

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire/ Immunologie Approfondie

Département : Biologie

**Thème : contribution à l'évaluation de l'efficacité immunologique
des compléments alimentaires chez un model biologique : *Mus
musculus***

Présenté par :

HASNI Amira

TAOUTAOU Sara

Devant le jury composé de :

Président : W. ABDAOUI	MAA	Université de Guelma
Examineur : S. KAIDI	MAA	Université de Guelma
Encadreur : M. AOUISSI CHERAIRIA	MCB	Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements

En premier lieu, nous remercions dieu tout puissant qui nous a donné la force de mener a terme ce travail.

*Nous tenons à exprimer notre profond attachement, notre gratitude et notre sincère reconnaissance à madame **M. Aouissi Cherairia** maître de conférences au département de biologie, université de Guelma et encadreur de notre modeste travail pour ses conseils bénéfiques et discussion scientifique, sa compétence et sa grande patience qui ont permis de mener à bien ce travail.*

Nos cordials remerciements vont aux membres du jury :

*A madame **W. Abdaoui** maître assistante de département des sciences de la nature et de la vie, université de Guelma Pour avoir accepté de présider ce jury, qu'elle trouve ici l'expression de notre hommage respectueux pour sa gentillesse et ses conseils.*

*A madame **S. Kaïdi** maître assistante de département des sciences de la nature et de la vie, université de Guelma, Nos tenons à lui exprimer nos plus chaleureux remerciements pour avoir accepté de participer de juger ce travail.*

*Nos remerciements vont également toute personne qui nous a aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail et a leurs tête docteur **Yakhleffe** médecin chef de service d'hématologie, docteur **Jahmi** médecin chef de service d'anatomie pathologique, monsieur **Abdaoui** directeur de ressources humaine de l'hôpital Ibn Zohr et docteur **Bourdima** médecin généraliste pour leurs conseils pertinents et leurs soutien au cours de notre travail.*

*En fin le mérite de ce travail revient particulièrement a toutes les personnes qui ont participé a sa réalisation et aux quelles nous exprimons notre profonde reconnaissance plus particulièrement Mr. **Mahdi** ingénieur du laboratoire faculté des sciences de la nature et de la vie.*

Dédicace

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents Fatima et yazid

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mon frère et ma sœur Abdérahim et Rayane, pour leur aide, leur soutien moral et leur support tout au long de mes études.

A la famille Hasni et Bourdima.

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

A tous mes professeurs : Leur générosité et leur soutien m'oblige de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

A tous mes amis et mes collègues : ma sœur et ma copine Sara, Noor, Rania, Rima ,Lina , Asma , Michà, Anani ,Faiza Ils vont se trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie

Amira

Dédicace :

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce mémoire à :

A Ma tendre Mère Samia :Tu représentes pour moi la source de

Tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père Mourad : Aucune dédicace ne saurait exprimer

L'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

*A mes très chers frères et sœur Que j'adore : Oussama, Wassim,
Nounou*

A mes chers grands parents...que Dieu les protège !

*A mes très chère amis : Amira, Faiza, Mounira, imene, Soumia,
Loubna, imene et ilham.*

A tous les membres de ma promotion.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

Sara

Table des matières

Liste d'abréviation	
Liste de figures	
Introduction.....	2
Partie I : revue bibliographique	
1. Généralités sur le système immunitaire	5
1.1. Composants du système immunitaire	5
1.1.1. Cellules du système immunitaire	5
1.1.2. Ligné myéloïde.....	6
1.1.3. Lignée lymphoïde.....	7
1.2. Organes et tissus lymphoïdes.....	7
1.2.1. Organes lymphoïdes primaires.....	8
1.2.2. Organes lymphoïdes secondaires.....	9
1.3. Substances du système immunitaire.....	11
2. Notion sur l'immunomodulation.....	13
2.1. L'immunostimulation.....	13
2.2. L'immunosuppression.....	13
3. La phytothérapie.....	14
3.1. Définition de la phytothérapie.....	14
3.2. Branches phytothérapeutiques.....	14
3.3. Avantages de la phytothérapie.....	15
3.4. Limites et risques de la phytothérapie.....	15
4. le complément alimentaire.....	16
4.1. Composants de produit et leurs effets.....	16

4.1.1. <i>Negilla sativa</i>	16
4.1.2. <i>Viscum album</i>	18
4.1.3. <i>cucurbita pepo</i>	20
4.1.4. <i>Ginkgo biloba</i>	21
4.1.5. <i>Silybum marianum</i>	22
4.1.6. <i>Linum usitatissimum</i>	23
4.1.7. <i>Tribulus terrestris</i>	24
4.1.8. <i>Cynara scolymus</i>	26

Partie II : étude expérimentale

1. Matériel.....	29
1.1. Matériel biologique.....	29
1.2. Condition d'élevage.....	29
1.3. Produit utilisé.....	30
2. Méthodes.....	31
2.1. Protocole expérimental.....	31
2.2. Le traitement.....	32
2.3. Prélèvement sanguin.....	33
2.4. Prélèvement des macrophages péritonéaux.....	34
2.5. Prélèvement des organes lymphoïdes.....	35
2.6. Isolement des splénocytes.....	35
2.7. Isolement des thymocytes.....	36
2.8. Isolement des cellules ganglionnaires.....	37
2.9. Préparation des coupes histologiques.....	37
2.10. Etude statistique.....	38

3. Résultat et discussion.....	39
3.1. Variation du poids corporel des souris.....	39
3.2. Variation du poids des organes lymphoïdes.....	40
3.3. Variation du nombre des macrophages péritonéaux.....	41
3.4. Variation du nombre de splénocytes, thymocytes et les cellules ganglionnaires.....	42
3.5. Effet du traitement sur les cellules sanguines.....	43
3.5.1. Variation du nombre des leucocytes et des cellules lymphocytaires.....	43
3.5.2. Variation du nombre des plaquettes.....	45
3.6. Effet sur la structure histologique des différents organes lymphoïde	46
3.6.1. Thymus	46
3.6.2. Rate.....	46
3.6.3. Ganglions lymphatiques.....	47
Conclusion et perspectives.....	52
Résumé.....	54
Abstract.....	55
ملخص.....	56
Références bibliographiques.....	58
Annexes	

Listes des figures

Figures N°	Le titre de la figure	Page
Figure 1	Cellules du système immunitaire	06
Figure 2	Principaux organes lymphoïdes du corps humain	08
Figure 3	Structure de la moelle osseuse	08
Figure 4	Structure d'un lobe thymique	09
Figure 5	Structure de la rate	09
Figure 6	Structure d'un ganglion lymphatique	10
Figure 7	Tissu lymphoïde associé aux intestins	11
Figure 8	Structure des immunoglobulines	11
Figure 9	Le complément alimentaire « Holy Land »	16
Figure 10	Graine (a) et la fleur (b) de <i>N. sativa</i>	17
Figure 11	<i>Viscum album</i>	19
Figure 12	La citrouille et ses graines	20
Figure 13	Ginkgo biloba	21
Figure 14	<i>Silybum marianum</i>	22
Figure 15	<i>Linum usitatissimum</i>	24
Figure 16	<i>Tribulus terrestris</i>	25
Figure 17	<i>Cynara scolymus</i>	26
Figure 18	Matériel biologique (<i>Mus musculus</i>)	29
Figure 19	Conditions d'élevage des souris.	30
Figure 20	Produit utilisé « Immunomodulateur holy land »	30
Figure 21	Traitement par voie orale	32

Figure 22	Sacrifice d'une souris.	33
Figure 23	Récupération du sang	33
Figure 24	Récupération des macrophages péritonéaux	34
Figure 25	Isolement de la rate dans du PBS	36
Figure 26	Isolement de thymus dans du PBS	37
Figure 27	Isolement des ganglions lymphatique dans de la PBS	37
Figure 28	Variation du poids corporel des souris	39
Figure 29	variation du poids des organes lymphoïdes	40
Figure 30	Variation du nombre des macrophages péritonéaux	41
Figure 31	Variation du nombre des splénocytes, thymocytes et cellules du ganglion lymphatique	43
Figure 32	variation du nombre des lymphocytes et leucocytes	44
Figure 33	Variation du nombre des plaquettes	45
Figure 34	coupes histologiques du thymus chez les souris témoins et traitées	48
Figure 35	coupes histologiques de la rate chez les souris témoins et traitées	49
Figure 36	coupes histologiques des ganglions lymphatiques des souris témoins et traitées	50

Liste des abréviations

BALT : Tissus Lymphoïdes Associés à l'épithélium respiratoire

EDTA : Acide Ethylène Diamino Tétracétique

F : facteur de dilution

FNS : Formule Numérique Sanguine

GALT : Tissus lymphoïdes secondaire associés au tractus digestif

IgE : immunoglobuline E

INF : interférons

INF γ : interféron gamma

LB : lymphocytes B

LT : lymphocytes T

MALT : Tissus lymphoïdes associé aux muqueuses

NK : Natural Killer

OMS : organisation mondiale de la santé

PBS : Phosphate Buffer Sheath

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

T : témoin

T1 : souris traitée par la dose 1

T2 : souris traitée par la dose 2

TCD 4 : lymphocytes T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire)

TCD8 : lymphocytes T porteur du marqueur membranaire CD8(T cytotoxique)

TCR : récepteur de la cellule T

V : volume



Introduction

Introduction :

Depuis des milliers d'années, les humains ont utilisés diverses plantes trouvées dans leurs environnements dans le but de traiter certaines maladies, ces plantes sont constituées de divers composants qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques (Zeghad, 2009).

La phytothérapie est une thérapie médicale qui utilise les plantes pour élaborer des remèdes destinés à améliorer le bien-être général et à soigner.

L'organisation mondiale de la santé estime que 80 % de la population mondiale a toujours recours à la médecine traditionnelle en matière de soins de santé primaire (Bérubé, 2006).

L'assemblée nationale de la santé a également demandé instamment aux états membres de procéder à une évaluation complète de leurs système traditionnels de médecine et de procéder une évaluation préclinique et clinique des plantes médicinales utilisée par la population mais aussi de prendre des mesures pour contrôler les produits à base de plantes médicinales dont les rapports efficacité/effet secondaire est satisfaisant et devant être inclus dans le formulaire ou la pharmacopée nationaux (OMS, 1998).

A cause des difficultés économiques que connaissent les pays en voie de développement, leurs population n'ont pas toujours accès aux produits pharmaceutiques, par conséquent ils ont de plus en plus recours aux médicaments à base de plantes (Mankele et *al.*, 2006).

En Algérie, les magasins spécialisés dans la vente des plantes médicinales sont devenus de plus en plus nombreux. En effet les chiffres du centre national du registre de commerce montrent qu'à la fin de 2009 ; 1926 vendeurs spécialisé dans la vente de produits à base de plantes médicinales (Chabbi et Hadjadj, 2014).

Parmi ces produits parapharmaceutiques il existe un complément alimentaire naturel dit Holy land qui est connu par son activité immunomodulatrice grâce à ses constituants tels que *Negilla sativa*, *Viscum album*, *Cucurbita pepo* et *Ginkgo biloba*.

Selon la notice ces composants permettent de renforcer les fonctions cérébrales, protéger contre les différentes affections hépatiques mais aussi de limiter l'inflammation en contrôlant les réactions du système immunitaire (immunomodulateur) vu que ce dernier est un élément complexe dans ces composants et ses fonctions qui aide notre corps pour lutter

contre les microorganismes (virus, bactéries, parasites...) mais également d'éliminer ou négliger les cellules qui changent d'identité comme les cellules tumorales.

Dans notre société actuelle, un nombre important et affreux de citoyens fréquente des sites internet et commerces spécialisés dans la vente de recettes thérapeutiques à base de plantes tels que les compléments alimentaires, produits diététiques ou encore produits cosmétiques, une utilisation empirique qui apparaît comme réponse idéale de leur problèmes sanitaires sans pour autant se soucier de leurs effets nocives probables sur leur santé.

Ainsi le but de ce travail est de tester l'effet de ce complément alimentaire sur le système immunitaire afin de confirmer ou infirmer son efficacité présumée.

Nos recherches sont structurées en 2 parties, une partie bibliographique suivie d'une autre expérimentale. Dans la première partie nous allons essayer de donner un aperçu sur le système immunitaire et ses composants, les immunomodulateurs, la phytothérapie ainsi que le produit utilisé mais aussi ses effets sur le système immunitaire sont exposés.

La partie expérimentale commence par une présentation détaillée du matériel et méthodes utilisées dans notre expérience et se poursuit par une discussion des résultats obtenus. Notre manuscrit se termine par une conclusion et perspectives de recherche.



*Partie I : Revue
bibliographique*

1. Généralités sur le système immunitaire :

L'organisme humain est en contact permanent avec des particules étrangères (virus, parasite, bactérie et champignon), ce corps fabrique chaque jour des millions de cellules dont certaines anormales doivent être détruites par un système de défense anti cellulaire fiable. Grâce au système immunitaire, le corps humain peut lutter et se défendre correctement contre ces particules et cellules anormales, les mécanismes défensifs sont très variés ils vont de la simple destruction de l'agent infectieux par phagocytose (immunité non spécifique) à la fabrication d'anticorps spécifiques (immunité cellulaire) ou à la formation de cellules tueuses (immunité anti tumoral) capable de lyser une cellule cancéreuse ou infecté par un microbe (Pebret, 2003).

Une des clefs du bon fonctionnement du système immunitaire est la capacité de distinction entre les constituant normaux de l'organisme (le soi) et les agents pathogènes (le non soi) ou les constituants altérés de l'organisme (le soi modifié) qui doivent être éliminés (Revillard, 2001).

1.1. Composants du système immunitaire :

1.1.1. Cellules du système immunitaire :

Toutes les cellules qui circulent dans le sang proviennent d'un précurseur commun présent dans la moelle osseuse, ce précurseur pluripotent est appelé **cellule souche hématopoïétique**. Au cours de leur processus de maturation apparaissent deux types de cellules à potentiel limité : le premier type est appelé **précurseurs myéloïde**, le deuxième est dit **précurseur lymphoïdes** (Parham, 2003).

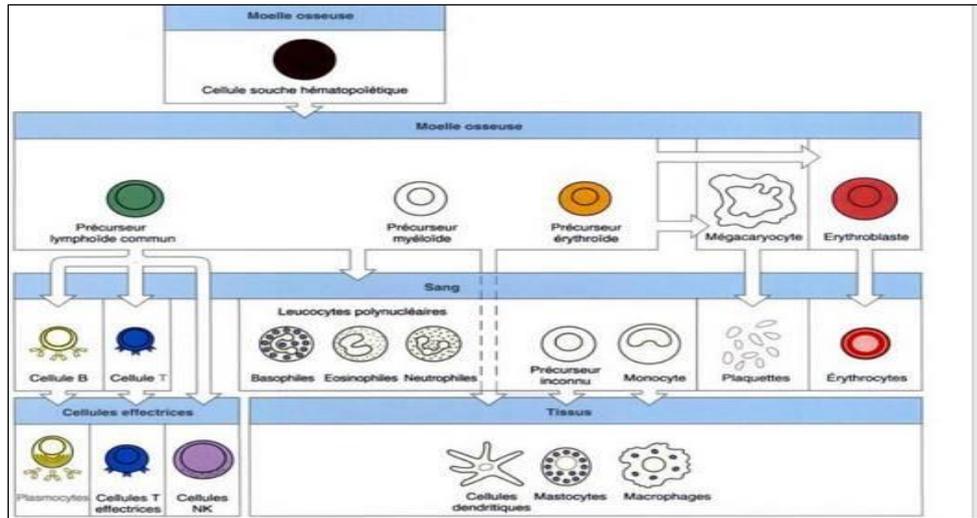


Figure 1 : Cellules du système immunitaire (Parham, 2003).

1.1.2. Ligné myéloïde :

a. Les monocytes : Ce sont des cellules immunitaires effectrices qui ont la propriété de migrer dans les tissus enflammés grâce à des récepteurs aux chimiokines et à des molécules d'adhésions. Ils peuvent également sécréter les cytokines et capter les débris cellulaires ou les molécules toxiques. Les monocytes ont également la propriété de se différencier en macrophages et en cellules dendritiques (Bellard-Lesserre, 2011).

b. Les granulocytes : Ce sont des cellules myéloïdes subdivisées en 3 types : les neutrophiles, éosinophiles et basophiles qui ont tous une forme un peu près sphérique et un noyau cellulaire de forme irrégulière multilobés (Marieb et *al.*, 2015). Elles sont appelées ainsi à cause de leurs granules cytoplasmiques qui contiennent des substances biologiquement actives capables de tuer les microorganismes et de stimuler les processus inflammatoires (Parham, 2003).

c. Les mastocytes : C'est une cellule de tissu conjonctif possédant de nombreux granules intracytoplasmiques. Les mastocytes semblent exercer de nombreux rôles par l'intermédiaire des substances solubles contenues dans leurs grains, en particulier l'histamine, ils jouent notamment un rôle dans l'hypersensibilité immédiate et constituent les principaux acteurs de l'immunité innée et adaptative (Boukhari, 2011).

1.1.3. Lignée lymphoïde :

a. Les lymphocytes B : ils constituent approximativement 5 à 10% des lymphocytes du sang circulant chez l'homme. Les LB assurent l'immunité humorale due à la présence d'anticorps spécifiques et transférables, leurs fonction ne se réduit cependant pas à la seule production d'immunoglobuline. Ce sont en effet des cellules capables de présenter aux cellules T l'antigène qu'elles ont internalisé pour leurs récepteurs spécifiques (Chatenoud et Bach, 2012).

b. Les lymphocytes T : Ils représentent 75% des cellules lymphoïdes circulantes dont la différenciation s'effectue dans le thymus, ils expriment ensuite leurs récepteurs pour l'antigène (TCR) et se différencient en sous population principale TCD4 et TCD8. Le rôle essentiel des cellules T est de reconnaître les antigènes provenant de l'intérieur de cellules de l'hôte (Male, 2005).

c. Les cellules NK : Ce sont de grands lymphocytes qui circulent dans le sang et sont capables de détruire une grande variété de cellules cibles en utilisant des mécanismes similaires à ceux utilisés par les cellules T cytotoxiques. Étant contribuent majoritairement à l'immunité innée contre les infections ultérieurs et migrent depuis le flux sanguin vers le tissu infecté en réponse aux cytokines (Parham, 2003).

1.2. Organes et tissus lymphoïdes :

Les tissus du système immunitaire sont composés d'une part, d'organes lymphoïdes primaires(ou centraux) dans lesquels s'effectue la maturation des lymphocytes T et B qui deviennent alors compétentes pour répondre aux antigènes, et d'autre part des organes lymphoïdes périphériques(ou secondaires) dans lesquels les réponses de l'immunité adaptative contre les microbes se développent (Abbas et Lichtman, 2013).

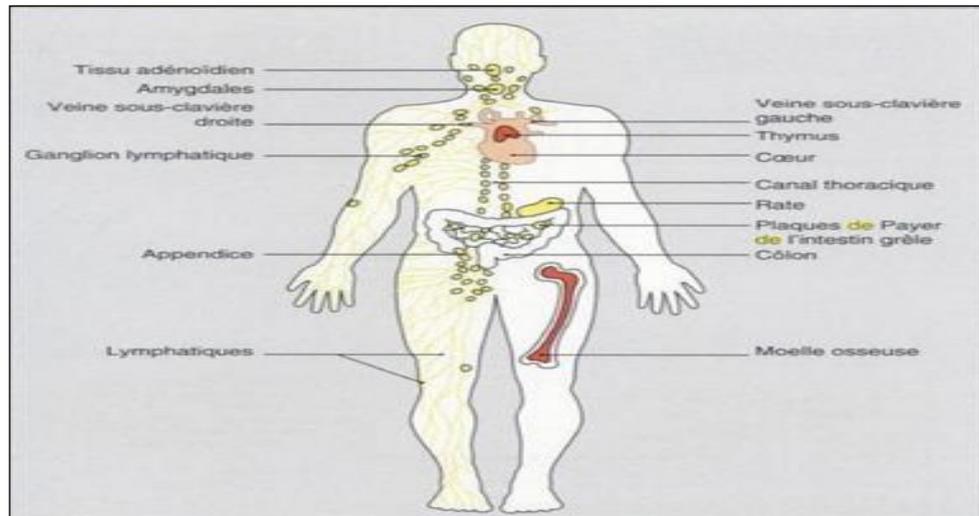


Figure 2 : Principaux organes lymphoïdes du corps humain (Parham, 2003).

1.2.1. Organes lymphoïdes primaires :

a. Moelle osseuse : C'est un organe hématopoïétique où on trouve toutes les lignées sanguines. Elle se loge dans l'espace libre des os, et constitue le site de différenciation des lymphocytes B (Chatenoud et Bach, 2012). Par ailleurs, la moelle osseuse est le principal tissu contenant les plasmocytes qui synthétisent les immunoglobulines (Revillard, 2001).

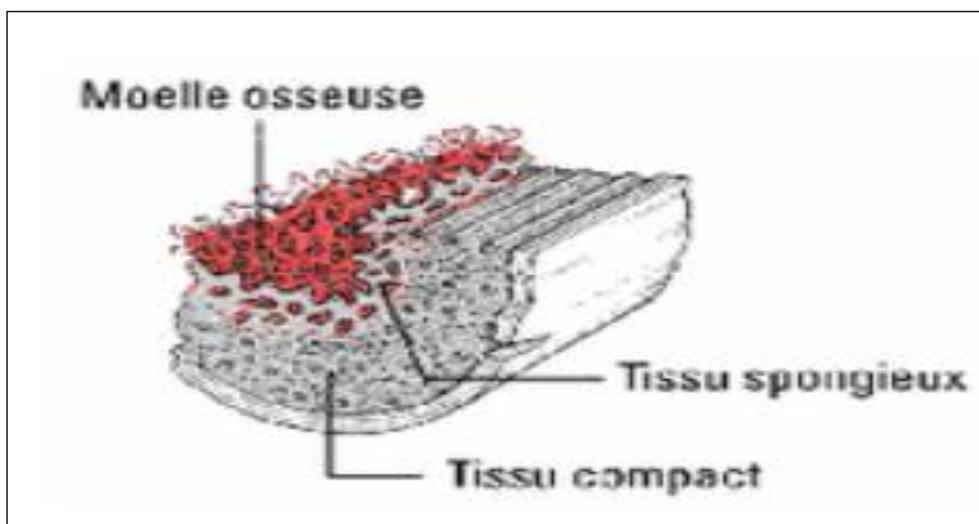


Figure 3 : Structure de la moelle osseuse [1]

b. Le thymus : C'est un organe essentiel pour la différenciation et de la maturation fonctionnelle des lymphocytes T (Pezutto *et al.*, 2000). Il est formé de deux lobes entourés

d'une fine capsule de tissu conjonctif dont chacun comprend un cortex et une zone modulaire (Male, 2005).

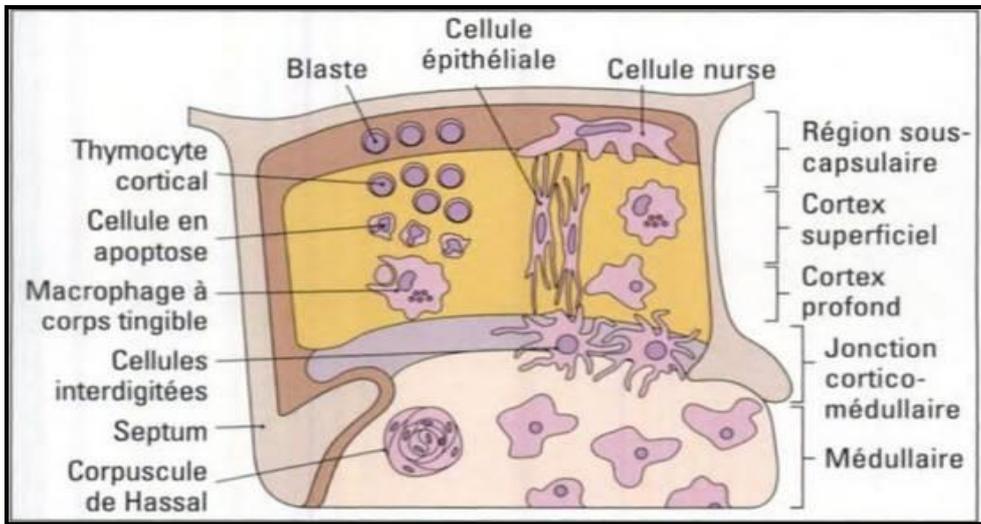


Figure 4 : Structure d'un lobe thymique (Male, 2005).

1.2.2. Organes lymphoïdes secondaires :

a. La rate : C'est l'organe lymphoïde chargé de filtrer le sang mais aussi d'éliminer les globules rouges endommagés ou vieillissants. Il joue aussi le rôle d'organes lymphoïdes (Parham, 2003).

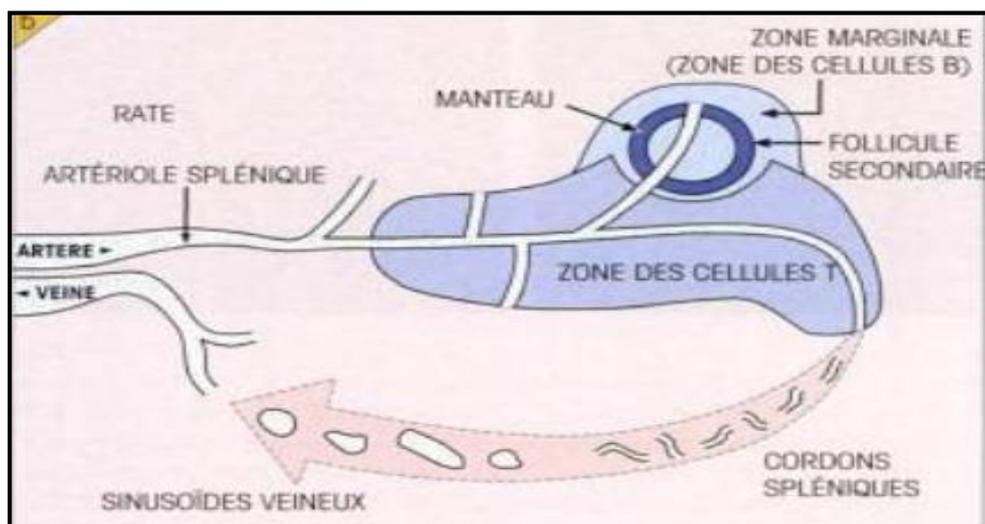


Figure 5 : Structure de la rate (Peter et al., 2008).

b. Les ganglions lymphatiques : Ce sont des agrégats nodulaires de tissu lymphoïdes situés le long des voies lymphatiques qui traversent l'organisme (Abbas et Lichtman, 2013). Et ayant une double fonction d'exclusion de pathogènes et de site de développement des réponses immunitaires spécifiques (Revillard, 2001).

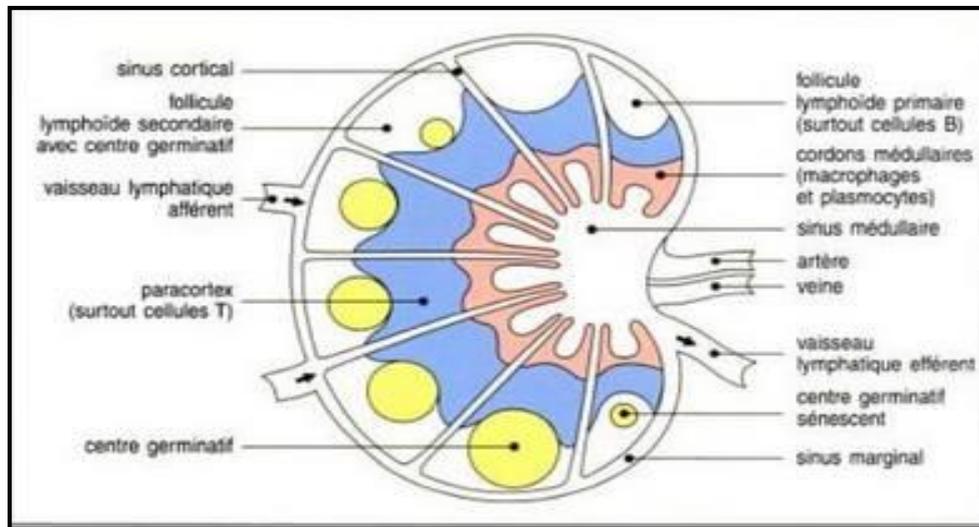


Figure 6 : Structure d'un ganglion lymphatique (Janeway et *al.*, 2009).

c. Tissu lymphoïde associé aux muqueuses : les muqueuses qui abordent le système digestif, respiratoire et urogénital, représentent les principaux sites d'entrée pour la plupart des pathogènes. Ses sites membranaires vulnérables sont défendus par un groupe de tissus lymphoïdes organisés connus sous le nom de tissu lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT), les tissus lymphoïdes secondaires associés à l'épithélium respiratoire (BLAT) et les tissus lymphoïdes secondaires associés aux intestins. L'importance fonctionnelle des MALT dans la défense de l'organisme est prouvée par sa grande population de plasmocytes producteurs d'anticorps (Kindt et *al.*, 2007).

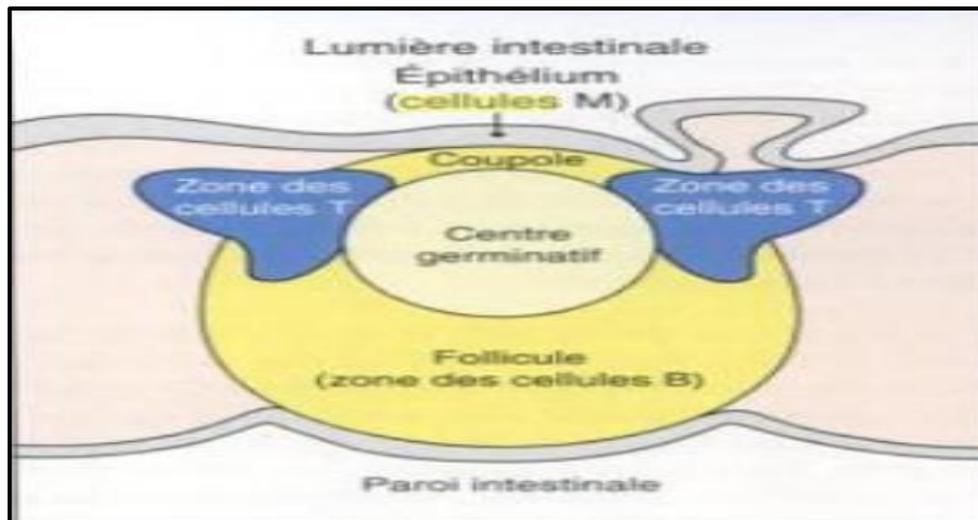


Figure 7 : Tissu lymphoïde associé aux intestins (Parham, 2003).

1.3. Substances du système immunitaire :

a. Anticorps : Ceux sont des glycoprotéines composés de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères identiques réunies entre elle par les ponts disulfures, furent appelé les immunoglobulines, Les immunoglobulines sont les récepteurs de l'antigène des cellules B, elles sont exprimées à la surface de cellule mature et produites et sécrétées dans le sang par les plasmocytes (Pezulto et *al.*, 2000).

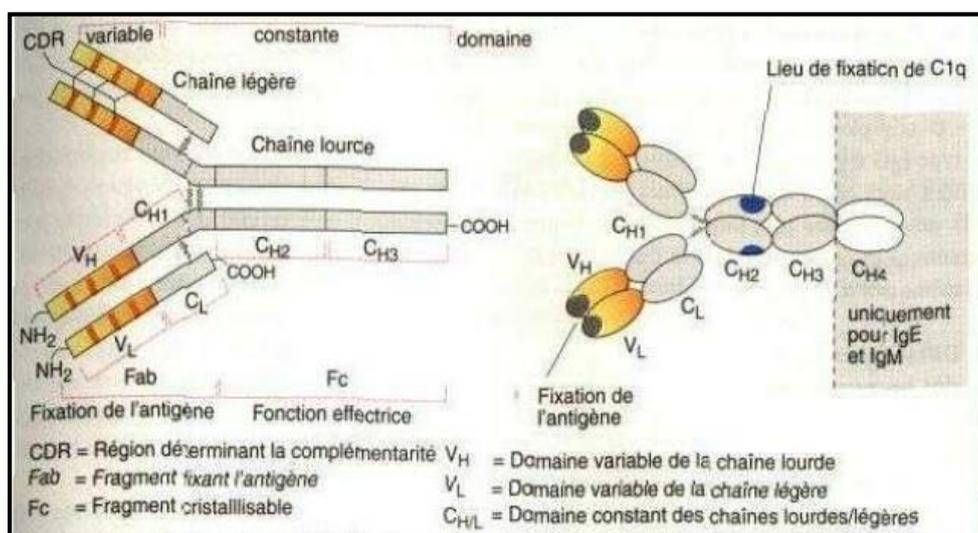


Figure8 : Structure des immunoglobulines (Pezutto et *al.*, 2000).

b. Complément : Le complément est le principal constituant de l'immunité naturelle et humorale et l'un des éléments importants de la réaction immunitaire survenant à la suite de l'action d'anticorps (Homberg, 1999).

En effet, le système du complément assure le mécanisme de défense contre les infections apparues très tôt dans l'évolution. Il intervient dans la destruction des agents infectieux dans l'homéostasie cellulaire mais aussi dans le contrôle de la réponse inflammatoire et la modulation de la réponse immune spécifique. Il est composé par un ensemble de protéines circulantes dans le plasma, principalement synthétisés par le foie, et de récepteurs membranaires présents à la surface de nombreuses cellules (Chatenoude et Bach, 2012).

c. Cytokines : Ceux sont des protéines solubles qui servent de médiateurs dans les réactions immunitaires et inflammatoires, toutes les cytokines sont sécrétés en petites quantité en réponse à un stimulus externe et se lient à des récepteurs de haute affinité sur les cellules cibles (Abbas et Lichtman, 2013). La plus part des cytokines agissent sur les cellules qui les produisent (activité autocrine) ou sur les cellules adjacentes (activité paracrine). (Eyquem et *al.*, 2000).

2. Notion sur l'immunomodulation :

C'est le processus de la régulation de la réponse immunitaire d'une manière positive ou négative (Saroj et *al.*, 2012). Les immunomodulateurs sont des substances qui modifient par inhibition ou stimulation la fonction immunitaire, d'où la notion d'immunostimulation et immunosuppression (Pebret, 2003).

2.1. L'immunostimulation :

Les immunostimulants sont des composés qui modifient la réponse immune habituellement en l'intensifiant. Ce groupe comprend des produits bactériens, des composés chimiques comme les cytokines ainsi que les adjuvants qui sont administrés simultanément avec l'antigène. Certaines de ces substances ont été utilisées afin de potentialiser les réactions du système immunitaire chez les patients cancéreux ou immunodéficients. La plupart des produits bactériens induisent la production de cytokines ou l'expression de molécules de costimulation sur les cellules présentant l'antigène (Male, 2005).

2.2. L'immunosuppression :

L'immunosuppression décrit l'ensemble des méthodes employées pour réduire l'efficacité de la réponse immune (Male, 2005). Les immunosuppresseurs regroupent plusieurs familles de substances ayant comme propriété de calmer le système immunitaire.

L'inhibition du système immunitaire se relève bénéfique dans plusieurs situations, par exemple pour empêcher le corps de rejeter une greffe d'organe, mais également pour traiter des maladies rhumatologiques (arthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé), des maladies digestives (maladie de Crohn) ou la maladie de greffon contre l'hôte après transplantation de moelle osseuse ou de cellules-souches. Cependant, l'efficacité des immunosuppresseurs est limitée du fait de leur toxicité mais aussi leurs effets secondaires (Weill et Batteux, 2003).

3. La phytothérapie :

3.1. Définition de la phytothérapie :

La phytothérapie propose des préparations élaborées répondant à la définition du médicament et obtenues à partir de la matière végétal fraîche ou séchée (plante entière ou parties de plantes) ou après transformation de celles-ci par des méthodes de préparation, de concentration et de conservation relevant du domaine pharmaceutique. Elle sont utilisées sous diverses formes galéniques (Schnebelen et *al.*, 2006).

3.2. Branches phytothérapeutiques :

Il existe plusieurs formes de phytothérapie (Zeghad, 2009) :

- Plantes aromatiques :

C'est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes ou huiles essentielles qui sont secrétées par de nombreuses familles de plantes et qui constituent des produits complexes à utilisation cutanée.

- Gemmothérapie :

Elle se fonde sur l'utilisation d'extraits alcooliques de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.

- Herboristerie :

Elle correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne et se sert de la plante fraîche ou séchée en utilisant soit la plante entière soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples le plus souvent à base d'eau telles que la décoction, infusion, macération mais aussi peuvent exister sous formes plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

- Phytothérapie pharmaceutique :

Qui utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Présentent sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (Strang, 2006).

3.3. Avantages de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie continue toujours à offrir de multiples avantages.

En effet, aujourd'hui les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des Médicaments tels que les antibiotiques décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques et connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Iserin *et al.*, 2001).

3.4 Limites et risques de la phytothérapie :

La phytothérapie est souvent perçue comme une médecine douce, ne présentent aucun danger pour la santé. Désormais à la portée de tous, les produits à base de plantes sont largement présents sur internet, sur les marchés et dans divers magasins de bien-être. Or, les plantes médicinales peuvent, tout comme les médicaments, engendrer des effets indésirables et des intoxications peuvent même survenir dans certaines circonstances. De plus, des interactions peuvent se produire entre des plantes et des médicaments mais aussi entre elles (Amandine, 2014).

4. le complément alimentaire :

Selon sa notice, il s'agit d'un produit naturel et performant, commercialisé sous forme de capsules à base d'un mélange de plantes médicinales tels que : les graines de nigelle, les graines de lin, l'artichaut, le gui et les graines de citrouilles.

Ces plantes sont reconnues traditionnellement pour stimuler activement la vitalité générale et le système de défense de l'organisme en période de fatigue en cure saisonnière et en prévention comme un soutien actif. De nombreuses études ont montré que les composants de ce produit permettent à l'organisme de combattre les troubles de la mémoire, prévenir la rhinite allergique et lutter contre certains virus. Le complexe immunomodulateur Holy Land agit sur l'organisme le plus souvent de façon systémique et globale sans effets secondaire, il est conseillé aux adultes afin de renforcer les fonctions du système immunitaire et améliorer leurs défenses naturelles.



Figure 09 : Le complément alimentaire « Holy Land »

4.1. Composants de produit et leurs effets :

4.1.1. *Negilla sativa* :

La nigelle est une plante médicinale de la famille des renonculacées, largement utilisé en médecine traditionnelle à l'échelle du monde arabe et comme condiment alimentaire (Talbi et *al.*, 2014). C'est un remède naturel pour de nombreuses pathologies notamment pour le traitement de l'asthme, de l'inflammation, de la toux, de l'eczéma et des états grippaux (Boudjemaa et Benguegua, 2010).



Figure 10 : Graine (a) et la fleur (b) de *N. sativa* (Benhaddou, 2009)

- **Composition :**

N. sativaa bénéficie de nombreuses études phytochimiques qui ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides (environ 0,4 – 0,45% d'huile essentielle, plus de 30% d'huiles fixes et 38% de lipides totaux), des terpénoïdes, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines et la nigellone. Elle constitue aussi une importante source de protéines (21%) et de sels minéraux : phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium [2]

- **Propriétés pharmacologiques :**

- a. Effet sur le système immunitaire :**

En 1987, El-Kadi et Kandil publient la première étude sur le sujet ; ils ont montré que la graine de nigelle possède des propriétés immunomodulatrices *in vivo* sur les lymphocytes T, Plus tard d'autres études ont confirmé que la nigelle agissait à la fois sur l'immunité innée et acquise donc elle est capable d'intensifier la réponse immunitaire (Salem, 2005). Une autre étude a montré la diminution de la charge virale et une augmentation simultanée du taux sérique en IFN- γ et en cellules CD4⁺ a été observées après injection d'huile de nigelle chez une souris infectée par un cytomégalo virus. Les souris traitées ont dix fois moins de virus que celles non traitées (Salem et Hossain, 2000).

Les effets sur le système immunitaire ne sont pas élucidés totalement, cependant on attribue à la nigelle un rôle immunoprotecteur et des propriétés immunomodulatrices.

b. Effets anti allergiques :

Dans une étude clinique avec des patients allergiques, ayant comme symptômes une rhinite, une bronchite asthmatiforme ou un eczéma atopique, une diminution des polynucléaires éosinophiles, des IgE et du cortisol endogène plasmatique et urinaire a été observée après administration d'huile volatile de *N. sativa* (El-dakhakhny, 1965).

Aussi, La nigellone montre un effet anti-histaminique sur les mastocytes de cellules péritonéales de rats, en effet elle inhibe leurs dégranulation par l'inhibition de la protéine kinase C et en facilitant le transport extracellulaire des ions calciques (Chakravarty, 1993).

c. Effets sur le système respiratoire :

N. sativaa été étudiée par un grand nombre de chercheurs. En 1993, El Tahir et *al* ont prouvé que l'administration intraveineuse des huiles essentielles de cette plante est responsable d'une augmentation dose dépendante du quotidien respiratoire et de la pression intra trachéal chez le cobaye. Le traitement des cobayes préalablement exposés à des aérosols de l'acide citrique par différents extraits de *N. sativa* (extrait aqueux, extrait macéré et extrait décocté) montre un effet antitussif très important comparable à celui de la codéine (Boskabady et *al.*, 2004).

- **Toxicité et effets indésirables :**

La toxicité de la nigelle est bien connue par la plupart des herboristes. En effet, elle n'est utilisée qu'à faible dose que ce soit par la voie interne, externe, en fumigation ou en inhalation. Un surdosage des graines de *N. sativa* peut être mortel (Boudjemaa et Benguegua, 2010).

4.1.2. *Viscum album* :

Cette plante est appelée également le gui, il s'agit d'un sous arbrisseau hémiparasite de la famille des Loranthacées, c'est un remède phytothérapeutique connu depuis très longtemps pour le traitement d'hypertension artérielle, de l'asthme, de la toux et de l'épilepsie [3]



Figure 11 : *Viscum album* [4]

- **Composition :**

De nombreuses études ont permis l'identification et la caractérisation de composés actifs présents dans les extraits de gui fermenté, les principaux groupes contribuant à l'activité biologique de *V. album* sont les lectines et les viscotoxines (Gallois, 2013).

- **Propriétés pharmacologiques :**

Le *V. album* est utilisé depuis des décennies comme traitement adjuvant ou palliatif en cancérologie. Les mécanismes permettant l'activité anti tumorale, incluent l'induction de l'apoptose des cellules tumorales, l'inhibition de l'angiogénèse et la stimulation des cellules du système immunitaire du fait qu'il est capable de stimuler la production de leucocytes et plaquettes après une chimiothérapie (Duong et *al.*, 2002 ; Hajto et *al.*, 2005 ; Elluru et *al.*, 2009). Il est également présenté comme actif en cas de baisse de l'immunité en l'occurrence le cas du SIDA (Andrieu et *al.*, 1997).

- **Toxicité et effets indésirables :**

Les parties toxiques de la plante sont les feuilles et les tiges à cause de la présence des viscotoxines (Gallois, 2013). Cependant, suite à l'ingestion de plus de cinq baies, des symptômes secondaires peuvent apparaître tels que des vomissements, diarrhée, faiblesse, soif et agitation [5]

4.1.3. *cucurbita pepo*

Dite encore La citrouille, cette plante appartient à la famille des Cucurbitacées, ses graines peuvent être consommées telles quelles ou pressées pour en extraire de l'huile. Les graines de citrouilles sont principalement utilisées pour lutter contre les troubles prostatiques et favoriser d'une manière générale le confort urinaire de l'homme comme celui de la femme, elle est aussi utilisée pour traiter l'anémie et renforcer le système immunitaire [6]

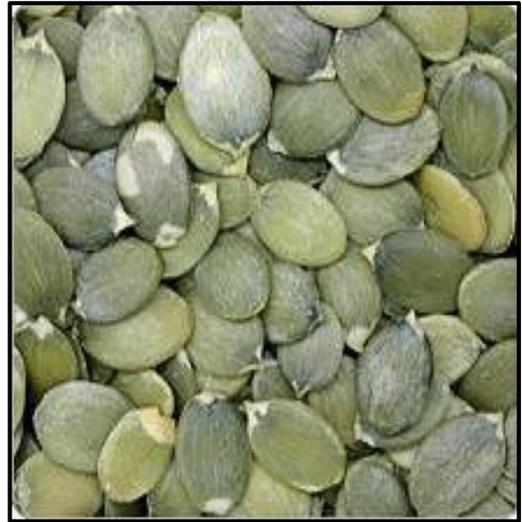


Figure 12 : La citrouille et ses graines [6]

- **composition :**

De part de leur teneur en huiles insaturées (30%), les graines de citrouille contiennent des vitamines à haute valeur nutritive telles que la vitamine A, E, F et ceux du groupe B. Elles possèdent également tous les acides aminés essentiels, les acides gras et les cucurbitacines. Ces graines constituent aussi un excellent apport en minéraux, surtout en fer et en zinc, mais également en phosphore et magnésium [7]

- **propriétés pharmacologiques :**

En 2012, Jafarian et *al.*, ont montré que les graines de citrouille possèdent un effet immunomodulateur, ils ont prouvé que l'administration de l'extrait de *C. pepo* chez des souris améliore l'activité des cellules tueuses naturelles et augmente le nombre de TCD4 et les TCD8.

l'Organisation mondiale de la santé reconnaît l'usage médicinal des graines de citrouille pour soulager les symptômes de la vessie irritable (ou vessie hyperactive) et les troubles de la miction associés à l'hypertrophie bénigne de la prostate (Blumenthal et *al.*, 2000).

- **Toxicité et effets indésirables :**

Aucune toxicité reliée à la consommation de graines de citrouille [6]

4.1.4. *Ginkgo biloba* :

Ce végétal représente le seul arbre existant de la famille des ginkgoacées, et il est utilisé en médecine traditionnelle chinoise depuis plus de 4000 ans pour renforcer les fonctions cérébrales, combattre la perte de mémoire et améliorer la concentration et augmenter l'énergie vitale [8]



Figure 13 : *Ginkgo biloba* [8]

- **Composition :**

Le *G. biloba* est composé essentiellement de flavonoïdes, ainsi que des lactones terpéniques (ginkgolides A, B, C et bilobalides) permettent d'améliorer la circulation sanguine (Briks et Grimley, 2009).

- **Propriétés pharmacologiques :**

En 1986, Auguel et *al.*, ont montré que le ginkgo renforce de façon directe la vasodilatation physiologique du système nerveux sympathique en agissant sur le relargage des neuromédiateurs. De plus et selon une autre étude l'extrait de *G. biloba* peut être considéré

comme efficace dans le traitement des maladies directement influencées par la production de radicaux libres, telles que les maladies de l'ischémie du cœur, les dégénérescences du cerveau et le vieillissement (Yashikawa et *al.*, 1999). Il améliore également l'attention, la concentration et la mémoire (Winther et *al.*, 1998).

En effet, une étude réalisée sur des modèles de souris Alzheimer, a montré que le bilobalide pouvait stimuler la croissance et la prolifération des synapses des neurones de l'hippocampe (Tchantchou et *al.*, 2009).

- **Toxicité et effets indésirables :**

« National Toxicology Program » a montré une toxicité d'extraits de *G. biloba* sur des souris, avec un risque élevé de cancer du foie, et un risque probable de cancer thyroïdien, à des posologies de 500 et 1000mg/kg sur une durée allant jusqu'à 2 ans [9]

4.1.5. *Silybum marianum* :

S. marianum, également nommé chardon marie, est une plante appartenant à la famille des Astéracées, employée pour traiter divers troubles hépatiques et biliaires (Morazzoni et Bombardelli, 1995). Il est aussi prescrit comme tonique, dans le cas d'hémorragies internes et externes, hémostatique, hypotension, asthme, varices, hémorroïdes et rhume des foies [10]



Figure 14 : *Silybum marianum* [10]

- **Composition:**

Les principaux composants du chardon marie sont des flavonolignanes qui isolés sous forme d'un mélange appelé silymarine et qui représentent entre 1.5 à 3 % de l'extrait de plante. Le chardon marie contient également de grandes quantités de lipides, principalement polyinsaturés, et des quantités modérées de bêta-sitostérol [11]

- **Propriétés pharmacologique :**

Les graines de *S.mariniu* sont probablement parmi le meilleur régénérateur de foie. Une étude a montré que le chardon marie peut protéger les cellules du foie, en bloquant l'entrée de toxines et en aide leur élimination par les cellules du foie [12]. De plus une autre étude effectuée sur des travailleurs exposés à des solvants industriels hépatotoxique, a démontré le potentiel détoxiquant du chardon marie. Après 30 jours de traitement ; tous les paramètres de fonction hépatique (enzymes sanguins) et les plaquettes s'étaient améliorés significativement (Szila et *al.*, 1988).

- **Toxicité et effets indésirables :**

S. marianum présente aucune toxicité même à forte dose ; cependant, il peut causer des effets secondaires dans des conditions particulières tels que l'induction d'une hypertension en raison de la présence d'une substance appelée tyramine mais aussi l'apparition de réactions allergiques cutanées et l'urticaire à cause de la présence d'histamine. Le chardon marie est aussi capable d'inactiver un certain nombre de substances y compris des médicaments [12]

4.1.6. *Linum usitatissimum* :

Le lin est une plante dicotylédone annuelle appartenant à la famille des Linacées dont les graines sont employées depuis des lustres pour des fins thérapeutiques comme le traitement de la constipation, le cholestérol mais aussi pour prévenir le cancer du sein [13]



Figure 15 : *Linum usitatissimum*

- **Composition :**

La graine de lin contient essentiellement une très haute teneur en acides gras polyinsaturés (45%) notamment des glycérides d'acides linoléiques qui participent à de nombreuses fonctions biologiques. Cette plante constitue également une source très riche en sels minéraux (Aouadhi, 2010).

- **Propriétés pharmacologiques :**

En 2000, Blumenthal et *al.*, ont montré que les graines de lin contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation en cas de constipation chronique, mais aussi elles prodiguent un effet calmant et antiinflammatoire réduisant l'irritation du colon dans des affections comme les colites, l'inflammation intestinale et les hémorroïdes, en plus elles sont considérées également comme efficace en cas des troubles respiratoires et urinaires (Iserin, 2001).

- **Toxicité et effets indésirables :**

Il n'y a aucun véritable effet indésirable à la consommation de lin [14]

4.1.7. *Tribulus terrestris* :

Le *Tribulus terrestris* (Trubule terrestre) est une plante appartenant à la famille des Zygophyllacées et entrant dans la composition de nombreux compléments alimentaires. Elle

est utilisée depuis des siècles comme plante médicinale dans la médecine chinoise et ayurvédique.

La propriété la plus importante de *T. terrestris* est liée à son effet stimulant supposé sur la production d'hormones androgènes qui régulent la libido, les caractères sexuels et le développement musculaire, elle peut aussi stimuler le système immunitaire et lutter contre les différentes inflammations de la gorge et la bouche [15]



Figure 16 : *Tribulus terrestris* [15]

- **Composition :**

La *T. terrestris* est riche principalement en protodioscine, une saponine stéroïdienne, qui agit en augmentant la production endogène de testostérone, de flavonoïdes, Stéroïdes et les phytostérols tels que les bêta-sitostérols [16]

- **Propriétés pharmacologiques :**

T. terrestris est connue pour son efficacité sur la performance sexuelle et lui prête une certaine efficacité à augmenter les niveaux de testostérone, à renforcer la qualité et la motilité des spermatozoïdes ainsi qu'à augmenter la libido et les performances sexuelles (Condemine, 2007).

- **Toxicité et effets indésirables :**

Un rapport de cas existe concernant une toxicité du *T. terrestris* chez l'humain, il s'agit du seul cas documenté à ce jour et fait part d'une néphrotoxicité avec altération des fonctions neurologiques et hépatiques (Talasaz et *al.*, 2010).

De plus, cette plante ne doit pas être consommée chez les personnes présentant une psychose, une schizophrénie ou un phaeochromocytome, et il est déconseillé de l'associer à d'autres thérapeutiques psycho-actives, sédatives, stimulantes (Jacot, 2002).

4.1.8. *Cynara scolymus* :

L'artichaut est une plante méditerranéenne appartenant à la famille des Astéracées elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques attribuées essentiellement aux polyphénols. L'artichaut est utilisé en phytothérapie pour les propriétés suivantes il facilite l'excrétion urinaire (effet diurétique) et l'évacuation de la bile, il a une action protectrice sur les cellules du foie, il diminue le taux sanguin de « mauvais » cholestérol (Mahmoudi, 2012).



Figure 17 : *Cynara scolymus* [17]

- **Composition :**

Les artichauts contiennent énormément de phytonutriments y compris la quercétine, la rutine, l'acide gallique ou encore la cynarine. Ces phytonutriments sont tous considérés comme utiles pour prévenir des problèmes de santé et maladies telles que le cancer, les maladies cardiaque, le dysfonctionnement hépatique, l'hypercholestérolémie ainsi que le diabète [17]

- **Propriétés pharmacologiques :**

L'artichaut est depuis longtemps utilisé en médecine traditionnelle dans le traitement de certaines maladies du foie (Sayed et Marini, 1980; Adzet *et al.*, 1987). Les extraits d'artichaut possèdent en effet diverses propriétés cholérétiques, uréolytiques, diurétiques et hypocholestérolaémiques (Hammouda *et al.*, 1993a). Les extraits de feuilles peuvent réduire le cholestérol dans le sérum selon deux mécanismes : soit par l'induction de son élimination, soit par une action inhibitrice sur la synthèse *de novo* (Gebhardt, 1995). Les feuilles d'artichaut, en plus de leurs propriétés diurétiques, sont utilisées également dans le traitement de l'hydropisie (oedème) et des rhumatismes (Hammouda *et al.*, 1993b).

- **Toxicité et effets indésirables :**

L'artichaut est considéré comme inoffensif, cependant, des précautions seront tout de même à prendre pour certaines personnes. En effet, chez certaines personnes, l'artichaut peut causer des effets secondaires tels que des gaz et des réactions allergiques. Les gens qui sont les plus exposés aux risques de réactions allergiques sont ceux qui sont hypersensibles aux plantes [17]



*Partie II : étude
expérimentale*

Notre travail expérimental a été réalisé en grande partie au niveau du laboratoire d'immunologie de l'université du 8 mai 1945 de Guelma ; cependant, les résultats relatifs à la formule de numération sanguine (FNS) ont été effectués par le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital « *El Hakim okbi* » de la wilaya de Guelma. Les coupes histologiques ont été aimablement interprétées par le médecin spécialiste du laboratoire d'anatomie-pathologique de l'hôpital « *Ibn Zohr* ».

1. Matériel :

1.1. Matériel biologique :

Notre étude a été effectuée sur des souris blanches (*Mus musculus*) femelles en provenance de l'institut de pharmacologie expérimentale de la wilaya de Constantine.

Les individus utilisés sont âgés de 2 semaines avec un poids corporel variant entre 24 et 27 g et un système immunitaire mature (Figure 20).

Ces animaux sont des mammifères dont le génome reste assez proche de celui de l'homme (99% de gènes homologues entre l'homme et la souris).



Figure 18 : Matériel biologique (*Mus musculus*)

1.2. Condition d'élevage :

Les animaux sont logés dans des cages en polypropylène qui sont nettoyées régulièrement, des copeaux comme litières changés chaque deux jours, ont été utilisés. Les souris ont été acclimatées aux conditions de l'animalerie pendant 15 jours, à savoir une

température ambiante et une photopériode naturelle. Leur besoin alimentaire journalier est à base de pain rassis et d'eau (Figure 21).



Figure 19 : Conditions d'élevage des souris.

1.3. Produit utilisé :

Dans notre travail on a choisi un complément alimentaire sous forme de gélules à base de mélange de plantes et qui est commercialisée sous le nom de « Holy land immunomodulator ».

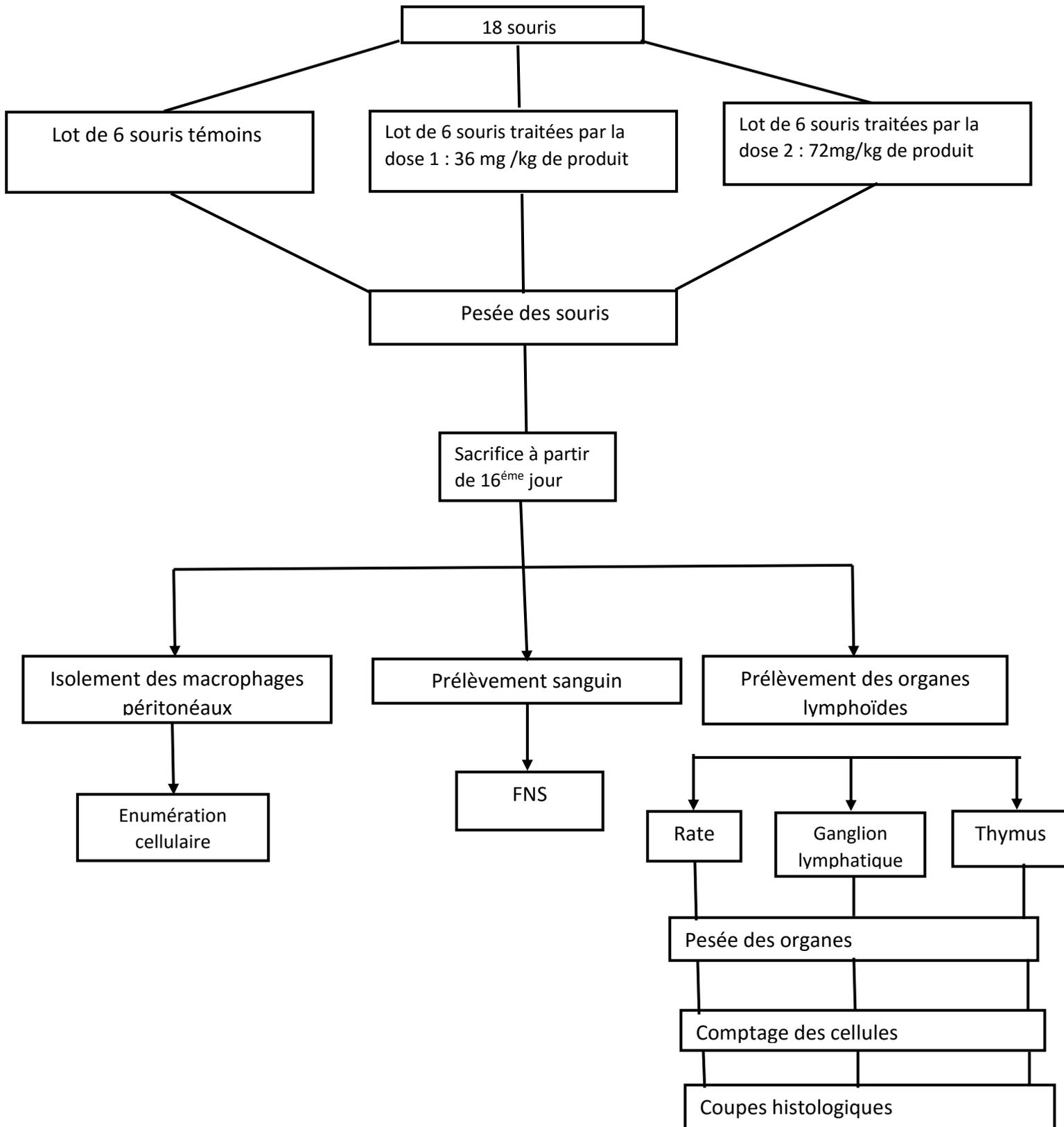


Figure 20 : Produit utilisé « Immunomodulateur Holy land »

2. Méthodes :

2.1. Protocole expérimental :

En vue de réaliser nos essais, nous avons adopté le protocole expérimental qui se résume comme suit :



2.2. Le traitement :

Le traitement consiste à l'administration du complément alimentaire par voie orale à l'aide d'une micropipette, le volume administré dépend du poids corporel de l'animal (Figure 21).

Nous avons reparti les souris en trois lots de six individus :

Un lot (T) : souris témoins recevant 1 ml de PBS.

Un lot (T1) : souris traitée par la dose 39 mg/kg de produit.

Un lot (T2) : souris traitée par la dose 78mg/kg de produit.

Le sacrifice de l'ensemble des souris précédé par la pesée des animaux est réalisé après la fin de la durée de traitement (16^{ème} jour), puis on procède aux différentes analyses :

Prélèvement sanguin, la pesée de différents organes lymphoïdes, isolement des organes et énumération cellulaire mais aussi les coupes histologiques. Notant que, on a utilisé les organes de quatre souris de chaque lot pour le comptage cellulaire et les deux autres souris pour les coupes histologiques.



Figure 21 : Traitement par voie orale.

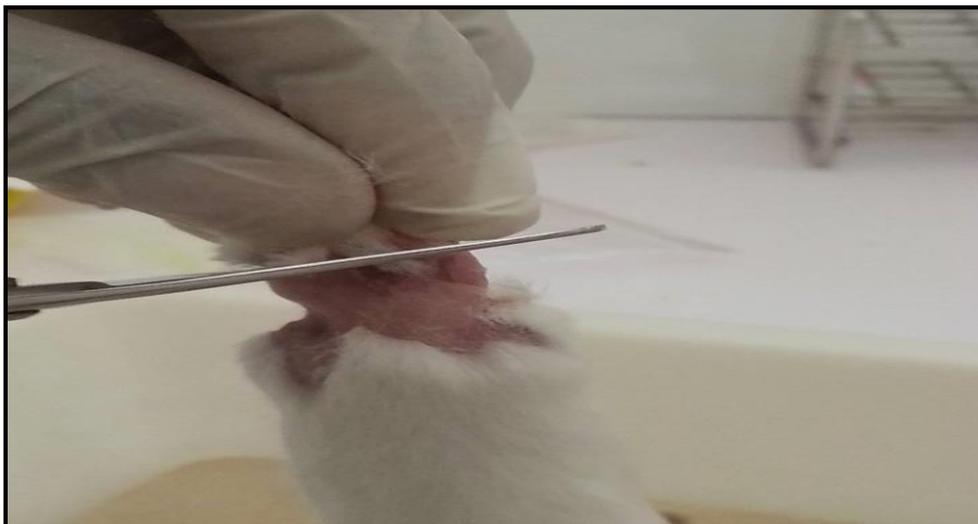


Figure 22 : Sacrifice d'une souris.

2.3. Prélèvement sanguin :

Après avoir égorgé l'animal une quantité de sang est prélevée et recueillie dans des tubes à EDTA (figure 25) pour la réalisation de l'FNS (formule numérique sanguine).



Figure 23 : récupération du sang.

2.4. Prélèvement des macrophages péritonéaux :

Afin d'effectuer cette opération, l'animal est tout d'abord déposé sur le dos puis son abdomen et essuyé avec de l'éthanol à 70% ensuite on procède à la réalisation d'une petite ouverture au milieu de l'abdomen juste au-dessous de la peau ensuite une quantité de 3 ml de PBS (voir annexe) est injectée avec une seringue dans la cavité péritonéale. Après un léger massage on prélève le liquide par aspiration (Figure 26) lequel est placé dans un tube puis centrifugé a une vitesse de 1500 rotations par minute pendant 5 minutes, cette étape est répétée 3 fois en ajoutant à chaque fois 3 ml de PBS au culot.



Figure 24 : Récupérations des macrophages péritonéaux.

A la fin, on procède à la détermination le nombre de cellules dans la suspension cellulaire. Le comptage des macrophages péritonéaux est ainsi réalisé à l'aide de la cellule de Malassez. Le nombre des macrophages péritonéaux par litre est calculé par l'équation suivante : $N = (n/v) f$

N : Nombre des cellules par litre.

n : Nombre des cellules comptées.

v : Volume de comptage par litre.

f : Facteur de dilution.

Le pourcentage de viabilité est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{viabilité}\% = \frac{\text{nombre de total des cellules} - \text{nombre de cellules mortes}}{\text{Nombre total des cellules}} \times 100$$

2.5. Prélèvement des organes lymphoïdes :

Après sacrifice et dissection des souris, la rate, le thymus et les ganglions lymphatiques sont prélevés puis pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius).

En outre, la rate, le thymus et les ganglions lymphatiques de deux souris de chaque lot, sont conservés dans du formol 10% pour l'étude histologique.

2.6. Isolement des splénocytes :

Après avoir pesé la rate, cette dernière est déposée dans une boîte de pétri contenant 3 ml de PBS (Figure 27) et débarrassée de la graisse à l'aide de deux pinces. La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube après avoir été filtrée sur le gaz fixée sur un entonnoir puis centrifugée pendant 10 min à une vitesse de 1500 rotation/minute. Le culot est remis en suspension dans 0.5 ml de PBS et 4.5 ml de solution de lyse du globule rouge. Après une incubation de 10 min la suspension est ensuite centrifugée pendant 10 min à une vitesse 1500 rotation/minutes, ensuite une quantité de 3 ml de PBS est ajoutée au culot puis centrifugée, cette étape est répétée 3 fois en ajoutant au dernier culot 3 ml de PBS dont on a prélevé 100 µl dans un tube contenant une quantité de 900 µl de PBS. Enfin une goutte de la solution obtenue est fixée sur une cellule de Malassez afin de déterminer le nombre des splénocytes dont le comptage se fait sous un microscope photonique.



Figure 25 : Isolement de la rate dans du PBS.

2.7. Isolement des thymocytes :

Après avoir pesée le thymus ce dernier est déposé dans une boîte de pétri contenant 3 ml de solution de PBS (Figure 28) et débarrassé de la graisse à l'aide de deux pinces.

La suspension cellulaire est filtrée dans un tube à l'aide d'une gaze fixée à un entonnoir puis centrifugée pendant 10 minutes à une vitesse de 15000 rotation/minute , le culot est remis ensuite en suspension dans 3 ml de PBS puis centrifugé pendant 10 minutes à une vitesse similaire à la précédente, cette étape est répétée 2 fois à la fin le culot est repris dans 3 ml dont on récupère 100 μ l qui seront remis dans un tube avec 900 μ l de PBS, enfin la numération des thymocytes est réalisée ainsi que le calcul du pourcentage de viabilité de type cellulaire.

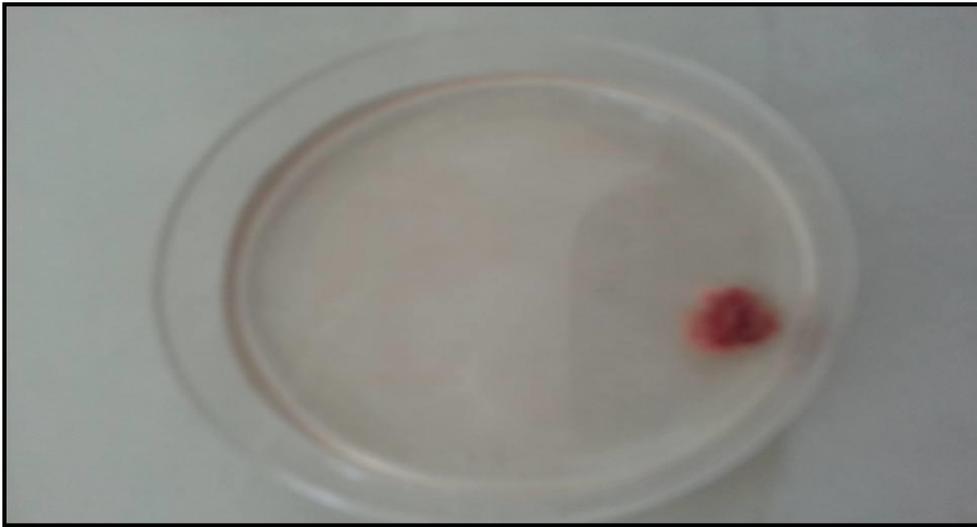


Figure 26 : Isolement de thymus dans du PBS.

2.8. Isolement des cellules ganglionnaires :

Après avoir isolé les ganglions lymphatiques, ces derniers sont déposés dans une boîte de pétri contenant 3 ml de PBS (Figure 29) puis débarrassé de la graisse. La procédure d'obtention des lymphocytes est identique à celle utilisée pour les thymocytes.

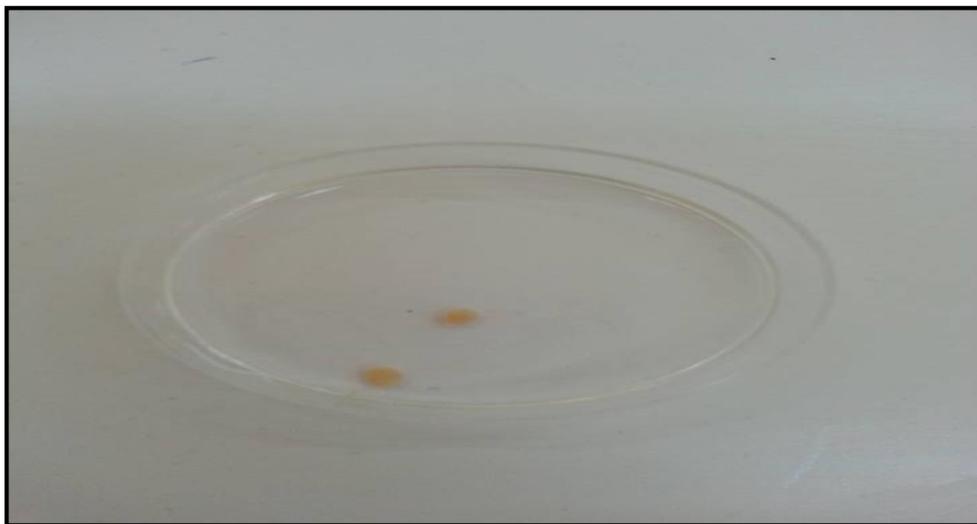


Figure 27 : Isolement des ganglions lymphatique dans de la PBS.

2.9. Préparation des coupes histologiques :

Afin de réaliser des coupes histologiques pour une analyse anatomique, la rate, le thymus et les ganglions lymphatiques de deux souris de chaque lot ont été prélevés et

conservés dans le formol 10% ils ont été ensuite orientés vers le laboratoire d'anatomie-pathologique de l'hôpital « *Ibn Zohr* ».

2.10. Etude statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type.

La comparaison des moyennes entre les souris témoins et les souris traitées est réalisée deux à deux par le test de Student pour les différents paramètres. Les données ont été traitées à l'aide du logiciel d'analyse statistique MINITAB, version 13.

Le seuil de signification est exprimé comme suit :

- $p < 0,05$: la différence est statistiquement significative.
- $p < 0,01$: la différence est statistiquement très significative.
- $p < 0,001$: la différence est statistiquement hautement significative.
- $p > 0.05$: la différence est statistiquement non significative.

3. Résultats et discussion

3.1. Variation du poids corporel des souris

Les résultats obtenus relatifs au poids des souris avant et après traitement (Figure 28) indiquent une augmentation du poids corporel estimée à 7,68% chez les souris témoins. Cependant, une diminution du poids estimée à 1,93% chez les souris traitées par la première dose du complément alimentaire et à 6,42% chez les souris ayant reçue la double dose de ce dernier a été enregistrée.

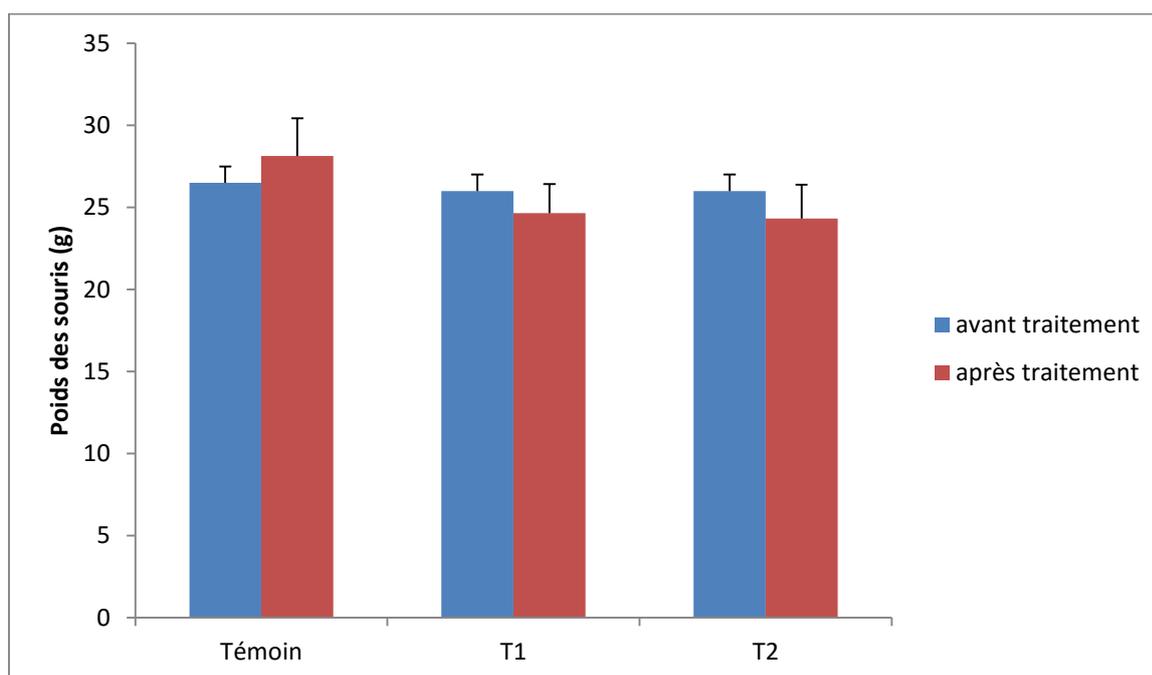


Figure 28 : Variation du poids corporel des souris

La baisse du poids corporel observée après le traitement par les deux doses du complément alimentaire serait attribuée aux actions amaigrissantes de quelques composants de ce produit.

En effet, des études récentes ont montré que l'administration d'une solution de l'huile de lin à des rats obèses provoque une chute de poids considérable chez ces derniers, ce en diminuant le tissu adipeux et en provoquant une hypoglycémie (Shirouchi, 2007).

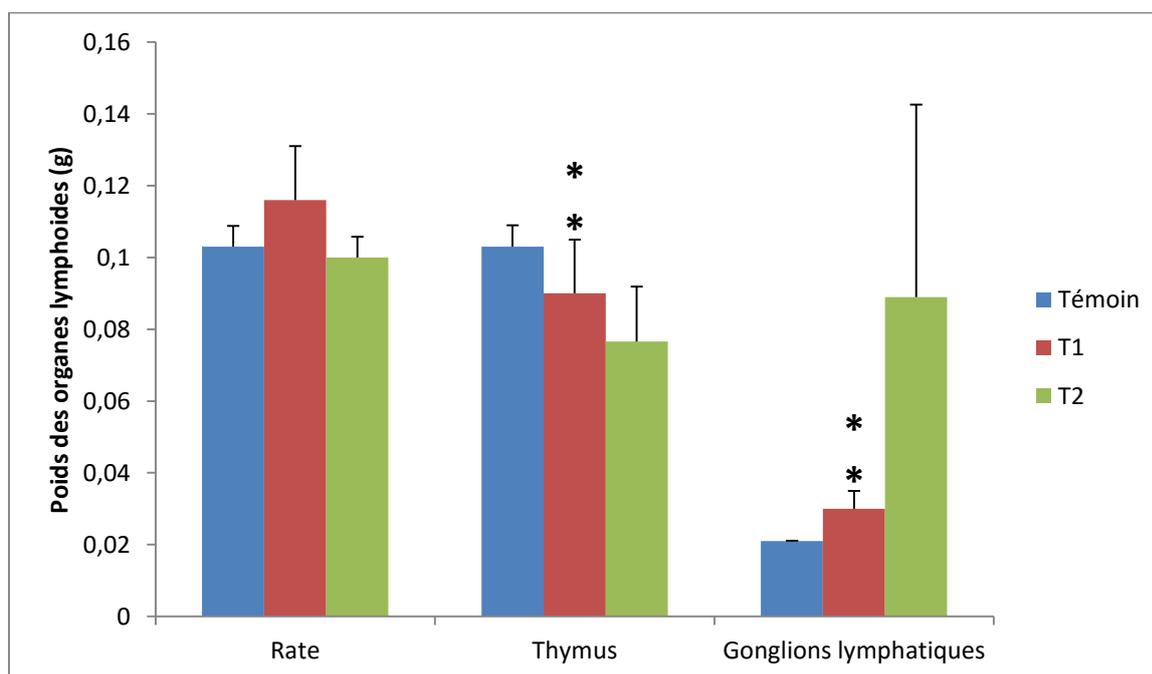
De manière similaire, plusieurs essais cliniques étudiés ont montré que le *Ginkgo biloba* augmente le flux sanguins, ce qui favorise l'accroissement de l'activité catalique [18]

3.2. Variation du poids des organes lymphoïdes

Le poids de la rate a connu une augmentation non significative chez les souris traitées par les deux doses du complément alimentaire qui est plus marqué chez les souris recevant la double dose (T1 : $0,116 \pm 0,01$ g ; T2 : $0,103 \pm 0,005$ g) par rapport aux témoins (T : $0,103 \pm 0,005$ g).

D'autre part, une diminution du poids du thymus a été observée chez les deux lots traités, cependant elle est significative seulement chez le lot traité par la première dose ou le $p=0,02$. Les valeurs enregistrées sont de l'ordre de : $0,1 \pm 0,005$ g pour le groupe témoin, $0,08 \pm 0,01$ g pour le premier lot et $0,06 \pm 0,05$ g pour le second.

Quant à l'effet du traitement par la première et la deuxième dose du complément alimentaire sur les ganglions lymphatiques, les résultats ont révélé une augmentation de leur poids chez les souris traitées par rapport aux témoins (T : $0,021 \pm 0,0001$; T1 : $0,030 \pm 0,005$; T2 : $0,089 \pm 0,1$) respectivement. Notant que l'augmentation chez les souris traitées par la première dose est statistiquement significative ($p = 0,02$) (Figure 29).



** : Différence significative

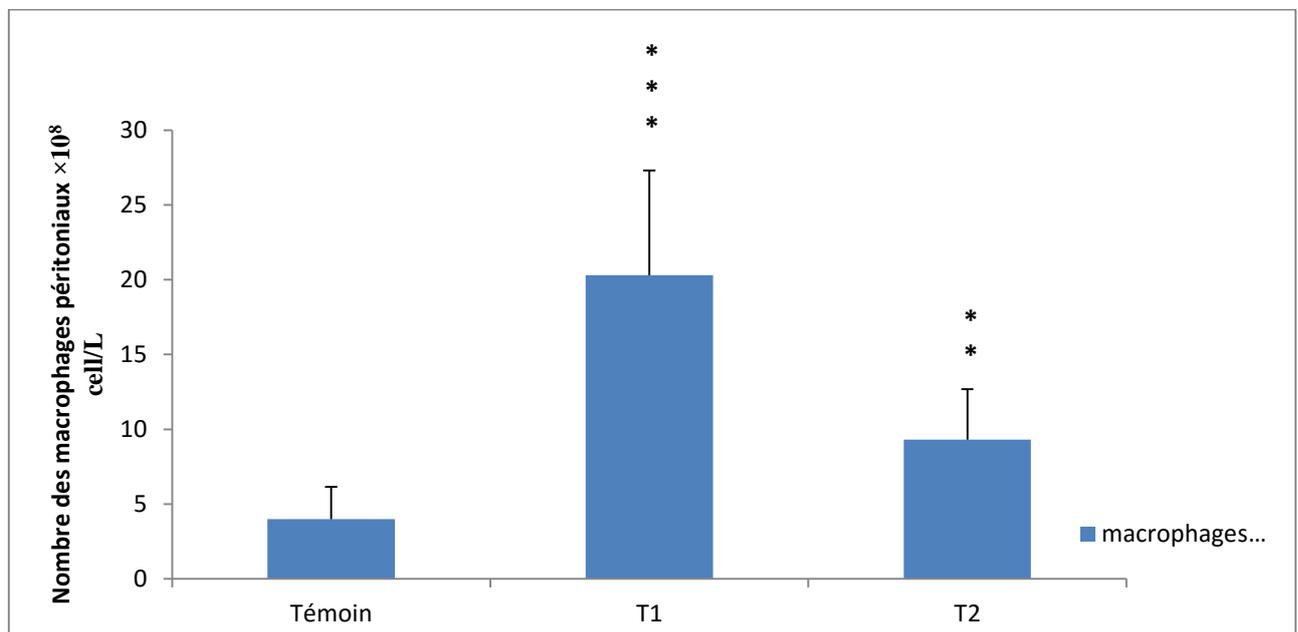
Figure 29 : Variation du poids des organes lymphoïdes.

Les résultats obtenus révèlent que l'augmentation notée pour le poids de la rate et les ganglions lymphatiques est probablement dû à un accroissement anormale du nombre des cellules qui les composent, c'est habituellement le reflet d'une hyperactivité fonctionnelle. Cette définition explique le terme médical d'hyperplasie (Amamou, 2010).

Notre résultat relatif au poids thymique est en parfaite concordance avec ceux de Anderson (1990) et Thomas et *al.* (1990) qui ont montré que la diminution du poids relatif des organes lymphoïdes est un signe d'immunotoxicité. Ceci pourrait être du a la présence d'un composant toxique d'une plante donnée telle que les viscotoxines du Gui ou encore par des xénobiotiques (Descotes, 2008).

3.3. Variation du nombre des macrophages péritonéaux

Les résultats illustrés dans la figure 30 indiquent une élévation importante du nombre des macrophages chez les souris traitées par les deux doses en comparaison avec celui du témoin (T : $4 \pm 2,154 \times 10^8$ cellule/L ; T1 : $20,31 \pm 7,30 \times 10^8$ cellule/L ; T2 : $9,31 \pm 3,38 \times 10^8$ cellule/L) respectivement. Cette augmentation a été très significative pour le lot subissant la première dose $p = 0,06$ et significative pour la deuxième dose dont $p = 0,03$.



** : différence significative, *** : différence très significative

Figure 30 : Variation du nombre des macrophages péritonéaux.

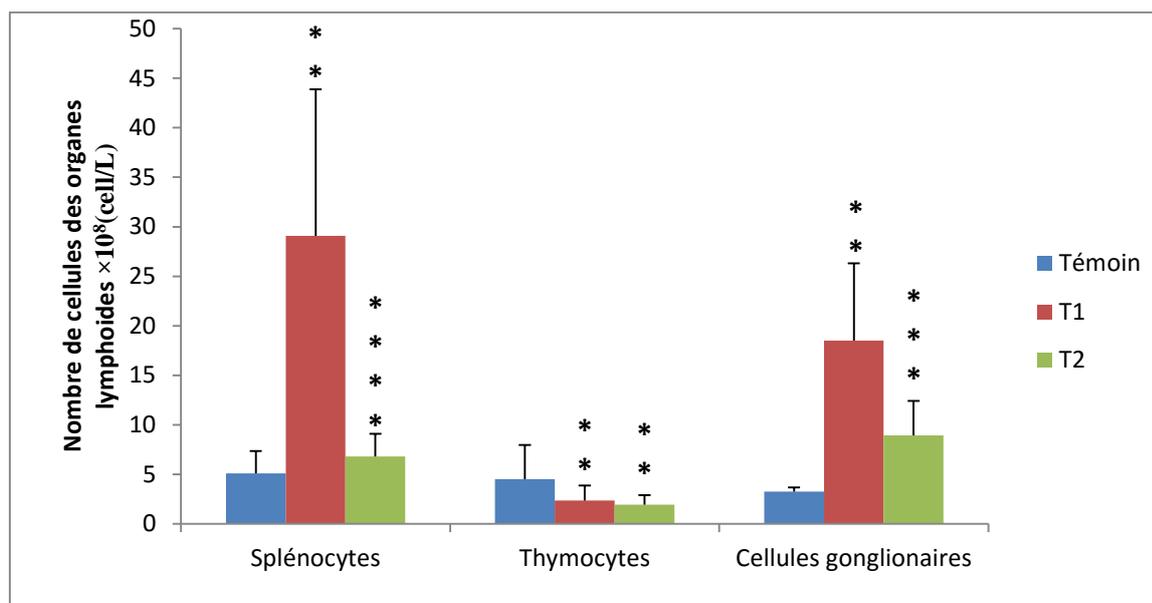
Nos résultats sont en accord avec les constatations d'El kadi et kindal (1987), Duong et *al.* (2002) et Jafarian et *al.* (2012) qui ont démontré que certaines plantes contenues dans notre produit (le gui, la nigelle) induisent une stimulation des cellules immunitaires dont les macrophages péritonéaux. Notons qu'il est également admis qu'une inflammation provoquée peut également être à l'origine d'une élévation des cellules immunitaires inflammatoires.

3.4. Variation du nombre des splénocytes, thymocytes et cellules ganglionnaires

L'énumération des splénocytes a montré une augmentation significative chez les souris traitées par la première dose du complément alimentaire (T1 : $29,08 \pm 14,79 \times 10^8$ cellule/L) ($P = 0,04$) par rapport aux témoins (T : $5,08 \pm 2,27 \times 10^8$ cellule/L) et une augmentation hautement significative chez les souris traité par la deuxième dose (T2 : $6,8 \pm 2,30 \times 10^8$ cellule/L) ($p = 0,001$) en comparaison avec les souris témoins.

De manière identique, pour le nombre des cellules ganglionnaires ou les résultats ont révélé aussi un accroissement significative chez les souris traitées par la première dose (T1 : $18,5 \pm 7,8 \times 10^8$ cellule/L) ($p = 0,04$) par rapport au lot témoin (T : $3,25 \pm 3,82 \times 10^8$ cellule/L) par ailleurs cette augmentation du poids est plus significative chez les souris traitées par la deuxième dose (T2 : $8,92 \pm 3,5 \times 10^8$ cellule/L) ($p = 0,01$).

Cependant, les résultats relatifs au nombre des thymocytes indiquent une diminution significative chez les souris traitées par les deux doses du produit (T1 : $2,35 \pm 1,53 \times 10^8$ cellule/L ; T2 : $1,95 \pm 0,95 \times 10^8$ cellule/L) ou $p = 0,02$ par rapport aux témoins (T : $4,5 \pm 3,46 \times 10^8$ cellule/L).



** : différence significative, *** : différence très significative, **** : différence hautement significative

Figure 31 : Variation du nombre des splénocytes, thymocytes et cellules des ganglions lymphatiques

L'élévation cellulaire importante au niveau de la rate et les ganglions lymphatiques peut être attribuée par le fait que ces organes sont le siège de stockage et d'interaction entre les cellules immunitaires qui migrent du sang vers ces organes sous l'influence stimulante de la gelée royale (Sver et al., 1996). Cette augmentation des cellules peut également désigner une prolifération cellulaire excessive aboutissant à une masse tissulaire (Dembele, 2012).

Pour ce qui est de la diminution du nombre de thymocytes il a été avancé précédemment que la baisse du poids du thymus peut-être due à l'immunotoxicité, cette dernière peut entraîner des modifications fonctionnelles du système immunitaire pouvant mener à une immunodépression ou immunosuppression, chose qui pourrait expliquer les résultats obtenus pour les thymocytes (Exon et al., 1987 ; Luster et al., 1988).

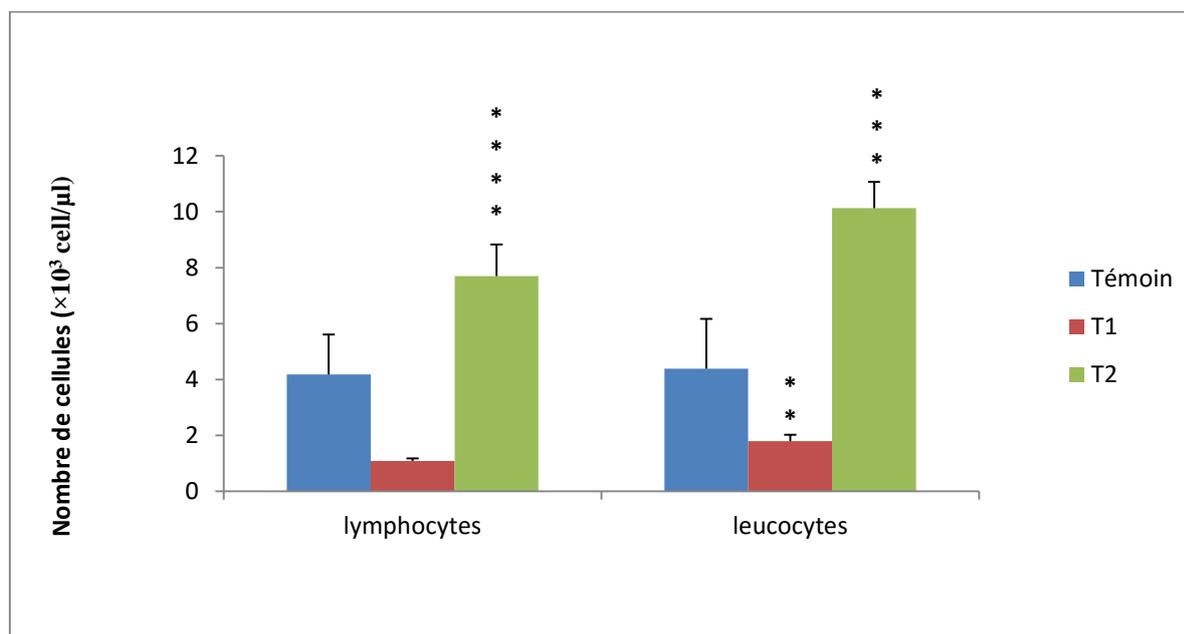
3.5. Effet du traitement sur les cellules sanguines

3.5.1. Variation du nombre des leucocytes et des cellules lymphocytaires

D'après les résultats mentionnés dans la figure 32 on remarque que les souris traitées par le complément alimentaire (dose 1) ont présenté une diminution remarquable du nombre des cellules lymphocytaires par rapport aux souris non traitées (T1 : $1,08 \pm 0,09 \times 10^3$ cellule/ μ l ; T : $3,45 \pm 1,43 \times 10^3$ cellule/ μ l). Par ailleurs, ce paramètre affiche une

augmentation hautement significative chez le lot recevant la deuxième dose et ce en comparaison avec le lot témoin (T2 : $7,7 \pm 1,12 \times 10^3$ cellule/L) ($p = 0,001$).

Concernant la variation du nombre des leucocytes, les souris ayant subi un traitement par la première dose présentent une diminution significative du nombre de ces cellules dans le sang par rapport aux témoins (T1 : $1,79 \pm 0,23 \times 10^3$ cellule/L ; T : $4,65 \pm 1,78 \times 10^3$ cellule/L) ($p = 0,03$), alors que les souris ayant ingéré la deuxième dose du produit ont montré une augmentation très significative au niveau du nombre des leucocytes (T2: $10,13 \pm 1,73 \times 10^3$ cellule/L) ou le $p = 0,002$.



** : différence significative, *** : différence très significative, **** : différence hautement significative

Figure 32 : Variation du nombre des lymphocytes, leucocytes.

La diminution du nombre de leucocytes chez les souris traitées par la première dose du complément alimentaire peut être traduite par une leucopénie sévère qui est le témoignage d'une immunodépression [19]

En plus il est admis que les substances toxiques qui affectent la moelle osseuse induisent une modification du nombre de globules blanc produisant ainsi qu'une leucopénie (Merrill et al., 1997) ce qui affirme la toxicité du produit testé.

Parallèlement, l'hyperleucocytose constatée chez les souris traitées par la deuxième dose, peut être d'origine toxique ou infectieuse (Geraud, 2007) ou encore engendré par un syndrome myéloprolifératif ou métastase médullaire d'un cancer [20].

Notons que nos résultats s'opposent avec ce avancés par Duong *et al.* (2002) ; Hajto *et al.* (2005) et Elluru *et al.* (2009) qui ont montré que certaines plantes (le gui) contenu dans le compliment alimentaire que nous avons utilisé sont capables de stimuler la production de leucocytes.

Pour les lymphocytes La baisse remarquable du nombre de cellules signifie une lymphopénie qui constitue un effet secondaire fréquent des traitement médicamenteux en particuliers des immunosuppresseurs, la toxicité de ces traitement prédominent le plus souvent sur les lymphocytes TCD4⁺ probablement du fait des capacité régénératives plus faibles de ces derniers que des lymphocyte TCD8⁺ (Choué *et al.*, 2003).

Nous supposons que la diminution du nombre des lymphocytes chez les souris traitées par la première dose du complément alimentaire peut être due à la présence d'une substance toxique ou a un effet immunosuppresseur.

L'étude faite par Salem en 2005 a montré que certaines plantes (la nigelle) contenues dans notre produit possèdent des propriétés immunostimulantes des lymphocytes ce qui en accord avec nos résultats de nombre de lymphocyte chez les souris traitées par la deuxième dose.

3.5.2. Variation du nombre des plaquettes

Le résultat mentionnés dans la figure 33 relèvent une baisse du nombre de plaquettes chez les souris traité par les deux doses (T1 : $111 \pm 32,6 \times 10^3$ cellule/L ; T2 : $88 \pm 18 \times 10^3$ cellule/L) par rapport aux témoins (T : $242 \pm 276 \times 10^3$ cellule/L).

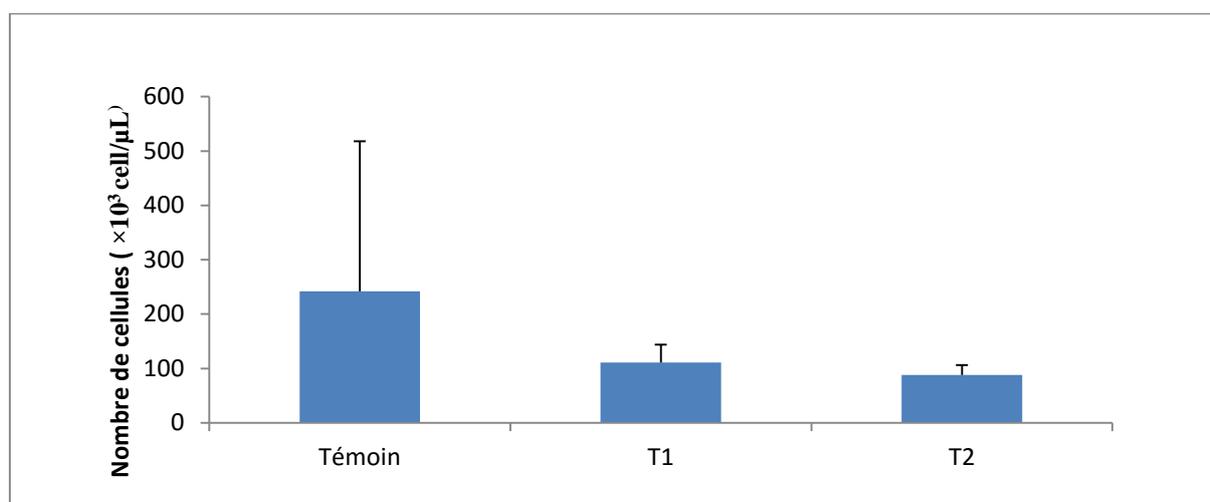


Figure 33 : Variation du nombre des plaquettes.

A la lumière de nos résultats, nous pouvons dire que la diminution constatée au niveau du nombre des plaquettes traduite par une thrombopénie expliquée par deux hypothèses : la première serait une destruction de la moelle osseuse par l'absorption d'éléments toxiques, la deuxième serait une infiltration de la moelle osseuse par une leucémie ou un autre processus néoplasique [20]

3.6. Effet sur la structure histologique des différents organes lymphoïdes :

3.6.1. Thymus

Après avoir préparé les coupes histologiques des thymus isolés des souris témoins et traitées, on procède à l'observation microscopique. L'analyse a relevé chez les témoins, le thymus est normal et est organisé en lobules dont chacun montre une zone fortement colorée externe correspondant au cortex riche en cellules. A l'intérieur une zone plus pale centrale et moins chargée de cellules c'est la zone médullaire (Figure 34 A1).

Contrairement aux témoins, les souris traitées ont subi des changements histologiques considérables au niveau de leur thymus. En effet, l'organe se trouve en involution thymique dont L'architecture normale est lésée avec des lésions cellulaires fréquemment observées (Figure 34 B2, 34 B3).

3.6.2. Rate

L'observation microscopique des coupes réalisées sur la rate des souris témoins et souris traitées par les deux doses du complément alimentaire montre que celle des témoins (Figure 35 A1, B1) présente un aspect histologique normal ressemblant à une éponge pleine d'érythrocyte (pulpe rouge). La pulpe blanche est subdivisée en périartériolaire lymphatiques gaines qui pourraient être identifiés comme la région sombre autour de l'artériole centrale. La rate est recouverte d'une fine capsule externe.

Par ailleurs, l'interprétation des coupes histologiques de la rate des souris traitées a montré une modification structurale traduite par un élargissement de la pulpe rouge splénique avec augmentation de la densité cellulaire. Notant que ces modifications sont plus marquées dans la rate des souris traitées par la deuxième dose du produit

L'augmentation de la densité cellulaire observée dans la rate des souris traitées par les deux doses du complément alimentaire reste à confirmer par une étude plus approfondie en faisant le frottis sanguin pour savoir de quel type cellulaire il s'agit.

3.6.3. Ganglions lymphatiques :

L'examen microscopique des ganglions lymphatiques a montré une structure normale chez les souris témoins (Figure 36 A1) composée d'un cortex et d'une zone médullaire avec un hile logeant des vaisseaux sanguins.

Contrairement aux témoins les souris traitées (Figure 36 A2, A3, 36 B2, B3) ont subi des changements histologiques frappantes au niveau de leurs ganglions. En effet, l'observation microscopique montre en premier lieu une importante dilation et congestion des sinus ganglionnaires (Figure 36 A2), ainsi qu'une importante hyperplasie localisée.

Notons que chez les souris traitées par la deuxième dose, un processus tumoral malin a été observé avec apparition d'une tumeur maligne qui peut être primitive ou secondaire.

Ainsi, les résultats obtenus pour les cellules ganglionnaires montrent des modifications allant de l'hyperplasie jusqu'au processus néoplasique qui est directement corrèle avec l'effet toxique et cancérigène du produit.

Ainsi, l'exposition au produit utilisé comme traitement dans notre expérience a affirmé une toxicité très prononcé sur l'ensemble des organes lymphoïdes particulièrement les ganglions lymphatiques en affectant leurs aspects cytopathologique et histopathologique.

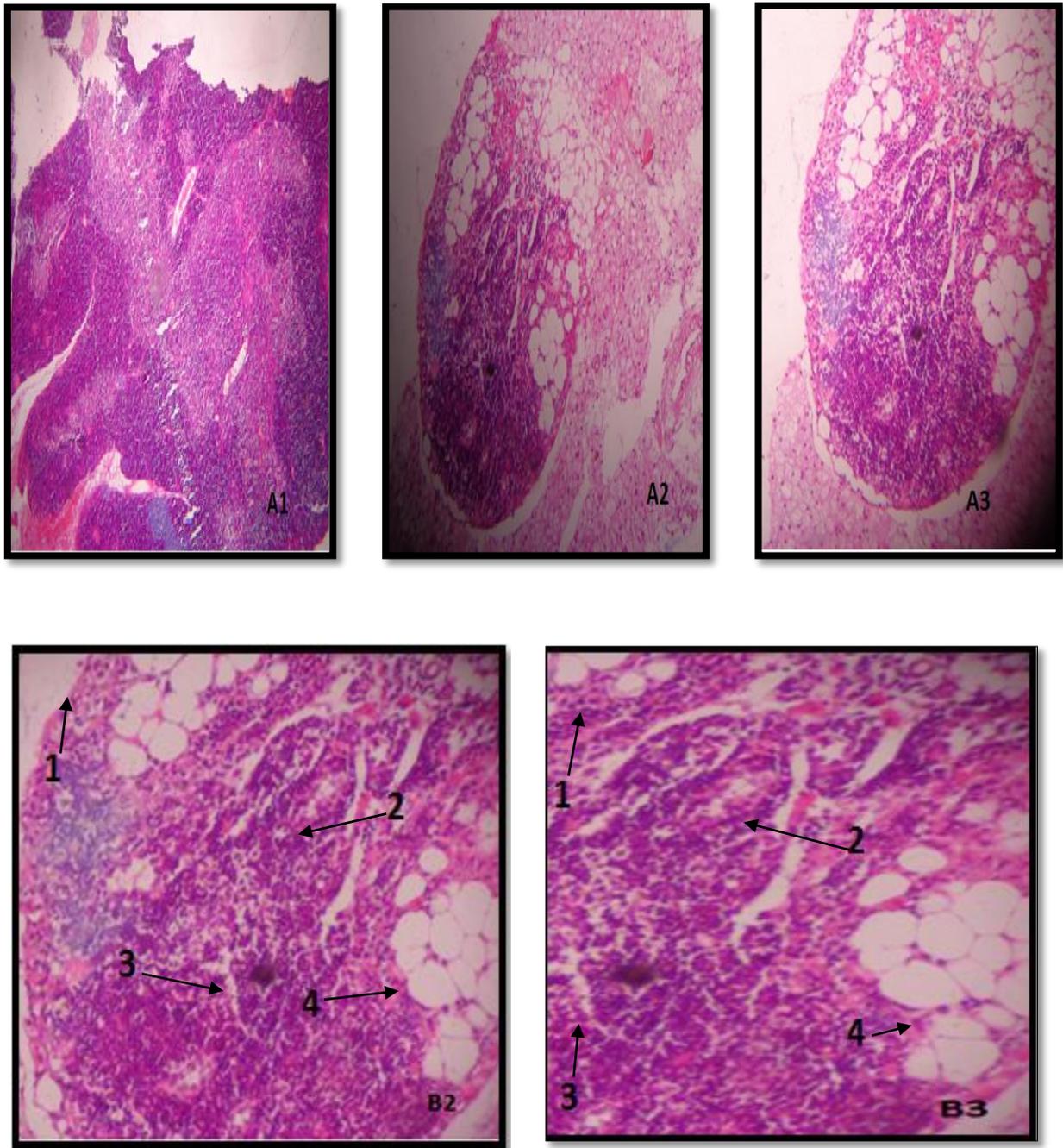


Figure 34 : Coupes histologiques du thymus d'une souris témoin et traitées

A1-Thymus d'une souris témoin, **A2-** Thymus d'une souris traitée par la dose 1, **A3-** Thymus d'une souris traitée par la dose 2 ($\times 10$)

B2- Thymus d'une souris traitée par la dose 1, **B3-** Thymus d'une souris traitée par la dose 2 ($\times 40$)

1 : cortex 2 : médulla 3 : lésion cellulaire 4 : adipocytes

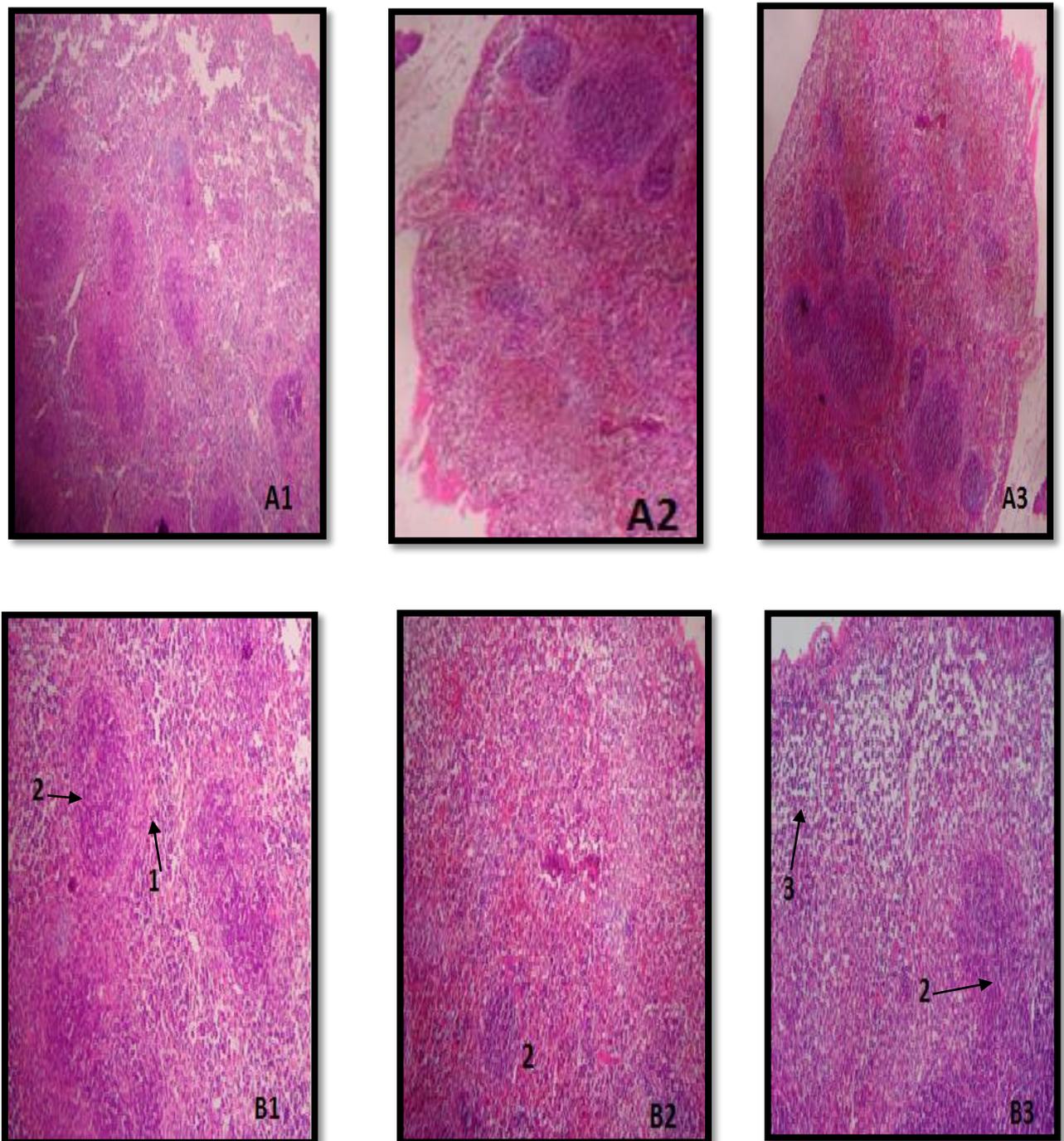


Figure 35 : Coupes histologiques de la rate chez les souris témoin et traitées

A1- Rate d'une souris témoin, **A2-** Rate d'une souris traitée par la dose 1, **A3-** Rate d'une souris traitée par dose 2 ($\times 10$)

B2- Rate d'une souris traitée par la dose 1, **B3-** Rate d'une souris traitée par la dose 2 ($\times 40$)

1 : pulpe blanche 2 : pulpe rouge 3 : cellules lymphocytaire

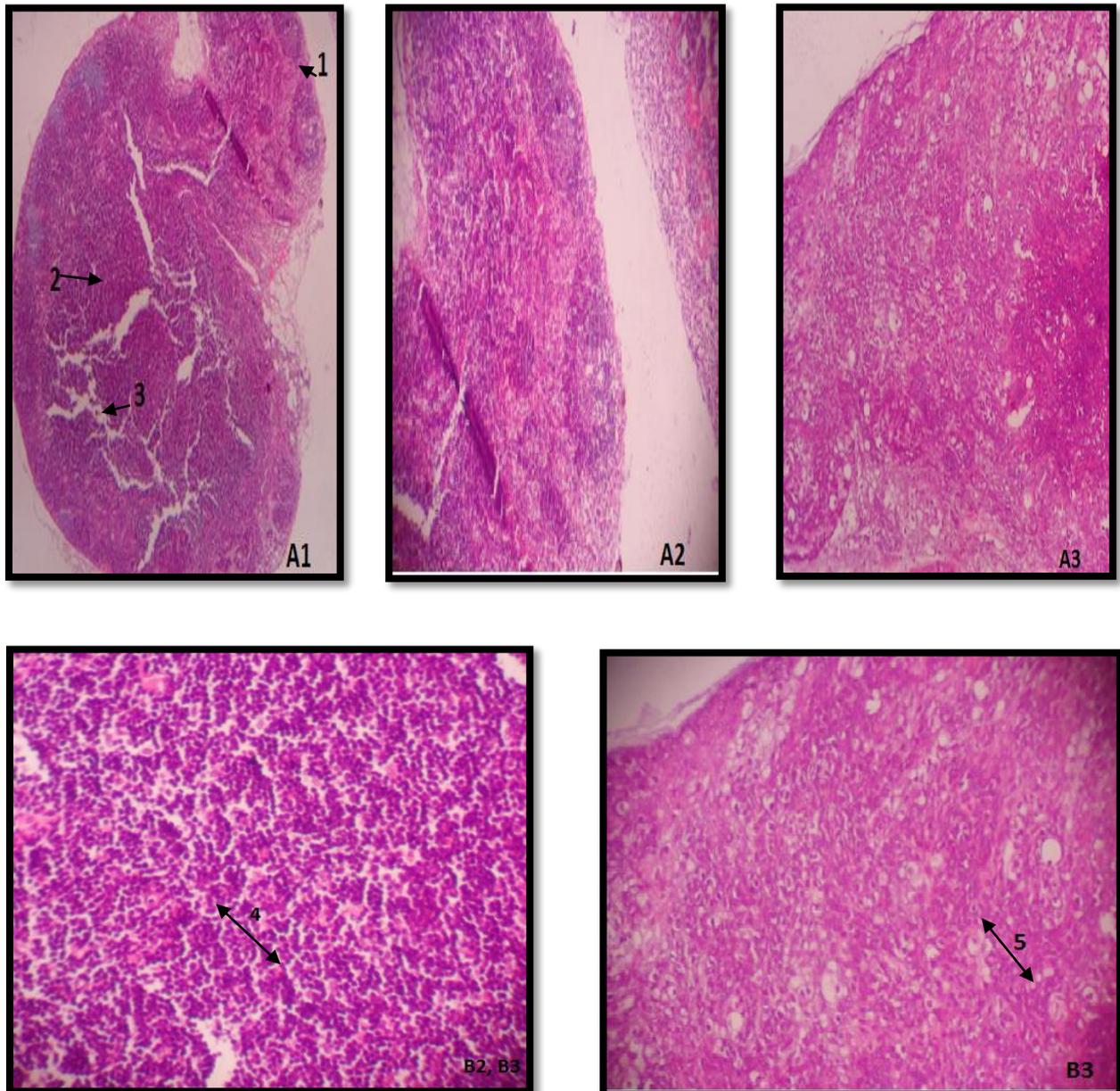
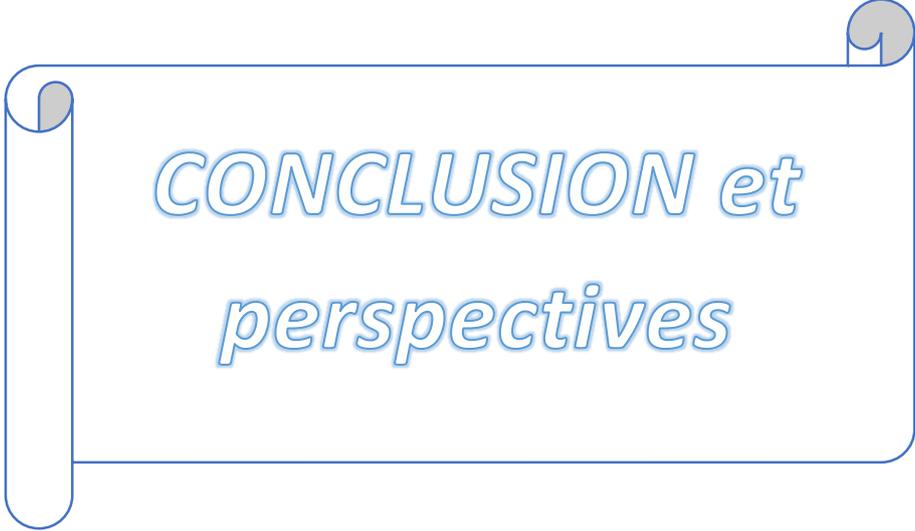


Figure 36 : coupes histologiques des ganglions lymphatiques des souris témoin et traitées

A1- ganglions d'une souris témoin, **A2-** ganglions d'une souris traitée par la dose 1, **A3-** ganglions d'une souris traitée par la dose 2 ($\times 10$)

B2- ganglions d'une souris traitée par la dose 1 et 2, **B3-** ganglions d'une souris traitée par la dose 2 ($\times 40$)

1 : cortex 2 : zone médullaire 3 : hile 4 : hyperplasie 5 : tumeur maligne



*CONCLUSION et
perspectives*

Conclusion et perspectives :

De nos jours on remarque une demande accrue des produits parapharmaceutiques dont les compléments alimentaires à base de plantes et ce en pensant qui sont dénués d'effets secondaires, or plusieurs études dont la nôtre ont prouvé leur impact négatif sur la santé du fait d'une utilisation arbitraire dépourvue de toute étude scientifique.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est d'évaluer l'efficacité du complément alimentaire « Holy land » réputé avoir des vertus d'immunomodulation en utilisant des souris blanches comme matériel biologique. Ainsi nous avons procédé à des techniques d'isolement cellulaires, et histologiques.

Les résultats obtenus après 16 jours de traitement par deux doses du complément alimentaire ont révélé une augmentation du nombre de splénocytes et de cellules ganglionnaires. Par contre il y a eu une diminution de thymocytes et de cellules sanguines (plaquettes, leucocytes ...). En revanche des modifications histologiques de la rate, du thymus et notamment du ganglion lymphatique ont été enregistrées, allant de l'hyperplasie jusqu'au processus néoplasique dont l'origine primitive ou secondaire reste à déterminer.

Compte tenu des dommages qu'a provoqués le complément alimentaire administré sur les différentes lignées sanguines, sur les différents organes, nous pouvons sans équivoque infirmer notre hypothèse.

Enfin, nous sommes convaincues que notre initiative mérite d'être approfondie et ce par le développement des axes suivants :

- Réaliser une analyse détaillée de la composition de ce complément alimentaire.
- Effectuer des frottis sanguins afin d'étayer notre diagnostic (processus néoplasique) et avoir d'amples renseignements sur les effets néfastes de ce produit.
- Procéder à des tests immunologiques afin de mieux définir l'effet du complément alimentaire sur la réponse immunitaire humorale.



Résumés

Résumé

Le complément alimentaire « Holy Land » est un produit parapharmaceutique à base de plantes vendu en Algérie. Il est très utilisé par la population afin de stimuler activement la vitalité générale ainsi que le système de défense de l'organisme. Malheureusement ce type de préparation n'est pas soumis à un contrôle de qualité.

Dans notre approche nous avons essayé d'évaluer l'efficacité de ce complément en mettant en évidence son effet immunodulateur. A cet effet, une première dose de 36 mg /kg et une deuxième dose de 72mg/kg du poids corporel des souris ont été administrées par voie orale.

Les résultats obtenus après 16 jours de traitement ont révélé une augmentation du nombre de splénocytes ainsi que celui des cellules ganglionnaires. Par ailleurs, le nombre des cellules thymiques et sanguines a montré une diminution. En revanche, des modifications histologiques frappantes au niveau de la rate, du thymus et des ganglions lymphatiques ont été observées.

Ces résultats infirment l'effet régulateurs néfaste de ce produit sur l'immunité pouvant mener jusqu'à un effet toxique et cancérigène.

Mots clés : complément alimentaire, système immunitaire, immunodulateur, immunotoxicité.

Abstract

The food supplement (Holy land) is an herbal parapharmaceutical product sold in Algeria. It is widely used by the population to stimulate the overall vitality and the body's defense system. Unfortunately, this type of preparation is not subjected to quality control.

In our approach, we tried to evaluate the effectiveness of this supplement by showing immune modulator effect. For this purpose, two doses were orally administered, the first dose of 36 mg/kg and the second of 72 mg/kg body weight of the mice.

The results obtained after 16 days of treatment, revealed an increase in the number of splenocytes and lymph node cells against a decrease of thymocytes and blood cells. However, a sever histological changes of the spleen, thymus and lymph nodes are observed.

These results contradict the regulatory effect of this product on the immunity, which leads as to approve its toxic and carcinogenic effect.

Keys words: food supplement, Immune system, immunomodulator, immuntoxicity.

الملخص

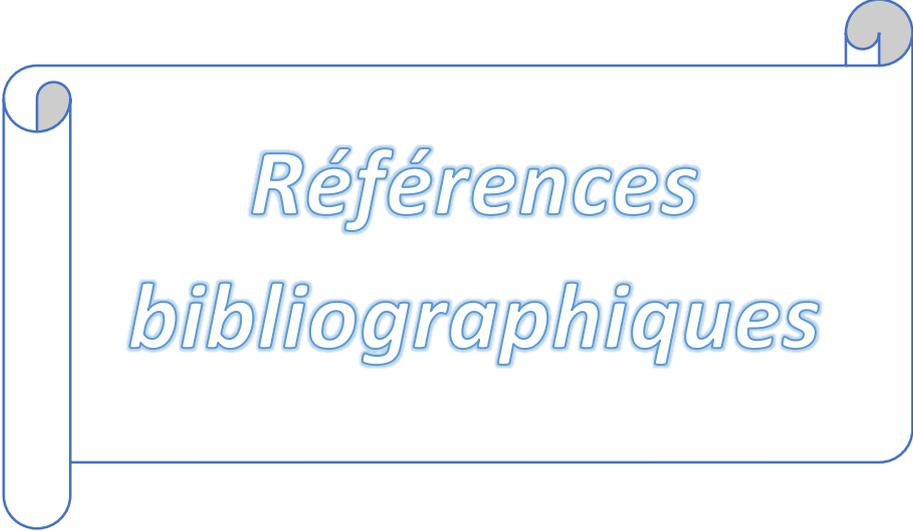
يعتبر المكمل الغذائي (هولي لاند) منتج شبه صيدلاني مكون من عدة أعشاب طبيعية، يتم استخدامه على نطاق واسع من قبل السكان في الجزائر من أجل تحفيز الجهاز المناعي. لكن وللأسف، لا يخضع هذا النوع من الخلطات لمراقبة الجودة.

من خلال بحثنا قمنا بتقييم فعالية هذا المكمل الغذائي وذلك بإظهار تأثيره على الجهاز المناعي. ولهذه الغاية عوملت الفئران بجرعتين الأولى 36مغ/كغ والثانية 72مغ/كغ من وزن الجسم عن طريق الفم.

وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها بعد 16 يوما من المعاملة، تزييدا في عدد الخلايا الطحالية وخلايا الغدد اللمفاوية بالمقابل لاحظنا انخفاض في عدد الخلايا السعترية والخلايا الدموية (الصفائح الدموية، الكريات الدموية البيضاء). من ناحية أخرى سجلت تغيرات على المستوى النسيجي لكل من الطحال، الغدة السعترية والغدد اللمفاوية.

سمحت لنا النتائج المتحصل عليها للإبطال الفعالية المزعومة لهذا المكمل الغذائي أدت على الجهاز المناعي مما يخول لنا الجزم اما بانه يحتوي على مواد مسرطنة او ان الأعشاب المكونة له لا تتماشى مع بعضها من حيث الكمية والنوعية.

الكلمات المفتاحية: المكمل الغذائي، الجهاز المناعي، المعدل المناعي، السمية المناعية.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Aabbas A.K., Letchman A.H. (2013). Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Traduction de la 3^{ème} édition anglaise, Elsevier Masson, Hong-kong, 283p.

Adaikan P.G. (2000). Proerectile pharmacological effects of Tribulus terrestris extract on the rabbit corpus cavernosum. Ann. Acad. Med. Singapore, 29(1): 22-6.

Adzet T., Camarasa J. & Laguna J.C. (1987). Hepathoprotective activity of polyphenolic compounds from *cynara scolymus* against CC 14 toxicity in isolated rat hepathocytes. Journal of naturel products, 50(4) : 612-617.

Amamou F. (2010). Effet de l'huile de colocuinte sur l'évolution pondérale et le profil lipidique chez le rat Wistar en croissance et en reçu un régime hyper gras. Mémoire en physiopathologie cellulaire. Université Abou baker belkaid Tlemcen, 49p.

Amandine C. (2014). Limites et risques de la phytothérapie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de lumoges, 212p.

Andrieu J.M., Colona P. & Lévy R. (1997). Cancers : guide pratique d'évaluation de traitement et de surveillance. Estem (ed). Paris, 1153p.

Aouadhi S. (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Etude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mastère spécialisé en toxicologie. Faculté de médecine de Tunis, 116p.

Auguel M., Delaflotte S., Hellegouarch A. & Clostre F. (1986). Pharmacological bases of the vascular impact of Ginkgo biloba extract. Presse Med, Sep 25, 15(31) : 1524-1528.

Bellard-Lesserre S. (2011). étude de rôle de sous population monocytaire dans l'obésité et l'insulinorésistance. Thèse de doctorat en physiologie et physiopathologie. Université pierre et marie curie, 111p.

Benhaddou A.A. (2009). Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de doctorat en Pharmacologie. Université de Montréal, 249p.

Bérubé-Gagnon J. (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'Université de Québec.

Birks J. & Grimley Evans J. (2009). Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia. Cochrane Database Syst Rev, 2 : CD003120.

Blumenthal MA., Goldberg J. & Brinckmann E.D.S. (2000). Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council. Austin.

Botrelle A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Larousse (ed), 296p.

Boujemaa N.Y. & Ben Guegua H. (2010). L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Mémoire en Biologie Option Microbiologie. Université Kasdi Merbah Ouargla, 60p.

Boukhari A. (2012). Rôle de mastocytes dans le développement des astrocytomes humains. Aspect cellulaire et moléculaire de la biologie : Université de Strasbourg, 242p.

Boskabady M.H., Shirmohammadi B., Jandaghi P. & Kiani S. (2004). Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. BMC Pharmacology, 4: 3-8.

Chabbi W. & hadjadj. A. (2014). Utilisation empirique d'une recette thérapeutique : effet sur le système immunitaire. Guelma. Mémoire de master en immunologie approfondie. Université 8 mai 1945, 43p.

Chakravarty N. (1993). Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. Annals of Allergy, 70 (3) : 237-242.

Chatenoud L. & Bach J.F. (2012). immunologie. 6^{ème} édition Lavoisier. Paris, 469p.

Choué C.W., Sung H.G., Park KH., Yoon S.Y., Kim S.J. & Oh S.C. (2003). Early lymphopenia as a risk factor for chemotherapy-and used febril neutropenia. Am G Hematol, 73: 6-263.

Delves P.J. & Roitt I.M. (2008). Fondements de l'immunologie. De boeck (ed). Bruxelles, 474p.

Descotes J. (2008). Immunotoxicité. EMC toxicologie_pathologie professionnelle, 10:16-537.

Duong Van Huyen J.P., Bayry J., Delignat S., Gaston A.T., Michel O., Bruneval P.,

Kazatchkine M.D., Nicoletti A. & Kaveri S.V. (2002). Induction of apoptosis of endothelial

cells by *Viscum album*: a role for anti-tumoral properties of mistletoe lectins. *Mol. Med*, 8: 600–606.

EL-Dakhakhny M. (1965). Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L. Some pharmacological properties of the seeds active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneimittelforschung*, 15: 1227-1229.

El Kadi A. & Kandil O. (1987): The black seed (*Nigella sativa*) and immunity: its effect on human T cell subset. *Federation Proceedings*, 46: 1222.

Elluru S.R., Duong Van Huyen J.P., Delignat S., Prost F., Heudes D., Kazatchkine M.D., Friboulet A & Kaveri S.V. (2009). Antiangiogenic properties of viscum album extracts are associated with endothelial cytotoxicity. *Anticancer Res*, 29 : 2945–2950.

El-Tahir K.E., Ashour M.M. & Al-Harbi M.M. (1993). The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *General pharmacology*, 24 : 1115-1122.

Eyquem A., Alouf J. & Montagnier L. (2000). *Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments.* Piccin (ed). Italie, 238p.

Janeway., Murphy., Travers. & walport. (2009). *Immunologie 3^{ème} édition.* De boeck (ed). Bruxelles. Paris, 899p.

Jacot E. (2002). *Contribution à l'étude de trubulus terrestris.* Doctorat en pharmacie. Université Henri éoincare-Nancy, 179p.

Hajtó T., Hostanska K., Berki T., Pálinkás L., Boldizsár F. & Németh P. (2005). Oncopharmacological Perspectives of a Plant Lectin (*Viscum album* Agglutinin-I): Overview of Recent Results from In vitro Experiments and In vivo Animal Models, and Their Possible Relevance for Clinical Applications. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2 :59–67.

Hammouda F.M., El Nasr M.M.S., Ismail S.I. & Shahat A.A. (1993a). Flavonoids of *cynara scolymus* L. cultivated in Egypt. *Plant foods for human nutrition*, 44(2): 163-169.

Hammouda F.M., El Nasr M.M.S., Ismail S.I & Shahat A.A. (1993b). Quantitative determination of the active constituents in Egyptian cultivated *cynara scolymus* L. *International journal of pharmacognosy*, 31(4): 299-304.

Homberg J.C. (2004). *Immunologie Fondamentale.* Copyrighted material (ed). Paris, 215p.

Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle-Féat T., Biaugeaud M., Ringuet J., Blouth J. & Strang C. (2006) : Larousse médical. Larousse (ed).

Gallois T. (2013). Étude expérimentale du pouvoir adjuvant du gui (*Viscum album*) en vaccination. Thèse pour le doctorat vétérinaire. La faculté de médecine de Créteil, 90p.

Geraud E.F. (2007). Les syndromes hématologiques d'origine toxique chez les carnivores domestiques : Etude clinique et synthèse bibliographique. THESE pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, 139p.

Kindt T.J., Glodsky R.A. & Osborne B.A. (2007). Immunologie. Le cours de Janis Kuby Avec questions de révision. Dunod (ed). Paris, 684p.

Mahmoudi S., Khali M & Mahmoudi N. (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* L.). Revue nature et technologie, 9 : 35-40.

Disponible en : http://www.memoireonline.com/03/12/5518/m_Atlas-des-risques-de-la-phytotherapie-traditionnelle-tude-de-57-plantes-recommandees-par-les-he32.html

Male D. (2005). Immunologie aide-mémoire. De boeck. England, 141p.

Mankele R.J., Ouamba M., Abena A.A. & Yala F. (2006). Etude des effets de Morinda morindoides sur le système immunitaire de l'homme. phytothérapie, 2: 68-73.

Marieb E., Hoehn k., Mossakova L., Lachaine R. & Desbiens A. (2015). anatomie et physiologie humaines. De boeck (ed). Montréal, 756p.

Merrill D.C., Granwehr B.P., Davis D.R. & Sigmund C.D. (1997). Use of transgenic and gene-tragted mice to model the genic basis of hypertensive disorders. Poroc assoc am physicians, 109: 503-546.

Morazzoni P. & Bombardelli E. (1995). *Silybum marianum*. Fitoterapia, 66(1): p3-49.

Parham P. (2003). Le système immunitaire. De boeck (ed). Bruxelles. Paris, 407p.

Pebret F. (2003). Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Heure de France (ed). Paris, 593P.

- Pezzutto A., Brumestre G., Ulrichs T. & Aicher A. (2000).** Atlas de poche d'immunologie : bases, analyses biologiques, pathologies. Médecine Science (ed). Paris, 293p.
- Revillard JP. (2001).** Immunologie. De boeck (ed). Bruxelles, 593p.
- Salem M. (2005).** Immunomodulatory and therapeutic properties of *Nigella sativa L.* seed. Int Immunopharm, (5): 1749-1770.
- Salem M. & Hossain M. (2000).** Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. Int J Immunopharmacol, 22 (9), pp. 729-740.
- Saroj P., Verma M., Jha K.K & pal M. (2012).** An overview on immunomodulation. Journal of Advanced Scientific Research, 3(1): 07-12.
- Sayed M.D. & Marini Bettelo G.B (1980).** Traditional medicine in health care. Journal of a thnopharmacology. Traditional medicine: a world survey on medicinal plants and herbs, 2(1): 19-22.
- Shirouchi B., Nagao K., Inoue N., Ohkubo T., Hibino H & Yanagita T. (2007).** Effect of dietary omega 3 phosphatidylcholine on obesity-related disorders in obese Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. J Agric Food Chem, 55:71 -76.
- Schnébelen BA., Goetz P. & Paris M. (2006).** Tout savoir sur les plantes médicinales. Sélection du Reader's Digest (ed). Paris, 252p.
- Sver L., Orseli N., Tadic Z., Njari B. & Valpoti I. (1996).** A royal jelly as a new pontential immunomodulator in rats and mice. *Comp immun. Microbial infect dis*, 19 (1):31-38.
- Szila S., Szentgui D. & Demeter J. (1988).** Protective effect of legalon in works exposed to organic solvent: Acta Med Hung, 45(2): 249p.
- Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J. & Hilali A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa L.* (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*), 6(4) : 1111-1117.
- Talasaz A.H., Abbasi M.R., Abkhiz S. & Dashti-khavisakiS. (2010).** *Tribulus terrestris*-induced severe nephrotoxicity in a young healthy male. Nephrol Dial Transplant. 25 : 3792-3793.

- Tchantchou F., Lacor P.N., Cao Z.M., Lao L.X., Hou Y. & Cui CH. (2009).** Stimulation of neurogenesis and synaptogenesis by bilobalide and quercetin via common final pathway in hippocampal neurons. *Alzheimers Dis.* 18: 787-98.
- Weill B. & Batteux F. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. De boeck (ed). Bruxelles, 310p.
- Winther K., Randierv C., Rein E. & Mehisen J. (1998):** Effect of Ginkgo biloba extract on cognitive functions and blood pressure in elderly subjects. *Current Therapeutic Res.* Dec 59(12) : 881-888.
- Xiarui Zhang. (1998).** Règlementation des médicaments à base de plantes. Genève : organisation mondiale de la santé, 49p.
- Yoshikawa., Naito. & Kondo. (1999).** Ginkgo Biloba leaf extract: review of biological actions and clinical applications. *Antioxid RedoxSignal.* Winter, 1(4): 469-480.
- Zeghad N. (2009).** Étude du contenu polyphénolique de plante médicinale d'intérêt économique. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en biotechnologie végétale. Université mantouri, 96p.

Webographie

[1] : **Estelle D.** la moelle-osseuse

<http://www.estelledaves.com/pages/symbolique-du-corps/m/moelle-osseuse.html>. (Consulté le 13/02/2016).

[2] : **Denis C., Clément C., Cardenas J et Bazerolle B.** Nigelle

<http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/nigelle.htm> (Consulté le 19/02/2016).

[3] : **Anonyme.** Gui (*Viscum Album*)

<http://www.mr-plantes.com/2010/08/gui-viscum-album/> (consulté le 20/02/2016).

[4] : **Anonyme.** Gui (*Viscum Album*)

<http://www.centreantipoisons.be/nature/plantes/les-plantes-toxiques/gui-viscum-album> (consulté le 20/02/2016).

[5] : **Anonyme.** Citrouille (huile et graines)

http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=citrouille_huile_graines_ps (consulté le 30/02/2016).

[6] : **Anonyme.** Les graines de citrouille, nourrissantes et surtout les amies indispensables de l'homme

<http://www.masantenaturelle.com/chroniques/sante/graines-citrouilles.php> (consulté le 30/02/2016).

[7]: **Anonyme.** Ginkgo biloba

<http://mr-ginseng.com/ginkgo-biloba/> (consulté le 1/03/2016).

[8]: **Anonyme.** Ginkgo biloba

<http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/ginkgo-biloba.htm> (consulté le 01/03/2016).

[9] : **Anonyme.** Le chardon marie : une plante pour la digestion.

<http://www.gralon.net/articles/sante-et-beaute/medecine-douce/article-le-chardon-marie---une-plante-pour-la-digestion-5623.htm> (consulté le 18/03/2016).

[10] : **Anonyme.** Chardon marie

<http://www.mr-plantes.com/2016/03/chardon-marie/> (consulté le 19/03/2016).

[11] : **Anonyme.** Chardon-marie

http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=chardon_marie_ps (consulté le 19/03/2016).

[12] : **Anonyme.** Graines de lin

<http://www.mr-plantes.com/2010/08/graines-de-lin-linum-usitatissimum/> (consulté le 23/03/2016).

[13] : **Anonyme.** Lin : mise en garde, dangers

<http://www.guide-phytosante.org/acides-gras-omegas-3/lin/mise-garde-dangers.html>

(Consulté le 24/03/2016).

[14] : **Anonyme.** *Tribulus terrestris*

<http://www.mr-plantes.com/2016/02/tribulus/> (consulté le 28/03/2016).

[15] : **Anonyme.** *Tribulis terrestris* bienfait, propriété, effet secondaire

<http://odlg.org/1881/Tribulus-Terrestris-Proprietes-Bienfaits-Effets-Secondaires> (consulté le 01/04/2016).

[16] : **Anonyme.** *Tribulus Terrestris*

<https://www.santenatureinnovation.com/tribulus-mefiez-vous-de-promesses-trop-allechantes/> (consulté le 03/04/2016).

[17] : **Anonyme.** Artichaut

<http://www.mr-plantes.com/2014/09/cynara-scolymus-2/> (consulté le 04/04/2016).

[18] : **Anonyme.** Ginkgo Biloba et perte de poids

<http://www.oemglass.net/43DXRM9DJ/> (consulté le 25/05/2016).

[19] : **Anonyme.** Complications de la leucopénie

<http://leucopenia.net/fr/complications-de-la-leucopenie/> (consulté le 27/05/2016).

[20] : **Anonyme.** thrombocytopénie ou hypoplaquettose

<http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/thrombocytop%C3%A9nie/16572> (consulté le 28/05/2016).

Annexe

Solutions utilisées

Protocole de préparation de la solution du PBS :

L'obtention de la solution de PBS nécessite une préparation préalable d'une solution d'HCl et d'NaOH.

- Préparation du NaOH :

NaOH : 0.4g.
Eau distillée : 100ml.

- Préparation d'HCl :

HCl : 0.93ml.
Eau distillée : 90.7ml.

- Pour la solution de PBS :

Na Cl	9g	} est dissous dans un 1L d'eau distillée
Na ₂ H ₂ PO ₄	0.32g	
Na ₂ HPO ₄	1.09g	

Pour ajustée le pH de cette solution a 7.2, les solutions du NaOH et HCl utilisées.

Protocole de préparation de la solution de lyse :

Mettre 0.83 g du NH₄ Cl dans 100 ml d'eau distillée puis agiter a l'aide d'un agitateur magnétique et enfin filtrer ce mélange sur un papier whatman N°2.

Préparation de Formaldéhyde 10% :

- Formaldéhyde 34 % 147 ml
- Eau distillée 353 ml