

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 : Science de la Nature et de la Vie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/Immunologie approfondie

Département : Biologie

Thème : L'Effet des plantes médicinales sur le système immunitaire respiratoire

Présenté par :

Benosmane Lilia

Namoune Selma

Ouled-Diaf Khawla

Devant la commission composée de :

Dr. BOUKEMARA H.	Président	Université de Guelma
Pr. BENDJEDDOU D.	Encadreur	Université de Guelma
Mr. HEMISSI A.	Examineur	Université de Guelma
Dr. SANSRI S.	Membre	Université de Guelma
Mme. KAIDI S.	Membre	Université de Guelma
Dr. YOUNSI M.	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciement

A ce stade de notre vie estudiantine, et à l'occasion de la présentation de notre mémoire de fin d'étude, nous avons l'honneur et le devoir d'exprimer nos louanges absolues à ALLAH, notre créateur généreux et omnipotent, tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail, pour tous ses dons et ses faveurs.

Ce fut une expérience très riche et un grand honneur d'effectuer ce travail de recherche sous la direction de Madame le Professeur Bendjeddou.D de l'université du 08 mai 1945 de Guelma nous lui sommes profondément reconnaissantes pour la rigueur et l'esprit critique qu'elle nous a prodigué tout au long de notre travail aussi pour la présence, la disponibilité permanente, les conseils, le soutien et l'aide qu'elle nous a apporté.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à Madame le Docteur Boukemma.H de l'université du 08 mai 1945 de Guelma, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et pour ses encouragements incessants.

Nous présentons aussi nos remerciements les plus sincères à Monsieur Hemissi. H de l'université du 08 mai 1945 de Guelma pour avoir accepté de juger ce travail, sans passé outre de remercier chacun de

*ces membres madame le docteur Sansri S, madame Kaidi S et
Monsieur le docteur Younsi S.*

*Toute notre gratitude et remerciements à Monsieur le professeur
Meriche du laboratoire d'immunologie de l'hôpital sainte thèrese et
son équipe pour leurs aide et la mise en disposition des moyens et
matériel nécessaires pour réaliser nos tests.*

*Nous tenons à remercier Monsieur le docteur M. Belgharsa du
laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques pour son assistance
et implication lors de la réalisation de nos expériences.*

*Nous tenons aussi à exprimer notre profonde gratitude pour
Mademoiselle Feriel responsable du laboratoire d'analyse à la clinique
ORL orangrie de Annaba et les techniciennes des laboratoires
pidagogiques notamment Madame Ratiba et Madame Ghania pour
leur soutien afin de réaliser ce travail.*

Enfin, un grand merci à tous nos professeurs et nos amis (es).

Dédicace

À la mémoire de mon père, qui m'a beaucoup aidée dans mes études, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

À ma mère, qui m'a toujours dit que la science est une source inépuisable.

Pour ton amour.

Pour tous ton sacrifice.

Pour tous l'enseignement que tu m'as transmis.

En témoignage de mon éternelle reconnaissance.

Que Dieu te protège.

À mon frère et mes sœurs qui m'ont beaucoup soutenue.

À Mehdi l'homme de ma vie, qui m'a beaucoup aidée et soutenue dans tout mon parcours d'étudiante.

En témoignage de mon amour.

À mes trois princesses.

Mes deux filles Sara et Dalia et ma nièce Mirna.

À tous mes autres neveux et nièces.

Lilia Benosmane.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail
A mon père et ma très chère mère.
Vous représentez pour moi le
Symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
L'exemple du dévouement.
vous n'a pas cessez de m'encourager et
De prier pour moi.*

*A mon très cher fiancé taky
Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme
soeur et la lumière de mon chemin.
Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises.
Ton soutien moral, ta gentillesse sans
Égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir dans
Études.*

*Mon cher petit frère Oussama présent dans tous mes
Moments, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite et de
sérénité.*

*A mes très chères sœurs En témoignage de l'attachement, de l'amour et de
l'affection que je porte pour vous.
A ma chère belle mère et mon beau père, Vous m'avez accueillie à bras ouverts dans votre
famille.
En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.*

Selma Namoune.

Dédicace

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

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

*Je dédie aussi ce travail à
mes chères frères Yahya et Amine,
mes chères sœurs Rofaida et Salsabile
pour leur grand amour et leurs soutien,
ma famille mes chers amis , tous mes professeurs qui m'ont
enseignée et à tous ce qui me sont chers.*

Khawla Ouled-Diaf.

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : l'anatomie et les pathologies du système respiratoire

1. Les poumons et les voies respiratoires.....	3
1.1. L'anatomie des voies respiratoires	3
1.1.1. Les voies aériennes supérieures.....	3
1.1.2. L'appareil broncho-pulmonaire (les voies aériennes inférieures).....	3
1.2. Histologie de l'appareil respiratoire.....	3
2. Les pathologies de système respiratoire.....	8
2.1. Les infections des voies respiratoires supérieures.....	8
2.2. Les infections des voies respiratoires inférieures.....	9
2.3. Influence des facteurs exogènes sur les pathologies pulmonaires.....	11

Chapitre II : l'immunité des voies respiratoire

1. Développement de l'inflammation allergique.....	12
2. Les différents acteurs cellulaires impliqués dans la réaction allergique.....	15
2.1. Les cellules dendritiques.....	15
2.2. Les lymphocytes T, médiateurs de l'immunité cellulaire.....	17
2.3. Les lymphocytes B, médiateurs de l'immunité humorale.....	21
2.4. Les cellules épithéliales des voies respiratoires.....	22
2.5. Les granulocytes tissulaires.....	23
3. Les principaux médiateurs de la réaction allergique.....	26
3.1. Les immunoglobulines E.....	26
3.2. Les médiateurs chimiques de l'allergie.....	26
3.3. Les cytokines.....	27
3.4. Les chimiokines.....	29

Chapitre III : La phytothérapie

1. La phytothérapie.....	30
1.1. Définition.....	30
1.2. Différents types de la Phytothérapie.....	30

2. Les plantes médicinales.....	31
2.1. <i>Anacyclus pyrethrum L</i>	31
2.2. Utilisations médicinales	32
3. les polysaccharides.....	33
3.1. Généralités.....	33
3.2. Activités biologiques des polysaccharides.....	34

Étude expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes

1. Modèle biologique végétal.....	36
2. Modèle biologique animal.....	37
3. Etude <i>in vivo</i>	39
➤ lavage nasal.....	39
➤ Lavage bronchoalvéolaire.....	39
➤ Isolement des splénocytes.....	40
➤ La numération cellulaire.....	41
➤ La formule leucocytaire sanguine.....	42
➤ L'étude histologique des poumons.....	42
4. Etude <i>in vitro</i>	42
➤ Isolement des lymphocytes à partir du sang	42
➤ Culture cellulaire.....	43
➤ Technique d'Elisa.....	44

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Extraction des polysaccharides <i>d'Anacyclus pyrethrum</i>	46
2. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le système immunitaire respiratoire.....	47
2.1. Effet sur la formule leucocytaire.....	47
2.2. Effet sur le liquide nasal.....	49
2.3. Effet sur le liquide broncho-alvéolaire.....	50
2.4. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le poids de la rate.....	52
2.5. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux des splénocytes.....	52
2.6. Effet de la sensibilisation sur les poumons.....	53
3. Effet de l'extrait polysaccharidique sur la production des IgE totaux.....	56

Chapitre III : Conclusion et perspectives..... 58

Résumé

Abstract

المخلص

Références Bibliographies

Annexe

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AhR : Aryl hydrocarbon Receptor

AP : *Anacyclus Pyrethrum*

CD : Cellule Dendritique

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMN : cellules mononuclées

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

DO : Densité Optique

ECP : Protéine Cationique de l'Eosinophile

EPO : PerOxydase de l'Eosinophile

EDN : Neurotoxine Dérivée de l'Eosinophile

ECFA : Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique

FcεRI : Récepteur de haute affinité d'IgE

FcεR II : Récepteurs de faible affinité d'IgE

FSH : Hormone folliculo-stimulante

Foxp3 : Forkhead box p3

FCS : Fetal Calf Serum

FNS : Formule Numération Sanguine

GATA-3 : GATA-binding protein 3

GM-CSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor

GM-CSFR : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor Receptor

HRB : Hyperréactivité Bronchique

Ig : L'immunoglobuline

IL : InterLeukine

ILC2 : Cellule Lymphoïde innée de type 2

IFN : Interféron

LT reg : LT régulateurs

LBA: Lavage Bronchoalvéolaire

LT: Leucotriène

LH : Hormone Lutéinisante

MBP : Protéine Basique Majeure

MBP : major basic protein

MGG : May-Grunwald-Giemsa

NKT : Natural Killer

NCFA : Neutrophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis

OVA: Ovalbumine

PAF : Platelet Activator Factor

PE : Polynucléaires Eosinophiles

PRR : Pattern-Recognition Receptors

PG : Prostaglandines

PDGF : Platelet-derived growth factor

PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cells

PBS: Phosphate Buffered Saline

ROR : Related Orphan Receptor

RPMI : Roswell Park Memorial Institute

STAT : Signal Transducers and Activators Transcription

TLR : Récepteur Toll-Like

TSLP : Thymic stromal lymphopoïétine

TNF : Tumor Necrosis Factor

TGF- β : Tumor Growth Factor- β

Tbet : T-box expressed in T cells

Th : Lymphocyte T helper

TCR : Toll-Like Receptors

TX : Thromboxanes

VRS : Virus Respiratoire Syncitial

VHC : Hépatite C

*Liste des
tableaux*

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classification scientifique d'<i>Anacyclus pyrethrum</i>	32
02	Variation du nombre de leucocytes	47

*Liste des
figures*

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	L'appareil respiratoire	4
02	La paroi de la trachée	4
03	Structure histologique de la paroi des voies aériennes	5
04	Acinus pulmonaire (lobule pulmonaire primaire)	7
05	Les inflammations de l'appareil respiratoire	10
06	Phase de sensibilisation aux allergènes	12
07	La réaction immédiate de la phase effectrice	13
08	La réaction retardée de la phase effectrice	14
09	Interaction entre les cellules épithéliales, les DCs et les allergènes à l'interface de la muqueuse bronchique	16
10	Interaction entre les cellules dendritiques et le lymphocyte T	16
11	Différenciation des LT auxiliaires	17
12	Vue d'ensemble des fonctions des cellules TH2 et ILC2 cellules dans l'asthme	18
13	Modèle de développement des cellules th 17	19
14	Rôle des lymphocytes T régulateurs (Treg Foxp3+ et Tr1) dans le contrôle de la réponse allergique	20
15	Cellules NK et coopération avec les cellules immunitaire	21
16	Les mécanismes de défense de l'épithélium respiratoire	23
17	Activation du mastocyte	24

18	<i>Anacyclus pyrethrum</i> L	31
19	<i>Anacyclus pyrethrum</i>	36
20	La poudre d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	36
21	Technique de sevage	37
22	Réalisation de dialyse des polysaccharides	37
23	Schéma explication du protocole expérimental	38
24	Instillation nasale	39
25	Instillation bronchoalvéolaire	40
26	Lacération de la rate	41
27	Récupération du sang	42
28	Isolement des cellules mononuclées à partir de sang	43
29	Préparation de plaque de culture	44
30	Technique d'Elisa	45
31	Les étapes de l'extraction des polysaccharides totaux	46
32	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux des sous populations leucocytaires	48
33	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre des cellules du liquide nasal	50
34	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre des cellules du LBA	51
35	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le poids de la rate	52
36	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre de splénocytes	53
37	Effet de l'extrait polysaccharidique sur l'aspect des poumons	54
38	L'étude histologique des poumons des souris saines et traitées par l'extrait polysaccharidique (Grossissement x 10)	55

39	L'étude histologique des poumons des souris saines et traitées par l'extrait polysaccharidique (Grossissement x 40)	55
40	Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux des IgE totaux	57

Introduction

Introduction

Classées quatrième maladie chronique mondiale par l'OMS, les allergies ne cessent d'augmenter. Rien ne semble arrêter ce mal du siècle, alimenté par nos modes de vie.

Pour certains, pas besoin d'aller en guerre pour risquer sa vie, une simple tartine de beurre de cacahuète suffit de les envoyer à l'hôpital à l'article de la mort. Pour d'autres, se sera un crustacé, une piqûre de guêpe, un antibiotique. Pour la grande majorité, le calvaire se traduira par des yeux irrités, le nez qui coule, des plaques et démangeaisons, de la toux et difficultés à respirer et ce au simple contact d'acariens, des poils de chats, de particules polluantes ou de pollens disséminés par le vent.

Les plantes ont formé la base de systèmes sophistiqués de la médecine traditionnelle. Elles existent depuis des milliers d'années et continuent d'apporter à l'humanité de nouveaux remèdes. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% des habitants de la planète continuent de s'appuyer principalement sur la médecine traditionnelle pour leur bien être ou pour se guérir des différentes maladies. Sur les 119 composés chimiques purs extraits de plantes supérieures utilisées en médecine à travers le monde, 74% de ces composés ont la même utilisation que les plantes à partir desquelles sont dérivées (**Gurib-Fakim, 2006**).

Les polysaccharides ainsi que les poly-nucléotides, les protéines et les lipides constituent les quatre bio-macromolécules les plus importantes en sciences de la vie (**Lui et al., 2015**). Ils ont attiré beaucoup l'attention des chercheurs dans les domaines alimentaires et biomédicales, en raison de leurs activités biologiques et physiologiques diverses (**Xie et al., 2014**). Les polysaccharides immunomodulateurs sont des polysaccharides capables de stimuler simultanément les différentes composantes du système immunitaire ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutiques, notamment des propriétés antitumorales et anti-inflammatoires (**Sanchez, 2006**).

Le présent travail a pour objectif de mettre en évidence l'effet de l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* sur le système immunitaire respiratoire. La réaction inflammatoire allergique a été provoquée chez les souris, par un contact direct avec la sciure de bois.

Pour répondre à cet objectif, notre mémoire s'articule autour de deux axes l'un porte sur une étude *in vivo* sur l'effet de l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* sur le système immunitaire respiratoire chez un modèle murin et le second sur une étude *in vitro* qui s'est basée sur l'effet de l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* sur

la production des IgE totaux par les cellules immunitaires issues d'un sang humain allergique (culture cellulaire). Pour cela, ce présent travail est structuré en deux parties interdépendantes :

- La première consiste à une synthèse bibliographique, qui aborde les points essentiels à la compréhension de l'anatomie et les pathologies du système respiratoire, l'immunité respiratoire ainsi que la phytothérapie
- La deuxième consiste à une partie expérimentale qui comprenant le matériel et les méthodes utilisés pour cette étude, résultats ainsi que leur discussion et enfin une conclusion.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I
l'anatomie et
les pathologies
du système
respiratoire

3. Les poumons et les voies respiratoires

L'homme possède deux poumons, gauche et droite, séparés l'un de l'autre par le médiastin, posés sur le diaphragme et entourés par la cage thoracique. Ce sont deux masses spongieuses, rosées, élastiques, divisées en lobes pulmonaires (3 pour le poumon droit et 2 pour le gauche) (**Fig.1**), que l'on distingue grâce à la présence d'entailles profondes, les scissures. Les poumons sont entourés d'un double feuillet protecteur, la plèvre. Le premier feuillet, externe ou pariétal, adhère à la paroi thoracique tandis que le second feuillet, interne ou viscéral, adhère aux poumons. La cavité pleurale, espace virtuel séparant les 2 feuillets, contient un film de liquide séreux qui lubrifie les surfaces pleurales et permet aux feuillets pleuraux de glisser librement l'un sur l'autre pendant la respiration.

La respiration est un mécanisme physiologique permettant les échanges gazeux, et ainsi l'oxygénation des tissus de l'organisme. Cette fonction, fondamentale à la vie, est assurée par les poumons, et plus globalement par l'appareil respiratoire (**Galmèse, 2013**).

3.1. L'anatomie des voies respiratoires

Les voies respiratoires sont divisées en deux: supérieures et inférieures.

3.1.1. Les voies aériennes supérieures

➤ Le nez et les fausses nasales

La partie externe, proéminente, est soutenue par des os et des cartilages. Les fosses nasales filtrent (grâce aux poils) et humidifient (grâce aux cellules à cils vibratiles de la muqueuse respiratoire) l'air inhalé (**Fig.1**).

➤ Le pharynx

Le pharynx est situé entre les fosses nasales, le larynx, la bouche et l'œsophage, c'est un carrefour aéro-digestif, son rôle est d'obturer la voie aérienne lors de la déglutition (**Fig.1**).

➤ Le larynx

Relie le pharynx à la trachée, charpente de cartilage et de tissu conjonctif dense. Abrite les cordes vocales (**Fig.1**).

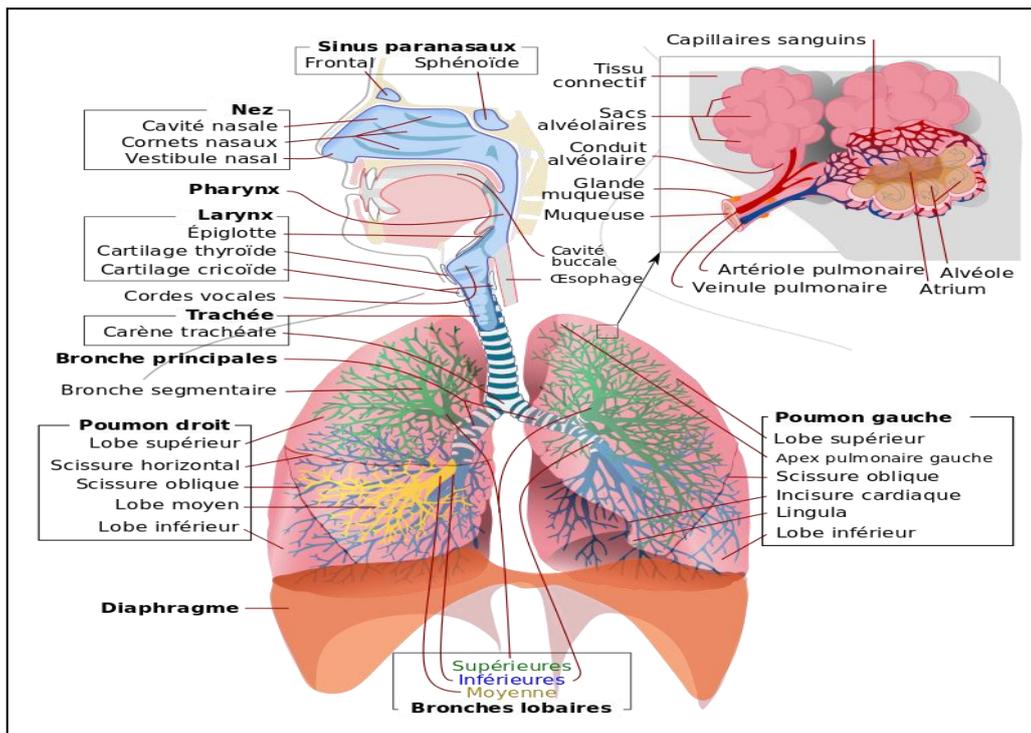


Figure 1 : L'appareil respiratoire [1].

3.1.2. L'appareil broncho-pulmonaire (les voies aériennes inférieures)

Les voies respiratoires inférieures comprennent à partir du larynx.

➤ La trachée

Tube flexible naissant dans le larynx et se divisant en deux bronches. Il purifie, réchauffe et humidifie l'air inspiré (Fig.2).

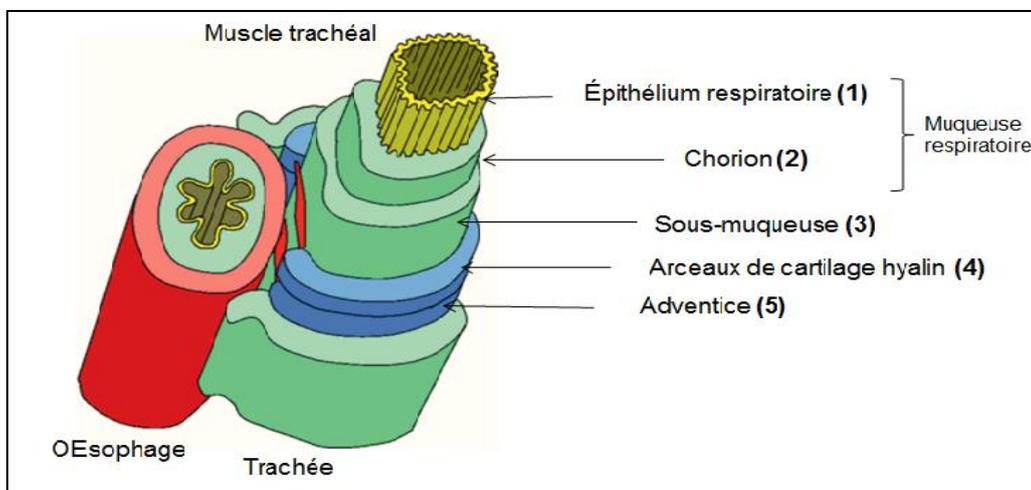


Figure 2: la paroi de la trachée (Tachdjian *et al.*, 2016).

➤ **Les bronches et les bronchioles**

Ensemble de conduits aériens reliant la trachée aux alvéoles, composés de bronches principales gauche et droite, qui se divisent dans les poumons en bronches lobaires et segmentaires et en bronchioles (Marieb, 2005).

➤ **Les poumons**

Organes spongieux gris rosés situés à l'intérieur de la cage thoracique, protégés par les côtes, les muscles inter-costaux et la plèvre (Fig.1).

➤ **Les alvéoles**

La membrane alvéolo-capillaire sépare l'air du sang provenant des capillaires et des artères pulmonaires (Fig.1) (Hallouet, 2010).

3.2. Histologie de l'appareil respiratoire

La structure histologique de la paroi des voies aériennes est très bien adaptée à la conduction car elle permet d'associer rigidité, flexibilité et extensibilité. Elle est formée de différentes couches (muqueuse, musculuse, glandulaire et cartilagineuse) (Fig.3), dont la composition et la répartition varient de la trachée à la bronchiole afin de s'adapter au mieux au diamètre des voies aériennes et à leur fonction (Galmèse, 2013).

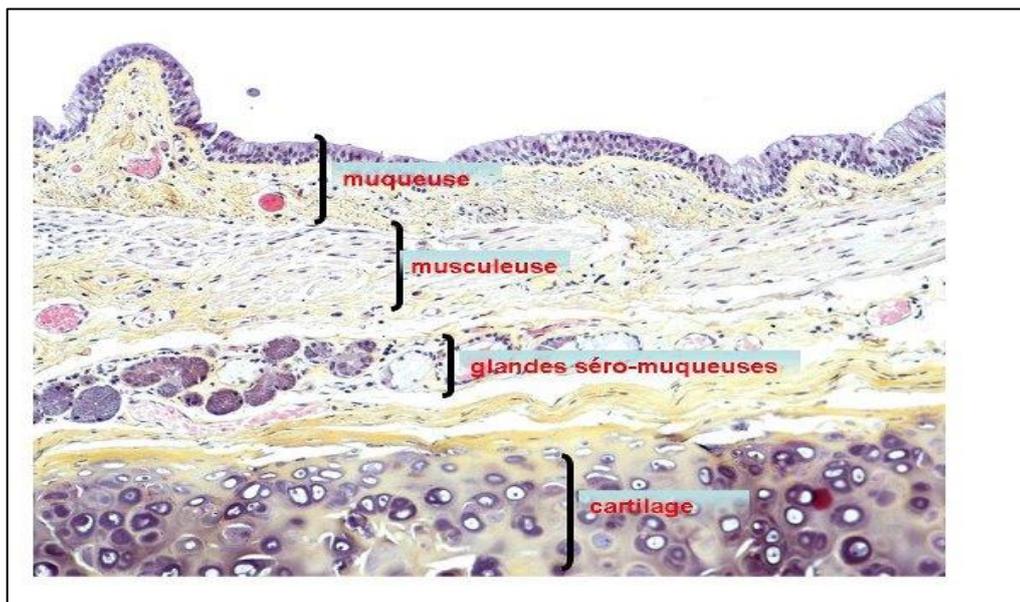


Figure 3: Structure histologique de la paroi des voies aériennes (Galmèse, 2013).

➤ **La muqueuse**

Elle comporte un épithélium, un chorion et des glandes. L'épithélium respiratoire est donc une interface complexe qui a la double mission de permettre les échanges gazeux avec l'air inhalé, mais également de protéger le parenchyme pulmonaire des particules ou des microorganismes inhalés (**Fig.3**). Les cellules épithéliales couvrent la muqueuse respiratoire qui représente une surface immense d'environ 100 m².

Les voies de conduction de l'air sont revêtues d'un épithélium cylindrique pseudostratifié, cilié et soutenu par un tissu conjonctif, le chorion. Celui-ci couvre les voies respiratoires des cavités nasales jusqu'aux bronchioles terminales. L'épithélium des voies aériennes supérieures est riche en cellules caliciformes (productrices de mucus). Progressivement, la proportion de ces cellules diminue. L'épithélium des voies aériennes distales est finalement cylindrique, unistratifié, dépourvu de cellules caliciformes.

À la surface cellulaire, le tapis muqueux est organisé en deux couches. La couche superficielle repose sur l'extrémité des cils et elle est visqueuse. La couche profonde est beaucoup plus fluide et permet le battement ciliaire.

Au niveau alvéolaire, l'épithélium est constitué à parts égales de pneumocytes de types 1 et 2. Les pneumocytes 1 sont des cellules très étendues et aplaties et représentent 95 % de la surface alvéolaire. Ils assurent une épaisseur minimale de la barrière alvéolocapillaire. Les pneumocytes 2 sont responsables de la synthèse du surfactant, film lipoprotéique aux propriétés tensioactives et immunomodulatrices (**Jouan et al., 2016**).

➤ **La couche musculieuse**

Est constituée de deux nappes superposées de cellules musculaires lisses dont les fibres sont orientées dans deux plans obliques croisés ce qui explique l'aspect discontinu fréquemment observé sur les coupes (**Fig.3**). Des fibres élastiques séparent les deux couches musculaires et s'attachent comme elles sur le péri-chondre. Les faisceaux musculaires sont en outre accompagnés et pénétrés par un réseau vasculaire dense et des fibres nerveuses.

➤ **La sous muqueuse**

Elle contient, outre des trajets vasculaires et nerveux, des glandes bronchiques abondantes surtout dans l'intervalle des pièces cartilagineuses. Ces sont des glandes comportant des cellules séreuses et muqueuses, et des cellules chromaffines. Leurs canaux

excréteurs traversent la sous-muqueuse et le chorion. Pour s'aboucher au revêtement muqueux.

➤ **La tunique conjonctivo-cartilagineuse**

Est faite de pièces de cartilage hyalin pouvant contenir quelques fibres élastiques, le tissu cartilagineux (anneaux incomplets au niveau de la trachée, plaques discontinues et circulaires au niveau des bronches, disparition du cartilage au niveau des bronchioles), le cartilage a un rôle de soutien, il maintient ouvertes les voies respiratoires, ce qui facilite la circulation de l'air (**Fig.3**) (**Coujard et al., 1980**).

➤ **Les glandes séro-muqueuses**

Entre la musculuse et le cartilage se retrouvent des trajets nerveux, vasculaires et lymphatiques et des glandes séro-muqueuses s'ouvrant dans la lumière bronchique. La sécrétion des glandes séreuses humidifie l'air préalablement purifié par le mucus et les cils et possède des propriétés antibactériennes. Ces glandes disparaissent à l'étage bronchiolaire (**Fig.3**) (**Galmèse, 2013**).

➤ **L'acinus pulmonaire**

Un lobule pulmonaire est desservi par une bronchiole lobulaire et par une artériole lobulaire qui pénètrent par son sommet. Chaque bronchiole se subdivise à l'intérieur du lobule une dizaine de fois. Chaque division débouche sur un acinus qui contient une centaine d'alvéoles pulmonaires. L'acinus pulmonaire est l'unité morpho-fonctionnelle élémentaire du poumon (**Fig.4**).

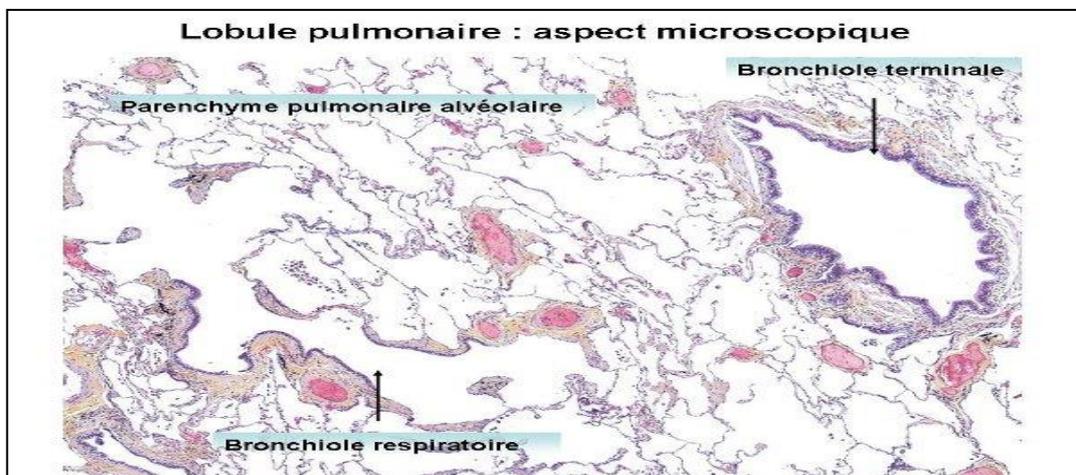


Figure 4 : Acinus pulmonaire (lobule pulmonaire primaire) [2].

2. Les pathologies de système respiratoire

2.1. Les infections des voies respiratoires supérieures

➤ Le rhume

Le rhume peut être considéré comme une forme particulière de la rhinopharyngite. Il s'agit d'une infection virale aiguë des voies respiratoires, très contagieuse, pouvant survenir à toutes les périodes de l'année. Habituellement apyrétique, le rhume se caractérise par une inflammation d'une partie ou de l'ensemble des voies aériennes (nez, sinus, gorge, larynx, souvent aussi : trachée et bronches). Certains groupes d'individus y sont particulièrement sensibles: les personnes fragiles et âgées, les nourrissons et les jeunes enfants (**Belon, 2009**).

➤ La rhinite allergique ou rhume de foin

Généralement saisonnière, cette affection est la manifestation la plus fréquente de l'atopie. Elle résulte le plus souvent d'une sensibilisation aux allergènes de l'environnement extérieur, principalement les pollens. Il existe également une forme perannuelle de rhinite allergique, traduisant une désensibilisation aux allergènes domestiques et très souvent associée à l'asthme.

En fait l'asthme chronique est toujours associé à une rhinite/sinusite plus au moins symptomatique (**Delespesse, 2012**).

Les patients se plaignent de rhinorrhée, d'éternuements et d'obstruction nasale au contact de certains antigènes, quand il devient chronique, le syndrome se manifeste sous forme de sinusite, d'otite moyenne séreuse et de conjonctivite avec perte éventuelle du goût et de l'odorat (**Chapel et al., 2004**).

Dans la rhinite allergique, les mastocytes peuvent jouer un rôle important dans les symptômes de la maladie, ici également, les muqueuses sont gonflées et hyperémiques, le tissu conjonctif est œdématié et riche en éosinophiles, les capillaires de la muqueuse de l'épithélium superficiel deviennent relativement perméables et en conséquence, un écoulement nasal (aqueux) se produit, la fonction olfactive est souvent réduite lors d'une rhinite.

2.2. Les infections des voies respiratoires inférieures

➤ La Bronchite aiguë

La bronchite aiguë du sujet sain est une affection fréquente caractérisée par une inflammation des bronches et/ou bronchioles (**Fig.5**), souvent en automne ou en hiver et est généralement précédée d'un épisode d'infection virale des voies aériennes supérieures (**Castro et Molina, 2011**). Une bronchite s'accompagne d'une augmentation des sécrétions de mucus par les cellules caliciformes et par les glandes bronchiques (**Welsch, 2004**).

➤ L'asthme

La maladie asthmatique est une maladie respiratoire chronique de type inflammatoire, caractérisée par une obstruction réversible des voies aériennes inférieures (**Andréjak et al., 2016**).

La symptomatologie clinique trouve une dyspnée bronchique souvent inspiratoire et expiratoire avec des sifflements à l'auscultation, sans état fébrile. Il existe par ailleurs un bronchospasme. C'est une maladie allergique souvent héréditaire. Si l'asthme ne cède pas, on peut atteindre un état de mal asthmatique qui nécessite l'hospitalisation en soins intensifs.

L'antigène (élément non supporté par un individu) provoque une stimulation des monocytes qui libèrent des anticorps (IgE) sensibilisant les mastocytes (mastocytes tissulaires, basophiles circulants et aussi macrophages alvéolaires). À la surface de ces derniers va avoir lieu la liaison entre antigène et anticorps spécifique. À cet instant va avoir lieu la dégranulation des mastocytes qui libèrent les médiateurs chimiques qu'ils contiennent. Ces médiateurs peuvent être l'histamine, la sérotonine, des facteurs chimiotactiques pour les neutrophiles ou les éosinophiles, mais aussi des médiateurs formés dans un deuxième temps tels le PAF (Platelet Activator Factor), les prostaglandines ou les leucotriènes (**Goetz, 2010**).

➤ Bronchiolite

La bronchiolite est une infection respiratoire saisonnière le plus souvent due au virus respiratoire syncytial (VRS) humain (**Marchand et al., 2008**) qui détermine un processus inflammatoire, fibrosant, ou destructif atteignant uniquement et de manière prédominante les bronchioles, dont les causes et conséquences cliniques sont variées. La bronchiolite

peut également être une composante accessoire de certaines maladies pulmonaires diffuses (**Fig.5**) (**Cordier, 2005**). L'infection à VRS provoque des lésions particulières des bronches distales, bronchioles et alvéoles. La lésion principale est une nécrose épithéliale dont la conséquence est la desquamation cellulaire conduisant l'obstruction des conduits aériens distaux (**Dutau et al., 1994**). La bronchiolite a virus respiratoire syncytial (VRS) est associée à la production d'IgE anti-VRS et de médiateurs pro-inflammatoires dans les sécrétions nasopharyngées et même dans le sérum (**Dutau, 2001**).

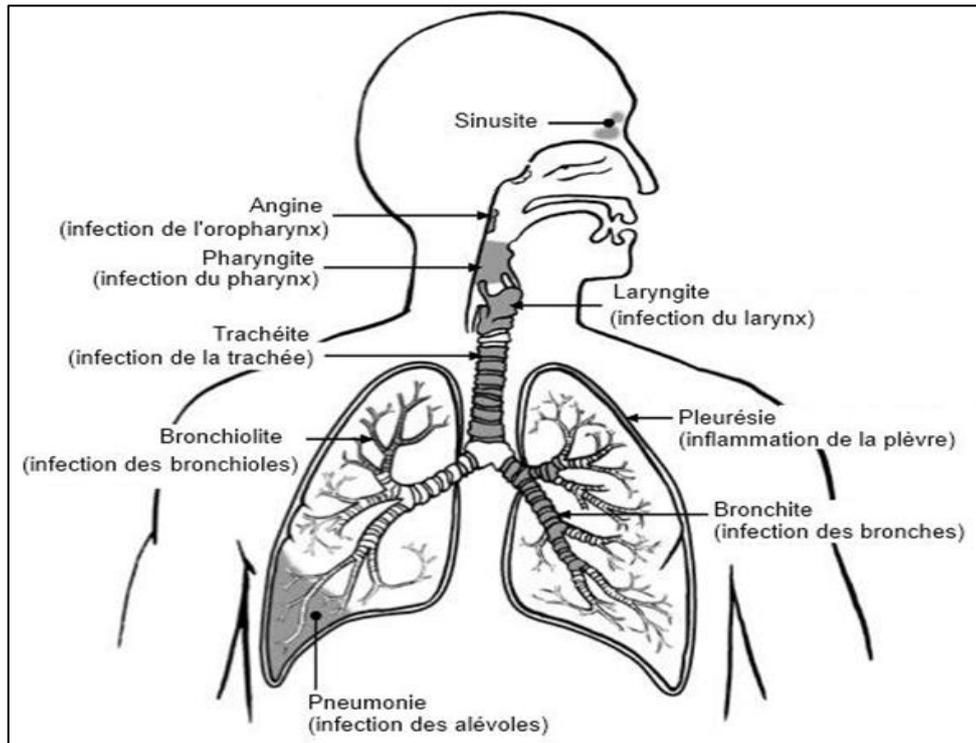


Figure 5: Les inflammations de l'appareil respiratoire (Galmèse, 2013).

2.3. Influence des facteurs exogènes sur les pathologies pulmonaires

De nombreux agents d'agression, comme les micro-organismes (bactéries, virus, allergènes), sont véhiculés par l'air ambiant et pénètrent dans les voies aériennes. Une inadaptation ou exagération des mécanismes de défense, en particulier de l'immunité innée et de l'immunité adaptative peuvent être à l'origine de différentes pathologies (**Taront, 2008**).

➤ Les bactéries

Chez des sujets sains, les voies respiratoires inférieures ne sont pas colonisées par des bactéries, bien que nos voies aériennes soient continuellement exposées à ces micro-

organismes. Le tractus respiratoire permet d'en éliminer une part très importante grâce aux mécanismes de la clairance muco-ciliaire (mucus et cils vibratiles des cellules épithéliales bronchiques), de bactéricide via l'endocytose et la sécrétion de protéines anti-bactériennes par l'hôte (défensines, collectines...), de défense immunologique humorale et cellulaire (immunité innée et acquise).

Les bactéries invasives et pathogènes développent des mécanismes d'échappement à l'immunité naturelle.

➤ **Les Virus**

Les voies aériennes supérieures et inférieures peuvent être infectées par des virus. Les virus sont des microorganismes qui ont besoin de pénétrer les cellules de l'hôte afin de se multiplier. Ils utilisent en effet la machinerie protéique et le métabolisme des sucres de l'hôte puisqu'ils en sont dépourvus. Ils sont composés d'un acide nucléique protégé d'une capsidie protéique et dans certains cas sont entourés d'une enveloppe lipidique (**Hallouet, 2010**).

➤ **Les pneumallergènes**

Les allergènes inhalés sont les agents en cause dans le rhume des foins, la rhinite chronique et l'asthme parmi les enfants en âge d'école ou les jeunes adultes; ils jouent également un rôle important dans la dermatite atopique. Presque toutes les données génétiques sur l'allergie sont basées sur les réactions aux pneumallergènes, Ils ne peuvent atteindre une densité aérienne suffisante pour sensibiliser ou déclencher une réaction que lorsqu'ils sont sous forme de particules. Les grains de pollen, les particules fécales d'acariens, les particules des hyphes ou les spores des moisissures ainsi que les squames animales représentent les formes les mieux caractérisées de pneumallergènes (**Roitt et al, 2002**).

Chapitre II

l'immunité

des voies

respiratoires

1. Développement de l'inflammation allergique

La physiopathologie de la réaction allergique peut être scindée en trois phases successives. La première est la **phase de sensibilisation** au cours de laquelle s'instaure la mémoire immunitaire. Dans le cas de l'inflammation allergique, la sensibilisation a lieu au niveau des voies respiratoires. L'antigène est pris en charge par les cellules dendritiques (DCs) des voies respiratoires qui sont activées et migrent vers les ganglions médiastinaux qui drainent les poumons. L'antigène est présenté aux cellules T, initiant ainsi la conversion des cellules T CD4 naïves en cellules Th2. Ces cellules Th2 interagissent avec les cellules B et induisent la production des IgE. Ces derniers diffusent localement et gagnent la circulation lymphatique et sanguine pour enfin être distribués systématiquement. Les IgE spécifiques et non-spécifiques se lient aux récepteurs IgE de haute affinité (FcεRI) à la surface des cellules, plus particulièrement des mastocytes. Cette phase de la réponse allergique est asymptomatique mais elle met en veille un état immunitaire prêt à répondre rapidement en cas de réexposition des voies respiratoires à l'allergène (**Galli *et al.*, 2008**) (**Fig.6**).

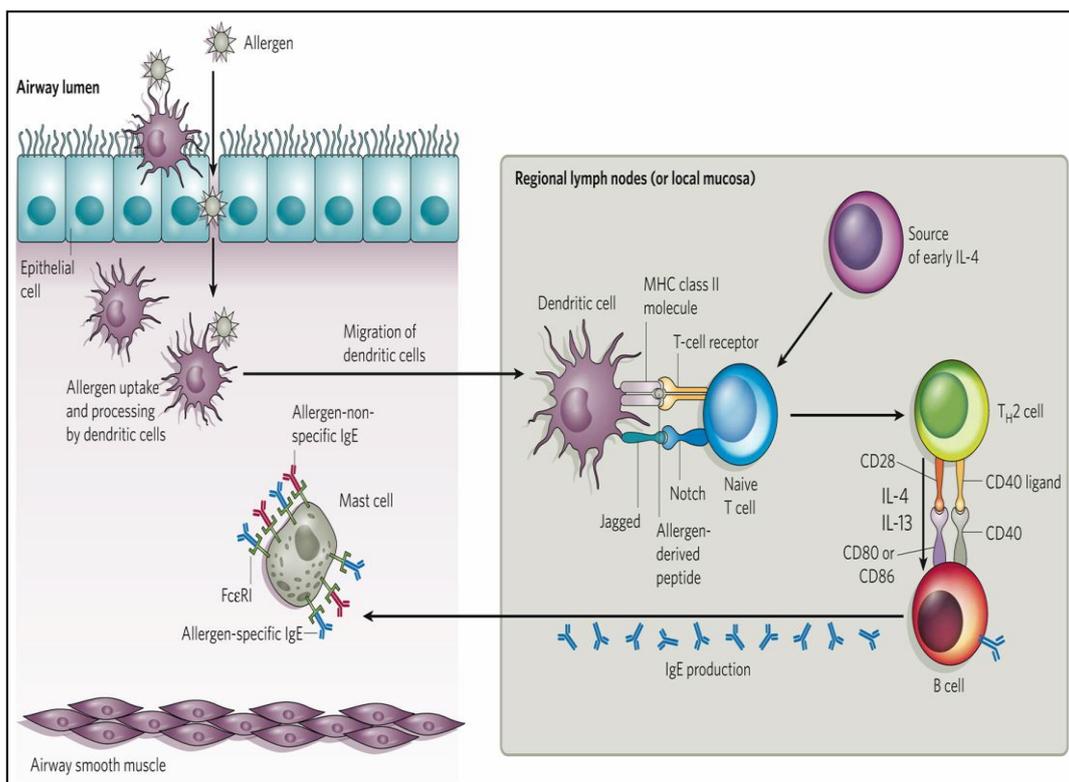


Figure 6: Phase de sensibilisation aux allergènes (Galli *et al.*, 2008).

➤ La Phase effectrice

Elle comprend les phases de réaction immédiate et retardée. La phase immédiate a lieu dans les minutes qui suivent une nouvelle exposition à l'allergène contre lequel un individu est sensibilisé. Cette phase se caractérise par l'apparition, dans les premières minutes, de signes cliniques dépendants du tissu cible (irritation tissulaire, formation d'œdème, sécrétion de mucus et obstruction bronchique marquée due à un spasme du muscle lisse bronchique). Durant cette phase, l'allergène est reconnu par des IgE spécifiques, liés aux FcεRI à la surface des mastocytes et des basophiles. Le complexe IgE/allergène induit l'agrégation des récepteurs, activant les mastocytes et les basophiles qui libèrent immédiatement le contenu de leurs granules cytoplasmiques. Il s'agit des molécules vaso-actifs (les leukotriènes, l'histamine, les prostanoïdes) ou cytokiniques et chimiotactiques (MacGlashan, 2008). Ces derniers induisent une vasodilatation et une bronchoconstriction et augmentent la production de mucus par les cellules caliciformes et la perméabilité vasculaire (Fig.7).

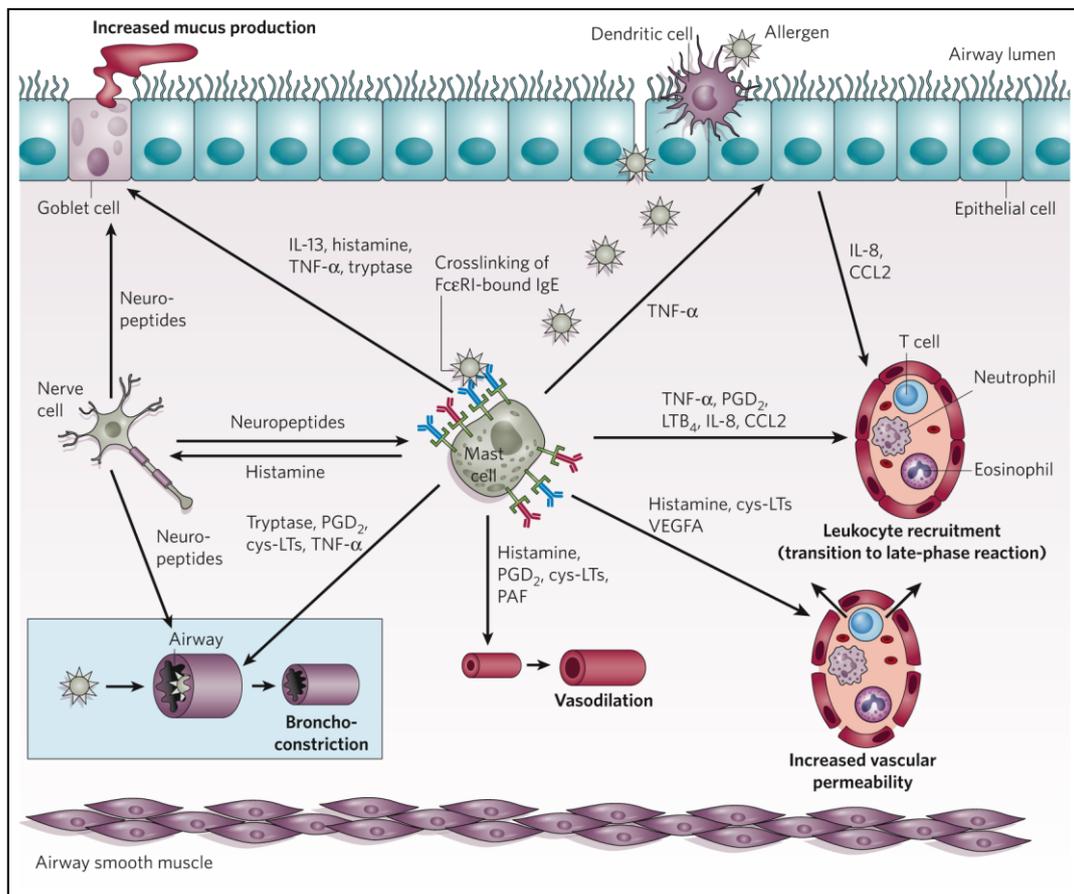


Figure 7: La réaction immédiate de la phase effectrice (Galli *et al.*, 2008).

Outre leur rôle dans la réaction immédiate, les mastocytes contribuent à la transition vers la réaction retardée en initiant le recrutement de cellules inflammatoires. La phase tardive se déclare après 6-12 heures et s'éteint dans les 12-24 heures (**Fig.8**). Elle est caractérisée par l'infiltration des tissus enflammés par plusieurs types cellulaires dont les éosinophiles, les lymphocytes T et les basophiles. Ces cellules libèrent à leur tour des substances pro-inflammatoires cytotoxiques, telles que les protéines des granules des éosinophiles MBP, ECP, EPO, EDN, responsables de la destruction de l'épithélium et de l'inflammation de la sous muqueuse diminuant alors le diamètre des voies aériennes. Les sous populations lymphocytaires T auxiliaires majoritairement Th2 interviennent dans le recrutement des cellules effectrices et dans l'activation de l'épithélium bronchique. Cette inflammation est chronique et aboutit à long terme à une modification de l'architecture des voies respiratoires, également nommée remodelage bronchique. Ce dernier se caractérise par la desquamation de l'épithélium, une métaplasie des cellules caliciformes, un épaissement de la membrane basale et une hyperplasie des cellules musculaires lisses (**Galli et al., 2008**).

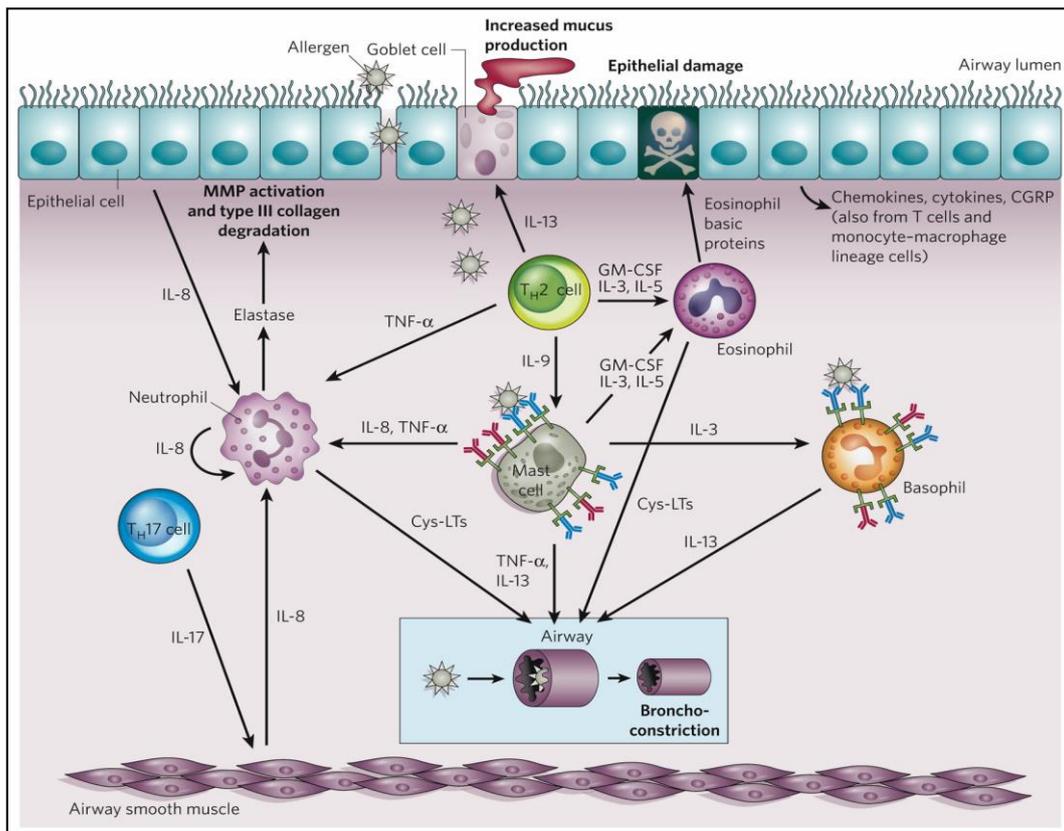


Figure 8: La réaction retardée de la phase effectrice (Galli et al., 2008).

2. Les différents acteurs cellulaires impliqués dans la réaction allergique

2.1. Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques jouent un rôle clé dans l'initiation de la réaction immune. Issues de précurseurs médullaires, après passage dans le sang, les cellules dendritiques colonisent les tissus périphériques comme la peau et les muqueuses où elles constituent un vaste réseau-sentinelle du système immunitaire. Présentes en quantité accrue dans l'épithélium bronchique ou nasal du patient allergique (**Fig.9**). Les CD capturent et internalisent l'allergène et le fragmentent, ces fragments peptidiques sont couplés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-Classe II) pour être présentés aux lymphocytes T naïfs. La cellule dendritique mature migre alors vers le ganglion lymphatique régional où s'effectue le contact CD-T lymphocyte qui enclenche la réponse immune y compris dans la réaction de type allergique (**Deslee et al., 2004**).

Dans le contexte des maladies allergiques, la cellule dendritique initie la réponse à l'allergène mais joue aussi un rôle clé dans l'orientation de la réponse immunitaire. Par leur capacité de sécrétion de l'IL-12, elle favorise une réponse de profil Th1, la CD sécrète aussi des chimiokines impliquées dans le recrutement sélectif des sous-populations Th1 ou Th2. Certaines molécules de costimulation interviennent également dans la polarisation Th1 ou Th2 : CD86, OX40-ligand et B7-RP1 orientent plutôt vers un profil Th2 (**Hammad et al., 2001**), alors que le CD80 favorise l'élicitation du profil Th1 (**Fig.10**). Comme pour les lymphocytes T helper plusieurs sous-populations de CD ont été décrites, les CD de type plasmocytoïde au niveau du poumon facilitent un processus de tolérance vis-à-vis de l'antigène inhalé (**de Heer et al., 2004**).

Plus récemment l'accent a été porté sur l'intervention des TLRs exprimés à la surface des cellules dendritiques et leur rôle dans le développement des phénomènes allergiques. Parmi les onze TLRs actuellement recensés, trois d'entre eux, les TLR2 et 4 et à un moindre degré le TLR3 sont exprimés à la surface des CD (**Bellou et al., 2003**). La stimulation de ces récepteurs entraîne la maturation de la cellule dendritique avec une augmentation d'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, des molécules costimulatrices et de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme le tumor necrosis factor α (TNF α), les interleukines 1 et 6 (IL-1 et IL-6).

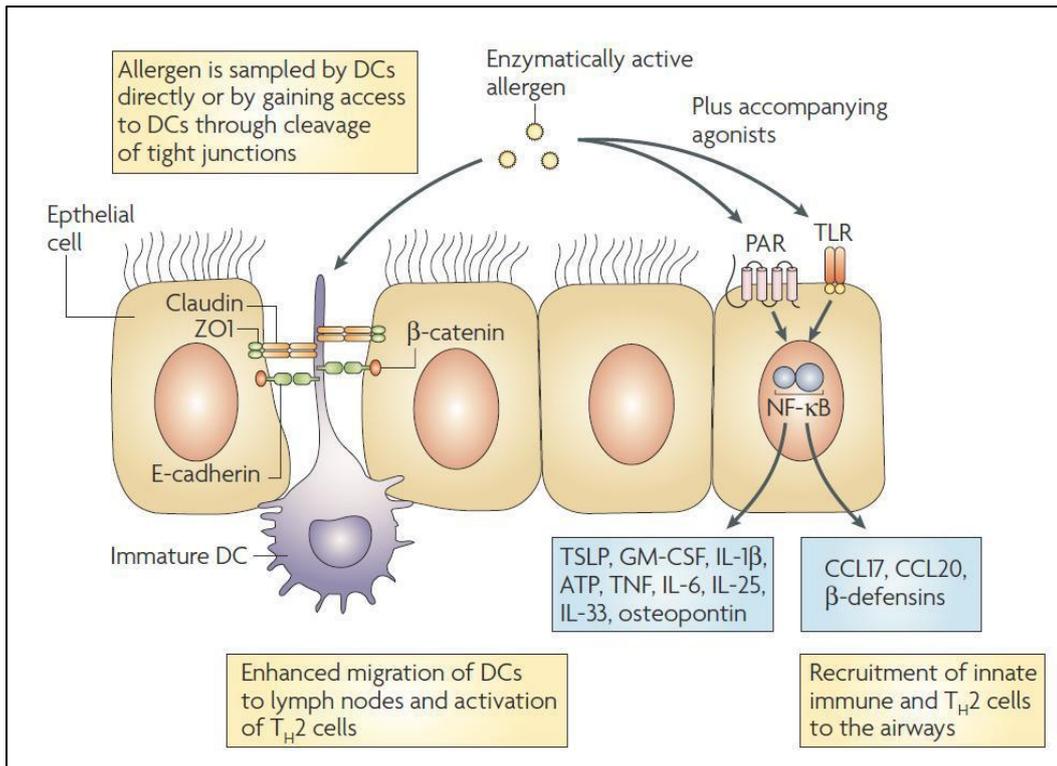


Figure 9: Interaction entre les cellules épithéliales, les DCs et les allergènes à l'interface de la muqueuse bronchique (Hammad et Lambrecht, 2007).

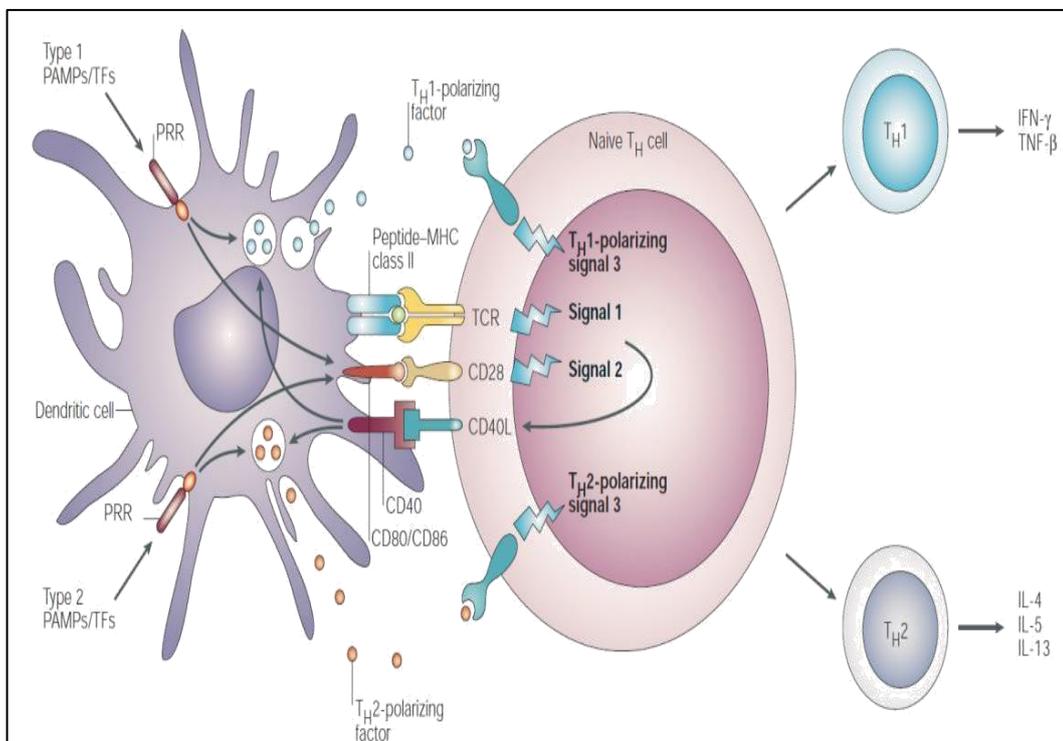


Figure 10: Interaction entre les cellules dendritiques et le lymphocyte T (Kapsenberg, 2003).

2.2. Les lymphocytes T, médiateurs de l'immunité cellulaire

Les LT naïfs exprimant le corécepteur CD4⁺ deviennent des LT auxiliaires (Th, T-helper). Les lymphocytes Th se différencient en sous-populations: les LT régulateurs (LT reg), les lymphocytes Th1, les lymphocytes Th2 et les lymphocytes Th17 (**Fig.11**). Le sort de la descendance des cellules CD4⁺ naïves dépend des signaux provenant de l'environnement local, particulièrement dépendant de la sensibilisation de l'APC (**Galmèse, 2013**).

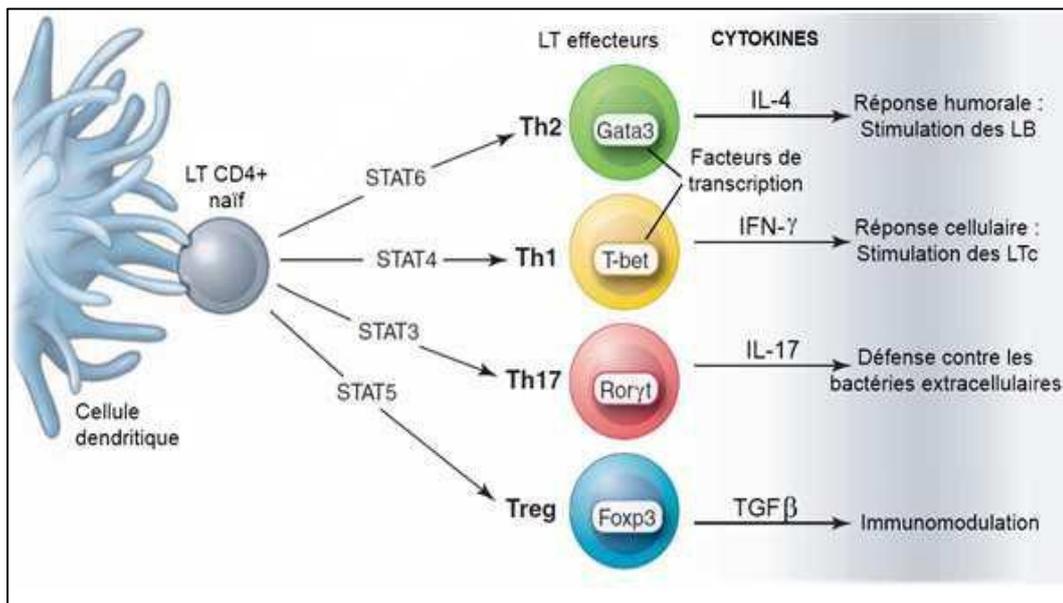


Figure 11: Différenciation des LT auxiliaires (O'Shea et Paul, 2010).

➤ Les lymphocytes Th2

Les cellules Th2 jouent un rôle central dans l'inflammation allergique. Après activation, les DCs et d'autres cellules produisent les cytokines responsables de la différenciation des cellules T naïves en cellules Th2. L'interaction entre le TCR et CMH de classe II de la DC induit classiquement la production d'IL-2 et d'IL-4 par les cellules T, capables d'activer STAT5 et STAT6 respectivement, qui mènent à la production d'IL-4 supplémentaire et amplifient en boucle la réponse inflammatoire de type Th2. La signalisation résultant de la liaison de l'IL-4 avec son récepteur passe par GATA3 (GATA-binding protein 3), qui entraîne l'expression des gènes associés aux cytokines propres à l'inflammation de type Th2 (**Barnes, 2008 ; Zhao et al., 2010**). Ces cytokines sont impliquées dans la commutation de classe d'immunoglobulines des cellules B vers la

synthèse d'IgE (IL-4 et IL-13), le recrutement des mastocytes (IL-4, IL-9 et IL-13) ainsi que la stimulation et la maturation des éosinophiles (IL-3, IL-5 et GM-CSF) et des basophiles (IL-3) (**Fig.12**). Les cellules Th2 différenciées sont recrutées dans le site inflammatoire par la production des chimiokines CCL1, CCL2, CCL11, CCL22 et CCL17 (**Teran, 2000**).

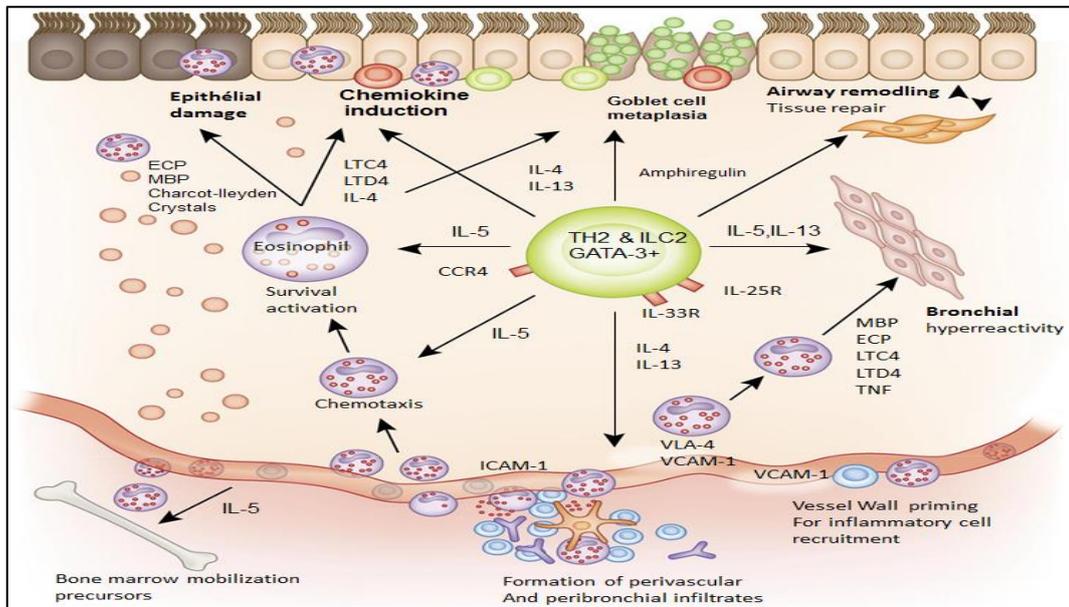


Figure 12: Vue d'ensemble des fonctions des cellules TH2 et ILC2 dans l'asthme (Lambrecht et Hammad, 2015).

➤ **Lymphocytes Th17**

Les cellules productrices d'IL-17 sont nombreuses (lymphocytes T, neutrophiles, éosinophiles). Parmi celles-ci, une de ces populations a profondément modifié le fameux paradigme Th1/Th2. En effet, il est maintenant bien établi que les cellules CD4+ productrices d'IL-17A, d'IL-17F et d'IL-22, maintenant dénommées Th17, constituent une nouvelle voie de différenciation des cellules T CD4+ naïves. (**Steinman, 2003 ; Stockinger et Veldhoen, 2007**) (**Fig.13**). En absence d'IL-23 et de fortes concentrations en IL-6 et TGFβ, ces cellules produisent de l'IL-10, ne sont pas pathogéniques et pourraient avoir des fonctions différentes (**McGeachy et al., 2007**). La différenciation de ces cellules est également sous l'influence de cytokines inhibitrices comme l'IFNγ, l'IL-4 et l'IL-27. Il faut noter que, chez l'homme, le TGFβ semble être remplacé par l'IL-1 (**Chen et O'Shea, 2008**). La différenciation de Th17 est sous la dépendance du TGFβ. La

présence d'IL-6 permet la différenciation vers la voie Th17 alors que son absence aboutira à des cellules Treg (Tato et O'Shea, 2006).

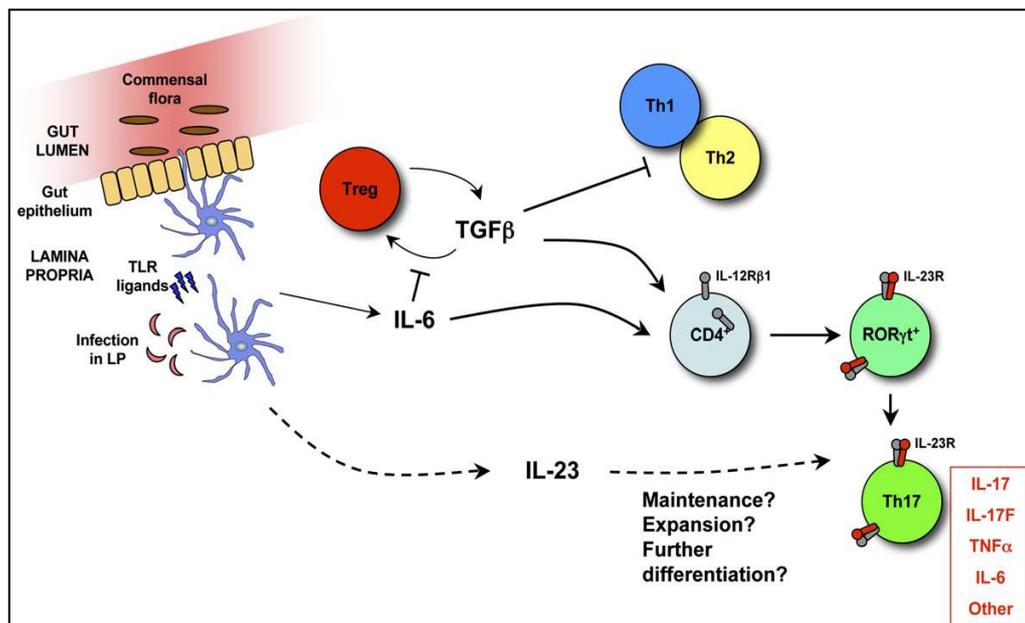


Figure 13: Modèle de développement des cellules th 17 (Ivanov *et al.*, 2006).

➤ Le lymphocyte Th22

Une nouvelle population de Lc T a été décrite postérieurement aux Th17, ce sont les Th22. Ces cellules produisent bien évidemment de l'IL-22 mais aussi de l'IL-26 mais pas de l'IL-17. Elles expriment le facteur de transcription AhR et les récepteurs chimiokiniques CCR6 et CCR10 (Duhon *et al.*, 2009). Leur récepteur est exprimé au niveau digestif, cutané et pulmonaire, ce qui suggère un rôle dans l'immunité des muqueuses. Une production dépendante des cellules de Langerhans et une action sur les cellules épithéliales induisent un remodelage (Fujita *et al.*, 2009). L'IL-22 est augmentée dans les sérums et dans les surnageants de CMN (cellules mononuclées) de sujets allergiques (Zhao *et al.*, 2010).

➤ Les lymphocytes Th9

Des rapports récents ont décrit un nouveau sous-ensemble de la population de lymphocytes T auxiliaires séparé de Th2 qui produit IL-9 en grandes quantités et contribue de manière unique à des réponses immunitaires. Il s'agit de la population lymphocytaire Th9. Suite à une activation avec les CPA en présence du TGF-β et d'IL-4, les lymphocytes

T CD4⁺ naïves se différencient en cellules Th9 caractérisées par la production élevée d'IL-10 et d'IL-9. Cependant, après leur activation, les cellules Th9 n'expriment pas les cytokines IL-4, IL-5, IL-13 (Th2), IL-17a (Th17) ou IFN- γ (Th1) (Staudt *et al.*, 2010). Les cellules Th9 semblent contribuer à l'expression de CCL17 et CCL22 dans les maladies allergiques (Chang *et al.*, 2010 ; Dardalhon *et al.*, 2008 ; Veldhoen *et al.*, 2008).

➤ Les lymphocytes T régulateurs (Treg)

Les cellules T régulatrices (Treg) correspondent à de petites populations de lymphocytes T capables d'induire les mécanismes de tolérance (Cottrez et Groux, 2004). Plusieurs populations probablement intriquées ont été mises en évidence. Les lymphocytes CD4⁺ CD25⁺ décrits plus récemment sont aussi ceux qui sont le mieux connus (Stassen *et al.*, 2004) et représentent environ 10 % des cellules T CD4⁺. Ils produisent également de l'IL-10. Les lymphocytes T reg sont activés soit classiquement par les cellules dendritiques (DC) lors d'une présentation antigénique (Deslee *et al.*, 2004) et les mécanismes qui aboutissent à leur activation sont alors directement liés au contexte de la présentation (production de cytokines par les DC, engagement de certains corécepteurs), soit directement lors de l'interaction avec des récepteurs exprimés par les cellules endothéliales ou par d'autres lymphocytes T activés (Khayyamian *et al.*, 2002) (Fig.14).

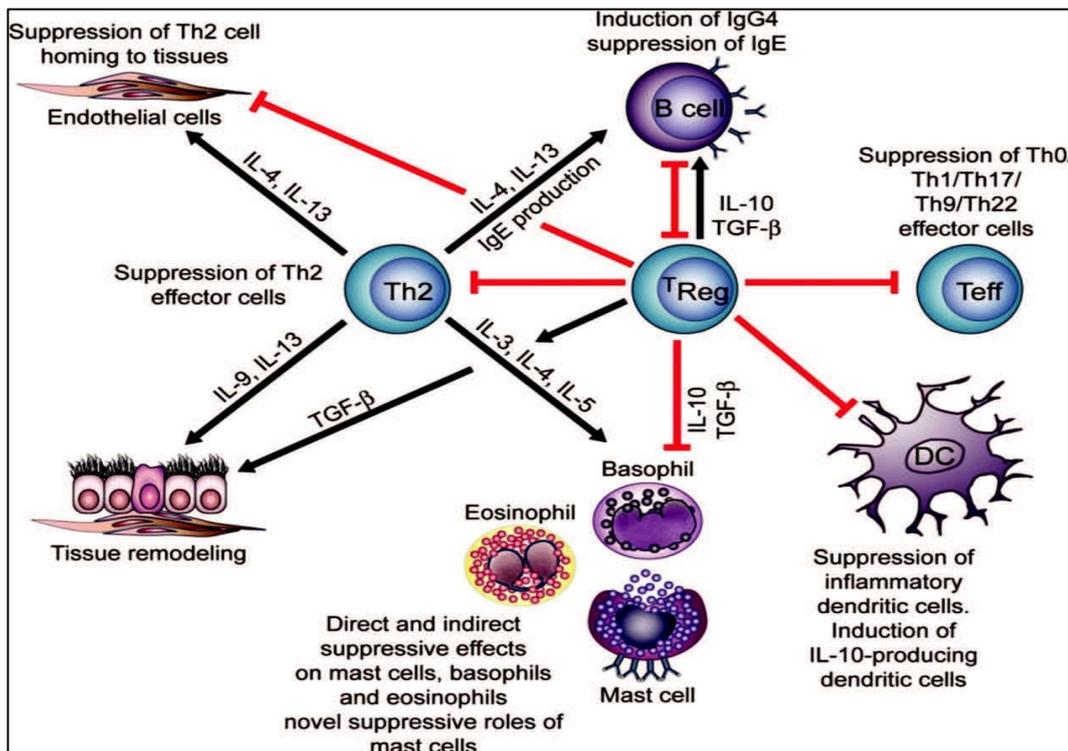


Figure 14: Rôle des lymphocytes T régulateurs (Treg Foxp3⁺ et Tr1) dans le contrôle de la réponse allergique (Cezmi et Akdis, 2011).

➤ **Les cellules NK**

Les lymphocytes NK constituent une sous-population de lymphocytes T qui exprime à la fois des marqueurs de T et de NK (**Park *et al.*, 2000**).

Les cellules NK après avoir été stimulées par différents facteurs peuvent favoriser (flèches rouges) la maturation et l'activation de cellules dendritiques (DC), de macrophage et de lymphocytes T via des contacts cellulaires ou la production de cytokines. A l'inverse, les cellules NK peuvent éliminer (flèches bleues) des cellules dendritiques immatures, des lymphocytes T activés ainsi que des macrophages suractivés (**Fig. 15**) (**Vivier *et al.*, 2008**).

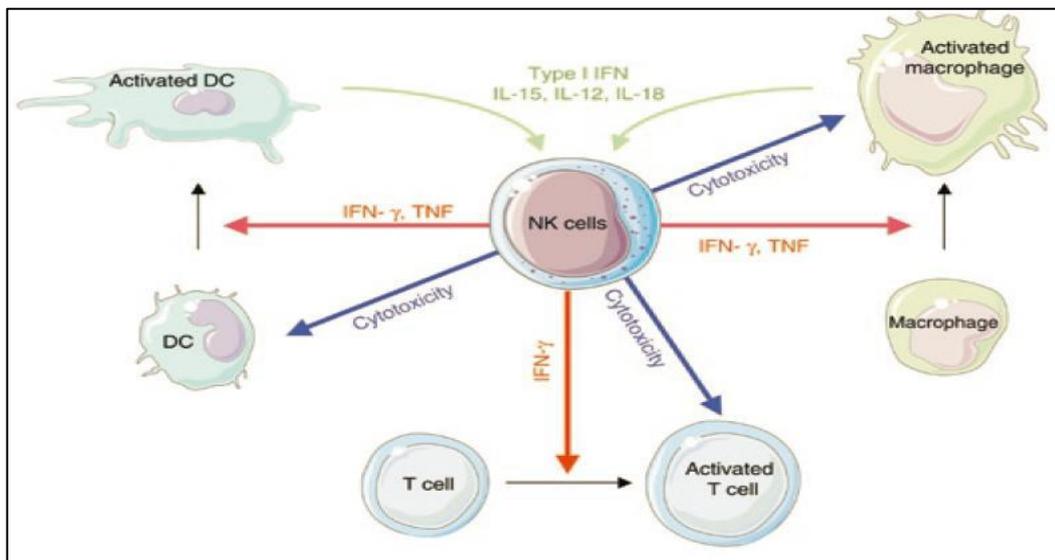


Figure 15: Cellules NK et coopération avec les cellules immunitaire (Vivier *et al.*, 2008).

2.3. Les lymphocytes B, médiateurs de l'immunité humorale

Les lymphocytes B jouent un rôle fondamental dans les maladies allergiques, y compris l'asthme allergique. Ils synthétisent des IgE spécifiques aux allergènes sous l'influence des réponses dérégulées à cellules Th2. Chez l'homme, l'IL-4, induit la commutation vers l'IgE et vers un isotype d'IgG (IgG4) qui interagit d'une manière peu efficace avec les récepteurs FcεRI et active faiblement le complément. Les anticorps se fixent rapidement à leurs récepteurs de haute affinité FcεRI présents essentiellement sur les mastocytes et les basophiles (**DeFranco, 1995**).

➤ Les cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2)

Les cellules lymphoïdes innées (ILCs) représentent une nouvelle famille d'origine hématopoïétique. Elles jouent un rôle dans la formation des tissus lymphoïdes et dans le remodelage post-infectieux ou post-traumatique. Elles jouent aussi un rôle dans la protection de l'organisme contre les pathogènes. Les cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2), sont un membre de la famille des ILCs laquelle est récemment identifiée chez l'homme et la souris. Elles sont localisées au niveau du poumon et du foie, de la rate, de la cavité péritonéale, des ganglions mésentériques, de la moelle épinière, des tissus adipeux, mais elles sont très rares dans le sang périphérique (Monticelli *et al.*, 2011). Les ILC2 produisent de grandes quantités de cytokines Th2 (IL-13 et IL-5) en réponse à l'IL-33 et l'IL-25 (Neill *et al.*, 2010). Par conséquent, ces cellules peuvent constituer une nouvelle cible dans le développement des thérapies des maladies des voies aériennes telles que l'asthme. (Fig 12) (Halim *et al.*, 2011).

2.4. Les cellules épithéliales des voies respiratoires

Si les cellules épithéliales des voies aériennes sont connues pour jouer un rôle important dans l'immunité innée comme barrière physique, elles sont maintenant reconnues comme des cellules fondamentales dans le développement des réponses allergiques. Grâce à leur aptitude à produire des cytokines, elles sont activement impliquées dans le développement des manifestations d'allergie d'une manière directe.

Les cellules épithéliales expriment des PRR, des récepteurs capables de reconnaître différents types d'agresseurs, et des récepteurs de cytokines produites durant l'inflammation. L'activation de ces récepteurs induit une augmentation de l'expression des protéines immunorégulatrices, comme IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF, IFN- γ , et des chimiokines, afin de recruter des cellules inflammatoires. De plus, sous la stimulation des allergènes et/ou des microbes ou de particules stimulantes, les cellules épithéliales libèrent les cytokines comme TLSP, IL-33, IL-25, qui déclenchent et amplifient les réponses immunitaires caractéristiques (Hammad *et al.*, 2009 ; Barrett *et al.*, 2009) (Fig.16).

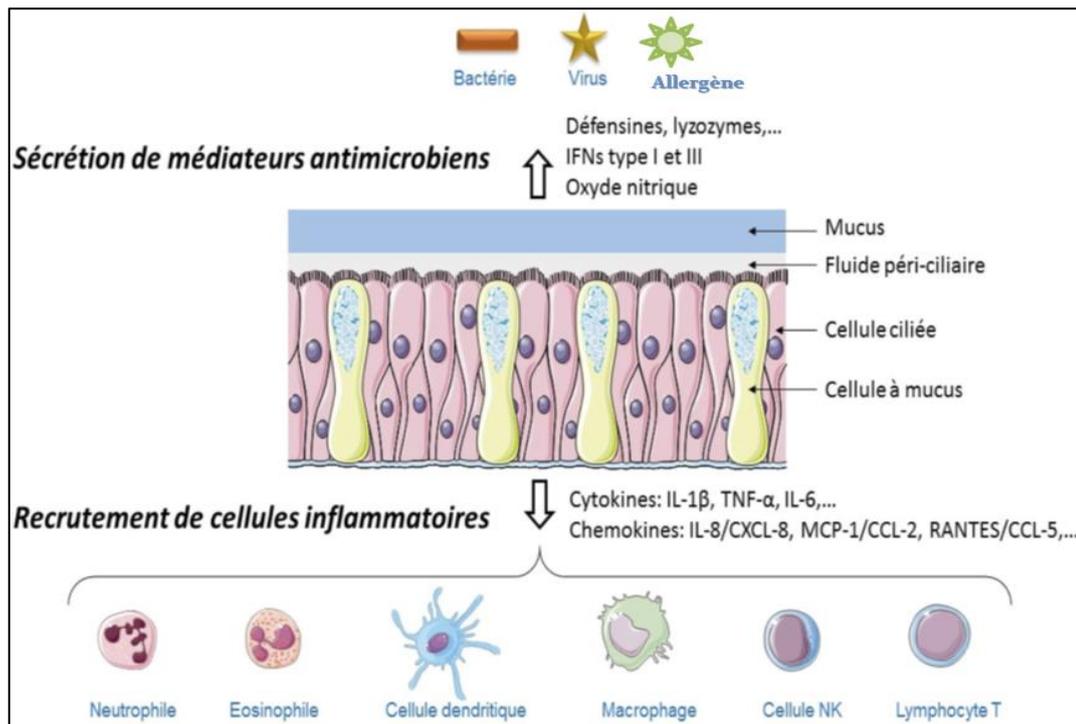


Figure 16: Les mécanismes de défense de l'épithélium respiratoire (Jouan *et al.*, 2016).

2.5. Les granulocytes tissulaires

➤ Mastocytes (MC)

Dans l'espèce humaine, on distingue deux principaux types de mastocytes : Les mastocytes T, dont les granulations contiennent essentiellement de la Tryptase, représentent le mastocytes prédominant dans les muqueuses et environ un tiers des mastocytes pulmonaires. Leur nombre est significativement augmenté dans la muqueuse nasale des malades atteints de la rhinite allergique et dans la paroi et les sécrétions bronchiques des allergiques. Les mastocytes TC, dont les granulations contiennent de la tryptase et la chymase, prédominent dans la peau (derme) et les sous-muqueuses, et représentent environ les deux tiers des mastocytes pulmonaires. Les mastocytes sont porteurs de récepteurs FcεRI de forte affinité pour les IgE. Les mastocytes activés libèrent de l'histamine leucotriènes (LT), agent constricteurs des fibres musculaires lisses et pro-inflammatoire. En outre, les mastocytes activés produisent des cytokines diverses, telles l'IL-1, l'IL-3, facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages GM-CSF, l'IL-4, l'IL-5, et le TNF-α. Ces cytokines influencent la mobilisation, l'attraction et

l'activation des neutrophiles, des monocytes et des éosinophiles par la synthèse in vivo de ces cytokines (Bernard et Batteux, 2003) (Fig.17).

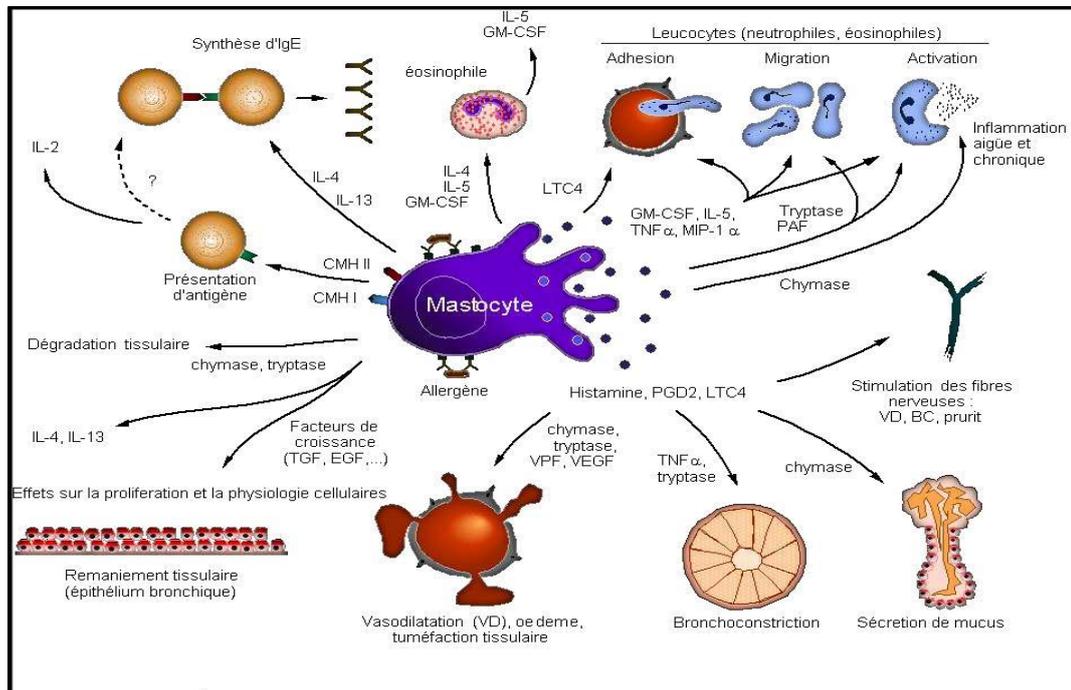


Figure 17: Activation du mastocyte [3].

➤ Les basophiles

Les basophiles sont des cellules de la lignée granulocytaire, et sont essentiellement présents dans le sang circulant. Ils sont porteurs de récepteurs FcεRI de forte affinité pour les IgE. Leurs granulations intra-cytoplasmiques contiennent les médiateurs préformés qui seront expulsés lors de leur activation. (Bernard et Batteux, 2003). Le rôle des basophiles dans les maladies allergiques, expriment une variété de récepteurs de cytokines (IL-3R, IL-5R, GM-CSFR), les récepteurs de chimiokine (CCR2, CCR3), les récepteurs du complément (CD11b, CD11c, CD35, CD88), Les récepteurs de la prostaglandine (CRTH2) et les récepteurs Fc de l'immunoglobuline (FcεRI, FcγRII) (Bochner, 2001).

➤ Les polynucléaires éosinophiles (PE)

Les polynucléaires éosinophiles sont porteurs de récepteurs FcεRI de forte affinité pour les IgE. Ils contiennent de nombreuses enzymes, et produisent des médiateurs granulaires cytotoxiques qui sont libérés lors de leur activation (MBP ou major basic protein, ECP ou eosinophil cationic protein, EPO ou éosinophil peroxydase, et EDN ou eosinophil derived neurotoxin), des cytokines (IL3, IL5, GM-CSF, IL8, TGFβ1), des

radicaux libres de l'oxygène et des dérivés de l'acide arachidonique (LTC₄ et D₄, PGE₁, PAF), à l'origine du prurit et de l'hyperréactivité nasale ou bronchique. Le nombre des PE est augmenté dans le sang, le chorion de la muqueuse respiratoire, et les sécrétions nasales et bronchiques des allergiques (**Bernard et Batteux, 2003**).

➤ Les neutrophiles

Chez l'homme, les neutrophiles semblent impliqués dans la réaction allergique, et plus particulièrement dans l'asthme sévère. En effet, le nombre de neutrophiles est augmenté dans les LBA et les biopsies bronchiques des patients allergiques (**Lamblin et al., 1998**). Les neutrophiles activés pourraient produire des médiateurs moléculaires impliqués dans la réaction pulmonaire allergique tels les lipides (LTA₄, LTB₄, PAF...), les cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β , CXCL8). L'ensemble de ces produits participerait à l'amplification de la réaction locale et pourrait causer le rétrécissement des voies aériennes et la sécrétion de mucus (**Gibson et al., 2001**).

➤ Les macrophages

Le macrophage, qui a des propriétés de cellule présentatrice d'antigène, a le potentiel de libérer de nombreux médiateurs capables d'induire un ou plusieurs des éléments inflammatoires retrouvés dans la réaction allergique. Des récepteurs d'IgE de faible affinité (Fc ϵ R II) retrouvés à sa surface peuvent causer son activation à la suite de son exposition à un allergène (**Litchfield et Lee, 1992**). Une fois activé, le macrophage libère divers médiateurs lipidiques comme le facteur d'activation des plaquettes (PAF) (**Pretolani et Vargaftig, 1987**), le leucotriène B₄, la PGF₂ α et la thromboxane B₂. Ces médiateurs agiraient en synergie avec ceux du mastocyte pour amplifier la réaction allergique immédiate. Le macrophage semble également participer à la mise en branle de la réaction allergique tardive par la sécrétion de médiateurs et de cytokines pro-inflammatoires tels l'IL-1, l'IL-6, le GM-CSF, le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur nécrosant des tumeurs α (TNF- α), et des facteurs de libération de l'histamine. Le passage des cellules inflammatoires du sang dans le poumon s'effectue en réponse aux différentes cytokines et médiateurs chimiotactiques (**Wegner et al., 1990**). Cette migration cellulaire coïncide habituellement avec le début de la réaction allergique tardive. Différentes cytokines (principalement l'IL-2, IL-3, IL-5, GM-CSF) relâchées lors de la réaction allergique agissent sur l'épithélium et l'endothélium bronchiques en augmentant

l'expression des molécules d'adhérence (VCAM-1, ICAM-1), qui sont extrêmement importantes pour la mobilisation des éosinophiles vers le poumon (**Resnick et weller, 1993**).

3. Les principaux médiateurs de la réaction allergique

De nombreux médiateurs sont impliqués dans la physiopathologie de l'allergie. Ils sont sécrétés généralement par différentes populations cellulaires. Inversement, chaque population cellulaire sécrète plusieurs médiateurs. Ces molécules ont des effets multiples et souvent redondants sur les voies aériennes et sur les cellules présentes localement pour induire des modifications pathologiques caractéristiques de la maladie, œdème, hypersécrétion de mucus, recrutement des cellules immunitaires, lésions tissulaires, hyperréactivité bronchique. La multiplicité des acteurs rend très difficile l'établissement du rôle de chacun de ces médiateurs dans la physiopathologie de l'allergie.

3.1. Les IgE

Les IgE sont un isotype d'immunoglobulines (Ig). D'un point de vue structural, similairement aux différentes classes d'Ig, les IgE sont composées de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Les chaînes lourdes contiennent quatre domaines constants (C ϵ 1-C ϵ 4) et un domaine variable alors que celles légères en ont un seul constant et un variable. Elles sont produites par les lymphocytes B activés, présents dans les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, lors de la commutation isotypique. Cette dernière consiste en un changement de classe des domaines constants des chaînes lourdes sans affecter le domaine variable et donc la spécificité vis-à-vis de l'antigène (**Gould et Sutton, 2008**).

3.2. Les médiateurs chimiques de l'allergie

Plusieurs cellules, entre autres les mastocytes, les basophiles et les éosinophiles libèrent des molécules médiatrices de la réaction allergique.

➤ Les médiateurs préformés

L'**histamine** qui est synthétisée par les basophiles peut se définir comme l'un des principales molécules médiatrices impliquées dans la physiopathologie de l'allergie.

L'histamine est alors stockée, dans sa quasi-totalité, dans les mastocytes et les leucocytes. L'histamine est un puissant vasodilatateur, qui, en outre, augmente la perméabilité capillaire, elle provoque une bronchoconstriction et active les cellules inflammatoires (Jamet *et al.*, 2006).

Les enzymes protéolytiques telles que la tryptase, la cathepsine G et la superoxy de dismutase sont libérées par les mastocytes et les basophiles et ont un rôle dans la réponse inflammatoire (Prin, 1996).

➤ Les médiateurs néoformés

Les plus importants sont les médiateurs lipidiques: les leucotriènes (LT), les thromboxanes (TX) et les prostaglandines (PG). Ils sont issus du métabolisme de l'acide arachidonique. Le PAF (plaquette activating factor), provenant du métabolisme des lysophospholipides est produit par un grand nombre de cellules (macrophages, neutrophiles, éosinophiles et plaquettes) (Molina, 1997). Ces médiateurs jouent un rôle dans la bronchoconstriction, la vasoconstriction, le recrutement des plaquettes et l'agrégation plaquettaire.

3.3. Les cytokines

La communication entre les différents types cellulaires est assurée par des facteurs solubles, les cytokines qui sont des polypeptides et des glycoprotéines de masse moléculaire inférieure à 50 kDa.

➤ L'IL-4

Est impliquée dans la polarisation de la réponse humorale. Elle permet avec l'IL-13 l'activation de la commutation de classe, et stimule donc la synthèse des IgG1 et IgE, alors qu'elle inhibe la synthèse des IgG2a, IgG2b, IgG3 et IgM. Cette interleukine permet d'augmenter l'expression du CMH de classe II par les Lc B, ce qui favorise la présentation antigénique en présence de faibles doses antigéniques. L'IL-4 agit également comme un signal activateur pro-inflammatoire sur les granulocytes, et active par exemple les mastocytes cutanés, favorisant leur sécrétion d'IL-5 (Babina *et al.*, 2004).

➤ L'IL-13

IL-13, mis à part son rôle essentiel dans la commutation de classe des immunoglobulines, agit sur les macrophages tissulaires en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires de type IL-12, IL-8 et IL-6, mais inhibe également l'IL-10. IL-13 agit également au site inflammatoire sur les cellules tissulaires, par exemple sur l'épithélium bronchique, en favorisant la sécrétion de mucus par les cellules caliciformes et en potentialisant l'hyperréactivité bronchique par une action sur les cellules musculaires lisses péribronchiques (**Eum *et al.*, 2005**).

➤ L'IL-5

L'IL-5 est impliquée dans l'accumulation des éosinophiles vers le site inflammatoire après stimulation allergénique. Elle facilite ce recrutement en modulant l'expression de protéines d'adhésion et de récepteurs chimiokines à la surface des éosinophiles (**Kudlacz *et al.*, 2002**).

➤ L'IL-9

IL-9 est induite par des pneumallergènes sur les cellules mononuclées et les éosinophiles de patients allergiques, ce qui explique les taux élevés de cette cytokine dans les LBA après challenge allergénique (**Erpenbeck *et al.*, 2003**).

➤ TSLP (Thymic stromal lymphopoïétine)

Est une cytokine caractérisée récemment avec une forte capacité de modulation des réponses immunitaires. Elle est exprimée dans divers types cellulaires incluant les cellules épithéliales bronchiques, les fibroblastes pulmonaires et les cellules musculaires lisses bronchiques. Les DCs et les mastocytes produisent également le TSLP sous certaines conditions inflammatoires (**Kashyap *et al.*, 2011 ; Moon et Kim, 2011**).

➤ GM-CSF

C'est une autre cytokine importante qui est produite par les cellules épithéliales des voies respiratoires suite à l'exposition aux allergènes. GM-CSF stimule la prolifération et la différenciation des précurseurs des neutrophiles, des éosinophiles et des monocytes (**Bleck *et al.*, 2006**).

➤ L'IL-25

Il-25 ou (IL-17E) est produite par des cellules épithéliales ainsi que d'autres cellules innées, comme les éosinophiles, les basophiles et les lymphocytes Th2.

➤ L'IL-33

Il-33 est un membre de la famille d'IL-1. Elle est synthétisée par les cellules épithéliales, par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les adipocytes. (Wood *et al.*, 2009). Son récepteur (ST2) est exprimé principalement sur les mastocytes matures, les basophiles, les cellules Th2, les cellules NK, les NKT et sur les cellules lymphoïdes innées de type 2. Chez l'homme, l'expression d'IL-33 est augmentée au niveau des cellules épithéliales des patients allergiques comparativement aux sujets sains (Sapoznikov *et al.*, 2007).

3.4. Les chimiokines

Ce sont des cytokines chimiotactiques qui sont, elles aussi, de faible masse moléculaire (6 - 15 kDa) et dont la classification est basée sur une homologie de séquence concernant des résidus cystéines. On distingue la sous-famille CXC (chimiokines α , telle l'IL-8) et la sous famille CC (chimiokines β , telles le Rantes, les MCP-1-5 et l'éotaxine). Les chimiokines sont impliquées dans les réactions allergiques et inflammatoires, en particulier dans le recrutement leucocytaire, notamment des basophiles, éosinophiles, monocytes, au niveau du site inflammatoire. Elles sont produites par de nombreux types cellulaires dont les cellules mononuclées, neutrophiles, éosinophiles, plaquettes, cellules endothéliales, mastocytes et cellules épithéliales (Humbert et Garcia, 2004).

Chapitre III

La

phytothérapie

4. La phytothérapie

4.1. Définition

Par définition, la phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes (de l'ensemble des éléments de la plante). Ce terme vient du grec: «phytos» = la plante et «therapiea » = la thérapie. La phytothérapie fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces et c'est l'une des sciences médicales les plus anciennes (**Jean-Pierre, 2006**). Cette thérapie se veut naturelle et respectueuse de la santé du patient. Elle adhère à une philosophie caractérisée par la recherche du médicament le plus adapté au patient respectant son organisme, ainsi que par des conseils tant sur l'hygiène de vie que sur la nutrition. De plus le but recherché en phytothérapie est le retour à l'équilibre, en renforçant les défenses de l'individu (**Walker, 2006**).

4.2. Différents types de la Phytothérapie

Cette discipline regroupe :

- L'aromathérapie: qui repose sur l'utilisation des huiles essentielles ou essences des plantes par différentes voies (ingestion, inhalation, passage transcutané). Cependant du fait que ces huiles sont des produits complexes à utiliser avec précaution et en respectant les doses prescrites, la voie d'administration la plus intéressante, car la plus rapide et la moins toxique, est la voie percutanée.
- La gémothérapie: qui consiste à utiliser des extraits alcoolisés et glycerinés de bourgeons et jeunes racines dilués au dixième. Chaque extrait est réputé avoir une affinité pour un organe ou une fonction. Par exemple, le macérât glyceriné de bourgeons de ribesnigrum, ou cassis, dilué au dixième, agit en tant que stimulant de la zone corticale des glandes surrénales, c'est-à-dire de la même manière que la cortisone.
- L'herboristerie: (la méthode la plus classique et la plus ancienne) qui repose sur l'utilisation de décoctions, infusions et macérations de plantes.
- La phytothérapie chinoise: composante de la médecine chinoise traditionnelle avec l'acupuncture et la diététique (**Rigat et al., 2007**).
- La phytothérapie pharmaceutique qui utilise des extraits végétaux à des doses optimales sous diverses formes galéniques.

5. Les plantes médicinales

Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement. Environ 35 000 espèces des plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales. Les plantes médicinales sont des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, leurs principes actifs sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits du soin (**Hans, 2007**).

5.1. *Anacyclus pyrethrum* L

➤ Généralité

L'espèce *Anacyclus pyrethrum* (synonyme: *Anthemis pyrethrum*) a été définie par Linné et révisée par Link (**Fig.21**). Sa taxonomie est décrite dans le (**Tab. 1**). Est une plante aromatique médicinale méditerranéenne, largement utilisée dans la phytothérapie (**Hans, 2007**). Il est originaire de l'Afrique du Nord, il a été cultivé à l'échelle expérimentale dans les régions himalayennes par des graines importées d'Algérie (**Auhman, 1995**). Il s'agit d'une plante de 30 cm de haut maximum, vivace par ses racines longues, épaisses, fibreuses, rudes, brunes à l'extérieur, blanches à l'intérieur.

Les tiges sont nombreuses couchées sur le sol, simples ou peu rameuses. Les feuilles sont finement découpées, délicates et alternes sont pubescentes. Les fleurs sont blanches aux cœurs jaunes ordinairement solitaires (**Paris et Moyse, 1971**).



Figure 18 : *Anacyclus pyrethrum* L (**Annalakshmi et al., 2012**).

➤ Taxonomie

Tableau 1: Classification scientifique d'*Anacyclus pyrethrum* (Usmani *et al.*, 2016).

Règne	Plantae
Division	Spermatophyta
Sous-division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous- classe	Metachlamydae
Ordre	Companulatae
Famille	Compositae ou Asteraceae
Genre	Anacyclus
Espèce	Pyréme

➤ Les noms communs et vernaculaires

Nom arabe : oued el athas, agargarha, tigenthas, ignens et Guenthus قنطس

Nom français : pyrèthre d'Afrique.

Nom anglais : Pellitory.

5.2. Utilisations médicinales

➤ La racine de Pyrèthre d'Afrique était utilisée dans le cas des maux des dents et de tête. Elle est employée essentiellement sous forme de gargarismes pour traiter les angines et les problèmes de digestion, voire les paralysies de la langue ou la léthargie (Hans, 2007).

➤ Les extraits organiques des racines sont avérés avoir certaines activités antibactériennes, et antioxydantes, ils sont aussi actifs contre les levures (Elazzouzi *et al.*, 2014 ; Vichitra *et al.*, 2013).

➤ L'extrait racinaire d'*Anacyclus pyrethrum* L inhibe l'acétylcholinestérase ce qui améliore la mémoire (Gupta *et al.*, 2014). Egalement, il est utilisé dans le traitement du diabète melitus (Azzi *et al.*, 2012).

➤ Les racines ont une légère odeur aromatique et un goût piquant, exciter remarquablement le flux de salive, ils stimulent les glandes salivaires, ils son considérées comme sialagogue (Selles *et al.*, 2012), et stimulent la sécrétion des hormones sexuelles LH, FSH, et la testostérone chez les males (Rad *et al.*, 2014).

➤ Les racines sont également utilisées en tant qu'insecticide et anti-mycose, leur infusion est utilisée en cas d'asthme, rhumes et dans les rhumatismes et névralgie (Selles *et al.*, 2012).

➤ Hussein *et al.* (2000) ont mis en évidence les effets inhibiteurs sur l'hépatite C (VHC) de quelques extraits méthanoïques et aqueux d'*Anacyclus pyrethrum* et d'autres plantes médicinales soudanaises.

➤ La fraction riche en polysaccharides obtenue à partir d'un extrait aqueux à chaud de la racine de *Anacyclus pyrethrum* a montré une activité immunostimulante chez des souris (Bendjeddou *et al.*, 2003).

6. les polysaccharides

6.1. Généralités

Les polysaccharides sont des polymères biologiques constitués d'un ou plusieurs types de molécules monosaccharidiques. Les polysaccharides constitués de mêmes types d'oses sont nommés les glycanes. Chaque polysaccharide est caractérisé par un degré de polymérisation bien déterminé et un type de liaison entre les monomères. Le glucose, le fructose, le galactose sont parmi les monomères constitutifs. Il existe aussi du mannose, de l'arabinose, du xylose et du rhamnose (Ayala *et al.*, 2008). Les polysaccharides sont présents chez tous les êtres vivants, dans les végétaux comme l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines, dans les animaux comme le glycogène et l'acide hyaluronique. La chitine existe aussi chez les insectes et les crustacés, et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme le xanthane, β -glucanes, les carraghénanes (Ruff, 2008).

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Ainsi, selon leur fonction biologique on distingue les polysaccharides de structure (cellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon) (Warrand, 2004). L'absence de la toxicité au niveau des polysaccharides est un aspect important pour leur utilisation médicale.

6.2. Activités biologiques des polysaccharides

Les poly et oligosaccharides représentent de véritables auxiliaires indispensables au bon fonctionnement de la vie quotidienne. Un intérêt grandissant concerne leurs applications comme activateurs biologiques.

➤ Effet des polysaccharides sur le système immunitaire

les polysaccharidiques extraits des plantes possèdent des activités biologiques sur le système du complément, les activités d'immunomodulation, d'immunostimulation, etc (Angone *et al.*, 2010).

➤ Les polysaccharides immunomodulateurs

Sont des polysaccharides capables de stimuler simultanément les différentes composantes de système immunitaire ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutique, notamment des propriétés antitumorales et anti-inflammatoires (Sánchez, 2006).

➤ Polysaccharides à activité gastroprotective

La protection de la muqueuse gastrique pourrait être due à la capacité du polysaccharide à augmenter la synthèse du mucus et / ou de sa capacité à se lier à la muqueuse de la surface et exercer un revêtement protecteur. La barrière de mucus est un facteur de protection important pour la muqueuse gastrique contre l'attaque aiguë, ce qui empêche la pénétration de l'agent nécrosant (Cordeiro *et al.*, 2011).

➤ Polysaccharides à activité anticoagulante

Quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (Héparine, Dermatane-sulfate, chondroïtine sulfate fucosylé et fucoïdane des algues) ont toutes une activité anticoagulante, due à leur interaction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation.

Leurs effets anticoagulants dépendent d'un modèle exact de substitution sulfurique. Une petite modification dans la structure conduit à une perte presque complète de l'activité anticoagulante (Mulloy *et al.*, 2000).

➤ Polysaccharides à activité anticancéreuse

De nombreuses études ont suggéré que les polysaccharides peuvent inhiber la croissance tumorale par des mécanismes communs comme la prévention de l'oncogénèse par la consommation orale de préparations actives; une activité anticancéreuse directe, telle que l'induction de l'apoptose des cellules tumorales, l'activité d'immunopotentialisation associée à une chimiothérapie et l'inhibition de la métastase tumorale (**Zong *et al.*, 2012**).

➤ L'activité hépatoprotéctrice des polysaccharides

Un effet hépatoprotecteur des polysaccharides de *B. rossica* peut être dû à des potentiels de défense antioxydante élevée, qui suppriment les réponses inflammatoires et l'apoptose des tissus du foie (**Quan *et al.*, 2013**).

➤ Activités antimicrobiennes

Les polysaccharides sont doués d'activités antimicrobiennes diverses comme l'activité antibactérienne, l'activité antiparasitaire et l'activité antivirale (**Krichen *et al.*, 2015 ; Aguilar-Briseno *et al.*, 2015**).

Etude
expérimentale

Chapitre I
matériel et
méthodes

5. Modèle biologique végétal

La plante *Anacyclus pyrethrum* a été cueillie dans la région de Sellaoua Announa dans la wilaya de Guelma (nord-est de l'Algérie) et était taxonomiquement authentifié par le Dr. Ali Zitouni (Université 8 Mai 1945 de Guelma, Algérie) (**Fig.19**).

Les racines de la plante ont été lavées à l'eau et rincées à l'éthanol pour être débarrassées de toutes les impuretés qui y adhèrent. Pour une bonne conservation des constituants actifs de la plante, les racines de cette dernière ont été séchées dans un endroit aéré, à l'ombre et à température ambiante. Il est primordial qu'elles soient bien sèches afin d'éviter tout risque de moisissure.

Après avoir attendu dix jours de séchage, un broyat de 300g a été conservé dans un flacon hermétique (**Fig.20**).



Figure 19: *Anacyclus pyrethrum* (prise personnelle).

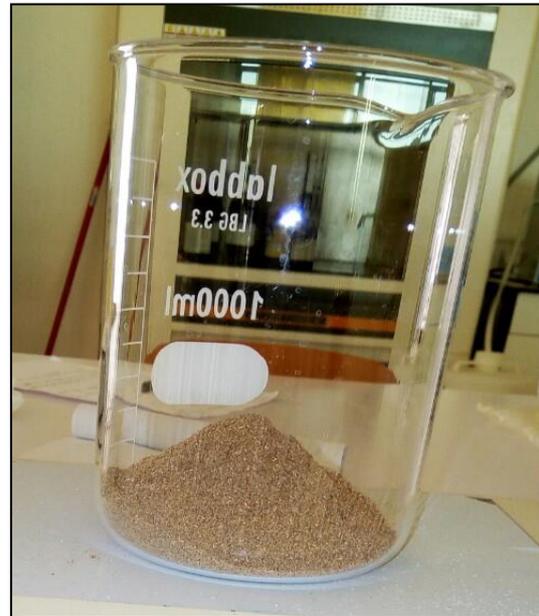


Figure 20: La poudre d'*Anacyclus pyrethrum* (prise personnelle).

➤ Extraction des polysaccharides à partir des racines

L'extraction des polysaccharides a été réalisée selon la méthode de **Bendjeddou et al.(2003)** avec quelques modifications.

300g de broyat de racine sont été mis dans de l'eau à raison de 1 g de poudre par 18 ml d'eau distillée. La suspension a été agitée et mise au bain marie à 95° C pendant 2 h 30 min. Après refroidissement, placée une nuit au réfrigérateur, centrifugée pendant 30 min à 6000 tr/min, on a récupéré le surnageant qui a été réduit au minimum (1/5) du volume par

évaporation sous pression réduite à 60°C, puis filtré pour éliminer tous les résidus. Les polysaccharides ont été précipités du filtrat par l'ajout de quatre volumes d'éthanol (95 %). Les matériaux précipités sont été recueillis par séchage.

Une déprotéinisation a été réalisée conformément au protocole Sevag. L'extrait brut de polysaccharides est dissous dans de l'eau distillée, et on ajoute (volume/volume) la solution réactif de sevag (1-butanol /chloroforme ; 1/4) (**Fig.21**). La solution obtenue a été gardée deux nuits au réfrigérateur puis le surnageant à été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. On a récupéré une poudre fine après précipitation et séchage à (4 volumes) d'éthanol 95 % (**He et al., 2016**). La préparation a été dissoute dans de l'eau distillée (1 g/50 ml), dialysée contre l'eau distillée pendant 72 h à 4°C (**Fig.22**). Les polysaccharides totaux ont été précipités par l'addition d'éthanol à quatre volumes pour l'obtention après séchage et tamisage d'une poudre très fine.



Figure 21: Technique de sevag
(prise personnelle).



Figure 22: Réalisation de dialyse des
polysaccharides (prise personnelle).

2. Modèle biologique animal

Notre échantillon expérimental consiste en des souris femelles blanches « *Mus musculus* » provenant de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger. Leur poids corporel varie entre 29 et 35 grammes. Les souris sont élevées dans des cages en polypropylène qui sont nettoyées régulièrement pour éviter toute contamination. Leur besoin alimentaire journalier est composé d'aliment riche en graine, du pain rassis et d'eau.

Après une période d'adaptation d'une semaine on a provoqué chez 11 souris une inflammation respiratoire par sciure de bois. Dix jours après, on a traité les souris allergiques par les différentes doses de polysaccharide d'*Anacyclus pyrethrum* (25, 50, 100 mg/kg) par voie intrapéritonéale.

➤ **Protocole expérimental**

Afin de réaliser la partie expérimentale de notre travail, nous avons établi un protocole présenté ci-dessous (Fig.23).

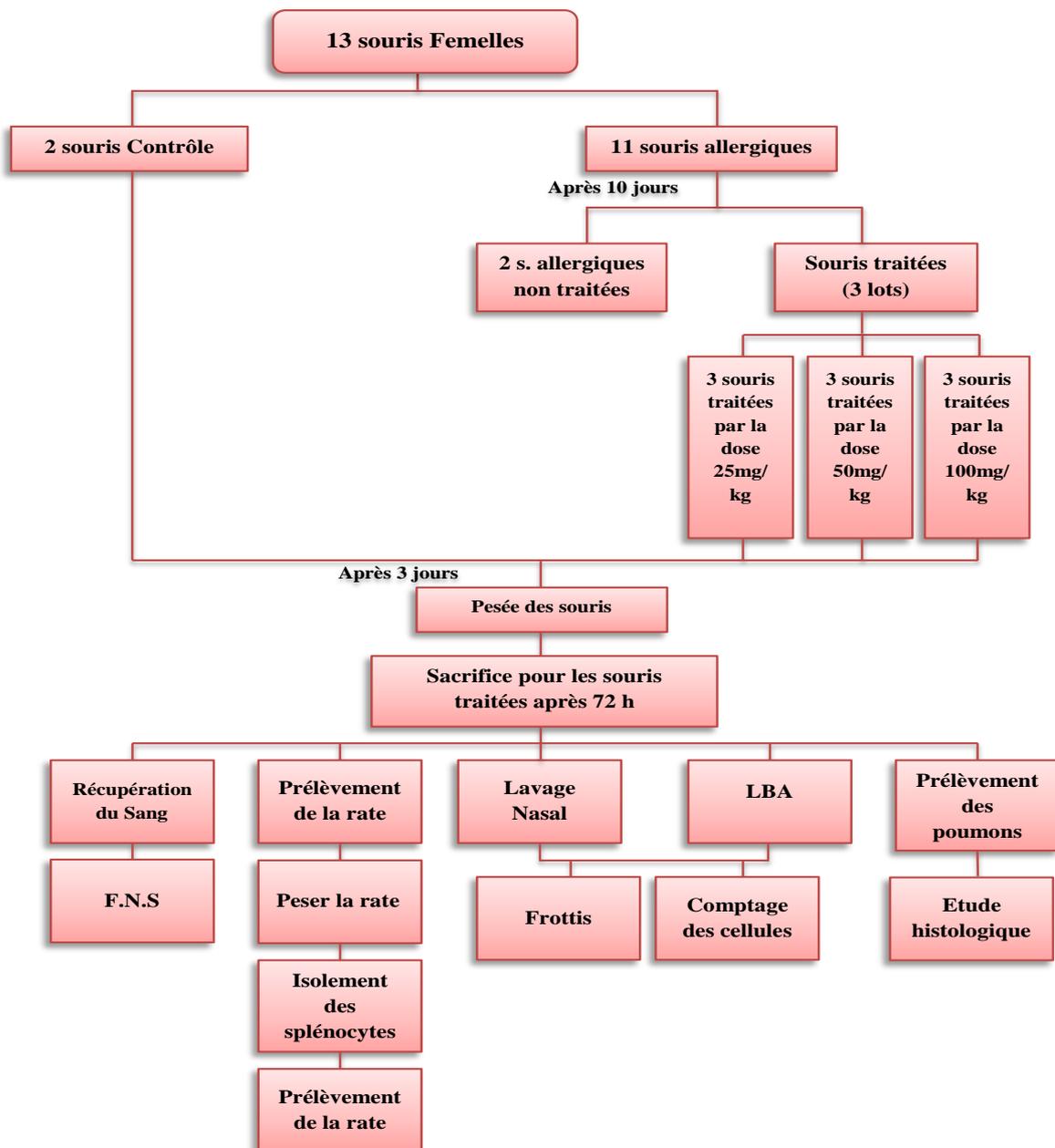


Figure 23: Schéma explicatif du protocole expérimental.

3. Etude *in vivo*

➤ Lavage nasal

Trois jours après le traitement par les polysaccharides à différentes doses mentionnées ci-dessus, les souris ont subi des instillations nasales de 1.5 ml de PBS à 37°C dans chaque narine à l'aide d'une seringue (**urbain *et al.*, 1994**). Le liquide récolté dans les deux cavités nasales a été centrifugé (800 g à 4°C pendant 15 minutes). Chaque culot a été suspendu dans 0.9ml de PBS. Nous avons ensuite dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de Trypan (voir annexe) avant de passer au comptage cellulaire au microscope avec un grossissement de 40X. Les résultats ont été exprimés en leucocytes par litre de liquide récolté (**Fig.24**).



Figure 24: Instillation nasale (prise personnelle).

➤ Lavage bronchoalvéolaire

Après le traitement et le sacrifice des souris, une seringue a été introduite dans le tube trachéal pour réaliser un lavage avec 0,5ml de PBS à 4°C afin de récolter le liquide broncho-alvéolaire. Après une centrifugation à 1500 rpm pendant 6 min, le surnageant a été éliminé et le culot obtenu a été suspendu dans 0,5 ml de PBS (**Li *et al.*, 2010**). Après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de Trypan, les cellules ont été comptées au microscope avec un grossissement de 40X. Les résultats ont été exprimés en cellules par litre de liquide récolté (**Fig.25**).



Figure 25: Instillation bronchoalvéolaire(prise personnelle).

➤ **Isolement des splénocytes**

La rate de l'animal est prélevée après son sacrifice, pesée puis placée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et débarrassée de la graisse. À l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (**Fig.26**). La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube et centrifugée pendant 3 minutes à 100 rpm pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant est récupéré puis centrifugé pendant 10 min à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 0.5ml de PBS et 4,5ml de solution de lyse (voir annexe) des globules rouges. Après une période d'incubation de 10 min, la suspension est centrifugée 10 min à 1500 rpm (**Daun et al., 1995 ; Ducan et al.,1995**). Cette centrifugation est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugé 10 min à 1500rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois. À la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Les splénocytes sont comptés après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de Trypan. Les résultats ont été exprimés en cellule par litre de liquide récolté.



Figure 26: Lacération de la rate (prise personnelle).

➤ **La numération cellulaire**

La suspension cellulaire de chaque liquide de lavage est mise dans des tubes séparés en raison de 100 µl, puis 900 µl de la solution de bleu de trypan sont ajoutés. Un comptage est effectué sur une cellule de malassez et les résultats sont exprimés en leucocytes par litre de liquide récolté.

- Le nombre des leucocytes par litre est calculé selon l'équation suivante :

$$N = (n / V) \times f$$

Avec : N: nombre de cellules par litres.
 n: nombre de cellules comptées.
 V: volume de comptage (litres).
 f: facteur de dilution.

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

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

➤ La formule leucocytaire sanguine

Suite à une décapitation partielle, le sang a été collecté dans des tubes à EDTA (Ethylène Diamine Tétracétique) pour une énumération automatique des différentes populations des globules blancs (**Fig.27**).



Figure 27: récupération du sang (prise personnelle).

➤ L'étude histologique des poumons

Après la dissection des animaux, les poumons ont été prélevés, conservés dans du formol (1%) et orientés vers un laboratoire spécialisé pour la réalisation des coupes histologiques.

4. Etude *in vitro*

Pour la réalisation de la culture cellulaire, le sang d'un patient allergique nous a été fournis par la clinique ORL orangerie de « Annaba ».

➤ Isolement des lymphocytes à partir du sang

Isoler les lymphocytes totaux selon la méthode de **Boyum.(1976)**. Le sang est prélevé sur citrate de sodium et dilué à la moitié avec le PBS stérile pH 7,4. 25ml du sang dilué est placé doucement sur 15ml d'Histopaque dans un tube conique. Après centrifugation à 2500 rpm pendant 30 minutes à la température ambiante, l'anneau des

cellules mononuclées (monocytes/lymphocytes) ou PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) formé à l'interface PBS-Ficoll est récupéré délicatement (**Fig.28**). Enfin, 3 lavages ont été effectués en ajoutant 10ml de PBS et en centrifugeant à 1100 tours par minute pendant 10 minutes

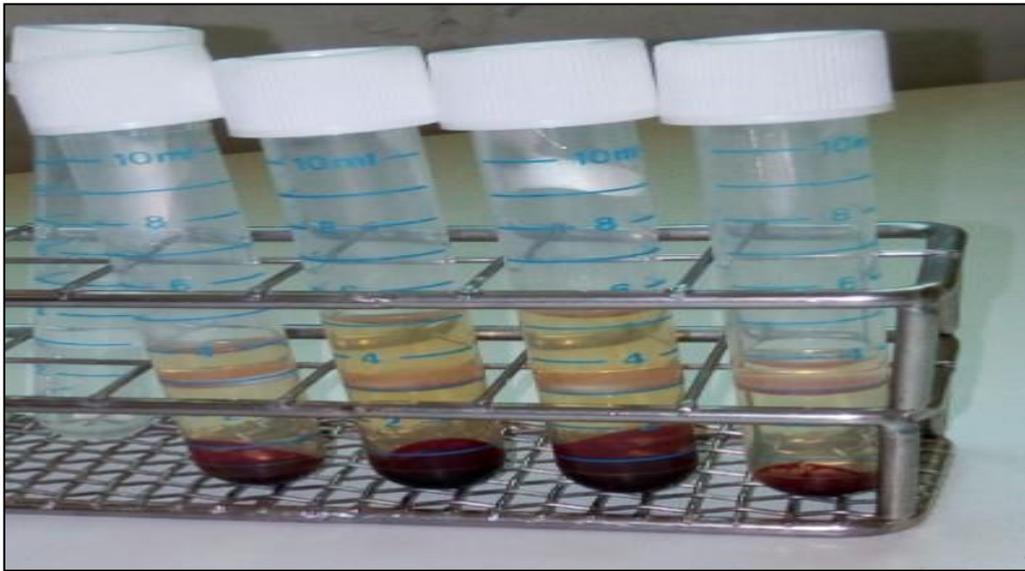


Figure 28: Isolement des cellules mononuclées à partir de sang (prise personnelle).

➤ Culture cellulaire

Des suspensions lymphocytaires ont été préparées à une concentration de 1×10^6 cells/ml en présence du milieu de culture RPMI 1640 complet contenant FCS 10%, Penicillium 100U/ml, Streptomycine 50 μ g/ml et Glutamine 2mM. Les cellules ont été réparties dans les plaques de 96 puits à l'ordre de 100 μ l de suspension cellulaire dans chaque puits (**Menck et al., 2014**). Puis, 100 μ l de solution de polysaccharides à des concentrations de 25, 50 et 100 μ g/ml ont été ajoutés à chaque puits et Incubés à 37°C pendant 72 heures (**Fig.29**).



Figure 29: préparation de plaque de culture (prise personnelle).

➤ Technique d'Elisa

Les suspensions de la culture cellulaire ont été centrifugées à 2000 g pendant 10 minutes pour éliminer les débris. Les surnageant obtenus ont été répartis à l'ordre de 50 μ l dans des puits appropriés de la plaque d'Elisa (**Fig.30**). 50 μ l du cocktail d'anticorps ont été ajoutés à chaque puits.

Après scellations de la plaque et incubation pendant 1 heure à température ambiante avec agitation, deux lavages ont été effectués en ajoutant à chaque fois 100 μ l de tampon de lavage. La plaque est renversée et séchée en la tapant sur papier absorbant.

100 μ l de substrat TMB sont ensuite ajoutés à chaque puits et incubés 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité. Enfin, 100 μ l de solution d'arrêt sont ajoutés dans chaque puits.

La mesure de la densité optique (DO) de chaque puits a été lue à 450 nm à l'aide d'un lecteur de plaque.



Figure 30: Technique d'Elisa (prise personnelle).

Chapitre II

Résultats et

Discussion

Résultats et discussion

1. Extraction des polysaccharides d'*Anacyclus pyrethrum*

Après que la plante médicinale *Anacyclus pyrethrum* a été cueillie dans la région de Sellawa Announa (Nord Est Algérien), les racines ont été nettoyées, séchées puis broyées. 300 g de poudre de racines d'*A.p.* a subi une extraction à l'eau chaude et précipitation à l'éthanol pour obtenir un extrait brut de 38 g avec un rendement de 12.66%.

L'extrait brut a subi une déprotéinisation par la méthode de Sevag, puis une dialyse contre l'eau distillée afin d'éliminer les petites molécules et les ions et obtenir après précipitation à l'éthanol, un extrait pur de polysaccharides totaux de 14.67 g avec un rendement de 4.89% (**Fig.31**).

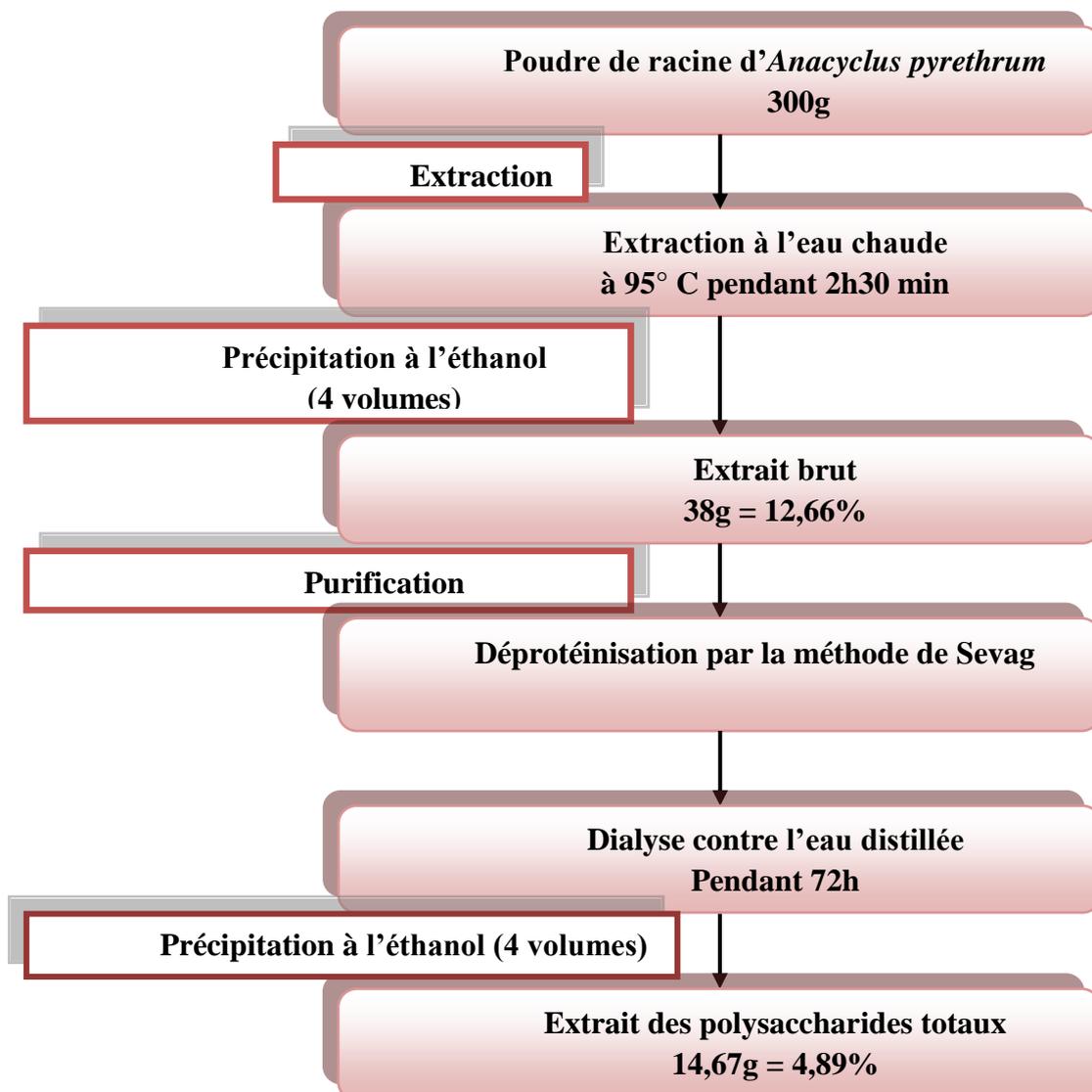


Figure 31 : Les étapes de l'extraction des polysaccharides totaux.

2. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le système immunitaire respiratoire

2.1. Effet sur la formule leucocytaire

L'FNS est l'analyse des composants du sang. Cet examen permet de quantifier les principaux éléments du sang et orienter les diagnostics. Le (Tab.2) et la (Fig.32) renseignent respectivement sur le nombre de leucocytes et le pourcentage des sous populations leucocytaires (lymphocytes, polynucléaires neutrophiles et monocytes). Le (Tab.2) révèle une nette augmentation des taux de leucocytes chez les souris allergiques et une diminution importante chez les souris traitées par l'extrait des polysaccharides à 25 et 100 mg/kg. La (Fig.32) indique une augmentation du taux des lymphocytes chez les souris allergiques et traitées par les différentes doses. On a observé une diminution considérable du taux des monocytes chez les souris allergiques et traitées à 25 et 50 mg/kg et une augmentation cellulaire chez les souris traitées à 100 mg/kg. Par contre une nette diminution du taux des neutrophiles chez les souris allergiques et traitées à différentes doses par rapport à la souris saine est enregistrée.

Tableau 2 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre de leucocytes

Lots	Souris saine	Souris allergique	Souris traitée 100mg/kg	Souris traitée 50mg/kg	Souris traitée 25mg/kg
Nombre de leucocytes x 10 ³ µl	4.04	8.09	1.16	5.85	3.33

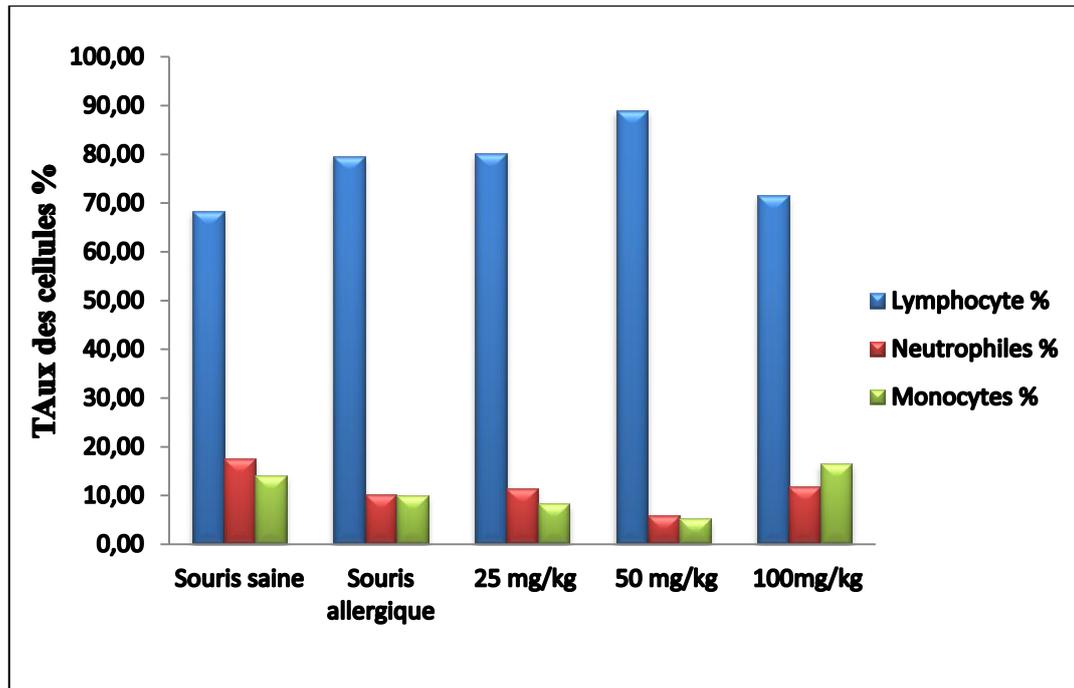


Figure 32 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux des sous populations leucocytaires.

Après l'analyse des résultats de la Formule Numérique Sanguine (FNS) on a constaté :

L'augmentation des leucocytes chez les souris allergiques est due à une leucocytose qui se traduit par une production accrue des leucocytes à partir de la moelle osseuse d'une part et la libération des leucocytes attachés aux vaisseaux sanguins d'autre part.

L'augmentation des lymphocytes est peut être due à l'intervention des cellules dans l'immunité spécifique d'une part ou par la présence massive des cellules T régulatrices d'autre part. Ces lymphocytes vont migrer ensuite au site infectieux.

En outre, chez les souris allergiques et traitées à différentes doses nous avons observé une diminution remarquable des neutrophiles par rapport au témoin sain. Ceci est peut être dû au recrutement accru des neutrophiles du sang vers le site inflammatoire, puisque se sont les premières cellules à migrer. Ce recrutement accru des neutrophiles, lors d'une réaction inflammatoire, a été observé dans d'autres études. Par exemple dans le modèle murin de présensibilisation à l'ovalbumine suivie d'une instillation intranasale de cet allergène, une réponse inflammatoire est observée et les cellules recrutées dans les voies respiratoires sont presque exclusivement des neutrophiles. Un autre exemple de la participation des neutrophiles à une réaction allergique est le modèle murin de dermatite atopique. L'application d'isothiocyanate de fluorescéine sur l'oreille de souris

présensibilisées à cet allergène déclenche un recrutement cutané important de neutrophile. **(Halbwachs-Mecarelli, 2004).**

Maintenant en comparaison avec la souris allergique, on perçoit une augmentation visible des neutrophiles chez les souris traitées par 100 mg/ kg qui peut être traduite par une production accrue des neutrophiles ou par l'inhibition de la migration. Tout cela ne peut être confirmé que par les résultats des coupes histologiques.

On perçoit une diminution des monocytes chez les souris traitées à 25 et 50 mg/kg qui peut être expliquée par l'absence de production ou par une forte migration de ces dernières. Le recrutement au site inflammatoire concerne également les monocytes, les éosinophiles et les lymphocytes **(Janeway et al., 2003).**

Toutefois une augmentation des monocytes est observée chez les souris traitées à 100mg par rapport au témoin (souris saine), relative à une réponse inflammatoire allergique donc il ya une stimulation des organes centraux pour produire les monocytes qui vont migrer vers le site infectieux. L'augmentation du nombre de monocytes comparé au témoin sain confirme qu'il y avait une production de monocytes puis migration puis inhibition de cette dernière.

2.2. Effet sur le liquide nasal

Les résultats de la **(Fig.33)** montrent une augmentation importante des cellules leucocytaires du liquide nasal après une sensibilisation par la sciure de bois chez la souris allergique. Une diminution du nombre de cellules est observée chez la souris traitée à 100 mg/kg. Toutefois, une augmentation importante est constatée chez les souris traitées à 25 et 50 mg/kg d'extrait de polysaccharides d'*A.p.* avec un taux de viabilité de 90.6%.

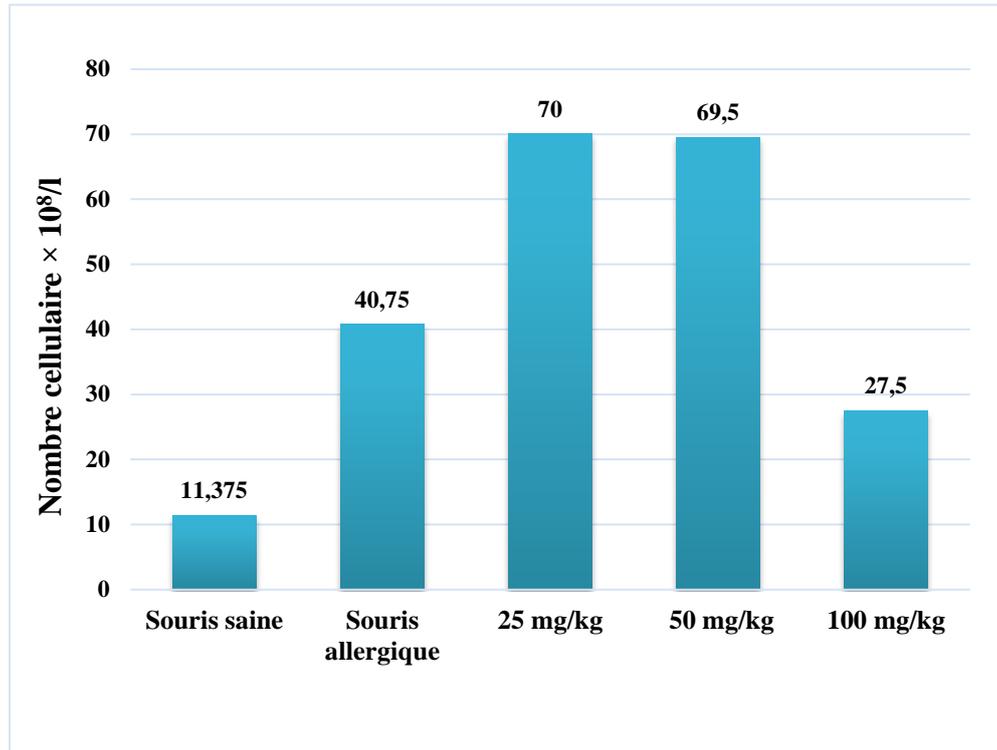


Figure 33 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre des cellules du liquide nasal.

2.3. Effet sur le liquide broncho-alvéolaire

Une augmentation cellulaire est observée chez la souris allergique par rapport à la souris saine. Les résultats des souris traitées montrent une augmentation du nombre de leucocytes chez les souris traitées à 25 et 50 mg/kg avec des valeurs beaucoup plus élevées chez les souris traitées à 50 mg/kg. Cependant, une diminution du nombre de leucocytes est observée chez les souris traitées à 100mg/kg (**Fig.34**) avec un taux de viabilité de 86.9%.

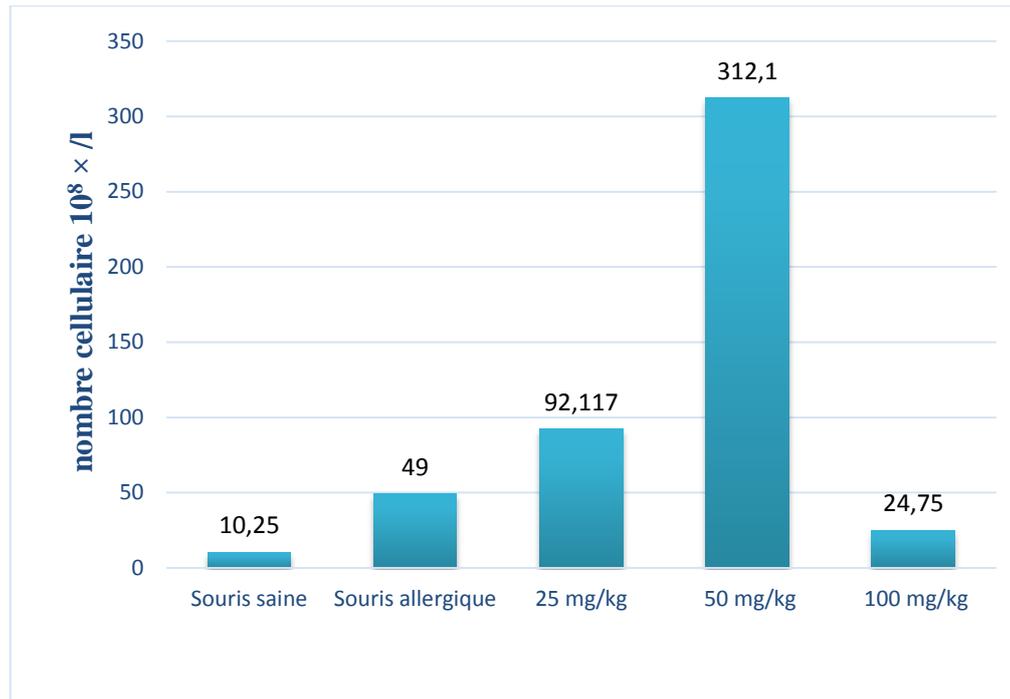


Figure 34 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre des cellules du LBA.

D'après les résultats du lavage nasal et LBA qui se traduisent par une augmentation du taux des cellules chez les souris allergiques est peut être due à la prolifération des cellules immunitaires. Toutefois une augmentation importante est constatée chez les souris traitées à 25 et 50 mg/kg. Ceci peut être expliqué par l'augmentation des cellules T régulatrices qui ont pour objectif de contrôler la réponse immunitaire afin qu'il y ait une réponse adéquate. Des études ont démontré l'importance de lymphocytes T régulateurs dans la prévention ou la guérison des réactions des pathologies inflammatoires allergiques. Il a été montré récemment que les lymphocytes T dits régulateurs (Treg), producteur d'IL-10 et/ou de TGF-beta et inducteurs de tolérance étaient déficitaires chez les sujets allergiques. De plus, ces lymphocytes augmentent lors de l'immunothérapie spécifique. (Mamessier *et al.*, 2005). Une diminution des cellules chez les souris traitées à 100 mg/kg est peut être traduite par une réponse positive, qui a contrôlé la réaction inflammatoire dépassant la régulation ou à l'absence d'une réponse immunitaire. Cela ne peut être confirmé que par les résultats des coupes histologiques.

2.4. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le poids de la rate

Les résultats de la (Fig.35) ci-dessous, montrent une augmentation du poids de la rate de la souris allergique, ainsi que des souris traitées à différentes doses par rapport à la souris saine.

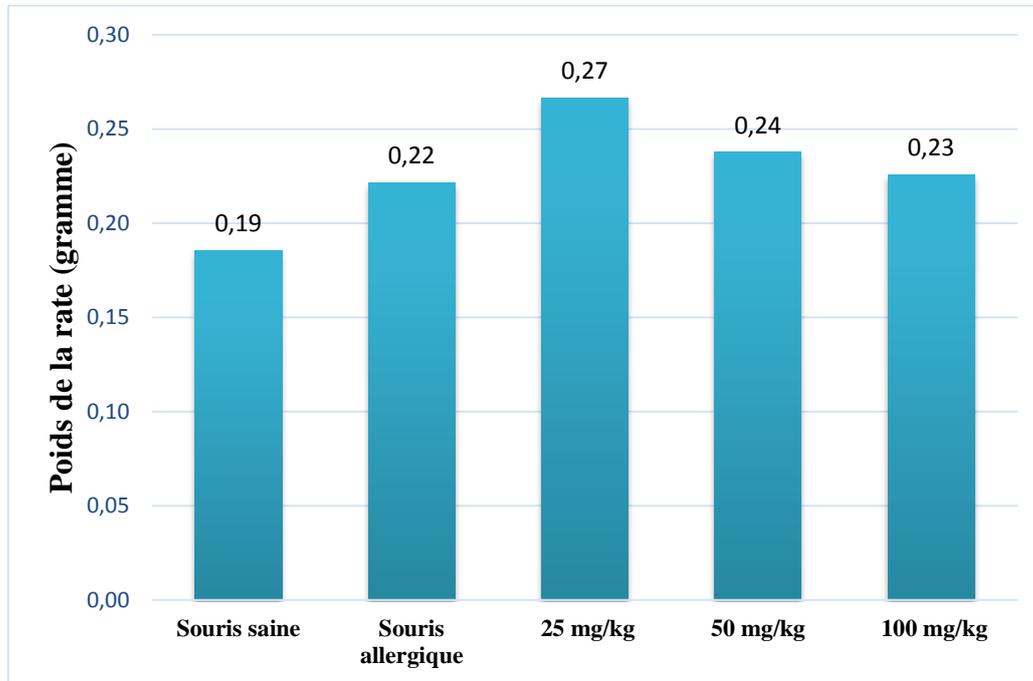


Figure 35 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le poids de la rate.

2.5. Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux de splénocytes

La (Fig. 36) montre une augmentation des cellules spléniques chez la souris allergique, ainsi que chez les souris traitées à 25, 50 et 100 mg/kg, avec une augmentation considérable chez la souris traitées à 50 mg/kg, et un taux de viabilité de 87.03%.

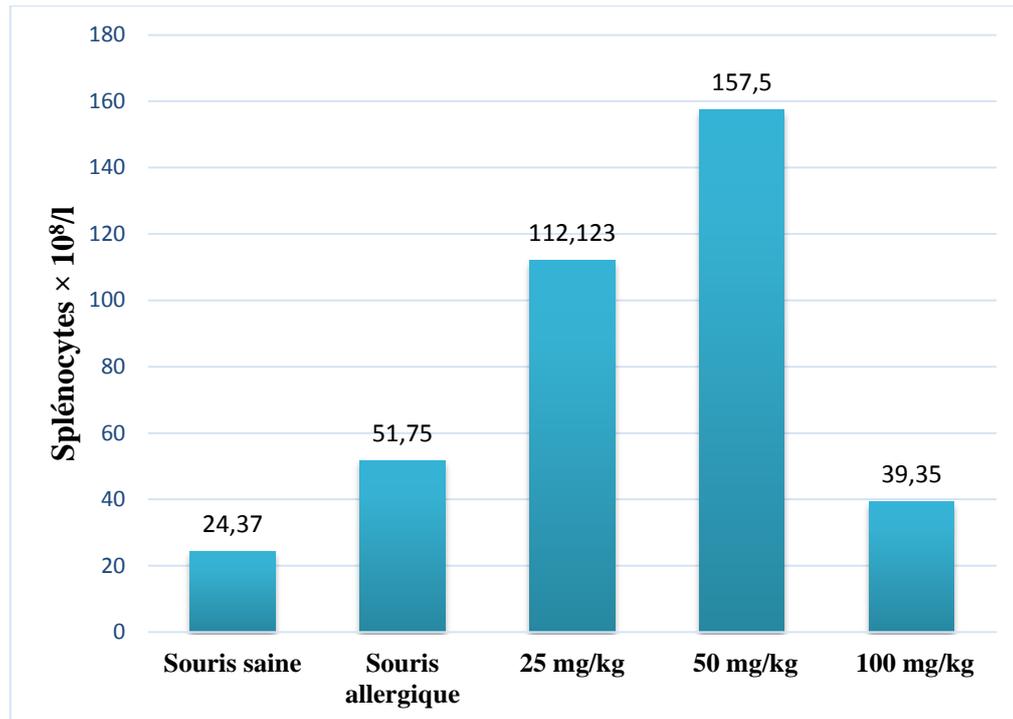


Figure 36 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le nombre de splénocytes.

L'augmentation des splénocytes renseigne sur une activité de prolifération de toutes les cellules lymphocytaires y compris les cellules T régulatrices dans la rate « la rate est un organe lymphoïde secondaire riche en cellules T et B ». Les lymphocytes matures ayant rencontré l'antigène spécifique, s'activent, se divisent puis se différencient pour obtenir un large spectre de cellules lymphocytaires y compris les cellules T régulatrices d'où la différence de poids entre les souris allergiques et les souris traitées par les polysaccharides qui ont des propriétés immunomodulatrices. Des publications scientifiques ont révélé que le polysaccharide extrait d'*Anacyclus pyretrum* et *Alpinia galanga* a nettement amélioré la prolifération des cellules murines de la rate (**Bendjeddou et al., 2003**).

2.6. Effet de la sensibilisation sur les poumons

L'aspect et la couleur des poumons, à l'œil nu, des souris traitées à différentes doses est similaire à l'apparence de ceux des témoins (souris saines) avec un peu plus de rougeur chez les souris traitées à 25 mg/kg. Quand aux poumons des souris allergiques leur aspect semble avoir changé devenant de couleur grise en étant tachetés (**Fig. 37**).

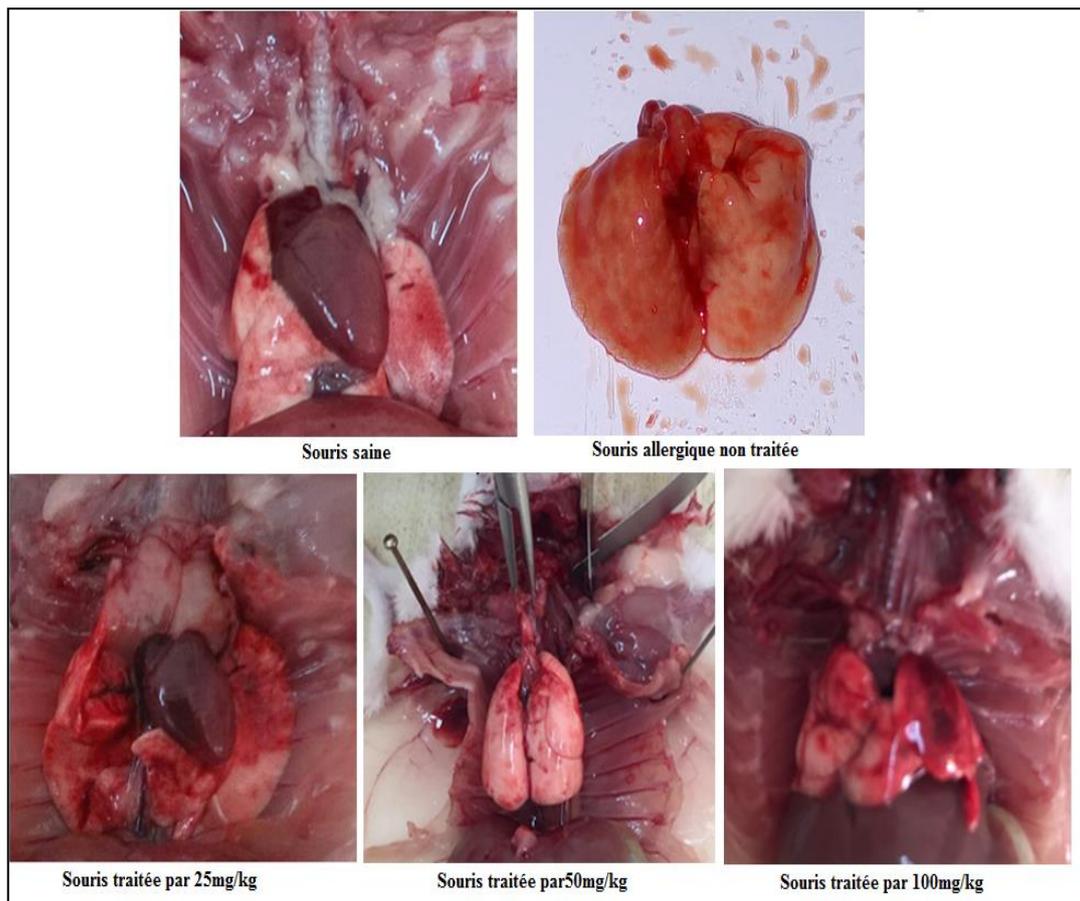


Figure 37 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur l'aspect des poumons.

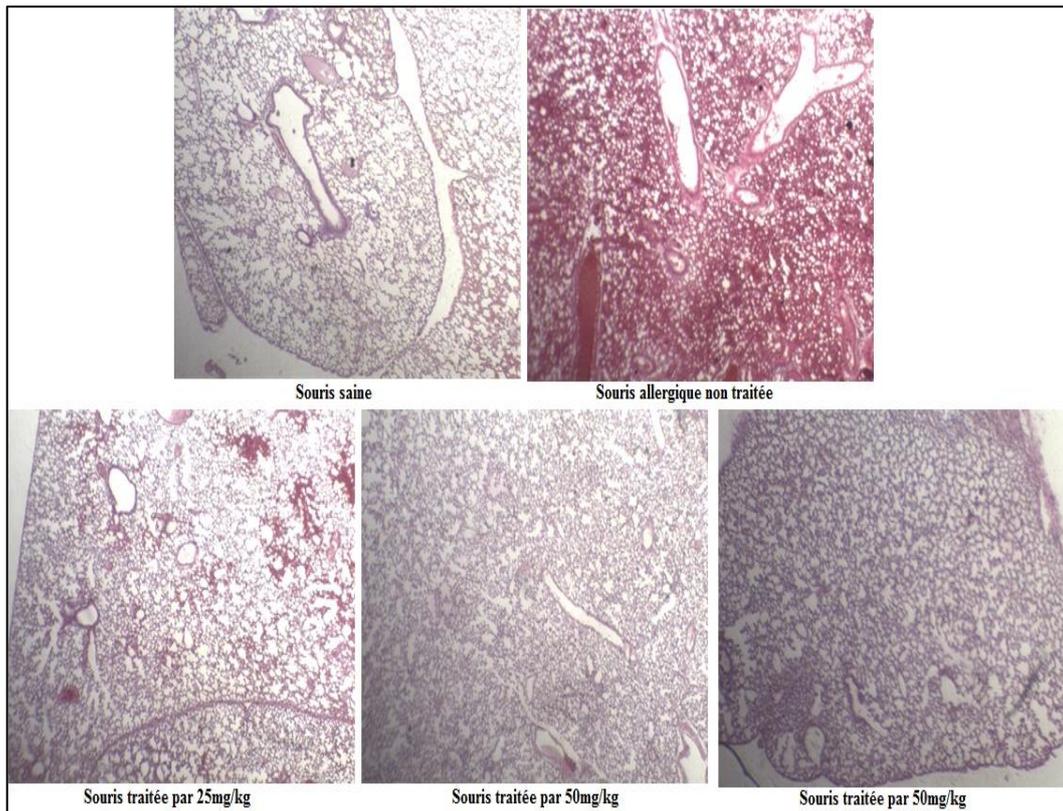


Figure 38 : L'étude histologique des poumons des souris saines et traitées par l'extrait polysaccharidique (Grossissement x 10).

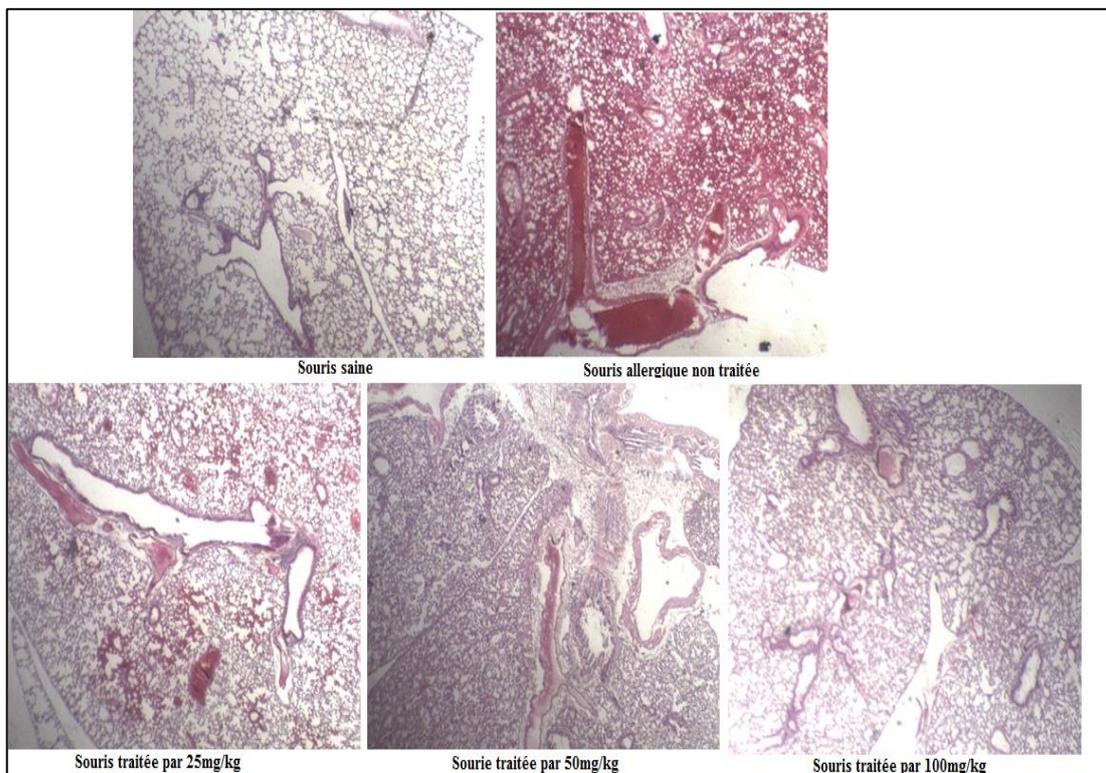


Figure 39 : L'étude histologique des poumons des souris saines et traitées par l'extrait polysaccharidique (Grossissement x 40).

Concernant les poumons sains, l'étude microscopique a montré un parenchyme pulmonaire alvéolaire de morphologie et de structure normale. Les lumières alvéolaires sont tapissées par des cellules pneumocytaires régulières. Des parois bronchiques sont identifiées, bordées par un épithélium pseudostratifié de type respiratoire.

Pour les poumons allergiques, les coupes obtenues ont montré un parenchyme pulmonaire qui présente de l'altération et des modifications histologiques. Les alvéoles sont par places distendus, comportant une légère hyperplasie pneumocytaire réactionnelle et renferment de rares histiocytes macrophages. Au niveau du tissu interstitiel, il existe une importante congestion vasculaire faite de vaisseaux à paroi épaissie et une lumière gorgée d'hématie, associée à une inondation hémorragique. Il s'y associe un discret infiltrat lymphocytaire.

Pour les poumons des souris traitées par la dose de 25 mg/kg d'extrait de polysaccharide d'*A.p*, les altérations du parenchyme pulmonaire persistent mais elles sont à minima. Les phénomènes congestifs et hémorragiques sont moins étendus et le dommage alvéolaire est moins important.

Concernant, les poumons traités à 50 mg/kg et 100 mg/kg, l'aspect histologique se ressemble. Le parenchyme est presque à la limite de la normale et montre uniquement de discrètes lésions d'alvéolite interstitielle avec un discret infiltrat lymphocytaire réalisant de rares renforcements nodulaires (**Fig.38**) (**Fig.39**).

Ce constat peut être expliqué par l'installation d'une réponse immunitaire adéquate chez les souris traitées par l'extrait polysaccharidique d'*A.p* aux doses 25, 50 et 100 mg/kg. Cela confirme que l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* est un composant immunomodulateur qui agit pour éliminer l'agent pathogène tout en régulant la réaction inflammatoire allergique afin d'éviter toute altération de l'histologie des poumons et ou bien contribuer au remodelage des tissus endommagés par l'inflammation. Une étude a démontré l'importance des propriétés immunomodulatrices et immunostimulantes des polysaccharides.

3. Effet de l'extrait polysaccharidique sur la production des IgE totaux

Les résultats montrent une augmentation du taux des IgE totaux produits par les lymphocytes en culture issus des patients allergiques par ceux issus des témoins sains. Une diminution est observée suite au traitement des lymphocytes en culture issus des patients allergiques, par l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum* à différentes doses à

savoir 25, 50 et 100 mg/kg. Toutefois, le taux chez les traités reste plus élevé que celui du témoin sain (**Fig.40**).

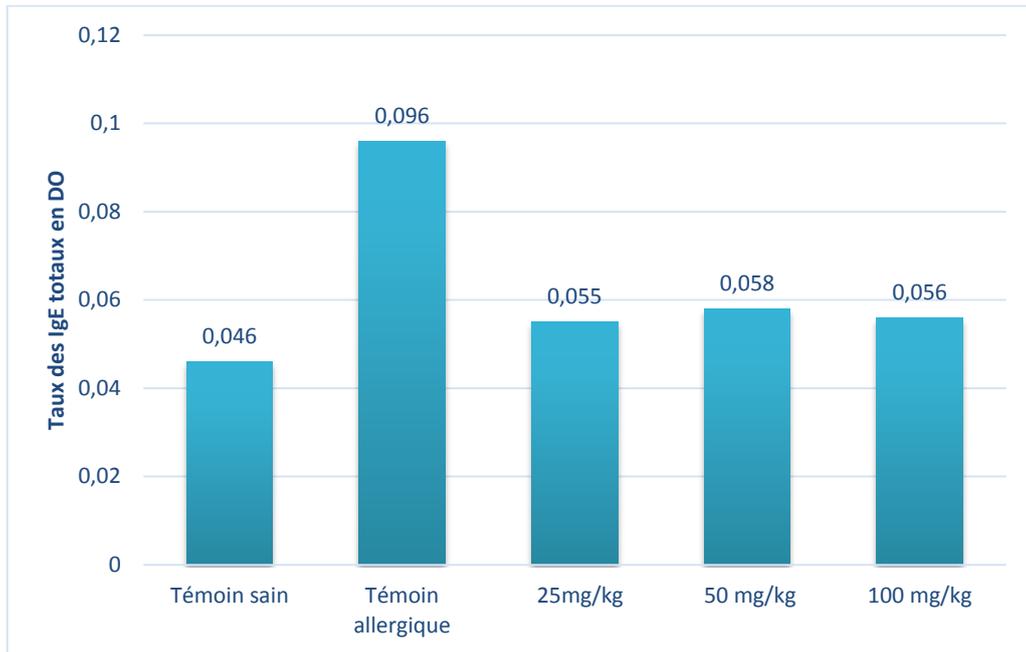


Figure 40 : Effet de l'extrait polysaccharidique sur le taux des IgE totaux.

La diminution des IgE est due à la présence des cellules régulatrices qui a inhibé la production accrue d'anticorps sous l'effet des polysaccharides qui ont la propriété immunomodulatrice . Il n'ya pas de différence significative de la diminution des IgE totaux entre les différentes doses 25, 50 et 100 mg/kg, mais elle réside entre les traités par les polysaccharides et le témoin allergique.

Chapitre III
Conclusion et
perspective

Conclusion et perspectives

Malgré le développement de la thérapie de synthèse, l'industrie pharmaceutique se tourne de nouveau vers le monde végétal en reprenant la pharmacopée traditionnelle et ce grâce aux propriétés thérapeutiques et aux principes actifs découverts chez les plantes médicinales.

Par ailleurs, le regain d'intérêt pour la glycobiochimie a montré que les polysaccharides (composants bioactifs des végétaux) présentent des potentialités thérapeutiques prometteuses dans la lutte contre de nombreuses maladies.

Dans ce contexte, le but de notre étude a porté sur l'extraction de polysaccharides provenant d'une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle en Algérie: *Anacyclus perythrum*, et l'étude de leur effet sur la réaction inflammatoire allergique chez les souris.

D'après les résultats obtenus, il s'est révélé que l'extrait de polysaccharides a un effet immunostimulant et immunomodulateur sur le système immunitaire respiratoire qui se traduit par l'augmentation de la production et la prolifération des cellules immunitaires, amplification des cellules régulatrices qui ont pour objectif de contrôler la réaction inflammatoire.

Notre étude a apporté de nouveaux éléments concernant l'effet anti-inflammatoire des polysaccharides extraits d'*Anacyclus perythrum L* qui sont loin d'avoir révélé tous leurs secrets. Des études plus approfondies peuvent être lancées pour des éventuelles perspectives de recherche afin de :

- Analyser la structure de ces polysaccharides afin de déterminer la relation structure/activité.
- Déterminer les molécules sur lesquelles les polysaccharides agissent en se basant sur les interleukines anti- inflammatoires et pro inflammatoires.
- Déterminer les sous populations cellulaires ciblées par ces molécules bioactives afin de comprendre les mécanismes immunitaires impliqués dans la stimulation et la régulation de l'inflammation.

Résumé

Résumé

L'allergie est le mal du siècle rien ne semble l'arrêter. Toute fois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de nouvelles perspectives. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît.

Notre présent travail consiste à mettre en évidence l'effet de l'extrait de polysaccharides d'*Anacyclus pyrethrum* à différentes doses 25, 50 et 100 mg/kg sur la réaction inflammatoire allergique en utilisant un model murin *in vivo* et le sang humain allergique *in vitro*.

Cette étude a démontré une augmentation des leucocytes et des lymphocytes et un recrutement accru des polynucléaires neutrophiles indiquant une migration vers le site inflammatoire, une augmentation des cellules T régulatrices dans le but de contrôler la réaction inflammatoire et une diminution des IgE totaux sous l'effet des polysaccharides à différentes doses en particulier la dose 50mg/kg. Ces résultats immunologiques ont été appuyés par l'analyse des coupes histologiques qui a confirmé que l'extrait polysaccharide a joué un rôle immunomodulateur dans le but d'éliminer l'agent pathogène tout en régulant la réaction inflammatoire allergique et en protégeant l'aspect histologique des poumons.

Ce modeste travail peut contribuer à la recherche d'un remède pour l'allergie respiratoire, et nous espérons qu'il y aura une continuité dans ce domaine afin d'arriver à trouver des médicaments anti-allergiques efficaces sans effets secondaires.

Mots clés : *Anacyclus pyrethrum*, polysaccharide, phytothérapie, réaction inflammatoire allergique, immunomodulateur.

Abstract

Allergy is the evil of the century nothing seems to stop it. However, despite the enormous progress made by modern medicine, phytotherapy offers new perspectives. Today, herbal treatments are back at the forefront, because the effectiveness of drugs such as antibiotics (seen as the near-universal solution to serious infections) is decreasing.

Our present work consists in demonstrating the effect of the polysaccharides extracted from *Anacyclus pyrethrum* at different doses 25, 50 and 100 mg / kg on the allergic inflammatory reaction using an *in vivo* murine model and *in vitro* human allergic blood. This study demonstrated an increase in leukocytes and lymphocytes and increased recruitment of neutrophils indicating their migration to the inflammatory site, an increase in regulatory T cells to control the inflammatory response and a decrease in total IgE due to the polysaccharide treatment at different doses in particular the dose of 50mg /kg. These immunological results were supported by histological section analysis which confirmed that the polysaccharide extract has played an immunomodulatory role in order to eliminate the pathogen while controlling the allergic inflammatory reaction and protecting the histological aspect of lungs.

This modest work can contribute to the search for a cure for respiratory allergy, and we hope that there will be continuity in this area in order to find effective anti-allergic medications without side effects.

Key words: *Anacyclus pyrethrum*, polysaccharide, phytotherapy, allergic inflammatory reaction, immunomodulator.

تعتبر الحساسية مرض هذا القرن ولا شيء يقف ضد انتشاره. فعلى الرغم من التقدم الهائل الذي أحرزه الطب الحديث إلا أن التداولي بالأعشاب قد يوفر أفقا جديدة. اليوم فالمعالجة بالنباتات تعود للواجهة خاصة وأن فعالية الأدوية مثل المضادات الحيوية (والتي تعتبر الحل الشامل تقريبا للإصابة بالأمراض الخطيرة) في تناقص.

وعليه اهتمت دراستنا الحالية بتسليط الضوء على تأثير مستخلص متعددات السكاكر المستخلصة من نبات *Anacyclus pyrethrum* المستخدمة بجرعات مختلفة 25، 50 و 100 ملغ/كغ على الاستجابة الالتهابية *in vivo* عند الفئران و *in vitro* على الخلايا المناعية لدم الانسان المصاب بالحساسية.

وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة زيادة عدد الكريات البيضاء والخلايا اللمفاوية وزيادة توظيف الخلايا متعددة النوى المتعادلة بهجرتها إلى موقع اللالتهابات كما لوحظت زيادة في عدد الخلايا T المنظمة حتى تشرف على مراقبة وتنظيم العملية الالتهابية. بالإضافة الى ذلك، عمل مستخلص متعددات السكاكر بمختلف الجرعات المستخدمة لاسيما جرعة 50مغ/ كغ على انخفاض انتاج IgE الكلي. ودعمت هذه النتائج بالدراسة النسيجية والتي أكدت أن مستخلص متعددات السكاكر لعب دورا معدلا للمناعة إذ عمل على القضاء على مسببات المرض مع تنظيم ومراقبة الاستجابة الالتهابية و حماية التركيبة النسيجية للرنئين.

ان هذا العمل المتواضع قد يساهم في البحث عن علاج للحساسية على مستوى الجهاز التنفسي ونأمل أن تكون هناك استمرارية في هذا المجال لإيجاد عقاقير فعالة ضد الحساسية دون أن تكون لها آثار جانبية.

الكلمات المفاتيح: *Anacyclus pyrethrum*، متعددات السكاكر ، المعالجة بالأعشاب، الاستجابة الالتهابية للحساسية ، التعديل المناعي.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

Auhman A. (1995): Contribution à l'étude chimique et pharmacologique d'*Anacyclus pyrethrum* DC. [Thèse de Doctorat en chimie organique]. Université Cadi Ayyad, (Marrakech), 241p.

Aguilar-briseno JA.; Cruz-suarez LE.; Sassi JF.; Ricque-marie D.; Zapata-benavides P.; Mendoza-Gamboa E.; Rodriguez-Padilla C. et Trejo-avila LM. (2015): Sulphated Polysaccharides from *ulva clathrata* and *cladosiphon okamuranus* Seaweeds both Inhibit Viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion. *Marine Drugs*, 13: 697-712.

Andréjak C.; Roger PA.; Monconduit P. et Jounieaux V. (2016) : Place de la ventilation non invasive dans l'asthme aigu grave. *Réanimation*, 25(1) : 107-116.

Angone SA.; Nguema-Ona E. et Driouich A. (2010) : La thérapie par les plantes en Afrique (activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale). *Phytothérapie*, 8(4), 223–230.

Azzi R.; Djaziri R.; Lahfa F.; Sekkal FZ.; Benmehdi H. et Belkacem N. (2012): Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Medicinal Plants Research*, 6(10): 2041-2050.

Ayala GG.; Malinconico M. et Laurienzo P. (2008): Marine Derived Polysaccharides for Biomedical Applications: Chemical Modification Approaches. *Molecules*, 13 (9) : 2069-2106.

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

Adama D.; Perotina JM.; Lebargyb B.; Birembauta P.; Desléea C. et Corauxa C. (2014): Régénération de l'épithélium des voies aériennes. *Revue des Maladies Respiratoires*, 31(4) : 295-299.

Bernard et Batteux . (2003) : Immunopathologie et réactions inflammatoires. De boeck, 297p.

Références Bibliographiques

Boyum A. (1976): Isolation of Lymphocytes, Granulocytes and Macrophages. Scandinavian Journal of Immunology, 5: 9-15.

Bochner BS. et Schleimer RP. (2001): Mast cells, basophils, and eosinophils (distinct but overlapping pathways for recruitment). Immunological Reviews, 179: 5-15.

Bellou A.; Schaub B.; Ting L. et Finn PW. (2003): Toll receptors modulate allergic responses (interaction with dendritic cells, T cells and mast cells). Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology, 3(6):487- 494.

Babina M.; Guhl S.; Starke A.; Kirchof L.; Zuberbier T. et Henz BM. (2004): Comparative cytokine profile of human skin mast cells from two compartments strong resemblance with monocytes at baseline but induction of IL-5 by IL-4 priming. Journal of Leukocyte Biology, 75(2): 244-252.

Bleck, B.; Tse DB.; Jaspers I.; Curotto de Lafaille MA. et Reibman J. (2006): Diesel exhaust particle exposed human bronchial epithelial cells induce dendritic cell maturation. The Journal of Immunology, 176(12): 7431-7437.

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

Barrett NA.; Maekawa A.; Rahman OM.; Austen KF. et Kanaoka Y. (2009): Dectin-2 recognition of house dust mite triggers cysteinyl leukotriene generation by dendritic cells. Journal of Immunology, 182(2): 1119-1128.

Barnes PJ. (2008): Role of GATA-3 in allergic diseases. Current Molecular Medicine, 8(5): 330-334.

Belon JP. (2009): Le rhume .Conseils À L'officine. 7^eéd. Elsevier.France, 465 p.

Chapel H.; HaeneyM.; Misbah S. et Snowden N. (2004) : Immunologie Clinique (De La Théorie À La Pratique Avec Cas Cliniques). 4^e éd. De boeck. Bruxelles, 358p.

Cordier JF. (2005) : Bronchiolites. EMC-Pneumologie, 2(4) : 204–218.

Cottrez F et Groux H. (2004): Specialization in tolerance: innate CD (4+) CD (25+) versus acquired TR1 and TH3 regulatory T cells. Transplantation, 77(1):12-15.

Coujard R.; Poirier J et. Racadot J. (1980) : Précis D'histologie Humaine. Masson. Paris, 739 p.

Cordeiro LMC.; Reinhardt VF.; Baggio C.; Werner MF.; Burci LM.; Sasaki GL. et Iacomini M. (2011): Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity. *Elsivier*, 130 (4): 937–944.

Castro N et Molina JM. (2011) : Infection respiratoire bases de l'adulte. Elsevier Masson, France, 6-003-D-10,1-18.

Chang HC.; Sehra SR.; Goswami R.; Yao W.; Yu Q.; Stritesky GL.; Jabeen R.; McKinley C.; Ahyi AN.; Han L.; Nguyen ET.; Robertson MJ.; Perumal NB.; Tepper RS.; Nutt SL. et Kaplan MH .(2010): The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation. *Nature Immunology*, 11(6): 527-534.

Chen Z et O'SheaJJ. (2008): Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells. *Immunologic Research*, 41(2):87-102.

Cezmi A et Akdis MD. (2011): Mécanismes d'immunothérapie spécifique aux allergènes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(1):18-27.

Dutau G.; Brémon F.; Juchet A.; Rancé F. et Nouilhan P. (1994) : De la bronchiolite à l'asthme. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 34(1) : 28-32.

Daun JR.; shepherd DM. et Noelle RJ. (1995): physical interactions and early signaling between helper T lymphocytes and B lymphocytes. In **Burleson GR.; Dean J H. et Munson AE.** *Methods in Immunotoxicology.* Edition Wiley-Liss Inc. New-York, pp 469-481.

Duhen T.; Geiger R.; Jarrossay D.; Lanzavecchia A. et Sallusto F. (2009): Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nature Immunologie*, 10(8):857-863.

Ducan DD.; Lawrence DA.; Burleson GR.; Dean JH. et Munson AE. (1995): T cells and Cloned and transformed T-Cells Lines to Assess Immune Function. In **Burleson GR.;**

Dean JH. et Munson AE. Methodes in immunotoxocologie. Edition Wiley Liss Inc. New York (chichester ,Toronto,Singapore),1: pp483-505.

Dutau G. (2001): Complications de la bronchiolite. Archives de Pédiatrie, 8(1) : 58-69.

DeFranco AL. (1995): Transmembrane signaling by antigen receptors of B and T lymphocytes. Current Opinion in Cell Biology, 7(2) : 163-175.

Dardalhon V.; Awasthi A .; Kwon H.; Galileos G.; GaoW.; SobelR A .; Mitsdoerffer M.; StromTB. ; ElyamanTB.; Khoury IC.; Oukka M. Et Kuchroo VK. (2008): IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells. Nature Immunology, 9(12): 1347-1355.

Delespesse G. (2012): Hypersensibilité liée aux immunoglobulines E. In **Chatenoud L. et Bach JF.** Immunologie (De La Biologie À La Clinique).6^e éd. Lavoisier. Paris, 290 pp.

de Heer HJ, Hammad H, Soullié T, Hijdra D, Vos N, Willart MA, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. (2004): Essential role of lung plasmacytoid dendritic cells in preventing asthmatic reactions to harmless inhaled antigen. The Journal of Experimental Medicine, 200(1): 89-98.

Deslee G.; Hammad H.; Rataczak C.; Just N.; Tillie-Leblond I.; Lebargy F.; Pestel J. et Tonnel AB. (2004): Implication des cellules dendritiques en pathologie respiratoire allergique. Revue des maladies respiratoires, 21(3): 549-555.

Erpenbeck VJ.; Hohlfeld JK.; Discher M.; Krentel H.; Hagenberg A.; Braun A. et Krug N. (2003): Increased expression of interleukin-9 messenger RNA after segmental allergen challenge in allergic asthmatics. Chest, 123 (3): 370-371.

Eum SY.; Maghni K.; Tolloczko B.; Eidelman DH et Martin JG. (2005): IL-13 may mediate allergen-induced hyper responsiveness independently of IL-5 or eotaxin by effects on airway smooth muscle. American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology, 288(3): 576-584.

Elazzouzi H.; Soro A.; Elhilali F.; Bentayeb A.; Alauoi E L.; Belghiti. M. et Zair T. (2014): Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* (L.) of Middle Atlas (Morocco), and

in vitro study of antibacterial activity of pyrethrum. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 8(8): 131-140.

Fujita H.; Nograles K E; Kikuchi T.; Gonzalez J.; Carucci JA. et Krueger JG. (2009): Human Langerhans cells induce distinct IL-22-producing CD4+ T cells lacking IL-17 production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51): 21795-21800.

Gibson PG.; Simpson JL. et Saltos N. (2001): Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma (evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8). *Chest*, 119(5): 1329-1336.

Galli SJ.; Tsai M. et Piliponsky AM. (2008): The development of allergic inflammation. *Nature*, 454(7203): 445-454.

Gurib-Fakim A. (2006): Medicinal plants (Traditions of yesterday and drugs of tomorrow). *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1):1-93.

Gould HJ. et Sutton BJ. (2008): IgE in allergy and asthma today. *Nature reviews immunology*, 8(3): 205-217.

Goetz P. (2010): Traitement de fond de l'asthme par la phytothérapie. *Phytothérapie*, 8(5) : 302-305.

Galmèse J. (2013): Isolement et caractérisation de nouvelles espèces de Torque Teno Mini Virus (TTMV): Implication potentielle dans la pathogenèse de la pneumonie. [Thèse de doctorat en immunologie].Lyon, (France), 165p.

Gupta R.; Parwez A.; Kumar K.; Saurabeh K V. et Singh SK. (2014): Review on Potential Plant Based Drugs For Memory Enhancer. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(5): 286-293.

Halim TY.; Krauß RH.; Sun AC. et Takei F. (2011) :Lung Natural Helper Cells Are a Critical Source of Th2 Cell-Type Cytokines in Protease Allergen-Induced Airway Inflammation. *Elsevier*, 36:451-463.

Humbert M et Garcia G. (2004): Éotaxine chimiokine de premier plan de l'allergie. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 44(1): 62-64.

Hans WK. (2007): 1000 plants aromatiques et médicinales (les 1000). *Terres*. Toulouse, 335 p.

Références Bibliographiques

Hammad H.; Chieppa M.; Perros F.; Willart M.A.; Germain R.N. et Lambrecht B.N. (2009): House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nature Medicine*, 15(4): 410-416.

Hammad H et Lambrecht B.N. (2008): Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nature reviews immunology*, 8(3): 193-204.

He S.; Wang X.; Zhang Y.; Wang J.; Sun H.; Wang J.; Cao X. et Ye Y. (2016): Isolation and prebiotic activity of water-soluble polysaccharides fractions from the bamboo shoots (*Phyllostachys praecox*). *Carbohydrate Polymers*, 151: 295–304.

Hallouet P. (2010): *Mémo-Guide Infirmier*. 2^e éd. Elsevier Masson. France, 458 p.

Halbwachs-Mecarelli L. (2004) : Neutrophiles dans l'hypersensibilité. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 45 (1) : 68-73.

Hammad H et Lambrecht B.N. (2007): Lung dendritic cell migration. *Advances in Immunology*, 93: 265-278.

Hammad H.; Charbonnier A.S.; Duez C.; Jacquet A.; Stewart G.A.; Tonnel A.B. et Pestel P. (2001): Th2 polarization by Der p1-pulsed monocyte-derived dendritic cells is due to the allergic status of the donors. *Blood*, 98(4):1135–1141.

Hussein G.; Miyashiro H.; Nakamura N.; Hattori M.; Kakiuchi N. et Shimotohno K. (2000): Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. *Phytotherapy Research*, 14(7): 510.

Ivanov I.I.; McKenzie B.S.; Zhou L.; Tadokoro C.E.; Lepelley A.; Lafaille J.J.; Cua D.J. et Littman D.R. (2006): The Orphan Nuclear Receptor ROR γ t Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17+ T Helper Cells. *Cell*, 126(6): 1121-1133.

Jamet A.; Botturi.; Diquet B. et Mollimard C. (2006): Histamine (le rôle du médiateur). *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 46(5) : 474-479.

Jean-Pierre W. (2006): *Larousse Médical*. Larousse. Paris. 1113p.

Janeway C.A.; Travers P.; Walport M. et Shlomchik M.J (2003) : *Immunologie*. 2^e ed. De Boeck ed. Paris, 761p.

Jouan Y.; Si-Tahar M. et Guillon A. (2016): Immunité de la muqueuse respiratoire : physiologie et implications en réanimation. *Médecine Intensive Réanimation*,26(1) :11-20.

Khayyamian S.; Hutloff A.; Buchner K.; Grafe M.; Henn V.; KroczeK RA. et Mages HW. (2002): ICOS-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates Th1 and Th2 cytokine secretion by memory CD4+ T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 99 (9): 6198-6203.

Kashyap M.; Rochman Y.; Spolski R.; Samsel L. et Leonard WJ. (2011): Thymic stromal lymphopoietin is produced by dendritic cells. *Journal of Immunology*, 187(3): 1207-1211.

Kudlacz E.; Whitney C.; Andresenl C. et Conklyn M. (2002): Functional effects of eotaxin are selectively upregulated on IL-5 transgenic mouse eosinophils. *Inflammation*, 26(3): 111-119.

Krichen F.; Karoud W.; Sila A.; Abdelmalek BE.; Ghorbel R.; Ellouz-Chaabouni S. et Bougatef A. (2015): Extraction, characterization and antimicrobial activity of sulfated polysaccharides from fish skins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75: 283-289.

Kapsenberg ML. (2003): Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nature reviews immunology*, 3(12): 984-993.

Litchfield TM et Lee TH. (1992): Asthma cells and cytokines. *J Asthma*, 29(3): 181-191.

Lambrecht BN et Hammad H (2015): The immunology of asthma. *Nature Immunology*, 16(1): 45-56.

Lamblin C.; Gosset P.; Tillie-Leblond I.; Saulnier F.; Marquette CH.; Wallaert B. et Tonnel AB. (1998): Bronchial neutrophilia in patients with noninfectious status asthmaticus. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 157(2): 394-402.

Références Bibliographiques

Liu J.; Willfor S. et Xu C. (2015): A review of bioactive plant polysaccharides (Biological activities, functionalization, and biomedical applications). *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1): 31 – 61.

Molina C. (1997): *L'allergie À L'aube Du Troisième Millénaire*. 1er éd. John Libbey Eurotext, 204p.

Menck K.; Behme D.; Pantke M.; Reiling N.; Binder C.; Pukrop T.; Klemm F.(2016): Isolation of human monocytes by double gradient centrifugation and their differentiation to macrophages in teflon-coated cell culture bags, *Journal of Visualized Experiments*.91:1-10.

MacGlashan D. (2008): IgE receptor and signal transduction in mast cells and basophils. *Current Opinion in Immunology*, 20(6): 717-723.

Marchand D.; Tayara N.; Choukroun ML.; Sarrat A.; Guenard H.; Demarquez JL.; Tunon Lara JM. et Fayon M. (2008): La dermatite atopique aggrave l'inflammation allergique dans la bronchiolite aiguë virale. *Revue des Maladies Respiratoires*, 25(9): 1087-1093.

Mamessier E.; Botturi K.; Vervloet D. et Magnan A. (2005) : T regulatory lymphocytes, atopy and asthma (a new concept in three dimensions). *Revue des Maladies Respiratoires*, 22(2): 305-311.

Mulloy B.; Mourao PAS. et Gray E. (2000): Structure/function studies of anticoagulant sulphated polysaccharides using NMR. *Journal of Biotechnology*, 77 (1): 123 135.

Mareib EN. (2005) : *Anatomie et physiologie humaines*. 6^eéd. Pearson, France, 1296p.

Moon PD et Kim HM. (2011): Thymic stromal lymphopoietin is expressed and produced by caspase-1/NF-kappaB pathway in mast cells. *Cytokine*, 54(3): 239-243.

Monticelli LA.; Sonnenberg GF.; Abt1 MC.; Alenghat T.; Ziegler C.; Doering T.; Angelosanto JM.; Laidlaw BJ.; Yang C.; Sathaliyawala T.; Kubota M.; Turner D.; Diamond JM.; Goldrath A.; Farber D.; Collman RG.; Wherry EJ. Et Artis D. (2011): Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nature Immunologie*, 112(11):1045-1054.

McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T. et Cua DJ. (2007): TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain TH-17 cell-mediated pathology. *Nature immunology*, California, 8(12): 1390-1397.

Neill DR.; Wong SH.; Bellosil A.; Flynn RJ.; Daly M.; Langford T.; Bucks.; Kane CM.; Fallon PG .; Pannell R.; Jolin HE. et McKenzie A. (2010): Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity *Nature*, 12(11):1367-1370.

O'Shea JJ et Paul WE. (2010): Mechanisms Underlying Lineage Commitment and Plasticity of Helper CD4+ T Cells, *Science*, 327: 1098–1102.

Pretolani M et Vargaftig B. (1987): Rôle du PAF-acéther dans les réactions inflammatoires et allergiques. *médecine/sciences*, 3 (9): 508- 14.

Paris RR et Moyse H. (1971): Précis de matière médicale (**Collection de précis de pharmacie**). **Masson et Cie. Paris**, 271p.

Prin L. (1996): Mastocytes, basophiles, éosinophiles Analyse des marqueurs biologiques. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 36(8) : 889-896.

Park SH.; Benlagha K.; Lee D.; Balish E. et Bendelac A. (2000): Unaltered phenotype, tissue distribution and function of V α 14 (+) NKT cells in germ-free mice. *European Journal of Immunology*, 30(2): 620-625.

Quan J.; Li T.; Zhao W.; Xu H.; Qiu D. et Yin X. (2013): Hepatoprotective effect of polysaccharides from *Boschniakia rossica* on carbon tetrachloride induced toxicity in mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 52(3): 244-52.

Resnick MB et Weller PF. (1993): Mechanisms of eosinophil recruitment. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 8(4): 349-55.

Rigat M.; Bonet MA.; Garcia S.; Garnatje T. et Valles J. (2007): Studies on pharmaceutical ethnobotany in the high river Ter valley (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 267–277.

Ruff Y. (2008): Biopolymères dynamiques (oligo et polysaccharides). [Thèse de Doctorat] université Louis Pasteur, (Strasbourg), 308 p.

Références Bibliographiques

Rad JS.; Shahraki S.; Rostami FM.; Shahraki MR. et Arab MR. (2014): Effects of Aqueous Root Extracts of *Anacyclus pyrethrum* on Gonadotropins and Testosterone Serum in Adult Male Rats. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. 2(6): 767-772.

Roitt I.; Brostoff J. et Male D. (2002) : Immunologie. 3^{éd.} De boeck. bruxelles ,329 p.

Sapozhnikov A.; Fischer JA.; Zaft T.; Krauthgamer R.; Dzionek A. et Jung S. (2007) : Organ-dependent in vivo priming of naive CD4+ but not CD8+ T cells by plasmacytoid dendritic cells. Journal of Experimental Medicine, 204(8): 1923-1933.

Stockinger B et Veldhoen V. (2007): Differentiation and function of Th17 T cells. Elsevier, 17(3):281-286.

Selles C.; Medidoub H.; Dib MA.; Zerriouh M. et Tabti B. (2012): Anti-diabetic activity of aqueous root extract of *Anacyclus pyrethrum* L (in streptozotocin-induced-diabeticrats). Journal of Medicinal Plants Research, 6(16): 3193-3198.

Sanchez MP. (2006): Polysaccharides ayant une activite immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. [Thèse de doctorat en biologie végétale]. Québec, 85p.

Stassen M.; Schmitt E. et Jonuleit H. (2004): Human CD (4+) CD (25+) regulatory T cells and infectious tolerance. Transplantation, 77(1): 23-25.

Staudt V.; Bothur E.; Klein M.; Lingnau K.; Reuter S.; Grebe N.; Gerlitzki B.; Hoffmann M.; Ulges A.; Taube C.; Dehzad N.; Becker M.; Stassen M.; Steinborn A.; Lohoff M.; Schild H.; Schmitt E. et Bopp T. (2010): Interferon-regulatory factor 4 is essential for the developmental program of T helper 9 cells. Elsevier Inc, 33:192-202.

Steinman RM. (2003): The control of immunity and tolerance by dendritic cell. Elsevier, Paris, 51(2): 59-60.

Taront S. (2008): Interaction entre l'épithélium bronchique et cellules dendritiques : Implication de molécules membranaires. [Thèse de doctorat en immunologie]. Lille(France), 161p.

Tachdjian G.; Brisset S.; Courtot AM.; Schoevaert D. et Tosca L. (2016): Embryologie et Histologie Humaines. 6^e éd. Elsevier Masson SASFrance.330 p.

Tato MC et O'Shea JJ, (2006): what does it mean to be just 17. Nature Publishing Group, 144: 166-168.

Teran LM. (2000): CCL chemokines and asthma. Immunology Today, 21(5): 235-242.

Urbain B.; Gustin P.; Prouvost JF. et Ansay M. (1994): Quantitative assessment of aerial ammonia toxicity to the nasal mucosa by use of the nasal lavage method in pigs. American Journal of Veterinary Research, 55(9): 1335-1340.

Usmani A.; Khushtar M.; Arif M.; Siddiqui MA.; Sing SP. et Mujahid M. (2016): Pharmacognostic and phytopharmacology study of *Anacyclus pyrethrum* (An insight). Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (3): 144-150.

Veldhoen M .;Uyttenhove C.;van Snick J .;Helmbly H .;Westendorf A .; Buer J .; Martin B.; Wilhelm C. et Stockinger B .(2008): Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. Nature Immunology, 9(12): 1341-1346.

Vichitra K.; Sapana R.; Vipin S.; Parminder N. et Deepa R. (2013): Biological Studies of *Anacyclus Pyrethrum*. Indo American Journal of Pharmaceutical Research, 3(6): 4590-4596.

Vivier E.; Tomasello E.; Baratin M.; Walzer T. et Ugolini E. (2008): Functions of natural killer cells. Nature immunology, 9(5):503-510.

Wegner CD.; Gundel RH.; Reilly P.; Haynes N.; Letts LG et Rothlein R.(1990): Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. Science, 247 (4941): 456-459.

Warrand J. (2004): Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum Usitatissimum L*). [Thèse de Doctorat en biochimie], Université de Picardie Jules Verne, 238 p.

Welsch U. (2004) : Précis D'histologie (Cytologie histologie anatomie microscopique) Lavoisier, Bruxelles, 597p.

Walker AF. (2006): Herbal medicine: the science of art. Proceedings of the nutrition society, 65:145–152.

Wood IS.; Wang B. et Trayhurn P. (2009): IL-33, a recently identified interleukin-1 gene family member is expressed in human adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 384(1): 105-109.

Xie JH.; Shen MY.; Nie SP.; Zhao Q.; Li C. et Xie MY. (2014): Separation of watersoluble polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by ultrafiltration process. *Carbohydrate Polymers*, 101: 479-483.

Zhao Y.; Yang J.; Gao YD. et Guo w. (2010) : Th17 immunity in patients with allergic asthma. , 151(4): 297-307.

Zong A.; Cao H. et Wang F. (2012): Anticancer polysaccharides from natural resources (A review of recent research). *Carbohydrate Polymers*, 90 (4): 1395-1410.

Sites web

[1]Anonym. (2017). Appareil respiratoire. https://fr.wikipedia.org/wiki/Appareil_respiratoire. (Consulté le 28.02.2017).

[2]Anonym. (2009). Histologie broncho-pulmonaire. <http://www.respir.com/doc/abonne/base/Histologie.asp>.(consulté le 01.03.2017).

[3] Loye J; Pham V L; Raffard M; Dinh-Xuan AT; Duong-Quy S; Hua-Huy T. et Le-Dong NN: Notions fondamentales en immunologie.
http://www.afvp.info/vietnamien/galleryUpload/913_Livre%20allergo-Franco-Viet_03.pdf. (Consulté le 20.04.2017).

Annexe

Annexe : solutions utilisées

Nom de la solution	Composition	Quantité des réactifs
Phosphate Buffer Saline ou PBS (10Mm) pH 7,4	NaCl	8.0 g
	KCl	0.2 g
	Na ₂ HPO ₄	1.42 g
	KH ₂ PO ₄	0.24 g
	Eau distillée	1000 ml
Solution de lyse	NH ₄ CL	0.83 g
	Eau distillée	100 ml
Bleu de trypan	Bleu de trypan	0.2 g
	Eau distillée	100 ml