d'El-Tarf).



Figure 10. Carte de la région de la récolte

Notre échantillonnage a eu lieu dans la région de Boutheldja, Wilaya d'El-Tarf. La zone d'échantillonnage se trouve sur les champs en jachère, loin de toute forme de pollution ou d'urbanisation comme le montre la figure 10. Les échantillons ont été collectés durant la

période allant de mai à juin 2018. La cueillette s'est faite à la main et les plantes sont transportées et mises à sécher à l'air libre dans une chambre à ventilation permanente, permettant d'extraire l'humidité de la plante pendant une durée d'une quinzaine de jours avant d'être broyée en poudre et stockée à l'abri de l'humidité et de la lumière.



Figure 11. Champ de camomille romaine (Région d'El-Tarf)



Figure 12. Séchage de la plante avant broyage

5.2.2 Préparation de l'extrait aqueux

L'extraction a été adaptée à partir des données de Beloued (1998). Après la récolte, les constitutions de la plante (tiges, feuilles, fleurs) ont été séchées à température ambiante à l'abri de la lumière vive. Nous avons suivi les étapes ci-dessous: la matière sèche obtenue a été réduite en poudre fine. Nous avons effectué une macération de 10g du broyat complété avec 100ml d'eau distillé sous agitation pendant 24h par un agitateur magnétique. Puis filtrer le mélange à travers un papier filtre Whatman le filtrat obtenu est conservé au réfrigérateur entre 02-06 °C. Par la suite, le filtrat est lyophilisé à 60 °C pour ultérieurement être analysé et utilisé dans l'expérimentation animale.



Figure 13. Préparation de l'extrait aqueux



Figure 14. filtration de l'extrait aqueux de la plante

Le filtrat obtenu doit être séché dans l'étuve pendant 24 h pour préparer la dose administrée par la méthode de raclage (**Fig 15**).

La plante : (20mg /kg) pour (1000mg/kg) selon la littérature scientifique

$$20mg \rightarrow 1000g$$

$$x \text{ mg} \rightarrow 200g$$

$$x = \frac{20 \times 200}{1000} = 4mg \rightarrow 1ml \text{ (gavage pour 1 rat)}$$

$$\left[\begin{array}{l} 4mg \rightarrow 1ml \rightarrow 1rat \\ 60mg \rightarrow 15ml \rightarrow 15rats \end{array} \right]$$



Figure 15. Méthode de raclage

5.3 Matériel animal

5.3.1 Les rats de la souche Wistar

Notre travail a porté sur le rat blanc de la souche Wistar, qui est une espèce génétiquement sélectionnée, issue par croisement, de race albinos. C'est un rongeur nocturne, omnivore et coprophage. Il possède une large tête, de petites oreilles des yeux rouges globuleux et une petite queue. Il se reproduit pendant toute l'année et la gestation dure 21 jours.

Le choix de ce modèle animal a été fait pour les raisons suivantes :

- C'est le modèle animal le mieux adapté et le plus utilisé pour des études similaires citées par la littérature.
- Leur système immunitaire ainsi que leur physiologie ressemble à ceux de l'espèce humaine avec des écarts convenables pouvant extrapoler les résultats.
- Ces rats sont des animaux dociles et faciles à manipuler surtout si on les habitue dès leur plus jeune âge.
- Ils sont peu agressifs.
- Ils sont faciles d'entretien.
- Leur résistance vis-à-vis de diverses contaminations.
- Le coût de leur élevage reste assez limité.
- L'environnement d'élevage n'est pas très compliqué et nécessite peu de moyens.
- Leur taille permet une manipulation facile permettant l'extraction de bonnes quantités de sang et d'organes de tailles conséquentes.
- Leur reproduction reste assez facile et le sexage très facile dès le plus jeune âge.

5.3.2 Conditions d'élevage

L'étude a été réalisée sur des rats *Wistar albinos* mâles obtenus de l'Institut Pasteur d'Alger, et maintenus localement au niveau de l'animalerie de la Faculté des Sciences de l'Université Badji Mokhtar Annaba. Dès leur réception de l'Institut Pasteur d'Alger, les rats sont placés aléatoirement dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable de dimensions (36cm × 25cm). Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 à 3 jours. Les animaux ont libre accès à l'eau et la nourriture qui se compose de croquettes fournies par l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB) (Fig 16). Avant leur utilisation, les rats subissent une période d'adaptation d'un mois au niveau de l'animalerie à température constante (22 ± 2 °C) et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique.



Figure 16. Dispositif expérimental d'élevage des rats blanc

5.4 Réactifs et produits chimiques

Dans nos deux protocoles expérimentaux, nous avons été appelés à utiliser les produits spécifiques suivants:

- L'Ovalbumine
- L'Alloxane
- Le Glucophage

5.4.1 Présentation de l'Alloxane

L'alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine. C'est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète mellitus. C'est un agent bien connu largement utilisé pour induire un diabète de type 1 chez les animaux tels que : les lapins, les rats, les souris et les chiens. C'est un dérivé de l'urée qui provoque sélectivement une nécrose pancréatique des cellules β des îlots de Langerhans (Etuk, 2010). L'alloxane exerce son action diabétogène quand il est administré par voie parentérale : intraveineuse, intra péritonéale ou sous-cutanée. La dose requise de l'alloxane pour induire un diabète dépend de l'espèce animale, la voie d'administration et l'état nutritionnel. Les îlots de l'espèce humaine sont nettement plus résistants à l'alloxane que ceux du rat et de la souris. La dose intra-péritonéale inférieure à 150 mg / kg en poids brut peut être insuffisante pour induire un diabète chez le rat (Szkudelski, 2011). **(Fig 17)**.

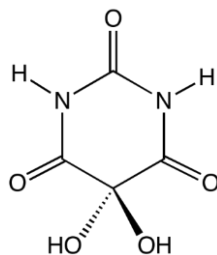


Figure 17. Structure moléculaire de l'alloxane

5.4.2 Présentation de l'ovalbumine

L'ovalbumine est la principale protéine du blanc d'œuf, représentant 60 à 65 % des protéines qu'il contient. Elle présente des similitudes de séquence et de conformation tridimensionnelle avec la superfamille des serpin.

L'ovalbumine est une protéine importante dans différents domaines de recherche parmi lesquels nous citerons son utilisation dans le domaine immunologique (fréquemment utilisée pour stimuler une réaction allergique sur des sujets de test comme des modèles d'asthme qui

ont été développés chez la souris pour imiter les symptômes de l'asthme et peuvent être divisés en deux groupes en tant que modèles aigus et chroniques. Ils sont caractérisés par une hyperréactivité des voies respiratoires (AHR), une inflammation et un remodelage. Plusieurs procédures expérimentales ont été mises en œuvre, la plus utilisée étant modèles d'asthme aigu à l'ovalbumine. Il comprend une étape de sensibilisation en présence de l'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant, et une deuxième étape où les souris sont confrontées à l'allergène introduit directement dans les voies respiratoires pour induire les caractéristiques modélisées de l'asthme (Daubeuf,2011).

Définition de glucofage

Ce médicament est habituellement utilisé pour contrôler le taux de sucre dans le sang (glycémie) chez les personnes diabétiques. On l'emploie aussi pour d'autres indications. Il agit en quelques heures, bien que l'on ne ressente normalement pas son action (Etuk, 2010).(Fig 18).



Figure 18. Posologie du glucofage utilisé

5.5 Méthodes d'étude

5.5.1 Etude de la composition chimique de la camomille romaine

5.5.1.1 Dosage des phénols totaux

Le dosage a été réalisé avec le réactif de Folin Ciocalteu selon la méthode colorimétrique citée par Li et *al* (2007).

5.5.1.1.1 Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon et Peynaud, 1968).

5.5.1.1.2 Mode opératoire

Après une évaporation sous vide à 60°C de l'extrait en a pris :

- 0,4mg/ml de la plante plus 5 ml de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) sont dilués 10 fois dans de l'eau distillée.
- Incuber pendant 10 minutes à température ambiante.
- Ajouter 2 ml de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) 75mg/ml dans l'eau distillée) (Favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction).
- Incuber le mélange réactionnel pendant 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité.
- on a mesuré la densité optique grace une courbe d'étalonnage ($y=0,0095x+0,0033$) réalisé dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations
- Les absorbances sont lues sur spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc.

Le calcul des concentrations est réalisé à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique exprimée (mg d'EAG/g d'extrait) (représenté au niveau de l'annexe 06)

5.5.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux

5.5.1.2.1 Principe

Le dosage a été réalisé avec le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes (complexe flavonoïdes-aluminium). La mesure de l'absorbance est faite par une méthode colorimétrique à $\lambda=430nm$ (Djeridane et *al.*, 2006).

5.5.1.2.2 Mode opératoire

- 1ml de l'échantillon méthanolique à une concentration de 0.4mg/ml est mélangé avec 1ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%).

- Incuber pendant 15 minutes à température ambiante.
- la lecture de la DO se fait à 430nm contre un blanc
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$). (Représenté au niveau de l'annexe 07)

5.5.1.3 Dosage des tanins condensés

5.5.1.3.1 Principe

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode au trichlorure de Fer (FeCl_3) (Heimler et *al.*, 2006). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré (rouge).

5.5.1.3.2 Mode opératoire

- 400 μl de l'extrait sont mélangés avec 3 ml d'une solution méthanolique à 4% de vanilline
- Ajouter 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré
- Incuber pendant 15 minutes à température ambiante
- La lecture de la DO est faite à 550 nm par un spectrophotomètre contre un blanc

Les résultats des DO sont exprimés en microgramme d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg}$). (représenté au niveau de l'annexe 08)

5.5.2 Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de la Camomille romaine a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

5.5.2.1 Dosage du DPPH

5.5.2.1.1 Principe

DPPH est un radical libre stable de couleur violet en solution, réduit en diphényle picrylhydrazine au contact de l'antioxydant donnant une décoloration reflétant le pouvoir antiradiculaire qui est mesuré à 517 nm. (Maataoui et *al.*, 2006).

5.5.2.1.2 Mode opératoire

- Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution (0.3mM).
- Introduit dans des tubes, un volume de 100 μl de chaque extrait (0.1mg/ml dans le méthanol)
- Incubé 30mn avec 1900 μl d'une solution méthanolique de DPPH (2.4mg/ 100ml de méthanol).
- Placé les tubes à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes.
- Lire l'absorbance à 517 nm.

- Le contrôle négatif est composé de 1900µl de la solution méthanolique au DPPH et de 100 µl de méthanol.
- L'acide ascorbique et le BHT sont utilisés comme témoins positifs.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité antiradicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ Contrôle négatif} - Abs \text{ Échantillon} / Abs \text{ Contrôle négatif})] \times 100$$

Où

- % : pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire ;
- Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon ;
- Abs Contrôle négatif : Absorbance du control négatif.

Calcul des IC₅₀ :

L'IC₅₀ ou la concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient Concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ;

Le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées.

5.6 Protocole d'étude du diabète

5.6.1 Protocole expérimental

5.6.1.1 Constitution des lots des rats

L'échantillon se compose de 35 rats mâles pesant entre (190-200 g) (au début de l'expérimentation) une glycémie à jeun a été mesuré pour chaque rat avant le protocole expérimental puis nous avons divisé nos échantillons en 5 lots selon le **tableau III**.

Tableau III. Constitution des lots des rats pour le modèle de diabète

Lot 1 n=7	Lot Témoin	Injection d'une solution saline 0.9 %
Lot 2 n=7	Lot Diabétique	Injection intra péritonéale de l'alloxane
Lot 3 n=7	Lot camomille romaine	Injection d'une solution saline 0.9 %+ traitement orale (gavage) avec 20mg/kg/jour de l'extrait aqueux de la camomille romaine (Eddouks et al., 2005)
Lot 4 n=7	Lot Diabétique + camomille romaine	Injection intra péritonéale de l'alloxane +traitement orale (gavage) avec 20mg/kg/jour de l'extrait aqueux de la camomille romaine (Eddouks et al., 2005)
Lot 5 n=7	Lot Diabétique + glucophage	Injection intra péritonéale de l'alloxane+ traitement orale (gavage) avec de la metformine 1000mg/10ml

L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur permanent (**Fig 19**).



Figure 19. Identification individuelle des rats

5.6.1.2 Pesée

Les animaux sont pesés à l'aide d'une balance de précision à des moments fixes avant l'induction de diabète (début de la manipulation) et chaque jour après l'induction du diabète, jusqu'au jour de la dissection des rats.

5.6.1.3 Dosage du glucose

L'évolution de la glycémie des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour du traitement, et jusqu'à la fin du traitement. Selon un programme identique à celui des pesées.

5.6.1.3.1 Prélèvement sanguins

Tous les prélèvements sanguins pour le dosage de la glycémie sont effectués au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue à l'alcool, les rats sont piqués à l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie (**Lecteur Accu Chek**).



Figure 20. Dosage de la glycémie

5.6.1.3.2 Mesures glycémiques

Au toucher de l'extrémité de la bandelette, le sang est absorbé rapidement. Les contrôles de sécurité complémentaires sont effectués automatiquement. Lorsque la quantité est suffisante, le symbole clignotant d'un sablier s'affiche sur l'écran. Au bout de 14 jours on a observé une hyperglycémie chez tous les rats des lots (2, 4, 5) sensibilisés à l'alloxane



Figure 21. Lecteur Accu Chek

5.6.1.4 Induction du diabète sucré expérimental chez les rats

5.6.1.4.1 Le diabète induit par l'alloxane

Le diabète induit par l'alloxane est un diabète toxique insulino-privé, connu sous le nom de « diabète alloxanique» (Livingston *et al.*, 2008).

Le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit, la solution mère d'alloxane à injecter est de 0,1g/ml, diluée dans de l'eau distillée.

L'injection aux rats s'est faite par voie intra-péritonéale.

Après injection, les rats sont remis dans les cages et reçoivent systématiquement un libre accès à l'alimentation et une solution glucosé à boire pendant une heure à deux heures pour éviter le choc hypoglycémique (Kumar Tiwari *et al.*, 2014).

Dans la littérature consultée, on utilise 150mg/kg d'alloxane, selon la règle de trois suivantes :

$$150 \rightarrow 1000g$$

$$X \text{ mg} \rightarrow Pg$$

$$X = \frac{150 \times P}{1000} = \dots \text{ mg}$$

- X étant la quantité en mg d'alloxane utilisée
- P étant le poids du rat

Une dose différente a donc été utilisée pour chaque animal selon le tableau suivant :

Tableau IV. Calculs des doses d'alloxane utilisées pour chaque animal

Lots	Rat	Quantité de NaCl/ aloxane administré par rapport au poids de l'animale	Dose d'alloxane injectée (ml)
Diabétique	Rouge 2	2,58	0,387
	Rouge 5	1,11	0,1665
	Noir 2	0,97	0,1455
	Rouge 1	1,37	0,2055
	Rouge 6	1,32	0,198
Diabète+Glucophage	Rouge 5	3,01	0,4515
	Rouge 3	3,37	0,5055
	Rouge 2	0,89	0,1335
	Noir 5	1,09	0,1635
	Noir 6	1,05	0,1575
Témoin	Noir 3	/	/
	Rouge 3	/	/
	Rouge 5	/	/
	Rouge 1	/	/
	Noir 4	/	/
Camomille romaine	Rouge 6	/	/
	Rouge 4	/	/
	Rouge 3	/	/
	Noir 3	/	/
	Rouge 5	/	/
Diabète+camomille romaine	Noir 4	2,58	0,387
	Noir 5	3,10	0,465
	Rouge 3	1,14	0,171
	Noir 6	1,49	0,2235
	Rouge 4	1,12	0,168

5.6.1.4.2 Préparation de l'eau + sucre

La préparation de l'eau sucrée s'est faite par la formule suivante :

2gde sucre → 10 ml d'eau

Pour les besoins de notre expérimentation, nous préparions donc des volumes supérieurs d'un litre selon l'extrapolation ci-dessous

20gde sucre → 1l d'eau

Les solutions sucrées étaient préparées au besoin, selon le protocole appliqué.

5.6.1.5 Préparation de la solution glucophage

A l'aide d'un mortier, broyer le glucophage, vider ce dernier dans un tube à essai puis rajouter de l'eau distillée et agiter à l'aide d'un vortex afin d'homogénéiser la solution pour le gavage (Fig 23).



Figure 22. Solution de l'extrait aqueux et solution glucophage

5.6.1.6 Le traitement

Le traitement se fait par gavage comme montré sur la figure suivante :

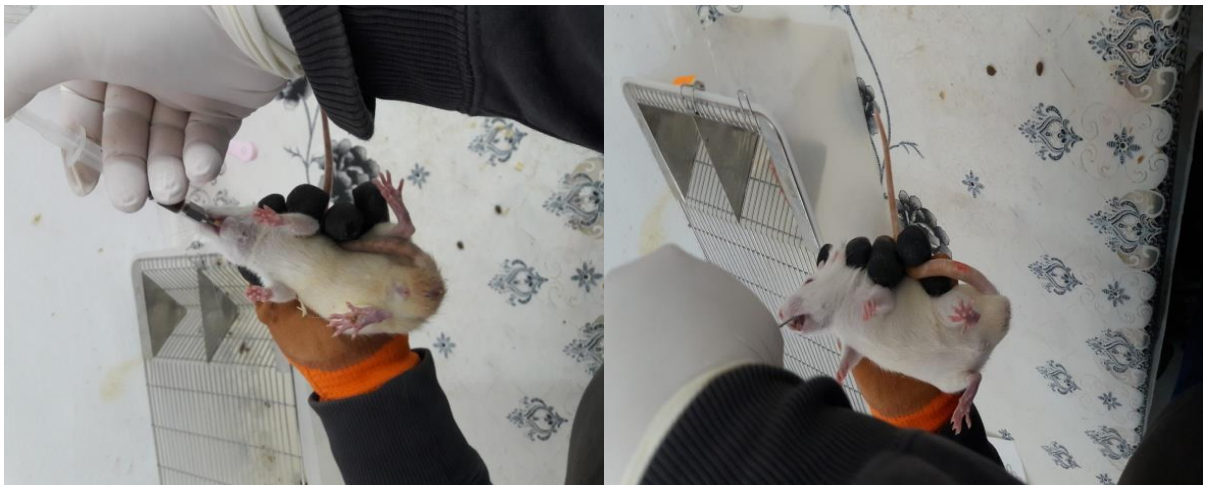


Figure 23. Gavage des rats

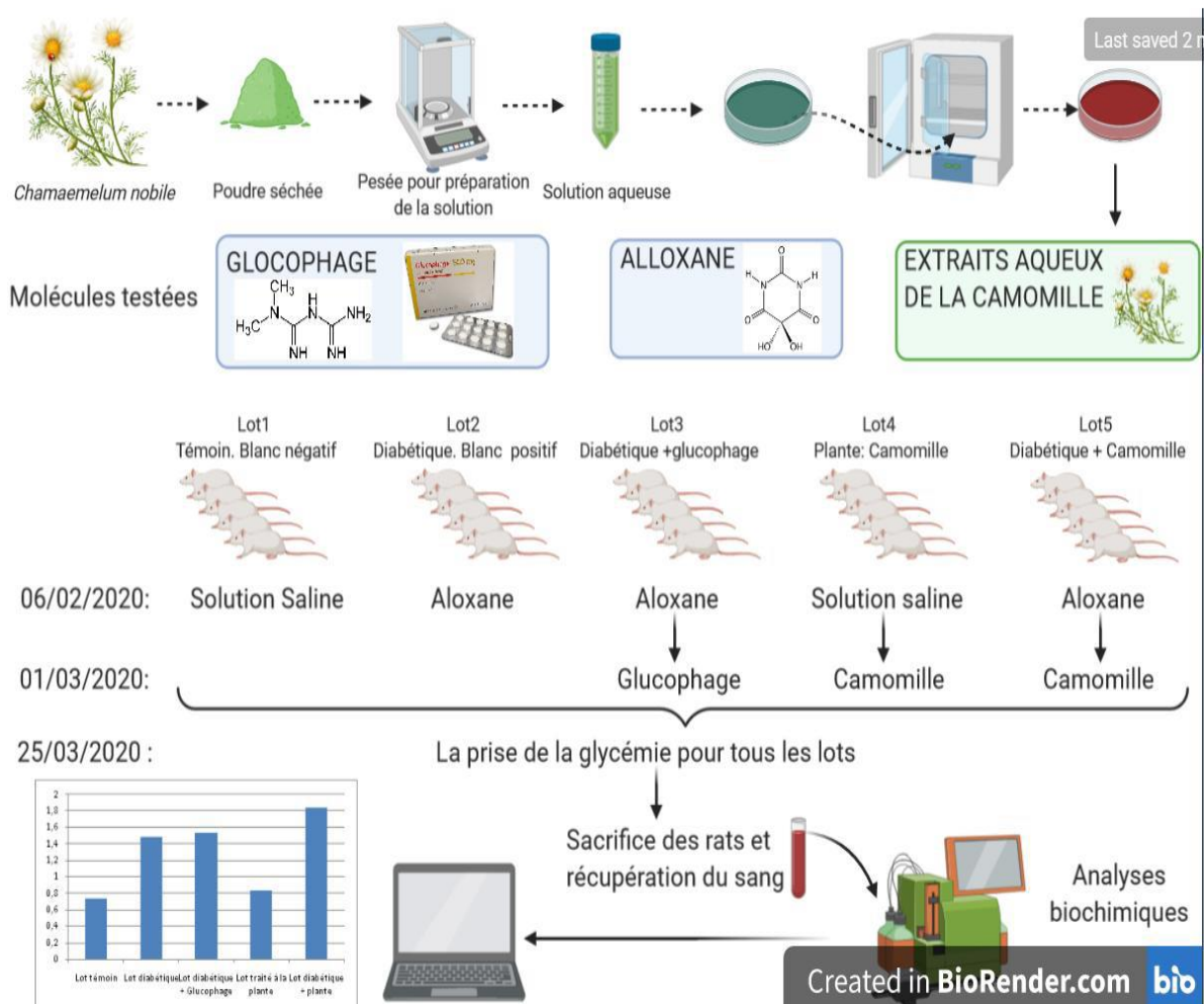


Figure 24. Résumé graphique du protocole expérimental utilisé

Nous avons donc mesuré la glycémie de chaque rat en fin de semaine pour suivre l'évolution de la maladie et le traitement par la camomille en comparaison avec de la metformine. 24 jours après le sacrifice a été effectué par décapitation. Le sang est immédiatement recueilli pour l'étude des paramètres biochimiques et le dosage des paramètres du stress oxydant. Le second tube, est destiné pour mesurer les paramètres (Formule numération sanguine FNS).

Le prélèvement de l'organe clé (pancréas) a été effectué pour la réalisation des coupes histologiques et l'étude du stress oxydant

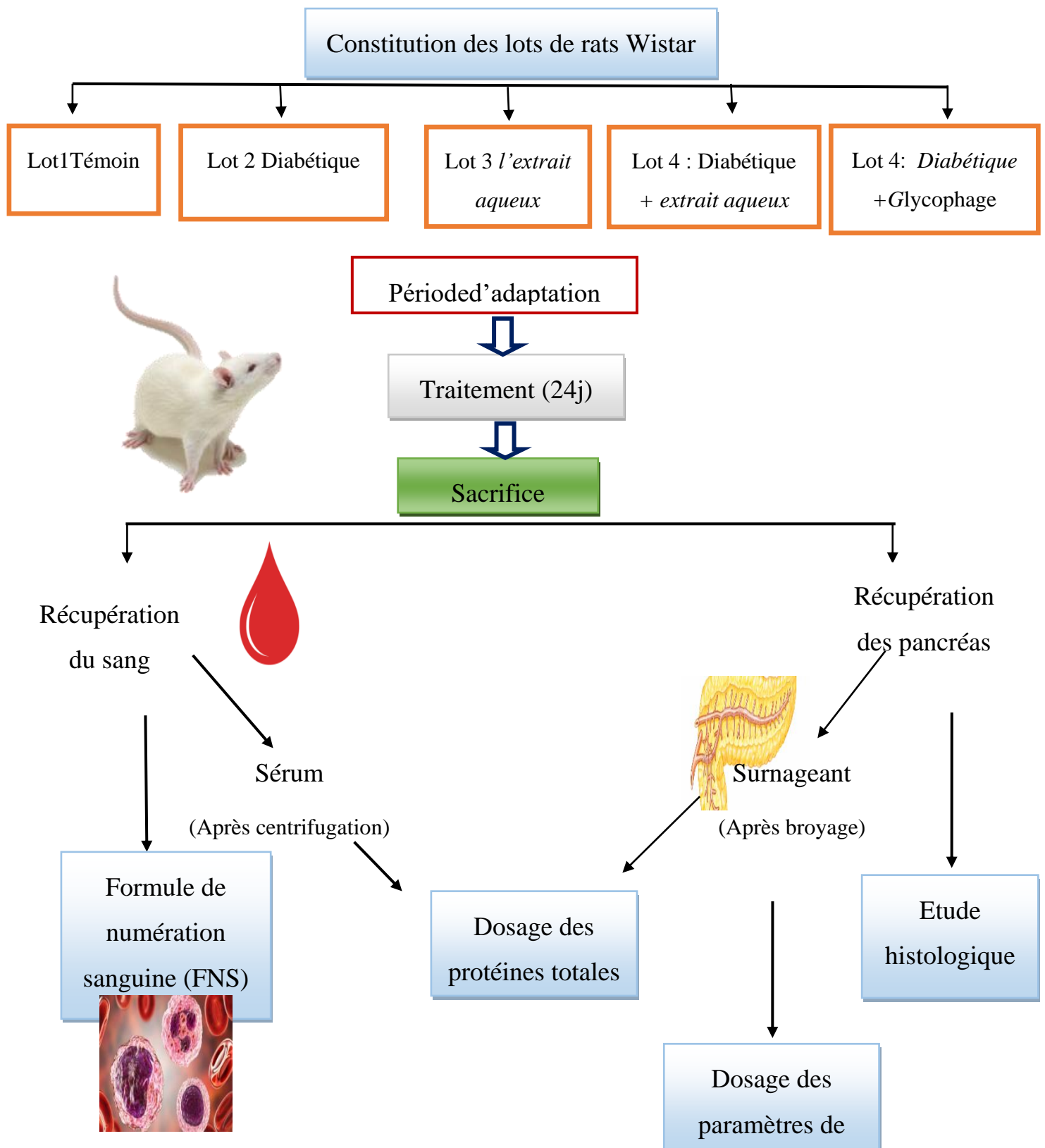


Figure 25. Schéma récapitulatif du protocole du diabète expérimental

5.7 Protocole d'étude de l'asthme

5.7.1 Protocole expérimental

Au cours de notre étude nous avons identifié les marqueurs biochimiques pulmonaires, ainsi que le degré de l'inflammation par :

- La mesure de la formule numération sanguine (FNS).
- Le dosage de l'interleukine-4 (IL-4) dans le liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA) et le poumon.
- Le dosage des protéines totales dans le sang et le LBA
- Nous avons étudié la variation du statut de défense antioxydant par :
 - le dosage du malondialdéhyde (MDA). (la peroxydation lipidique)
 - Le statut de défense antioxydant non enzymatique par le dosage du glutathion réduit (GSH)
 - Le statut de défense antioxydant enzymatique par le dosage (GPx, GST, SOD, CAT).
 - Ainsi que le pouvoir antioxydant de l'extrait de camomille par :
 - Evaluation de quelques composés phénoliques. (Flavonoïde, polyphénol, tannins)
 - Etude de l'activité antioxydante. (DPPH)

En fin, nous avons observé les modifications de l'architecture tissulaire pulmonaire par des coupes histologiques.

5.7.2 L'élevage

28 rats mâles de la souche Wistar de l'institut Pasteur âgés de 6 à 8 semaines et d'un poids vif moyen de 200 ± 10 g ont été élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière. Sont soumis à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie, à une température de 25°C et une photopériode naturelle, la nourriture a été pesée chaque jour ainsi que la quantité d'eau consommé. Afin de calculer l'évolution du poids corporel des rats.

5.7.3 Formation des lots et traitements des rats

Les rats sont divisés en 4 lots de 7 rats sensibilisés à l'ovalbumine et/ou traités avec l'extrait aqueux de la plante (camomille romaine)

- Le lot 1 : contrôle recevra uniquement de la solution saline 0.9%.
- Le lot 2 : sensibilisation à l'ovalbumine (OVA) à raison de 1mg/1ml, développant un asthme expérimental (Zemmouri et al., 2017 ; Khaldi et al., 2018)
- Le lot 3 : traité par gavage avec 20 mg /Kg d'extrait de la camomille romaine (1mL/Kg/jour) (Eddouks et al., 2005)
- Le lot 4 : sensibilisé à l'OVA et traité avec 20mg/kg d'extrait de camomille à raison de 1mL/Kg/jour

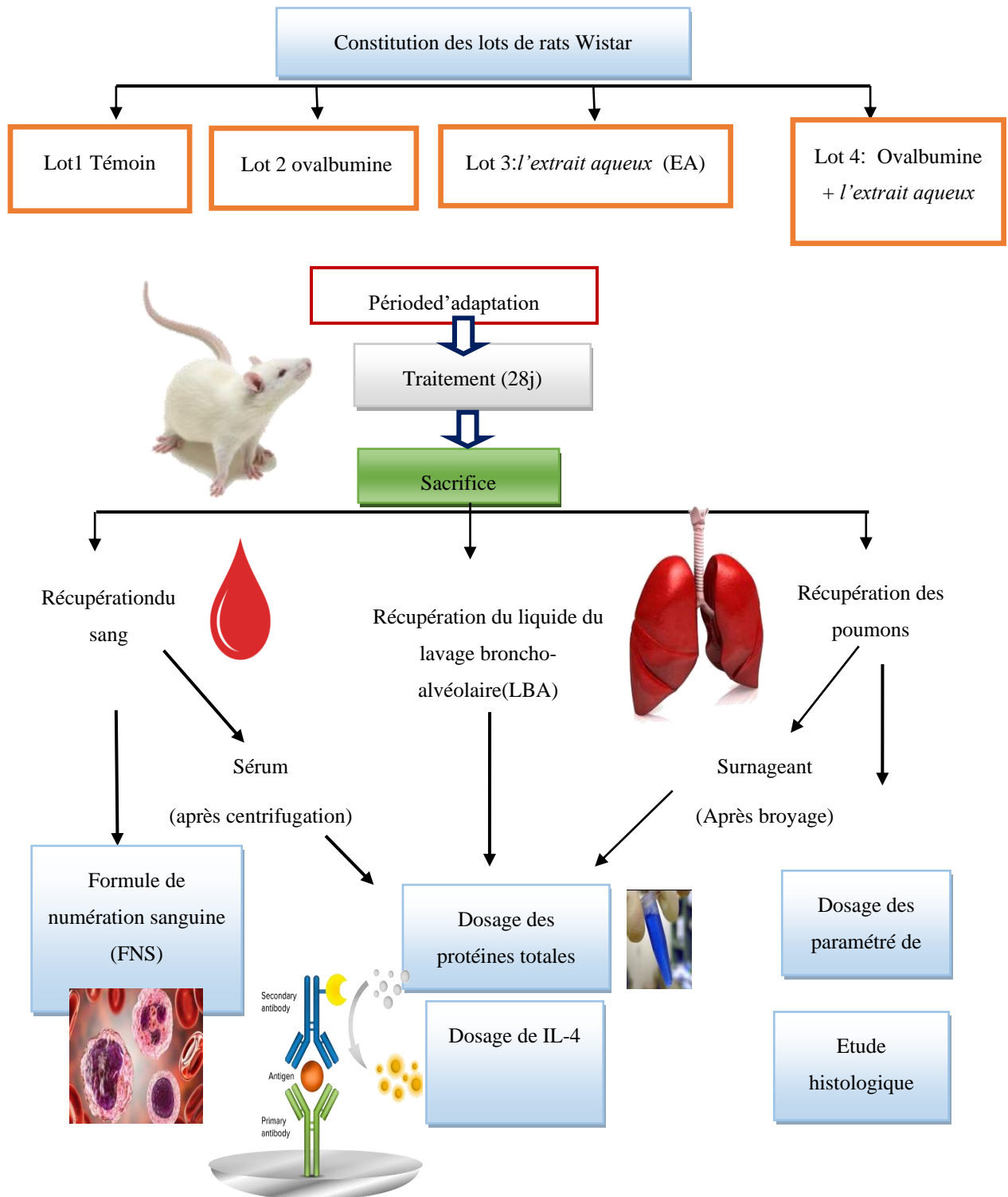


Figure 26. Schéma récapitulatif du protocole d'athme expérimental

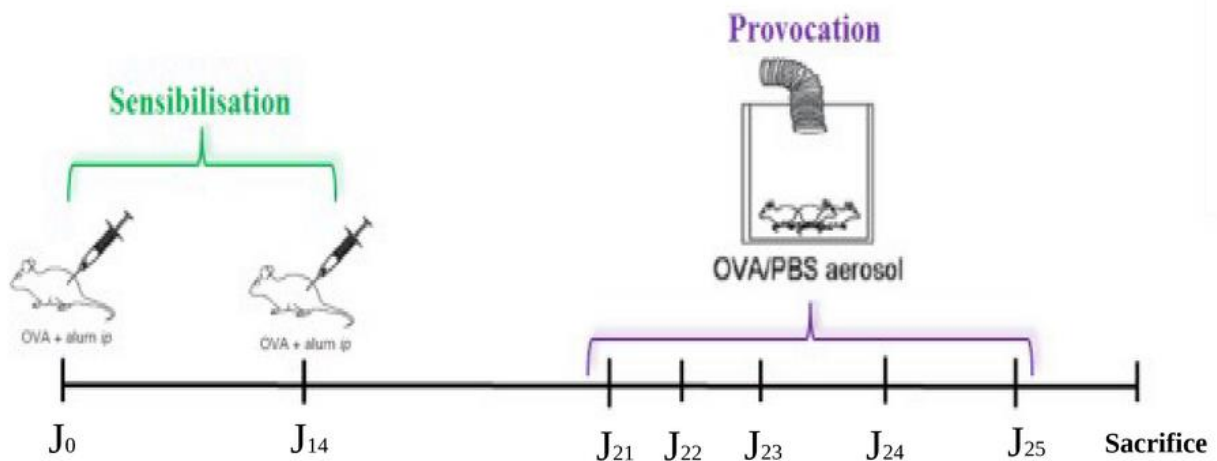


Figure 27. Protocole expérimental

Au jour 0 et jour 14 immunisation des rats par une injection intrapéritonéale de 1 mg d'ovalbumine (Ova) adsorbée à 1 mg d'hydroxyde d'aluminium dans un volume de 1 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS)

Aux jours 21, 22, 23, 24 et 25, les rats ont reçu des inhalations d'ovalbumine à 1 mg/ml diluée dans de l'eau physiologique tamponnée au phosphate (PBS) (générateur d'aérosols à ultrasons (OMRON, NE-C29-E))

Quant aux lots témoins et plante(EA), ils ont été exposés à un aérosol d'eau salinée à 0,9% pendant 30 minutes et ce aux mêmes moments que les lots précédents (Khaldi et *al.*, 2022)

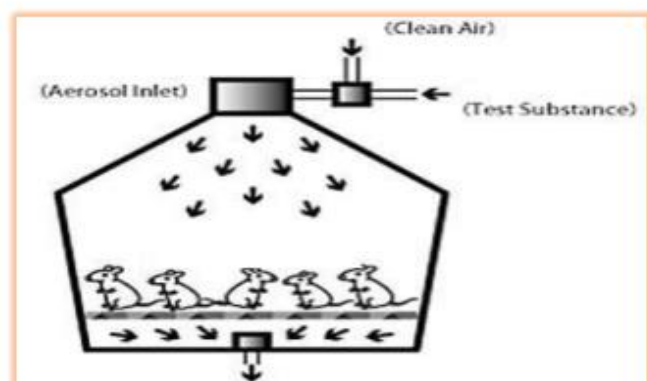


Figure 28. Provocation des animaux par aérosol

5.7.4 Sacrifice

Le sacrifice a été effectué par décapitation au jour 28, soit 72 heures après la dernière inhalation d'ovalbumine (Chekchaki et *al.*, 2017).

Le sang est recueilli dans deux types de tubes. Le premier, sec, destiné à une centrifugation le sérum recueilli servira pour les paramètres biochimiques ; quant au culot érythrocytaire, il sera utilisé pour la préparation des lysats d'érythrocytes qui sont destinés pour le dosage des paramètres du stress oxydant. Le second tube, contenant un anticoagulant (EDTA), est destiné pour mesurer la Formule numération sanguine FNS.

Le prélèvement du liquide broncho-alvéolaire est réalisé grâce à la gaine d'un micro-perfuseur (Dispositif épitrânien avec tubulure en PVC). La trachée a été canulée et le lavage broncho alvéolaire (LBA) a été effectué par 1 mL de la solution PBS 3 fois de suite (Oberholzer et Pretorius, 2009). Le liquide du LBA a été recueilli puis centrifugé .le surnageant récupéré et conservé pour les dosages des protéines totales.

Le prélèvement d'organe clé (poumons) a rapidement été effectué après le sacrifice. L'organe est subdivisé en deux,

- une première moitié est stockée dans le congélateur pour la préparation ultérieure de l'homogénat. (dosage des paramètres du stress oxydant).
- L'autre moitié est fixée dans une solution de conservation (formol à 10%) pour la réalisation des coupes histologiques.

5.8 Dosage des paramètres du stress oxydant

5.8.1 Dosage des protéines

5.8.1.1 Principe

On a utilisé la méthode de Bradford (1976), qui consiste à utiliser le Bleu Brillant de Coomassie G250 qui réagit avec les groupements amines (-NH) des protéines pour former un complexe de couleur bleue la concentration des protéines est mesurée à 595nm

5.8.2 Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

5.8.2.1 Principe

Le dosage du MDA est réalisé en milieu acide et à chaud (T : 60 °C et 90 °C) avec l'acide thiobarbiturique (TBA), pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être mesuré par spectrophotométrie à 530 nm (Esterbauer et *al.*, 1992).

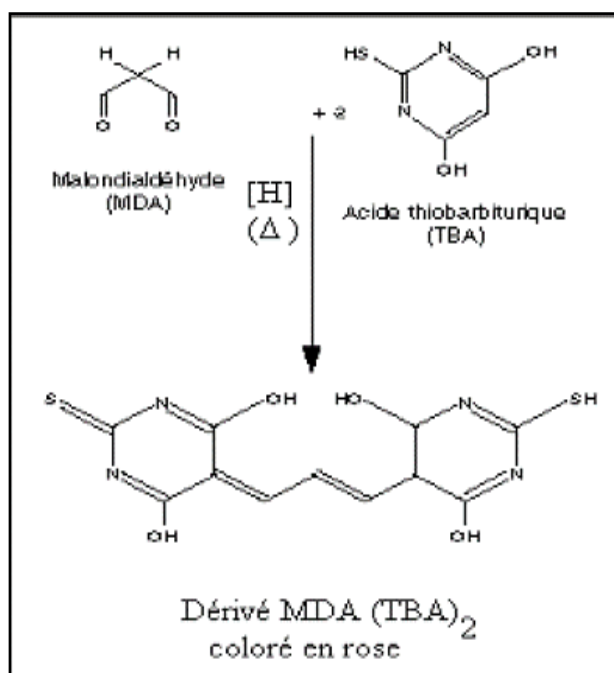


Figure 29. Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique

5.8.3 Détermination du taux de glutathion réduit

5.8.3.1 Principe

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le

GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) (figure 19) lequel présente une absorbance à 412nm.

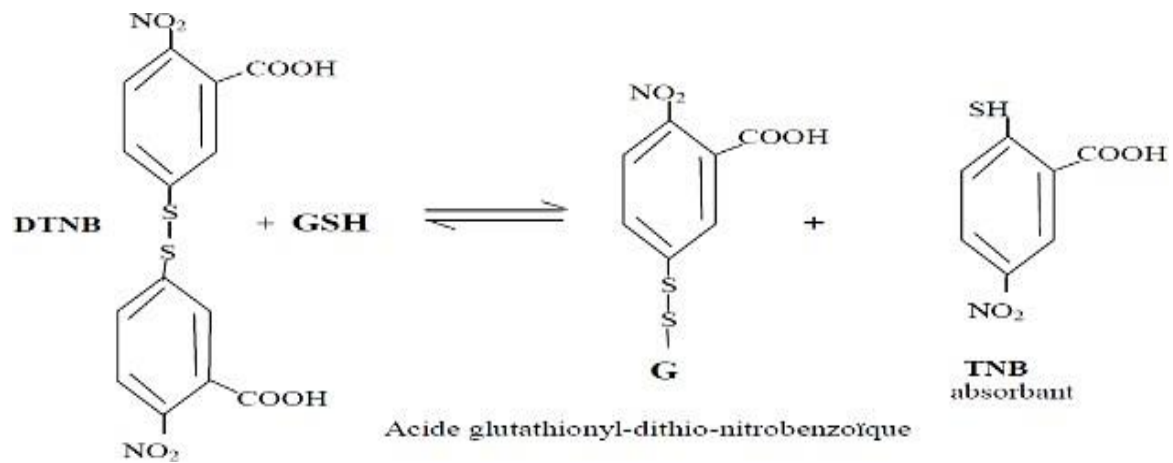
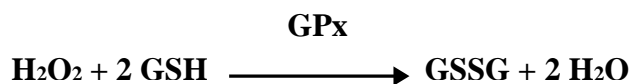


Figure 30. Principe de dosage du glutathion

5.8.4 Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase

5.8.4.1 Principe

Le dosage de la GPx est réalisé par la méthode de Flohe et Gunzler (1984) qui est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH). Ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Unité : GPx (μmol GSH/mg protéine)

5.8.5 Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase

5.8.5.1 Principe

Le dosage de la superoxyde dismutase est déterminé à partir de sa capacité d'inhiber la réduction du nitro bleu tetrazolium (NBT). Ainsi le milieu réactionnel contient une molécule photosensibilatrice (la riboflavine) et le NBT, molécule capable d'être réduite par O₂⁻ généré par la riboflavine. L'éclairage intense du milieu réactionnel induit l'oxydation de cette dernière qui cède un électron au dioxygène pour former un anion

superoxyde qui interagit avec le NBT. Ce dernier incolore forme alors le bleu de formaseu et l'absorbance est mesurée 560 nm. (Beyer et Fridovich, 1987).

5.8.6 Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

5.8.6.1 Principe

La CAT accélère la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène et la mesure de l'absorbance ce fait par spectrophotométrie à 240nm (Aebi, 1984).



5.8.7 Dosage de l'activité des glutathion-S-transférases GSTs

5.8.7.1 Principe

La GST est une enzyme dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit (GSH) à des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther. L'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée à 340 nm.

5.9 Dosage ELISA de l'IL-4

C'est un test immunologique classiquement utilisé pour la détection et le dosage protéique.

Selon le protocole de fabricant, à l'aide du kit commercial (Rat Interleukin-4 platinum ELISA kit (BMS628/BMS628TEN)) lors de l'achat du kit un «coating » a été effectué sur les barrettes. La fixation de l'IL-4 à mettre en évidence dans les différents liquides biologiques (LBA, Poumon). Un second anticorps marqué à la biotine va se lier au complexe streptavidine-peroxydase (peroxydase de raifort ou HRP, de l'anglais HorseRadish Peroxidase). La révélation est réalisée grâce au TétraméthylBenzidine (TMB) donnant une coloration bleu en présence de l'enzyme. La mesure de la densité optique se fait à 450 nm.

Les concentrations d'IL-4 ont été déterminées par interpolation à partir d'une courbe standard d'étalonnage, réalisée dans les mêmes conditions. Toutes les données étant exprimées en pg/mL.

La reconstitution des différentes solutions utilisées dans ce protocole est détaillée dans l'annexe 05).

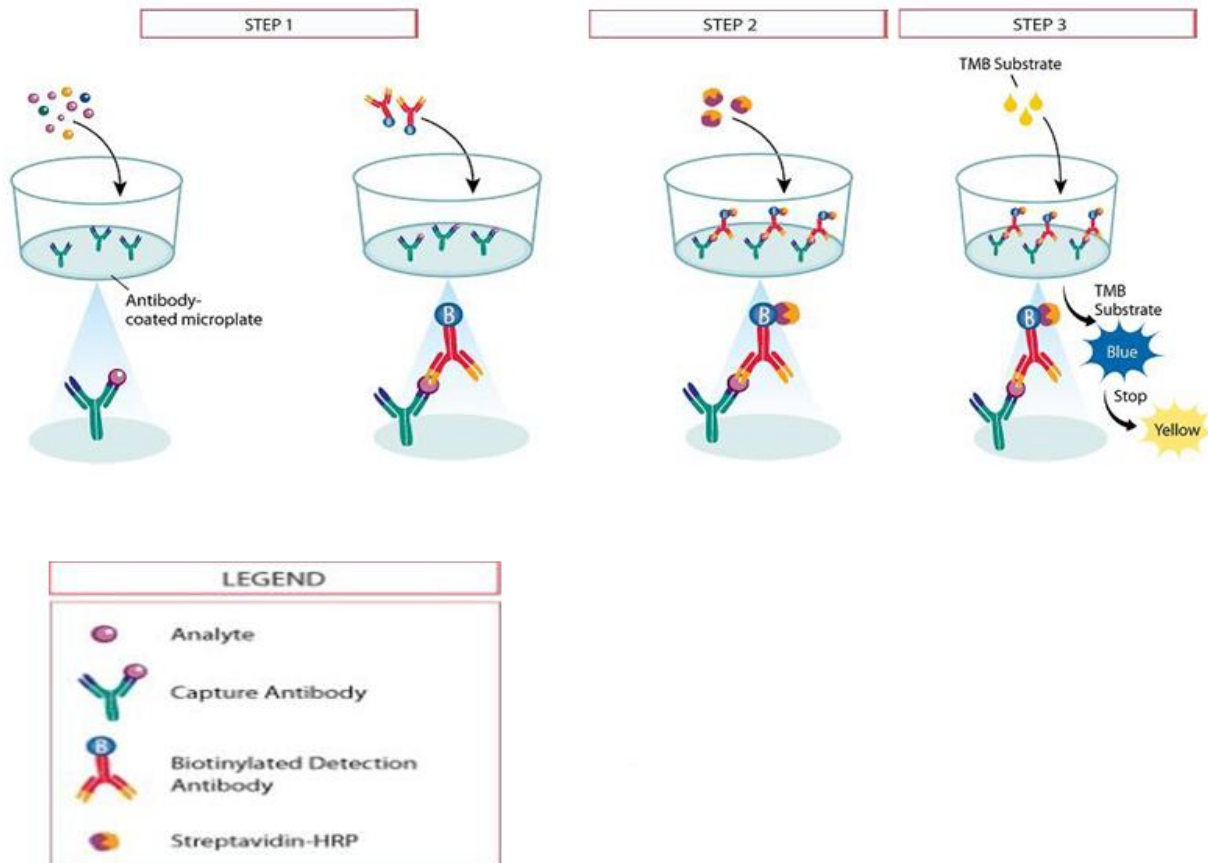


Figure 31. Schéma du principe de la technique ELISA sandwich utilisée

5.9.1 Préparation de la gamme

Huit puits de la plaque serviront pour la réalisation de la courbe du standard à différentes concentrations.

- Reconstituer l'étalon d'IL-4 de rat en ajoutant de l'eau distillée.
- Le volume de reconstitution est indiqué sur l'étiquette du flacon standard.
- Laisser l'étalon reconstitué reposer pendant 10 à 30 minutes.
- Agiter ou mélanger doucement pour assurer une solubilisation complète et homogène.
- A partir de la solution standard d'IL-4 à la concentration (200pg/ml), préparer une série de sept dilutions (C1: 100 pg/ml ; C2: 50 pg/ml ; C3: 25 pg/ml ; C4: 12.5 pg/ml ; C5: 6.25 pg/ml ; C6: 3.12 pg/ml ; C7: 1.56 pg/ml).

5.9.2 Etapes du dosage ELISA

La réaction ELISA sandwich se réalise en trois temps :

- Dans un 1er temps, 50µL du Tampon diluant standard ainsi que 50µL de chaque échantillon (sérum/LBA/poumon) sont ajoutés dans tous les puits de la plaque. Par la suite, 50 µL de la solution de l'anticorps anti IL-4 conjugué à la biotine ont été déposés dans l'ensemble des puits. Après homogénéisation, la plaque est incubée pendant 2h à température ambiante ; puis lavée trois fois par la solution de lavage.
- Dans le 2ème temps, on ajoute 100 µL de solution de Streptavidin-HRP dans chaque puits. Après homogénéisation, la plaque est incubée pendant une heure à température ambiante ; puis, lavée trois fois par la solution de lavage.
- Enfin, dans le 3ème temps, on ajoute 100 µL du chromogène stabilisé (TMB) dans tous les puits. Le mélange commencera à virer au bleu, et la plaque est alors incubée pendant 10 min à température ambiante et à l'obscurité. Pour finir, 100 µL de la solution d'arrêt ont été ajoutés dans tous les puits. L'ajout de cette solution dans les puits va faire changer la coloration du bleu en jaune, et la lecture de l'absorbance est alors réalisée à 450 nm (Lecteur Mindray MR-96A). L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de l'IL-4 qui est déterminée par comparaison à la gamme étalon du standard et exprimée en pg/mL. (Shun-Ming Ting *et al.* 2020).

Remarque : les échantillons ont été dilués au 1:2 (50 µl d'échantillon + 50 µl de diluant d'échantillon), la concentration lue sur la courbe standard doit être multipliée par le facteur de dilution (x 2).

5.10 Examen histopathologie

Les coupes histologiques sont réalisées au service d'anatomie pathologique du CHU Annaba. La technique utilisée est celle décrite par Hould (1984). Elle comporte les étapes suivantes : Fixation, enrobage et obtention des blocs, confection des coupes, coloration et montage, observation au microscope optique.

5.10.1 Fixation

La fixation des échantillons (foie, rein et poumon) a été faite dans une solution de formol à 10%. Les prélèvements réalisés sont mis dans des cassettes spéciales à parois retournées afin de permettre le passage des liquides.

5.10.2 Enrobage et obtention des blocs

La réalisation de coupes fines et régulières nécessite l'inclusion des échantillons dans un bloc de paraffine, comme suit :

- **Déshydratation** : Les échantillons sont déshydratés dans un automate (Leica TP1020) qui permet leurs passages automatiques et progressifs dans des bains d'alcools pendant 24h : un bain de formol et six bains d'éthanol.
- **Eclaircissement** : L'éthanol est remplacé par un solvant miscible à la paraffine. Il s'agit du xylène qui élimine l'éthanol et clarifie les tissus (trois bains de 30 minutes chacun).
- **Inclusion** : Les tissus sont tout d'abords maintenus et imbibés dans des bains de paraffine liquide (portée à 56/58°C). Ensuite, le tissu imprégné est enrobé par inclusion dans un bloc de paraffine fondue (Leica EG1160).

5.10.3 Confection des coupes

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5µm en moyenne) est possible grâce à un microtome (Leica RM2125RT). Ces dernières sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

5.10.4 Coloration et montage

La technique à l'hématoxyline-Eosine (Hématéine-Eosine) a été utilisée par un automate (Leica ST4040) en suivant les étapes suivantes :

Le déparaffinage et l'hydratation des lames sont effectués par l'eau du robinet, suivie par un rinçage à l'eau distillée. La coloration en bleu violacée des basophiles (noyaux) est obtenue après incubation des lames dans un bain d'hématoxyline de Harris pendant 15 minutes. Ensuite, les coupes sont immergées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) afin de les différencier. Un rinçage avec un bain d'eau est effectué et l'observation par le microscope permet la vérification de la différenciation des lames.

5.11 Analyses statistiques

Les valeurs ont été présentées sous forme de moyennes \pm erreur standard moyenne (SEM) des six rats de chaque groupe. La différence significative entre les moyennes des groupes ont été déterminées par une ANOVA unidirectionnelle suivie du test de Tukey à l'aide de GraphPad Prism 8.0.2. La signification statistique de la différence a été prise comme $p < 0,05$.

6 Résultats et discussion

6.1 Résultat de l'étude phytochimique et de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de la camomille romaine

On a déterminé par spectrophotométrie :

- Les concentrations en polyphénols totaux, rapporté en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait.
- Les concentrations en flavonoïdes, rapporté en milligramme d'équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait.
- Les concentrations en tannins, rapportée en microgramme d'équivalent de la catéchine par milligramme d'extrait.

Tableau V. Résultats de l'étude phytochimique de la camomille romaine

Paramètres	Valeurs
Total phénols ($\mu\text{g AGE/g E}$)	157,57 \pm 0,85
Flavonoïde ($\mu\text{g CE/g E}$)	21,47 \pm 0.322
Tannins ($\mu\text{g CE/g E}$)	180,71 \pm 1,66
50 % de piégeage du radical DPPH ($\mu\text{g /ml}$)	11,76 \pm 0, 30
Acide ascorbique ($\mu\text{g /ml}$)	67,36 \pm 1,9
BHT ($\mu\text{g /ml}$)	28,63 \pm 0,13

On a déterminé le pouvoir antioxydant par IC_{50} (figure 21) qui représente la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, IC_{50} de l'extrait a été comparé aux deux témoins positifs les résultats ont révélé un pouvoir antioxydant plus intéressant avec un IC_{50} = 11.75 \pm 0.30 $\mu\text{g/ml}$, le BHT = 28,63 \pm 0.13 $\mu\text{g/ml}$ et l'acide ascorbique = 67,36 \pm 1.9 $\mu\text{g/ml}$.

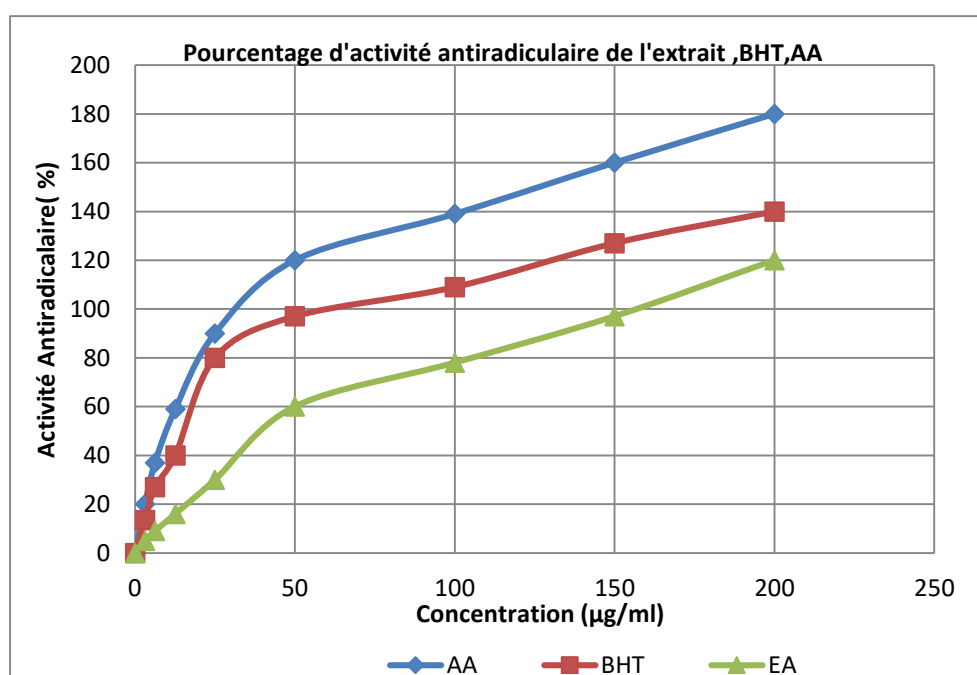


Figure 32. Pourcentage d'activité antiradicalaire de l'extrait de *Chamaemelum nobile*

L'utilisation des antioxydants naturels à base de substances végétales facilement accessibles, peu coûteuses paraît être le meilleur choix en raison de leurs capacités biologiques à protéger le corps humain contre les effets néfastes des radicaux libres, retarder la progression de plusieurs maladies. L'objectif de notre étude est d'évaluer le pouvoir antioxydant de la plante par la mesure des concentrations en polyphénol, flavonoïde et tanins qui représentent les principales substances actives présentes dans l'extrait aqueux dont le pouvoir antioxydant leur a été attribué (Yakhlef et al., 2011). Ces composés phytochimiques agissent seuls ou en association avec d'autres agents thérapeutiques pour la prévention et le traitement de plusieurs pathologies (Ozcan et al., 2015 ; Sebai et al., 2015). Ainsi les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux de la camomille romaine ont été mesurées par la méthode de DPPH

Les résultats montrent que le contenu phénolique total de l'extrait est de $157,57 \pm 0,85$ µg d'EAG/mg d'extrait. La concentration en polyphénols de l'extrait de notre plante s'accorde avec les résultats de Khennouf et al. (2013).

La concentration de l'extrait en flavonoïdes est de $21,47 \pm 0,322$ µg EQ/mg d'extrait ces résultats sont comparables à ceux trouvés par (Khennouf et al., 2013)

La concentration de l'extrait en tanins est de $180,71 \pm 1,66$ µg EQ/mg d'extrait la teneur en tanins est comparable à celle trouvée par (Khennouf et al., 2013)

La différence dans les teneurs et les concentrations constatées dans la même espèce de plante est influencée par les changements climatiques sachant que la synthèse des polyphénols dépend de facteurs génétiques mais aussi des changements de conditions du milieu l'état hydrique, la température et le rayonnement (Hossain et al., 2010)

Le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la camomille romaine a été évalué par le dosage DPPH qui a montré une activité antioxydante excellente. Cela par la comparaison des IC50 par rapport aux deux témoins positifs.

6.2 Résultats du protocole d'asthme expérimental

Au cours de notre étude on n'a pesé les rats tous les deux jours pour évaluer les variations du poids corporel des rats et poids (relatif et absolu) des poumons présentées dans le (tab 04). La sensibilisation à l'OVA induit une baisse du poids corporel, une élévation très hautement significative ($p < 0,001$) du poids absolu et relatives des poumons comparativement aux rats témoins. L'administration de l'extrait aqueux (EA) de la plante (camomille romaine) aux rats sensibilisés a permis de manière significative ($p < 0,05$) le retour à la normale du poids absolu et relative des poumons par rapport au groupe sensibilisé.

Tableau VI. Variation du poids corporels, poids relatifs et absolu du poumon

Paramétré	Contrôle	OVA	EA	OVA /EA
Poids initial	272,30 ± 31,15	233,80 ± 25,65	253,00 ± 26,68	241,00 ± 15,54
Poids final	313,80 ± 44,33	288,00 ± 39,88	284,30 ± 23,55	279,80 ± 25,21
Gain de poids	41,50 ± 32,46 ^{***}	54,17 ± 22,51 ^{***}	31,33 ± 11,96 ^{***}	38,83 ± 27,79 ^{***}
Poids absolu des poumons	02,36 ± 00,15	03,05 ± 00,08 ^{***}	02,50 ± 00,39 ^{##}	02,71 ± 00,21
Poids relatives	00,83 ± 00,04	01,03 ± 00,03 ^{***++}	00,87 ± 00,07	00,90 ± 00,11 [#]

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement aux rats témoins ;

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine;

+ $p \leq 0,05$; ++ $p \leq 0,01$; +++ $p \leq 0,001$ comparativement aux rats traités par la plante

6.2.1 Effets du traitement de la plante et la sensibilisation de l'OVA sur la lignée leucocytaire

La numération leucocytaire des cellules dans le liquide broncho-alvéolaire (LBA) sont présentées dans le tableau 05. On constate une baisse très hautement significative ($p \leq 0,001$) des cellules totales, des leucocytes des monocytes et une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) des lymphocytes, granulocytes des rats sensibilisé à l'OVA comparativement aux rats témoins. L'utilisation de l'extrait de camomille a amélioré de manière très hautement significative ($p \leq 0,001$) le taux des cellules totales, des granulocytes et de manière hautement significative les taux de monocytes par rapport au lot sensibilisé.

6.2.2 Dosage des protéines totales

Cette technique a été réalisée dans le liquide du LBA représenté (tab 05). On observe une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des protéines totales du groupe sensibilisé comparativement au lot témoin. L'administration de l'extrait de la plante a diminué les protéines totales comparativement au lot témoin.

Tableau VII. Variations des cellules de la lignée leucocytaire au niveau du liquide broncho-alvéolaire (LBA)

Paramètres	Control	OVA	EA	OVA /EA
Cellules totales (x10 ³ /μl)	01,50 ± 00,31	00,73 ± 00,16 ^{***}	01,85 ± 00,20 ^{##}	01,31 ± 00,14 ^{##++}
Leucocytes(x10 ³ /μl)	00,78 ± 00,14	00,41 ± 00,11 ^{***}	00,71 ± 00,11 ^{##}	00,51 ± 00,14 [*]
Lymphocytes %	35,90 ± 01,79	43,61 ± 02,40 ^{***}	36,48 ± 01,10 ^{##}	41,65 ± 00,97 ^{***++}
Monocytes %	10,72 ± 01,34	03,67 ± 00,12 ^{***}	08,92 ± 00,44 ^{##}	05,46 ± 00,23 ^{***##++}
Granulocytes %	52,10 ± 02,88	59,07 ± 01,48 ^{***}	53,93 ± 01,03 ^{##}	54,43 ± 00,66 ^{##}
Protéines totales (mg/l)	01,36 ± 00,19	01,86 ± 00,11 ^{***}	01,46 ± 00,13 ^{##}	01,75 ± 00,11 ^{***+}

* p ≤ 0,05 ; ** p ≤ 0,01 ; *** p ≤ 0,001 comparativement aux rats témoins ;

p ≤ 0,05 ; ## p ≤ 0,01 ; ### p ≤ 0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine;

+ p ≤ 0,05 ; ++ p ≤ 0,01 ; +++ p ≤ 0,001 comparativement aux rats traités par la plante

6.2.3 Variation des paramètres du stress oxydant au niveau du poumon et des érythrocytes

Le syndrome inflammatoire est généré par le stress oxydatif pour cela nous avons dosé certains paramètres du stress oxydant (glutathion réduit, glutathion peroxydase, la catalase, superoxyde dismutase, glutathion-S-transférases et le malondialdéhyde) au niveau des érythrocytes et des poumons.

6.2.4 Au niveau pulmonaire

Les résultats ont montré une élévation hautement significative (p ≤ 0,01) du taux de (MDA), une baisse très hautement significative (p ≤ 0,001) du glutathion réduit (GSH) et des activités antioxydantes enzymatiques (SOD), (GPx), (GST) et (CAT) par rapport au lot sensibilisé à l'OVA. L'utilisation de l'extrait de la plante a réduit significativement (p ≤ 0,05) le taux de MDA, comparativement aux rats sensibilisés à l'OVA, a augmenté de manière significative (p ≤ 0,05) le taux de GSH, hautement significative (p ≤ 0,01) le taux de GPx et GST, très hautement significative (p ≤ 0,001) le taux du SOD et de la catalase comparativement aux lots témoins.

Tableau VIII. Variations des paramètres de stress oxydatif et de IL-4 au niveau des poumons

Paramètres	Contrôle	OVA	EA	OVA /EA
MDA (nmol/mg prot.)	01,65 ± 00,37	02,88 ± 00,53 ^{**}	01,43 ± 00,33 ^{##}	02,09 ± 00,61 [#]
GSH (μmol/mg prot.)	00,81 ± 00,08	00,30 ± 00,20 ^{***}	00,71 ± 00,08 ^{##}	00,53 ± 00,16 ^{*+}
GPx (μmol GSH/mg de prot)	01,56 ± 00,33	00,59 ± 00,33 ^{***}	01,14 ± 00,38	00,81 ± 00,33 ^{**}
GST (mol /min /mg de prot)	01,20 ± 00,34	00,59 ± 00,07 ^{***}	01,03 ± 00,03 ^{##}	00,76 ± 00,12 ^{**}
CAT (mol H ₂ O ₂ /mg prot.)	151,50 ± 30,02	76,51 ± 14,17 ^{***}	140,80 ± 27,43 ^{##}	92,64 ± 07,83 ^{***++}
SOD (UT/mg de prot)	176,20 ± 11,58	80,23 ± 12,43 ^{***}	164,30 ± 19,44 ^{##}	134,70 ± 18,01 ^{***##}
IL-4 (pg/mL)	03,84 ± 0,29	08,02 ± 01,74 ^{**}	03,33 ± 01,23 [#]	07,18 ± 00,67 ⁺

* p ≤ 0,05 ; ** p ≤ 0,01 ; *** p ≤ 0,001 comparativement aux rats témoins ;

p ≤ 0,05 ; ## p ≤ 0,01 ; ### p ≤ 0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine;

+ p ≤ 0,05 ; ++ p ≤ 0,01 ; +++ p ≤ 0,001 comparativement aux rats traités par la plante

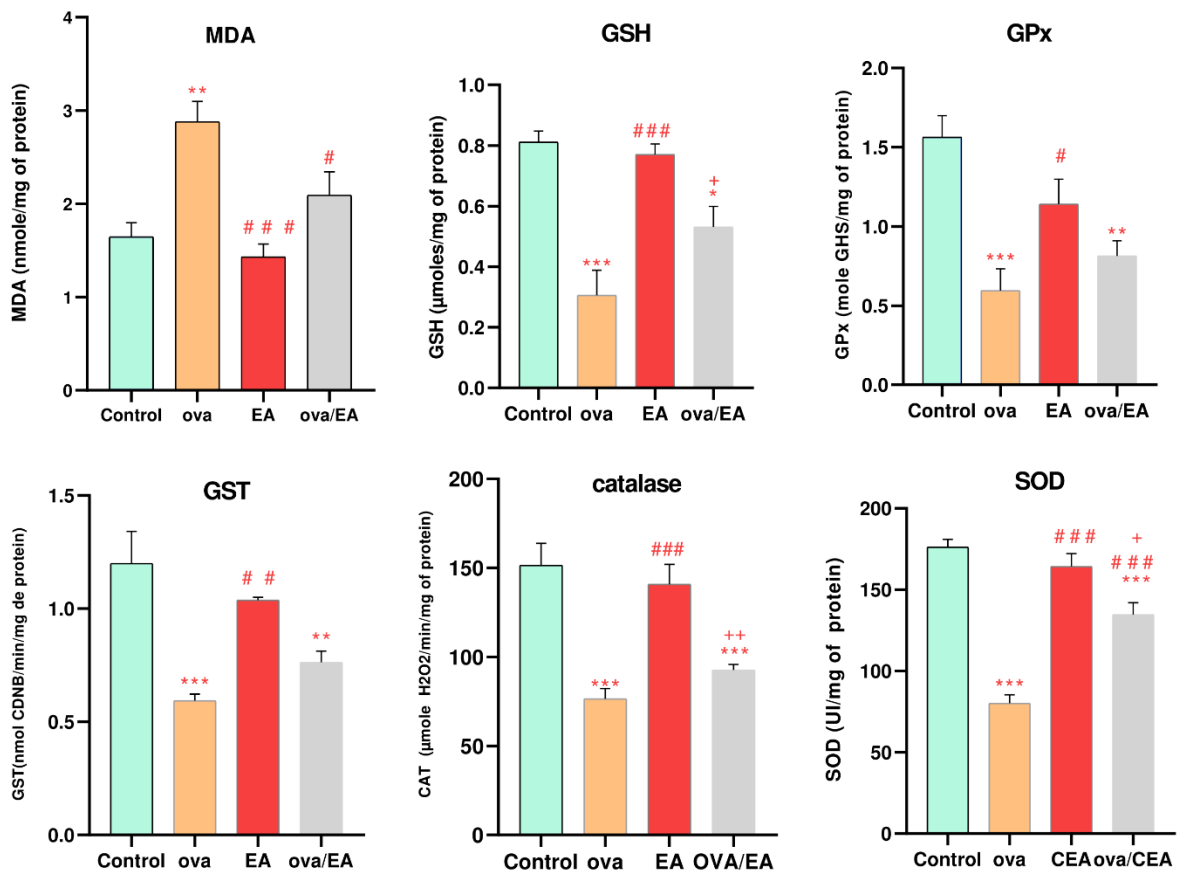


Figure 33. Variations des paramètres de stress oxydatifs au niveau des poumons

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$ comparativement aux rats témoins ;

$p \leq 0.05$; ## $p \leq 0.01$; ### $p \leq 0.001$ comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine

+ $p \leq 0.05$; ++ $p \leq 0.01$; +++ $p \leq 0.001$ comparativement aux rats traités par la plante

6.2.5 Au niveau érythrocytaire

Les résultats ont montré une élévation très hautement significative ($p \leq 0.001$) du taux de (MDA), une baisse très hautement significative ($p \leq 0.001$) du glutathion réduit (GSH) et des activités antioxydantes enzymatiques (SOD), (GPx), (GST) et (CAT) dans les lots sensibilisés à l'OVA comparativement aux lots témoins.

L'administration de l'extrait EA a permis une réduction très hautement significative ($p \leq 0.001$) du MDA au niveau des érythrocytes par rapport au lot témoin, une élévation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de la GST, hautement significative ($p \leq 0.01$) de la GPx et significative ($p \leq 0.05$) de la SOD par rapport aux lots témoins. On observe également une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de la GSH et significative ($p \leq 0.05$) de la GPx par rapport aux lots sensibilisés à l'OVA donc l'utilisation de la camomille a rétabli le pouvoir antioxydant suscitée.

Tableau IX. Variations des paramètres de stress oxydatif et de IL-4 au niveau des Erythrocytes

Paramètres	Contrôle	OVA	EA	OVA /EA
MDA (nmol/mg prot.)	00,78 ± 00,21	01,76 ± 00,12 ^{***}	00,75 ± 00,27 ^{###}	01,66 ± 00,15 ^{***+++}
GSH (µmol/mg prot.)	00,96 ± 00,19	00,34 ± 00,11 ^{***}	00,84 ± 00,15 ^{##}	00,75 ± 00,27 ^{##}
GPx (µmol GSH/mg de prot.)	01,28 ± 00,20	00,37 ± 00,11 ^{***}	01,26 ± 00,28 ^{###}	00,79 ± 00,17 ^{##++}
GST (mol /min /mg de prot)	01,72 ± 00,14	00,50 ± 00,18 ^{***}	01,69 ± 00,09 ^{###}	00,70 ± 00,19 ^{***+++}
CAT (mol H2O2/mg prot.)	213,30 ± 45,56	41,44 ± 19,30 ^{***}	167,50 ± 85,50 ^{##}	133,30 ± 65,59
SOD (UT/mg de prot)	268,7 ± 22,85	195,80 ± 13,81 ^{***}	256,80 ± 22,08	225,30 ± 29,84 [*]
IL-4 (pg/mL)	01,32 ± 00,28	02,72 ± 00,45 ^{**}	00,99 ± 00,15 ⁺⁺⁺	01,40 ± 00,23 ^{##}

* p ≤ 0,05 ; ** p ≤ 0,01 ; *** p ≤ 0,001 comparativement aux rats témoins ;
 # p ≤ 0,05 ; ## p ≤ 0,01 ; ### p ≤ 0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine ;
 + p ≤ 0,05 ; ++ p ≤ 0,01 ; +++ p ≤ 0,001 comparativement aux rats traités par la plante

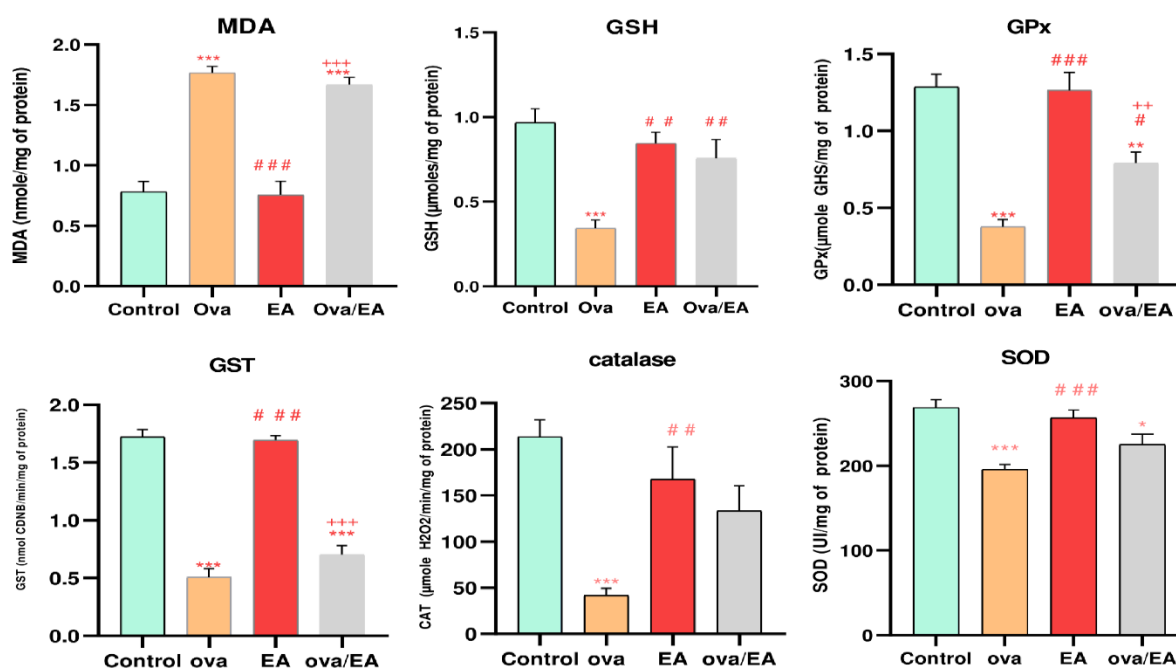


Figure 34. Variations des paramètres de stress oxydatifs au niveau des érythrocytes

* p ≤ 0,05 ; ** p ≤ 0,01 ; *** p ≤ 0,001 comparativement aux rats témoins ;
 # p ≤ 0,05 ; ## p ≤ 0,01 ; ### p ≤ 0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'ovalbumine ;
 + p ≤ 0,05 ; ++ p ≤ 0,01 ; +++ p ≤ 0,001 comparativement aux rats traités par la plante

6.2.6 Etude histologique des coupes de poumons

Au microscope optique : on observe un parenchyme pulmonaire normal pour les rat (T). Chez le rat traité à l'OVA il existe une congestion vasculaire avec des suffusions hémorragiques (flèche bleu) et un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire (flèche jaune) de densité modéré autour des bronchioles avec un œdème modéré des alvéoles, le traitement avec EA montre une réduction de l'infiltration cellulaire inflammatoire (flèche jaune) , une discrète dilatation des bronchioles (flèche verte) avec un discret œdème des alvéoles et une morphologie des cellules normales par rapport au groupe (T)

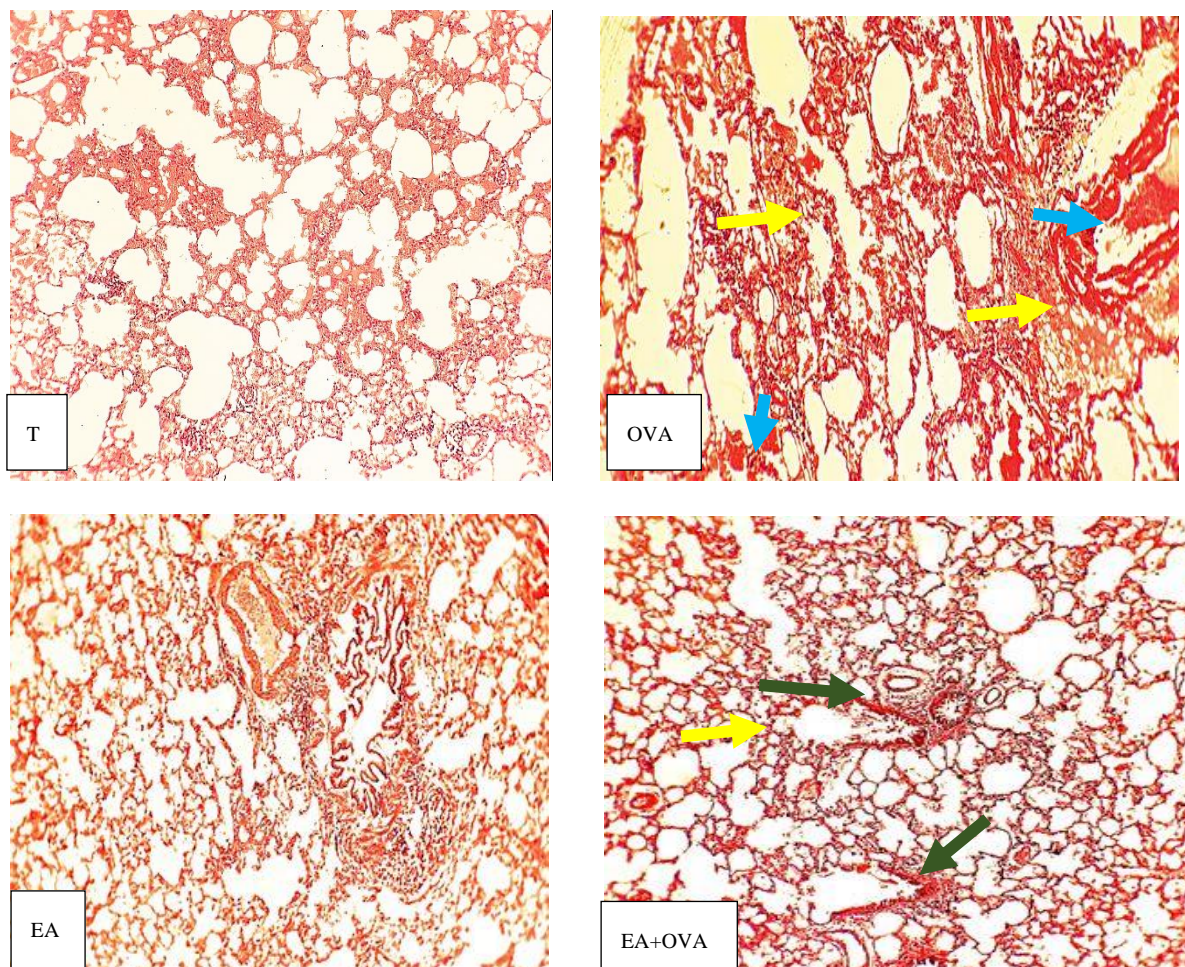


Figure 35. Coupe histologique du parenchyme pulmonaire (grossissements X25)

6.2.7 Discussion

Au cours de notre étude, on a sélectionné un modèle animal d'asthme expérimental par l'utilisation d'un allergène (l'ovalbumine) possédant les caractéristiques de l'inflammation des voies respiratoires chez l'homme pour évaluer les effets anti-inflammatoire, antioxydants de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile*. L'asthme est une inflammation de l'arbre trachio-bronchique l'inflammation est la réponse vitale du système immunitaire inné. A de nombreuses cytokines, pro-inflammatoire (IL-4, IL-13, IL-5) qui sont impliquées dans l'orientation de la réponse de l'inflammatoire par leur effets sur le système immunitaire.

La cytokine classé comme anti-inflammatoire (IL-4) agit sur les monocytes et les macrophages en diminuant la production des cytokines pro inflammatoire telle que (IL-1, TNF α , IL-6, IL-8) et permet la différenciation de cellule T en Th 2. (Boumendjel, 2006 ; Lingxiu Zhang 2022). Elle Possède la capacité de commutation isotypique lors de la maturation des lymphocytes B permettant de changé l'isotype des immunoglobulines (Ig) vers l'isotype E (IgE) (Boumendjel, 2006 ; Lingxiu Zhang, 2022). Les anti-inflammatoires non

stéroïdiens (AINS) comme l'indométhacine et le diclofénac sont les principaux médicaments capables d'inhiber ces cytokines inflammatoires et sont le premier choix pour le traitement de l'inflammation. Cependant, leurs effets secondaires limitent leur utilisation (Maruthamuthu Vet *al.*, 2020). L'attention s'est donc portée sur les plantes médicinales ayant un pouvoir anti-inflammatoire comme la camomille romaine (*chamaemelum nobile*).

L'inflammation est génératrice d'espèces réactifs d'oxygènes (ROS) impliqués dans la pathogenèse de certaines maladies inflammatoires, les antioxydants naturels peuvent piéger les ROS, et améliorer l'état inflammatoire (Kandharea *et al.*, 2013) et par conséquent combattre ces troubles. Notre étude consiste à évaluer l'effet protecteur de l'extrait aqueux de la camomille romaine sur l'inflammation induite par l'ovalbumine et la production d'espèces réactives oxygènes ROS dans les poumons et les érythrocytes nous avons mesuré, tout au long de notre protocole, le poids de l'animal, ainsi que le poids relatif de l'organes clé., les modifications du poids corporel est un indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat (Raeeszadeh *et al.*, 2021). La stimulation par l'ovalbumine a provoqué un état inflammatoire caractérisé par un surpoids et une augmentation du poids absolu du poumon, ce résultat est en accord avec celui obtenu par Mauser *et al.* (2013) qui ont prouvé que la sensibilisation à l'allergène (ovalbumine) induit un infiltrat micro vasculaire, un œdème et un gonflement de l'organe enflammé. D'autre part, le poids relatif des poumons a diminué dans le lot sensibilisés et traités OVA/ EA par rapport au lot sensibilisé à l'OVA. Cela implique que l'utilisation de l'extrait réduit les lésions tissulaires et l'œdème dans les poumons (Aremu *et al.*, 2018). La lignée leucocytaire est perturbé par l'utilisation de l'ovalbumine témoignent d'un état inflammatoire représenté par une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) des lymphocytes, granulocytes par apports aux rats témoins.

Le traitement par l'extrait aqueux a amélioré l'inflammation en restaurant les taux de lymphocytes à leur valeur normale. Par ailleurs la stimulation par OVA a induit une élévation hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux de cytokines pro-inflammatoires(IL-4) dans le lot l'OVA au niveau de LBA et du poumon l'utilisation de EA comme traitement a réduit de façon hautement significative ($p \leq 0,01$), significative ($p \leq 0,05$) la concentration de IL-4 par rapport au témoin et le groupe ova respectivement. La diminution de la concentration d'IL-4 est expliquée par un retour à la normal de la balance entre les cytokines Th1 et les cytokines Th2 (Nan yang, 2022). Ceci a été démontré par plusieurs études effectuées sur les molécules bioactives des plantes telle que les flavonoïdes qui diminuent l'infiltration des cellules inflammatoires. la camomille romaine possède de l'alpha-bisabolol, des oxydes

d'alphabisabolol A et B et de la matricine (généralement convertie en chamazulène (Sarecka-Hujar, 2022 ; Aremu et al., 2018) et autres flavonoïdes qui ont des propriétés anti-inflammatoires. d'autres études ont montré que les composés d'azulène auraient des propriétés anti-inflammatoires et antioxydante (Ma et al., 2019) pour cela nous avons étudié son effet sur le stress oxydatif induit par l'inhalation de l'allergène, qui participe à son tour à l'exacerbation de l'inflammation bronchique (Chatterji, 2021), causé par un déséquilibre dans la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants et menant aux dommages tissulaires au niveau des poumons (Kumari et al., 2013). La peroxydation lipidique (LPO) est l'un des signes de dommage oxydatifs de la membrane cellulaire provoquée par les radicaux libres dérivés de l'oxygène généré par la réaction inflammatoire (Masini et al., 2008). Les taux du malondialdéhyde ont été mesurés pour indiquer la génération des ERO et des dommages tissulaires induits par la LPO dans les érythrocytes, et les poumons.

les ROS tels que les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux anions superoxyde désactivent les systèmes de défense antioxydants et causent indirectement des dommages cellulaires (Al-Mukhaini et al., 2017). L'organisme possède un arsenal d'enzymes qui permettent de lutter contre le stress oxydant. (SOD, GPx, GST et CAT) peuvent protéger les cellules en éliminant les ROS (Erjaee et al., 2018). Il apparaît nécessaire de mesurer les activités de ces enzymes pour évaluer dans un premier temps l'impact de la sensibilisation par l'ovalbumine comme agent inducteur du stress oxydant. Notre étude a prouvé que l'extrait de la camomille romaine maintient les systèmes de défense antioxydants et n'affecte pas la peroxydation des lipides, puisqu'il n'y a pas de variation significative du lot EA par rapport au témoin. La sensibilisation par l'OVA a montré une élévation très hautement significative du taux de MDA dans les poumons et les érythrocytes, donc l'allergène inhalé, a provoqué une réponse inflammatoire des voies aériennes par la surproduction des radicaux libres, qui à leur tour peuvent initier la peroxydation lipidique (Missebukpo et al., 2013 ; Bulani et al., 2011) et une baisse très hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'activité antioxydante non enzymatique du glutathion réduit (GSH) qui représente l'une des nombreuses défenses antioxydantes potentielles impliquées dans la protection de divers organes contre les lésions induites par les oxydants lors du processus inflammatoire (Das et al., 2018). Sa réduction est due à sa forte utilisation par la GST dans la détoxification du H₂O₂ et la détoxification des métabolites actifs grâce à l'implication de la GPx. La superoxyde dismutase (SOD) est un antioxydant essentiel qui catalyse le radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Fattman et al., 2003) sa diminution entraîne une altération de la défense antioxydante qui est un

événement principal dans la physiopathologie de l'hyperréactivité et du remodelage induisant l'apoptose et l'excrétion des cellules épithéliales des voies respiratoires (Almohawes, 2019), ne peut fonctionner qu'en synergie avec l'action de la CAT et GPx en éliminant l'excès du peroxyde d'hydrogène formé par l'action de la SOD (Devaki et *al.*, 2011). Une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) de (GPx), (GST) et de la (CAT) au niveau des poumons et des érythrocytes a été également observée. Le traitement par l'extrait aqueux de la camomille a réduit de manière significative ($p \leq 0,05$) la peroxydation lipidique, et a augmenté de manière très hautement significative ($p \leq 0,001$) l'activité de SOD, GPx, GST et CAT peut être dû aux effets protecteurs des molécules antioxydantes, présentes dans l'extrait aqueux (Tvarijonaviciute, 2018) tel que les sesquiterpènes, les hydroperoxydes, les flavonoïdes, les catéchines, les coumarines, les polyacétylènes, les acides phénoliques, l'acide anthénobilique, les stéroïdes triterpènes et les polysaccharides qui lui confèrent des propriétés curatives comme l'activité anti-inflammatoire et anti-oxydante (Jabri, 2017) protectrice des dommages membranaires causés par les ROS.

Au niveau microscopique les dommages induits par l'ovalbumine traduisant une inflammation représentée par une congestion vasculaire avec des suffusions hémorragiques et un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire de densité modéré autour des bronchioles avec un œdème modéré des alvéoles ont été réduit par l'utilisation de l'extrait aqueux de la camomille témoignant de son efficacité dans le traitement de l'inflammation

6.3 Résultats du protocole de diabète expérimental

6.3.1 Effets de l'administration orale de la camomille sur la glycémie

Nous avons réalisé des mesures de glycémie tout au long du protocole sur : (lot T : témoin), (lot D : diabétique), (lot P : Extrait aqueux), (lot D+G : diabétique+glycophage), (lot D+P : diabétique + Extrait aqueux)

Tableau X. Variation des paramètres de la glycémie sanguine

lot	J0	J6	J13	J20	J24
T	105 ±5,8	95 ±4,2	109±4,9	98±4,7	103±2,7
D	242 ±13,3	437 ±14,7	418±7,9	402±4,5	395±4,4
P	109 ±6,3	99 ±5,1	110±5,7	97±3,4	107±4,5
D+G	213±3,3	111 ±5,6	241±5,0	206±4,8	143±2,0
D+P	212 ±7,5	100 ±4,0	240±6,2	204±4,7	146±3,0

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement aux rats témoins ;

$p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement aux rats sensibilisés à l'alloxane ;

+ $p \leq 0,05$; ++ $p \leq 0,01$; +++ $p \leq 0,001$ comparativement aux rats traités par la plante

Les résultats obtenus (Fig.36) révèlent que les moyennes des glycémies initiales des lots diabétiques non traité sont 2 à 3 fois plus élevées que celle du lot témoin. Une baisse dans les valeurs du glucose sanguin est observée après le (14^{ème} J) du traitement par la camomille à une (20 mg/kg/j). Puis on a observé des diminutions très remarquables de la glycémie jusqu'à la fin de l'expérimentation (j24), par l'utilisation de l'extrait aqueux de la camomille et le glucophage atteignant respectivement, les valeurs minimales de $146 \pm 3,0$ mg/dl, $143 \pm 2,0$ mg/dl.

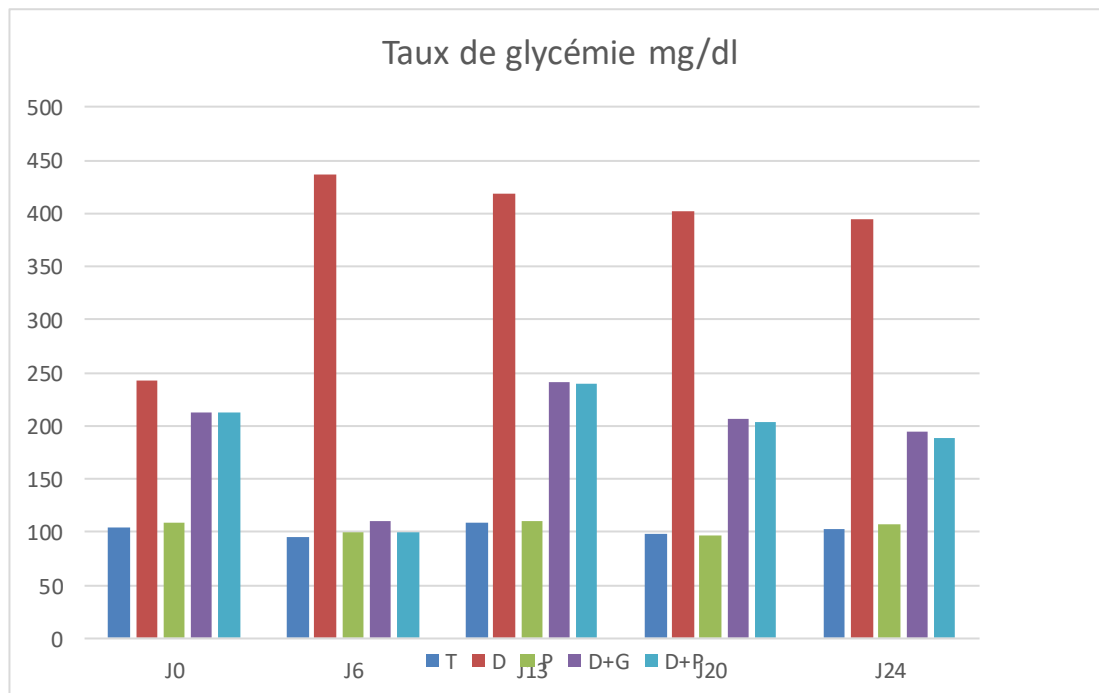


Figure 36. Effets du traitement oral avec l'extrait de la camomille romaine sur la glycémie

6.3.2 variation du poids corporels

Nous avons mesuré le poids des rats le long de l'expérimentation pour calculer les variations du poids corporel et de l'organe (pancréas) les résultats sont présents dans (tab IX) La sensibilisation à l'alloxane induit une baisse du poids corporel, une élévation très hautement significative ($p < 0,001$) du poids absolu des pancréas comparativement aux rats contrôls. . L'utilisation de (EA) (camomille romaine) a permis un retour à la normale du poids absolu du pancréas de façon très hautement significative ($p < 0,001$).

Tableau XI. Variation du poids corporels, et absolu du pancréas

Paramètres	Contrôle	D	EA	D/EA	D/G
Poids initial	244 ±3,77	254 ±3,62	244 ±3,95	254 ±3,65	253 ±3,15
Poids final	280 ±2,69	188 ±5,19***	278 ±1,15###	221 ±3,67***###	223 ±3,15***###
Gain de poids	+36	-66	+34	-33	-30
Poids absolu du pancréas	0,58 ±0,03	0,50 ±0,01***	0,59 ±0,008###	0,61 ±0,01*###	0,62 ±0,01*###

* p ≤0.05 ; ** p ≤0,01 ; *** p ≤0,001 comparativement aux rats témoins ;

p ≤0.05 ; ## p ≤0,01 ; ### p ≤0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'alloxane ;

+ p ≤0.05 ; ++ p ≤0,01 ; +++ p ≤0,001 comparativement aux rats traités par la plante

6.3.3 Au niveau du pancréas

Nos résultats (tableau x) ont montré une élévation très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux de la peroxydation lipidiques de la malondialdéhyde (MDA), une baisse très hautement significative ($p \leq 0,001$) du glutathion réduit (GSH) de la (SOD), (GPx), (GST) et de la catalase (CAT) par apport au lot diabétique. L'administration de EA a permis une réduction très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux du MDA, comparativement aux rats sensibilisés par l'alloxane, ainsi qu'une augmentation très de hautement significative ($p \leq 0,001$) des taux de GSH, GPx, GST, SOD et de la catalase comparativement aux lots témoins.

Tableau XII. Variations des paramètres de stress oxydatifs au niveau du pancréas

Paramètres	Contrôle	D	EA	D/EA	D/G
MDA (nmol/mg prot.)	0,44 ±0,25	1,60 ±0,23***+++	0,43 ± 0,27	0,68± 0,23###	0,62± 0,20###
GSH (µmol/mg prot.)	0,80 ±0,12	0,25 ±0,02***	0,77 ±0,06	0,62 ±0,13***###	0,67 ±0,13***
GPx (mol GSH/mg de prot.)	0,64 ±0,15	0,16 ±0,02***	0,63 ±0,14	0,77 ±0,15***	0,79 ±0,08***
GST (nmol /min /mg de prot.)	0,92 ±0,04	0,14 ±0,03***	0,93 ±0,05	0,76 ±0,05***	0,72 ±0,04***
CAT (µmol H2O2/mg prot.)	68,99 ±2,65	22,94 ±2,03***	69,20 ±2,78	61,00 ±1,39***###	61,09 ±0,76***###
SOD (UT/mg de prot)	103,90 ±2,65	47,18 ±1,93***	108,70 ±5,31	91,90 ±0,97***###	94,40 ±1,14***###

* p ≤0.05 ; ** p ≤0,01 ; *** p ≤0,001 comparativement aux rats témoins ;

p ≤0.05 ; ## p ≤0,01 ; ### p ≤0,001 comparativement aux rats sensibilisés à l'alloxane ;

+ p ≤0.05 ; ++ p ≤0,01 ; +++ p ≤0,001 comparativement aux rats traités par la plante

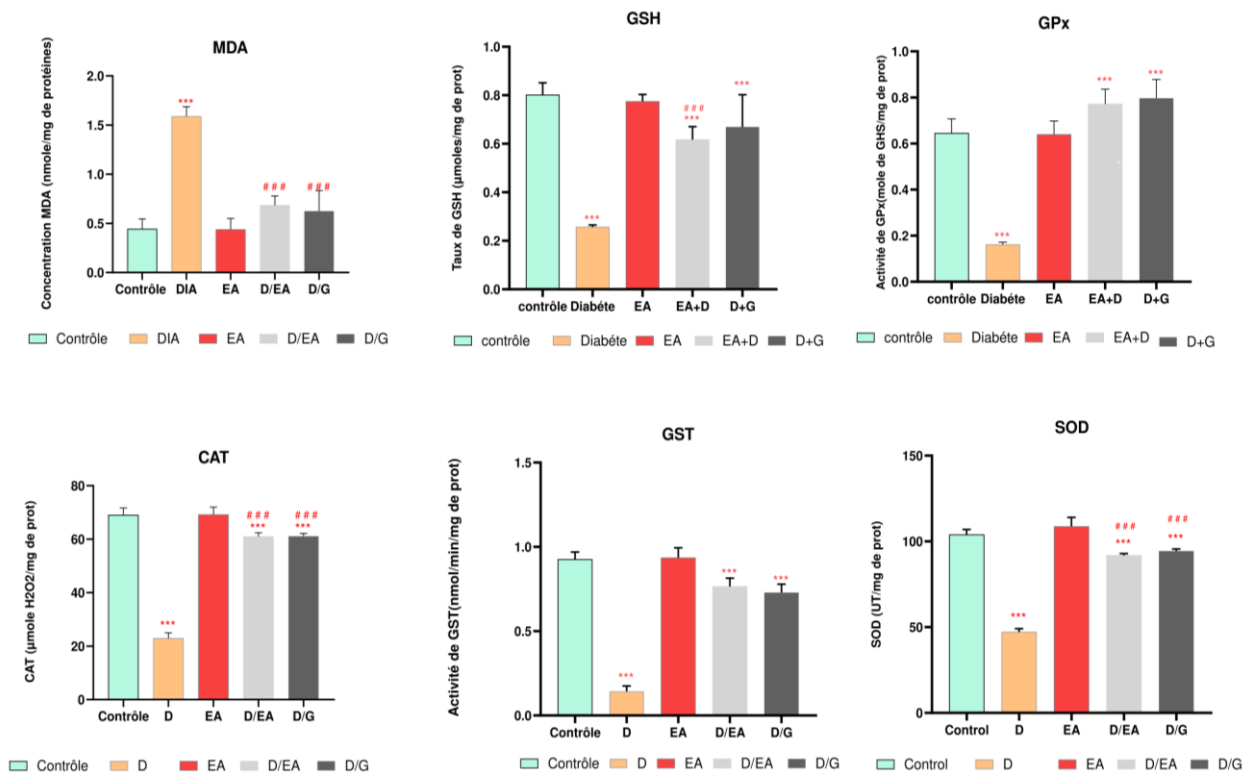


Figure 37. Variation des paramètres du stress oxydants au niveau du pancréas

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ comparativement aux rats témoins ;
 # $p \leq 0.05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$ comparativement aux rats sensibilisés à l'alloxane ;
 + $p \leq 0.05$; ++ $p \leq 0,01$; +++ $p \leq 0,001$ comparativement aux rats traités par la plante

6.4 Etude histologie des coupes de pancréas

Au microscope optique : on observe une architecture du parenchyme pancréatique normal pour le lot control (T) et le lot plante (EA) avec un tissu pancréatique constituée des îlots de Langerhans de taille normale, entourés par des acini intacts. Pour le lot diabétique (D) on observe une réduction du nombre de cellules des îlots de Langerhans avec la présence d'une necrose et une deterioration des cellules acineuses. Le traitement avec la plante a montré sur les coupes une amélioration de l'histoarchitecture du tissu pancréatique avec restauration de la taille et du nombre des îlots de Langerhans.

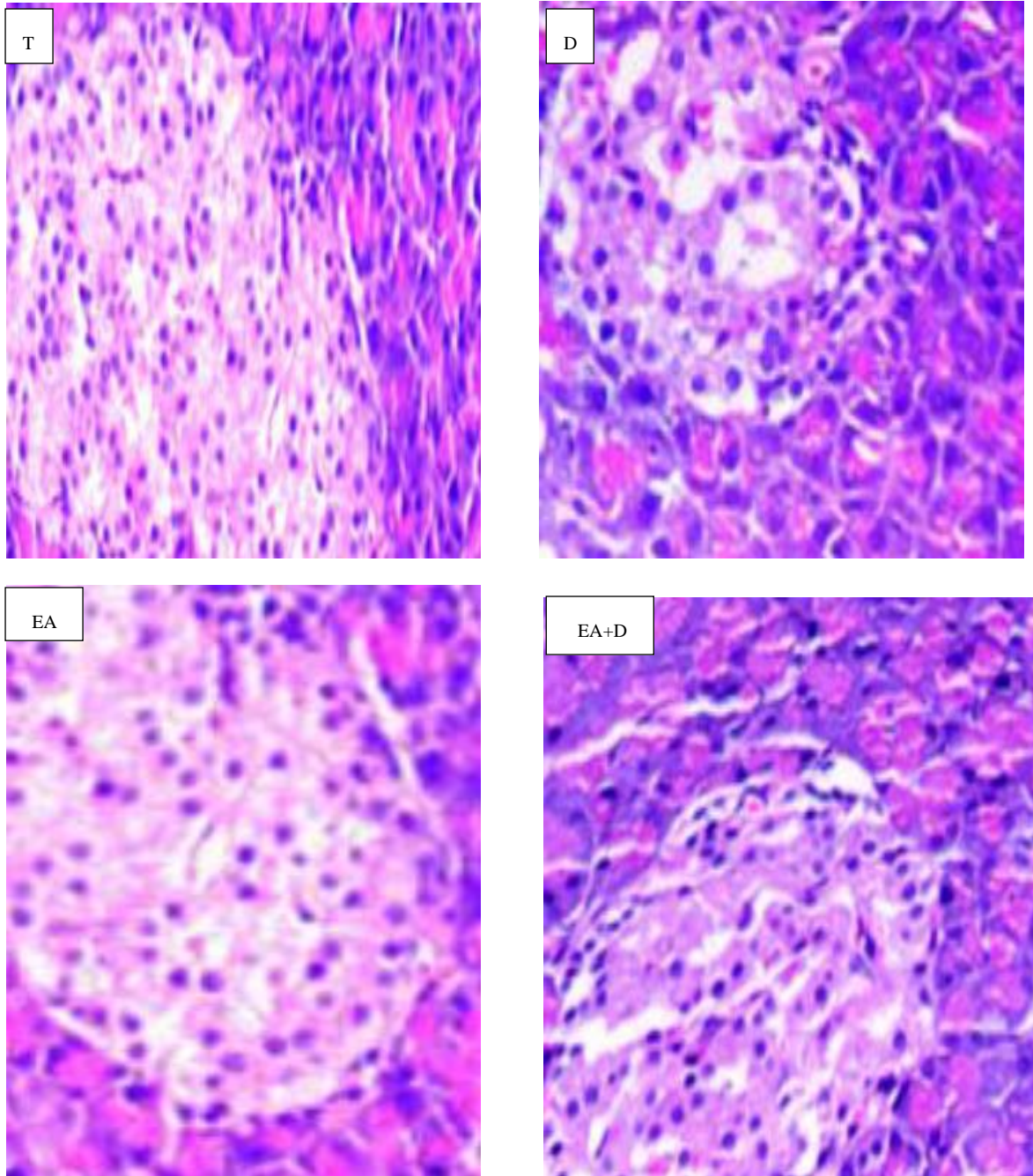


Figure 38. Coupe histologique du pancréas (grossissements X25)

6.4.1 Discussion

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique multifactorielle qui perturbe la qualité de vie de l'être humain caractérisée par des taux élevés de glucose dans le sang (hyperglycémie) due à une insuffisance de production et de l'action de l'insuline sur les tissus périphériques. (Foie, muscle, tissu adipeux). L'hyperglycémie chronique provoque des dommages dans certains organes (les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux

sanguins). Elle s'accompagne d'une production accrue de radicaux libres perturbant l'état oxydatif cellulaire qui est à l'origine de certaines complications chez le diabétique (Mohamed *et al.*, 2016). Le nombre de personnes atteintes de diabète ne cesse d'augmenter. Près de la moitié des décès dus à l'hyperglycémie surviennent avant l'âge de 70 ans. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) prévoit qu'en 2030, le diabète sera la 7^{ème} cause de décès dans le monde (OMS, 2019). Elle est la cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques (infarctus du myocarde), d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs due à une neuropathie diabétique. Selon l'IDF 2021, le nombre de personnes âgées de 20 à 79 ans atteintes de diabète dans le monde est estimé à 537 millions de personnes. Cela devrait atteindre un total de 643 millions (soit 11.2%) d'ici 2030 et 783 millions (soit 12.2%) d'ici 2045.

Les antidiabétiques oraux et les injections d'insuline sont les principaux médicaments utilisés pour traiter cette maladie leur utilisation continue provoquent différents effets secondaires. Pour prévenir et ralentir la survenue de ces complications de nombreux chercheurs ont conduit plusieurs études afin de trouver une alternative comme les plantes médicinales (phytothérapie) utilisant des composés phytoactifs pour le traitement et la gestion de cette maladie. Pour cela ont a étudié l'effet antidiabétique de la camomille romaine ainsi que ses propriétés antioxydantes. lors de notre recherche nous avons déclenché un diabète expérimental chez le rats wistar pour prouver l'effet antidiabétique et antioxydants de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile*. La sensibilisation par 150mg/kg d'alloxane a provoqué un état diabétique caractérisé par une hyperglycémie, une polyurie, une polyphagie et une baisse du poids qui sont des marqueurs du diabète de type1 (Chowdhury *et al.*, 2016). Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) du poids des rats diabétique comparativement aux rats témoins ceci peut s'expliquer par un manque d'insuline qui a provoqué une protéolyse et lipolyse des protéine due à une forte réaction catabolisante des protéines et des graisses au niveau des muscles et des tissus adipeux (Tebboub et Kechrid, 2019). ainsi qu'une polyurie qui expose les rats à une déshydratation contribuant à une perte du poids (Yaribeygi *et al.*, 2018). Le traitement des rats par l'extrait de la camomille (20mg/kg) a rétabli le poids des rats du lot D+P comparativement au lot D. Concernant le poids des organes, on remarque une diminution de la taille du pancréas qui peut être due à l'effet toxique de l'alloxane et à la nécrose et apoptose ainsi qu'aux dommages sélectifs de la cellule bêta pancréatique. Nos résultats montrent une amélioration du poids de l'organe dans le groupe traité avec l'extrait aqueux de la plante ceci est dû à la présence de certaines

molécules bioactifs dans notre extrait aqueux, permettant la réduction de la toxicité de l'alloxane. La sensibilisation des rats par l'alloxane provoque une augmentation significative du taux de glucose dans le sang (hyperglycémie). Cela peut-être dû au dommage de la cellule bêta pancréatique et à la réduction de la sécrétion d'insuline endogène, entraînant une diminution de l'absorption du glucose par les tissus périphériques. L'utilisation de l'extrait de la camomille comme traitement a amélioré de manière significative le taux de glycémie chez les rats diabétiques ceci est attribué aux composés bioactifs de l'extrait (les terpénoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes...).

L'oxygéné est indispensable pour la survie humaine sa réduction entraine une production massive des ERO déclenchant un stress oxydatif conduisant à un déséquilibre dans la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants et menant à des dommages et des dysfonctionnements des cellules saines, de l'ADN et des macromolécules importantes, ce sont les principales causes des maladies chroniques comme le diabète (Bacanli et *al.* 2019). Au vu de ces implications, nous avons donc évalué le système antioxydant des rats au niveau du pancréas. De nombreuses études (Kulaksyozglu et Karalezli 2016) ont montré que le diabète sucré (DM) s'accompagne d'une surproduction de radicaux libres avec une diminution de la capacité antioxydante enzymatique : (SOD), (CAT), (GPx) (GST).entraînant un stress oxydatif dans le tissu pancréatique en particulier dans les cellules b qui ont des défenses limités contre les radicaux libres donnant lieux à leur apoptose ce qui explique la réduction de la masse pancréatique observée chez les personnes diabétiques. Pour cette raison, l'utilisation de composés antioxydants, capables de piéger les radicaux libres et de moduler le stress oxydatif, semble être une approche logique pour lutter contre les complications néfastes du diabète. Nos résultats ont montré que l'extrait de la camomille romaine maintient l'équilibre de défense antioxydants et n'affecte pas la peroxydation des lipides, puisqu'il n'y a pas de modification significative du lot EA comparativement au lot control. La sensibilisation par l'alloxane chez les rats diabétiques a montré une élévation très hautement significative du taux de MDA ($p \leq 0,001$) dans les pancréas et une baisse très hautement significative ($p \leq 0,001$) du glutathion réduit (GSH) qui possède un pouvoir de défense antioxydant potentielle et qui est impliqué dans la protection de divers organes contre les lésions antioxydantes (Li et *al.* 2015). On a constaté également, une réduction très hautement significativement ($p < 0,001$) des activités des systèmes enzymatiques antioxydants (SOD, GPx et GST) chez les rats diabétiques. La diminution observée de l'activité de la SOD pourrait résulter d'une inactivation par H₂O₂ ou par glycation de l'enzyme (Sozmen et *al.* 2001) en raison d'un

épuisement dû à un excès d'utilisation de ces enzymes pour éponger les effets induits par l'hyperglycémie et la génération des radicaux libres. Le traitement par la camomille romaine a entraîné une diminution des niveaux de MDA comparés aux rats diabétiques. Plusieurs recherches ont montré que l'effet antioxydant des produits végétaux est principalement dû à l'activité de piégeage des radicaux des composés phénoliques tels que flavonoïdes, polyphénols, tanins et terpènes phénoliques (Hu et *al.*, 2010). La réduction de la teneur en MDA peut être liée aux propriétés antioxydantes des composés phytochimiques trouvés dans notre extrait, tels que les flavonoïdes et les tanins en éliminant les radicaux libres qui causent la peroxydation lipidique H₂O₂ (Usunobun & Okolie 2015). Le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie agit sur la transduction du signal, via les cellules NF-κB, affectant l'expression des gènes des enzymes antioxydantes, réduisant leur expression ou inactivant ces protéines l'utilisation de notre plante a augmenté de manière très hautement significative l'activité de SOD, GPx, GST et CAT. Cela peut être dû aux effets protecteurs des molécules antioxydantes, elle pourrait être le résultat de la capacité de l'extrait de la camomille à empêcher l'inactivation des antioxydants ou augmenter leur expression en régulant la baisse de l'expression de NF-κB (Adeoye A T et *al.*, 2017). Sur le plan histopathologie, la dégénérescence observée chez les rats diabétiques au niveau du pancréas induits par l'alloxane peut être dû à l'action nécrotique de l'alloxane monohydraté sur les cellules B (Bansal, 2002). Les changements dégénératifs induits par le mono-alloxane hydrate dans le pancréas de rats ont été améliorés par l'extrait de la camomille et la métformine qui a été suivi d'une régénération de l'îlot cellules avec pour conséquence une production améliorée d'insuline chez les rats. Le traitement a montré que les cellules B peuvent se régénérer à partir de cellules souches situées dans les canaux pancréatiques ou à partir de cellules progénitrices résidant à l'intérieur îlots murins (Liu et *al.*, 2010). (Distefano et Watanabe, 2010). Histopathologie du pancréas renforce la régénération des cellules B par la camomille qui pourrait être responsable de son action antidiabétique. Plusieurs constituants phytochimiques dont les flavonoïdes, tanins et autres obtenus se sont avérées de puissants agents hypoglycémiant (Al-Quattan et *al.*, 2008). L'analyse phytochimique de notre plante, contient la plupart de ces constituants. Qui sont des antioxydants naturels connus, possédant des effets anti-radicaux libres, un potentiels de rajeunissement (Ezeja et *al.*, 2014). Par conséquent, l'activité hypoglycémiant de la camomille romaine est due à la présence de ces phytoconstituants actifs.

CONCLUSION

CONCLUSION

Le présent travail a été effectué pour évaluer les effets de l'administration de 20mg/Kg l'extrait de la camomille romaine sur un modèle murin d'asthme expérimentale et de diabète expérimentale chez des rats Wistar préalablement sensibilisés à l'ovalbumine dans le premier protocole et sensibilisé par l'alloxane pour le second protocole.

Dans le premier protocole nous avons étudié l'inflammation allergique via le dosage de certains paramètres inflammatoires et hématologiques comprenant :

- Variation du poids
- Le dosage de l'interleukine-4 (ELISA) au niveau du sang, LBA et des poumons,
- Dosage des protéines totales,
- La détermination des taux des cellules leucocytaires
- le dosage des paramètres du stress oxydants (MDA, GSH, GPx, SOD, GST et CAT)
- étude histologique

Nos résultats révèlent une perturbation du système de défense antioxydant avec un important état d'inflammation au niveau pulmonaire observé par l'étude histologique ou nous avons constaté un infiltrat inflammatoire pulmonaire dû à l'effet cytotoxique de l'ovalbumine sur le parenchyme pulmonaire. Ces modifications structurales sont les principales causes de l'exacerbation de l'asthme allergique.

Dans le deuxième protocole nous avons étudié le diabète sucré via le dosage de paramètres spécifique :

- Dosage du glucose dans le sang
- Variation du poids
- le dosage des paramètres du stress oxydants (MDA, GSH, GPx, SOD, GST et CAT)
- étude histologique

Nos résultats révèlent que la sensibilisation par l'alloxane a provoqué des modifications dans le cycle glycémique (hyperglycémie) avec un déficit pondéral remarquable, une polyurie et une polydipsie ,un déséquilibre du statut de défense antioxydant pancréatique et une modification de l'architecture du tissus pancréatique observe sur les coupes histologique qui montre la dégénérescence des îlots de Langerhans et la mort cellulaire par nécrose et apoptose dus aux radicaux libres générés.

Le traitement par l'extrait aqueux dans le premier protocole, a permis de stabiliser les changements et le remodelage provoqués dans les poumons par le processus inflammatoire impliqué dans l'asthme avec une restauration de l'état de stress oxydant, révélée par la diminution de la peroxydation lipidique et par le renforcement du système de défense antioxydant moléculaire et enzymatique. Les effets anti-inflammatoires et antioxydants de la camomille romaine sont confirmés par une réduction de l'infiltration cellulaire inflammatoire, une hyperplasie des cellules caliciformes et la morphologie normale des cellules. Ainsi, grâce à sa richesse en composés bioactifs, l'extrait aqueux a eu un effet bénéfique vis à vis de la sensibilisation allergénique. Dans le second protocole le traitement par l'extrait aqueux de la camomille romaine à améliorer la croissance pondérale et montré un effet anti-hyperglycémiant par l'amélioration de presque toutes les perturbations métaboliques et histologiques (glycémie, marqueurs du stress oxydant) notre plante a confirmé son potentiel antioxydant, antidiabétique et cytoprotecteur en réduisant la peroxydation lipidique et en renforçant la défense antioxydante par augmentation du taux de glutathion réduit (GSH) et de l'activité enzymatique (CAT), (GPx) (GST), (SOD). L'analyse des coupes histologiques (pancréas) des rats diabétiques traités par la camomille romaine a révélé une restauration de l'architecture tissulaire de l'organe cible.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus la présente étude confirme le potentiel thérapeutique de l'extrait aqueux de la camomille contre la pathogenèse du processus inflammatoire asthmatique et diabétique, Nos résultats ont révèlent que l'administration de l'extrait aqueux de la camomille romaine réduit les effets néfastes du stress oxydatif en diminuant la peroxydation lipidique, en gardant les taux des systèmes de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques proche de la normale elle pourrait être une alternative prometteuse dans le traitement de l'asthme allergique et du diabète sucré.

En perspectives, Il s'avère intéressant d'approfondir ces travaux de recherche par :

- L'identification par CPG-SM du contenu de l'extrait aqueux de la camomille romaine
- L'évaluation de l'effet antioxydant, anti-inflammatoire et antidiabétique de l'huile de la camomille romaine et comparaison avec l'effet de notre l'extrait aqueux
- le dosage des autres paramètres du statut antioxydant tels que le monoxyde d'azote, la GSH-R, le rapport GSH/GSSG, les vitamines (E, C).
- l'étude des facteurs de transcription essentiels pour l'expression de gènes inductibles associés avec les réponses inflammatoires par la technique du western blot

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [01]. Adeoye A T, Oyagbemi AA, Adedapo AD, Omobowale TO, Ayodele AE, Adedapo AA. (2017). Antidiabetic and antioxidant activities of the methanol leaf extract of *Vernonia amygdalina* in alloxan-induced diabetes in Wistar rats. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development* 1(1), a30. <http://doi.org/10.4102/jomped.v1i1.30>
- [02]. Aebi, H. (1984). Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2. Academic Press, New York, 673–884.
- [03]. ALiEsmail Al-Snafi. (2016). Medical importance of *Anthemis nobilis*(*Chamaemelum nobile*). *Asian Journal of pharmaceutique Science and technology*, 6: 89-95.
- [04]. Almohawes Z N, & Alruhaimi H S. (2019). Effect of *Lavandula dentata* extract on Ovalbumin-induced Asthma in Male Guinea Pigs. *Brazilian Journal of Biology*; 80(1) : 87-96. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.191485>
- [05]. Al-Mukhaini N, Ba-Omar T, Eltayeb E, Al-Shihi A, Al-Riyami N, Al-Belushi J, Al-Adawi K.(2017). Liver and kidney toxicity induced by Afzal smokeless tobacco product in Oman. *Tissue and Cell*, 49(2): 307-314.
- [06]. Al-Quattan KM, Thomson A, Ali M. (2008). Garlic (*Alum sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) attenuate structural nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetes. *the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 3:62–71
- [07]. Arora A, Behl T, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Chigurupati S, Kaur R, Bhatia S, Al-Harrasi A, Cruz C L, Bungau S.(2021). Free fatty acid receptor 1 : a ray of hope in the therapy of type 2 diabetes mellitus. *Inflammopharmacology* ; 29:1625–1639. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00879-8>
- [08]. Asmat U, Abad K, Ismail K.(2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 24(5): 547–553. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jsps.2015.03.013>
- [09]. Association pulmonaire du Québec.(2022).L'asthme.<https://poumonquebec.ca/maladies/asthme/> consulté le 10 Mars 2022.
- [10]. Bacanlı, M., Dilsiz, S. A., Başaran, N., & Başaran, A. A. (2019). Effects of phytochemicals against diabetes. *Advances in Food and Nutrition Research*, 89, 209-238
- [11]. Balasubramanian P, Chandy M, Srivastava A, Dennison D, Krishnamoorthy R. (2001). Glutathione S-transferase activity influences busulfan pharmacokinetics in patients with beta thalassemia major undergoing bone marrow transplantation. *Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals*. 29(3):264-7
- [12]. Bansal R. (2002). Alloxan and streptozotocin action. *Acta Diabetol Lat* 17:214–18.
- [13]. Bartz RR, Piantadosi CA.(2010). Clinical review: Oxygen as a signaling molecule. *Crit Care.*; 14(5): 234. <https://doi.org/10.1186%2Fcc9185>
- [14]. Beasley, R., Semprini, A. & Mitchell, E. A.(2015). Risk factors for asthma: Is prevention possible? *The Lancet* 386, 1075–1085. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00156-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00156-7)

- [15]. Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Office Des Publications Universitaires. Alger.
- [16]. Bennett DH, Wu XM, Teague CH, Lee K, Cassady DL, Ritz B, Hertz-Picciotto I.(2012).Passive sampling methods to determine household and personal care product use. Journal of exposure science & environmental epidemiology (2) : 148–60. <https://doi.org/10.1038/jes.2011.40>
- [17]. Berroukche A, Benreguiég M, Terras M, Fares S, Dellaoui H, Lansari W, Zerarki I, Tahir A, Dehkal B.(2018). Antibacterial effects of *Prunus cerasus* and *Chamaemelum nobile* against drug resistant strains induced urinary disorders. East African Scholars Journal of Medical Sciences.1 : (2). 2617-4421.
- [18]. Beyer, W.F. et Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some largeconsequences of minor changes in conditions. Anal Biochem., 161, 559-566.
- [19]. Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., &Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress : anessential factor in the pathogenesis of gastro intestinal mucosal diseases. Physiological Reviews, 94(2), 329-354.
- [20]. Boizot, N., and Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro special. 79-82.
- [21]. Boudieb Kaissa, Sabrina Ait Slimane - Ait Kaki, Hakima Oulebsir-Mohandkaci & Amel Bennacer (2018), Phytochemical Characterization and Antimicrobial Potentialities of Two Medicinal plants,*Chamaemelum nobile* (L.) All and *Matricaria chamomilla* (L.), International Journal of Innovative Approaches in Science Research. 2 (4), 126-139, <https://doi.org/10.29329/ijiasr.2018.173.2>
- [22]. Boumendjel A, Tawk L, Malefijt Rde W, Boulay V, Yssel H, Pène J. IL-27 induces the production of IgG1 by human B cells. Eur. Cytokine Netw.2006 ; 17:281-289. <https://www.jle.com/10.1684/ecn.2006.0045>
- [23]. Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principale of protein binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254.
- [24]. Catherine Chapat, Leif Erik Sander, Norbert Suttorp and, Bastian Opitz. (2013). "NOD-like receptors in lung diseases." Frontiers in immunology 4. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00393>
- [25]. Chan M. (2016). Rapport mondial sur le diabète. Organisation Mondiale de Santé
- [26]. Chatterji A, Banerjee D, Billiar TR, Sengupta R.(2021). Understanding the role of S-nitrosylation/nitrosative stress in inflammation and the role of cellular denitrosylases in inflammation modulation: Implications in health and diseases. Free Radical Biology and Medicine; 172:604–621. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.015>
- [27]. Chekchaki N, Khaldi T, Rouibah Z, Rouag M, Sekiou O, Messarah M, Boumendjel A.(2017).Anti-inflammatory and antioxidant effects of two extracts from *Pistacia lentiscus* in liver and erythrocytes, in an experimental model of asthma. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research ;42: 77-84.
- [28]. Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Gadbail, A. R., Sharma, A., &Tekade, S. (2014). Oxidativeandantioxidative mechanisms in oral cancer and precancer : a review. Oral oncology, 50(1),10-18.

- [29]. Chowdhury, S., Ghosh, S., Rashid, K., and Sil, P. C. (2016). Deciphering the role of ferulic acid against streptozotocin-induced cellular stress in the cardiac tissue of diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 97, 187-198.
- [30]. Cicco P D, Ercolano G, Sirignano C, Rubino V, Rigano D, Ianaro A, Formisano C.(2023). Chamomile essential oils exert anti-inflammatory effects involving human and murine macrophages : Evidence to support a therapeutic action. *Journal of Ethnopharmacology*. 311, 116391. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116391>
- [31]. Čížmek L, Kralj MB, Rakovac R C, Mazur D, yanovskii N U, Likon M, Trebše P.(2021). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Four Medicinal Mediterranean Plants: Investigation of Chemical Composition and Antioxidant Activity. *Molecules* 26(18), 5697; <https://doi.org/10.3390/molecules26185697>
- [32]. Danciu A, Zupko I, Bor A, Schwiebs A, Radeke H, Hancianu M,Cioanca O , Alexa E, Oprean C, Bojin F, Soica C, Paunescu V and Dehelean AC.(2018). Botanical Therapeutics: Phytochemical Screening and Biological Assessment of Chamomile, Parsley and Celery Extracts against A375 Human Melanoma and Dendritic Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 19, 3624. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19113624>
- [33]. Daubeuf F., & Frossard N. (2011). Acute Asthma Models to Ovalbumin in the Mouse. *Current Protocols in Mouse Biology*, 3(1), 31–37. <https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo120202>
- [34]. Das S, Horváth B, Šafranko S, Jokić S, Széchenyi A, Kőszegi T.(2019). Antimicrobial Activity of Chamomile Essential Oil: Effect of Different Formulations. 24(23): 4321. <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules24234321>
- [35]. Das S, Langthasa P, Barhoi D, Upadhaya P, Giri S.(2018). Effect of Nutritional Status on Arsenic and Smokeless Tobacco Induced Genotoxicity, Sperm Abnormality and Oxidative Stress in Mice In Vivo. *Environ. Mol Mutagen*; (5): 386-400. <http://dx.doi.org/10.1002/em.22188>
- [36]. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R.(2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*; 1:15019. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- [37]. Del Río, L.A.; López-Huertas, E.(2016). ROS Generation in Peroxisomes and its Role in Cell Signaling. *Plant and Cell Physiology*, 57, 1364–1376. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw076>
- [38]. Delmas, M.-C. et Fuhrman, C. (2010). L'asthme en France : synthèse des données épidémiologiques descriptives. *Revue des Maladies Respiratoires*, 27(2) : 151 – 159. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2009.09.001>
- [39]. Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi H N.(2011). Reduced antioxidant status for prolonged period due to repeated stress exposure in rat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*; 7 (2): 139-47
- [40]. Dharmage SC, Perret JL, Custovic A. (2019). Epidemiology of asthma in children and adults. *Frontiers in Pediatrics* 7:246. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00246>
- [41]. Di Meo S, Reed T, Venditti P, Manuel Victor M.(2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 1245049. <https://doi.org/10.1155%2F2016%2F1245049>

- [42]. Distefano JK, Watanabe RM. (2010). Pharmacogenetics of anti-diabetes drugs. *Pharmaceuticals* 3:2610–46.
- [43]. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. 97(4), 654-660.
- [44]. Donath MY, Shoelson SE. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* ; 11:98-107. <https://doi.org/10.1038/nri2925>
- [45]. Dumas, O., Kauffmann, F. & Le Moual, N.(2013). Asthme et expositions aux produits de nettoyage. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. (74) : 117–129. <https://doi.org/10.1016/J.ADMP.2012.12.014>
- [46]. Eddouks M, Lemhadri A, Zeggwagh N A, Michel J B.(2005). Potent hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice* ; 67(3), 189–195.<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.07.015>
- [47]. Ellman G L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem*. 82(1): 70.
- [48]. Etuk EU. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(2): 130-134.
- [49]. Erjaee H , Rajaian H, Nazifi S.(2018). Evaluation of the Anti-inflammatory and Antioxidant Parameters of Aqueous and Ethanolic Extracts of Roman chamomile in mice. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.4274/tjps.51423>
- [50]. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H. & Jungens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med*. 13 : 341.
- [51]. Evans S, Dizeyi N, Abrahamsson PA, Persson J -The effect of a novel botanical agent TBS-101 on invasive prostate cancer in animal models - 2009 Oct;29(10):3917-24.
- [52]. Ezeja M I, Anaga A O, Asuzu I U. (2015). Antidiabetic, antilipidemic, and antioxidant activities of *Gouania longipetala* methanol leaf extract in alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*. 3:4, 605-614, <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.935864>
- [53]. Fahima M.(2014). Asthme allergique induit par un allergène d'acarien, House Dust Mite (HDM) : rôles de la caspase-1 et de la protéine kinase C thêta (PKC- θ). *chimesty*
- [54]. Farhoudi R. (2017). Chemical constituents and antioxidant properties of *Matricaria recutita* and *Chamaemelum nobile* essential oil growing in south west of Iran, *Radical Biology and Medicine* 108 (2017) S18–S107
- [55]. Fattman C, Schaefer L, Oury T.(2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*; 35(3): 236–256. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00275-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00275-2)
- [56]. Flohe, L. et Gunzler, W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*,105, 114–121. *Methods in Enzymology*. 105:114-21. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05015-1)
- [57]. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, Ostolaza H, Martín C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus.

- [58]. Gambini, J., & Granier, R. (2013). Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection : 1-20
- [59]. Gergen P J , Mitchell H E , Calatroni A , Sever M L , Cohn R D , Salo P M , Thorne P S, Zeldin D C . (2018). Sensitization and Exposure to Pets: The Effect on Asthma Morbidity in the US Population. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice; 6(1):101-107.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.05.019>
- [60]. Ghaedi, M., Naghiha, R., Jannesar, R., dehghanian, N., and Mirtamizdoust, B., (2015). Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urtica dioica*, *Chamaemelum nobile* and *Salvia officinalis*: Effects of Zn [OH]₂ nanoparticles and Hp-2-minh on their property. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. Volume 32, 353-359.
- [61]. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet. 2020;396(10258):1204-22.
- [62]. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2017. Available from: www.ginasthma.org
- [63]. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2020. Available from: <http://www.ginasthma.org/>
- [64]. Guimarães R, Barros L, Dueñas M, Calhella RC, Carvalho AM, Santos-Buelga C, Queiroz MG and Ferreira IC. Carvalho AM and Santos-Buelga C. Nutrients, phytochemicals and bioactivity of wild Roman chamomile: a comparison between the herb and its preparations. Food Chemistry, 136(2), 2001, 718-725
- [65]. Haghi, G., Hatami, A., Safaei, A. and Mehran, M., (2014). Analysis of phenolic compounds in *Matricaria chamomilla* and its extracts by UPLC-UV. Research in Pharmaceutical Sciences, February; 9(1): 31-37.
- [66]. Halliwell B, Clement MV, Long LH. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Lett. ; 486(1):10-13.
- [67]. Hammad H, Lambrecht BN. (2021). The basic immunology of asthma. Cell 184(6):1469-1485. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.016>
- [68]. Haouichat, H., Benali, R., Benyounes, A., Berrabah, Y., Douagui, H., Guermaz, M., Lellou S, Montestruc F , Moumeni A , Skander F, Taleb A, Taright S, Zidouni, N. (2019). Contrôle de l'asthme chez l'adulte en Algérie. Comparaison avec les autres pays d'Afrique du Nord et du Moyen Orient. Revue Des Maladies Respiratoires. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2019.02.004>
- [69]. Harju M, Keski-Nisula L, Georgiadis L, Heinonen S. (2016). Parental smoking and cessation during pregnancy and the risk of childhood asthma. BMC Public Health. <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3029-6>
- [70]. Heimler, D., Vignolini P., Din M.G., Vinueri F.F., Ronani A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. Food Chemistry. 99,464-469. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.057>

- [71]. Hopkins W.G., 2003-Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514
- [72]. Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N.P., Martin-Diana, A.B., Barry-Ryan, C. (2010). Characterization of Phenolic Composition in Lamiaceae Spices by LC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(19), 10576-10581.
- [73]. Hould R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Ed Maloine 19(21): 225. Hulsmann A R, Raatgeep H R, Den Hollander J C, Stijnen T H, Saxena P R, Kerrebijn K F, Jongste J C. (1994). Oxidative epithelial damage produces hyperresponsiveness of human peripheral airways. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 149(2), 519-525.
- [74]. Hu J, Gao WY, Gao Y, Ling N S, Huang L.Q. & Liu CX. (2010). 'M3 muscarinic receptor and Ca²⁺ influx-mediated muscle contractions induced by croton oil in isolated rabbit jejunum', *Journal of Ethnopharmacology* 129(3), 377-380. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.020>
- [75]. IDF : International Diabetes Federation (DIABETES ATLAS : 9ème Edition). (2021). Available from: www.idf.org/diabetesatlas
- [76]. Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., Moulard F., Zha E., et al., (2001)- *Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins*. Ed Larousse. p10-12.
- [77]. Ismail L, Materwala H, Kaabi J A. (2021). Association of risk factors with type 2 diabetes: A systematic review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 19, 1759-1785. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.003>
- [78]. Jabri MA, Aissani N, Tounsi H, Sakly M, Marzouki L, Sebai H. (2017). Protective effect of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract against alcohol-induced injury in rat gastric mucosa. *Pathophysiol* ;24(1):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2016.11.001>
- [79]. Janssens T, Ritz T. (2013). Perceived Triggers of Asthma: Key to Symptom Perception and Management. *Clinical & Experimental Allergy*; 43(9): 1000-1008. <https://doi.org/10.1111%2Fcea.12138>
- [80]. Jartti T, Korppi M. (2011). Rhinovirus-induced bronchiolitis and asthma development. *Pediatr Allergy Immunol* ; 22: 350-355. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2011.01170.x>
- [81]. Jezovnik MK, Poredos P. (2007). Oxidative stress and atherosclerosis. An article from the e-journal of the ESC Council for Cardiology Practice.
- [82]. Jianping, Z., Shabana, I. K., Mei, W., Yelkaira, V., Min Hye, Y., Bharathi, A., Yan-Hong, W., Cristina A., Troy, J. S., and Ikhlas, A. K., (2014). Octulosonic Acid Derivatives from Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*) with Activities against Inflammation and Metabolic Disorder. *Journal of Natural Products*, 2014, 77 (3), 509-515.
- [83]. Jridi, S., Hamzaoui, G., Ait Batahar, S., Sajjai, H., Serhane, H., Amro, L., Alaoui Yazidi, A. (2015). Étude comparative entre femmes et hommes asthmatiques. *Revue française d'allergologie*, 3, 255-263. ANI LAHNA
- [84]. Jung, H.K., (2003). 'Modification and inactivation of human Cu,Zn-superoxide dismutase by methylglyoxal', *Molecules and Cells* 15, 194.

- [85]. Kahanovitz L, Sluss PM, Russell SJ.(2017). Type 1 Diabetes - A Clinical Perspective.. Point Care.; 16(1): 37–40. <https://doi.org/10.1097%2FPOC.000000000000125>
- [86]. Kandharea AD, Bodhankara SL, Singha V, Mohanb V, Thakurdesaib P A.(2013). Anti-asthmatic effects of type-A procyanidine polyphenols from cinnamon bark inovalbumin-induced airway hyperresponsiveness in laboratory animals. Biomedicine & Aging Pathology.(3): 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2013.01.003>
- [87]. Kazemian H, Ghafourian S, Sadeghifard N, Houshmandfar R, Badakhsh B, Taji A, Shavalipour A, Mohebi R, Ebrahim-Saraie HS, Houri H, Heidari H.(2018). In vivo Antibacterial and Wound Healing Activities of Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*). Infect Disord Drug Targets. ; 18(1):41-45. <https://doi.org/10.2174/1871526516666161230123133>
- [88]. Khaldi 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 (5): 472-481. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.02.005>
- [89]. Khaldi T, Chekchaki N, Rouibah Z, Chouala K, Cheniti , Boumendjel M, et al.(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. Toxicol Environ Health Sci; <https://doi.org/10.1007/s13530-022-00142-9>
- [90]. Khenouf S, Benchiekh D, Djidel S, Dahamna S, Smain A, Charef N, Baghiani A, Harzallah D, Arrar L, Baghiani A. (2013). Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria chamomilla* L. Pharmacognosy Communications. <http://dx.doi.org/10.5530/pc.2013.2.8>
- [91]. Koller A. (1984). Total serum protein. Clin. Chem. Toronto. Princeton. 1316-1324.
- [92]. Kulaksizoglu, S., and Karalezli, A., (2016). Aqueous humour and serum levels of nitric oxide, malondialdehyde and total antioxidant status in patients with type 2 diabetes with proliferative diabetic retinopathy and nondiabetic senile cataracts. Canadian journal of diabetes, 40 (2), 115–119.
- [93]. Kumar Tiwari B., Kumar D., Abidi A B., Rizvi S I.(2014). Efficacy of Composite Extract from leaves and Fruits of medicinal plants used in traditional diabetic therapy against oxidative Stress in Alloxan-Induced diabetic Rats. ISRN Pharmacology. :1-7. <https://doi.org/10.1155%2F2014%2F608590>
- [94]. Leynaert B, Sunyer J, Garcia-Esteban R, Svanes C, Jarvis D, Cerveri I, Dratva J, Gislason T, Heinrich J, Janson C, Kuenzli N, de Marco R, Omenaas E, Raheison C, Gómez Real F, Wjst M, Zemp E, Zureik M, Burney PG, Anto JM, Neukirch F.(2012). Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma : a population-based cohort. Thorax 67, 625–631. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2011-201249>
- [95]. Li, C., Shi, L., Chen, D., Ren, A., Gao, T. & Zhao, M. (2015). Functional analysis of the role of glutathione peroxidase (GPx) in the ROS signaling pathway, hyphal branching and the regulation of ganoderic acid biosynthesis in *Ganoder malucidum*, Fungal Genetics and Biology 82, 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.07.008>
- [96]. Liu H, Guz Y, Keede MH, et al. (2010). Precursor cells in mouse islets generate new beta cells in vivo during aging and after islet injury. Endocrinology 151:520–8.

- [97]. Livingston Raja N., Sundaranathavalli S., Jeya Ananthi J., Nirmaladevi J., Kumarappan C., Kumaraguruparan P., Yaseen K. (2008). Antihyperglycaemic activity of aqueous extract of *vinca rosea linn* in alloxan induced diabetic rats. *Pharmacologyonline*; 3: 354-362.
- [98]. Ma D, He J, He D. (2019). Chamazulene reverses osteoarthritic inflammation through regulation of matrix metalloproteinases (MMPs). *Brazilian Journal of Biology*. 80(1): 87-96. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.191485>
- [99]. Ma, C.-M., Winsor, L., & Daneshtalab, M. (2006). Quantification of spiroetherisomers and herniarin of different parts of *Matricaria matricarioides* and flowers of *Chamaemelum nobile*. *Phytochemical Analysis*, 18(1), 42–49. <https://doi.org/10.1002/pca.950>
- [100]. Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. 7(1):3-8.
- [101]. Macheix, J.-J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presse polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne (Italie)*, 187 p.
- [102]. Madore A-M, Laprise C. (2010). Immunological and genetic aspects of asthma and allergy. *Journal of Asthma and Allergy*; 3: 107–121. <https://doi.org/10.2147%2FJAA.S8970>
- [103]. Mahajan A., Tandon V. R. Antioxidants and rheumatoid arthritis. *Journal of Indian Rheumatology Association*. 2004;12:139–142.
- [104]. Maruthamuthu V, Henry LJK, Ramar MK, Kandasamy R. (2020). *Myxopyrum serratum* ameliorates airway inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and OVA-induced murine model of allergic asthma. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112369>
- [105]. Masini E, Giannini L, Nistri S, Cinci L, Mastroianni R, Xu W, et al. 2008. Ceramide: a Key Signaling Molecule in a Guinea Pig Model of Allergic Asthmatic Response and Airway Inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 324 (2): 548–557. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.131565>
- [106]. Matulonga Bobette, Marta Rava, Valérie Siroux, Alfred Bernard, Orianne Dumas, Isabelle Pin, Jan-Paul Zock, Rachel Nadif, Bénédicte Leynaert, Nicole Le Moual. (2016). Women using bleach for home cleaning are at increased risk of non-allergic asthma. *Respiratory Medicine* 117, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2016.06.019>
- [107]. Mauser PJ, House A, Jones H, Correll C, Boyce C, Chapman RW. (2013). Pharmacological characterization of the late phase reduction in lung functions and correlations with microvascular leakage and lung edema in allergen-challenged Brown Norway rats. *Pulmonary pharmacology and therapeutics*. 26: 677-684. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2013.03.005>
- [108]. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension. *Hypertension*. 1999;34:539–545.
- [109]. Mhamed, S. C., Saad, A. B., Migaou, A., Fahem, N., Rouatbi, N., & Joobeur, S. (2020). Asthme et obésité: relation et implications thérapeutiques auprès des patients

- asthmatiques du Service de Pneumologie de Monastir, Tunisie. Pan African Medical Journal, 36. <https://doi.org/10.11604%2Fpamj.2020.36.49.21098>
- [110]. Milovanovic S, Grzegorzcyk A, Świątek L, Grzęda A, Dębczak A, Tyskiewicz K, Konkol M.(2023). A Novel Strategy for the Separation of Functional Oils from Chamomile Seeds. Food and Bioprocess Technology; 16:1806–1821. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03038-9>
- [111]. Mohamed, J., Nafizah, A. N., Zariyantey, A. H., and Budin, S. (2016). Mechanisms of diabetes-induced liver damage: the role of oxidative stress and inflammation. Sultan Qaboos University Medical Journal, 16(2), 132-141.
- [112]. Mthembu, N, Ikwegbue, P , Brombacher F, Hadebe S.(2021). Respiratory Viral and Bacterial Factors That Influence Early Childhood Asthma. Front Allergy.; 2: 692841. <https://doi.org/10.3389%2Ffalgy.2021.692841>
- [113]. Nabila BEKHTI, Firdaus Faiza FEDOUL, Mouri FOUZIA, Yahya MERAZI, Alessandra PIRAS, Wafa ATMA(2022). Phenolic profile and biological activities of extracts of matricaria chamomilla l. from the western algeria. Acta Periodica Technologica. 53, 1-302, <https://doi.org/10.2298/APT2253048B>
- [114]. Nafti S., Taright, S., El Ftouh, M., Yassine, N., Benkheder, A. & al. (2009) Prevalence of asthma in North Africa: the Asthma Insights and Reality in the Maghreb (AIRMAG) study. Respiratory Medicine., 103: S2-S11.
- [115]. Napolitano, G.; Fasciolo, G.; Venditti, P. Mitochondrial Management of Reactive Oxygen Species. Antioxidants 2021, 10, 18. <https://doi.org/10.3390/antiox10111824>
- [116]. Nejad SM, Özgunes H, NursenBasaran. (2017) .Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. Turk J Pharm Sci. 14(2): 201.makanech
- [117]. Nick J, Overton, Taylor B.(2018). Humans in the Environment: Plants, Animal and Landscapes in Mesolithic Britain and Ireland. Journal of World Prehistory;31:385–402. <https://doi.org/10.1007/s10963-018-9116-0>
- [118]. Oberholzer, H. M. et Pretorius, E. (2009). Investigating lung remodeling in Modul8-treated BALB/c asthmatic animals. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 40 (8): 775-782
- [119]. Olukayode O Aremu¹, Charlotte M Tatal¹, Constance R Sewani-Rusike¹, Adebola O Oyedeji², Opeoluwa O Oyedeji³, Benedicta N Nkeh-Chungag (2018), Phytochemical composition, and analgesic and anti-inflammatory properties of essential oil of *Chamaemelum nobile* (Asteraceae L All) in rodents , Tropical Journal of Pharmaceutical Research. (10): 1939-1945
- [120]. Organisation mondiale de la santé. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325182>.
- [121]. Özbey Ü, Ucar U, Calis AG.(2019). The effects of obesity on pulmonary function in adults with asthma. Lung India.;36(5):404-10. https://doi.org/10.4103/lungindia.lungindia_16_19
- [122]. Ozougwu, J. C, Obimba, K. C, Belonwu, C. D, and Unakalamba, C. B.(2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. Journal of Physiology and Pathophysiology. 4(4) : 46-57. <https://doi.org/10.5897/JPAP2013.0001>

- [123]. Pearce, N., Ait-Khaled, N., Beasley, R., Mallol, J., Keil, U., Mitchell, E. et Robertson, C. (2007). Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms, Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*, 62, 758–766.
- [124]. Petersen MC, Shulman GI.(2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews.*; 98(4): 2133–2223. <https://doi.org/10.1152%2Fphysrev.00063.2017>
- [125]. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.*; 30(1): 11–26. <https://doi.org/10.1007%2Fs12291-014-0446-0>
- [126]. Pillonel N., Fisher S et Baroffio. (2012). Origine du dépérissement de la camomille romaine. *Plante aromatiques et médicinales. Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 44 (4): 234–241
- [127]. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A.(2017).Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 2017:8416763. <https://doi.org/10.1155%2F2017%2F8416763>
- [128]. Proshkina E, Plyusnin S, Babak T, Lashmanova E, Maganova F, Koval L, Platonova E, Shaposhnikov M, Moskalev A.(2020). Terpenoids as Potential Geroprotectors. *Antioxidants (Basel)*. 17;9(6):529. <https://doi.org/10.3390%2Fantiox9060529>
- [129]. Raccach, D. (2004). Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC -Endocrinol.* 1, 29–42.
- [130]. Raeeszadeh, P, Mortazavi, R, Atashin-Sadafi. (2021). The Antioxidant, Anti-Inflammatory, Pathological, and Behavioural Effects of *Medicago sativa L. (Alfalfa)* Extract on Brain Injury Caused by Nicotine in Male Rats. *Hindawi eCAM.*;(5): 6694629. <https://doi.org/10.1155/2021/6694629>
- [131]. Rafrat M, Zemestani M, M. Asghari-Jafarabadi. (2015). Effectiveness of chamomile tea on glycemic control and serum lipid profile in patients with type 2 diabetes. *Journal of Endocrinological Investigation*. 38, 163–170. <http://dx.doi.org/10.1007/s40618-014-0170-x>
- [132]. Rasmussen, F. & Hancox, R. J. (2014). Mechanisms of obesity in asthma. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 14, 35–43. <https://doi.org/10.1097/aci.0000000000000024>
- [133]. Reguia, F. (2017). Camomille du sahara, Matricaire du sahara: Enquête ethnobotanique, étude phytochimique et activités biologiques des deux plantes médicinales. Éditions universitaires européennes.
- [134]. Rehman K, M SH Akash.(2016). Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance : how are they interlinked?. *Journal of Biomedical Science* 23 :87. <http://dx.doi.org/10.1186/s12929-016-0303-y>
- [135]. Ribéreau-Gayon, J. and Peynaud, E. (1968) Les composés phénoliques des végétaux, *Traité d'oenologie*. Edition Dunod, Paris.
- [136]. Röder PV, Wu B, Liu Y, Han W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine*; 48(3): e219. <https://doi.org/10.1038%2Femm.2016.6>

- [137]. Sadatsafavi M, McTaggart-Cowan H, Chen W, Mark FitzGerald J. (2015). Quality of Life and Asthma Symptom Control: Room for Improvement in Care and Measurement. *Value in Health*, 18, 1043–1049. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2015.07.008>
- [138]. Sarecka-Hujar B, Szulc-Musioł B. (2022). Herbal Medicines-Are They Effective and Safe during Pregnancy? *Pharmaceutics*; (14): 171. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010171>
- [139]. Sears MR.(2008). Epidemiology of asthma exacerbations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 122, 662–668 .
- [140]. Sebai H, Jabri M A, Souli A, Hosni K, Rtibi K, Tebourbi O, El-Benna J and Sakly M.(2015). Chemical composition, antioxidant properties and hepatoprotective effects of chamomile (*Matricaria recutita L.*) decoction extract against alcohol-induced oxidative stress in rat. *General Physiology and Biophysics*. 34, 263–275. https://doi.org/10.4149/gpb_2014039
- [141]. Sekiou O, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A & Messarah M.(2018). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia herba alba* aqueous extract on hyperlipidemia and oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*.125(2):163-173. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1443470>
- [142]. Sharafzadeh S et Alizadeh O. (2011). German and Roman Chamomile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(10):01-05
- [143]. Shastri MD, Chong WC, Dua K, Peterson GM, Patel RP, Mahmood MQ, Tambuwala M, Chellappan DK, Hansbro NG, Shukla SD, Hansbro PM.(2021). Emerging concepts and directed therapeutics for the management of asthma: regulating the regulators. *Inflammopharmacology* 29(6):617–625. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-020-00770-y>
- [144]. Shore SA, Johnston RA.(2006). Obesity and asthma. *Pharmacology & Therapeutics*. 110(1) :83-102. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.10.002>
- [145]. Sies, H, Jones, D.P.(2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 21, 363–383. <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- [146]. Siracusa A, De Blay F, Folletti I, Moscato G, Olivieri M, Quirce S, Raulf-Heimsoth M, Sastre J, Tarlo SM, Walusiak-Skorupa J, Zock JP. (2013). Asthma and exposure to cleaning products - A European Academy of Allergy and Clinical Immunology task force consensus statement. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 68, 1532–1545. <https://doi.org/10.1111/all.12279>
- [147]. Song, P.; Adeloje, D.; Salim, H.; Dos Santos, J.P.; Campbell, H.; Sheikh, A.(2022). Rudan, I. Global, regional, and national prevalence of asthma in 2019: A systematic analysis and modelling study. *Journal of Global Health*, 12, 04052. <https://doi.org/10.7189/jogh.12.04052>
- [148]. Sözmen EY, Sözmen B, Delen, Y, Onat T. (2001). Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control, *Archives of Medical Research* 32. (4): 283–287. [https://doi.org/10.1016/S0188-4409\(01\)00285-5](https://doi.org/10.1016/S0188-4409(01)00285-5)

- [149]. Srivastava J.K., Shankar E et Gupta S. (2010). Chamomile: A herbalmedicine of the pastwith a bright future. *Mol Med Rep*, 3: 895–901.
- [150]. Strobel, N.A., fassett, R.G., Marsh, S.A., &Coombes, J.S. (2011). Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease.*International Journal of Cardiology*, 147:191–201.
- [151]. Szkudelski T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research.*;50: 536-546.
- [152]. Taillé C, Garcia G. (2019). Asthme de l’adulte : peut-on espérer une vie sans corticoïdes ? *Presse Med*; 48:252—4.
- [153]. Tainá D. Oliveira, Nayara S. Duarte, Evandro L. Padilha.Effet de l'huile essentielle de camomille romaine (*Chamaemelumnobile*) dans le traitement de psoriasis vulgaris: un rapport de cas clinique.2019. <https://doi.org/10.20396/revpibic272019158>
- [154]. Tebboub, I., and Kechrid, Z. (2019). Effect of curcuma on zinc, lipid profile and antioxidants levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetic rats fed zinc deficiency diet. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 127(2), 162-169.
- [155]. The Global Asthma Report, (2014). *Global Asthma Network* Auckland, New Zealand.www.globalasthmareport.org/Global_Asthma_Report_2014.pdfPage consultée le: 07/04/2017
- [156]. Ting SM, Zhao X, Zheng X, Aronowski J.(2020). Excitatory pathway engaging glutamate, calcineurin, and NFAT upregulates IL-4 in ischemic neurons to polarize microglia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*; 40(3):513–527. <https://doi.org/10.1177%2F0271678X19838189>
- [157]. Torday, J. S. and V. K. Rehan (2013). "An epigenetic'smoking gun'for reproductive inheritance." *Expert Review of Obstetrics & Gynecology* 8(2): 99-101
- [158]. Toskala E , Kennedy D W.(2015). Asthma risk factors. *Int Forum Allergy Rhinol.* 1(1) :S11-6. <https://doi.org/10.1002/alr.21557>
- [159]. Traversi D, Rabbone I, Scaioli G, Vallini G, Carletto G, Racca I, Ala U, Durazzo M, Collo A, Ferro A, Carrera D, Savastio S, Cadario F, Siliquini R, Cerutti F.(2020). Risk factors for type 1 diabetes, including environmental, behavioural and gut microbial factors: a case–control study. *Scientific Reports.* 10: 17566. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74678-6>
- [160]. Tsuru M, Kondo N, Noda M, Ota K, Nakao Y, Asada S. (2016). In vitro induction of autotetraploid of Roman chamomile (*Chamaemelum nobile L.*) by colchicine treatment and essential oil productivity of its capitulum. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant.* 52(5). <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-016-9779-0>
- [161]. Tvarijonaviciute A, Aznar-Cayuella C, Rubio CP, Tecles F, CeronJJ, López-Jorne P. Salivary Antioxidant Status in Patients with Oral Lichen Planus: Correlation with Clinical Signs and Evolution during Treatment with *Chamaemelum nobile*. *Biomed Res Int*2018; 1–5. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/5187549>
- [162]. Uppal P, Mohammed SA, Rajashekar S,Ravindran SG, Kakarla M ,Gambo MA,Salama MY,Ismail NH, TavallaP,Hamid P.(2023). Type 2 Diabetes Mellitus and Asthma: Pathomechanisms of Their Association and Clinical Implications. <https://doi.org/10.7759%2Fcureus.36047>

- [163]. Usunobun, U. & Okolie, N.P., 2015, 'Phytochemical, trace and mineral composition of Vernonia amygdalina leaves', International Journal of Biological & Pharmaceutical Research 6(5), 393–399.
- [164]. Valgimigli L (2023). Lipid peroxidation and Antioxidant protection. *Biomolecules*;13 (9) :1291 <https://doi.org/10.3390/biom13091291>
- [165]. Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de Laurus nobilis, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*. 9(4), 209
- [166]. Yang N, Shang Y. (2022). Ferrostatin-1 and 3-Methyladenine Ameliorate Ferroptosis in OVA-Induced Asthma Model and in IL-13-Challenged BEAS-2B Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 4: 9657933. <https://doi.org/10.1155/2022/9657933>
- [167]. Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., and Sahebkar, A. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of cellular physiology*, 234(6), 8152-8161
- [168]. Yomna, I. M. (2012). Grape seed extract attenuates lung parenchyma pathology in ovalbumin-induced mouse asthma model: An ultrastructural study. *Micron*, 43, 1050–1059.
- [169]. Zajec A, Podkrajšek K T, Tesovnik T, Šket R, Kern B C, Bizjan BJ, Schweiger D, Battelino T, Kovač J.(2022). Pathogenesis of Type 1 Diabetes: Established Facts and New Insights. *Genes*, 13(4), 706; <https://doi.org/10.3390/genes13040706>
- [170]. Zemmouri H, Sekiou O, Ammar S, El Feki A, Messarah M, Boumendjel A. (2017). Urtica dioica attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. *Pharmaceutical Biology*;55(1): 1561-1568. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1310905>
- [171]. Zhang L, Yi H.(2022). An exopolysaccharide from Bacillus subtilis alleviates airway inflammatory responses via the NF-κB and STAT6 pathways in asthmatic mice. *Bioscience Reports* ; 42(1) :BSR20212461. <https://doi.org/10.1042/BSR20212461>

ANNEXES

Annexes de la thèse

Annexe 1. Composition de l'aliment pour 1 kilogramme de nourriture (ONAB, Bejaïa)

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

Annexe 2. Solutions utilisées pour le dosage des paramètres du stress oxydant

Solutions	Composition	Quantités
Solution de lavage(pH=7,4)	- KH ₂ PO ₄ - NaCl- Eau distillée	1,36 g 9 g 1 L
Solution de BRADFORD	- Bleu de Coomassie (G-250)- Ethanol 95%- Acide ortho- phosphorique- Eau distillée	100 mg 50 mL 100 mL 1 L
Tampon phosphate(pH=7,4)	- Tris 50 mM- NaCl 150 mM	6,057 g 8,775 g
TCA-BHT	- TCA- BHT- Eau distillée	20 g 1 g 100 mL
Tris-TBA	- Tris- TBA- Eau distillée	0,315 g 1, 729 100 mL
Tampon TBS(pH=7,4)	- NaCl 150 mM- Tris 50 mM- Eau distillée	4,387 g 3,028 g 500 mL
GSH	- GSH- Eau distillée	0,491 g 16 mL
DTNB	- DTNB- Eau distillée	5,151 g 13 mL
TCA	- TCA- Eau distillée	0,4 g 40 mL
H ₂ O ₂ (30V)	- H ₂ O ₂ - Eau distillée	130 µL 1 L

Annexe 3. Réactifs utilisés pour le dosage de la superoxyde dismutase

Réactifs	Blanc	Étalon	Échantillon
EDTA-Met (0.3mM) (μ L)	1000	1000	1000
Tampon phosphate (50mM, pH7.8)(μ L)	892.2	892.2	892.2
Échantillon (μ L)	--	--	50
Tampon phosphate (50mM, pH7.8)(μ L)	1000	1000	950
NBT (2.64mM) (μ L)	85.2	85.2	85.2
Riboflavine (0.26mM) (μ L)	22.6	22.6	22.6

Annexe 4. Réactifs utilisés pour le dosage de la catalase

Réactifs	Blanc (μL)	Échantillon (μL)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H ₂ O ₂ (0.5 M)	200	200
Homogénat	--	20

Annexe 5. Préparation des solutions (ELISA)

Les concentrés de tampon doivent être amenés à température ambiante et doivent être dilués avant de commencer le dosage. Si des cristaux se sont formés dans les concentrés de tampon, réchauffez-les doucement jusqu'à ce qu'ils soient complètement dissous.

1/ Le tampon de lavage (1x) :

- Verser tout le contenu (50 ml) du concentré de tampon de lavage (20x) dans une éprouvette graduée propre de 1 litre.
- Amener au volume final de 1000 ml avec de l'eau distillée.
- Mélanger doucement pour éviter la formation de mousse.
- Transférer dans un flacon propre (soigneusement étiqueté) et conserver entre 2° et 25°C. Veuillez noter que le tampon de lavage (1x) est stable pendant 30 jours.

2/ Le tampon de dosage (1x) :

- Verser la totalité du contenu (5 ml) du concentré de tampon de dosage (20x) dans une éprouvette graduée propre de 100 ml.
- Amener au volume final de 100 ml avec de l'eau distillée.
- Mélanger doucement pour éviter la formation de mousse.
- Transférer dans un flacon propre (soigneusement étiqueté) et conserver entre 2° et 8°C. Veuillez noter que le tampon de dosage (1x) est stable pendant 30 jours.

3/ Préparation de la solution d'anticorps biotinylé anti-IL4

Faire une dilution 1:100 de la solution concentrée de biotine-conjugué avec le tampon de dosage (1x) dans un tube en plastique propre selon le tableau suivant :

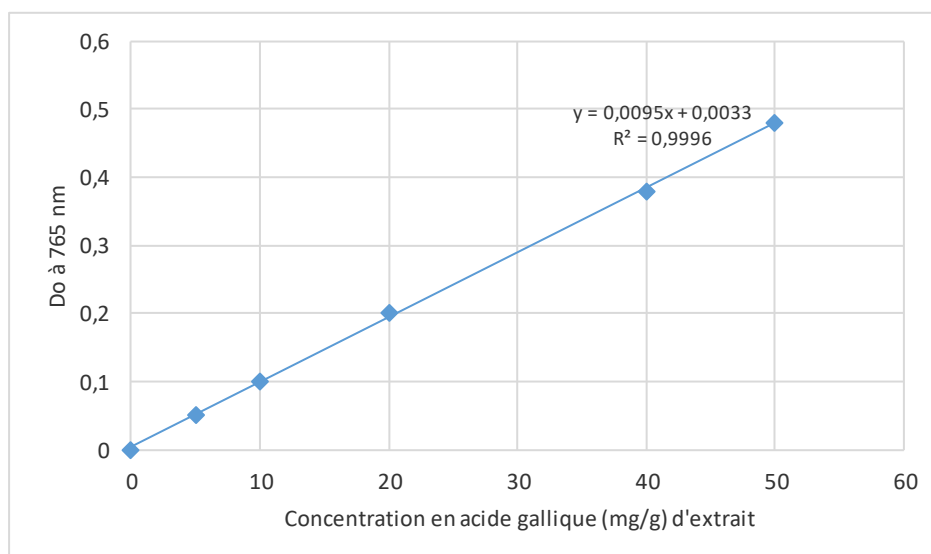
Number of Strips	Biotin-Conjugate (ml)	Assay Buffer (1x) (ml)
1 - 6	0.03	2.97
1 - 12	0.06	5.94

4/ Préparation de la solution de streptavidine-HRP

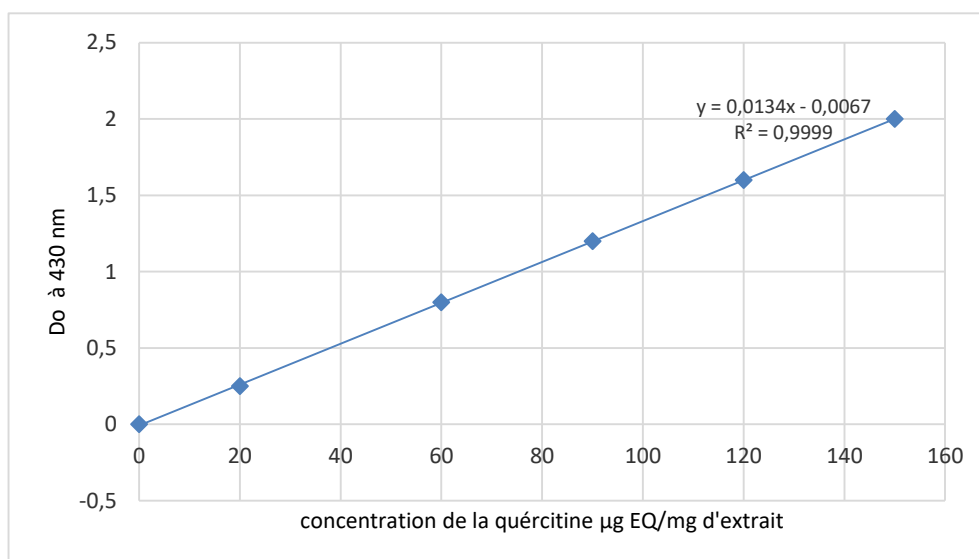
Faites une dilution 1:200 de la solution concentrée de Streptavidine-HRP avec le tampon de dosage (1x) dans un tube en plastique propre selon le tableau suivant :

Number of Strips	Streptavidin-HRP (ml)	Assay Buffer (1x) (ml)
1 - 6	0.03	5.97
1 - 12	0.06	11.94

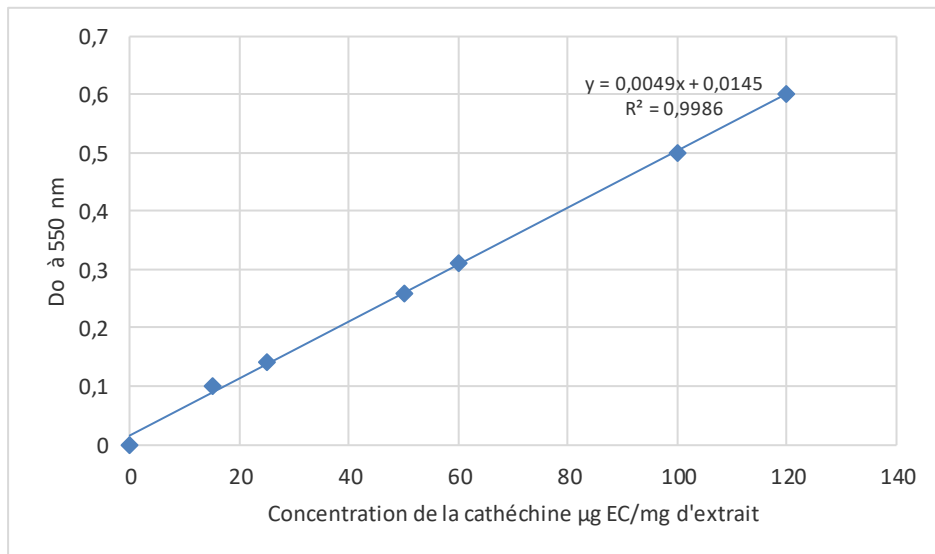
Annexe 6. Gamme d'étalonnage de l'acide gallique



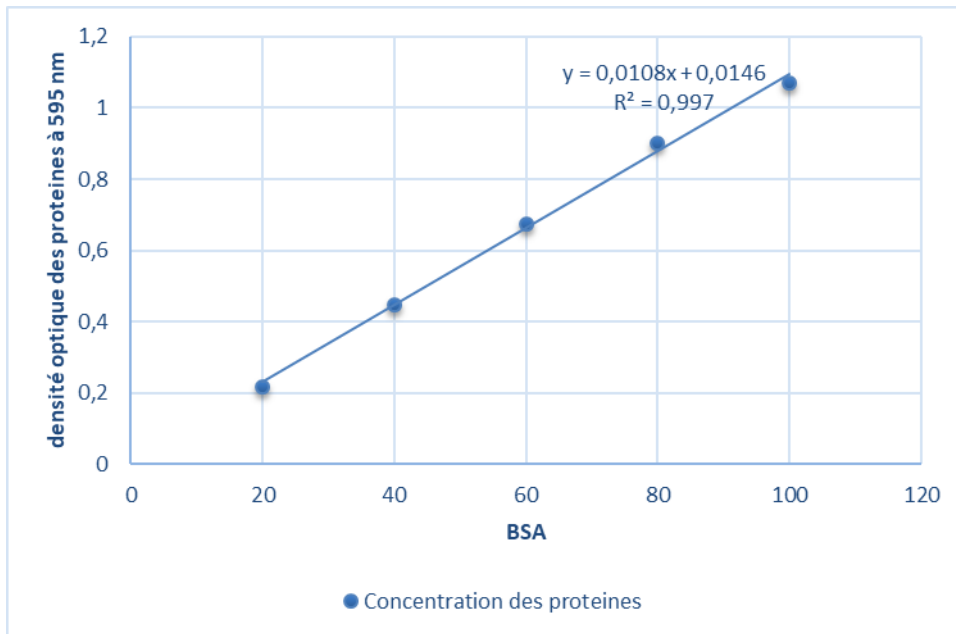
Annexe 7. Gamme d'étalonnage de la quercétine



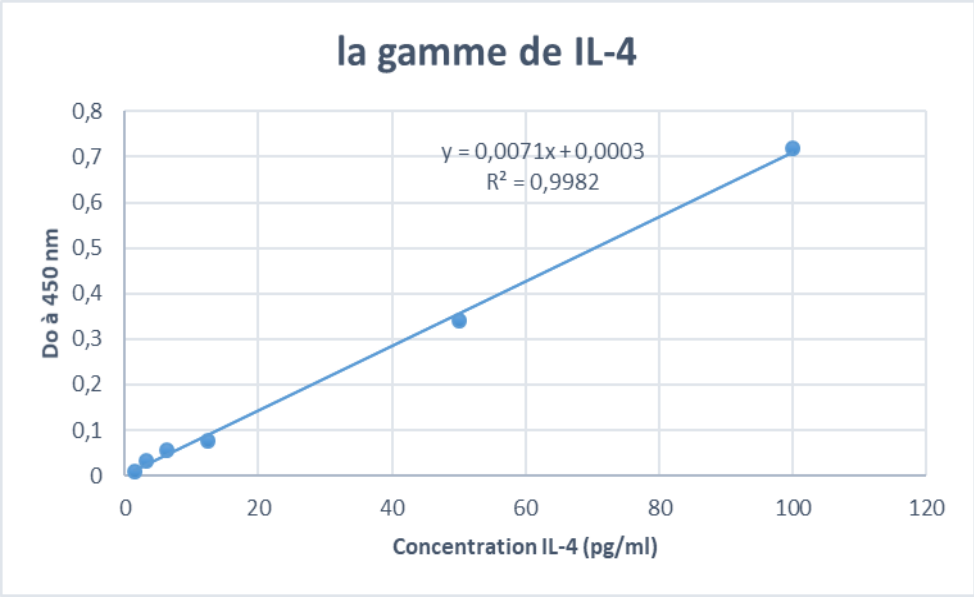
Annexe 8. Gamme d'étalonnage de la catéchine

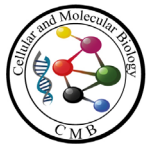


Annexe 9. Gamme d'étalonnage des protéines



Annexe 10. Gamme d'étalonnage de l'IL-4





***In-vivo* anti-inflammatory effects of Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*) aqueous extracts collected from the National Park of El-Kala (North-East, Algeria)**

Mustapha Hichem Zadam¹, Meriem Ahmida¹, Nesrine Djaber¹, Lynda Sabrina Ounaceur¹, Omar Sekiou², Faiza Taibi³, Rym Bencheikh¹, Khadidja Chouala¹, Kahina Boudjema¹, Lazhar Tichati², Moncef Zaafour⁴, Amel Boumendjel¹, Mahfoud Messarah¹, Mahieddine Boumendjel^{1*}

¹ Research Laboratory on Biochemistry and Environmental Toxicology, Badji Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria

² Environmental Research Centre, Annaba, Algeria

³ Research Laboratory on Applied Animal Biology, Badji Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria

⁴ Biology Department, Badji Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Original paper

Article history:

Received: January 12, 2023

Accepted: April 01, 2023

Published: June 30, 2023

Keywords:

Anti-inflammatory activity; *Chamaemelum nobile*; GSH; IL4; MDA

ABSTRACT

The aim of our study is to evaluate anti-inflammatory effect of *Chamaemelum nobile*. Aqueous extracts were administrated to Wistar rats in bronchial-inflammation experimentally induced by an allergen and ovalbumin, administered intraperitoneally / intranasally (20mg/kg/day). Experimentation showed disturbances in bronchoalveolar fluid with increased leukocyte and lymphocyte levels as well as IL-4 concentration in the lungs and erythrocytes associated with high lipid peroxidation. There were disturbances in enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system. Lungs histopathological showed an inflammatory lymphoplasmacytic infiltrate, moderate edema of alveoli, vascular congestion and suffusion hemorrhage. Administration of aqueous extract to OVA-sensitized rats caused a significant and very highly significant improvement of MDA levels in lungs, erythrocytes, GSH, GPx, GST, catalase and SOD. We notice a decrease in IL-4 in LBA and lungs alongside reduced inflammatory cell infiltration, mild bronchiolar dilation, mild alveolar edema and normal cell morphology allowing us to conclude on the effectiveness of anti-inflammatory activity of Roman chamomile.

Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2023.69.9.38>

Copyright: © 2023 by the C.M.B. Association. All rights reserved.

Introduction

Inflammation is a complex process that occurs in response to physical, chemical or infectious attacks (1). Most often, this reaction is beneficial for the attacked organism. It involves many biological systems that aim to destroy or eliminate foreign substances. Sometimes, inflammation can be harmful due to the aggressiveness of the pathogen and its persistence. It is accompanied by pain, redness, heat, increased vascular permeability, protein denaturation and destruction of cell membranes (2). Bronchial asthma is an inflammatory disease of the lower airways, which constitutes a public health problem affecting over 300 million people worldwide (3). Clinical manifestations of asthma include wheezing, shortness of breath, chest tightness, and coughing and are triggered by several factors such as exposure to aero-allergens, tobacco smoke, physical exercise and respiratory tract infections. Major pathophysiological mechanisms that characterize this pathology are bronchial hyperreactivity (HRB), reversible airway obstruction and inflammation dominated by eosinophils and mast cells (4). The concept of oxidative stress is found in type I hypersensitivity reactions, in which the inflammation of the airways is caused by the production of reactive oxygen species (ROS) that are secreted by inflammatory cells (5). These ROS can be directly responsible for the lung lesions and the contraction of the bronchial muscles, participating in the bronchial obstruction typical

of asthma. An anti-inflammatory is a substance intended to fight inflammation (natural or chemical). Chemical anti-inflammatories are divided into steroidal (corticoids) and non-steroidal (NSAIDs) anti-inflammatory. In addition to their significant side effects (headaches, dizziness, nausea, allergies, etc.), their main limitation is that they have a symptomatic and non-curative action. In other words, they act on the symptom and not on the cause. Because of the reputed ineffectiveness of drugs currently used to permanently cure asthma and the fear of their known side effects, there is a pressing need to find new natural therapies (5). In this regard, natural products and herbal remedies used in traditional medicine have been the source of many medicines. Many medicinal plants exhibit interesting biological and pharmacological activities and are used as therapeutic agents (6). Particularly, the use of plant extracts helps in reducing the phenomenon of oxidative stress in respiratory system diseases. Chamomile is an example of that. It can be used in the form of infusion, ointment, lotion, and inhalation. Appreciated for their anti-inflammatory properties, there is a great diversity of taxa. We were interested in Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*) which is widely distributed throughout the northern periphery of Algeria. This perennial herbaceous plant (hemicryptophyte), aromatic and medicinal bitter tonic, stomachic, antispasmodic and sedative is recognized as a universal remedy for its healing and biological properties (7). Several clinical studies have confirmed the effectiveness of treating cha-

* Corresponding author. Email: mahieddine@yahoo.com

momile, as an analgesic (8), an anti-inflammatory and antioxidant (9), an antibacterial (10), a broncho-relaxant (11), in the treatment of polycystic ovaries (Pcos) (12), and in the treatment of diabetes (13). The purpose of this study was to confirm the effectiveness of the aqueous extract of chamomile against oxidative stress on an experimental asthma model induced by ovalbumin.

Materials and Methods

Harvest and collection of plant material

An endemic plant was used, namely, Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*). In the form of an aqueous extract, it was used on rats of the Wistar strain that were sensitized via an experimental asthma protocol. We find this plant on the edges of roads, grassy moors, and lawns, on light and sandy soils in eastern Algeria. The harvest of Roman chamomile was carried out in April, May and June 2018 at the level of the department of El-Tarf, in the district of Bouteldja. Harvesting was done by hand according to good harvesting practices for medicinal plants. Once picked, the plants were left to dry in the open air in a room with permanent ventilation, allowing the humidity to be extracted from the plant for a period of two weeks before being ground into powder and stored away from moisture and light until its subsequent use.

Preparation of the aqueous extract

The extraction method used was adapted from the data. Ten 10 grams of the crushed plant were macerated in 100 ml of distilled water, and stirred for 24 hours; Then, these aqueous extracts were filtered and kept in the fridge for later use.

Animals and breeding conditions

28 male Wistar rat strains were involved in this study. The rats were obtained from the Pasteur Institute (Algiers, Algeria). The experiments on these animals were carried out in accordance with the guidelines for the ethics of animal experiments. These rodents, aged from 6 to 8 weeks and with an average live weight of 200 ± 10 g, were subjected to a period of adaptation, under the conditions of the animal facility, at a temperature of 25°C and a natural photoperiod (light cycles/12 h obscurity). They were reared in polyethylene cages that were lined with litter. The cages were cleaned and the litter changed every day until the end of the experiment. They were fed with an energy-balanced concentrate from the ONAB factory of Bejaïa (Algeria). The food was weighed every day as well as the amount of water consumed. This allowed us to calculate the evolution of body weight in the different groups.

Group formation and rat treatments

The rats were divided equally into 4 groups of 6 rats, each designed for the study of inflammation (experimental asthma). They were sensitized to ovalbumin and/or treated with the aqueous extract of the Roman chamomile plant. The 4 groups consist of:

- The first group consisted of control rats one (T) that had undergone the same treatment as the other groups but only received 0.9 % saline solution.
- The second group consisted of rats that were sensitized to ovalbumin (OVA) at 1 ml/1mg, developing experimental asthma (14,15).

- The third group was treated orally by gavage with 20 mg/kg of the chamomile extract (16).
- The fourth group consisted of rats that were sensitized to OVA and treated with a dose of 20 mg/kg in chamomile extract at 1 mL/kg/day.

Sensitization and exposure to aerosols

Sensitization and exposure to aerosols were carried out according to the method described by Khaldi et al. (17). Subject rats were immunized on the first and fifteenth day by intraperitoneal injection of 10 mg of ovalbumin (Ova) that is adsorbed to 1 mg of aluminum hydroxide in a volume of 1 ml of phosphate-buffered saline (PBS). On days 21, 22, 23, 24, and 25, the rats were placed in a plexiglass exposure chamber that was connected to the outlet of an ultrasonic aerosol generator (OMRON, NE-C29-E) for 30 minutes (18).

Ovalbumin provocations

The ovalbumin inhalation method was performed as described by Chekchaki et al. (19). 100 mg of $\text{Al}(\text{OH})_3$ was dissolved in 100 ml of a 0.9 % saline solution then another 500 mg of ovalbumin was also dissolved in this same solution which was inhaled afterward through the use of an aerosol from day 21 to day 25. The last exposure to the aerosol was carried out 72 h before the end of the experiment. The animals in the other groups were challenged with 0.9 % saline solution. The sacrifice was through decapitation and took place on day 28, 72 hours after the last inhalation of ovalbumin.

Sample preparation

Blood is immediately collected in two types of tubes. The first dry is intended for centrifugation at 3000 rpm for 15 minutes. The collected serum is used for the blood parameters. As for the erythrocyte pellet, it will be used for the preparation of erythrocyte lysates which were intended for oxidative stress parameters. The second tube, containing an anticoagulant (EDTA), was intended to measure hematological parameters (blood count formula). Sampling of the broncho-alveolar fluid is carried out using the sheath of a micro-infuser (Epicranial device with PVC tubing) whose dimensions are: $0.8 \text{ mm} \times 19 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$ ("Sharp" lot 20070722. Medico-Surgical Industries Rouiba-Algiers). The trachea was cannulated and bronchoalveolar lavage (BAL) was performed with 1 mL of PBS solution 3 times in succession (17). BAL fluid was collected and then centrifuged at 1500 rpm for 5 min at 4°C . Once the supernatant had been recovered and stored for the total protein assays and IL-4 evaluation, the cell pellet was resuspended in 1 mL of PBS solution for cell counting, using a hemocytometer. Organ harvesting was done quickly after sacrifice. Animals were dissected for organ harvesting (lungs). These organs were subdivided into two parts: the first half is stored in the freezer for the subsequent preparation of the homogenate, which was used to assay the oxidative stress parameters; the other half is fixed in a 10% formalin solution in order to make histological sections.

Preparation of erythrocytes and homogenates

The preparation of the homogenate was carried out according to the method written by Rouag et al. (20). The lungs were quickly removed, washed in 0.9% NaCl solu-

tion and weighed after careful tissue removal. A quantity of 1 g was homogenized in 2 ml of phosphate buffer solution (TBS: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.4) at 1:2 (w/v), under ice-cold conditions. The homogenates were centrifuged at 3000 rpm for 35 min at 4°C; the supernatants were aliquoted and stored at -20°C. The sediment containing the erythrocytes was suspended twice in a saline solution of phosphate buffer [KH_2PO_4 (10 mM), NaCl (150 mM), pH 7.4], and centrifuged at 3000 rpm for 15 min at 4 °C for the first wash; and at 4000 rpm for 30 min at 4°C for the second wash. Hemolysates were then aliquoted and stored at -20°C prior to use for oxidative stress parameters.

IL-4 assay

The interleukin-4 (IL-4) assay was carried out according to the method described by Khaldi et al. (15). IL-4 is measured in the bronchoalveolar fluid and the crushing supernatant of the lungs by the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. This immunological test is conventionally used for protein detection and assay according to the protocol of the commercial kit (Rat Interleukin-4 platinum ELISA kit (BMS628/BMS628TEN)). The first step was already carried out when the strips were purchased, and is called “coating”. During this step, the anti-IL-4 antibody was attached to the bottom of the wells (this step lasted 24 hours at 4°C). The second step corresponds to the binding of IL-4 which will be demonstrated in the different biological fluids.

Preparation of the range

Eight wells of the plate were used to produce the standard curve at different concentrations. The rat IL-4 standard was then reconstituted by adding distilled water and letting it stand for 10-30 minutes. After that, it was mixed gently to ensure complete and homogeneous solubilization. A series of seven dilutions (C1: 100 pg/ml; C2: 50 pg/ml; C3: 25 pg/ml; C4: 12.5 pg/ml; C5: 6.25 pg/ml; C6: 3.12 pg/ml; C7: 1.56 pg/ml) was prepared from the standard solution of IL-4 at the concentration of 200 pg/ml.

ELISA steps

The ELISA method was performed as described by Shun-Ming Ting et al. (21):

- 50µL of standard diluent Buffer with 50µL of each sample (BAL/lung) is added to all wells of the plate. Then, 50 µL of the biotin-conjugated anti-IL-4 antibody solution was added to all the wells. After homogenization, the plate is incubated for 2 hours at room temperature and washed three times with the washing solution.
- 100 µL of the Streptavidin-HRP solution was added to each well. After homogenization, the plate is incubated for one hour at room temperature and washed three times with the washing solution.
- 100 µL of stabilized chromogen (TMB) was added to all the wells which resulted in turning the color of the mixture to blue. The plate is then incubated for 10 min at room temperature and in the dark.
- 100 µL of stop solution is added to all wells. Adding this solution will cause the color to change from blue to yellow.

Reading and determination of concentrations

The absorbance reading is then taken at 450 nm (Min-

dray MR-96A Reader). The intensity of the color is directly proportional to the concentration of IL-4 which is determined by comparison with the reference range of the standard, expressed in pg/mL.

Protein assay

This assay was conducted following the method described by Djaber et al. (22). 0.1 ml of homogenate or standard (BSA) was mixed with 5 ml of Coomassie blue. After 5 minutes of incubation, the reading of the optical densities against the blank was carried out at 595 nm. The protein concentration was determined by comparison with a standard range of BSA (1 mg/ml), previously carried out under the same conditions.

Determination of lipid peroxidation through measurement of malondialdehyde (MDA) levels at the tissue level

MDA is one of the end products formed during the free radical-mediated breakdown of polyunsaturated fatty acids. It is the most widely used marker in lipid peroxidation, particularly due to the simplicity and sensitivity of the assay method. The MDA assay is carried out according to the method described by Djaber et al. (23). The principle of this assay is based on the condensation of MDA in an acidic environment medium and in hot conditions with thiobarbituric acid (TBA). The reaction results in the formation of a pink-colored complex between two molecules of TBA, which can therefore be measured at 530 nm.

Determination of reduced glutathione level

The dosage of reduced glutathione (GSH) is carried out according to the method described by Sekiou et al. (24). The reaction consists of cutting the 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) molecule with GSH, which releases thionitrobenzoic acid (TNB) to develop a yellow color. The resulting product is reduced by glutathione reductase to recycle GSH and produce more TNB. The rate of production of TNB is proportional to the concentration of GSH present in the sample. The measurement of the absorbance of the TNB was carried out at 412 nm.

Determination of glutathione peroxidase enzymatic activity

Glutathione peroxidase (GPx) catalyzes the oxidation of reduced glutathione (GSH) by cumene hydroperoxide. In the presence of GSH reductase and NADPH, oxidized GSH is immediately converted to its reduced form with concomitant oxidation of NADPH--NADP+. The enzymatic activity of GPx was measured by the method described by Amraoui et al. (25). This method is based on the reduction of hydrogen peroxide (H₂O₂) in the presence of GSH. Glutathione peroxidase activity was measured at 420 nm.

Assay of the enzymatic activity of catalase

The activity of CAT was measured according to the method described by Salma et al. (26). The reaction mixture of 1 ml contained a 780 ml phosphate buffer (100 mM, pH7), 200 ml H₂O₂ (500 mM) and 20 ml supernatants. The reaction started by adding H₂O₂, and its decomposition was monitored by following the decrease in absorbance at 240 nm for 1 min.

Assay of the activity of glutathione-S-transferases (GSTs)

The glutathione S-transferase (GST) activity was determined by the method described by Salma et al. (26). The reaction mixture of 1 ml contained 0.830 ml of phosphate buffer pH 6.5 (0.1 M), 0.05 ml of CDNB (0.02 M), 0.1 ml of GSH (0.1 M) and 0.02 ml of the homogenate was then read their increase in the absorbance every minute during the 5 min at 340 nm.

Assay of superoxide dismutase activity

The activity of superoxide dismutase (SOD) is determined by post mitochondrial fraction (S9) of homogenate from its ability to inhibit the reduction of nitro blue tetrazolium (NBT). Thus, the reaction medium contains a photosensitizing molecule (riboflavin) as well as NBT, a molecule capable of being reduced by O₂ generated by riboflavin. The intense lighting of the reaction medium induces the oxidation of the latter which yields an electron to the oxygen to form a superoxide anion that interacts with the NBT (14).

Histopathological examination

The formation of the histological sections was carried out according to the method described by Berrouague et al. (27). The lung was dissected and immediately fixed in a 10% formalin solution, treated with a series of graded ethanol, and then embedded in paraffin (increased at 56/58°C). Paraffin sections were sliced 5 µm thick using a microtome (Leica RM2125RT), followed by hematoxylin and eosin staining. Finally, the sections were observed, analyzed under an optical microscope, and then photographed.

Statistical analysis

Values were presented as the means ± standard error mean (SEM) of the six rats in each group. The significant difference between groups means' was determined by one-way ANOVA followed by Tukey's test using GraphPad Prism 8.0.2. The statistical significance of the difference was taken as p<0.05.

Results

The variations in the body weight of the rats and in the relative and absolute weight of the lungs are presented in Table 1. Sensitization by OVA induces a decrease in body weight as well as a very highly significant (p < 0.001) increase in the absolute and relative lung weight values compared to control rats. The administration of the aqueous extract (EA) of *Chamaemelum nobile* to sensitized rats allowed a return to normal of the absolute and relative weight significantly (p < 0.05) of the lungs compared to the OVA group.

Effects of plant treatment and OVA sensitization on leukocyte lineage

The leukocyte cell count in the bronchoalveolar fluid (BAL) is shown in Table 2. Rats sensitized to ovalbumin had a very highly significant decrease in total cells, leukocytes and monocytes. A very highly significant increase in lymphocytes and granulocytes in comparison with control rats is also noted as well as a highly significant decrease in the monocyte rate of rats treated with EA in comparison with control rats. The treatment of rats with EA finally resulted in an improvement that reads as a very highly significant increase in the number of total cells, granulocytes, and in a highly significant number of monocytes compared to the OVA group.

Total protein assay

The dosage of total proteins was carried out in the LBA liquid represented in Table 1. The results show that sensitization to OVA causes a very highly significant increase (p < 0.001) in the total proteins compared to the control group. The administration of the plant decreased the total proteins compared to the control group.

Variation of oxidative stress parameters in lungs and erythrocytes

The inflammatory syndrome is generated by oxidative stress following an increase in the production of reactive oxygen species and a decrease in the cofactors of the an-

Table 1. Variations in body weight, relative weight, absolute lung weight, leukocyte lineage cells in bronchoalveolar fluid (BAL).

Parameters	Control	OVA	EA	OVA /EA
Original weight	272.30 ± 31.15	233.80 ± 25.65	253.00 ± 26.68	241.00 ± 15.54
Final weight	313.80 ± 44.33	288.00 ± 39.88	284.30 ± 23.55	279.80 ± 25.21
Weight gain	41.50 ± 32.46***	54.17 ± 22.51***	31.33 ± 11.96***	38.83 ± 27.79**
Absolute lung weight	02.36 ± 00.15	03.05 ± 00.08***	02.50 ± 00.39##	02.71 ± 00.21
Relative weights	00.83 ± 00.04	01.03 ± 00.03****+	00.87 ± 00.07	00.90 ± 00.11#
Total cells (x10 ³ /µl)	01.50 ± 00.31	00.73 ± 00.16***	01.85 ± 00.20# # #	01.31± 00.14# # # # + +
Leukocytes(x10 ³ /µl)	00.78 ± 00.14	00.41 ± 00.11***	00.71 ± 00.11# # #	00.51 ± 00.14* 41.65 ±
Lymphocytes %	35.90 ± 01.79	43.61 ± 02.40***	36.48 ± 01.10# # #	00.97***+ + + 05.46 ± 00.23***#
Monocytes %	10.72 ± 01.34	03.67 ± 00.12***	08.92 ± 00.44**# # #	# + + +
Granulocytes %	52.10 ± 02.88	59.07 ± 01.48***	53.93 ± 01.03# # #	54.43 ± 00.66# # #
Total protein (mg/l)	01.36 ± 00.19	01.86 ± 00.11***	01.46 ± 00.13# # #	01.75 ± 00.11***+

*p≤0.05; **p≤0.01; *** p ≤0.001 compared to control rats;

p ≤0.05; ## p ≤0.01; ### p ≤0.001 compared to ovalbumin-sensitized rats;

+p≤0.05; ++p≤0.01; +++ p ≤0.001 compared to rats treated with the plant.

Table 2. Variations in oxidative stress parameters and IL-4 level in the lungs.

Parameters	Control	OVA	EA	OVA/EA
MDA (nmol/mg prot.)	01.65 ± 00.37	02.88 ± 00.53**	01.43 ± 00.33###	02.09 ± 00.61#
GSH (µmol/mg prot.)	00.81 ± 00.08	00.30 ± 00.20***	00.71 ± 00.08###	00.53 ± 00.16*+
GPx (µmol GSH/mg prot.)	01.56 ± 00.33	00.59 ± 00.33***	01.14 ± 00.38	00.81 ± 00.33**
GST (nmol /min /mg prot)	01.20 ± 00.34	00.59 ± 00.07***	01.03 ± 00.03 ##	00.76 ± 00.12**
CAT (µmol H2O2/mg prot.)	151.50 ± 30.02	76.51 ± 14.17***	140.80 ± 27.43###	92.64 ± 07.83***++
SOD (UT/mg prot)	176.20± 11.58	80.23 ± 12.43 ***	164.30± 19.44####	134.70± 18.01***##++
IL-4 (pg/mL)	03.84±0,29	08.02±01.74**	03.33± 01.23##	07.18± 00.67+

*p≤0.05; **p≤0.01; *** p ≤0.001 compared to control rats;
 # p ≤0.05; ## p ≤0.01; ### p ≤0.001 compared to ovalbumin-sensitized rats;
 +p≤0.05; ++p≤0.01; +++ p ≤0.001 compared to rats treated with the plant.

tiioxidant enzyme systems. We measured oxidative stress parameters (reduced glutathione, glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, glutathione-S-transferases and malondialdehyde) in erythrocytes and lungs.

At the pulmonary level

The results represented in Table 2 and Figure 2 showed a highly significant increase in the rate of lipid peroxidation of malondialdehyde (MDA) in the lungs. We also notice a very highly significant decrease in the non-enzymatic antioxidant activity of reduced glutathione (GSH) as well as in the enzymatic antioxidant activities dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferases (GST), and catalase (CAT) in the lungs compared to the OVA group. The administration of EA allowed a significant reduction in the level of MDA in comparison with OVA-sensitized rats, a significant increase in the level of GSH, a highly significant increase in the level of GPx and GST, and a very highly significant increase in the level of SOD and catalase compared to control groups.

IL-4 levels in the lungs

Results at the levels of the lungs in the Fig 1 showed a highly significant increase in the level of IL-4 in the OVA-sensitized group compared to the control group. Administration of the aqueous extract significantly reduced IL-4 levels in the OVA/EA group compared to the control group.

In the erythrocyte compartment

Table 3 and the Fig 3 displayed a very highly significant increase in the level of lipid peroxidation of malondialdehyde (MDA) in erythrocytes; a very highly significant decrease in the non-enzymatic antioxidant activity of reduced glutathione (GSH) and in the enzymatic antioxidant activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferases (GST) and catalase (CAT) in the OVA-sensitized groups compared to control groups. The administration of EA allowed a very highly significant decrease in MDA at the level of erythrocytes in comparison with the control group, a very highly significant increase in GST, in GPx and a significant in SOD in comparison with the control groups. We notice also a highly significant increase in GSH and a significant increase in GPx in comparison with the ova-sensitized groups. As a result, it is deduced that the administration of the aqueous extract restores the levels of antioxidant activity elicited.

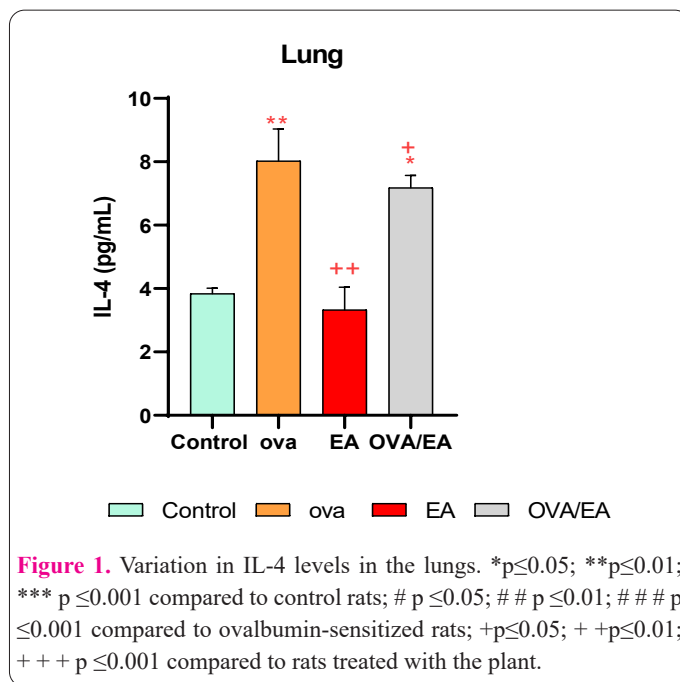


Figure 1. Variation in IL-4 levels in the lungs. *p≤0.05; **p≤0.01; *** p ≤0.001 compared to control rats; # p ≤0.05; ## p ≤0.01; ### p ≤0.001 compared to ovalbumin-sensitized rats; +p≤0.05; ++p≤0.01; +++ p ≤0.001 compared to rats treated with the plant.

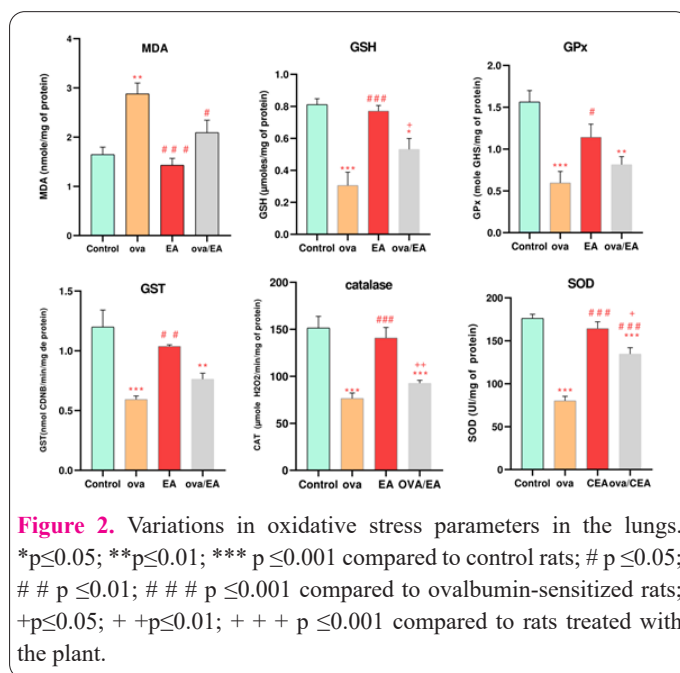


Figure 2. Variations in oxidative stress parameters in the lungs. *p≤0.05; **p≤0.01; *** p ≤0.001 compared to control rats; # p ≤0.05; ## p ≤0.01; ### p ≤0.001 compared to ovalbumin-sensitized rats; +p≤0.05; ++p≤0.01; +++ p ≤0.001 compared to rats treated with the plant.

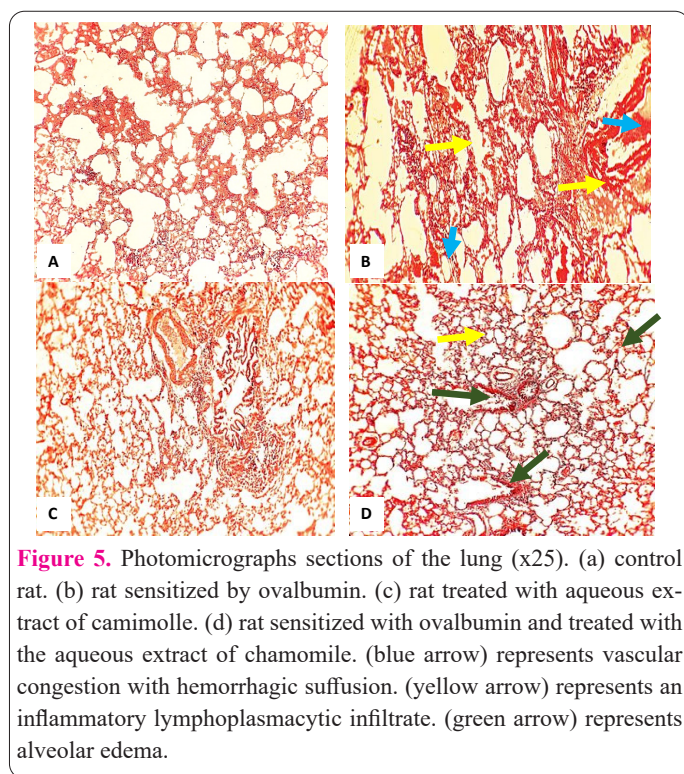
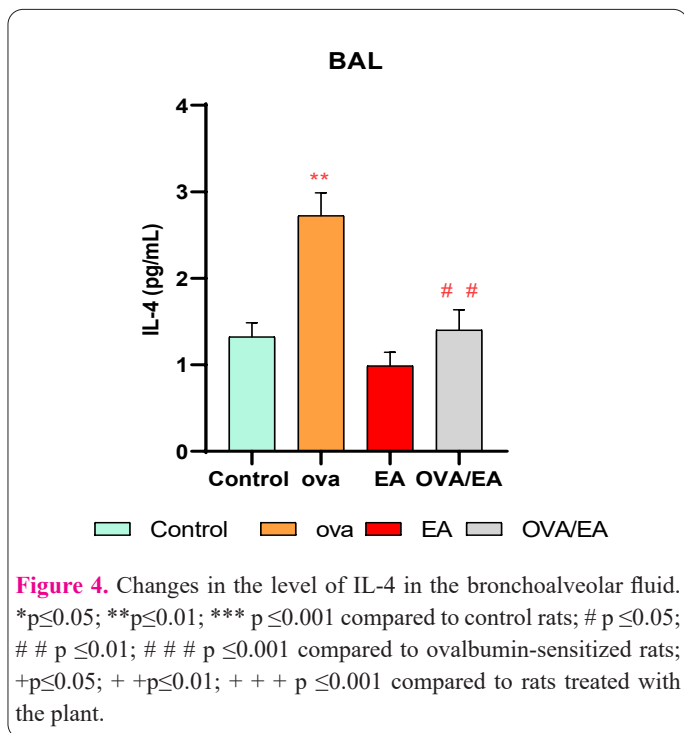
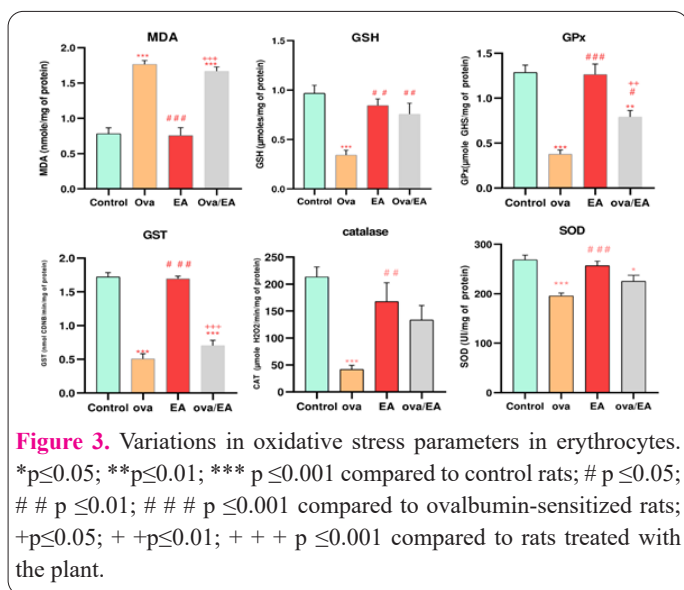
IL-4 level in BAL

BAL results in the Fig 4 showed a highly significant increase in the level of pro-inflammatory cytokines (IL-4) in the OVA-sensitized group compared to the control group. The administration of the aqueous extract significantly re-

Table 3. Variations in oxidative stress parameters in erythrocytes and IL-4 level in BAL.

Parameters	Control	OVA	EA	OVA/EA
MDA (nmol/mg prot.)	00.78 ± 00.21	01.76 ± 00.12***	00.75 ± 00.27###	01.66 ± 00.15****++
GSH (µmol/mg prot.)	00.96 ± 00.19	00.34 ± 00.11***	00.84 ± 00.15##	00.75 ± 00.27##
GPx (µmol GSH/mg prot.)	01.28 ± 00.20	00.37 ± 00.11***	01.26 ± 00.28###	00.79 ± 00.17**#+
GST (nmol/min/mg prot)	01.72 ± 00.14	00.50 ± 00.18***	01.69 ± 00.09###	00.70 ± 00.19****++
CAT (µmol H2O2/mg prot.)	213.30 ± 45.56	41.44 ± 19.30***	167.50 ± 85.50##	133.30 ± 65.59
SOD (UT/mg prot)	268.70 ± 22.85	195.80± 13.81***	256.80± 22,08	225.30± 29.84*
IL-4 (pg/mL)	01.32± 00.28	02.72± 00.45**	00.99± 00.15+++	01.40± 00.23##

*p≤0.05; **p≤0.01; *** p ≤0.001 compared to control rats;
 # p ≤0.05; ## p ≤0.01; ### p ≤0.001 compared to ovalbumin-sensitized rats;
 +p≤0.05; ++p≤0.01; +++ p ≤0.001 compared to rats treated with the plant.



cal slides are photographed and observed under an optical microscope. In the Fig. 5, we can observe from the top to the bottom and from the left to the right: (a) A normal pulmonary parenchyma is observed for the control rats (T) without any tissular disturbance. On the opposite, and in the treated rats (b) with OVA, there is vascular congestion with hemorrhagic suffusions (blue arrow) and an inflammatory lymphoplasmacytic infiltrate (yellow arrow) of moderate density around the bronchioles with moderate edema of the alveoli. Treatment with EA shows on (d) reduced inflammatory cell infiltration (yellow arrow); mild bronchiolar dilation (green arrow) with mild alveolar edema, and normal cell morphology compared to group (T).

Discussion

Inflammation is the vital response of the innate immune system to numerous pro-inflammatory cytokines (IL-4, IL-13 and IL-5) which are involved in directing the inflammatory response through their effects on the immune system. Interleukin-4 (IL-4) is a cytokine that is classified as anti-inflammatory, due to its effects on monocytes and macrophages. It decreases the production of pro-inflam-

duced the IL-4 level of the OVA/EA group compared to the OVA-sensitized group.

Histopathology results

After sections preparation and their coloring, histologi-

matory cytokines such as IL-1, TNF α , IL-6 and IL-8. It allows the induction of T cells in Th 2. The latter acts as a growth factor for Th 2 cells. It is the main mediator of class switching from immunoglobulins (Ig) to isotype E (IgE) by B lymphocytes (28,29). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as indomethacin and diclofenac are the main drugs capable of inhibiting these inflammatory cytokines and are the first choice for the treatment of inflammation. However, their side effects limit their use (30). Therefore, in recent years, attention has shifted to plants with anti-inflammatory activity such as Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*). Since ROS plays an important role in the pathogenesis of certain inflammatory diseases, natural antioxidants can scavenge ROS and improve the inflammatory state and consequently combat these disorders (31,32).

Several studies have been carried out to prove the anti-inflammatory effect of *Chamaemelum nobile*, including Olukayode et al. (33) with an *in vivo* evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effect of Roman chamomile essential oil (compared to ibuprofen). The latter had been used against inflammation found in the mouse paw. Among the abundant components of the oil are α -bisabolol and farnesene. Their oral administration reduces pain and prevents inflammation in the different test models used in this study.

Another research conducted in 2018 by Tvarijonavičiute showed that the ethanolic extract of *Chamaemelum nobile* is able to inhibit the development of paw edema. Additionally, oral pretreatment with the ethanolic extract significantly reduced the production of pro-inflammatory cytokines, including interleukin (IL-1), tumor necrosis factor (TNF), and IL-6. The ethanolic extract showed a better inhibitory effect on inflammation, which is similar to the effect of the anti-inflammatory drug indomethacin. Thus, *Chamaemelum nobile* is suggested to have an anti-inflammatory effect by inhibiting pro-inflammatory cytokines and reducing oxidative damage. Therefore, this plant can be an alternative to treat inflammation (9).

During a study carried out by Al-Jawad et al. (34) to evaluate the broncho-relaxing activity of *Anthemis nobilis* (Chamomile) on 54 patients suffering from chronic bronchial asthma, the tested plant showed a significant elevation in the values of forced expiratory volume in the first second (FEV1%) and forced volume capacity (FVC), with a marked reduction in asthma attacks (34).

Another study (35) was conducted on rodents by experimental induction of polycystic ovary syndrome (Pcos) rodents. This is achieved by the administration of a single dose of estradiol valerate (ev) and a hydro-alcoholic extract of chamomile (*Anthemis Nobilis*). The effect of chamomile extract is observed during histological investigations which showed that the 50 mg/day dose of chamomile decreases cyst size and inflammation.

Chamomile was also used against vulgar psoriasis by Tainá et al. (12). It showed the immunostimulating, soothing, analgesic effect of chamomile in a 20-year-old woman, who had the characteristics of psoriasis. Chamomile essential oil containing chamazulene, which is responsible for inhibiting cyclooxygenase (the enzyme that catalyzes the conversion of arachidonic acid into prostaglandins and thromboxanes, one of the responsible for the inflammatory process), confers an anti-inflammatory and healing power. Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*) promotes the

information of a thin film on the skin leading to an emollient and protective action.

Our study was performed to evaluate the protective effect of the aqueous extract of the Roman chamomile on ovalbumin-induced inflammation and ROS reactive oxygen species production in the lungs and erythrocytes. Ovalbumin stimulation caused an inflammatory state characterized by overweight and increased absolute lung weight. This result is in sync with what was obtained by Mauser et al. (36) whose study suggested that provocation with the allergen (ovalbumin) induces increased microvascular infiltration and edema, thus swelling of the inflamed organ.

In our investigation, the relative weight of the lungs has significantly ($p \leq 0.05$) decreased in the OVA/EA-sensitized and treated group, in comparison to the OVA-sensitized group. This implies that the use of the extract reduces tissue damage and edema in the lungs which is believed to be the cause of their increased weight. The leukocyte lineage was disrupted by the use of ovalbumin, showing an inflammatory state that is represented by a very highly significant ($p \leq 0.001$) increase in lymphocytes and granulocytes, in comparison with control rats. In addition, treatment with the aqueous extract has improved the inflammation by restoring lymphocyte levels to their normal values. OVA stimulation has induced a highly significant ($p \leq 0.01$) increase in the level of pro-inflammatory cytokines (IL-4) in the OVA-sensitized group at the level of BAL and lungs in comparison to the control group. The treatment with chamomile extract has significantly reduced IL-4 concentration in comparison to the control and OVA groups, respectively. The reduction in the concentration of IL-4 can be explained by a restoration of the balance between Th1 cytokines and Th2 cytokines (37). This has been suggested by several studies carried out on the bioactive molecules of plants such as flavonoids, which decrease the infiltration of inflammatory cells (25,38). It has been shown that Roman chamomile possesses alpha-bisabolol, alpha-bisabolol oxides A and B as well as matricin (usually converted to chamazulene) and other flavonoids, which possess anti-inflammatory properties. Other studies have shown that azulene compounds have anti-inflammatory and antioxidant properties (39,40), hence the need to study their effects on the oxidative stress generated by the inhalation of the allergen, which in turn contributes to the exacerbation of the bronchial inflammation (41).

Malondialdehyde (MDA) is an end product of lipid peroxidation of the cell membrane that is caused by free radicals derived from oxygen and which can generate an inflammatory reaction (42). The degree of OVA-induced inflammation can be assessed by the accumulation of MDA in the tissues, which determines lipid peroxidation level. In addition, ROS such as hydroxyl radicals, hydrogen peroxide and superoxide anion radicals deactivate antioxidant defense systems, and thus indirectly cause cell damage (43). The antioxidant enzymes SOD, GPx, GST and CAT can protect the cells by eliminating ROS.

Our study proved that *Chamaemelum nobile* extract maintains antioxidant defense systems and does not affect lipid peroxidation since there is no significant variation in the EA group compared to the control one. Sensitization by OVA showed a very high significant increase ($p \leq 0.001$) of MDA levels in the lungs and erythrocytes, and a very high significant decrease ($p \leq 0.001$) of the non-enzymatic antioxidant activity of reduced glutathione (GSH) which

represents one of the many antioxidant defenses which is a factor involved in the protection of various organs against the damages that are induced by oxidants during the inflammatory process (44). Its reduction is due to its high use by GST in the detoxification of H₂O₂ and the detoxification of active metabolites through the involvement of GPx.

Superoxide dismutase (SOD) is an essential antioxidant that functions as the first line of defense against oxidative stress which catalyzes the superoxide radical into hydrogen peroxide (45). Its decrease leads to impaired antioxidant defense which is a main event in the pathophysiology of hyperreactivity and remodeling, inducing apoptosis and shedding of airway epithelial cells (46). SOD can only work synergistically with the action of CAT and GPx by eliminating the excess hydrogen peroxide formed by it (47). We also noticed a very highly significant decrease ($p \leq 0.001$) in (GPx), (GST) and (CAT) in the lungs and erythrocytes were also observed.

GPx is a key antioxidant enzyme that regulates the level of ROS through its ability to reduce not only hydrogen peroxide but also (hydroperoxides resulting from the oxidation of unsaturated fatty acids) to water. This enzyme could protect cells against damage generated by foreign agents such as ovalbumin (48). According to several authors, the conjugation of GSH to antigenic peptides could be the major pathway for their elimination. It is therefore assumed that glutathione was used for the elimination and detoxification of the administered allergen, which led to a drop in the latter's levels (49).

Treatment with the aqueous extract of chamomile significantly reduces ($p \leq 0.05$) lipid peroxidation and very significantly increases ($p \leq 0.01$) the activity of SOD, GPx, GST and CAT. This may be due to the protective effects of antioxidant molecules, present in the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* such as phenolic compounds (flavonoids). The latter has the ability to scavenge free radicals and protect cells against oxidative stress (Kandasamy et al. (50) speculate that the antiasthmatic activity of flavonoids is likely due to inhibition of the transcription factor NF- κ B. Indeed, several other studies have reported the beneficial effect of phenolic compounds on asthmatic symptoms. They reported that the antioxidant activity of polyphenols is related to their ability to chelate ions and remove ROS (51). Therefore, the healing properties anti-inflammatory and antioxidant return to the aqueous extract of chamomile. (52). These properties protect organs and tissues from membrane damage caused by free radicals (53).

At the microscopic level, the damages that are induced by ovalbumin translate into an inflammation that is represented by vascular congestion with hemorrhagic suffusions and an inflammatory lymphoplasmacytic infiltrate of moderate density around the bronchioles. The use of the aqueous extract moderately reduced alveolar edema indicating its efficacy in the treatment of inflammation.

Conclusion

The results of the present study confirm the therapeutic potential of the aqueous extract of chamomile against the pathogenesis of the asthmatic inflammatory process. Our results revealed that the administration of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* reduces the tissue damage of the lungs that is observed on histological sections

and also attenuates the harmful effects of oxidative stress by reducing lipid peroxidation, keeping the levels of enzymatic and non-enzymatic defense system antioxidants close to normal, and by decreasing the level of pro-inflammatory cytokines (IL-4), which are responsible for tissue damages. This plant could be a promising alternative in the treatment of allergic asthma.

Acknowledgments

The present work was supported by DGRSDT (General Directorate of Scientific Research and Technological Development, Algeria).

Conflict of interest

Authors reported no conflict of interest.

References

1. Rahmani S, Belboukhari N, Sekkoum Kh, Cheriti A. Evaluation of the Anti-inflammatory Activity of Aqueous Extracts of *Limnium Feei* (plumbaginacea) Leaves. Alger J Arid Environ. 2016; 6(1): 80-86
2. Ashley N T, Weil Z M, & Nelson R J. Inflammation : Mechanisms, Costs, and Natural Variation. Annu Rev Ecol Evol Syst. 2012; 43(1): 385–386. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-040212-092530>
3. Global Initiative for Asthma (G.I.N.A.). Global Strategy for Asthma Management and prevention. 2012. GINA report available on: <http://www.ginasthma.org>
4. Ninave PB, Patil SD. Antiasthmatic potential of *Zizyphus jujuba Mill* and Jujuboside B.possible role in the treatment of asthma. RESPNB. 2019; 260: 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2018.12.001>
5. Sadatsafavi M, McTaggart-Cowan H, Chen W, Mark FitzGerald J. Quality of Life and Asthma Symptom Control: Room for Improvement in Care and Measurement. Value in Health 2015; 18, 1043–1049. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2015.07.008>
6. Dellai A, Souissi H, Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N. Anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus L.* leaves extracts. Ind. Crops Prod 2013; (49): 879-882 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.010>
7. Ghaedi M, Naghiha R, Jannesar R, Dehghanian N, Mirtamizdoust B, Pezeshkpour V. Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urtica dioica*, *Chamaemelum nobile* and *Salvia officinalis*: Effects of Zn [OH]₂ nanoparticles and Hp-2-minh on their property. J Ind Eng Chem 2015; (32): 353-359. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.09.007>
8. Gong N, Huang Q, Chen Y, Xu M, Ma S, Wang Y. Pain assessment using the rat and mouse for Formalin tests. Neuroscience. J Neurosci 2014; 4(21): <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1288>
9. Tvarijonavičiute A, Aznar-Cayueta C, Rubio CP, Tecles F, Ceron JJ, López-Jorne P. Salivary Antioxidant Status in Patients with Oral Lichen Planus: Correlation with Clinical Signs and Evolution during Treatment with *Chamaemelum nobile*. Biomed Res Int 2018; 1–5. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/5187549>
10. Berroukche A, Benregueig M, Terras M, Fares S, Dellaoui H, Lansari W, et al. Antibacterial effects of *Prunus cerasus* and *Chamaemelum nobile* against drug resistant strains induced urinary disorders. East African Scholars J Med Sci 2018; 1(2): 26-31
11. Hemmati AA, Jalali A, Keshavarz P. Effect of Chamomile Hydroalcoholic Extract on Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Rat. National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease. Tanaffos, Iran. 2018; 17(4): 264-271

12. Tainá D, Oliveira, Nayara S, Duarte, Evandro L. Effect of Roman chamomile essential oil (*Chamaemelum nobile*) in the treatment of Vulgar psoriasis: case report Campinas. Journal of Scientific Initiation Works at UNICAMP, Campinas, SP, n.27, Oct. 2019; <https://doi.org/10.20396/revpibic2720191583>
13. Al-Snafi A E. Medical importance of *Anthemis nobilis* (*Chamaemelum nobile*). AJPST. 2016; 6: 89-95. www.ajpst.com
14. Zemmouri H, Sekiou O, Ammar S, El Feki A, Messarah M, Boumendjel A. *Urtica dioica* attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. Pharm Biol 2017; (55): 1561-1568. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1310905>
15. Khaldi T, Chekchaki N, Boumendjel M, Taibi F, Abdellaoui M, Messarah M, et al. 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). 2018; 46 (5): 472-481. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.02.005>
16. Eddouks M, Lemhadri A, Zeggwagh N A, Michel J B. Potent hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes Res. Clin. Pract. diabetes res clin pr. 2005; 67(3), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.07.015>
17. Khaldi T, Chekchaki N, Rouibah Z, Chouala K, Cheniti , Boumendjel M, et al. 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. Toxicol Environ Health Sci 2022; <https://doi.org/10.1007/s13530-022-00142-9>
18. Moerloose KB, Pauwels RA, Joos G F. Short-Term Cigarette Smoke Exposure Enhances Allergic Airway Inflammation in Mice. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172(2): 168. <https://doi.org/10.1164/rccm.200409-1174OC>
19. Chekchaki N, Khaldi T, Rouibah Z, Rouag M, Sekiou O, Messarah M, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of two extracts from *Pistacia lentiscus* in liver and erythrocytes, in an experimental model of asthma. Int J Pharm Sci Rev Res 2017; 42: 77-84.
20. Rouag M, Berrouague S, Djaber N, Khaldi T, Boumendjel M, Taibi F, et al. Pumpkin seed oil alleviates oxidative stress and liver damage induced by sodium nitrate in adult rats: biochemical and histological approach. Afr Health Sci 2020; (20): 413-425. <https://dx.doi.org/10.4314/ahs.v20i1.48>
21. Ting SM, Zhao X, Zheng X, Aronowski J. Excitatory pathway engaging glutamate, calcineurin, and NFAT upregulates IL-4 in ischemic neurons to polarize microglia. J. Cerebr. Blood Flow Metab. J Cerebr Blood F Met 2020; 40(3). <https://dx.doi.org/10.1177/0271678X19838189>
22. Djaber N, Ounaceur L S, Moubine B N, Khaldi T, Rouag M, Berrouague S, et al. Roundup-induced biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of rats: the ameliorative effects of *Linum usitatissimum* oil. Acta Biochimica Polonica 2020; https://doi.org/10.18388/abp.2020_2898
23. Djaber N, Khelef Y, Ounaceur L S, Moubine B N, Rouag M, Berrouague S, et al. Oxidative stress induced by Roundup in rat liver and brain: attenuation by zinc sulfate. Comp. Clin Path. 2022; <https://doi.org/10.1007/s00580-022-03327-3>
24. Sekiou O, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A & Messarah M. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia herba alba* aqueous extract on hyperlipidemia and oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats. Arch Physiol Biochem 2018; <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1443470>
25. Amraoui W, Adjabi N, Bououza F, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A, et al. Modulatory Role of Selenium and Vitamin E, Natural Antioxidants, against Bisphenol A-Induced Oxidative Stress in Wistar Albino Rats. Original Article. Toxicol Res 2018; 34(3): 231-239. <https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.3.231>
26. Slama K, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A, Messarah M. Atriplex halimus aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. Arch Physiol Biochem.2018; <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1489852>
27. Berrouague S, Rouag M, Khaldi T, Boumendjel A, Boumendjel M, Taibi F, et al. Efficacy of *Allium sativum* oil to alleviate tebuconazol-induced oxidative stress in the liver of adult rats. CMB. 2019 <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2019.65.8.5>
28. Boumendjel A, Tawk L, Malefijt Rde W, Boulay V, Yssel H, Pène J. IL-27 induces the production of IgG1 by human B cells. Eur. Cytokine Netw.2006; 17:281-289. <https://www.jle.com/10.1684/ecn.2006.0045>
29. Zhang L, Yi H. An exopolysaccharide from *Bacillus subtilis* alleviates airway inflammatory responses via the NF-κB and STAT6 pathways in asthmatic mice. Biosci Rep 2022; <https://doi.org/10.1042/BSR20212461>
30. Maruthamuthu V, Henry LJK, Ramar MK, Kandasamy R. Myxopyrum serratum ameliorates airway inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and OVA-induced murine model of allergic asthma. J Ethnopharmacol 2020; <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112369>
31. Kandharea AD, Bodhankara SL, Singha V, Mohanb V, Thakurdesaib P A. Anti-asthmatic effects of type-A procyanidine polyphenols from *cinnamon bark* in ovalbumin-induced airway hyperresponsiveness in laboratory animals. Biomed Aging Pathol 2013;(3): 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2013.01.003>
32. Raeeszadeh, P, Mortazavi, R, Atashin-Sadafi. The Antioxidant, Anti-Inflammatory, Pathological, and Behavioural Effects of *Medicago sativa* L. (*Alfalfa*) Extract on Brain Injury Caused by Nicotine in Male Rats. Hindawi eCAM. 2021;(5): 6694629. <https://doi.org/10.1155/2021/6694629>
33. Aremu OO, Tata CM, Sewani-Rusike CR, Oyediji AO, Oyediji OO, Nkeh-Chungag BN. Phytochemical composition, and analgesic and anti-inflammatory properties of essential oil of *Chamaemelum nobile* (Asteraceae L All) in rodents, Trop J Pharm Res 2018; 17 (10): 1939-45 <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v17i10.7>
34. Al-Jawad FH, Al-Razzuqi RAM, Hashim HM, Ismael AH. Broncho-relaxant activity of *Nigella sativa* versus *Anthemis nobilis* chronic bronchial asthma; a comparative study of efficacy. IOSR J Pharm 2012; 2(4): 81-3 <http://dx.doi.org/10.9790/3013-24208183>
35. Zargar AA, Zangeneh ZF. Effect of camomile (*Anthemis nobilis*) aqueous-alcoholic extract on female rats estrogen hormone (polycystic ovary model). Iranian Congress of Physiology and Pharmacology. 2007;18, 26-30
36. Mauser PJ, House A, Jones H, Correll C, Boyce C, Chapman RW. Pharmacological characterization of the late phase reduction in lung functions and correlations with microvascular leakage and lung edema in allergen-challenged Brown Norway rats. Pulm Pharmacol Ther. 2013; 26(6): 677-684. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2013.03.005>
37. N Yang, Y Shang. Ferrostatin-1 and 3-Methyladenine Ameliorate Ferroptosis in OVA-Induced Asthma Model and in IL-13-Challenged BEAS-2B Cells. Hindawi. Oxid. Med. Cell. Longev. Oxid Med Cell Longev. 2022; <https://doi.org/10.1155/2022/9657933>
38. Sarecka-Hujar B , Szulc-Musioł B. Herbal Medicines. Herbal Medicines-Are They Effective and Safe during Pregnancy? Pharmaceutics. 2022; (14): 171. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010171>
39. Ma D, He J, He D. Chamazulene reverses osteoarthritic inflammation through regulation of matrix metalloproteinases (MMPs)

- and NF- κ B pathway in in-vitro and in-vivo models. *Biosci. Biotechnol Biochem* 2019 <https://doi.org/10.1080/09168451.2019.1682511>
40. Arora P, Shiveena B, Garg M, Kumari S, Goyal A. Curative Potency of Medicinal Plants in Management of Eczema. A conservative Approach. *J Phytomed Plus* 2022; (2). <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100256>
 41. Chatterji A, Banerjee D, Billiar TR, Sengupta R. Understanding the role of S-nitrosylation/nitrosative stress in inflammation and the role of cellular denitrosylases in inflammation modulation: Implications in health and diseases. *Free Radic Biol Med* 2021; 172:604–621. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.015>
 42. Masini E, Giannini L, Nistri S, Cinci L, Mastroianni R, Xu W, et al. Ceramide: a Key Signaling Molecule in a Guinea Pig Model of Allergic Asthmatic Response and Airway Inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324 (2): 548–557 <https://doi.org/10.1124/jpet.107.131565>
 43. Chao PC, Hsu CC, Yin MC. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. *Nutr Metab* 2009; 6(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-6-33>
 44. Das S, Langthasa P, Barhoi D, Upadhaya P, Giri S. Effect of Nutritional Status on Arsenic and Smokeless Tobacco Induced Genotoxicity, Sperm Abnormality and Oxidative Stress in Mice In Vivo. *Environ. Mol Mutagen* 2018; (5): 386-400. <http://dx.doi.org/10.1002/em.22188>
 45. Fattman C, Schaefer L, Oury T. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(3): 236–256. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00275-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00275-2)
 46. Almohawes Z N, & Alruhaimi H S. Effect of *Lavandula dentata* extract on Ovalbumin-induced Asthma in Male Guinea Pigs. *Braz J Biol* 2019; 80(1): 87-96. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.191485>
 47. Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi H N. Reduced antioxidant status for prolonged period due to repeated stress exposure in rat. *J Stress Physiol Biochem* 2011; 7 (2): 139-47
 48. Bano T, Kumar N, Dudhe R. Free radical scavenging properties of pyrimidine derivatives. *Bioorganic Med Chem. Lett.* 2012; 2(1): 34
 49. Misso N L, Brooks-Wildhaber J, Ray S, Vally H, Thompson P J. Plasma concentrations of dietary and nondietary antioxidants are low in severe asthma. *Eur Respir J* 2005; 26(2): 257-264. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.05.00006705>
 50. kandasamy RGR, Helleman SS, Mohapatra RF, Lockey A. Flavonoid Rich Alcoholic Extract of Leaves of *Achyranthes Aspera* Reduces Inflammation in a Murine Model of Ova- Induced Asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2012; 129, AB78.
 51. Ahmad S, Ahsan-ul-Haq, Yousaf M, Kamran Z I, Ata-ur-Rehman, Sohail M U et al. Effect of feeding whole linseed as a source of polyunsaturated fatty acids on performance and egg characteristics of laying hens kept at high ambient temperature. *Braz J Poult Sci* 2013; (15):1. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2013000100004>
 52. Bhattacharjee S, Chakraborty K. Therapeutic and ethnopharmacological role of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) And its holistic impact on genomics - a comprehensive review. *World J Pharm Res* 2022; <http://dx.doi.org/10.20959/wjpr20222-22910>
 53. Jabri M A, Aissani N, Tounsi H, Sakly M, Marzouki L, et al. Protective effect of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract against alcohol-induced injury in rat gastric mucosa. *Pathophysiol* 2017; 24(1): 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2016.11.001>