

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

Spécialité/Option: Biologie moléculaire et cellulaire : Immunologie approfondie

Département: Biologie

Thème

Effet des polysaccharides extraits *d'Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation intestinale

Présenté par:

ROUABEH Sara

CHIROUF Khadidja

COULIBALY Boubacar

Devant la commission composée de :

Dr. SANSRI S.

Pr. BENDJEDDOU D.

Mme KAIDI S.

Dr. BOUKEMARA H.

Mr. HEMISSI A.

Dr. YOUNSI M.

Présidente

Encadreur

Examinatrice

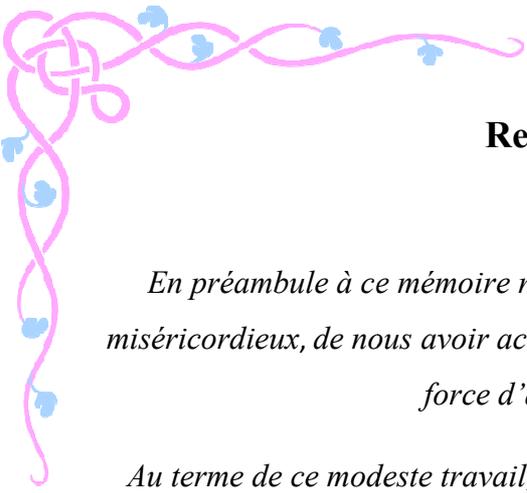
Membre

Membre

Membre

Université de Guelma

Juin 2017



Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH, le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir accordé le courage, la volonté, la patience et la force d'accomplir ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude

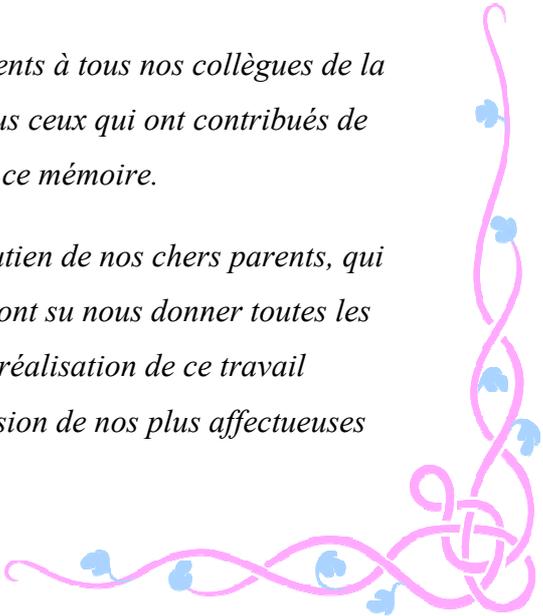
Pr. BENDJEDDOU D. maitre de conférences au département de Biologie, Faculté de S.N.V et S.T.U université de Guelma-08 Mai 1945 qui a accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port. Nous remercions également Dr SANSRI S., madame KAIDI S., DR BOUKEMARA H., monsieur HEMICI A. ET DR YOUNSI M. d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail.

Nos vifs et sincères remerciements vont à M^r ZITOUNI A. professeur de botanique pour son aide. Soyez assuré de toute notre reconnaissance pour avoir éclairé nos idées concernant la plante étudiée. Merci pour votre disponibilité.

Nos remerciements vont également à tout le personnel des laboratoires pédagogiques et laboratoire de recherche, trouvez ici nos vives reconnaissances pour votre aide techniques si précieuses.

Nous exprimons également nos sincères remerciements à tous nos collègues de la promotion 2012-2016, nous ne saurons oublier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, tout ceci n'aurait pas été possible sans le soutien de nos chers parents, qui nous ont toujours soutenus, encouragés et aidés. Ils ont su nous donner toutes les chances pour réussir, qu'ils trouvent dans la réalisation de ce travail l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de nos plus affectueuses grâces.





Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux.

J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, qu'Allah leur prête bonheur et longue vie.

Je dédie aussi ce travail à mes chers grands parents qui m'ont toujours soutenu et épaulé dans la vie.

A mon frère, je te souhaite une bonne continuation.

A mes professeurs qui m'ont enseigné.

A mes amis et à tous ceux qui nous sont chers.

Khadija





Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes chers parents : que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement contenu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mes chères sœurs, mes chers amis : je vous souhaite une vie heureuses et pleine de succès.

Pour tous mes enseignants : aucune dédicace ne sera en mesure de vous remercier assez pour ce que vous m'avez offert.

Sara





Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord à ma très chère mère, ma source de force et d'inspiration, un puits inépuisable d'amour et d'espoir pour l'éducation qu'elle m'a prodigué, les innombrables sacrifices qu'elle consentit pour moi, son soutien et ses prières tout au long de ma vie.

Puisse Allah te donner une très longue vie.

A mon père, mon premier modèle et mon premier concurrent pour le sens de responsabilité, de courage, et de devoir qu'il n'a jamais cessé de m'enseigner.

A mon oncle Bagnini Koumaré, qu'Allah lui accorde le paradis Firdaous. A mon oncle Drissa Koumaré, à monsieur Badjigui Fané et Foutigui Diarra, et à mon oncle Bekaye Touré sans qui je n'aurais jamais atteint ce niveau.

A tous mes frères et sœurs, oncles et tantes, pour leurs encouragement, dévouement et leur soutien inébranlable, ainsi qu'à tous les maliens de Guelma de 2012 à maintenant.

A toute ma famille de Ségou et de Daoudabougou.

A tous mes amis de partout le monde une très longue liste, je ne saurais citer de noms au risque d'en oublier, mais très particulièrement à ceux d'Algérie qui ont été un très grand soutien morale durant ces cinq années passées.

Je vous remercie infiniment.

Boubacar

Table des matières

Titre	Page
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Liste des abréviations	XI
Introduction	01
Revue bibliographique	
Chapitre I	03
1. Organisation et structure de la muqueuse intestinale	03
1.1 Organisation	03
1.1.1 Le mucus	04
1.1.2 L'épithélium	04
1.1.3 Les jonctions serrées	06
1.2 Structure et fonction	06
1.2.1 La paroi musculaire (<i>Muscularis mucosae</i>)	06
1.2.2 La sous muqueuse	06
1.2.3 Le chorion ou lamina propria	07
2. Le système lymphoïde muqueux associé à l'intestin (GALT)	07
2.1 Le tissu lymphoïde organisé	08
2.1.1 Les plaques de Peyer	08
2.1.2 Les ganglions mésentériques	09
2.2 Le tissu lymphoïde diffus	10
2.2.1 Le compartiment de la lamina propria	10
2.2.2 Le compartiment intra-épithélial	10
3. La flore intestinale	11
3.1 La tolérance immunologique vis-à-vis de la flore intestinale	12
3.2 Les fonctions protectrices du microbiote intestinal	12

3.2.1	Fonction de barrière	12
3.2.2	Fonction immunitaire	13
4.	La réponse immunitaire au niveau intestinal	13
4.1	Les acteurs de la réponse immunitaire intestinale	13
4.1.1	Les récepteurs cellulaires	13
4.1.2	Les cellules effectrices	14
4.2	L'immunité innée et adaptative au niveau intestinal	16
4.2.1	La réponse immunitaire innée	16
4.2.2	La réponse immunitaire adaptative	17
Chapitre II	20
1.	Généralité sur l'inflammation	20
2.	Les types de l'inflammation	20
2.1	L'inflammation aiguë	20
2.2	L'inflammation chronique	20
3.	Les médiateurs chimiques de l'inflammation	21
4.	Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	22
4.1	La maladie de Chron	24
4.2	La rectocolite hémorragique	24
5.	Physiopathologie des MICI	25
Chapitre III	27
1.	Phytothérapie et plantes médicinales	27
2.	La médecine traditionnelle en Algérie	27
3.	Présentation de la plante étudiée <i>Anacyclus pyrethrum</i>	28
3.1	Description botanique	28
3.2	Nomenclature et taxonomie	28
3.3	Ecologie et répartition géographique de la plante	29
3.4	Etude phytochimique de la plante	29

3.5 Usage thérapeutique de la plante	30
4. Les polysaccharides végétaux	31
4.1 Généralité.....	31
4.2 Usage thérapeutique des polysaccharides végétaux.....	32
4.2.1 Activité immunostimulante	32
4.2.2 Propriété anti inflammatoire	33
4.2.3 Activité antivirale	33
4.2.4 Activité anti-tumorale	33
4.2.5 Autres activités thérapeutiques	34
 Partie expérimentale	
1. Matériel et méthodes	35
1.1 Matériel végétal.....	35
1.2 Matériel animal	36
1.3 Protocole expérimental.....	36
1.3.1 L'extraction des polysaccharides	36
1.3.2 Traitement des souris	37
1.3.3 Prélèvement des échantillons	38
 Résultats et discussion	
Résultat	41
1. Extraction des polysaccharides	41
2. Traitement des souris	42
2.1 Effet du traitement sur le poids corporel	42
2.2 Effet du traitement sur la longueur du côlon	43
2.3 Effet du traitement sur le poids du côlon	44
2.4 Effet du traitement sur l'aspect macroscopique	45
2.5 Score macroscopique du dommage du côlon	47
2.6 Effet du traitement sur le poids de la rate	47

2.7 Effet du traitement sur la formule numérique sanguine	48
2.8 Effet du traitement sur les macrophages intra- péritonéaux	50
2.9 Effet du traitement sur les cellules des plaques de Peyer	50
2.10 Effet du traitement sur les splénocytes	50
2.11 Effet du traitement sur l'histologie du côlon	52
Discussion	55
Conclusion et perspectives	59
Annexes	I
Bibliographie	II
Résumé	III
Abstract	IV
الملخص	V

Liste des figures

Titre	Page
Figure 01 : Anatomie de l'appareil digestif	03
Figure 02 : Structure de la muqueuse intestinale	07
Figure 03 : Le système lymphoïde associé à l'intestin.....	08
Figure 04 : Répartition et composition de la flore bactérienne intestinale.....	11
Figure 05 : Aperçu général sur l'immunité de la muqueuse intestinale.....	17
Figure 06 : Localisation des atteintes intestinales dans la MC et la RCH.....	23
Figure 07 : Les cytokines impliquées dans la pathogenèse des MICI	26
Figure 08 : <i>Anacyclus pyrethrum</i>	28
Figure 09 : Racines d' <i>Anacyclus pyrethrum</i> avant et après séchage.....	36
Figure 10. Poudre des racines d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	36
Figure 11 : Déroulement du traitement des souris	38
Figure 12 : Résultats de l'extraction des polysaccharides à l'eau chaude.....	41
Figure 13 : Effet du traitement sur la longueur du côlon	43
Figure 14 : Effet du traitement sur la longueur et l'aspect macroscopique des côlons.....	44
Figure 15 : Effet du traitement sur le poids du côlon.....	45
Figure 16 : Aspect de l'iléon chez les témoins sains et malades.....	46
Figure 17 : Plaques des Peyer bien développées chez la souris traitées (50mg/kg).....	46
Figure 18 : Effet du traitement sur le poids de la rate	48
Figure 19 : Effet du traitement sur les taux des lymphocytes, monocytes et neutrophiles	49
Figure 20 : Effet du traitement sur le nombre des macrophages péritonéaux.....	50
Figure 21 : Effet du traitement sur le nombre des cellules des plaques de Peyer	51
Figure 22 : Effet du traitement sur le nombre des splénocytes	52
Figure 23 : Effet du traitement sur l'histologie du côlon des souris	54

Liste des tableaux

Titre	page
Tableau 1 : caractéristiques des principales polarisations des lymphocytes TCD4+.....	18
Tableau 2 : Cytokines impliquées dans le déroulement de la phase aiguë de l'inflammation.....	21
Tableau 3 : Médiateurs inflammatoires d'origine cellulaires.....	22
Tableau 4 : Taxonomie d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	29
Tableau 5 : Quelques données chimiques sur l' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	30
Tableau 06. Informations du site de récolte de la plante étudiée	35
Tableau 7 : Récapitulatif des variations du poids corporel avant et après le traitement	43
Tableau 8 : Le score de dommage macroscopique du côlon.....	47
Tableau 9 : Effet du traitement sur la formule numérique sanguine	49

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

CCR7 : Chimiotactique de type CCR de numéro 7.

CD : cluster différenciation ou Antigène de différenciation.

Cellules M : Cellules Microfold.

CMH I : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I.

CMH II : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type II.

CPA : Cellules présentatrice d'antigènes.

CXC : Chimiotactiques de type CXC.

DC ou **CD**: Cellule dendritique.

EGF: Epidermal Growth Factor.

FAE: Follicle Associated Epithelium.

FGF : Facteur de croissance des cellules endothéliales.

Foxp3+ : Forkheadbox Protein 3+.

GALT : (Gut associated lymphoid tissue) : tissu lymphoïde associé au tube digestif.

GATA 3 : Facteur de polarisation vers Th2.

GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony stimulating factor.

HEV: High Endothelial Venule.

IEL: Intra-epithelial lymphocyte.

IFN γ : Interféron gamma.

IRAK 1: IL-1 receptor-associated kinase.

LP : lamina propria.

LT $\gamma\delta$: Lymphocyte T non conventionnel.

LT $\alpha\beta$: Lymphocyte T conventionnel.

MALT : Mucosa-Associated Lymphoid Tissue : Tissus lymphoïdes associé aux muqueuses.

MAMP: Microbe Associated Molecular Pattern.

MC: maladie de Crohn.

MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

MLN: Mesenteric Lymph Nodes.

NK: cellules Natural killer.

NKT : Cellules Natural killer ayant les récepteurs des cellules T.

NLR: Nod Like receptor.

NOD: Nucleotide-binding oligomerization domain.

ON : oxyde nitrique.

PAF : Facteurs d'activation des plaquettes.

PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern.

PDGF: Platelet-derived growth factor.

PGE2: Prostaglandine E-2.

PNN : Polynucléaires neutrophiles.

PP : plaques de Peyer.

PRR: Pattern Recognition Receptors.

RCH: Recto-colite hémorragique.

ROR γ t : Facteur de polarisation vers Th17.

ROS: Reactive Oxygen species.

SED: dôme subépithélial.

T-Bet : Facteur de polarisation vers Th1.

TDA : Thymus Dependant Area.

TGF- β : Facteur de croissance des tumeurs β .

TIL: Tumor Infiltrating Lymphocytes.

TLR: Toll-Like receptor.

TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha.

Tr1 : cellules T régulatrice de type 1.

Treg : cellule T régulatrice.

Introduction

Introduction

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, notamment la disponibilité d'une gamme large de produits de santé, les traitements médicamenteux actuels restent insuffisants face aux maladies.

L'émergence des maladies inflammatoires intestinales, ainsi que la résistance des agents microbiens aux traitements actuels, soulignent l'urgence de la recherche de nouveaux agents thérapeutiques. Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), des glucocorticoïdes et des antibiotiques. Tous ces médicaments, quelles que soient leurs voies d'administration exposent aux risques de toxicité gastro-intestinale et à d'autres effets secondaires. Dans ce contexte, nous nous sommes posé la question de l'intérêt du traitement de l'inflammation par la phytothérapie, avec moins d'agressivité et sans créer des effets secondaires.

L'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer, le règne végétal constitue une source inépuisable de nouvelles molécules utilisables directement comme principes actifs ou pouvant servir comme molécule guide pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

De par sa situation géographique et la diversité de son climat, l'Algérie est un pays riche en substances naturelles parmi les plus rares au monde, et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique utilisées en traitement curatif et préventif (**Beloued, 1998**).

C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude qui concerne une plante médicinale locale, de la famille des *Asteraceae*, en l'occurrence l'*Anacyclus pyrethrum*, une plante vivace commune notamment dans le tell constantinois. La médecine traditionnelle locale utilise les racines de cette espèce médicinale, connue sous l'appellation de « Guentess » pour traiter diverses pathologies. Par ailleurs, les recherches bibliographiques sur les travaux effectués sur cette plante ont montré que la chimie de l'espèce reste insuffisamment étudiée.

Le but de notre étude est d'examiner les effets immunomodulateurs des polysaccharides extraits à l'eau chaude à partir des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation intestinale induite chez des modèles murins par l'acide acétique, et sur les cellules immunitaires impliquées dans la réaction inflammatoire.

La présente étude s'articule autour de trois parties : la première partie à savoir une recherche bibliographique comportant trois chapitres, dans lesquels nous évoquerons le système immunitaire intestinal, les maladies inflammatoires de l'intestin et leur physiopathologie, l'aspect botanique et phytochimique de la plante étudiée ainsi que le rôle des polysaccharides seront également détaillés. Une seconde partie expérimentale nous permettra de décrire le matériel et les différentes méthodes suivies dans notre étude. La troisième partie est consacrée à la présentation des principaux résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Pour finir ce travail, nous citerons une conclusion générale et des perspectives. Nous vous souhaitons une excellente lecture parsemée de découvertes au fil de s prochaines pages.

Partie 1

Revue bibliographique



Chapitre I

1. Organisation et structure de la muqueuse intestinale

1.1 Organisation

Situé aux interfaces épithéliales de l'organisme, le système immunitaire muqueux est la première ligne de contact avec les antigènes.

L'épithélium intestinal humain représente une surface comprise entre 200 et 300m² de muqueuse (Hao et Lee, 2004), et correspond ainsi à la plus grande surface du corps constamment exposée à des substances environnementales, à des nutriments et aux micro-organismes (Lotz *et al.*, 2007). Ainsi, on considère que l'intestin est le premier organe immunitaire de l'organisme humain car 60% à 70% des cellules immunes sont présentes dans la muqueuse intestinale.

L'intestin grêle est l'organe-clé de l'immunité, puisqu'il doit sélectionner en quelque sorte les bons des mauvais nutriments. Anatomiquement, d'une longueur de 4 à 5 m, il se compose de trois segments : le duodénum, le jéjunum et l'iléon, auquel fait suite le gros intestin avec 1 à 1,5m de long, qui est composé de trois segments : le cæcum, le côlon et le rectum.

(Figure 01).

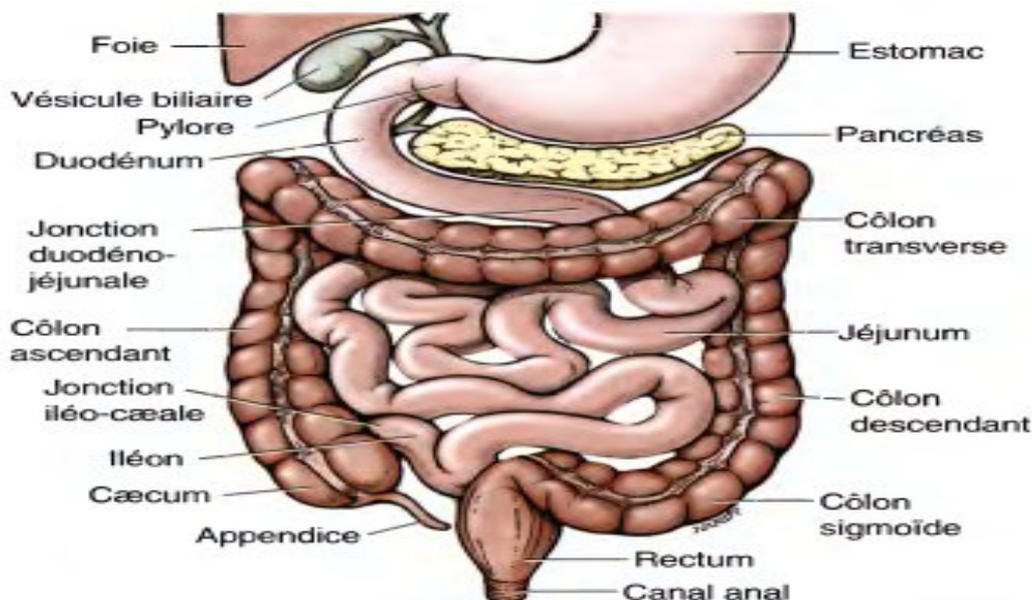


Figure 01. Anatomie de l'appareil digestif (Moore et Daley, 2006)

La muqueuse intestinale endosse le long du tractus gastro-intestinal le rôle de barrière immunologique, physiologique et physique : elle est structurée en trois niveaux de protection (Mc Guckin *et al.*, 2011).

1.1.1 Le mucus

C'est un hydrogel visqueux, situé dans la lumière intestinale permettant la diffusion de macromolécules et l'absorption gastro-intestinale, mais il fournit également une barrière physique efficace contre les micro-organismes, par ces caractéristiques physico-chimiques tels que la force ionique et le pH, ainsi que la sécrétion de mucus, jouant un rôle important dans de nombreuses pathologies (**Bergstorm et al., 2010**).

1.1.2 L'épithélium

L'épithélium intestinal est une monocouche de cellules non hématopoïétiques constituant une barrière physique et immunologique entre le milieu extérieur (le lumen) et le milieu interne de l'organisme. Il est composé de villosités et de cryptes ainsi que de composants cellulaires épithéliaux et endothéliaux. (**Mc Dermott et Huffnagle, 2014**).

Le degré de plasticité élevé de l'épithélium intestinal (modification de la densité et de la hauteur villositaire, de la profondeur des cryptes et de la vitesse de renouvellement épithélial) lui permet de lutter contre les agents pathogènes.

a) Les villosités : ce type de structure est présent dans l'intestin grêle mais pas dans le côlon. Elles présentent des expansions vers la lumière avec un axe villositaire tapissé par l'épithélium de surface. Cet épithélium est prismatique, simple et est constitué des différents types cellulaires. On y trouve principalement :

- **Des entérocytes :** elles représentent 80% des cellules de l'épithélium. Ces cellules sont responsables de la fonction d'absorption de l'intestin. Elles présentent également à leur côté apical des microvillosités afin d'augmenter les capacités d'échanges. Leur pôle apical, très spécialisé, porte de 2000 à 3000 microvillosités très serrées recouvertes de glycocalyx.
- **Des cellules caliciformes (cellules à mucus ou Goblet cells) :** ces cellules sont spécialisées dans la production de mucus qu'elles relarguent dans la lumière intestinale.
- **Les cellules entéro-endocrines :** sécrétant des neuromédiateurs, notamment la sérotonine impliquée dans la motilité intestinale.
- **Les cellules M (pour Microfold) :** cellules épithéliales distinctes des entérocytes situées exclusivement au niveau de l'épithélium associé aux

follicules qui surplombent le tissu lymphoïde associé aux muqueuses. Ces cellules sont structurellement et fonctionnellement spécialisées dans le transport trans-épithélial d'antigènes depuis la lumière intestinale jusqu'aux cellules immunitaires appartenant à la muqueuse. Les cellules M sont polarisées (avec un pôle apical et un pôle basolatéral) et forment des jonctions serrées avec les cellules adjacentes. Ces cellules sont caractérisées par la présence d'un sous-domaine particulier au niveau du pôle baso-latéral qui amplifie la surface cellulaire et permet la formation d'une poche où les lymphocytes intra-épithéliaux pourront se fixer. Cette caractéristique des cellules M permet de raccourcir la distance à parcourir pour les vésicules trans-épithéliales avant d'atteindre le pôle basolatéral et la présentation des antigènes capturés au système immunitaire sous-jacent (**Kraehenbuhl et Neutra, 2000**).

b) Les cryptes : les glandes de Lieberkühn, ou cryptes, sont invaginées en forme de doigts vers la paroi musculaire. On y retrouve 5 types cellulaires :

➤ **Les cellules caliciformes et les entérocytes :** sont identiques à celles rencontrées dans les villosités mais en quantité légèrement inférieure.

➤ **Les cellules dites « intermédiaires » :** sont des cellules immatures encore capables de se diviser et situées au fond des cryptes. Elles vont migrer le long des villosités, lors de leurs différenciations.

➤ **Les cellules neuroendocrines intestinales :** elles sont responsables de plusieurs types de sécrétions tels que celle de la sérotonine, de la sécrétine, de la substance P et de la neurotensine. Ces cellules représentent 1% des cellules épithéliales de la muqueuse et expriment des marqueurs de différenciation neuronale (protéines de la famille des neurotrophines).

➤ **Les cellules de Paneth :** elles sont situées à la base des cryptes. Ces cellules sont spécialisées dans la sécrétion de molécules antimicrobiennes.

➤ **Les cellules souches :** localisées également au fond des cryptes et assurent le renouvellement très rapide de l'épithélium. Ces cellules souches peuvent se différencier en chacune des espèces cellulaires non hématopoïétiques de l'épithélium intestinal et migrent vers l'axe crypto-villositaire. Lorsque l'épithélium est détruit par un pathogène ou plus généralement par une rupture de l'homéostasie intestinale, les cellules souches se multiplient pour remplacer les entérocytes endommagés et de ce fait la longueur des cryptes augmente.

1.1.3. Les jonctions serrées

La fonction barrière des jonctions serrées se définit par la capacité des surfaces recouvertes d'endothélium et d'épithélium à restreindre, de manière différenciée, le passage de l'eau, des ions et des solutés plus gros, en fonction de leur taille et de leur charge, via l'infiltration paracellulaire. La présence de facteurs de stress ou l'exposition à de tels facteurs menace l'intégrité des jonctions serrées, entraînant une augmentation de la conductance des ions à travers la voie paracellulaire. Ce phénomène, souvent connu sous le terme de syndrome de l'intestin perméable, permet surtout aux agents pathogènes, endotoxines et mycotoxines de s'infiltrer dans l'ensemble de l'organisme, en diminuant l'intégrité des jonctions serrées et en augmentant ainsi leur passage dans la circulation générale.

1.2. Structure et fonction

Bien que la structure de la muqueuse varie en fonction des différents segments du tractus gastro-intestinal, elle est principalement constituée de quatre couches successives commençant par l'épithélium qui a été détaillé précédemment :

1.2. 1. La paroi musculaire (*Muscularis mucosae*)

Il s'agit d'une couche musculaire fine, permet des mouvements localisés de la muqueuse intestinale et des villosités favorisant l'absorption des nutriments grâce à une quantité variable de tissu élastique et à deux minces plans de muscle lisse; un plan musculaire circulaire interne que l'on retrouve dans les villosités et d'un plan musculaire longitudinal externe. C'est une couche musculaire lisse qui permet le nettoyage complet de la muqueuse grâce à ses petites contractions (Colarelli, 1984).

1.2.2. La sous-muqueuse

Le tissu conjonctif est très dense, c'est le siège intestinal de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques. Il est parcouru par un réseau de fibres sympathiques, le plexus de Meissner, acteur de la motilité digestive. C'est aussi le site des follicules lymphatiques appartenant à la famille des GALT (tissu lymphoïde associé au tube digestif) tels que les plaques de Peyer (PP) situées dans l'iléon (Colarelli, 1984).

1.2.3. Le chorion ou lamina propria

La lamina propria (LP) de la muqueuse intestinale est un tissu conjonctif lâche situé sous l'épithélium, renfermant de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques permettant de nourrir les cellules épithéliales et de transporter les nutriments. La lamina propria contient également des cellules hématopoïétiques (lymphocytes, cellules présentatrices d'antigène), libres ou contenues dans des nodules lymphatiques, fournissant une ligne de défense contre les germes microbiens (et autres agents vecteurs de maladies) franchissant la barrière épithéliale. Les nodules lymphatiques présents dans la LP peuvent former, après stimulation antigénique des agrégats appelés plaques de Peyer (**Figure 02**). Ces follicules sont composés d'un tissu conjonctif particulièrement riche en lymphocytes T, B, en neutrophiles et macrophages et en éosinophiles (**Lee *et al.*, 1988**).

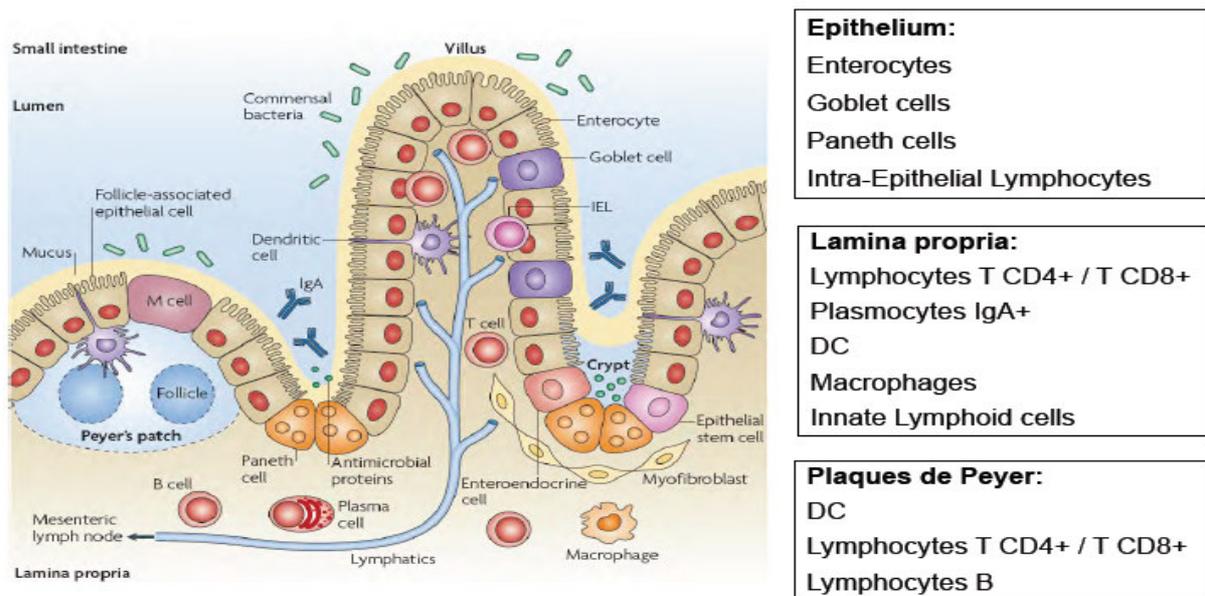


Figure 02. Structure de la muqueuse intestinale (Abreu, 2010)

2. Le système lymphoïde muqueux associé à l'intestin

(GALT- Gut Associated Lymphoid Tissue)

Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT) forment une partie des organes lymphoïdes secondaires qui se situent de manière diffuse dans différents organes du corps, toujours sous l'épithélium de la muqueuse. Ces tissus lymphoïdes sont histologiquement et fonctionnellement proches des follicules trouvés dans

les ganglions, le plus important (quantitativement) est le tissu lymphoïde associé au tube digestif (Gut-Associated Lymphoid Tissue [GALT]), situé dans le chorion de l'intestin grêle, il tient un rôle clé dans l'immunité locale et générale.

C'est le plus gros tissu immunitaire, il contient, à lui seul, plus de lymphocytes et de cellules productrices d'immunoglobulines que la moelle osseuse, la rate et les nœuds lymphatiques réunis. La population de lymphocytes y est très hétérogène (Elwood et Garden, 1999).

Le GALT est morphologiquement et fonctionnellement divisé en deux parties : le tissu lymphoïde organisé et le tissu lymphoïde diffus (figure 03).

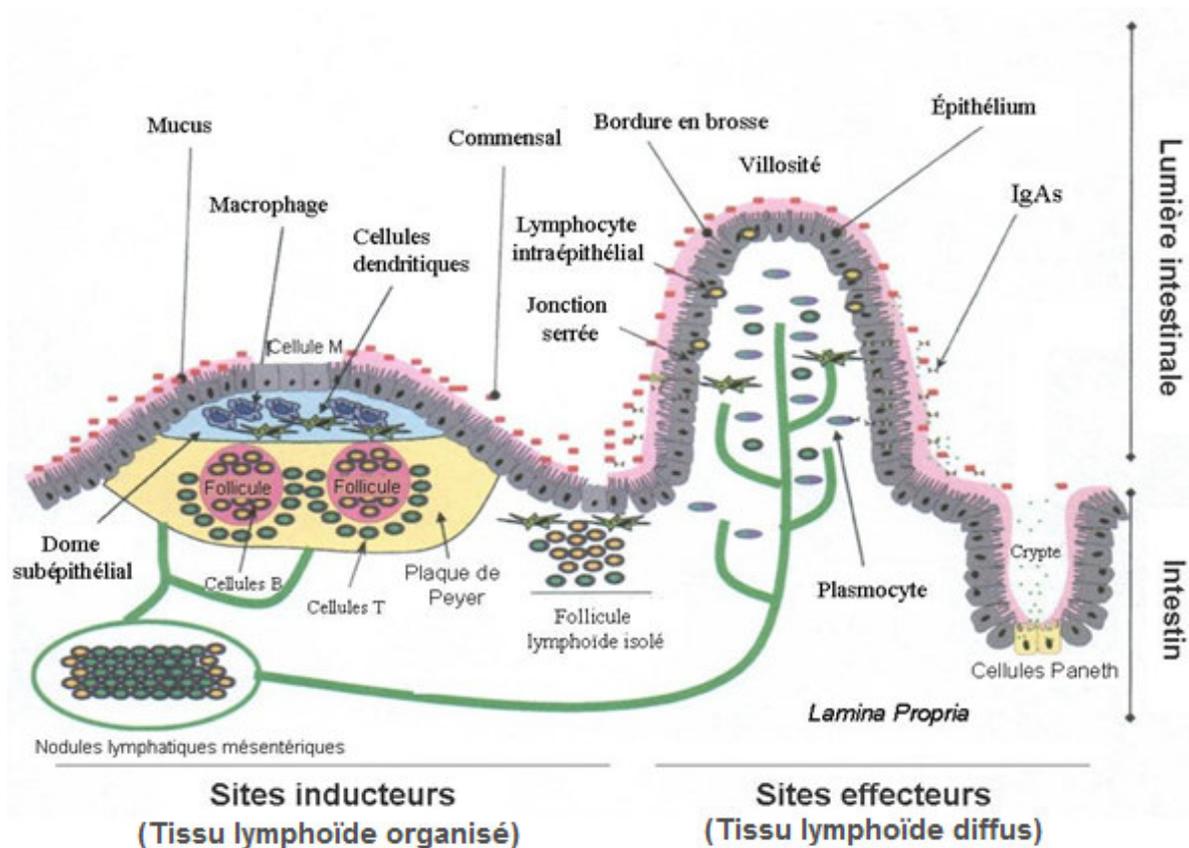


Figure 03. Le système lymphoïde associé à l'intestin (Gagnon, 2007).

2.1. Le tissu lymphoïde organisé

2.1.1. Les plaques de Peyer

Les plaques de Peyer sont distribuées chez la souris tout au long de l'intestin grêle. Elles sont composées de trois éléments essentiels :

- Le FAE (Follicle Associated Epithelium) : est infiltré par un grand nombre de cellules B et T, de cellules dendritiques et de macrophages. Au centre du FAE, les

entérocytes se différencient en cellules M (Microfold), dépourvues de microvillosité à leur pôle apical et très invaginées à leur pôle basal. Les cellules B sont spécialisées dans la production des anticorps contre les antigènes partagés par beaucoup d'espèces bactériennes et ceci même en l'absence de stimulation antigénique. Ils sont la source d'anticorps dits « naturels » de types IgM sériques qui procurent une première barrière de protection contre l'invasion de nombreux microorganismes.

Les plaques de Peyer ne possèdent pas de système lymphatique afférent, les déplacements cellulaires vers cet environnement lymphoépithélial s'effectuent par voie sanguine via les veinules à endothélium épais (HEV – High Endothelial Venule)

- Les follicules B : sont entourés par une zone riche en cellules T (TDA – Thymus Dependant Area) dans laquelle les HEV servent de point d'entrée ou de sortie des cellules circulantes.
- Le dôme subépithélial (SED) : est composé de lymphocytes T et B en constante interaction avec les cellules dendritiques. Cette région est un site privilégié à la fois pour l'initiation de réponses immunitaires adaptatives cellulaires (T) et humorales (B), mais aussi pour le maintien de l'homéostasie intestinale et la tolérisation du système immunitaire face à la flore intestinale endogène.

2.1.2. Les ganglions mésentériques

Les ganglions mésentériques (MLN – Mesenteric Lymph Nodes) représentent à la fois les plus grands ganglions lymphatiques de l'organisme et un site unique d'interaction entre le système immunitaire périphérique et le GALT. Ils sont constitués de trois régions principales :

- **Le cortex** constitué de follicules primaires et secondaires riches en lymphocytes B qui peuvent évoluer en centres germinatifs (**Lenoir, 2011**).
- **Le paracortex** est majoritairement composé de lymphocytes T pouvant mûrir en cellules T spécifiques lors de la présentation d'antigènes par des cellules dendritiques provenant de la lamina propria (**Lenoir, 2011**).
- **La medulla** est irriguée par de larges vaisseaux sanguins. Elle est constituée de cellules présentatrices d'antigènes (macrophages, cellules dendritiques) ainsi que de plasmocytes, cellules B activées ayant complété la maturation d'affinité de leurs anticorps et leur commutation de classe.

2.2. Le tissu lymphoïde diffus

Les compartiments de la lamina propria et intra-épithélial sont composés d'une majorité de petits lymphocytes et plasmocytes ; on y trouve également, en petite quantité des macrophages, des monocytes, et quelques polynucléaires (neutrophiles et éosinophiles) (**Roccabianca *et al.*, 2000**).

2.2.1. Le compartiment de la lamina propria

Chez l'homme, la plus grande partie du système immunitaire associé à la muqueuse se trouve dans la lamina propria (LP). On y retrouve un nombre important de populations cellulaires différentes ; des lymphocytes B matures (CD19+), qui produisent des IgA, des lymphocytes T principalement de type Th (CD4+) et plusieurs autres types cellulaires tels que les macrophages, les cellules dendritiques et les mastocytes (**Lefrançois et Puddington, 2006**), d'un certain nombre de cellules éosinophiles, des basophiles et des neutrophiles. Ces cellules sont toujours en migration, en différenciation et en renouvellement continu. Tous les types classiques de cellules CD4+ Th sont retrouvées dans la LP, incluant les cellules de type Th1 qui dirigent la réponse médiée par les cellules associées aux infections intracellulaires et la cytotoxicité, les celles du type Th2 qui sont impliquées dans la production d'IgE, le contrôle des infections aux helminthes et les allergies. Les cellules Th17, ainsi qu'une population importante de cellules T régulatrices exprimant le Foxp3+ sont reconnues pour jouer un rôle important dans l'homéostasie intestinale (**Gambineri *et al.*, 2003**).

2.2.2. Le compartiment intra-épithélial

La plupart des lymphocytes intra-épithéliaux (IEL : intra-épithéliaux lymphocytes) sont des lymphocytes T, mais la population diffère de celle des lymphocytes de la LP, car elle comporte une forte proportion de cellules T $\gamma\delta$ (10 à 40 %). Une fonction suggérée des IEL est la surveillance des cellules mutées ou infectées par des virus.

3. La flore intestinale

A l'instar de la barrière épithéliale, la flore bactérienne, sans être une structure immunitaire à proprement parlé, joue un rôle important dans la protection de l'organisme. Selon la définition d'**Isolauri et al., (2002)**, la flore intestinale normale est une collection complexe et en équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal, et remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte.

Un individu héberge 10^{14} bactéries dans son tractus digestif présentant 400 à 500 espèces et sous-espèces, alors qu'il ne contient que 10^{13} cellules eucaryotes (**Grimoud, 2010**). La grande majorité des bactéries intestinales (plus de 90%) sont des anaérobies obligatoires (bifidobactéries, eubactéries, coques anaérobies et espèces du genre *Bacteroides*) ou des espèces tolérant l'oxygène telles que les lactobacilles. Des germes aérobies telles que *Escherichia coli* et les entérocoques sont présents mais en un nombre relativement faible (< 1%) (**Lotz et al., 2007**).

La flore bactérienne diffère tant par son importance numérique que par le spectre d'espèces dans les différents segments du tube digestif, nous pouvons voir dans l'illustration (**figure 04**) la répartition et la composition de la flore bactérienne intestinale.

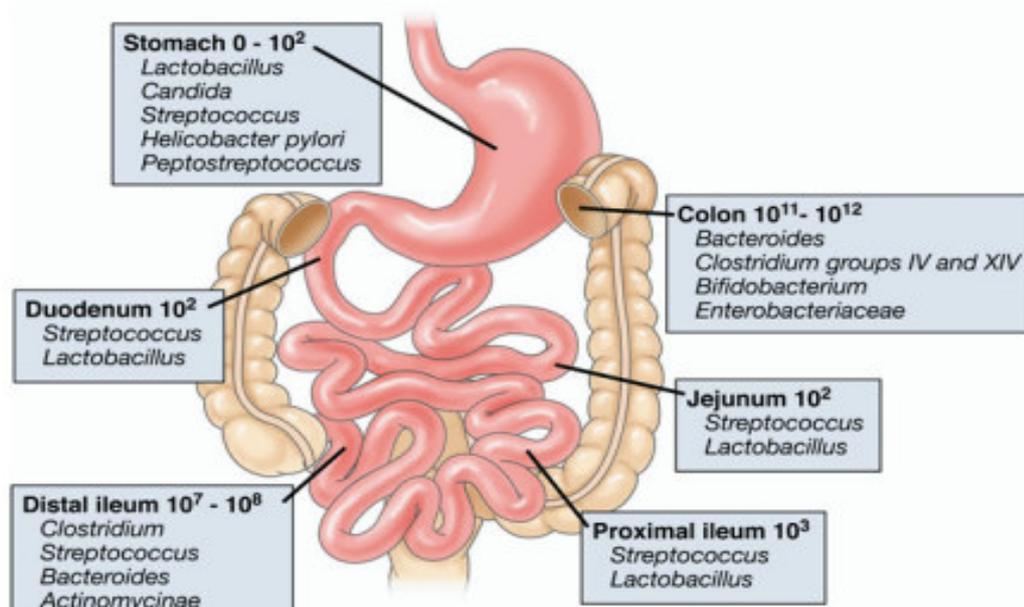


Figure 04. Répartition et composition de la flore bactérienne intestinale (Sartor, 2008)

3.1 La tolérance immunologique vis-à-vis de la flore intestinale

De récents résultats provenant d'études sur les souris ont mis en évidence un moyen qui pourrait expliquer comment une tolérance immunitaire peut s'établir vis-à-vis de la flore bactérienne du tube digestif après la naissance. En effet, l'inhibition de la production d'une petite molécule de signalisation (IRAK 1), dont la fonction est normalement l'identification et la défense contre les microorganismes intervient à cet effet (**Chassin *et al.*, 2010**). Peu après la naissance, une forte régulation à la baisse d'IRAK 1 a lieu dans les cellules de la muqueuse intestinale. De plus, le GALT permet de freiner la réponse immunitaire contre les éléments inoffensifs, et de promouvoir celle contre les éléments pathogènes. Les CPAs (Cellules présentatrices d'antigènes), résidentes expriment un niveau bas en TLRs (Toll-Like receptor), ce qui rend inerte les MAMPs (Microbe Associated Molecular Pattern) de la microflore commensale intestinale qui pénètre normalement et en faible nombre à travers la muqueuse intestinale (**Martin *et al.*, 2010**).

3.2. Les fonctions protectrices du microbiote intestinal

3.2.1. Fonction de barrière

Les mécanismes de l'effet de barrière sont de plusieurs ordres ; Il existe une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales qui sont plus adaptées à l'écosystème intestinal. Par ailleurs, le microbiote induit la production des peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales jouant un rôle majeur dans la défense contre les agents pathogènes, d'autre part, il stimule la production des IgA sécrétoires et renforce les jonctions serrées entre les cellules épithéliales, il régule aussi la composition du mucus qui recouvre et protège la muqueuse intestinale (**Swidsinski *et al.*, 2007**).

Les bactéries du microbiote produisent également des bactériocines aux propriétés antibiotiques (**Duerkop *et al.*, 2009**). À cela s'ajoute le péristaltisme intestinal qui correspond à la contraction des muscles longitudinaux intestinaux sur un court segment intestinal, en empêchant les germes de trouver un site de fixation.

D'autres études impliquent la flore commensale dans la réparation des lésions de la muqueuse intestinale (**Lotz *et al.*, 2007**).

3.2.1. Fonctions immunitaires

La grande majorité des informations sur les fonctions immunitaires du microbiote proviennent des études comparatives entre des souris axéniques (stériles, sans microbiote) et leurs homologues élevées classiquement en animalerie. Ces travaux ont démontré le rôle essentiel joué par le microbiote dans le développement et la maturation du système immunitaire et donc sur ses fonctions. Des études démontrent une atrophie des organes lymphoïdes secondaires chez les animaux élevés en conditions stériles et qui ne possèdent de ce fait pas de flore intestinale commensale (**Rokoff *et al.*, 2004**). Une étude réalisée sur des chats, rapportée par (**Waly *et al.*, 2001**), a montré que les cellules immunitaires retrouvées dans l'intestin et dans les nœuds lymphatiques des chats axéniques sont beaucoup moins nombreuses que chez des chats élevés de manière conventionnelle; il en est de même pour les lymphokines (IL-1, IL-6). De plus les immunoglobulines (IgA) sont les seuls anticorps retrouvés dans la lumière intestinale des chats axéniques alors que chez des chats normaux, des IgM et des IgG sont également retrouvés. Cette flore aurait donc pour rôle d'activer le système immunitaire.

La composition du microbiote joue un rôle majeur dans l'équilibre entre Th17 et Treg, indispensable au maintien de l'homéostasie intestinale (**Waly *et al.*, 2001**).

4. La réponse immunitaire au niveau intestinal

Malgré le contexte anti-inflammatoire et tolérogène présent dans la muqueuse intestinale, le système immunitaire assure une veille permanente afin de réagir face à l'agression d'un microorganisme pathogène. Lorsqu'une brèche apparaît dans la muqueuse intestinale ou lors de la détection de la présence d'un microorganisme pathogène au niveau des cellules M, une réaction immunitaire va être induite afin de renverser la balance immunitaire et lutter contre l'infection.

4.1. Les acteurs de la réponse immunitaire intestinale

4.1.1. Les récepteurs cellulaires

Les microorganismes et les bactéries résistants aux peptides antimicrobiens et à la couche de mucine peuvent potentiellement atteindre les cellules épithéliales. Dans ce cas, ces molécules du non soi communs aux micro-organismes appelées PAMP « Pathogen Associated

Molecular Pattern » d'origine très diverse (bactéries, virus, parasites et champignons) et de nature variée (protéines, sucres, acides nucléiques) vont interagir avec des récepteurs du soi appelés PRR « Pattern Recognition Receptors ». L'interaction de ceux-ci avec ces récepteurs va induire des réponses immunitaires innées et adaptatives qui élimineront les agents pathogènes et conserveront la muqueuse et la microflore intestinale.

4.1.2. Les cellules effectrices

a. Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA)

Elles peuvent être des cellules dendritiques, des macrophages activés ou des lymphocytes B activés, dont la fonction est la dégradation intracellulaire des antigènes et de leur présentation à la surface cellulaire sous forme de peptides associés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I ou II.

Les CPA expriment des molécules de co-stimulation indispensables à l'activation des lymphocytes ainsi que des récepteurs de reconnaissance de motifs antigéniques PRR incluant les TLR et NLR.

b. Les entérocytes

Ce type de cellules épithéliales est le plus répandu au niveau de la muqueuse intestinale et caractérisé par sa fonction d'absorption de nombreux nutriments. Elles sont capables de phagocyter des antigènes alimentaires après dégradation cellulaire par voie lysosomiale, et de les présenter en association avec des molécules du CMH II, fonctionnant ainsi, comme des CPA (Yu et Perdue, 2001).

c. Les lymphocytes

- Les lymphocytes T

Les lymphocytes T conventionnels (α β) comprennent :

Les lymphocytes T CD8⁺ exerçant une activité cytotoxique envers le pathogène.

Les lymphocytes T CD4⁺ principalement situés dans la lamina propria mais aussi au niveau des plaques de Peyer.

Les lymphocytes T non conventionnels comprennent notamment les lymphocytes T intra-épithéliaux $\gamma\delta$. Leur activation est non classique car elle se fait sans l'intermédiaire du CMH. Ils permettent d'élargir les fonctions des lymphocytes T. Ainsi, les lymphocytes T $\gamma\delta$ représentent une faible proportion des cellules T dans la plupart des compartiments lymphoïdes et sont plutôt associés à l'épithélium intestinal (Meresse et Cerf-Bensussan, 2009).

- **Les lymphocytes B**

Les lymphocytes B intestinaux produisent 70 à 90% d'immunoglobulines de type A. on les retrouve principalement au niveau de la lamina propria et au niveau des plaques de Peyer. Ce sont les cellules les plus abondantes et les mieux caractérisées des populations cellulaires de l'immunité adaptative dans la muqueuse intestinale (**Duerkop *et al.*, 2009**).

d. Les neutrophiles

La fonction principale des polynucléaires neutrophiles (PNN) dans l'intestin est de tuer les microbes luminaux qui envahissent la muqueuse par phagocytose, et également par le recrutement des monocytes en libérant les chimioattractants tels que la cathepsine G et l'azurocidine (**Soehnlein et Lindbom, 2010**). Les PNN peuvent également contribuer à une réponse inflammatoire exacerbée par la libération des molécules pro-inflammatoires et du contenu toxique de leurs granules d'azurophile comme l'élastase (**Williams et Parkos, 2007**).

e. Les macrophages

On les trouve dans l'ensemble du tractus gastro-intestinal mais sont situés principalement dans la lamina propria (**Hume *et al.*, 1984**). Une population discrète est également présente dans les couches musculaires lisses de la muqueuse, jouant un rôle important dans la régulation de la motilité intestinale. Parmi les fonctions essentielles des macrophages intestinaux ; il ya la clairance des cellules apoptotiques et le remodelage tissulaire (**Smith *et al.*, 2010**), induction de la différenciation des cellules T régulatrices FoxP3+ (Forkheadbox Protein 3) par la production d'IL-10 et de TNF α (Tumor Necrosis Factor alpha), et la phagocytose (**Weber *et al.*, 2010**).

f. Les cellules Natural killers (NK)

Les cellules NK sont présentes dans tous les tissus intestinaux (intestin grêle, gros intestin et côlon) dans les compartiments de la lamina propria et les compartiments intra-épithéliaux, et en petite quantité dans les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques (**Ivanova *et al.*, 2014**) dont la principale fonction est la production de grandes quantités de

cytokines pro-inflammatoires $IFN\gamma$ (interféron gamma), qui aident à contrôler de nombreux agents pathogènes infectieux dans l'intestin.

4.2 L'immunité innée et adaptative au niveau intestinal

4.2.1. La réponse immunitaire innée

L'immunité innée est une première ligne de défense qui contrôle l'agent indésirable et contribue à son élimination. Parmi les puissants mécanismes développés par le système immunitaire pour protéger la muqueuse intestinale, il y a la réaction inflammatoire qui fait l'objet du prochain chapitre.

Ce composant immunitaire peut neutraliser les microorganismes grâce à la phagocytose, l'action de molécules comme les peptides antimicrobiens et le complexe de lyse du complément ou par la production de facteurs antiviraux. Les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques, les cellules NK, et les polynucléaires neutrophiles sont les premières cellules sollicitées en cas d'agression de la muqueuse intestinale. Leur liaison aux récepteurs TLR des bactéries conduit à la synthèse de différentes interleukines (IL-8, IL-1 et IL-6) ainsi que le facteur nécrosant $TNF\alpha$. Ceci entraîne le recrutement des PNN vers le site de l'inflammation, puis active les lymphocytes B et T meneurs de la réponse immunitaire acquise. L'immunité innée se compose également de facteurs solubles constitutifs qui sont notamment les surfactants, les facteurs d'activation des plaquettes (PAF), les protéines du complément et les défensines, mais aussi les cytokines (Colarelli, 2010). L'immunité innée comprend également l'effet de barrière dû aux cellules de l'épithélium intestinal ainsi que les NK et les lymphocytes $T \gamma\delta$ (Figure 05).

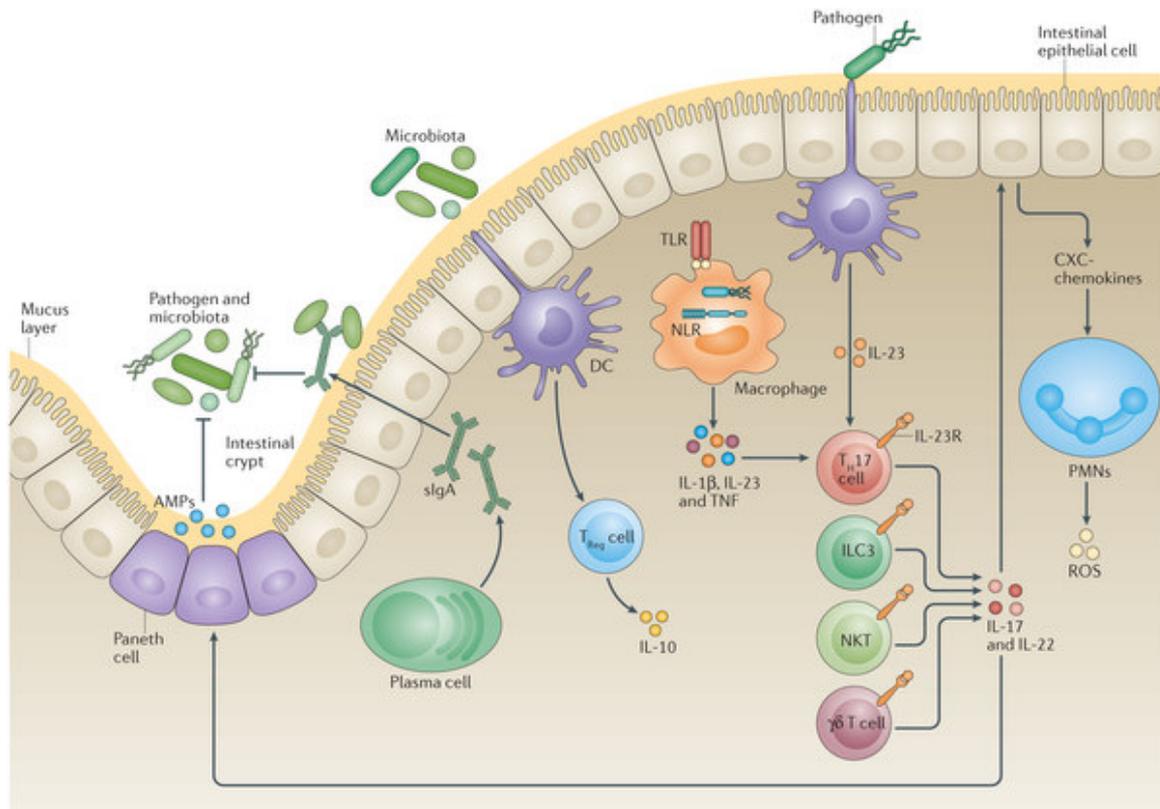


Figure 05. Aperçu général sur l'immunité de la muqueuse intestinale (Perez-Lopez *et al.*, 2016)

4.2.2. La réponse immunitaire adaptative

a. L'intégration de l'antigène

L'avoie principale d'intégration de l'antigène passe par les cellules M situées en surface des plaques de Peyer. La membrane apicale des cellules M favorise l'adhésion et l'intégration des antigènes luminaux par endocytose ou phagocytose.

La seconde voie d'intégration des antigènes implique directement les entérocytes. Cependant, ceux-ci sont moins accessibles que les cellules M du fait de la présence du glycocalyx.

Il semblerait qu'ils soient également capables de présenter l'antigène aux cellules T (**Hershberg *et al.*, 2000**). L'intégration des antigènes luminaux peut également se faire par un mécanisme paracellulaire, via le passage des dendrites des cellules dendritiques entre les entérocytes pour échantillonner les antigènes luminaux d'espèces bactériennes non invasives (**Corthésy *et al.*, 2007**).

Une fois intégré, l'antigène luminal est transporté jusqu'aux CPA localisées sous le dôme sub-épithélial des plaques de Peyer ; qui internalisent l'antigène et le convertissent en

peptide antigénique exprimé à la surface des cellules associé au CMH de classe II afin d'être reconnu par les récepteurs des cellules T (TCR).

b. L'immunité cellulaire

Les antigènes luminaux endocytés par les cellules M sont rapidement pris en charge par les CDs présentes dans la zone subépithéliale du dôme des plaques de Peyer. Ainsi activées, ces CPA qui expriment à leurs surfaces les CMH II, les molécules de co-stimulation CD80 et CD 86 ainsi que la molécule d'adressage CCR7, vont migrer vers la zone T interfolliculaire des structures lymphoïdes pour activer les lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes TCD4⁺ rejoignent le chorion de la muqueuse intestinale ou elles s'établissent en tant que cellules effectrices ou mémoires, leurs spécialisation fonctionnelle conduit à leurs différenciation en lignées Th « T helper » présentant des profils de sécrétion de cytokines distincts. Chacune de ces lignées Th est définie et contrôlée par un unique facteur de transcription qui régule la production des cytokines. Ces lignées sont réunies dans le **tableau 01**.

Tableau 01. Caractéristiques des principales polarisations des lymphocytes T CD4⁺ (Lavacé-lapalum, 2013).

Polarisation/caractéristiques	Th1	Th2	Th17	Treg (Tr1/ Th3)
Induite par	IL-12 IFN γ	IL-4	TGF- β , IL-6, IL-23	TGF- β , IL10
Facteurs de transcription associés	T-Bet	GATA 3	ROR γ t	FOXP3+ FOXP3-
Principales cytokines sécrétées	INF- γ TNF- α IL-2, 1, 6, 12, 18	IL-10 IL-4 IL-5 IL-6 IL-13	IL-17 IL-21, 22 IL 26	TGF- β IL-10
Principales cellules activées	Macrophages	Lymphocytes B	Neutrophiles	TH1/TH17

Les profils de sécrétion de cytokines des cellules TCD4⁺ montrent une forte capacité à sécréter de l'IFN γ et de l'IL-17. L'orientation préférentielle vers les profils Th1 et Th17 respectivement reflète la mise en place d'une inflammation physiologique. Ces réponses sont régulées par les populations de LTCD4⁺ régulatrices (T reg) capables d'inhiber l'activation des cellules Th1 et Th17, notamment via la sécrétion d'IL-10 et de TGF β

(Gueking *et al.*, 2011). Par ailleurs, l'orientation des LTCD4⁺ vers un profil particulier de sécrétion est dépendant des cytokines présentes dans le milieu environnant, elle dépend également des CD, il est décrit que les CD dépourvues de capacités migratoires qui captent l'antigène dans la lumière intestinale, contribuent à une orientation Th17 pro-inflammatoire (Atarshi *et al.*, 2008). Au contraire, les CD sensibilisées par les cytokines ou les métabolites des cellules épithéliales orienteraient les réponses vers un profil régulateur (Rescigno, 2011).

c. L'immunité humorale

Certaines cytokines comme l'IL-4, l'IL-5 ou le TGF- β induisent la synthèse d'IgA par les lymphocytes B folliculaires dans les plaques de Peyer (Figure 05). L'IgA principalement synthétisée dans la lamina propria est l'immunoglobuline la plus abondante dans la muqueuse intestinale (80-90%), et joue un rôle important dans la première ligne de défense contre les toxines et les pathogènes, ainsi que dans le maintien de l'homéostasie intestinale (Fagarasan et Honjo, 2004). Les IgA aident à la capture des bactéries dans la couche de mucus ou sont impliqués dans l'élimination des bactéries en facilitant la phagocytose par le mécanisme d'opsonisation. L'IgM est également présente à la surface de l'intestin mais en plus faible proportion (6-18%) que l'IgA en raison d'un nombre plus faible de cellules productrices, ainsi que d'un transport dans la lumière moins efficace. L'IgG est l'isotype mineur de la muqueuse intestinale. Malgré le fait qu'il n'y ait pas de transporteur actif de l'IgG, une voie paracellulaire lui permet de gagner la lumière intestinale (Lenoir, 2011).

Chapitre II

1. Généralité sur l'inflammation

L'inflammation est la réponse de l'organisme face à une agression, qui est un processus essentiel et bénéfique, dont le but est d'éliminer les agents pathogènes et de réparer au plus vite les lésions tissulaires. Elle est définie par les signes cardinaux « *rubor et tumor cum calore et dolore*, », rougeur et gonflement avec chaleur et douleur, et une altération de la fonction de l'organe touché (**Russo-Marie, 1998**).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalies quantitatives ou qualitatives des cellules intervenant dans l'inflammation. Le processus inflammatoire comprend des phénomènes locaux au niveau des tissus conjonctifs vascularisés, et des phénomènes généralisés en atteignant la circulation sanguine. Les causes de l'inflammation sont multiples : les contaminations par les micro-organismes (bactéries, virus, parasites), les lésions dues aux agents physiques (traumatisme, chaleur, froid, irradiations) et chimiques (toxines, venins), les nécroses dues à un défaut de vascularisation, et les dérèglements immunitaires (allergies, maladies auto-immunes).

2. Les types d'inflammation

2.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation est dite « aiguë », quand elle aboutit à l'élimination immédiate de l'agent déclenchant (dans quelques jours à quelques semaines maximum), elle est caractérisée par des phénomènes vasculo-exudatifs intenses et un important infiltrat de cellules inflammatoires au niveau du site lésionnel. L'inflammation aiguë guérit spontanément ou avec traitement, sa résolution est dans la majorité des cas spontanée et ne laisse que très peu de séquelles tissulaires (**Peltier, 1998**).

2.2. L'inflammation chronique

C'est une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. Dans beaucoup de cas, la cause est liée à l'incapacité de l'organisme à éliminer la substance déclenchante (**Peltier, 1998**).

3. Les médiateurs Chimiques de l'inflammation

Des cytokines et d'autres molécules sont très fortement impliquées dans le déroulement et la régulation des processus inflammatoires et permettent la communication entre les cellules. Elles sont respectivement regroupées ainsi que leur rôle dans les **tableaux 02 et 03**.

Tableau 02. Cytokines impliquées dans le déroulement de la phase aiguë de l'inflammation (Bessout, 2012).

Cytokine	Rôle dans l'inflammation	Cellules productrices
Interféron γ	Active les macrophages et les NK. Inhibe la réplication virale	Natural Killers, lymphocytes T activés
Interleukine 1 TNF α	Augmentation de l'expression des molécules d'adhésion pro-thrombotique, stimulation de la synthèse d'IL-1, 8 et 6	Macrophages, monocytes, cellules dendritiques
Interleukine 2 Interleukine 4	stimule la prolifération, l'activation et la différenciation lymphocytaire. Oriente la réponse T vers un phénotype Th2	Lymphocytes T activés
Interleukine 6	Stimule la sécrétion des protéines de la phase Aiguë, la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.	Macrophages et lymphocytes activés
Interleukine 8	Recrutement des polynucléaires neutrophiles et stimulation de leur dégranulation	Macrophages, cellules épithéliales, cellules endothéliales

Tableau 03. Médiateurs inflammatoires d'origine cellulaire (Bessout, 2012).

Familles	Exemple de molécules	Rôle dans l'inflammation
Amines	-Sérotonine -Histamine	-Participent au déclenchement de la réaction inflammatoire. -Sont parmi les premiers médiateurs libérés lors de la phase vasculo-exsudative
Médiateurs lipidiques	-Métabolites de l'acide arachidonique -Facteur d'agrégation Plaquettaire	-Effets variables en fonction du médiateur. Vasoconstriction, vasodilatation, chimiotactisme. Certains sont impliqués dans les processus de la douleur.
Enzymes et métabolites des polynucléaires et des macrophages	-Enzymes lysosomales -Radicaux libres dérivés de l'oxygène	-Microbicidie. -Fort effet pro-inflammatoire lors du relargage dans le milieu
Monoxyde d'azote	Monoxyde d'azote	-Vasodilatation -Diminution de l'agrégation plaquettaire -Régulation du recrutement leucocytaire -Microbicidie
Facteurs de croissance	-PDGF -EGF -FGF -TGF β	-Limité à la phase de régénération. -Prolifération des fibroblastes et des cellules endothéliales -Régénération épithéliale -Fibrogenèse cicatricielle

4. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Le terme de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) est une appellation générale désignant un ensemble de lésions inflammatoires chroniques atteignant le tractus digestif (principalement l'intestin), caractérisées cliniquement par des signes digestifs, et histologiquement par une infiltration de la lamina propria par des lymphocytes, des plasmocytes, des éosinophiles ou plus rarement, des macrophages ou des neutrophiles (Guilford, 1996b).

En médecine humaine, le terme MICI regroupe deux pathologies : la maladie de Crohn (MC) également appelée entérite granulomateuse ou entérite régionale, et la recto-colite hémorragique (RCH) également appelée colite ulcérateuse (**Modigliani, 1993**). Ces maladies partagent quelques caractéristiques, mais diffèrent de manière considérable dans deux aspects : le segment du tube digestif touché, et l'étendue de l'inflammation (**Figure 06**).

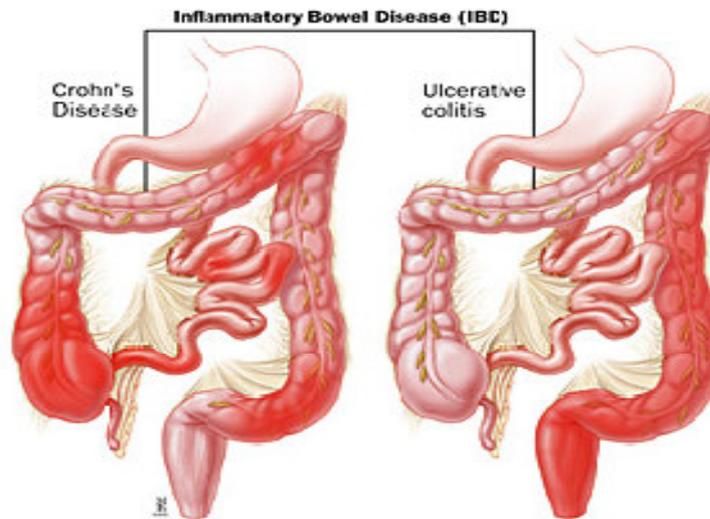


Figure 06. Localisation des atteintes intestinales dans la MC et la RCH.
(Adela-Emilia, 2008)

Une troisième entité peut être ajoutée, « la colite indéterminée » présentant les caractéristiques d'une colite idiopathique pour laquelle l'ensemble des examens réalisés ne permet pas de trancher entre MC et RCH. Les causes des MICI sont encore mal connues, l'hypothèse étiologique actuelle décrit ces pathologies comme une anomalie de la réponse immunitaire de l'intestin vis-à-vis de certains composants de la flore bactérienne, déclenchée ou aggravée par des facteurs environnementaux (mode de vie, agents infectieux), survenant chez des individus génétiquement prédisposés (**Peyrin-Biroulet et al., 2010**). Le risque de contracter la maladie est de 1,6% dans la MC et de 5,2% dans la RCH (**Sidler et al., 2007**).

4.1 La maladie de Crohn

La maladie de Crohn est caractérisée par des lésions pouvant atteindre la totalité du tube digestif, principalement la région iléo-colique (**Colarelli, 1984**). Ces lésions se manifestent sous forme d'ulcération accompagnée d'un processus inflammatoire qui s'étend

à toutes les couches de la paroi intestinale (inflammation transmurale) : muqueuse, musculuse et même quelquefois la séreuse, et entraîne un épaissement pariétal, ce processus est souvent discontinu (des segments d'intestin normaux entrecoupent des segments atteints). L'examen histologique révèle un épaissement nodulaire de la sous-muqueuse, une hyperplasie des follicules lymphoïdes, et plus tard une fibrose de la sous-muqueuse. On observe dans 40% des cas un granulome tuberculoïde non caséifiant caractéristique de la pathologie.

Les symptômes de la MC sont : manifestations digestives avec des diarrhées chroniques, plus ou moins glairo-sanglantes selon la sévérité et la localisation des lésions et des douleurs, parfois associés à des ténésmes et des proctalgies, avec altération de l'état général (asthénie, amaigrissement et fièvre). Les complications intestinales de la MC comprennent : les sténoses et obstructions intestinales, les fistules et abcès, les hémorragies digestives et la cancérisation. Les cancers du côlon sont trois fois plus fréquents chez les patients atteints de MC par rapport à la population générale (**Bernstein, 2001**).

La MC est caractérisée par une réponse inappropriée contre les antigènes luminaux du tube digestif, à l'origine d'une augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinale si bien que les jonctions serrées ne le sont plus, elle est également responsable d'un déséquilibre de la balance effecteur/régulateur avec augmentation des lymphocytes T et des cytokines pro-inflammatoires : IFN γ , IL-2, IL-6, IL-12 ; IL-23, IL-18, TNF α . D'un autre côté, les cellules régulatrices anti-inflammatoires sont diminuées (**Di Maria, 2012**).

Cette pathologie est incurable médicalement ou chirurgicalement et nécessitant des approches thérapeutiques notamment des immunosuppresseurs et des corticoïdes permettant d'induire et de maintenir la rémission clinique, d'améliorer la qualité de vie, de minimiser les toxicités à court).et à long terme des traitements ainsi que les complications (**Lichtenstein et al., 2004**).

4.2 La recto-colite hémorragique (RCH)

La recto-colite hémorragique est caractérisée par une inflammation chronique évolutive, touchant exclusivement le rectum et le côlon, elle débute toujours à l'anus, et progresse vers le haut, elle ne s'étend généralement pas plus loin de 20 cm. Cette inflammation est restreinte à la muqueuse et la sous-muqueuse.

On distingue trois types de RCH :

- Les RCH distales (60 %) atteignant le rectum (rectite), ou le rectum et le sigmoïde (recto-sigmoïdite).
- Les RCH pancoliques (15 %) atteignant le rectum et la totalité du côlon.
- Les formes intermédiaires (25 %) entre les formes précédentes (**Colarelli, 1984**).

La RCH se caractérise par des phases aiguës entrecoupées de périodes de rémission. Contrairement à la MC, la RCH s'étend de manière continue sans intervalle de muqueuse saine. Les symptômes sont : douleurs abdominales et diarrhée muco-sanglantes, rectorragie, ténesme et parfois constipation, une diarrhée sanglante en cas d'atteinte de la totalité du côlon, avec des symptômes systémiques (fièvre et amaigrissement). La complication la plus redoutable de la RCH est la survenue d'un mégacôlon toxique, elle comprend également une surinfection et une perforation de la paroi intestinale, des hémorragies massives nécessitant des transfusions sanguines. La survenue d'un cancer colique est généralement précédée d'une dysplasie sévère.

Le traitement médical de la RCH repose sur les dérivés de l'acide 5-aminosalicylique, les corticoïdes, les immunosuppresseurs tels que : l'azathioprine et le méthotrexate et l'immunothérapie dont l'infliximab ; un anticorps monoclonal anti-TNF qui est le seul à avoir l'autorisation de mise sur marché.

5. Physiopathologie des MICI

Des défauts au niveau de la barrière intestinale ont été rapportés chez les patients atteints de MICI (**Khor et al., 2011**). Les facteurs environnementaux et génétiques contribuent à la perte des mécanismes de contrôle de la flore intestinale comme la diminution de la sécrétion de mucus et de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales (**Khor et al., 2011**). Cela engendre la mise en place d'une dysbiose intestinale, c'est-à-dire la diminution de la quantité de bactéries « protectrices » qui se traduit également par l'inactivation de l'inhibition de la prolifération des bactéries « délétères » (**Manichanh et al., 2006**). Par ailleurs, en impactant également les jonctions intercellulaires au niveau de l'épithélium, ces facteurs provoquent l'augmentation de la perméabilité de la barrière physique épithéliale. Ainsi, les bactéries pathogènes pourront être en contact direct et de manière prolongée avec l'épithélium intestinal et envahir la lamina propria, qui aura pour conséquence une activation excessive du système immunitaire muqueux, puis l'apparition d'une inflammation chronique pour aboutir finalement à l'apparition des lésions observées

chez les patients (Marcon *et al.*, 2013). D'un point de vue mécanistique, cette activation excessive de la réponse immunitaire se traduit par une augmentation du taux de cytokines pro-inflammatoires. Les cellules épithéliales, les cellules mésenchymateuses et les macrophages vont synthétiser des cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 β , IL-6 et IL-8 au lieu de TGF- β et de PGE2 (prostaglandine E-2) induisant la maturation des cellules dendritiques.

Après migration vers les ganglions lymphatiques mésentériques, les cellules dendritiques matures synthétiseront un fort taux d'IL-12 pro-inflammatoire au lieu de l'IL-10 et la différenciation des LT CD4+naïfs en lymphocytes T effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 (Mowat, 2003). Finalement, ces LT effecteurs vont amplifier l'inflammation en sécrétant à leur tour des cytokines pro-inflammatoires comme : IFN- γ , TGF- β , IL-4 et IL-17 (Mowat, 2003). En effet, les LTh1 permettent l'expansion de la réponse cellulaire en activant les LT cytotoxiques CD8+ et les macrophages qui vont permettre l'élimination des bactéries pathogènes. Les LTh2 permettent la mise en place d'une réponse immunitaire humorale qui active les LB sécrétant des IgA et IgG pour combattre l'infection. Quant aux LTh17, ils sont impliqués à la fois dans le recrutement massif des cellules de l'immunité innée comme les neutrophiles responsables des lésions intestinales, mais également dans l'amplification de l'inflammation (Galvez, 2014) (Figure07).

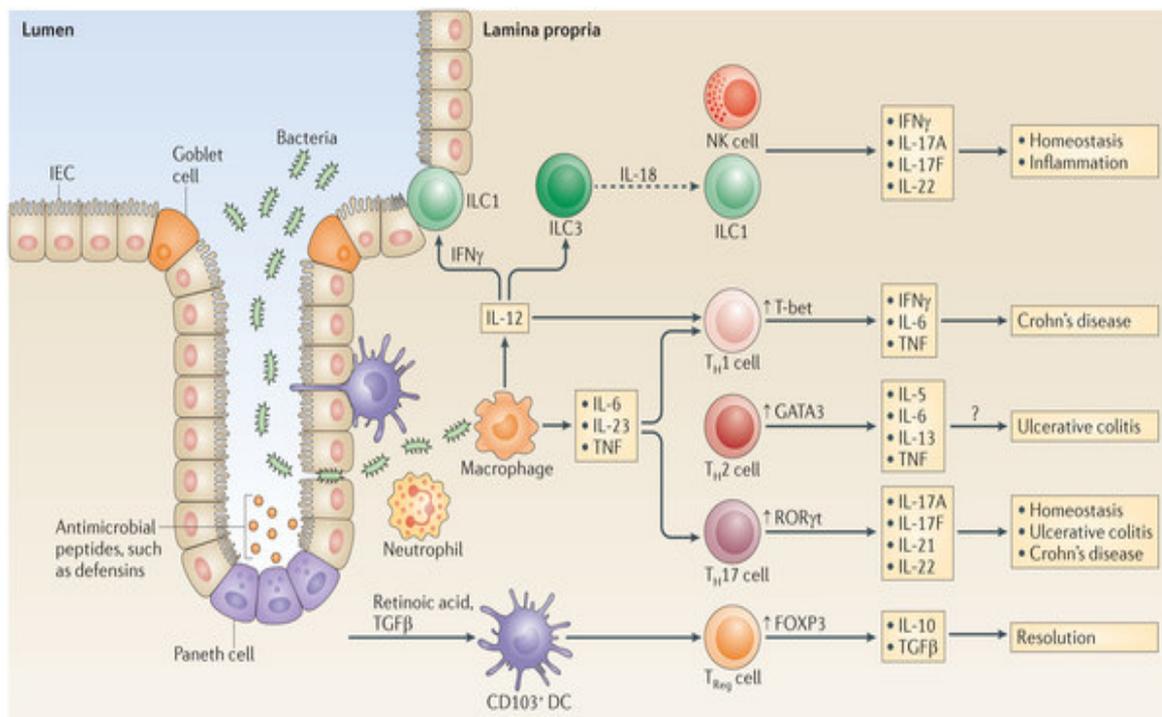


Figure 07. Les cytokines impliquées dans la pathogénèse des maladies inflammatoires de l'intestin. (Markus, 2014).

Chapitre III

1. Phytothérapie et plantes médicinales

Jusqu'à l'aube du XIXe siècle, les médecins se limitaient, pratiquement, de puiser dans les plantes médicinales pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes, tels que : la morphine, codéine, la quinine, l'aspirine, l'atropine. Qui sont utilisés comme matières de santé et de soins primaires.

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques : « *Phyton* » et « *therapia* », qui signifient respectivement « plante » et « traitement »; soigner avec des plantes (**Mansour, 2015**). D'après l'OMS (2000), la phytothérapie est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques ou mentales. Elle est reliée à une expérience pratique et à des observations faites de génération en génération, et transmise de façon orale ou écrite.

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle possède en moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses préventives ou curatives à l'égard des maladies (**Chabrier, 2010**). Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents.

2. La médecine traditionnelle en Algérie

En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne. En 1942, **Fourment et Roques** ont publié un livre de 200 espèces végétales d'intérêt médicinal et aromatique, la plus part d'entre elles sont du Nord d'Algérie, et 6 espèces sont localisées au Sahara. L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Beloued, 1998**). L'industrie pharmaceutique en général, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le

patrimoine de ces espèces spontanées, et à étudier leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que leurs principes actifs (Ould el hadj *et al.*, 2003). Ces enquêtes ethnobotaniques soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal.

3. Présentation de la plante étudiée : *Anacyclus pyrethrum*

3.1. Description botanique

Anacyclus pyrethrum est une plante vivace pluriannuelle, de 20 à 30 cm de haut, caractérisée par des racines longues, épaisses, à peu près à la taille du petit doigt, fibreuses, rudes, brunes à l'extérieur et blanches à l'intérieur (Lloyd et Lloyd., 1911). Les tiges sont nombreuses, couchées sur le sol avant de remonter en érection, pouvant être simple ou peu rameuses. Les feuilles verte-grisâtres de l'*Anacyclus. P* sont finement découpées, délicates et pubescentes, elles apparaissent dans la période Janvier-Décembre, alors que le stade de floraison s'étend du mois de Mai jusqu'à Septembre (Selles, 2012). Il n'y a aucun risque de confusion avec les autres espèces vu qu'elle est la seule plante à avoir une fleur avec un cœur jaune et des pétales blancs à revers rougeâtre rayé de blanc (Figure 08). Le goût est âcre, l'odeur est légère et la plantation peut se faire en automne, avec un rendement meilleur en fin d'avril.



Figure 08. *Anacyclus pyrethrum*

3.2. Nomenclature et taxonomie

Nom français : Pyrèthre d'Afrique, la salivaire, l'œil de bouc, ou Pariétaire d'Espagne.

Nom scientifique : *Anacyclus Pyrethrum*.

Nom arabe: Oud AL Attass (le bois sternutatoire), Aquir Karha (racine des berbères).

Dénomination locale: Iguendas, Gentas, tigentas, tigentast, Tigenthast, igentas, gentus (berbère).

La taxonomie est décrite dans le **tableau 04**

Tableau 04. Taxonomie d'*Anacyclus pyrethrum* (Annalakshmi et al., 2012).

Division	<i>ANGIOSPERMAE</i>
Classe	<i>Dicotyledoneae</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous famille	<i>Asteroideae</i>
Genre	<i>Anthemideae</i>
Espèce	<i>Anacyclus pyrethrum (L.) Link.</i>

3.3. Ecologie et répartition géographique de la plante

Anacyclus pyrethrum est une plante très répandue en Afrique du Nord et dans certains pays méditerranéens, notamment au Proche-Orient et au Moyen-Orient, les hauts plateaux et les montagnes du Tell, à des altitudes comprises entre 1000 et 2500 mètres (**Harald, 1978**). C'est une espèce endémique de l'Algérie et du Maroc qui furent de tout temps les fournisseurs traditionnels, elle a été cultivée à l'échelle expérimentale dans les régions de l'Himalaya à partir de semences importées de l'Algérie (**Bellakhdar, 1998**). Elle se développe dans les bioclimats ; semi-aride, subhumide et humide, à variantes tempérées, fraîches, froides à extrêmement froides.

Le pyrèthre d'Afrique semble mieux s'adapter dans des sols sableux, rocailleux, bien drainés et peu profonds, dans des espaces libres non ombragés. Il colonise volontiers les champs et les terrains à l'abandon, aime les terres ensoleillées et incultes, en particulier les steppes rocheuses sèches.

3.4. Etude phytochimique de la plante *Anacyclus*.

Le genre *Anacyclus* a fait l'objet de quelques investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires, Le **tableau 05** rassemble les différents métabolites secondaires isolés de l'espèce *Anacyclus pyrethrum*.

Tableau 05. Quelques données photochimiques sur *Anacyclus pyrethrum*.

Espèce	Partie étudiée	Molécules extraites	Référence
<i>Anacyclus pyrethrum</i>	Feuilles	Deux flavonoïdes : Flavonol5-glucoside. Diosmetin7-glucoside.	(Harald,1978)
	Racines	Une alkamide : la Pellitorine. (le principale constituant présent dans <i>A pyrethrum</i>)	(Chaaib, 2004)
		Des amides : des amides monosubstituées contenant α β dienneunsaturation.	(Harald, 1978)
		Des polyacétylènes: ArtemisiaKétone, triyneTriene.	(Sukumaran et Kuttan, 1995)
		Divers: acide linolique, Dehydromatricar ester.	(Harald, 1978)
		Des polysaccharides	(Bendjeddou <i>et al.</i>, 2003)
		Des alcaloïdes, des composés des tanins, et des coumarines	(Elazzouzet <i>al.</i>, 2014)
Huiles essentielles	(selles, 2012)		

3.5. Usage thérapeutique

L'utilisation d'*Anacyclus pyrethrum*, plus particulièrement la partie racinaire est décrite dans les pharmacopées de nombreux pays du monde.

En Algérie, l'infusion des racines du pyréthre d'Afrique est recommandée en bain de bouche contre les maux de dents et les problèmes liés à la sécrétion salivaire comme sialagogue (Boulos, 1983). Le décocté des racines est également cité en friction locale en cas

de paralysie des membres (**Boulos, 1983**). Les racines sont également utilisées sous forme de crème à base de graisses animales pour traiter la goutte et la sciatique (**Boulos, 1983**). Un mélange de racines et de lait, additionné de miel est proposé comme aphrodisiaque, contre l'infertilité féminine (**Boulos, 1983**). On reconnaît aux racines du pyrèthre des propriétés antiparasitaires et antibiotiques (**Baba Aissa, 1999**). On l'emploie aussi dans le traitement des maladies du foie. La population rurale de l'ouest Algérien (région de Tlemcen) et certains herboristes suggèrent que cette plante peut être utile pour le diabète (**Selles, 2012**).

Peu d'études d'évaluation expérimentale ont été effectuées sur les racines d'*Anacyclus pyrethrum* ; on signale une activité immunostimulante de la fraction riche en polysaccharides (**Bendjeddou et al., 2003**). La Pellitorine, composé connu des racines s'est montré douer d'activités anesthésique locale, antibactérienne, larvicide, ainsi que insecticide (**Chaaib, 2004**). Les racines contiennent également l'anacycline qui est considérée comme un tonique du système nerveux (**Annalakshmi et al., 2012**).

4. Les polysaccharides végétaux

4.1. Généralité

Les polysaccharides sont des macromolécules les plus abondants sur terre et dans les océans. Ils sont fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique en raison de leur abondance, leurs sources renouvelables, non-toxiques, biodégradables, et origine de plusieurs produits dérivés (**Boual, 2009**). Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux (cellulose, carraghénanes, alginates..), ils présentent une variabilité structurale et une richesse de propriétés physico-chimiques que l'on ne rencontre chez aucune autre classe d'organismes (**Warrand, 2004**), et qui ont attiré l'attention des chercheurs dans les domaines biochimiques et médicaux.

Les polysaccharides ou polyosides, ou encore polyholosides sont de longues chaînes polymères d'unités de monosaccharides liés entre eux par des liaisons glycosidiques (**Wasser, 2002**), le nombre d'oses est compris entre quelques dizaines et plusieurs centaines de milliers, ces chaînes peuvent être linéaires ou ramifiées constituées d'unités d'un ou plusieurs types de molécules de monosaccharides.

Selon leur structure, les polysaccharides sont divisés en deux groupes :

- Homogènes (Homopolysaccharides) : comportant un seul type de monosaccharide, ex : glycane (polymère de glucose), galactane (polymère de galactose) (**Widmer et Roland, 2000**).
- Hétérogènes (Hétéropolysaccharides) : résultant de la condensation de différents types de monosaccharides, ils constituent de longues chaînes d'oses indépendantes ou liées à un noyau protéique (**Widmer et Roland, 2000**).

Les polysaccharides des végétaux sont divisés selon leur fonction, on y distingue les polysaccharides de réserve (Amidon, caroube), les polysaccharides de structures (Cellulose, hémicellulose, pectines et xylanes), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages.

4.2. Usage thérapeutique des polysaccharides végétaux

Au cours des dernières années, de nombreux polysaccharides isolés à partir des plantes médicinales ont montré leurs avantages thérapeutiques. Il est donc d'un grand intérêt de continuer à étudier les effets thérapeutiques de ces polysaccharides issus des plantes qui représentent une source illimitée de fournir des prestations de santé pour les humains, y compris le traitement des maladies dangereuses comme le cancer (**Zhang et al., 2013**).

Ainsi, les oligosaccharides provenant de la dégradation des polysaccharides des plantes (xyloglucane et pectine) ont été associées à diverses activités biologiques telles que des activités anti-métastatiques, anti-ulcère et anti-néphrotique (**Yu et al., 2001**). Au niveau du côlon, les pectines ont un rôle de prébiotique, (**Laure, 2013**) leur présence augmentait la production d'acides gras à courtes chaînes par les bactéries du côlon. Ces résultats suggèrent donc un impact des pectines sur la croissance et le développement du microbiote colique.

4.2.1 Activité immunostimulante

En raison de leur taille importante, les polysaccharides ne peuvent pénétrer dans les cellules, ils exercent leur action en se liant à des récepteurs spécifiques à la surface des cellules immunes.

De nombreux polysaccharides extraits de plantes médicinales ont des activités immunostimulantes, on note ; une stimulation des macrophages et amélioration de la production de l'oxygène (ROS) et de l'oxyde nitrique (ON) (**Xie et al., 2007**), une activation

des LB et des CD via la présentation du récepteur TLR4 (Yang *et al.*, 2007), stimulation de l'activité des cellules NK via les lymphocytes (Bendjeddou *et al.*, 2007), et effets biologiques sur le système du complément (Diallo *et al.*, 2003).

Les polysaccharides extraits de l'*Astragalus* induisent une augmentation du nombre de cellules souches de la moelle osseuse et du tissu lymphatique, et augmente le développement de cellules immunitaires actives (Wang, 1989).

L'acemannan, polysaccharide extraits de l'*Aloe vera* augmente la production d'anticorps (Fehloul *et al.*, 2011).

4.2.2. Propriétés anti-inflammatoires des polysaccharides

Les propriétés anti-inflammatoires des polysaccharides s'exercent par leur capacité d'inhiber la production des médiateurs pro-inflammatoires tels que les dérivés de l'acide arachidonique (prostaglandines, leucotriènes) et le TNF α (Setty et Sigal, 2005), l'augmentation de la production des lymphocytes et des fibroblastes (cicatrisation) et la rétention d'eau (Fehloul *et al.*, 2011).

4.2.3. Activités antivirales

Certains polysaccharides végétaux sont capables d'augmenter l'activité phagocytaire des macrophages, d'autres sont capables d'inhiber la capacité de réplication de certains virus tels que : le virus de l'herpès, le VIH (Virus de l'immunodéficience humaine) et le cytomégalovirus humain. Pourtant les polysaccharides n'agissent pas directement sur le virus, leurs actions s'exercent par le blocage des récepteurs extracellulaires de la cellule hôte utilisés par le virus pour pénétrer à l'intérieur de la cellule (Fehloul *et al.*, 2011).

4.2.4. Activité anti-tumorale

L'effet stimulateur de nombreux polysaccharidiques extraits de plantes médicinales sur le système immunitaire expliquerait leur rôle dans l'immunothérapie anticancéreuse. De nombreuses études ont montré que l'injection de fractions de polysaccharides à des souris augmente l'activité phagocytaire d'une part (Ohno *et al.*, 1986), et accroît l'activité de certains types cellulaires tels que : les NK, les cellules cytotoxiques, les TIL (Tumor Infiltrating

Lymphocytes) ainsi que la production de TNF α , d'interféron γ , d'interleukines (IL-1, IL-2 et IL-4) et de GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor). Ils augmentent la survie de patients atteints de cancers colorectaux, gastro-intestinaux et prévient la rechute des cancers de foie (**Flandroy, 1996**).

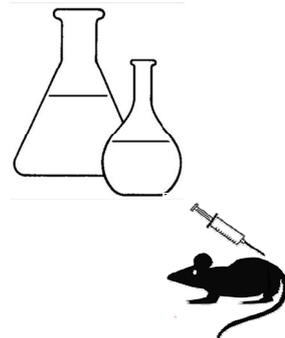
De plus les polysaccharides peuvent aider l'organisme à supporter les effets nocifs de la chimiothérapie (**Kieffer, 2000**).

4.2.5. Autres activités thérapeutiques des polysaccharides

Parmi les autres propriétés pharmacologiques des polysaccharides, nous avons noté leur activité anti-oxydante, anti-cholestéromique, hépatoprotectrice, mitogène, de neutralisation des effets de la chimiothérapie, et leur utilisation comme vaccins.

Partie 2

Matériels et méthodes



1. Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Biochimie et d'Immunologie de l'Université 8 Mai 1945-Guelma, il s'est déroulé du 05 Mars au 18 Mai 2017. Il s'agit d'une étude sur l'effet des polysaccharides extraits à l'eau chaude à partir des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation intestinale.

1.1 Matériel végétal

La plante *Anacyclus pyrethrum* a été récoltée le mois de février 2017 dans la région de Sellaoua Announa, commune de la wilaya de Guelma, située à 700 mètres d'altitude et caractérisée par un climat méditerranéen avec été chaud. La récolte a été réalisée au mois de Février, elle concerne la plante entière avec sa racine, qui n'a pas encore atteint le stade floraison.

Les informations et la situation géographique du site de récolte sont présentées dans le **tableau 06**

Tableau 06. Informations du site de récolte de la plante étudiée.

Région	Sellaoua Announa, Wilaya de Guelma- Algérie
Altitude	700m
Latitude	36° 23' 13'' Nord
Longitude	7° 15' 2'' Est
Distance	30 Km du chef-lieu de wilaya de Guelma 377 Km de la capitale Alger
Site de récolte	Montagne rocheuse à côté de la rue Bouhakim à 4 Km de la région
Date de récolte	16/02/2017

Les racines d'*Anacyclus pyrethrum* ont été lavées avec de l'eau du robinet et de l'éthanol pour éliminer toute impureté, puis séchées durant 15 jours dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière solaire (**Figure 09**)



Figure 09. Racines d'*Anacyclus pyrethrum* avant et après séchage.

1.2 Matériel animal

Pour la réalisation de ce travail, 12 souris femelles blanches, de souche NMRI, d'un poids corporel moyen de 22 à 33g, âgées de 4 semaines provenant de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger ont été utilisées. Ces souris ont été soumises à une période d'adaptation dans des cages en polyéthylène tapissées de copeaux de bois, à l'animalerie de la faculté de SNV-STU de l'université de Guelma, ayant un accès libre à l'eau et à la nourriture pendant 10 jours avant de procéder à toute expérimentation.

1.3 L'expérimentation

1.3.1. L'extraction des polysaccharides

L'extraction a été réalisée en suivant la méthode de **Bendjeddou *et al.*, 2003** avec des optimisations. Les parties racinaires ont été finement pulvérisées à l'aide d'un mortier et pilon et d'un broyeur électrique, puis tamisées pour obtenir une poudre assez fine (**Figure10**).

300g de poudre a été mise en suspension dans l'eau distillée (1g de poudre/18ml d'eau distillée) pour subir une ébullition au bain marie à 95°C pendant 2h30 min (**Tinamri et Lagmi, 2014**).



Figure 10. Poudre des racines d'*Anacyclus pyrethrum*.

Après refroidissement et conservation au réfrigérateur pendant une nuit, la solution a subi une filtration à travers une gaze fine pour retirer les débris macroscopiques insolubles. Puis, une centrifugation à 6000 tours/minute pendant 30 min a été réalisée, le surnageant récupéré a été concentré à la moitié du volume initial par évaporation sous pression réduite à 65°C.

Une précipitation a été réalisée en ajoutant 4 volumes d'éthanol (95%) à la solution, après 24h, les matériaux précipités ont été séchés à l'air libre, et la poudre obtenue a été diluée dans l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène, qui a subi une déprotéinisation en utilisant le réactif de Sevag (Chloroforme : 1-butanol ; 4) (volume/volume) (**Bagchi et Juyaram, 2016**).

Après précipitation à l'éthanol et séchage, l'extrait a été dissout dans l'eau distillée avant d'être purifié par dialyse contre l'eau distillée pendant 72heures à 4°C. Les polysaccharides bruts ont été précipités par addition de 4 volumes d'éthanol, le précipité a été recueilli, séché à l'air et désigné comme extrait de polysaccharides solubles dans l'eau chaude.

La poudre a été dissoute dans de l'eau physiologique (NaCl à 0,9%) (60mg/10ml) avant d'être administrée aux souris.

1.3.2 Traitement des souris

Les souris ont été réparties en 3 lots, le déroulement du traitement ainsi que les paramètres analysés sont présentés sur le diagramme ci-dessous (**Figure 11**).

Les animaux ont été prétraités avec l'extrait polysaccharidique administré par voie intra-péritonéale en raison de trois doses (25mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kg) (**Bendjeddou et al., 2003**). Après 24 heures, une inflammation intestinale a été provoquée par l'administration intra-rectale de 200 µl d'acide acétique à 10% (**Guazelli et al., 2013**) à travers une canule en plastique placée à 30 mm de l'orifice anale. L'animal a été maintenu pendant 15 secondes, puis le côlon a été rincé deux fois avec 200 µl de sérum physiologique à chaque fois pour éliminer l'acide acétique.

24 heures plus tard, les animaux ont été euthanasiés dans un dessiccateur avec du chloroforme.

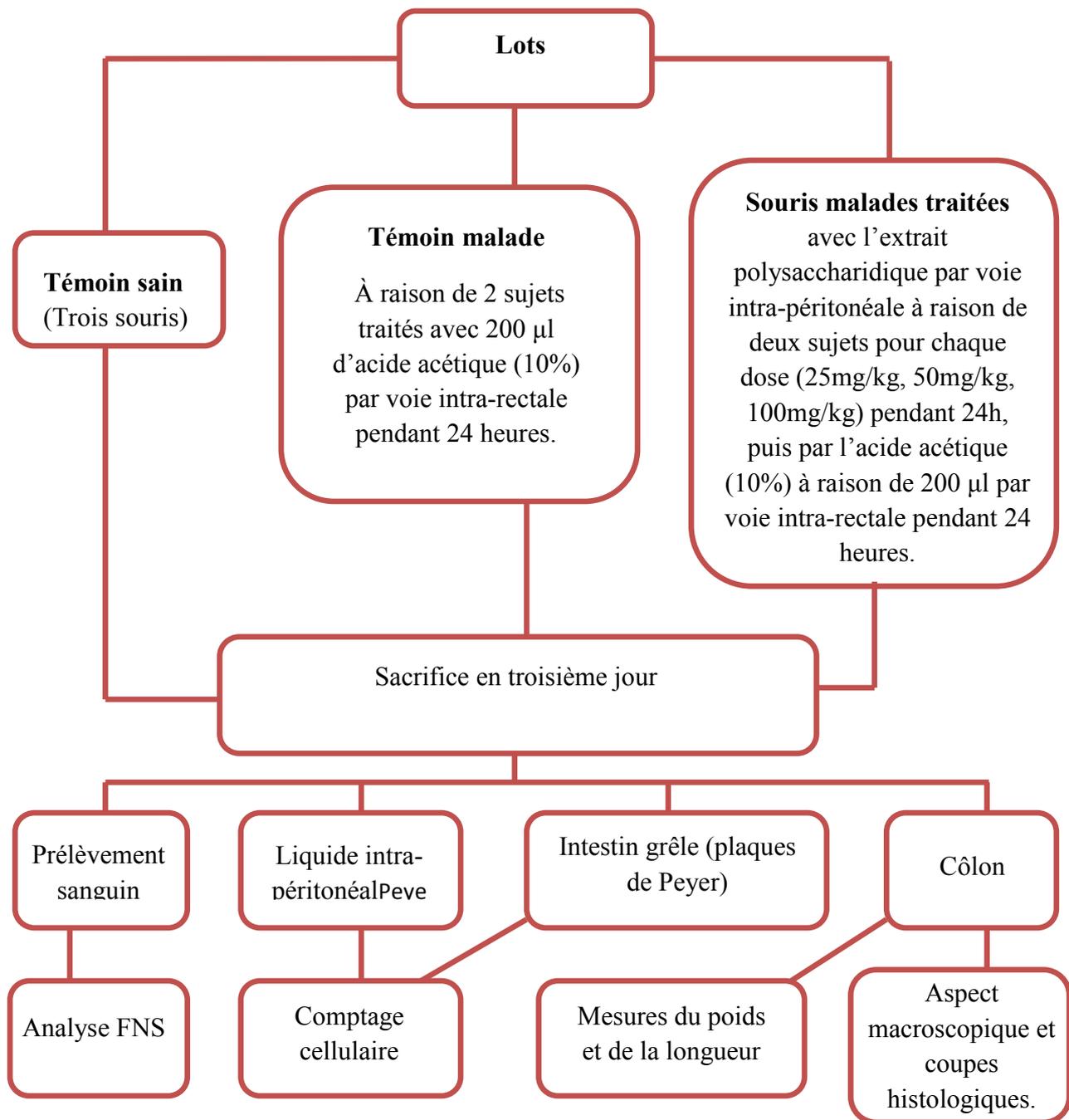


Figure 11. Déroulement du traitement.

1.3.3 Prélèvement des échantillons

a. Prélèvement sanguin

Le sang a été récupéré par décapitation, et collecté dans des tubes contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) pour la réalisation de la Formule Numérique Sanguine (FNS).

b. Isolement des macrophages intra-péritonéaux

Le prélèvement intra-péritonéal a été réalisé après dissection de la souris pour la découverte des muscles péritonéaux. 5 ml de la solution de Phosphate Buffer Saline (PBS) a été injectée dans la cavité péritonéale. Après 5 minutes, le liquide de lavage est récupéré dans un tube stérile en polypropylène et centrifugé à 1500 tours/minute. Le culot issu de cette centrifugation a été remis en suspension dans 3 ml de PBS et centrifugé pendant 5 minutes à 1500 tours/minutes (trois fois) (**Churcill *et al.*, 1976**). Les macrophages intra-péritonéaux ont été comptés après coloration avec du bleu de trypan en utilisant une cellule de Malassez.

c. Isolement de la rate

La rate a été prélevée après avoir ouvert la cavité péritonéale, pesée, puis déposée dans une boîte de Pétri contenant 3 ml de PBS pour être dilacérée. La suspension cellulaire a été placée dans un tube et centrifugée pendant 3 minutes à 100 tours/minute pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant a été récupéré puis centrifugé à 1500 tours/minute pendant 10 minutes. Le culot issu de cette centrifugation est remis en suspension dans une solution de lyse pour les globules rouges (0,5 ml de PBS avec 4,5 ml de chlorure d'ammonium NH_4Cl), après incubation (10-15 minutes). Une centrifugation a été réalisée pendant 10 minutes à 1500 tours par minutes, le culot est remis en suspension dans 3 ml de PBS et centrifugé pendant 10 minutes à 1500 tours/minute (deux fois) (**Daun *et al.*, 1995 ; Ducan et Laurence 1995**). Les splénocytes ont été comptés après coloration avec du bleu de trypan.

d. Isolement des cellules de plaques de Peyer

L'intestin grêle a été prélevé et séparé du tissu adipeux adhérent, les plaques de Peyer ont été isolées sous loupe binoculaire à l'aide de deux pinces et déposées dans une boîte de Pétri contenant 3 ml de PBS, puis dilacérées avant d'être placées dans un tube et centrifugées pendant 3 minutes à 100 tour/minute, le surnageant a été récupéré et centrifugé à 1500 tours/minute pendant 10 minutes. Le traitement de lavage a été répété trois fois.

e. Isolement du côlon et évaluation du score macroscopique du dommage

L'atteinte du colon a été évaluée en utilisant le gradient de score suivant le protocole de (**Ali *et al* 2016**) avec quelques modifications. Le colon a été classé du score 0

à 10 suivant les critères suivants : Hémorragie (élevée, faible ou absence), Œdème (présence ou absence), Diarrhée (présence ou absence), Odeur (présence ou absence), Rétrécissement (absence ou présence) et contenu de côlon (présence ou absence).

f. Les coupes histologiques

Les tissus ont été conservés juste après prélèvement dans du formol 10%. Les échantillons ont subi une étape de déshydratation au cours de laquelle les tissus ont été fixés dans du formol neutre à 10%, pendant 3 heures puis déshydratés avec des concentrations croissantes d'éthanol (80%, 90%, 95% et 100%) pendant 6 heures et demi, puis ont été incorporées dans du xylène pendant 4 heures et demi et dans du paraffine liquide (56°C) pendant 5 heures.

Après l'étape de déshydratation qui dura 20 heures, s'en est suivi l'inclusion dans de la paraffine liquide puis refroidi pour solidifier la paraffine. Après solidification de la paraffine les tissus ont été sectionnés avec un microtome en des coupes de 5 µm d'épaisseur. Les coupes ont été hydratées, étalées sur des lames, séchées puis colorées dans de l'hématoxyline ensuite dans l'éosine.

Après coloration, les lames ont été montées et observées au microscope trinoculaire avec le grossissement x20.

Partie 3

Résultats et discussion



Résultats

1. Extraction des polysaccharides

Les résultats obtenus concernant les volumes et les quantités trouvés après chaque étape ainsi que les rendements d'extraction sont récapitulés dans le diagramme ci-dessous (**Figure 12**).

Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est calculé comme étant le pourcentage du rapport de la masse de polysaccharides totaux en (g) sur la masse de la matière sèche (racines) en (g) introduite au départ.

$$R\% = [P_{PT} (g) / P_{MS} (g)] \times 100\%$$

R: rendement en polysaccharides totaux (%).

P_{PT}: poids de l'extrait de polysaccharides totaux en gramme.

P_{MS}: poids de la matière sèche en gramme.

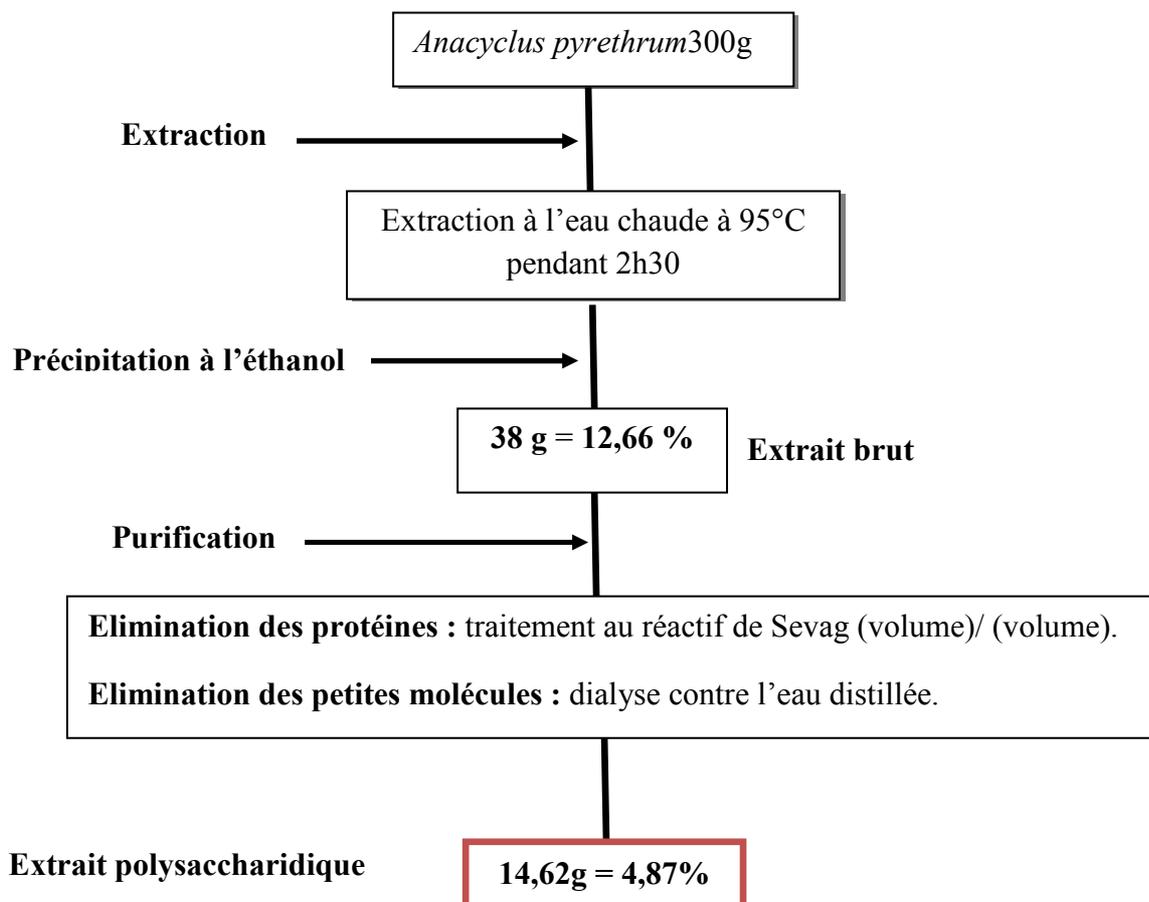


Figure 12. Résultats de l'extraction des polysaccharides à l'eau chaude.

2. Traitement des souris

Au cours de ce travail nous nous sommes focalisés sur un certain nombre de paramètres (caractéristiques) macroscopiques (taille, poids, odeur, saignement, diarrhée) des intestins, cellulaires (FNS, comptages des splénocytes, des cellules des plaques de Peyer et des macrophages intrapéritonéaux) et histologiques (Coupes histologiques) permettant d'étudier et de décrire l'effet de l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation des intestins d'une part et d'apprécier son effet protecteur vis-à-vis de cette inflammation d'autre part.

Outre ces paramètres, notre attention s'est portée sur l'observation de diverses manifestations morphologiques et comportementales. Les animaux ont présenté des signes visibles de maladie ; le dos courbé, une fourrure surélevée, des symptômes de septicité (cyanose et froideur), une perte d'appétit et une mobilité réduite avec diarrhée parfois accompagnée du sang.

2.1. Effet du traitement sur le poids corporel

Le poids individuel de chaque animal a été déterminé avant et après le traitement par l'acide acétique (AA), et l'acide acétique + la plante (AA+P) (**Tableau 07**). Les résultats montrent une perte remarquable du poids des animaux traités comparativement aux témoins :

Témoins sains (T) : la valeur moyenne de ce lot (32g) a été prise comme valeur de référence.

Témoins traités avec l'acide acétique (AA) : le traitement par d'acide acétique a entraîné une baisse remarquable du poids corporel des souris. Leur poids a baissé de 9% par rapport aux témoins sains.

Traitées à la dose 25mg/Kg : le poids corporel des animaux traités avec cette dose a baissé de 6% comparativement au lot sain.

Traitées à la dose 50mg/Kg : cette dose a eu un effet protecteur mais mitigé sur la baisse du poids corporel des souris qui a diminué de 6%.

Traitées à la dose 100mg/Kg : le traitement par l'extrait polysaccharidique à cette dose n'a eu aucun effet protecteur sur la baisse du poids corporel des souris. En effet on observe une diminution du poids corporel similaire à celui du lot traité avec l'acide acétique seulement.

Tableau 07. Récapitulatif des variations du poids corporel avant et après traitement.

Lot des souris	Poids avant traitement (g)	Poids après traitement (g)	Différence de poids (g)	Appréciation
AA	32	29	3	Diminution remarquable
AA+P (25mg/kg)	34	32	2	Diminution moins importante
AA+P (50mg/kg)	36,5	34,5	2	Diminution moins importante
AA+P (100mg/kg)	33,5	30,5	3	Diminution remarquable

2.2. Effet du traitement sur la longueur du côlon

Les résultats obtenus (Figures 13 et 14) montrent une variation de la longueur relative du côlon chez les cinq lots sous l'effet du traitement.

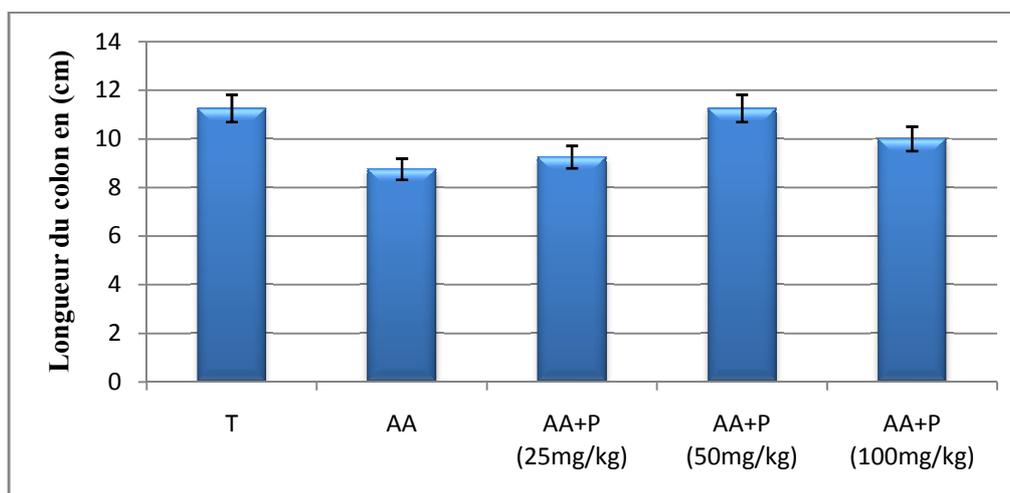


Figure 13. Effet du traitement sur la longueur du côlon.

Témoins sains (T) : la valeur moyenne de ce lot (11,25 cm) a été prise comme valeur de référence.

Témoins traités avec l'acide acétique (AA) : le traitement par l'acide acétique a provoqué un rétrécissement du côlon dont la taille a baissé de 26% par rapport à celle du lot témoin sain

Traitées à la dose 25mg/Kg : le traitement des souris avec cette dose n'a eu aucun effet protecteur sur la taille du côlon qui a rétréci de 20% de sa taille normale.

Traitées à la dose 50mg/Kg : cette dose de l'extrait a presque complètement protégé le côlon de tout rétrécissement. La taille est restée quasiment la même.

Traitées à la dose 100mg/Kg : l'extrait polysaccharidique a eu un effet protecteur sur la taille du côlon qui a diminué de seulement 13% de sa taille.

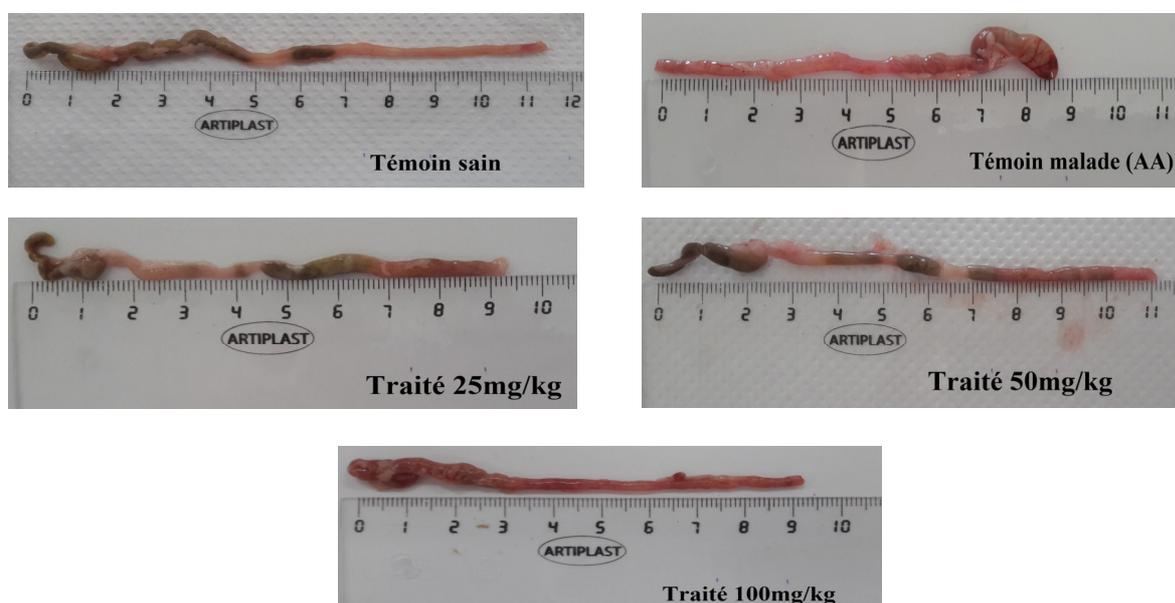


Figure 14. Effet du traitement sur la longueur et l'aspect macroscopique des côlons.

2.3. Effet du traitement sur le poids du côlon

Le poids des côlons a été déterminé avant le vidage de leur contenu (**Figure 15**). Les résultats ont montré une variation du poids relatif du côlon chez les souris traitées avec l'acide acétique+ la plante par rapport aux témoins sains et aux témoins malades.

Lot témoin (T) : la valeur moyenne du poids pour ce lot (1,03g) a été prise comme référence.

Lot traité avec l'acide acétique (AA) : l'administration de l'acide acétique a provoqué une inflammation du tractus intestinale. Les dommages (hémorragies, œdème) ont engendré une baisse remarquable du poids du côlon qui a diminué de 20 %.

Traitées à la dose 25mg/Kg : le poids du côlon de ce lot a diminué de 13 % par rapport aux témoins. On peut en conclure que l'extrait polysaccharidique à cette dose a eu un effet protecteur sur la baisse du poids.

Traitées à la dose 50mg/Kg : cette dose a eu un effet protecteur intermédiaire entre la dose 100mg/ kg et la dose 25mg/Kg sur le poids du côlon, la différence de poids avec les témoins sains est de 11%.

Traitées à la dose 100mg/Kg : le traitement par l'extrait à la dose 100mg/Kg a eu un effet protecteur plus élevé sur la baisse de poids du côlon. En effet on observe une différence de 3% par rapport aux témoins sains.

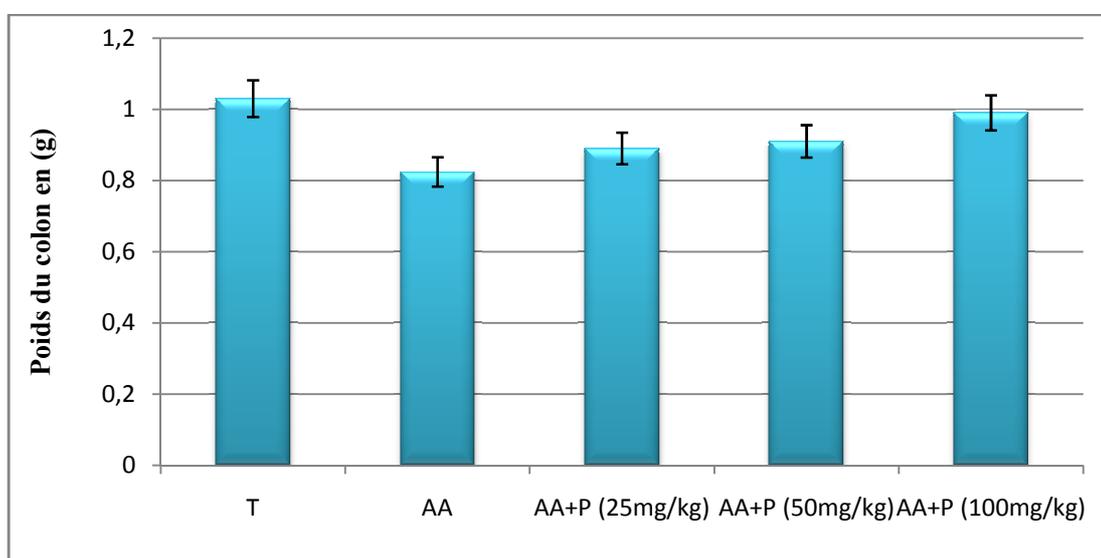


Figure 15. Effet du traitement sur le poids du côlon en (g)

2.4. L'effet du traitement sur l'aspect macroscopique (côlon et intestin grêle)

Lot témoin sain : Chez le lot témoin, on n'observe aucun signe d'inflammation, pas de diarrhée, de saignement, d'ulcération, d'œdème de la muqueuse colique ou intestinale. Les selles sont consistantes remplissant le côlon et l'intestin grêle et ne présentent pas d'odeur caractéristique, le duodénum n'est pas enflammé(**Figure 16**).

Lot traité avec l'acide acétique : à l'œil nu, une atteinte sévère du côlon a été observée chez les souris du lot (AA) (**Figure 14**), la muqueuse colique est apparue hémorragique et ulcéreuse, le saignement est important. Concernant le contenu du côlon, les fèces sont molles

et sanguinolentes représentant une odeur caractéristique. Pour l'intestin grêle, le diamètre de l'iléon a rétréci considérablement, le duodénum est particulièrement enflammé (rougeur et constriction) (**Figure 16**), les plaques de Peyer étaient moins développées.

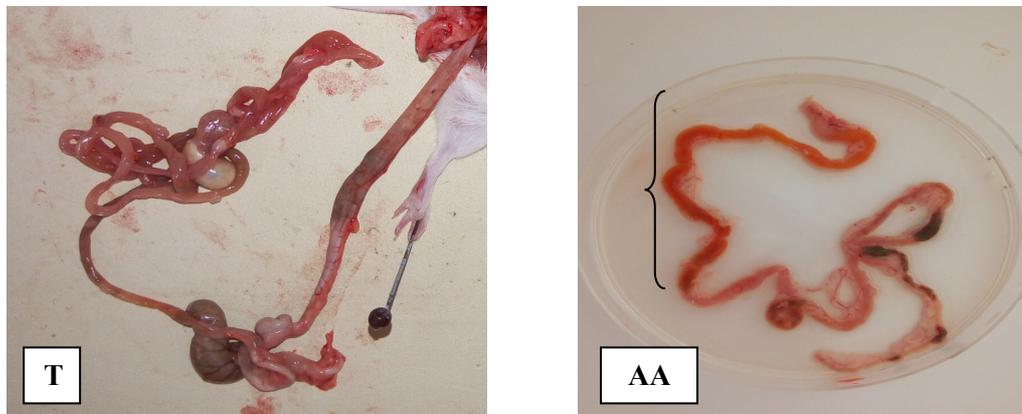


Figure 16. L'aspect de l'iléon chez le témoin sain et le témoin malade AA.

Pour les souris traitées avec (AA+P), l'aspect macroscopique varie en fonction des doses injectées :

Traitées à la dose 25mg/kg (AA+P) : tout le tractus intestinal du duodénum au rectum présente un saignement et un œdème léger (**Figure 14**), avec très peu de contenu, la diarrhée est manifestée avec une odeur caractéristique, l'intestin ne présente pas de rétrécissement et les plaques de Peyer sont peu développées.

Traitées à la dose 50mg/kg (AA+P) : le saignement a considérablement diminué avec seulement de très faibles traces dans le côlon (**Figure 14**), Les selles sont consistantes sans odeur caractéristique, les plaques de Peyer sont très bien développées(**Figure 17**), l'intestin ne présente pas de saignement ni de rétrécissement.



Figure 17. Plaque de Peyer bien développée chez les souris traitées (50mg/kg).

Traitées à la dose 100mg/kg : Le côlon et l'intestin grêle apparaissent très sanguinolents avec très peu de contenu en selles. Le sang semble remplacer les fèces, on observe également une diarrhée très intense. Les plaques de Peyer sont très bien développées.

2.5. Score macroscopique de dommage du côlon

Le score du dommage macroscopique de 0-10 montre qu'il n'y a aucune atteinte macroscopique chez les témoins sains par contre le lot traité avec l'acide acétique a un score de 10 cela montre une atteinte grave du côlon. Pour les lots traités avec les doses 100 mg/Kg et 25mg/kg les scores sont de 6, prouvant un effet protecteur de l'extrait polysaccharidique contre l'inflammation du côlon induite par l'acide acétique. Pour les animaux traités par l'extrait à la dose 50mg/Kg, le score est de 2. Cela démontre que l'extrait à cette dose a eu un effet protecteur majeur contre l'inflammation du côlon induite par l'acide acétique (**Tableau 08**).

Tableau 08. Le score de dommage macroscopique du colon.

Lots	Score macroscopique de colon
Témoins sains	0
Témoins traités avec l'acide acétique	10
Traitées à la dose 25mg/Kg	6
Traitées à la dose 50mg/Kg	2
Traitées à la dose 100mg/Kg	6

2.6. Effet du traitement sur le poids de la rate

Les résultats obtenus montrent une forte diminution du poids de la rate pour le lot AA (0,09g) comparativement à celui des témoins (0,2g) (**Figure 18**). Cependant, chez les souris traitées avec AA+P, la rate pèse entre 0,14g et 0,19g pour les trois doses.

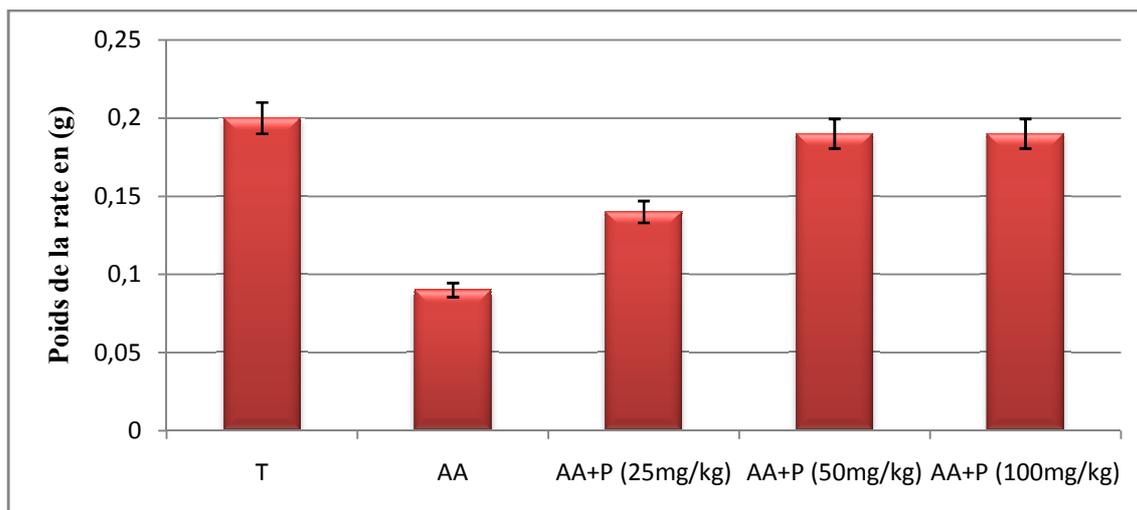


Figure 18. Effet du traitement sur le poids de la rate en (g).

2.7.Effet du traitement sur la formule numérique sanguine (FNS)

Témoin sain : les valeurs des paramètres mesurés sont prises comme référence (**Tableau 09**).

Témoin traité avec l'acide acétique (AA) : le nombre des leucocytes totaux chez ce lot a augmenté par rapport au témoin ($6,15 \cdot 10^3 / \mu\text{l}$) (**Figure 19**), on observe une diminution du pourcentage des lymphocytes (39,67% et des monocytes (7,82%) alors qu'il y a une forte augmentation du pourcentage des polynucléaires neutrophiles (44,72%).

Traitées par la dose 25mg/kg (AA+P) : on remarque une augmentation des leucocytes totaux par rapport aux témoins sains et aux témoins malades ($8,7 \cdot 10^3 / \mu\text{l}$). Les pourcentages des lymphocytes (67,82 %) et des monocytes (12,30%) sont en hausse par rapport aux souris AA. Par contre, on observe une diminution du pourcentage des neutrophiles (19,66%).

Traitées par la dose 50mg/kg (AA+P) : le nombre des leucocytes totaux a fortement diminué ($2,40 \cdot 10^3 / \mu\text{l}$) comparativement aux deux lots précédents (AA et AA+P 25mg/kg). On observe une augmentation du pourcentage des lymphocytes (63,75%) et des monocytes (9,17%) par rapport aux souris AA, alors que le pourcentage des polynucléaires neutrophiles (27,08%) a diminué.

Traitées par la dose 100mg/kg (AA+P) : le nombre des leucocytes totaux est très faible ($2,43 \cdot 10^3 / \mu\text{l}$) par rapport à celui du lot traité par la dose 25mg/kg, mais très proche à celui du lot traité par la dose 50mg/kg. On note une augmentation du pourcentage des lymphocytes

(62,55%) et des monocytes (18,11%) par contre une forte diminution est observée pour le pourcentage des polynucléaires neutrophiles (19,34%) comparativement au lot AA.

Tableau 09. Effet du traitement sur la formule numérique sanguine (FNS).

Paramètres	Témoin sain	Témoin AA	Traitées AA+P (25mg/kg)	Traitées AA+P (50mg/kg)	Traitées AA+P (100mg/kg)
GB ($10^3 / \mu\text{l}$)	4,40	6,15	8,7	2,4	2,43
Lymphocytes %	68,4	39,67	67,82	63,75	62,55
Monocytes %	14,1	7,82	12,3	9,17	18,11
Neutrophiles %	17,5	44,72	19,66	27,08	19,34

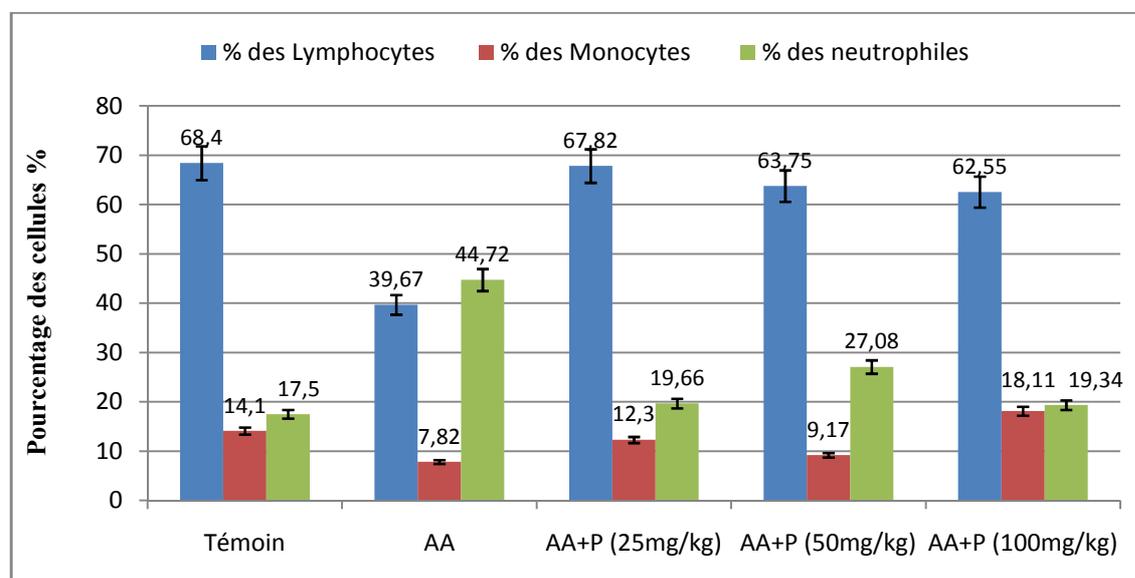


Figure 19. Effet du traitement sur le taux des lymphocytes, monocytes et neutrophiles dans le sang.

2.8. Effet du traitement sur les macrophages péritonéaux

Les résultats de comptage (**Figure 20**), montrent une augmentation considérable des macrophages péritonéaux chez les souris du lot AA avec ($240 \cdot 10^8$ C/L) par rapport aux témoins ($72,5 \cdot 10^8$ C/L), cette augmentation est plus remarquée chez les souris du lot AA+P ($1468,75 \cdot 10^8$ C/L, $497,5 \cdot 10^8$ C/L, $373,5 \cdot 10^8$ C/L) pour les doses 25mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kg respectivement.

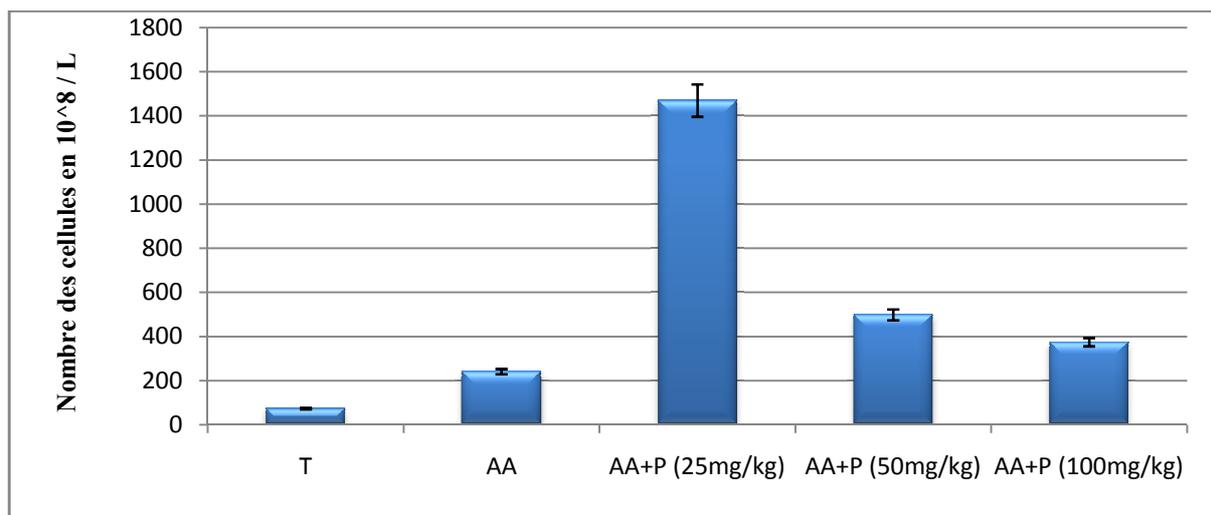


Figure 20. Effet du traitement sur le nombre des macrophages péritonéaux.

2.9. Effet du traitement sur les cellules des plaques de Peyer

Une augmentation remarquable des cellules des plaques de Peyer est observée (**Figure 21**) chez les souris du groupe AA+P ($975 \cdot 10^8$ C/L, $602,5 \cdot 10^8$ C/L, $318,75 \cdot 10^8$ C/L) pour les doses 25, 50 et 100mg/kg respectivement, par contre le nombre de ces cellules du groupe AA ($220 \cdot 10^8$) est légèrement en hausse par rapport aux témoins ($102,5 \cdot 10^8$ C/L).

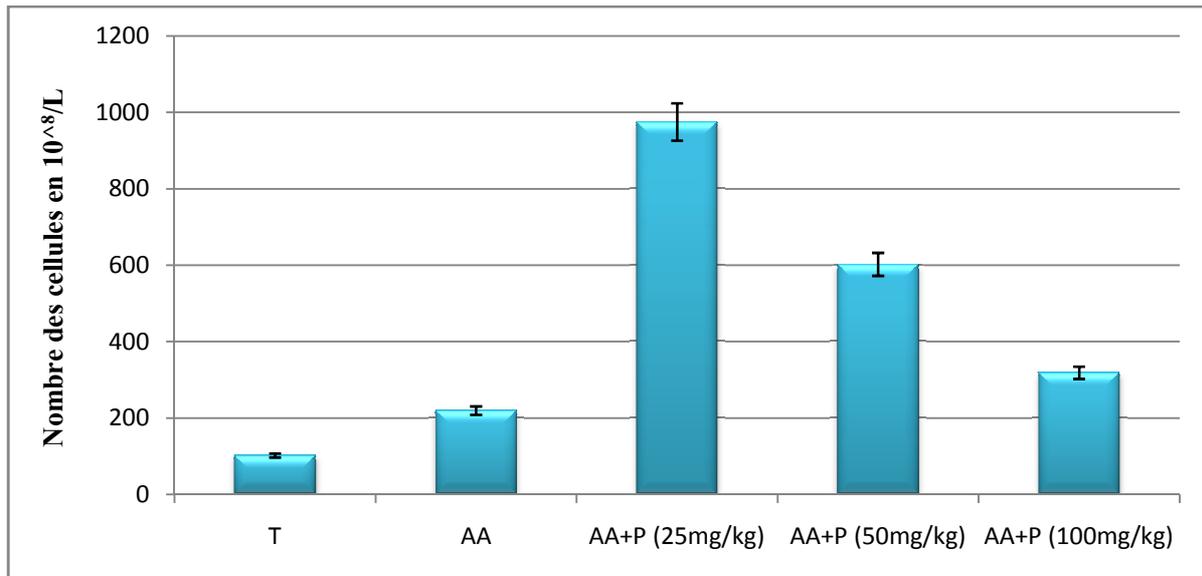


Figure 21. Effet du traitement sur le nombre des cellules des plaques de Peyer

2.10. Effet du traitement sur les splénocytes

Le nombre des splénocytes a connu une diminution marquante chez les souris du lot AA ($58,75 \cdot 10^8$ C/L) comparativement à celui du témoin ($245 \cdot 10^8$ C/L) (**Figure 22**). Par contre, une augmentation des splénocytes est observée chez les souris du lot AA+P par rapport aux témoins malades AA, cette augmentation est plus importante pour la dose 25mg/kg ($180 \cdot 10^8$ C/L) que pour la dose 50mg/kg ($132,5 \cdot 10^8$ C/L), alors que pour la dose 100 mg/kg, le nombre des splénocytes a diminué jusqu'à ($22,5 \cdot 10^8$ C/L).

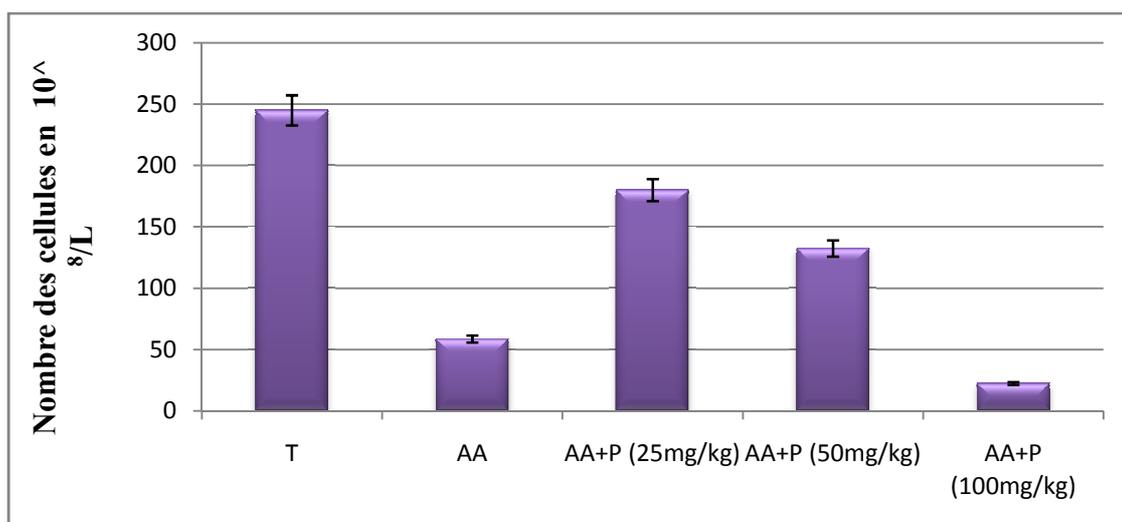


Figure 22. Effet du traitement sur le nombre des splénocytes

2.11 Effet du traitement sur l'histologie du côlon

Afin de déterminer l'effet de l'extrait polysaccharidique sur l'inflammation intestinale induite par l'acide acétique, une analyse histologique des côlons issus des souris sous les différents traitements a été réalisée. D'après les résultats obtenus on a remarqué que :

Témoin sain : l'étude microscopique montre une paroi colique de morphologie et de structure normale (**Figure 23a**), la surface de la muqueuse est tapissée par un épithélium cylindrique régulier. On observe une absence d'œdème et d'infiltration leucocytaire dans le chorion. Les glandes de Liberkuhn sont normales et tapissées par un épithélium mucosécrétant à pole muqueux ouvert. La musculaire muqueuse est fine surmontant une couche de musculature constituée de faisceaux musculaires lisses de disposition horizontale et verticale. Enfin la sous-séreuse est constituée d'un tissu adipeux renfermant quelques vaisseaux.

Témoin malade (AA) : l'étude microscopique (**Figure 23b**) montre une paroi colique de structure dispersée présentant des dommages extensifs incluant des œdèmes et ulcérations dans la sous-muqueuse. Le chorion est très œdématié.

Traité à la dose 25mg/kg : l'examen histologique montre une muqueuse colique ulcérée (**Figure 23c**), le chorion est oedématié, dissocié par un discret infiltrat inflammatoire essentiellement lymphocytaire avec quelques renforcements nodulaires. Le reste des tuniques est sans pathologie notable.

Traité à la dose 50mg/kg : l'aspect histologique est sensiblement identique à celui observé au niveau des parois coliques des souris témoins (**Figure 23d**), on observe une absence d'altération lésionnelle, il s'agit d'une paroi colique d'aspect histologiquement normal.

Traité à la dose 100mg/kg : on reconnaît une paroi colique siège de remaniements congestives et inflammatoires (**Figure 23e**), avec des phénomènes d'infraccissement hémorragique. La muqueuse est partiellement abrasée, le revêtement épithélial est de type régénératif, surmontant un chorion inflammatoire et comportant des vaisseaux congestifs à paroi épaissie. La musculature est sans particularités, enfin la séreuse est congestive.

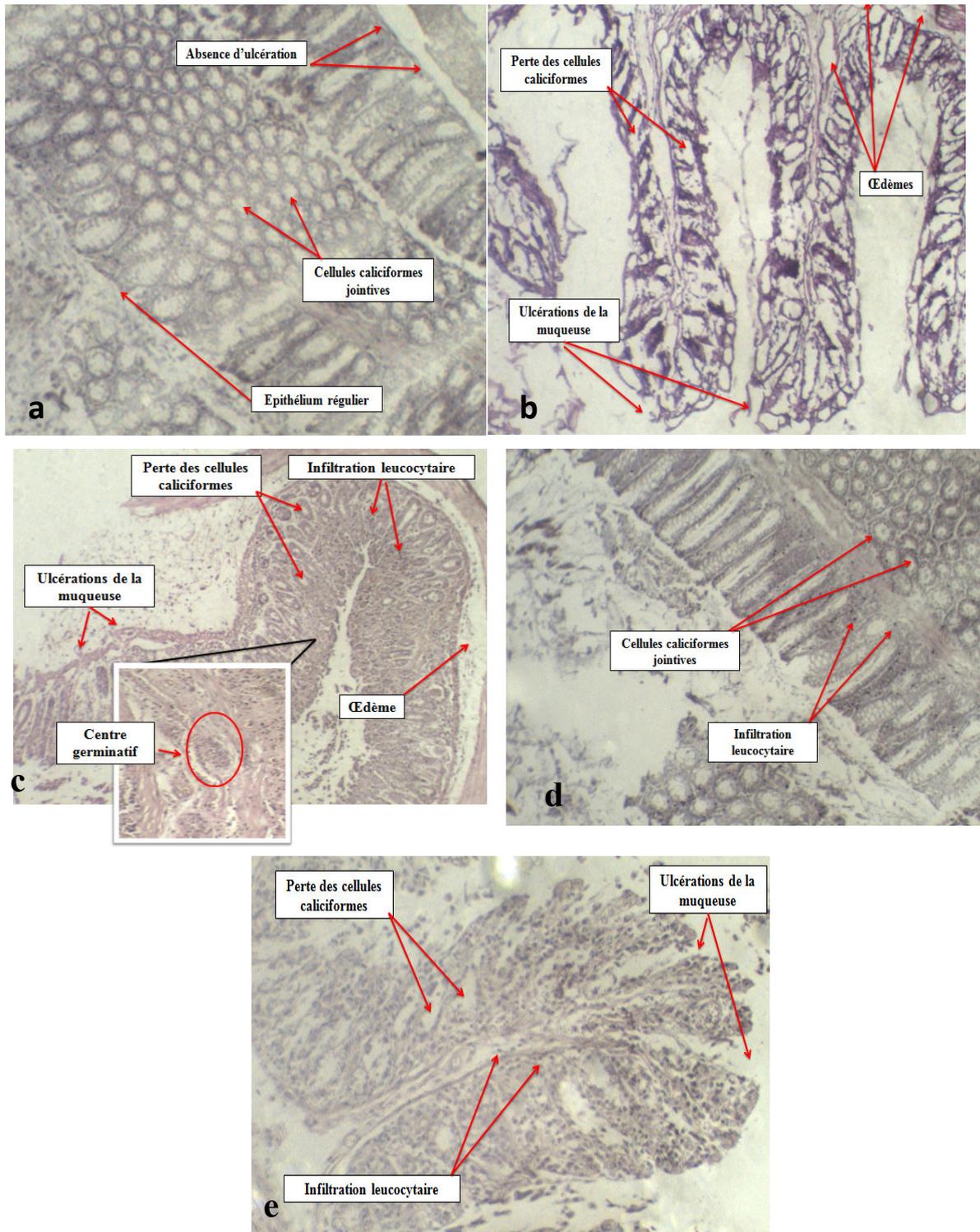


Figure 23. Effet du traitement sur l'histologie du côlon des souris

(a : témoin sain, b : témoin malade AA, c : traité par 25mg/kg, d : traité par 50mg/kg, e : traité par 100mg/kg) Grossissement x 20.

Discussion

La colite ulcéreuse induite par l'acide acétique est l'un des modèles expérimentaux les plus largement utilisés pour étudier les maladies inflammatoires chroniques intestinales (**Kojima et al., 2001**). L'induction de ce modèle animal provoque assez, facilement une inflammation similaire à l'inflammation intestinale aiguë chez l'homme (**Niu et al., 2013**).

Le modèle AA de colite que nous avons utilisé dans notre étude imite plusieurs caractéristiques morphologiques, cliniques et fonctionnelles importantes de la colite ulcéreuse (**MacPherson et Pfeiffer, 1978**), et nos données ont montré que le prétraitement par l'extrait polysaccharidique atténuait ces caractéristiques y compris ; le poids corporel, la taille, le poids et l'aspect du côlon et la fonction des cellules immunitaires.

Comme on le sait, la perte d'appétit due à l'inflammation, ainsi que la douleur provoquée par l'amincissement et le raccourcissement du côlon sont en association avec la perte du poids notée chez le modèle AA (**Chassaing et al., 2014**). L'extrait polysaccharidique a été en mesure de prévenir la baisse du poids corporel, le fait qui a attiré notre attention en particulier avec les doses 50mg/kg et 100mg/kg.

Une évaluation plus approfondie grâce à l'observation de l'aspect macroscopique du côlon et de l'intestin, ainsi qu'à la détermination du poids du côlon, a confirmé nos résultats. Le raccourcissement du côlon (sténose) dont nous avons remarqué chez les souris AA s'explique par l'hypertrophie de la musculature muqueuse et l'inflammation massive de la sous muqueuse et de la musculature, signes caractéristiques de la colite (**Goulston et Mc Govern, 1969**). Cette rétraction est moins marquée chez les souris prétraitées avec l'extrait polysaccharidique, particulièrement avec la dose 50mg/kg qui pourraient avoir un effet protecteur sur la longueur du côlon.

La diminution du poids relatif du côlon des souris du lot (AA+P) s'explique par la présence des diarrhées qui ont accru le rythme d'élimination des selles, comparativement aux souris malades dont le poids relatif du côlon s'explique par son contenu important est dû à l'inflammation qui provoque la douleur réduisant ainsi le besoin d'éliminer les fèces. La barrière épithéliale atteinte est un événement initial dans la MII qui aboutit à la manifestation de la maladie (**Xavier et Podolsky, 2007**). Le modèle AA de colite représente également le schéma similaire en causant une lésion épithéliale responsable du saignement

colique, on observe des muqueuses œdémateuses ainsi que la présence des zones d'érosions hémorragiques dispersées tout au long du côlon. Ce saignement s'explique également par le raccourcissement du côlon dû à la gravité de l'inflammation aiguë (**Chassaing et al., 2014**), signe faiblement marqué chez les souris prétraitées notamment avec la dose 50mg/kg.

Le rétrécissement de l'intestin grêle (exactement de l'iléon) est en corrélation avec la toxicité de l'acide acétique pour les cellules épithéliales intestinales provoquant une entrée d'acide sous forme protonée soluble perturbant l'intégrité de la barrière muqueuse (**Stéphane et al., 2008**). Les atteintes initiales peuvent être induites par l'instillation rectale d'acide acétique sont une nécrose épithéliale relativement faible accompagnée d'œdème. Ces atteintes peuvent s'étendre à la lamina propria, à la sous-muqueuse ou aux couches musculaires selon les concentrations et les temps d'exposition utilisés (**Jurjus et al. 2004**).

L'aspect diarrhéique des selles s'explique par le déséquilibre de la flore intestinale (dysbiose) avec augmentation des bactéries aérobies par rapport aux bactéries anaérobies strictes (**Manischanh et al., 2008**). L'acide acétique a eu un effet profond sur l'écologie microbienne dans la muqueuse intestinale.

Ces observations sont en désaccord avec les résultats de (**Krishnan et al., 2014**) où on observe une augmentation de ces paramètres.

Les résultats obtenus suggèrent donc que le traitement des souris par les polysaccharides d'*Anacyclus pyrethrum* a induit une protection contre la colite expérimentale induite par l'acide acétique, cet effet protecteur concerne beaucoup plus le saignement colique, la consistance des selles et le rétrécissement du côlon, avec un meilleur rendement pour la dose 50mg/kg.

Pour approfondir la compréhension des mécanismes responsables de l'effet protecteur de cet extrait, nous avons évalué le nombre des cellules immunitaires comptées dans ; le liquide intra-péritonéal, les plaques de Peyer et la rate ;

Les macrophages constituent, avec les polynucléaires les premières cellules sollicitées en cas d'une agression de la muqueuse intestinale permettant le recrutement d'autres cellules immunitaires vers le site de l'inflammation (**Smith et al., 2010**).

Les macrophages intestinaux résidents sont fortement phagocytaires (**Weber et al., 2010**), lors d'une inflammation, ils produisent une variété de cytokines pour maintenir l'homéostasie intestinale et réguler la croissance des entérocytes endommagées (**Bain et al., 2013**). L'augmentation des macrophages péritonéaux chez les souris des lots AA et AA+P par rapport aux témoins se justifie alors par leur stimulation sous l'effet des chimiokines sécrétées

par les macrophages résidents pour amplifier la réaction inflammatoire. Le prétraitement avec l'extrait polysaccharidique semble avoir un effet immunostimulant pour les macrophages intestinaux, ceci est en accord avec les résultats trouvés par **(Bendjeddou et al.,2003)**. Cet effet est meilleur avec la dose 25mg/kg.

Les plaques de Peyer constituent avec les nodules lymphoïdes isolés, les sites inducteurs majeurs de l'immunité adaptative intestinale, de plus, le dôme subépithélial riche en lymphocytes T et B est un site privilégié pour l'initiation des réponses immunitaires adaptatives cellulaires (T) et humorales (B), et même pour la tolérisation du système immunitaire face à la flore intestinale endogène.

De ce fait, l'augmentation du nombre des cellules des plaques de Peyer du lot AA+P quelque soit la dose, peut être expliquée par l'effet immunostimulant des polysaccharides de la plante sur les cellules immunitaires

La rate est le plus volumineuse des organes lymphoïdes périphériques qui interviennent dans l'immunité humorale et cellulaire, elle contient un certain nombre de globules blancs qui jouent un rôle important dans la fonction immunitaire.

La baisse du nombre des splénocytes chez le lot AA peut être expliquée par la libération dans le sang du stock cellulaire de la rate en réponse à l'inflammation. Par contre, chez les souris du lot AA+P, l'augmentation de ce nombre est en corrélation avec l'effet immunostimulant des polysaccharides extraits de la plante **(Bendjeddou et al., 2003)**.

Pour l'FNS, l'augmentation qui concerne les monocytes et les lymphocytes chez les deux lots AA et AA+P (quelque soit la dose) est une caractéristique d'une réaction inflammatoire. Lors d'une inflammation, les macrophages produisent plusieurs facteurs de croissance tels : M-CSF, G-CSF, GM-CSF, ces facteurs permettent la prolifération des précurseurs hématopoïétiques des monocytes et des granulocytes de la moelle osseuse qui viendront ensuite prêter main forte aux phagocytes déjà présents au site lésé. Cette augmentation observée chez les souris prétraitées est due à l'effet des extraits de polysaccharides sur la libération des monocytes de la moelle osseuse dans le sang périphérique **(Bendjeddou et al., 2003)**. D'après l'étude du **(Qualls et al.,2006)**, l'iMNP (Intestinal mononuclear phagocyte) peut servir un rôle protecteur pendant le développement de la colite aiguë. Cette protection contribue à une diminution de l'infiltration de neutrophiles, en plus les macrophages sont également importants pour la résolution de l'inflammation et la réparation de la muqueuse intestinal qui se produit durant la rémission de la maladie **(Mahida, 2000)**, la caractéristique expliquant l'augmentation du pourcentage des monocytes dans notre étude notamment avec les doses (25mg/kg et 100mg/kg).

Les cytokines IL-1, IL-6 et TNF α libérées par les monocytes et les macrophages induisent le recrutement des neutrophiles provoquant encore une stimulation immunitaire (IL-17, IL-10) et libèrent des oxydants cytotoxiques puissants qui amplifient encore la chimiotaxie (**Fournier et Parkos, 2012**). Les PNN ne sont pas seulement adaptés pour tuer les bactéries, mais peuvent également contribuer à une réponse inflammatoire exacerbée en libérant des cytokines pro-inflammatoires (**Williams et Parkos, 2007**). Ainsi, les PNN puissent contribuer à la pathogenèse de la colite en activant les LT par l'IL-8 et l'IL-17 (**Mantovani et al., 2011**). La diminution des PNN observée chez les souris prétraitées indique que les polysaccharides ont réduit l'infiltration des cellules inflammatoires en inhibant les signaux chimiotactiques des cytokines pro-inflammatoires tel que TNF α , cytokine jouant un rôle prépondérant dans la pathogenèse des MICI (**Xavier et Podolsky, 2007**).

Une évaluation plus approfondie grâce à l'analyse histologique nous a permis d'apprécier les atteintes provoquées chez le modèle AA en causant des lésions épithéliales, des œdèmes, et des ulcérations avec perte des cellules caliciformes, signe responsable de la réduction de la sécrétion des mucines, ce qui compromet la perméabilité colique et favorise la translocation bactérienne dans la paroi du côlon (**Nakhai et al., 2007**). Au contraire, cet apprivoisement était significativement moins élevé dans les groupes traités par l'extrait des polysaccharides montrant une atteinte intestinale réduite avec absence d'œdèmes et d'ulcérations, accompagnée d'infiltration leucocytaire dans la lamina propria et la sous-muqueuse. Dans ces conditions, l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* a montré un effet immunomodulateur et protecteur contre les dommages coliques.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les études de ces dernières décennies portant sur les polysaccharides ont révélé le potentiel des polysaccharides comme additifs alimentaire mais aussi leurs potentiels thérapeutiques notamment anti-inflammatoire, antioxydant, anticancéreux, antidiabétique, antiviral, antibactérien, anti-cholestéromique, hépatoprotectriceetc.

L'*Anacyclus pyrethrum*, ou pyrèthre d'Afrique est une plante médicinale très connue par l'effet thérapeutique de ces racines dans de nombreuses maladies inflammatoires.

Dans ce travail, nous nous sommes proposé d'évaluer l'effet des polysaccharides extraits des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation intestinale dans un modèle expérimental d'inflammation colique induite par l'acide acétique chez la souris. Nous avons examiné plusieurs paramètres à savoir les atteintes histologiques, les populations des cellules immunitaires dans le sang, dans les tissus lymphoïdes secondaires associés à l'intestin, la rate et la cavité péritonéale. Nous avons également étudié différentes caractéristiques du côlon dont la longueur, le poids et l'aspect macroscopique.

Notre étude révèle que l'acide acétique provoque une colite combinée à une réponse inflammatoire avec la destruction des tissus intestinaux. Nos résultats sont très encourageants, et démontrent, pour la première fois, que le prétraitement avec l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* réduit de manière considérable la gravité et l'extension du dommage colique aigu provoqué par l'acide acétique, et protège la muqueuse intestinale en agissant sur l'immunité intestinale et en prévenant les altérations.

Une des difficultés de cette étude a été d'utiliser le modèle de colite induite par l'acide acétique, bien qu'il nous donne des informations sur l'immunité innée, les souris résistent difficilement jusqu'à 24 heures, mais la colite induite par le DSS est un modèle plus adapté et plus fiable, d'autre part nous suggérons de choisir des rats qui en raison de leur poids supporteront mieux les effets dévastateurs de l'inflammation au lieu des souris.

Sachant que notre étude a été étendue sur une durée de trois jours qui n'a permis que d'évaluer la réponse immunitaire innée, nous pensons qu'il serait utile d'étendre le temps d'étude pour apprécier le potentiel immunostimulant de l'extrait sur la réponse immunitaire adaptative. De même nous proposons d'approfondir l'étude en dosant les enzymes anti-oxydantes (glutathion, catalase...) et les cytokines pro-inflammatoires et anti inflammatoires notamment le TNF α , l'interleukine 1, 6 et l'interleukine 10 et l'INF γ .

Annexes

Nom de la solution	Composition	Quantité du réactif
Phosphate buffer saline (PBS) PH7.4 10mM	NaCl	8.0g
	Na ₂ HPO ₄	1.42g
	KH ₂ PO ₄	0.24g
	KCl	0.2g
	Eau distillée	1000ml
Formol aldéhyde 10%	Formol aldéhyde	1ml
	Eau distillée	9ml
Solution alcaline	NaCl	0.9g
	Eau distillée	100ml
Acide acétique 10%	Acide acétique	1ml
	Eau distillée	9ml
Solution de lyse des GR	NH ₄ Cl	0.83g
	Eau distillée	100ml

Résumé

Les maladies inflammatoires de l'intestin correspondent à un groupe d'affections idiopathiques du tractus digestif caractérisées par des signes gastro-intestinaux chroniques non spécifiques.

Les polysaccharides sont un groupe majeur de principes actifs des plantes médicinales, connus pour leurs effets sur le système immunitaire.

Anacyclus pyrethrum est réputé pour son potentiel anti-inflammatoire et immunostimulant. Elle est utilisée dans le traitement traditionnel de nombreuses maladies inflammatoires.

Cependant son effet sur la colite ulcéreuse n'a jamais été exploré, c'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à étudier l'effet des polysaccharides extraits à l'eau chaude de cette plante sur la l'inflammation intestinale induite par l'acide acétique chez les souris.

Les animaux de l'expérimentation ont reçu des doses (25mg/Kg, 50mg/ Kg et 100mg/Kg) de l'extrait de polysaccharides par injection intrapéritonéale 24 heures avant l'instillation intrarectale de 200µl d'acide acétique à 10%.

Le degré et l'étendu de l'inflammation provoquée par l'acide acétique, de même que l'effet anti-inflammatoire et immunostimulant de l'extrait ont été évalués par des analyses macroscopiques (taille, poids, odeur, saignement, diarrhée...) des intestins, cytologiques (FNS, comptages des splénocytes, des cellules des plaques de Peyer et des macrophages intrapéritonéaux) et histologiques (Coupes histologiques du colon).

Le prétraitement par l'extrait polysaccharidique a montré une excellente activité anti-inflammatoire diminuant de façon importante la gravité et extension du dommage colique aigu provoqué par l'acide acétique avec une atténuation des signes inflammatoires chez les animaux traités par l'extrait polysaccharidique. En outre, une activité immunostimulante exercée par cet extrait a été notée, se traduisant par une augmentation considérable du nombre des splénocytes, des macrophages intrapéritonéaux et des cellules des plaques de Peyer). Cela a été confirmé par l'aspect histologique du colon.

Mot clés : Phytothérapie, *Anacyclus pyrethrum*, polysaccharides, MICI.

Summary

Inflammatory bowel disease is a group of idiopathic disorders of the digestive tract characterized by non-specific chronic gastrointestinal signs.

Polysaccharides are a major group of active ingredients of medicinal plants, known for their effects on the immune system.

Anacyclus pyrethrum known for its anti-inflammatory and immune-stimulating potential. It is used in the traditional treatment of many inflammatory diseases.

However, its effect on ulcerative colitis has never been explored, it is in this perspective that we are interested to study the effect of the hot water polysaccharide extract of this plant on the intestinal inflammation induced by the Acetic acid in mice.

The experimental animals received the doses (25 mg / kg, 50 mg / kg and 100 mg / kg) of the polysaccharide extract by intraperitoneal injection 24 hours before the intrarectal instillation of 200 µl of 10% acetic acid.

The degree and the extent of inflammation caused by acetic acid, as well as the anti-inflammatory and immunostimulatory effect of the polysaccharide extract were evaluated by macroscopic analyzes (size, weight, odor, bleeding, diarrhea, etc.) of the intestines, cytological analyzes (FNS, splenocyte, Peyer's plate cells and intraperitoneal macrophages counts) and histological analyzes (histological sections of the colon).

The pretreatment with the polysaccharide extract showed excellent anti-inflammatory activity, greatly reducing the severity and extension of the acute colic damage caused by acetic acid with an attenuation of the inflammatory signs in the animals treated with this extract. In addition, immunostimulatory activity exerted by this extract was noted, which is reflected by a considerable increase in the number of splenocytes, intraperitoneal macrophages and Peyer's plate cells. This was confirmed by the histological aspect of the colon.

Keywords:

Phytotherapy, *Anacyclus pyrethrum*, polysaccharides, Chronic inflammatory bowel diseases.

ملخص

التهابات الأمعاء هي مجموعة من الأمراض المزمنة مجهولة السبب تخص الجهاز الهضمي. وتعتبر متعددات السكار كونات طبيعية فعالة، توجد في النباتات و المعروفة بتأثيرها على الجهاز المناعي من جهة أخرى، اتضح أن نبات *Anacyclus pyrethrum* يملك قدرة مضادة للالتهابات و منشطة للمناعة، فهو يستخدم في العلاج التقليدي للعديد من الأمراض الالتهابية. و مع ذلك فتأثيره على التهاب القولون التقرحي لم يتم دراسته بعد و عليه، توجه اهتمامنا الى دراسة تأثير متعددات السكار المستخلصة بالماء الساخن من نبات *Anacyclus pyrethrum* على التهاب الأمعاء الناجم عن حمض الخليك لدى الفئران.

تلقت حيوانات التجربة جرعات (25مغ/كغ، 50مغ/كغ، 100مغ/كغ) من مستخلص متعددات السكار عن طريق الحقن داخل الصفاق قبل 24 ساعة من المعاملة بـ 200 ميكرو لتر من حمض الخليك 10% عن طريق الشرج. تم تقييم درجة و مدى توسع الالتهابات الناجمة عن حمض الخليك، بالإضافة إلى تأثير مستخلص متعددات السكار المضاد للالتهاب و المنشط للمناعة و ذلك عن طريق معاينة الأمعاء (الحجم و الوزن، الرائحة، النزيف و الإسهال)، التحليلات الخلوية (الصيغة الرقمية للدم، عدد خلايا الطحال، صفائح باير و البالعات الصفاقية) و الدراسة النسيجية (المقاطع النسيجية للقولون).

ولقد وجد أن معاملة الفئران بمستخلص متعددات السكار، أظهر تأثيرا مضادا للالتهابات ممتازا مع خفض شدة الضرر الحاد للقولون الناجم عن حمض الخليك، و التخفيف من مظاهر الالتهاب و هذا ما أكدته نتائج تشريح القولون و الدراسة النسيجية بالإضافة إلى تنشيط الجهاز المناعي المتميز بارتفاع عدد خلايا الطحال، البالعات الكبيرة الصفاقية و خلايا صفائح باير.

الكلمات المفاتيح

العلاج بالنباتات، نبات *Anacyclus pyrethrum*، متعددات السكار، الأمراض المعوية الالتهابية المزمنة.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abreu M T. (2010): Toll-like receptor signaling in the intestinal epithelium; how bacteria recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology.*, 10: 131-144.

Adela-Emilia G A. (2008): Enfermedad inflamatoria intestinal terapia nutricional. *Farmacia profesional.*,22(4): 48-53.

Ali AA. ; Abd Al Haleem EN. ; Sahar A K. etAmany SS. (2016): Protective effect of cardamonin against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Pharmacological Repports*, 16: 30348-6.

Annalakshmi R.; Uma R. ; Subash chandran G.; Muneeswaran A. (2012) : treasure of medicinal herb – *Anacyclus*. *Indian Journal of Drugs and Diseases.*, 1(3) : 59-67.

Atarashi K.; Nishimura J.; Shima T.; Umesaki Y.; Yamamoto M.; Onoue M.; Yagita H.; Ishii N.; Evans R.; Honda K. et Takeda K (2008) : ATP drives lamina propria T(H)17 cell differentiation. *Nature*,455: 808-812.

Baba Aissa F. (1999) : Encyclopedie des plantes utiles ; Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition EDAS librairie moderne Rouiba, Alger, 368p.

Bagchi S. et Juyaram K. (2016): Studies on water soluble polysaccharides from *Pithecellobium dulce*. *Carbohydrate polymers.*, 138: 215-221.

Bain CC.;Scott CL.; Uronen-Hansson H.; Gudjonsson S.; Jansson O.; Grip O.; Guilliams M.; Malissen B.; Agace WW. EtMowatamCL (2012): Resident and pro-inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors. *Mucosal Immunology*, 6:498-510.

Bellakhdar J. (1998): La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires- Saint –Etienne, Edition Ibis Press, France, 764p.

Beloued A. (1998) : Étymologie Des noms de plantes du Bassin Méditerranéen. Edition Office de Publication Universitaire, Alger, Algérie, 91p.

Bendjeddou D. ; Lalaoui K. ; Tour H. ;Dehali N. et Satta D.(2007) : Activation of the anti-tumor effectors cells by plant polysaccharide. The Third International conference of pharmaceutical and drug Industries Division. Research and developpement in drug (future treads) March 6-8, NRC, p34.

Bendjeddou D.; Lalaoui K. et Satta D. (2003): Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galanga* and *Citrullus colocynthis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 155-160.

Bergstrom KS.; Kisson-Singh V.; Gibson DL, Ma C.; Montero M.; Sham HP.; Ryz N.; Huang T.; Velcich A.; Finlay BB.; Chadee K. et Vallance BA. (2010): Muc2 Protects against Lethal Infectious Colitis by Dissociating Pathogenic and Commensal Bacteria from the Colonic Mucosa. *PLoS Pathogens*, 6(5): e1000902.

Bernstein CN.; Blanchard JF.; Kliewer E.; Wajda A. (2001): Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population based study. *Cancer*, 91(4):854–862.

Bessout R. (2012) : Traitement des lésions colorectales radio-induites par injection de Cellules Stromales Mésoenchymateuses (CSM) : Implication du processus inflammatoire. Thèse de Doctorat en Immunologie, université Pierre et Marie Curie, France, 294p.

Boual Z. (2009) : Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes Spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérienne), thèse de doctorat en biologie, Algérie, 106p.

Boulos L. (1983): Medicinal plants of North Africa. Edition Reference Publications Inc. Michigan, Algonac, Michigan, USA, 286p.

Chaaib KF. (2004) : Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae). Thèse de Doctorat en Pharmagénosie et phytochimie, Genève, Suisse, 200p.

Chabrier J Y. (2010):Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de Doctorat en pharmacie, *Université Henri Poincaré-Nancy1, France*, 165p.

Chassaing B.; Aitken JD, Malleshapp M. et Vijay-kumar M. (2014) : DSS induced colitis in mice. *Current protocols in immunology*, 104: 15-25.

Chassin C.; Kokur M.; Pott J.; Duer CU.; Gutle D. et Lotz M (2010): miR-146a Mediates Protective innate immune Tolerance in the Neonate Intestine. *Cell Host Microbe*, (8): 358 – 368.

Churchill W.H.; Piessens W.F.; David J.R. (1976): Activation of Macrophages in Suspension Culture. In: Bloom B.R.; David J.R. (Eds.), Academic Press, New York, pp. 4417–4421.

Colarelli M. (1984) : Les probiotiques, du conseil officinal à la prise en charge. Thèse de Doctorat en pharmacie. Lyon : Université Henri Poincaré-Nancy1, France, 218 pages.

Colarelli M. (2010) : Les probiotiques, du conseil officinal a la prise en charge micronutritionnelle. Thèse de doctorat en Pharmacie. Nancy: Uiniversité de Nancy-1, France, 114p.

Corthésy B.; Gaskins HR.; Mercenier A. (2007): Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *Journal of Nutrution.*,137:781-790.

Daun J.R.; Shepherd D.M.; Noelle R.J.; (1995): Physical Interactions and Early Signaling Between Helper T Lymphocytes and B Lymphocytes, vol. 1. In: Burleson G.R.; Dean J.H.; Munson A.E.; (Eds.), Wiley-Liss. Inc., New York, pp. 469–481.

Di Maria E. (2012) : Microbiote et maladie de Crohn. Thèse de Doctorat en Pharmacie : Université Joseph Fourier, Grenoble, France, 180p.

Diallo D.; Paulsen BS.;Liljebäck TH.; Michaelsen TE. (2003): The Malian medicinal plant *Trichiliaaemetic*, studies on polysaccharides with complement fixing ability. *Journal of Ethnopharmacology.*, 84: 279–87.

disease. *Journal of Pharmacology & Toxicology Methods* 50: 81-92.

Ducan D.D.; Lawrence D.A.(1995). In: Burleson G.R.; Dean J.H.; Munson A.E.; (Eds.): T Cells and Cloned and Transformed T- Cell Lines to Assess Immune Function, vol. 1. Wiley-Liss. Inc., New York,pp. 483–505.

Duerkop BA.; Vaishnava S.et Hooper LV (2009): Immune Responses to the Microbiota at the Intestinal Mucosal Surface. *Immunity Review.*, 31: 368-76.

Elazzouzi H.; Soro A.; Elhilali F.; Bentayeb A.; Alaoui el Belghiti M. et Zair T.(2014): Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* of Middle Atlas (Morocco), and *in vitro* study of antibacterial activity of *A. pyrethrum*. *Advances in Natural and Applied Sciences.*, 8(8): 131-140.

Elwood CL. Et Garden OA. (1999): Gastrointestinal immunity in health and disease.,*Veterinary Clinic of North America. (Small Animal. Practice).*,29(3): 471-500

Fagarasan S. et Honjo T. (2004): Regulation of IgA synthesis at mucosal surfaces. *Current Opinion in Immunology*, 16: 277-283.

Fehloul N. ; Marouf O. ; Menai A. (2011) : Etude d’effet anti-inflammatoire des polysaccharides extraits d’une plante médicinale « Anvillea garcinii ». Mémoire de master en biologie. Guelma. Université 8 mai 1945. 54 p Algérie.

Flandroy L. (1996) : Histoire stimulante des Sucres. *Glycobiologie. J : Biofutur.*, 159: 35-41.

Fourment P. et Roques(1942) : Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. 1^{ère} édition : Comité de Contrôle de la production, de la Répartition et de la vente des Plantes Médicinales et Aromatiques d'Algérie, Alger, Algérie, 159p.

Fournier BM et Parkos CA. (2012): The role of neutrophils during intestinal inflammation,
Gagnon M. (2007) : Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactériennes et virales : analyse in vitro des études in vivo chez des modèles murins. Thèse de doctorat en sciences et technologies des aliments. Université LAVAL, Quebec, 170p.

Galvez J. (2014): Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD. *International Scholarly Research Notices Inflammation.*, 2014: 928461.

Gambineri E.; Torgerson TR.etOchs BD. (2003): Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Current Opinion in Rheumatology.*, 15: 430-435.
gastroenterology., 105(2):289-297.

Geuking MB.; Cahenzli J.; Lawson MA.; Ng DC.; Slack E.; Hapfelmeier S.; McCoy KD. etMacpherson AJ (2011): Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity*, 34: 794-806.

Goulston SJ. et McGovern VJ (1969) : The nature of benign strictures in ulcerative colitis. *The new England journal of medecin.*, 281: 290_5.

Grimoud J. (2010) : Probiotiques, prébiotiques, symbiotiques et prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : proposition d'un crible de sélection in vitro. Thèse de doctorat en Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bio-ingénieries. Université de Toulouse, France, 155p.

Guazelli CF. ; Fattori V. ; Colombo BB.; Georgetti SR.; Vicentini FT.; Casagrande R. ; Baracat MM.etVerri WA Jr. (2013): Quercetin-loaded microcapsules ameliorate experimental colitis in mice by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. *Journal of natural products.*, 2: 200-208.

Guilford WG. (1996b): Idiopathic inflammatory bowel diseases. In: Strombeck DR, edition Strombeck's Small Animal Gastroenterology, 3rd ed. Philadelphia: *WB Saunders.*, 451–486.

Hao WL.etLee Y.K. (2004): Microflora of the gastrointestinal tract: a review. *Methods in Molecular Biology.*, 268 : 491-502.

Harald G. (1978): Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*. *Biochemical Systematics and Ecology.*, 6(1): 11–17.

Hershberg RM. et Mayer L F. (2000): Antigen processing and presentation by intestinal epithelial cells - polarity and complexity. *Immunology Today.*, 21: 123-128.

history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. *The American journal of*

Hume DA.; Perry VH.et Gordon S. (1984): The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localisation of antigen F4/80: macrophages associated with epithelia. *Anatomical Record*, 210: 503–512.

Isolauri E.; Kirjavainen PV.et Salminen S. (2002): Probiotics; a role in the treatment of intestinal infection and inflammation *Gut.*, 50: 54-59.

Ivanova D.; Krempels R.; Ryde J.; Weitzman K .; Stephenson D. et Jason PG. (2014): NK Cells in Mucosal Defense against Infection. *BioMed Research International*, 2014: 1–11.

Jurjus AR.; Khoury NN. etReimund JM. (2004): Animal models of inflammatory bowel

Khor B.; Gardet A.; Xavier RJ. (2011): Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature.*; 474(7351): 307-317.

Kieffer D. (2000) : Cure anti-stress et santé globale, Plantes adaptogènes et clés naturopatique pour se revitaliser Ed : Sully. 475p.

Kojima R.; Hamamoto S.; Moriwaki M.; Iwadate K. etOhwaki T.(2001): The new experimental ulcerative colitis model in rats induced by subserosal injection of acetic acid, *Nihon YakurigakuZasshi. Folia Pharmacology. Japan.*,118: 123–130.

Kraehenbuhl JP.etNeutra MR. (2000): Epithelial M cells: differentiation and function. *Annual Review of Cell and l Developmental Biology.*, 16:301- 32.

Krishnan M. et al., (2014):Antioxydant mediated antiulcer effects of Eupatorium triplinerveVahl against acetic acid induced ulcerative colitis in mice. *Biomedicine&Agingpathology.*.

Laure R. (2013) : Impact de l'ajout de polysaccharides dans des matrices laitières gélifiées acides sur la digestion gastro- intestinale des protéines et des réponses métabolique associées, Thèse de doctorat en sciences et technologie des aliments, Université laval, Québec, Canada, 171p.

Lavacé-lapalum JVM. (2013) : Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale ; manipulation thérapeutique par les toll-like receptors. Thèse de Doctorat en immunologie : Université Pierre et Marie. Paris, France, 246p.

Lee E.; Schiller LR.etFordtran JS. (1988): Quantification of colonic lamina propria cells by means of a morphometric point-counting method. *Gastroenterology.*, 94(2): 409-418.

Lefrancois L. etPuddigton L. (2006): Intestinal and pulmonary mucosal T cells: Local heroes fight to maintain the status quo. *Annual. Revue of Immunology.*, 24: 681-704.

Lenoir L. (2011) : Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat en Médecine humaine et pathologie. Université d'Auvergne -Clermont-Ferrand I, France, 263 p

Lichtenstein GR.; Yan S.; Bala M. et Hanauer S. (2004): Remission in patients with Crohn's disease is associated with improvement in employment and quality of life and a decrease in hospitalizations and surgeries. *Gastroenterology.*,99(1): 91–96.

Lloyd J. et Lloyd CG. (1911): History of the vegetable drugs of the pharmacopeia of the united states, Botany. Edition; The Loadlibrary, USA, 135p.

Lotz M. ; Ménard S. et Hornef M.(2007): Innate immune recognition on the intestinal mucosa. *International Journal of Medical Microbiology.*, 297:379-392.

MacPherson BR. etPfeiffer CG (1978): Experimental production of diffuse colitis in rats.*Digestion.*,17 : 135–150.

Mahida YR. (2000): The key role of macrophages inthe immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases.*, 6: 21-33.

Manichanh C.; Rigottier-Gois L.; Bonnaud E.; Gloux K.; Pelletier E.; Frangeul L. et al. (2006): Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut.*, 55(2):205-211.

Manischanh C. ; Varela E. ; Martinez C. ; Antolin M. ; Liopis M. ; Doré J. ; Giralt J. ; Guarner F. et Malagelada JR (2008) : The Gut Microbiota Predispose to the Pathophysiologyof Acute Postradiotherapy Diarrhea. *American journal of Gastoenterology.*, 103: 1754-1761.

Mansour S. (2015): Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides- Etude in vivo. Thèse de Doctorat en sciences, Université Mohamed BOUDIAF, Oran, Algérie, 121p.

- Mantovani A.; Cassatella MA.; Costantini C. et Jaillon S. (2011):** Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 11: 519 – 531.
- Marcon R.; Claudino RF.; Dutra RC.; Bento AF.; Schmidt EC.; Bouzon ZL. et al. (2013):** Exacerbation of DSS-induced colitis in mice lacking kinin B(1) receptors through compensatory up-regulation of kinin B(2) receptors: the role of tight junctions and intestinal homeostasis. *British Journal of Pharmacology*; 168(2): 389-402.
- Markus F N. (2014):** Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews of Immunology.*, 14(5), 329-342.
- Martin R.; Nauta AJ.; Ben Amor K.; Knippels LMJ.; Knol J. et Garssen J.(2010) :** Early life; gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial Microbes.*,1(4):367-382.
- McDermott AJ. et Huffnagle GB. (2014):** The microbiome and regulation of mucosal immunity. *Immunology.*, 142(1):24-31.
- McGuckin MA.; Linden SK.; Sutton P. et Florin TH. (2011):** Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews. Microbioloyl.*, 9: 265–278.
- Meresse B.; Cerf-Bensussan N. (2009):** Innate T cell responses in human gut. *Seminars in Immunology*, 21:121-129.
- Modigliani R. (1993):** Les maladies inflammatoires cryptogéniques de l'intestin. *Medical Science.*, 9: 851-852.
- Moore K. et Daley A :** Anatomie médicale ; Aspects fondamentaux et Applications cliniques, 2^{ème} édition USA : Lippicott Willials et Wilkins, (2006), page 243.
- Mowat AM. (2003):** Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews of Immunology.*, 3(4):331-341.
- Mucosal Immunology.*,5: 354–366.
- Nakhai LA. ; Mohamadirad A. ; Yasa N. ; Minaie B. ; Nikfar S. ; Ghazanfari G. ; Zamani MJ.; Dehghan G.; Jamshidi H. et Boushehri VS (2007):** Benefits of zataria multifloraboiss in experimental model of mouse inflammatory bowel disease, *Evid Based Complementary Alternative Med.*, 4 :43–50.
- Niu X. ; Fan T. ; Li W.; Huang H. ; Zhang Y. ; et Xing W.(2013) :**Protective effect of sanguine arine against acetic acid-induced ulcerative colitis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology.*, 267:256–265.

O.M.S. (2000) : Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle. 77p.

Ohno N. ; Hayashi M. ; Lino K. ; Suzuki I. ; Oikawa S. ; Sato K. ; Suzuki Y. ; Yadome T. (1986) : Effects of glucans on the antitumor activity of grifolan. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.*, 34(5) :2149-2154.

Ould el hadj M D. ; Hadj-Mahammed M. ; Zabeirou H. (2003): Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du Savoir.* 03 : 47-51.

Perez-Lopez A.; Behnsen T.; Nuccio SP. et Rafatellu M. (2016): Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria. *Nature Reviews Immunology.*,16: 135-148.

Peyrin-Biroulet L.; Loftus EV Jr.; Colombel JF.; Sandborn WJ. (2010): The natural
Qualls Joseph E.; Kaplan Alan M.; Rooijen NV. et Cohen Donald A.;(2006):Suppression of experimental colitis by intestinal mononuclear phagocytes. *Journal of Leukocyte Biology.*,80:802-815.

Rescigno M.; Urbano M. ; Valzasina B. ; Francolini M. ; Rotta G. ; Bonasio R. ; Granucci F. ; Kraehenbuhl JP. et Ricciardi-Castagnoli P (2001): Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature immunology,* 2 : 361-367.

Roccabianca P.; Woo JC. et Moore PF. (2000): Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. *Veterinary Immunology and Immunopathology.*, 75, 27-42.

Rokoff-Nahoum S.; Paglino J.; Eslami-Varzaneh F.; Edberg S. et Medzhitov R.(2004): Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.*,118: 229-241.

Russo-Marie F : L'inflammation. Paris: Editions John Libbey Eurotext, (1998), 565p.

Peltier A-P : Inflammation [en ligne]. In : *Encyclopædia Universalis*. Edition Montrouge : J. Libbey Eurotext, (1998). France. 565p. disponible sur : <http://www.universalis-edu.com/bases-doc.univ-lorraine.fr/encyclopedie/inflammation/>

Sartor RB. (2008) : Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.*, 134:577-594.

Selles Ch. (2012) : Valorisation d'une plante medicinale a activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application des extraits aqueux a inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M, Universite Abou Bekr Belkaid. Algerie, 175.

Sidler M A.; Belli C D.; Braegger P C. (2007): Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin vues par le pédiatre. *Gastroenterology.*, 18(5): 24-25.

Smith PD.; Smythies LE.; Shen R.; Greenwell-Wild T.; Gliozzi M.et Wahl SM. (2010): Intestinal macrophages and response to microbial encroachment. *Mucosal Immunology*, 4: 31–42.

Soehnlein O . etLindbom L. (2010): Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation . *Nature Reviews Immunolog.*, 10:427 – 439.

Stéphane N.; Hacini F.; Durand P-Y.; Milhau N. ; Kaiserlian D. et Flourie B. (2008) : Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *H patologie-Gastrologie et oncologie digestive.*, 15 : 33-40.

Sukumaran K. et Kuttan R. (1995): Inhibition of tobacco-induced mutagenesis by eugenol and plant extracts. *Mutation Research.*, 343: 25-30.

Swidsinski A.; Loening-Baucke V.; Theissig F.; Engelhardt H.;Bengmark S.; Koch S.; Lochs H. et D rffel Y. (2007): Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut.*, 56:343-50.

Tinamri M. et Lagmi I. (2014) : Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides issus d'*Astragalus gombo bunge* (*Fabaceae*) r colt  au sahara septentrional Est Alg rien. Mémoire de Master en technologie alimentaire. Université de Ouargla, Algérie.

Waly N.; Gruffydd-Jones TJ.; Stokes CR.; Day J.(2001): The distribution of leucocyte subset in the small intestine of healthy cats. *Journal of Comparative Pathology.*, 124: 172-182.

Wang DC. (1989): Influence of *Astragalus membranaceus* polysaccharide FB on immunological function of human periphery blood lymphocyte. *Chinese journal of oncology.*, 11(3) 180-183.

Warrand J. (2004) : Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum Usitatissimum*), Thèse de doctorat en sciences ; biochimie et bioconversions, Université de Picardie Jules verne, France, 438p.

Wasser SP (2002): Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, 60: 258-274.

Weber B.; Saurer L.; Schenk M.; Dickgreber N. et Mueller C. (2011): CX3CR1 defines functionally distinct intestinal mononuclear phagocyte subsets which maintain their respective functions during homeostatic and inflammatory conditions. *European Journal of Immunology*, 41:773–779.

Widmer F. ; Roland B. (2000) : Aide mémoire de biochimie et biologie moléculaire 2ème Edition, médicales inter nationales, condres, Paris –new York .200p.

Williams IR.etParkos CA. (2007): Colonic neutrophils in inflammatory bowel disease: double-edged swords of the innate immune system with protective and destructive capacity. *Gastroenterology*, 133: 2049 – 2052.

Xavier RJ. etPodolsky DK (2007): Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature.*, 448: 427–434.

Xie G.; Schepetkin I A.; Quinn MT. (2007): Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from *Tanacetum vulgare* L. *International Immunopharmacology.*,7(13): 1639–1650.

Yang X.; Zhao Y.; Wang H. et Mei Q. (2007): Macrophage Activation by an Acidic Polysaccharide Isolated from *Angelica Sinensis* (Oliv.) Diels. *Journal of biochemistry and molecular biology.*, 40: 636-643.

Yu KW.; Kiyohra H.; Matsumoto T.; Yarg H C. et Yamada H. (2001): Structural caractérisation of intestinal immune system modulating new arabino-3,6-galactan from rhizomes of *Atractylodes lancea* D C .*Carbohydrate polymers* ,46 (2): 147-156.

Yu LC.etPerdue MH. (2001): Role of mast cells in intestinal mucosal function; studies inmodels of hypersensitivity and stress. *Immunological Review.*,179: 61-73.

Zhang L.; Koyyalamudi SR.; Jeong SC.; Reddy N.; Bailey A T.et Longvah T. (2013): Immunomodulatory activities of polysaccharides isolated from *Taxillus chinensis* and *Uncaria rhyncophylla*.*Carbohydrate Polymers.*, 98: 1458- 1465.

