

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



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option: Immunologie appliquée
Département: biologie

**Thème : Effet thérapeutique des polysaccharides naturels sur le
système immunitaire respiratoire « Etude cellulaire »**

Présenté par :

BOUDJEHEM Meryem

DJITNI Hana

Devant le jury composé de :

Président:	M ^r ADRAR Nassim	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice :	M ^{me} BRAIK Asma	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur :	M ^{me} BENDJEDDOU Dalila	Professeur	Université de Guelma

Juin 2018

Remerciement

D'emblée, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et nous a imprégné de patience, afin de venir à bout de cette tâche et d'avoir pu réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier également notre tuteur **Pr. BENDJEDOU.D** maître de conférences au département de biologie faculté de S.N.V et S.T.U Université de Guelma 8 Mai 1945 pour les conseils et orientations prodigués durant toute la période de préparation, aussi sa capacité de stimulation nécessaire à la finalisation de notre projet de fin d'études.

Nos sincères et vifs remerciements sont adressées aux membres du jury **M^r. ADRAR** et **M^{me}. BRAIK** pour cet intérêt manifesté à l'égout de notre thème de recherche, en voulant l'examiner et en l'enrichissant par leurs remarque et propositions très bénéfiques à plus d'un titre.

Nos sincères remerciements vont aussi à l'ensemble des personnes qui sont participés ou été en relation d'une manière directe ou indirecte dans la préparation, la mise en œuvre et la concrétisation de ce travail, et plus particulièrement **M^{me} BENSAKHRI** pour son aide. Soyez assuré de toute notre reconnaissance pour avoir éclairé nos idées concernant la réalisation des techniques de pratiques. Merci pour votre disponibilité.

Aussi nos remerciements très fraternels à **DR.STITI.M** pour sa très précieuse aide fourni dès le début du projet de fin de formation.

Nous exprimant également nos sincères remerciement à tout le personnel des laboratoires pédagogiques trouvez ici nos vives reconnaissances pour votre aide techniques.

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mot, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude

Tout d'abord, à ma très chère mère, ma source de force et d'inspiration, un puits inépuisable d'amour et d'espoir, les innombrables sacrifices qu'elle consentit pour moi, son soutien et ses prières tout au long de ma vie

Puisse Allah te donner une très longue vie

A mon héros PaPa, mon premier modèle et mon premier concurrent pour le sens de courage merci pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour.

Père, ce travail est le tien.

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

A tous mes sœurs, pour leur encouragement, dévouement et leur soutien inébranlable.

A mon frère Takí, le chemin est dur et encore long, il faudrait du courage et beaucoup de chance.

Que dieu vous garde.

*Ainsi, Dieu merci de m'avoir entouré d'une famille unique et formidable qui m'a constamment encouragée et soutenue tout au long de ces années.
Chacun à sa façon différente.....Merci beaucoup.*

A mon cher ami Takí, je vous remercie infiniment.

Meriem

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui grâce à l'aide de Dieu

***À MES CHÈRES PARENTS :** Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

***A MES CHÈRES ET ADORABLE FRÈRES ET SŒURS:** En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

***À MES CHÈRES PETITS NEVEUX ET NIECES :** Adem , Obada , Mouhamed Ali , Ayoub , Ahmed DJakob , Hanin et Zaineb Djinan .*

Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

***A MA GRAND MÈRE CHÈRE** Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.*

***À MES AMIS DE TOUJOURS :** En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

UN SPECIALE DEDICACE A UNE PERSONNE** qui est toujours avec moi ... je ne te remercierai jamais assez pour ton aide et ton amabilité, Dieu te protège et te garde **Hakim

Hana

Résumé

Résumé

La phytothérapie est très populaire, en Algérie. Elle gagne, de plus en plus, d'adeptes, comme partout dans le monde. Le pyrèthre d'Afrique (*Anacyclus pyrethrum*) est une plante herbacée vivace de la famille des Astéracées originaire de l'est et du sud du bassin méditerranéen. Elle est utilisée pour ses différentes activités biologiques et thérapeutiques.

Notre présent travail consiste à mettre en évidence l'effet de deux fractions obtenues par reprecipitation à l'éthanol de l'extrait polysaccharidique d'*Anacyclus pyrethrum*, sur la réaction inflammatoire allergique. Pour cet effet, une dose de 50 mg/kg des fractions F1 et F2 a été administré aux souris males par voie intra-péritonéale après une provocation d'allergie en utilisant deux dose successifs de 2.5 µg/ml et de 0.5 µg/ml de solution d'HDM (House Dust Mite) par voie nasale.

Les résultats obtenus après 17 jours de traitement, montrent une augmentation des splénocytes chez les souris traitées par la fraction F1, la prolifération de toutes les cellules lymphocytaires y compris les cellules T régulatrices dans la rate dans le but de contrôler la réaction inflammatoire. De plus, une lecture d'un frottis médullaire montre la présence de toutes les populations cellulaires. En revanche, le traitement par la fraction F2 a provoqué une sortie massive de cellules polynucléaires de la moelle osseuse sans qu'il induit leur renouvellement, idem pour les lymphocytes ce qui confirme leur augmentation dans le sang. Les mêmes résultats ont été obtenus après le traitement par un corticoïde (Prednisolone), mais avec une augmentation des cellules érythrocytaires au niveau médullaire.

Les résultats de la fraction F1 polysaccharidique sont apparemment très encourageants, prometteurs et ouvrent plusieurs possibilités qui pourraient moduler une réponse inflammatoire exacerbée.

Mots clés : Réaction inflammatoire allergique – phytothérapie – polysaccharides

Anacyclus pyrethrum

Abstract

Herbal medicine is very popular in Algeria. It is gaining more and more followers, as everywhere in the world. African pyrethrum (*Anacyclus pyrethrum*) is a perennial herb of the Asteraceae family, native to the east and south of the Mediterranean basin. It is used for its different biological and therapeutic activities.

Our present work consists in highlighting the effect of two fractions, obtained by ethanol reprecipitation of the polysaccharide extract of *Anacyclus pyrethrum*, on the allergic inflammatory reaction. For this purpose, a dose of 50 mg / kg of the F1 and F2 fractions was administered to male mice intraperitoneally, after an allergy challenge using two successive doses of 2.5 µg/ml and 0.5 µg/ml of HDM (House Dust Mite) solution nasally.

The results obtained after 17 days of the treatment, show an increase in splenocytes in F1 treated mice, the proliferation of all lymphocyte cells including regulatory T cells in the spleen in order to control the inflammatory reaction. In addition, reading of a bone marrow smear shows the presence of all cell populations. On the other hand, the treatment with the fraction F2 caused a massive release of polynuclear cells from the bone marrow without inducing their renewal, ditto for the lymphocytes which confirms their increase in the blood. The same results were obtained after treatment with a corticosteroid (Prednisolone), but this one increased the erythrocyte cells in the bone marrow

The results of the F1 polysaccharide fraction are apparently very encouraging, promising and open up several possibilities that could modulate an exacerbated inflammatory response.

Key words: Allergic inflammatory reaction - phytotherapy - polysaccharides
Anacyclus pyrethrum

ملخص

يحظى التداوي بالأعشاب بشعبية كبيرة في الجزائر ، فهو بكتسب المزيد من المستخدمين كما هو الحال في كل مكان في العالم. يعتبر *Peyrethrum* الأفريقي (*Anacyclus pyrethrum*) عشبة معمرة من عائلة *Asteraceae* ، يعود اصلها إلى الشرق والجنوب من حوض البحر الأبيض المتوسط . يستخدم لأنشطته البيولوجية والعلاجية المختلفة.

وعليه اهتم عملنا الحالي بتسليط الضوء على تأثير اثنين من القطفات السكرية المتحصل عليها من إعادة ترسيب مستخلص عديدات السكريات لجذور *Anacyclus pyrethrum* ، على الاستجابة الالتهابية التحسسية. لهذا الغرض، تم حقن ذكور فئران تحت الصفاق بجرعة 50 ملغم / كغم من القطفات F1 و F2 بعد إحداث الحساسية باستخدام جرعتين متتاليتين : 2.5 ميكروغرام /مل و 0.5 ميكروغرام /مل من محلول HDM (House Dust Mite) .

تظهر النتائج المتحصل عليها بعد 17 يوما من المعاملة، زيادة في عدد الخلايا الطحالية عند الفئران المعالجة بالقطفة F1 ، وتكاثر كل الخلايا اللمفاوية بما في ذلك الخلايا التائية المنظمة من أجل السيطرة على الاستجابة الالتهابية. بالإضافة إلى ذلك، تظهر قراءة السحبة النخاعية، وجود جميع السلالات الخلوية. من ناحية أخرى، تسبب العلاج بالقطفة F2 في تحرير كميات هائلة من الخلايا متعددة النوى والخلايا الليمفاوية من النخاع العظمي دون أن تحفزها على التجدد وهذا ما يفسر ارتفاع عددها في الدم. نفس النتائج تم الحصول عليها بعد المعالجة بالكورتيكويد (*Prednisolone*) ، مع ظهور زيادة إنتاج الخلايا سليفة كرات الدم الحمراء في النخاع العظمي.

يبدو أن نتائج المعاملة بالقطفة F1 من متعدد السكريات جد مشجعة ، واعدة و دفق العديد من الاستخدامات المحتملة لتعديلي الاستجابة الالتهابية المبالغ فيها.

الكلمات المفاتيح: التفاعل الالتهابي التحسسي - التداوي بالأعشاب – السكريات المتعددة

Anacyclus pyrethrum

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- A549** : Cellules de cancer du poumon humain
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ADP** : Adénosine diphosphate
- AP** : *Anacyclus Pyrethrum*
- AV** : Appareil Ventilatoire
- BPCO** : Broncho pneumopathie chronique obstructive
- C°** : Degré Celsius
- CCR2** : Chemokine receptor type 2
- CCR3** : Chemokine receptor type 3
- CO2** : Dioxyde de carbone
- cm** : Centimètre
- CXCL8** : chemokine (C-X-C motif) ligand 8
- EABPCO** : Exacerbation aiguë de la bronchopneumopathie chronique obstructive
- ECP** : Eosinophil cationic protein
- EDN** : Eosinophil-derived neurotoxin
- EP** : Eosinophil peroxydase
- Fc** : Fragment cristallisable
- Fcε** : Récepteur d'IgE
- FcεRI** : Récepteur de haute affinité d'IgE
- FcγRI** : Récepteur du Complément
- GaIA** : L'acide galacturonique
- GM-CSF** : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
- Gap 1** : General amino-acidpermease
- HDL** : High Density Lipoprotein

HDM : House Dust Mite

HIV : Human Immunodeficiency Virus

IFN : Interféron

IgE : Immunoglobulines de type E

IgG : Immunoglobulines de type G

IL : Interleukine

LB : Lymphocyte B

LDL : Low Density Lipoprotein

LTA4 : Leucotriène A4

LTB4 : Leucotriène B4

MBP : Major basic protein

MGG : May-Grunwald-Giemsa

mg : Milligramme

min : Minute

ml : Millilitre

µl : Microlitre

NaCl : Chlorure de sodium

NK : Natural Killer

O2 : Dioxygène

PAF : Platelet Activator Factor

PAMPs : Pathogen-associated molecular patterns

PBS : Phosphate buffered saline

PS : Polysaccharides

RCT : Randomized Controlled Trial

SR : Surfaces Respiratoires

TGFβ : Transforming Growth Factor

Th : Lymphocyte T helper

TLR :Toll Like Receptor

TNF :Tumor necrosis factor

VC : Voies de Conduction

WAO : World Allergy Organizati

*Liste
des
tableaux*

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Pages
01	Taxonomie d'<i>Anacyclus pyrethrum</i>	06
02	Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre de leucocytes	42

*Liste
des
figures*

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Distribution géographique d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	04
02	<i>Aacyclus pérythrum</i>	04
03	Les fleurs d' <i>Anacyclus pyréthrum</i>	05
04	Les racines d' <i>Anacyclus pyréthrum</i>	06
05	Structure de la cellulose	10
06	Structure ramifié du glycogène	10
07	Les structures anatomiques appartenant aux voies de conduction, aux surfaces respiratoires et à l'appareil ventilatoire	18
08	Système de défense de l'épithélium respiratoire des voies aériennes	19
09	Phase de sensibilisation aux allergènes	20
10	La réaction immédiate	21
11	La réaction retardée	22
12	L'activation des mastocytes déclenche une réaction allergique	26
13	Rôle des lymphocytes Th2 dans la physiopathologie de l'asthme	29
14	Extrait polysaccharidiques d' <i>A. pyrethrum</i>	30
15	Schéma explicatif de la préparation des fractions polysaccharidiques	30
16	Précipitation de la fraction1	31
17	Séchage de la fraction1	31
18	Précipitation de la fraction 2	32
19	Le broyat de la fraction 2	32
20	Model biologique animal « <i>Mus musculus</i> »	33
21	Flacon d'HDM	34
22	Corticoïde (Prednisolne)	34

23	Schéma explicatif du protocole expérimental	34
24	Récupération du sang	35
25	Instillation nasal	36
26	Lavage broncho-alvéolaire	36
27	Lacération de la rate	37
28	Lacération de thymus	38
29	Réalisation de frottis médullaire	39
30	L'obtention des fractions polysaccharidiques	40
31	Effet des différents traitements sur la variation du gain de poids corporel des souris	41
32	Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des différentes sous populations leucocytaires	43
33	Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des cellules du liquide nasal	45
34	Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis du liquide nasal	46
35	Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des cellules du liquide broncho-alvéolaire	47
36	Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis du liquide broncho-alvéolaire	48
37	Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de la rate	50
38	Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de splénocytes	51
39	Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de thymus	52
40	Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de thymocytes	53
41	Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis médullaires (x10).	54
42	Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis médullaires (x40).	55

Introduction

Introduction

Depuis la pré histoire, l'être humain recherche dans son environnement (plantes, animaux, pierres, et esprits) de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. La médecine moderne occidentale a rejeté la plupart de ces recours pour développer des médicaments chimiques et une technique de soin sophistiquée. Elle continue cependant, d'utiliser certain remèdes à base de plantes médicinales. Une tendance récente conduit même à rechercher dans les plantes de nouveaux produits de substitution pour certaines maladies. L'utilisation des plantes en phytothérapie connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public **(Sofowora, 2010)**.

Les maladies allergiques occupent une place centrale au sein des pathologies chroniques. Depuis plus de 20 ans, leur fréquence n'a cessé d'augmenter. Selon l'organisation mondiale de l'allergie (WAO), ces maladies touchent environ 30 à 40% de la population mondiale **(Pawankar et al., 2012)**. Le traitement des infections et des maladies touchant les voies respiratoires et les poumons se fait à 76,40% par utilisation de plantes médicinales et à 23,60% par recours à la médecine moderne. Il est estimé qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes sont dérivés, directement ou indirectement, à partir de plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux connaissances traditionnelles **(El Hilah et al., 2015)**.

Les polysaccharides sont l'un des quatre bio-macromolécules les plus importants en sciences de la vie **(Liu 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 telles que la biodégradabilité, la non-toxicité, la bonne biocompatibilité, les activités hémostatique et antimicrobienne **(Xie et al., 2014)**. L'intérêt important d'utilisation des polysaccharides dans les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques, les cosmétiques, les textiles et les produits biomédicaux est dû à leurs diverses propriétés structurelles et fonctionnelles **(Mirhosseini et Amid, 2012)**.

La plante *Anacyclus pyrethrum* (*A.p*) est constituée de plusieurs composants. Ses extraits sont connus pour être biologiquement actifs et certains d'entre eux sont déjà disponibles dans le commerce avec des revendications cosmétiques fonctionnelles **(Veryser et al., 2014)**.

Introduction

C'est pour cette raison, que nous nous sommes intéressés à cette plante afin d'étudier l'efficacité des fractions polysaccharidiques, extraites à partir de ses racines, sur le système immunitaire respiratoire.

Ce mémoire est partagé en 3 parties :

- La première partie est essentiellement consacrée aux données bibliographiques. Elle traite l'aspect botanique, chimique et pharmacologique d'*Anacyclus pyrethrum*. Elle aborde aussi d'une façon exhaustive les polysaccharides, leur diversité structurale et leur rôles biologiques. Enfin, elle décrit le système immunitaire respiratoire, son anatomie physiologique et quelques pathologies respiratoires

- La deuxième partie contient la section expérimentale. Elle décrit le matériel et méthodes biologiques utilisés dans cette étude.

- La troisième partie regroupe les principaux résultats ainsi que leur discussion, et enfin une conclusion avec nos recommandations sur les travaux futurs, suivie de références bibliographiques ainsi qu'une section des annexes.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I : Aspect botanique et pharmacologique d'*Anacyclus pyrethrum*

La médecine par les plantes, autrement appelée phytothérapie, est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles. L'usage des plantes pour remédier à un mal remonte à l'aube de l'humanité. Il apparaît que l'homme a compris très tôt tout ce que le monde végétal pouvait lui apporter, non seulement pour se nourrir et se vêtir mais encore pour se soigner ou se concilier les forces de la Nature (Verbois, 2015).

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (Beloued, 1998), citons parmi ces plantes l'*Anacyclus le pyrèthre* (*Anacyclus pyrethrum*) famille des Asteraceae. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle locale pour le traitement de plusieurs maladies (Sujith *et al.*, 2012).

1. Distribution géographique d'*Anacyclus pyrethrum*

Anacyclus pyrethrum est une espèce de la Méditerranée occidentale avec une distribution restreinte en Afrique du Nord (Maroc et Algérie) et au sud de l'Espagne

En Espagne, elle se trouve dans deux localités très proches l'une de l'autre dans la région sud-est, dans la Sierra de Alcaraz, près de Peñascosa dans la province d'Albacete.

En Algérie, *Anacyclus pyrethrum* est présent dans plusieurs sites; dans les principales chaînes de montagnes de 800 m au-dessus de la mer : Guelma, Tlemcen, Mascara, Aumale, Constantine et Djurdjura. Au Maroc, l'*Anacyclus* est une espèce très variable et trouvée dans plusieurs grandes divisions floristiques: Rif, montagnes du Haut Atlas, du Moyen-Atlas, de l'Atlantique Nord du Maroc, les terres de l'Est, Montagnes de l'Est et montagnes de l'Anti Atlas. Il a été tenté de cultiver cette espèce

dans plusieurs pays dont : l'Europe (Ukraine, France, Pologne, Autriche, Allemagne) et en Asie du Sud (Inde, Népal, Pakistan) (**Figure 1**) (**Daoudi *et al.*, 2014**) ; [1].



Figure 1 : Distribution géographique d'*Anacyclus pyrethrum* [1].

2. Aspect botanique

2.1. Description botanique de la plante

C'est une plante médicinale qui a été mentionnée dans les œuvres de Hildegarde de Bingen. Elle est herbacée vivace de la famille des astéracées de 30 à 50 cm de haut avec de nombreuses tiges ramifiées prostrées ou ascendantes, plus ou moins poilues dans leurs positions supérieures, presque lisses en dessous, et provenant de la couronne d'une longue racine effilée, verticale, brune, légèrement ramifiée (**Figure 2**) (**Tauheed *et al.*, 2017**; **Bellakhdar, 1997**).



Figure 2: *Aacyclus pérythrum* (prise personnelle).

❖ **Feuilles:** Feuilles alternes, celles à la base de la couronne longue, aiguë, plus ou moins poilue finement découpées, délicates et alternes sont pubescentes.

❖ **Fleurs:** Fleurs à disque bisexuées, corolle tubulaire, contractée en bas, à 5 dents étalées égales, jaunes; anthères apicules, non à queue à la base, incluses dans la corolle; style exercé, stigmate bifide, avec deux branches linéaires. Rayons de fleurs femelles, en une seule rangée, ligule de la corolle, le membre largement ovale, trifide à l'apex, blanc au-dessus, teinté de rose vif ci-dessous (**Figure 3**).



Figure 3 : les fleurs d'*Anacyclus Pyréthrum* (prise personnelle).

❖ **Racine:** les racines sont cylindriques ou effilées, terminées parfois par des parties de feuilles hérissées et n'ayant que quelques poils comme les radicelles. A l'extérieur, elles ont une surface brune, rugueuse, racornie, compacte et cassante, la surface fracturée étant rayée et dépourvue de moelle qui est approximativement éradiquée, et rayonnant intérieurement du bois secondaire occupant environ 2/3 de l'épaisseur totale principalement dans les racines plus anciennes (**Figure 4**). Ils ont une odeur aromatique et un goût persistant (**Tauheed et al., 2017 ; Selle, 2012**).



Figure 4 : les racines d'*Anacyclus Pyréthrum* (Usmani *et al.*, 2016).

2.2. Classification scientifique / taxonomique:

Tableau 01 : Taxonomie d'*Anacyclus pyrethrum* (Kumar V et Kumar CA, 2016).

Royaume:	<i>Plantae</i>
Division:	<i>Spermatophyta,</i>
Classe:	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe:	<i>Metachlamydae</i>
Ordre:	<i>Companulatae,</i>
Famille:	<i>Compositae ou Asteraceae,</i>
Genre:	<i>Anacyclus,</i>
Espèces:	<i>Pyrethrum D.C</i>
Nom botanique:	<i>Anacyclus pyrethrum DC.</i>
Synonymes:	<i>Anthemis pyrethrum L.</i>

Cette plante connaît plusieurs noms communs et vernaculaires par exemple

Arabe : Oued el athas, Agargarha, Tigenthass, Ignens et Guenthuss

Hindi: Akarkara;

Anglais: Espagnol Pellitory, Pellitory;

Français: Racine de Pyrèthre d'Afrique;

Italien: Piretro;

Portugais: Pyrethro da Africa, Parietaria de Espanha;

Espagnol: Raiz de pelitrepyrèthro, salivaria (**Tauheed et al., 2017**).

3. Aspect pharmacologique

L'*Anacyclus pyrethrum* est largement utilisé dans la pharmacopée traditionnelle de plusieurs populations. Cette plante contient un certain nombre de phytoconstituants qui révèle son utilisation à des fins thérapeutiques différentes. Elle a montré un effet positif sur la régulation du système immunitaire, sur la capacité sexuelle et reproductive des hommes et comme médicament pour stimuler les glandes salivaires. En outre, les gens l'utilisent comme remède pour améliorer la peau irritée, pour contrôler les problèmes cardiaques, la faiblesse générale, l'épilepsie ...etc. Les feuilles de cette plante sont utilisées pour les maux de dents, la panne musculaire et l'apnée de la trachée (**Shahraki et al., 2014 ; Suganya et al., 2012**).

Les racines d'*Anacyclus pyrethrum* peuvent être utilisées pour le traitement de divers troubles chez l'être humain tels qu'aphrodisiaque, analgésique, antirhumatismal, antiarthritique, antidiabétique, antidépressive et anticonvulsivant (**Usmani et al., 2016**). Elles sont aussi utilisées dans le traitement des maladies du foie et employées comme antimite.

Plusieurs études expérimentales ont été réalisées sur *A. pyrethrum* et de nombreuses activités biologiques ont été identifiées comme l'activité antibactérienne, immunostimulante, antioxydante et anti-inflammatoires (**Canli et al., 2017 ; Manouze et al., 2017; Charnot, 1945**).

En Inde, elle est couramment utilisée comme stimulant, dans les stades léthargiques de la fièvre typhoïde et surtout dans la paralysie des mahométans. Elle n'est pas souvent utilisée à l'intérieur, mais utilisée comme gargarisme et masticateur dans les

Synthèse bibliographique

conditions comme la luette détendue, l'aphonie, la paralysie de la langue et les muscles de la gorge et dans l'affection névralgique des dents. Elle agit comme un rubéfiant sur la peau car elle est un puissant irritant et agit également comme un sialagogue. La poudre des racines du *pyrèthre* est connue pour ses propriétés insecticides et antimycosiques et est employée contre la teigne, dans le traitement des rhumatismes, de la sciatique, des coups de froids, des névralgies et des paralysies, elle est utilisée ainsi dans la rhinite et l'épilepsie (**Usmani et al., 2016 ; Bachiri et al., 2015**).

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

Cette plante contient aussi des substances antiallergiques et des composants expectorants pour le traitement de la toux, le rhume, et surtout pour les poumons (**Choudhary, 2006**). Des effets anti-inflammatoires peuvent également être générés grâce à certains mono terpènes cycliques qui peuvent activer certaines glandes endocrines telles que les glandes surrénales pour produire des glucocorticoïdes comme le Cortisol, la cortisone et la corticostérone à effets anti inflammatoires (**Labre, 2007**).

Enfin, Le *pyrèthre* ne serait pas dénué de toxicité et plusieurs accidents ont été signalés suite à des usages thérapeutiques de cette plante. Le *pyrèthre* peut provoquer une irritation cutanée des muqueuses, des nausées et des troubles respiratoires. La prise par voie orale de la plante peut causer une irritation digestive, des gastro-entérites, des coliques, des diarrhées, des convulsions et de violents maux de tête (**Daoudi, 2014**).

Chapitre II : Les polysaccharides

1. Définition des polysaccharides

Il existe une vaste gamme des polysaccharides naturels de ressources diverses : les plantes, les microorganismes, les champignons, les organismes marins et les animaux possédant une magnifique diversité structurelle et fonctionnelle (**Heinz *et al.*, 2006**). Ces molécules sont parmi les substances clés qui composent les constituants fondamentales de la vie (**Heinz, 2005**).

les polysaccharides appelés également glycanes ou polyolosides sont définis comme des structures glucidiques polymériques composées d'unités mono-osidiques répétitif (enchaînement covalent de 10 à plusieurs milliers d'unités monosaccharidiques) reliées entre elles par des liaisons glycosidiques (**Yang *et al.*, 2015 ; Krausz *et al.*, 2013**).

On distingue des homopolysaccharides et des hétéropolysaccharides selon qu'ils présentent un ou plusieurs types de monosaccharides. En tant que biopolymères naturels, les polysaccharides sont stables, biodégradables, biocompatibles et non toxiques. Les polysaccharides à l'inverse des protéines et des acides nucléiques peuvent avoir une structure branchée aussi bien que linéaire (**Yang *et al.*, 2015 ; Rousseau et Domenjoud, 2005**).

2. Structure des Polysaccharides

2.1. Polysaccharides linéaires

C'est un polymère non ramifié constitué de résidus monosaccharidiques unis exclusivement par des liaisons (β 1,4), comme la cellulose (**Figure 5**); la configuration β permet aux structures chaises de tourner librement et d'adopter, pour une rotation de 180° les unes par rapport aux autres, c'est la conformation la plus stable qui conduit à la constitution de très longues chaînes. Ces dernières sont susceptibles de contracter entre elles des liaisons hydrogènes et de former alors des fibres très résistantes à l'étirement (**Serge et Pierre, 2004**).

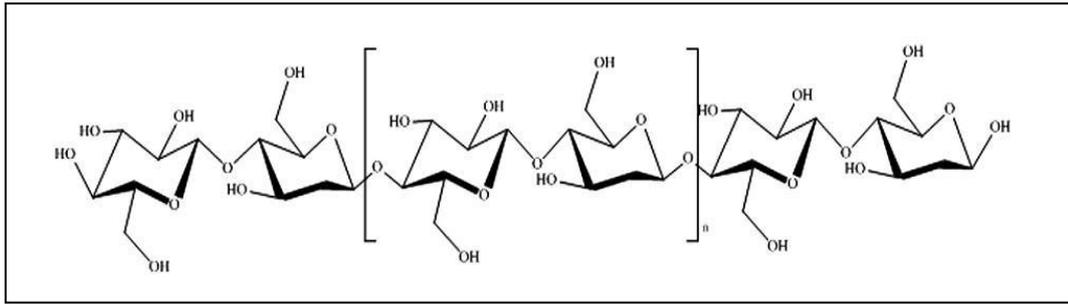


Figure 5: Structure de la cellulose (Ummartyotin et Manuspiya, 2015) .

2.2. Polysaccharides ramifiés

Sont mieux solubles que des polysaccharides parfaitement linéaires et leurs solutions ont une plus faible viscosité par rapport aux solutions de polysaccharides linéaires, comme le glycogène (**Figure 6**) qui est un polymère de résidus D-glucose avec des liaisons (α 1.4) et des liaisons (α 1.6) à l'origine de ramifications, mais ces dernières y sont plus nombreuses est la masse moléculaire des chaînes est très grande. La conformation des liaisons (α 1.4) est à l'origine de la structure hélicoïdale du glycogène; cependant, la nature ramifiée du glycogène s'oppose à la formation de longs segments d'hélice (**Serge et Pierre, 2004**).

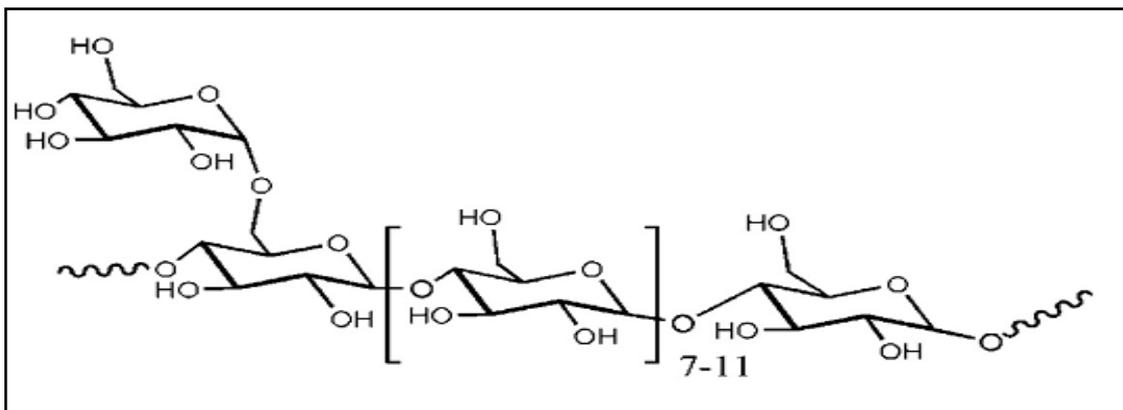


Figure 6: Structure ramifié du glycogène (Pal *et al.*, 2015).

3. Classification des polysaccharides

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur composition chimique, leur solubilité, leurs sources ou leurs applications (Yang *et al.*, 2015).

3.1. Selon la composition chimique

Les polysaccharides sont classés en deux types:

a. Les homopolysaccharides ou des homoglycans, qui sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Par exemple la cellulose et le glycogène sont constitués de glucose (Liu *et al.*, 2015).

b. Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycans, sont constitués de plus d'un type de monosaccharides, ils ne sont généralement formés que de quelque types de monosaccharides qui alternent selon une séquence répétitif tel que l'héparine (Rousseau et Domenjoud, 2005).

3.2. Selon la fonction biologique

Sur le plan biologique, on distingue deux types de polysaccharides :

a. Les polysaccharides de structure ou PS pariétaux: confèrent aux cellules, aux organes ou aux organismes une stabilité mécanique, comme la cellulose dans le règne végétal et la chitine dans la règne animal qui constitue la carapace des insectes et des crustacés.

b. Les polysaccharides de réserve: servent au stockage des sucres riches en énergie, comme l'amidon dans le règne végétal et le glycogène dans le règne animal. Ils sont des polymères du glucose qui assure les réserves d'énergie chez les êtres vivants (Krausz *et al.*, 2013; Ruff, 2008).

3.3. Selon leurs sources

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 les carraghénanes dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) (**Ruff, 2008**).

a. Polysaccharides végétaux

❖ **la cellulose:** est la macromolécule naturelle la plus importante et abondante dans la biosphère (**Heinze et al., 2012**). C'est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (**Serge et Pierre, 2004**). Elle est distribuée dans la nature dans les plantes, les animaux, les algues, les champignons et les minéraux. Cependant, la principale source de cellulose est la fibre végétale (**Orlando, et Rojas., 2016**).

❖ **L'amidon:** est l'hydrate de carbone principal dans la plupart des régimes, il est présent essentiellement dans les grains de céréales (blé, maïs) et certains fruits ainsi que dans les racines et tubercules (pomme de terre) (**Krausz et al., 2013**). Il se compose seulement des molécules de glucose et se présente sous forme partiellement cristalline en granules et comprend deux polymères: l'amylose linéaire et l'amylopectine fortement ramifié (**Cummings et Stephen, 2007**) .

❖ **La pectine:** les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes (**Zhang et al., 2015**). Ils représentent un groupe de polysaccharides contenant de l'acide galacturonique (GalA) qui se trouve dans les parois cellulaires de nombreuses plantes et plusieurs taxons d'algues (**Ramawat et Mérillon, 2015**).

b. Les polysaccharides animaux

❖ **Le glycogène:** le plus important biopolymère polyosidique qui permet la mise en réserve d'énergie chez les animaux où il apparaît, au sein des cellules, sous la forme de gros granules. Le glycogène est particulièrement abondant dans les hépatocytes (10 % environ du poids de l'organe) et les myocytes (1 à 2% de la masse musculaire) (**Serge et Pierre, 2004**).

❖ **La chitine:** un autre polysaccharide structural des animaux est la chitine, qui se trouve également dans les parois cellulaires de certains champignons. La chitine est apparentée à la cellulose. Techniquement, la chitine est un glycosaminoglycane car elle contient un aminosucre comme une unité monomère (**Fraser-Reid et al., 2008**).

c. Les polysaccharides bactériens et fongiques

Les parois cellulaires bactériennes contiennent un matériau structural appelé peptidoglycane ou muréine. Cette substance est composée de chaînes de glycosaminoglycane réticulées avec des peptides pour former un réseau tridimensionnel (**Fraser-Reid et al., 2008**). Les micro-organismes produisent une grande variété d'exo-polysaccharides avec des caractéristiques physiques et chimiques uniques. En raison de leur structure, ils ont des applications potentielles dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (**Singh et al., 2015**).

d. les polysaccharides extraits d'algues

Les algues sont riches en polysaccharides sulfatés, ils sont utilisés dans la médecine traditionnelle en raison de leurs avantages pour la santé. les polysaccharides sont reconnus pour posséder un certain nombre d'activités biologiques : anticoagulant, activités antivirales et immuno-inflammatoires telle que la Carraghénanes, le Fucoïdane et le Ulvane (**Jiao et al., 2011**).

4. Utilisation des polysaccharides en biologie

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine confère à ces macromolécules de nombreuses activités biologiques. Ainsi grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également de l'activité de nombreuses enzymes. De telles molécules aux multiples fonctions spécifiques peuvent être exploitées en thérapeutique (**Colliec-Jouault et al., 2004**).

L'utilisation des polysaccharides pour l'application pharmaceutique est intéressante car ils sont économiques, facilement disponibles, non toxiques, capables

d'être chimiquement modifiés, potentiellement biodégradables et, à quelques exceptions biocompatibles (**Valentin, 2011**).

4.1. Polysaccharides antioxydants

Des études récentes ont démontré que beaucoup de polysaccharides naturels jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs induits par le stress dans les piègeurs de radicaux libres chez les organismes vivants (**Gao et al., 2015**). Les capacités antioxydantes des polysaccharides dépendent généralement de l'unité d'ose, des liaisons glycosidiques, du degré de ramification et de la conformation du polysaccharide (**Li et al., 2013**).

4.2. Polysaccharides immunostimulateurs

Des polysaccharides pectiques de plantes, de bactéries, de lichens et de champignons exercent des effets sur le système immunitaire humain (**Angone et al., 2010**). Certains polysaccharides isolés de champignons, sont connus pour stimuler les cellules NK (Natural Killer), les cellules T, les cellules B et les réponses des macrophages-dépendantes du système immunitaire (**Wasser, 2002**).

4.3. Polysaccharides hypoglycémiantes

L'administration orale du polysaccharide diminue de manière significative les niveaux de glucose, les triglycérides, le cholestérol total, (LDL-cholestérol) sanguins. Ce polysaccharide augmente aussi les niveaux des lipoprotéines de haute densité-cholestérol (HDL-cholestérol) et d'insuline chez les souris diabétiques, parallèlement à une augmentation du poids du pancréas (**Zhou et al., 2015 ; Van Kessel et al., 2013**).

4.4. Polysaccharides antiviraux

Certains polysaccharides extraits d'algues ont des propriétés antivirales et sont beaucoup moins cytotoxiques que les médicaments conventionnels. Les agents antiviraux et la chimiothérapie combinés peuvent offrir plus d'avantages que la monothérapie, accroître l'efficacité, la puissance et le retard de l'émergence de virus résistants (**Aguilar-Briseño et al., 2015**).

4.5. Polysaccharides antibactériens

Certains polysaccharides hydrosolubles ont une activité antibactérienne élevée contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Qian, 2014). Ils sont résistants à l'hydrolyse par le suc gastrique artificiel et l' α -amylase (Wang *et al.*, 2015).

4.6. Polysaccharides anticancéreux et antitumoraux

Les polysaccharides isolés du corps fructifiant du champignon agissent directement sur les cellules tumorales et les endopolysaccharides de manière indirecte. Ces derniers agissent sur le système immunologique. Les recherches ont déjà pu démontrer ses effets anti-inflammatoire, anticancéreux, antiallergique, inhibiteur de la HIV protéase. Il semble que le mélange des polysaccharides, d'endopolysaccharides et d'autres molécules agissent de concert pour attaquer des cellules cancéreuses (Gotez, 2017).

4.7. Polysaccharides radio-protecteurs

Le rayonnement ionisant est une onde ou une particule électromagnétique, ce qui peut induire des blessures aiguës et chroniques à l'hématopoïèse, le système immunitaire et les systèmes vasculaires cérébraux dans le corps humain. Les lésions induites par les rayonnements comprennent l'aberration chromosomique, des micronoyaux dans la moelle osseuse et la dégradation de l'ADN, ce qui peut finalement conduire à l'apoptose cellulaire excessive et manifester de nombreuses maladies génétiques dans l'organisme.

L'administration de polysaccharide extrait d'un champignon de la famille de Pleurotaceae peut effectivement augmenter la quantité d'ADN et réduire les taux d'aberrations chromosomiques et de micronoyaux dans la moelle osseuse de souris (Li *et al.*, 2015).

5. Effet des polysaccharides sur le système respiratoire

Un certain nombre d'études chez des adultes humains en bonne santé ont démontré des effets immunostimulants des polysaccharides oraux.

Les arabinogalactanes se sont révélés efficaces dans les essais contrôlés randomisés (Randomized Controlled Trial) (RCT) pour augmenter la prolifération lymphocytaire et le nombre de lymphocytes CD8 + et pour augmenter la réponse du sous-type IgG à la vaccination antipneumococcique.

Le furanose a été montré dans un RCT de personnes âgées en bonne santé pour diminuer l'incidence de la maladie respiratoire aiguë et de la durée des symptômes (**Ramberg *et al.*, 2010**).

D'autres études ont montré que certains polysaccharides ont un effet antiprolifératif dose-dépendant sur les cellules de cancer du poumon humain A549. Les résultats des tests biologiques ont montré que le polysaccharide a la capacité de provoquer un arrêt du cycle cellulaire en phase Gap1, d'activer les caspases 3 et 9 et de cliver le poly [ADP (ribose)] polymérase dans les cellules A549. Ce polysaccharide peut supprimer la croissance des tumeurs A549 et peut induire l'apoptose (**Wang *et al.*, 2014**).

Chapitre III : Aspect physiologique et pathologique des voies respiratoires

1. Aspect physiologique des voies respiratoires

1.1. Anatomie des voies respiratoires

La majorité des êtres vivants dépend fortement de la respiration cellulaire. La fonction du système respiratoire est d'assurer l'hématose (apport de dioxygène O₂, élimination du dioxyde de carbone CO₂). Cette fonction implique le transport (convection) de l'air ambiant jusqu'aux alvéoles, siège des échanges gazeux à travers la membrane alvéolo-capillaire par diffusion (transfert alvéolo-capillaire). Elle est accomplie par l'action de trois composantes fonctionnelles (**Figure 7**): des voies de conduction, des surfaces respiratoires et un appareil ventilatoire.

a. Les voies de conduction: véhiculent l'air entre le milieu extérieur et les surfaces respiratoires. Elles ont aussi le rôle d'humidifier, de réchauffer et de débarrasser l'air des poussières et des micro-organismes. *Les voies de conduction supérieures* comprennent la cavité nasale, les sinus du nez, le nasopharynx, l'oropharynx et le larynx. *Les voies de conduction inférieures* comprennent la trachée, les bronches et toutes leurs ramifications jusqu'aux bronchioles terminales.

b. Les surfaces respiratoires: sont spécialisées dans les échanges gazeux rapides entre le sang et l'air. Elles comprennent les bronchioles respiratoires, les canaux et sacs alvéolaires.

c. L'appareil ventilatoire: comprend les os et les muscles de la cage thoracique, du diaphragme et de l'abdomen, la plèvre, qui tapisse les deux poumons et la cavité thoracique, le tissu élastique des poumons, les centres respiratoires du tronc cérébral et des nerfs (**Bokov et Delclaux, 2015 ; Couture, 2013**).

1.2. Système immunitaire respiratoire

Le tractus respiratoire filtre plus de 10000 litres d'air ambiant par jour : le poumon doit en permanence neutraliser et éliminer les corps étrangers de l'air inhalé. Il

est donc logique que le poumon soit doté d'un système efficace de clairance et de défense (Adreassian, 1996).

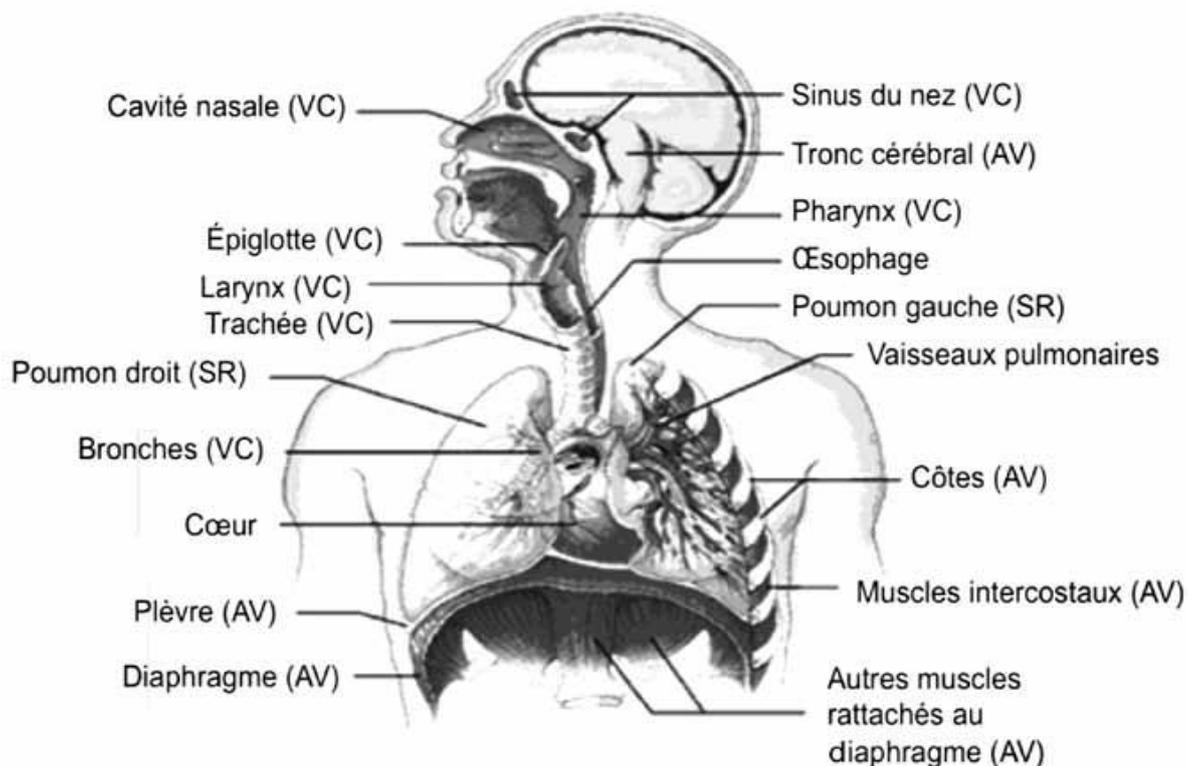


Figure 7: Les structures anatomiques appartenant aux voies de conduction, aux surfaces respiratoires et à l'appareil ventilatoire (Couture, 2013).

a. Première barrière de défenses: la première barrière de défense est constituée de barrières anatomiques: afin de pénétrer dans le poumon, l'air inhalé doit traverser les fosses nasales, la région nasopharyngée puis la région glottique avant de pénétrer dans l'arbre trachéobronchique. En effet, l'épithélium bronchique (**Figure 8**) est constitué de glandes et de cellules sécrétrices de mucus. De nombreuses cellules ciliées constituent également l'épithélium. Il régule le transport ionique et produit des mucines et des défencines qui sont impliquées dans la réponse immunitaire innée par la production de certaines cytokines et chimiokines particulières (**Chakir, 2009 ; Ferin, 1994**).

b. Deuxième Barrière de défense: le second mécanisme de défense est médié par l'immunité humorale et cellulaire. En effet, le poumon est riche en cellules immunitaires, de l'immunité innée comme adaptative, permettant de lutter contre tout antigène rencontré (Suzuki *et al.*, 2008).

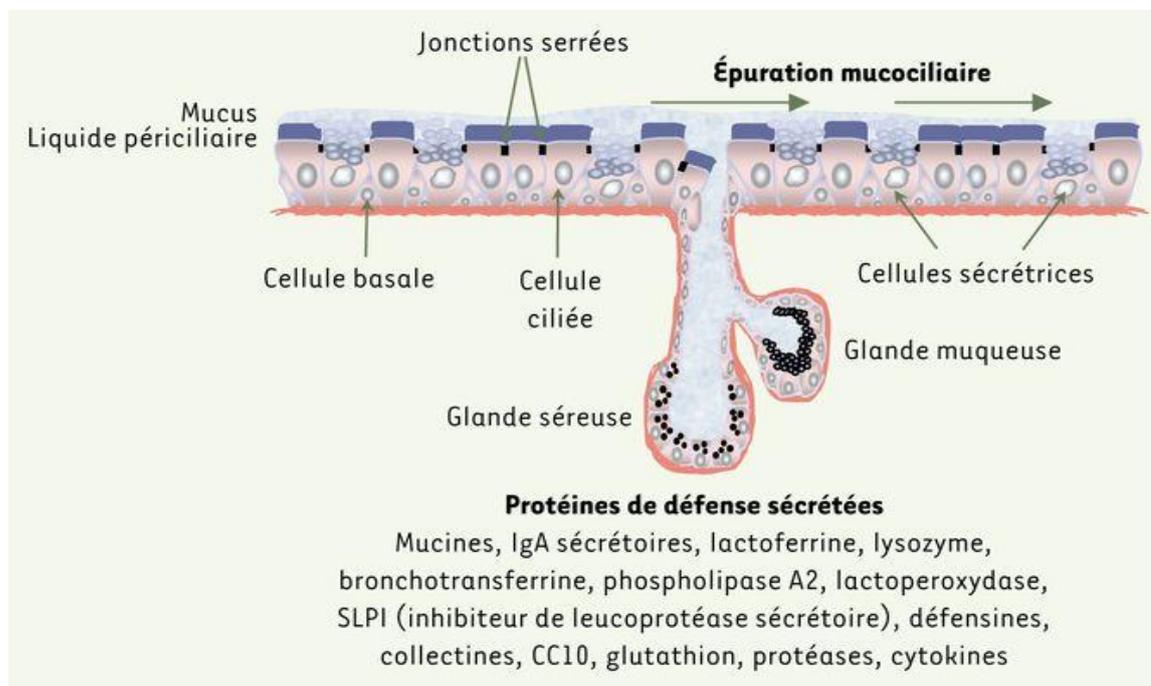


Figure 8 : Système de défense de l'épithélium respiratoire des voies aériennes (Coraux *et al.*, 2005).

1.3. L'inflammation respiratoire

(Allergie): l'allergie est une réaction exagérée spécifique du système immunitaire vis-à-vis d'une substance étrangère à l'organisme, mais aussi vis-à-vis d'un antigène, qui se comporte ainsi comme un *allergène*, ou en liant des molécules étrangères de petit poids moléculaire (*haptènes*). Alors que la réaction immunitaire renforcée (secondaire) exerce normalement une action protectrice lors de contacts répétés avec l'antigène (*immunisation*), elle conduit lors d'une allergie et par des mécanismes immunitaires très voisins à une *destruction* des tissus intacts. Dans chaque cas, ce sont des *réactions inflammatoires* qui provoquent des lésions (Silbernag et Lang, 1998).

a. Les différentes phases de l'inflammation respiratoire

❖ **la phase de sensibilisation:** lors du premier contact, l'allergène est pris en charge par une sorte de globules blancs sentinelles, les cellules dendritiques présentes au niveau du site de pénétration. Ces cellules capturent l'allergène, le découpent en petits morceaux et se déplacent jusqu'aux ganglions localisés à proximité du site de pénétration de l'allergène. D'autres globules blancs, les lymphocytes B, produisent alors des anticorps ou immunoglobulines de type E (IgE) capables de reconnaître de façon tout à fait spécifique à l'allergène. Ces protéines solubles produites par le système immunitaire reconnaissent leur cible et des cellules du système immunitaire par l'autre extrémité (partie Fc) (FFA, 2014). Lors d'une nouvelle exposition à l'allergène, ce dernier se combine aux IgE elles-mêmes fixées sur la membrane des cellules effectrices et induit un pontage et une modulation des récepteurs Fcε. Ce phénomène est suivi de l'activation de divers systèmes enzymatiques, puis de l'extrusion rapide des granulations intra-cytoplasmiques et de la synthèse plus lente des médiateurs (Figure 9) (Ponvert et Weill, 2003).

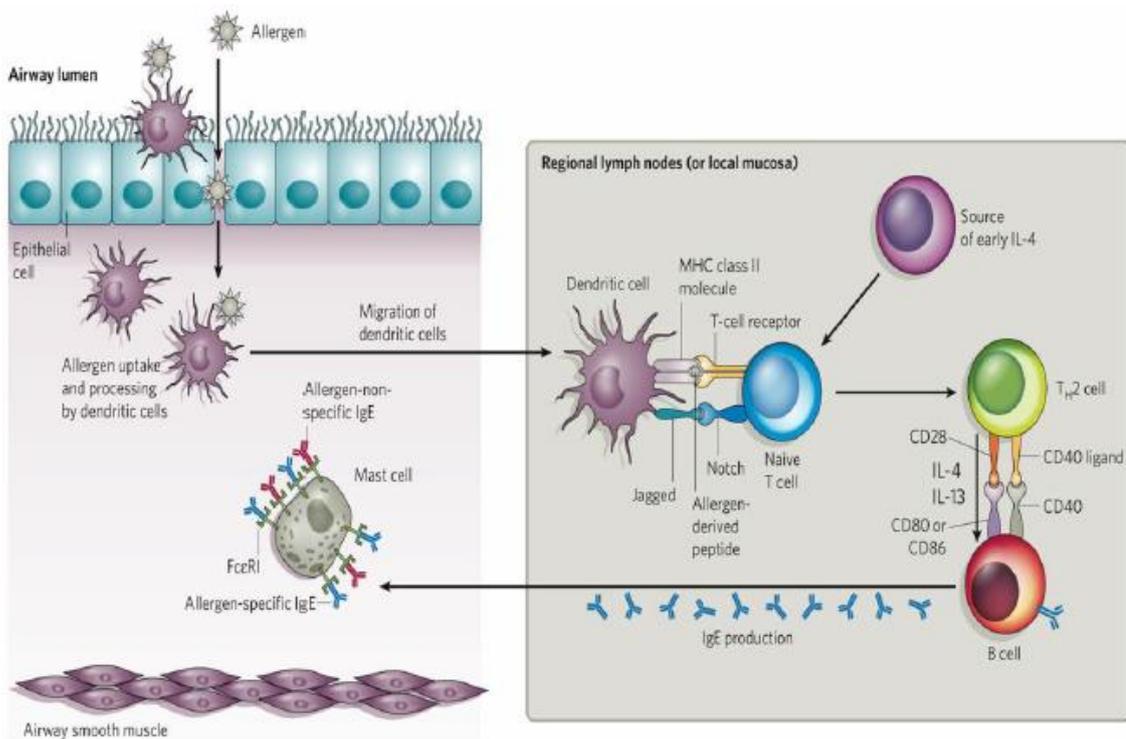


Figure 9 : Phase de sensibilisation aux allergènes (Galli *et al.*, 2008).

Synthèse bibliographique

❖ **La phase immédiate:** une phase précoce, de survenue rapide (quelques minutes après le contact avec l'allergène) qui provoque des symptômes tels que les éternuements, la crise d'asthme ou les démangeaisons de la peau (FFA, 2014; Ponvert et Weill, 2003). La réaction immédiate résulte de la libération de médiateurs préformés ou rapidement synthétisés. Elle est caractérisée par une dilatation capillaire intense avec exsudation, spasme des muscles lisses, hypersécrétion de mucus et stimulation des extrémités nerveuses. L'activation mastocytaire entraîne également le recrutement progressif et l'activation de plusieurs types de cellules sanguines : polynucléaires neutrophiles, basophiles, éosinophiles, lymphocytes T, monocytes et cellules dendritiques. Cet infiltrat est responsable de la phase retardée ou chronique de l'inflammation allergique (Figure 10) (Delespesse, 2012).

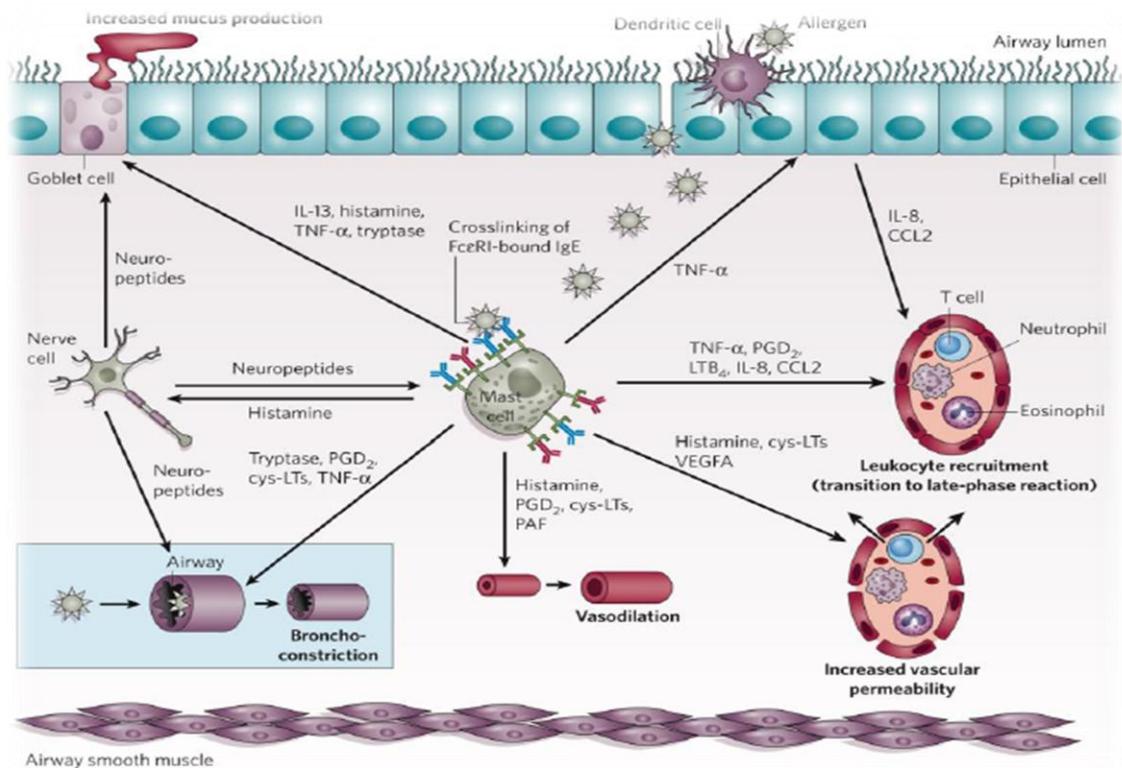


Figure 10 : La réaction immédiate (Galli *et al.*, 2008).

❖ **La phase retardée ou tardive** : la réaction retardée, qui apparaît 4 à 6 heures après l'exposition à l'allergène, correspond à l'accumulation de l'ensemble des cellules inflammatoires (FFA, 2014). Cette phase est caractérisée par une réaction inflammatoire lente à régresser (Ponvert et Weill, 2003). Elle est induite par la synthèse et la libération de médiateurs comme les leucotriènes, les chimiokines et des cytokines qui activent les mastocytes. Ces cellules vont recruter sur le site de l'inflammation d'autres leucocytes comme les éosinophiles et les lymphocytes Th2 (T helper) (Ponvert, 2002). La réaction retardée génère les mêmes symptômes allergiques que la réaction immédiate mais de façon plus chronique (FFA, 2014), elle est responsable de la majorité des maladies chroniques, comme l'asthme et la rhinite allergique (Figure 11) (Janeway *et al.*, 2003).

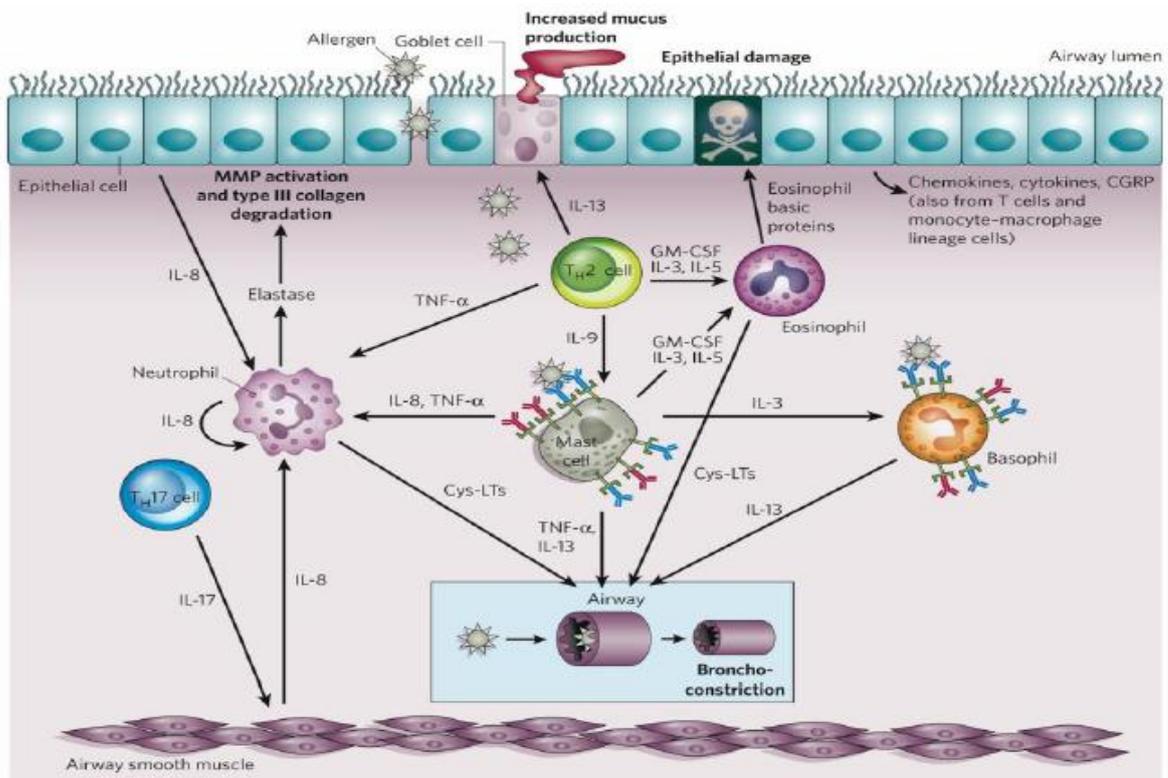


Figure 11: La réaction retardée (Galli *et al.*, 2008).

b. Les acteurs cellulaires de la réaction inflammatoire

❖ **Les macrophages:** résident dans presque tous les tissus et sont la forme mature de monocytes, ils circulent dans le sang et migrent continuellement dans les tissus, où ils se différencient. Les macrophages sont des cellules qui ont relativement une longue durée de vie et effectuent plusieurs fonctions différentes (**Manzoor, 2016**). Ils ont à la fois un rôle de phagocytose, de présentation d'antigène et des activités sécrétoires. Ils sécrètent en particulier les prostaglandines, les leucotriènes, des cytokines et des facteurs de croissance tels que IL-1 (Interleukine), IL-10, TNF α (Tumor necrosis factor), TGF β (Transforming growth factor), IFN γ (Interféron) (**Demoly, 2005**).

❖ **Les cellules dendritiques:** représentent une population cellulaire très hétérogène issue de la cellule souche CD34+ de la moelle osseuse. Après passage dans le sang, les cellules dendritiques colonisent les tissus périphériques où elles forment un vaste réseau sentinelle du système immunitaire surveillant le passage, dans leur environnement, des différents antigènes (bactéries, virus, parasite, allergène...). Au niveau des voies aériennes, les cellules dendritiques sont présentes de la muqueuse nasale jusqu'aux alvéoles pulmonaires. Les cellules dendritiques des voies aériennes présentent de longs prolongements cytoplasmiques, s'insérant entre les cellules résidentes et notamment les cellules épithéliales des voies aériennes, leur permettant de capturer les antigènes de l'environnement. Du fait du faible nombre de cellules dendritiques au niveau des voies aériennes, elles sont caractérisées par une forte capacité d'internalisation des antigènes au niveau des voies aériennes et la polarisation de la réponse immunitaire par la sécrétion d'un certain nombre de cytokines impliquées dans l'orientation de la réponse immune (**Deslee et al., 2004**).

❖ **Mastocytes:** sont présents dans la plupart des tissus bordant les vaisseaux sanguins (tissu conjonctif et muqueuses). Ils contiennent de nombreux granules riches en médiateurs de l'inflammation. Ils jouent un rôle majeur dans la phase aiguë du processus inflammatoire. L'activation des mastocytes, en particulier par leur récepteur de haute affinité des IgE (Fc ϵ RI), conduit à la dégranulation et la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires dont l'histamine qui peut être directement impliquée dans la contraction du muscle lisse bronchique (broncho-constriction) et l'augmentation de la

perméabilité vasculaire et microvasculaire (**Létuvé et Taillé, 2013**). Les mastocytes peuvent également être activés par d'autres mécanismes indépendants des IgE, tels FcγRI (récepteur du complément), les TLR et l'IL-33. Cette activation générale des mastocytes contribuerait à la majoration d'une hyperréactivité bronchique et à une inflammation chronique, y compris à l'infiltration des éosinophiles, des neutrophiles, des cellules dendritiques et des lymphocytes CD4+ (**Pham Van, 2010**).

❖ **Basophiles:** sont des granulocytes qui proviennent des progéniteurs CD34+. Ils complètent leur maturation dans la moelle osseuse puis en sortent sous leur forme mature. Ils sont riches en granules basophiles et ils ont les mêmes précurseurs sanguins que les mastocytes tissulaires. Dans les tissus, les basophiles sont très peu présents. Ils ont une demi-vie courte de quelques jours environ (**Pham Van, 2010**). Les basophiles circulants expriment divers récepteurs incluant des récepteurs de cytokines (récepteurs pour l'IL-2, l'IL-3, l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-33), de chimiokines (notamment CCR2, CCR3), du complément, de facteurs de croissance et des récepteurs aux Fc des Ig (**Ait Yahia-Sendid, 2012**). Les basophiles, comme les mastocytes, participent à l'initiation de l'inflammation allergique, par l'intermédiaire de la fixation des IgE spécifiques sur le récepteur FCεRI. Ils sont également impliqués dans la différenciation Th2 des lymphocytes T, via leur sécrétion d'IL-4 et d'histamine et ils ont un effet sur les cellules Th2 mémoires par la sécrétion de l'IL-25 (**Pham Van, 2010**). La production d'IL-4 et d'IL-6 par les basophiles contribue de plus à la réponse humorale aux stimulations antigéniques répétées, en favorisant la prolifération des lymphocytes B et la production des anticorps (**Ait Yahia-Sendid, 2012**).

❖ **Les neutrophiles:** sont les cellules les plus nombreuses et les plus importantes dans les réponses immunitaires innées (**Manzoor, 2016**). Les neutrophiles activés pourraient produire des médiateurs moléculaires impliqués dans la réaction pulmonaire allergique tels que les lipides (LTA4, LTB4, PAF...) les cytokines (IL-1β, IL-6, TNF-α, TGF-β, CXCL8), les protéases (élastase, collagénase...) et les dérivés oxygénés. 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 (**Ait Yahia-Sendid, 2012**).

❖ **Eosinophiles:** renferment de grosses granulations avec des protéines basiques majeures et une peroxydase. La membrane plasmique est riche en récepteurs pour les PAMPs, le C3b, le fragment Fc des Ig et l'histamine. Une fois les cytokines et les chimiokines présentes dans les tissus, les éosinophiles contribuent à la manifestation des symptômes par le relargage de leurs granules contenant différents médiateurs proinflammatoires comme MBP (major basic protein), ECP (eosinophil cationic protein), EDN (eosinophil-derived neurotoxin) et EP (eosinophil peroxydase). À l'activation, les éosinophiles libèrent des superoxydes qui potentiellement induisent des lésions tissulaires et également des cytokines et des chimiokines (**Pham Van, 2010**).

❖ **Lymphocytes T:** se développent dans le thymus et sont par conséquent appelés cellules T. Cependant, leurs précurseurs se trouvent dans la moelle osseuse. Le récepteur distingue les cellules T des autres cellules lymphoïdes (**Nijkamp et Parnham, 2011**).

- **Lymphocytes Th2:** l'orientation vers un profil Th2 se fait sous le contrôle de nombreux facteurs incluant les conditions d'activation, la nature et la dose de l'antigène, la nature de la cellule présentatrice d'antigène et l'environnement en cytokines (**Bouaziz, 2014**). Les cellules Th2 jouent un rôle central dans l'inflammation allergique. Une fois l'activation de ces cellules est mise en place, l'expression des gènes codants pour l'IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 et GM-CSF augmente. 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), et la stimulation, maturation des éosinophiles (IL-3, IL-5 et GM-CSF) et des basophiles (IL-3), cellules effectrices essentielles de la réponse allergique. Les cellules Th2 différenciées sont recrutées dans le site inflammatoire par la production des chimiokines (**Pham Van, 2010**).

❖ **Les lymphocytes Th17:** le lymphocyte Th17 exerce un effet pro-inflammatoire, par l'intermédiaire des cytokines qu'il sécrète (IL17, IL21, IL22) (**Bettelli et al., 2007**). Outre les cellules Th17, les sources d'IL-17 incluent les lymphocytes $T\gamma\delta$, les cellules NK, les neutrophiles et les macrophages. L'expression de l'IL-17 est associée avec la présence de neutrophiles au niveau des voies aériennes et à

l'importance de l'hyperréactivité bronchique. Les Th17 majorent l'inflammation éosinophile bronchique induite par les antigènes (**Létuvé et Taillé, 2013**).

❖ **Les lymphocytes B:** La différenciation des lymphocytes B en plasmocytes synthétisant des IgE est régulée étroitement par les lymphocytes T et cela par le biais de l'IL-4 et l'IL-13. La synthèse des IgE nécessite en outre une interaction physique entre les lymphocytes B (LB) et T impliquant de nombreuses molécules de surfaces et d'adhésion (**Demoly et Bousquet, 2002**). 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. Le contact avec l'allergène dans la phase de sensibilisation induit la synthèse par les cellules B des anticorps IgE spécifiques de l'allergène. Cette phase met de deux à trois semaines pour se développer pleinement. Ces anticorps se fixent rapidement à leurs récepteurs de haute affinité (FcεRI) présents essentiellement sur les mastocytes et les basophiles (**Ait Yahia-Sendid, 2012**). Lorsqu'un contact ultérieur avec l'allergène inhalé est mis en place, la réponse est déclenchée par le pontage des molécules d'IgE liées aux FcεRI, ce qui entraîne la dégranulation immédiate des mastocytes et des basophiles avec libération des médiateurs dont l'histamine et de protéases suivie par la synthèse et la libération des médiateurs lipidiques et des cytokines inflammatoires peu de temps après (**Figure 12**). La réponse inflammatoire précoce provoque le recrutement de nombreuses populations cellulaires, y compris les basophiles, les éosinophiles et les cellules Th2 aux sites inflammatoires (**Pham Van, 2010**).

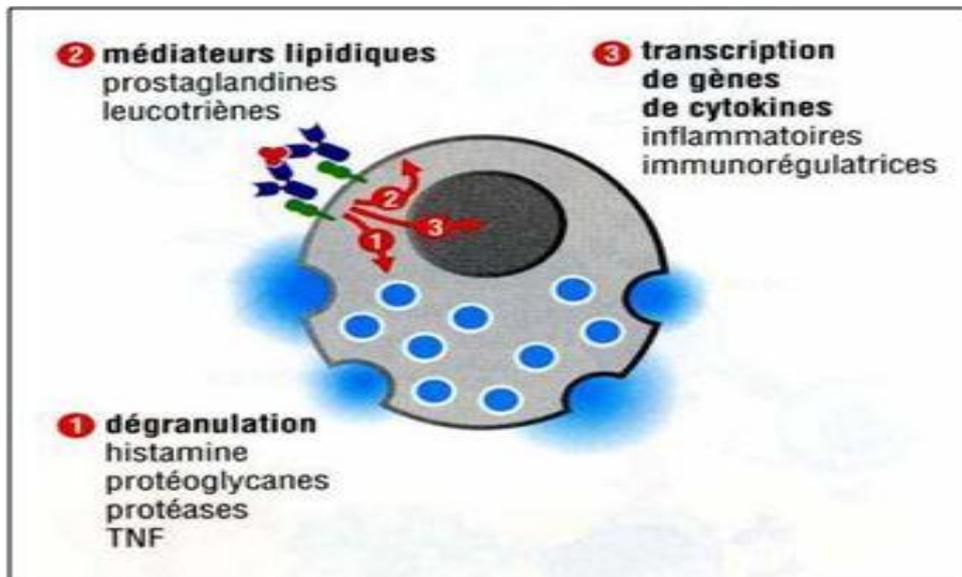


Figure 12 : L'activation des mastocytes déclenche une réaction allergique (Pham Van, 2010).

c. Médiateurs de l'inflammation asthmatique

Lors de l'inflammation, les cellules de l'immunité impliquées dans la réponse sécrètent plusieurs médiateurs.

❖ **L'histamine**: est un médiateur essentiel des effets immédiats des réactions allergiques très précoces et très actifs, et parce qu'elle est métabolisée rapidement (un temps de demi-vie d'une minute environ), les effets sont donc de courte durée (**De Franco *et al.*, 2009**). Ce médiateur est sécrété essentiellement par les basophiles et les mastocytes. Par son action directe sur les récepteurs H1 exprimés sur les cellules musculaires lisses, il conduit à une broncho-constriction puissante. Il entraîne aussi une extravasation vasculaire également dépendante des récepteurs H1, et par conséquent, un œdème muqueux qui participe à l'obstruction bronchique (**Ait Yahia-Sendid , 2012**).

❖ **Les cytokines**: sont des glycoprotéines qui assurent la communication et la coordination intercellulaire et interviennent aussi dans la croissance, la différenciation ou encore la mort cellulaire. On distingue des cytokines « Th1 » impliquées dans le mécanisme de défense immune à médiation cellulaire et des cytokines « Th2 » impliquées dans l'inflammation et la réaction allergique (**Bouaziz, 2014**).

❖ **Chimiokines:** le recrutement de cellules inflammatoires dans les voies respiratoires par des chimiokines est un processus essentiel au développement de l'inflammation allergique (**Pham Van, 2010**).

2. Aspect pathologique des voies respiratoires

2.1. Les Facteurs causaux des pathologies respiratoires

Les pneumallergènes ou allergènes aéroportés ou allergènes respiratoires sont présents dans nos environnements extérieurs et intérieurs, personnels ou professionnels (**Demoly, 2005**). Leur taille mesurée selon leur diamètre aérodynamique est très importante car les particules se déposent au niveau des fosses nasales (grosses particules de plus de 10 à 20 μm), de l'arbre trachéo-bronchique ou des alvéoles (très petites particules de 1 μm) en fonction de leur taille. Les pneumallergènes sont très souvent impliqués dans la genèse des rhinites, conjonctivites et asthme. On les classe en allergènes perannuels (Acarien de la poussière de maison HDM, moisissures et phanère d'animaux) et allergènes saisonniers (pollens et moisissures dans certaines régions). En fait, cette classification est artificielle, car le caractère perannuel ou saisonnier d'un allergène varie énormément d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre dans un même pays (**Demoly et Bousquet, 2002**).

2.2. Pathologies respiratoires

a. La trachéite: La trachéite est une inflammation de la muqueuse de la trachée qui s'accompagne souvent d'une laryngite ou d'une bronchite. Son origine est souvent virale, puis bactérienne. Elle peut aussi être due à des substances volatiles. Il existe des trachéites d'autres origines: post-traumatiques (intubation, post-trachéotomie), corps étrangers, tabac ... etc. Elle se manifeste par la toux spasmodique, à la moindre irritation trachéale, qui s'accompagne le plus souvent de : pharyngite, de laryngite, de bronchite, de sinusite avec rhinorrhée postérieure et des douleurs retro sternales surtout lors de la toux, (**Goetz et Ghédira, 2012**).

b. L'asthme: L'asthme est défini comme une pathologie chronique inflammatoire des voies aériennes. Cette maladie est caractérisée par des spasmes initialement réversibles; une hyper réactivité bronchique et une obstruction bronchique

réversible cela est du au rôle joué par les lymphocytes Th2 dans la physiopathologie de cette maladie. Cette cellule produit L'IL-13 qui agit sur les LB et a également un effet sur l'épithélium bronchique où elle entraîne une hypersécrétion de mucus conduisant à une hyper-activité bronchique (**Figure 13**). Typiquement, l'inflammation dans l'asthme est décrite comme étant allergique, éosinophilique en présence d'une concentration sérique d'IgE accrue et d'une diathèse allergique (**Gerd-Rüdiger et Pezzutto, 2000**). Le déclenchement de la maladie asthmatique est directement lié à l'exposition à certains allergènes comme: les pneumallergènes (acariens, pollens...); les trophallergènes (allergènes d'origine alimentaire comme l'œuf, le poisson, le lait) et certains médicaments (l'aspirine ou les anti-inflammatoires) (**Berthélémy, 2011**).

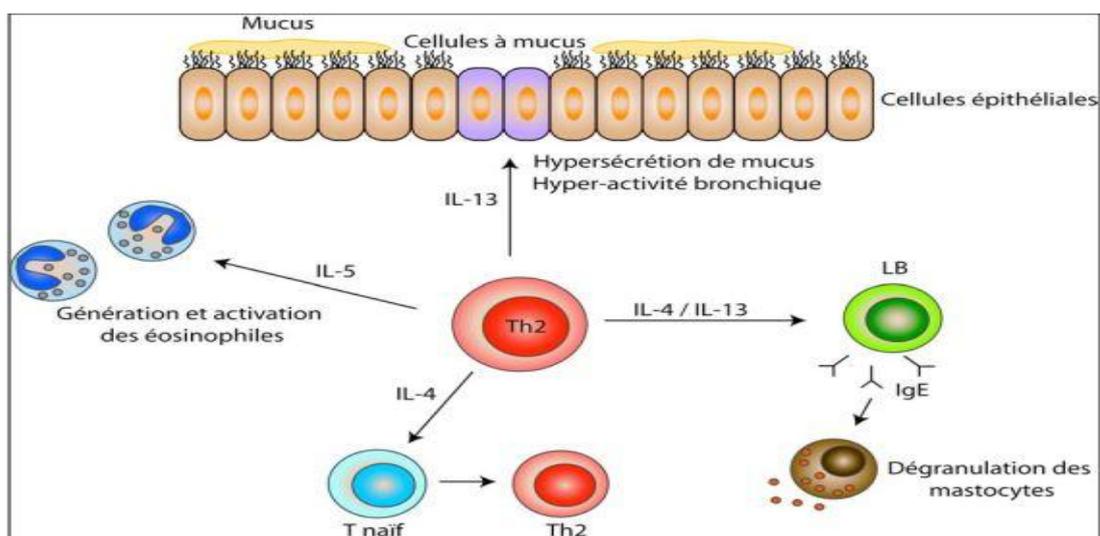


Figure 13: Rôle des lymphocytes Th2 dans la physiopathologie de l'asthme (Virginie, 2012).

c. La rhinite allergique: La rhinite allergique est une maladie très fréquente, il s'agit d'une inflammation chronique liée au contact de la muqueuse nasale avec des allergènes qui entraîne l'apparition de symptômes divers : congestion nasale bilatérale; écoulement nasal bilatéral clair; prurit palatin et nasal conjonctivite. Elle est également précédée par une phase de sensibilisation où des molécules d'IgE spécifiques des allergènes se fixent sur les mastocytes (**Berthélémy, 2011; Gerd-Rüdiger et Pezzutto, 2000**).

d. La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO): est une des maladies les plus fréquentes dans le monde. Elle représente la troisième cause principale de mortalité. Une exacerbation aiguë de la BPCO (EABPCO) désigne une exagération des symptômes de la bronchite chronique. Actuellement, les 3 critères d'Anthonisen paraissent les plus satisfaisants pour définir l'EABPCO : l'augmentation du volume de l'expectoration, la modification de son aspect qui devient purulent et l'augmentation de la dyspnée (Messousa *et al.*, 2018).

Étude expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes

1. Matériel biologique végétal

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des fractions des polysaccharides d'une plante médicinale "*Anacyclus pyrethrum*". L'extrait polysaccharidiques des racines de cette plante nous a été fournis (**Figure 14**).

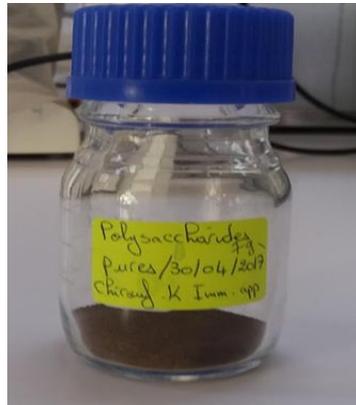


Figure 14 : Extrait polysaccharidiques d'*A. pyrethrum*.

➤ **Fractionnement des PS:** Pour la réalisation des objectifs de notre travail, l'extrait des PS des racines d'*A. pyrethrum* a subi un fractionnement selon le protocole présenté ci-dessous (**Figure 15**).

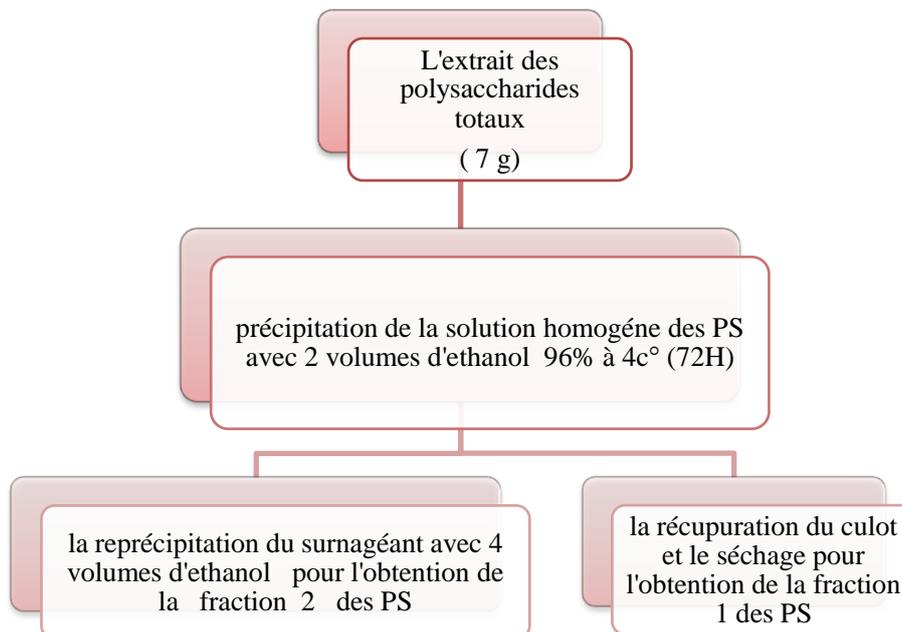


Figure 15: Schéma explicatif de la préparation des fractions polysaccharidiques.

Etude expérimentale

A partir de l'extrait polysaccharidique des racines d'*A. pyrethrum*, 7g de la poudre a été dissous en ajoutant 280 ml d'eau distillée, la solution est laissée 3h dans un bain marie à 80C°, puis agitée pendant 15mn pour obtenir 150 ml d'une solution homogène de polysaccharides.

La solution homogène de polysaccharides a subit une précipitation en ajoutant 2 volumes d'éthanol à 96% (pour une solution polysaccharidique de 150ml, 300ml d'éthanol sont ajoutés) (**Figure 16**), le mélange est laissé au réfrigérateur à 4C° pendant 72 h, puis centrifugé pendant 30 min à 6000 tr/min, le culot est récupéré, mis dans des boites de pétri pour séchage à l'aire libre (**Figure 17**) afin d'obtenir la fraction 1 qui est conservée dans un flacon hermétique.



Figure 16: Précipitation de la fraction1



Figure 17 : Séchage de la fraction1

Le surnageant récupéré après la premier centrifugation est reprécipité en ajoutant cette fois- ci 4 volumes d'éthanol (pour 191ml de la solution obtenue, 764ml d'éthanol sont ajoutés) (**Figure 18**). Après une période de précipitation de 72h à 4C°, le précipité est récupéré par une centrifugation de 6000tr/mn pendant 30mn à 4C°, puis placé dans des boites de pétri pour séchage et obtention de la fraction 2 (**Figure 19**).

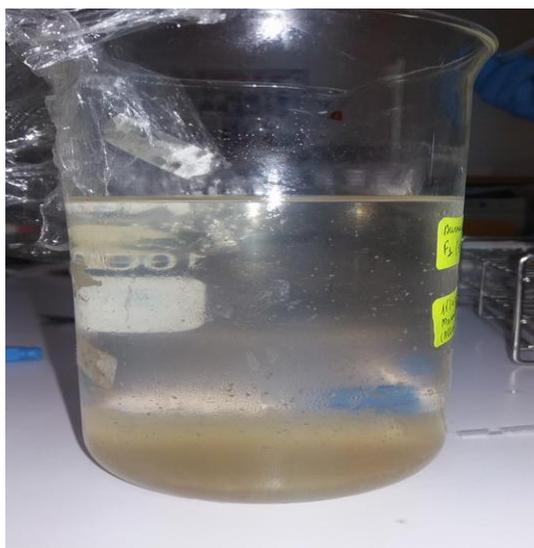


Figure 18 : précipitation de la fraction 2



Figure 19 : le broyat de la fraction 2

2. Modèle biologique animal

Les souris présentent certaines caractéristiques similaires à celles de l'homme, telles que la production des anticorps IgE, une inflammation éosinophilique et une hyperréactivité bronchique (Torres *et al.*, 2005).

Notre travail a été réalisé sur des souris males blanches « *Mus musculus* » (Figure 20), fournis par l'institut Pasteur (Alger). Elles sont âgées de huit semaines avec un poids corporel compris entre 29 et 40 grammes. Les manipulations pratiquées sont effectuées en respectant leur bien-être, excluant tout état de stress susceptible d'interférer avec les résultats.

Les souris sont élevées dans des cages en polypropylène assez transparentes avec pas plus de 4 animaux par cage pour permettre la surveillance sans déranger l'animal et nettoyées régulièrement pour éviter toute contamination. L'élevage s'est fait dans des conditions de laboratoire standard : lumière naturelle ; sombre ; température ambiante et une photopériode naturelle ainsi qu'un besoin alimentaire journalier composé d'aliment riche en graines (blé, maïs, graine de tournesol), du pain rassis et d'eau.



Figure 20: model biologique animal « *Mus musculus* » .

➤ Méthodes de traitement des souris

Après une période d'adaptation de 2 semaines, une inflammation respiratoire par *House Dust Mite* (HDM) (*pteronyssinus* extract) (**Figure 21**), a été provoquée chez 12 souris :

- le J_0 et le J_7 les souris ont reçu $2.5 \mu\text{g} / \text{ml}$ de HDM par voie nasal (**Madouri et al., 2015**) puis réparties en quatre groupes (en raison de 3 souris par groupe) .

- le J_{14} , J_{15} , J_{16} toutes les souris ont reçu $0.5 \mu\text{g} / \text{ml}$ de HDM (**Madouri et al., 2015**) , et en outre, les souris du premier groupe ont été traitées le $14^{\text{ème}}$ $15^{\text{ème}}$ et $16^{\text{ème}}$ jours par la fraction 1 polysaccharidique (50 mg/kg par voie intra péritonéale) ; les souris du deuxième groupe ont la fraction 2 (50 mg/kg par voie intra péritonéale) , les souris du troisième groupe ont été traité avec le corticoïde (Prednisolone) (**Figure 22**) (2 ml/kg par voie oral).

- les souris du quatrième groupe n'ont reçu aucun autre traitement et elles sont considérées comme souris allergiques

- 3 autres souris sont utilisées comme témoins et ont reçu la solution de NaCl à 0,9% (voire annexe) par voie intranasale à raison d'une dose de $5 \mu\text{l}$ par narine aux J_0 , J_7 , J_{14} , J_{15} et J_{16}

Le déroulement du traitement ainsi que les paramètres analysés sont présentés sur le diagramme ci-dessous (**Figure 23**).

Etude expérimentale



Figure 21 : Flacon d'HDM



Figure 22 : corticoïdes (Prednisolone)

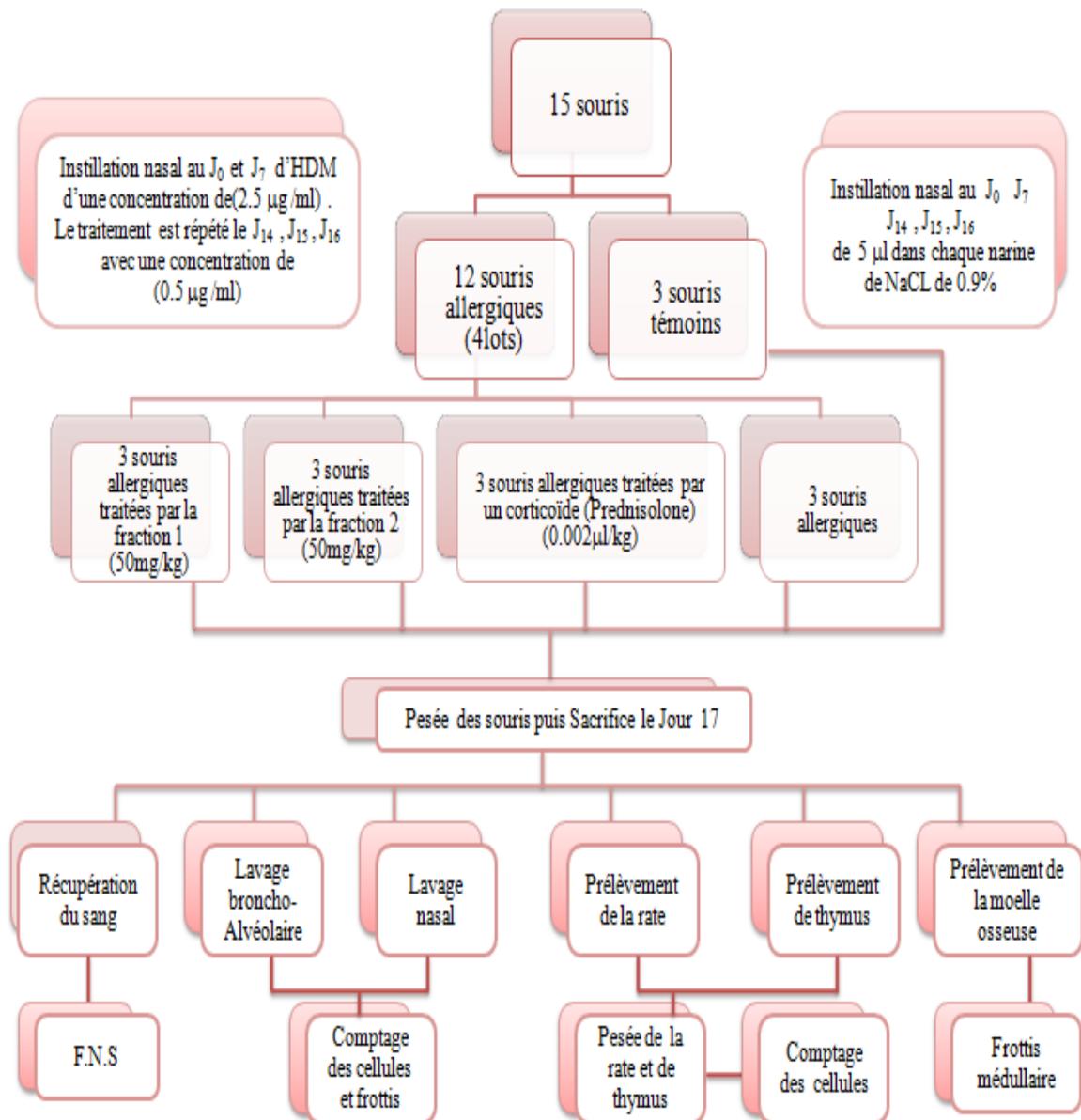


Figure 23 : Schéma explicatif du protocole expérimental.

➤ La formule leucocytaire sanguine

Suite à une décapitation partielle, le sang a été collecté dans des tubes à EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique) pour une énumération (par frottis) des différentes populations des globules blancs (**Figure 24**).



Figure 24 : Récupération du sang

➤ Lavage nasal

Un jour après le traitement par les fractions polysaccharidiques et par le corticoïde, les souris ont subi des instillations nasales de 1.5 ml de PBS (10 Mm) Ph 7.2 à 37C° (voire annexe) dans chaque narine à l'aide d'une seringue (**urbain et al., 1994**) (**Figure 25**). 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 0.2% (voire 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.



Figure 25 : Instillation nasal .

➤ **Le lavage broncho-alvéolaire**

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 (**Figure 26**) 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.

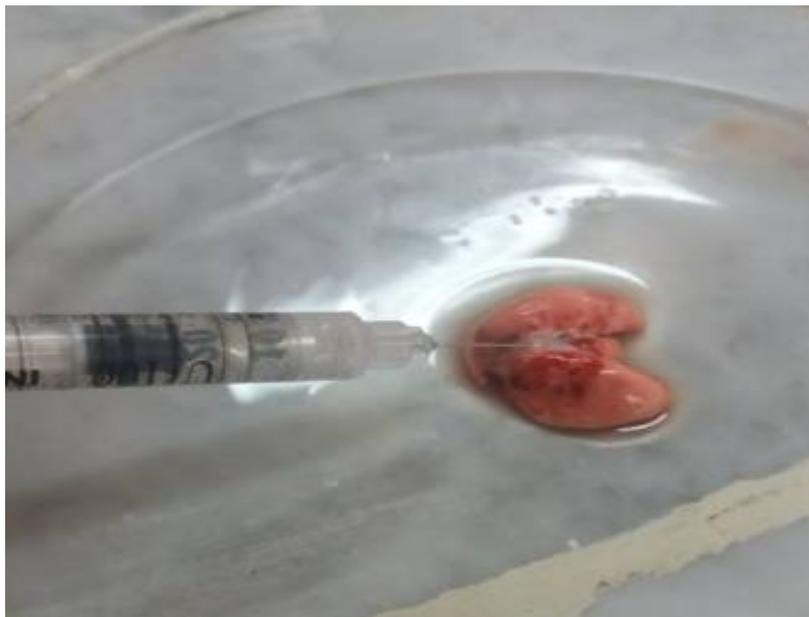


Figure 26: Lavage broncho-alvéolaire.

➤ Les Frottis du liquide broncho-alvéolaire et nasal

Des frottis des différents liquides nasaux et broncho-alvéolaires des souris traitées avec les fractions et le corticoïdes et des souris témoins sains et malades ont été réalisés puis colorés au **May-Grünwald-Giemsa**, soit comme suit :

Après l'étalement d'une goutte du liquide (nasal ou broncho-alvéolaire) en une couche mono cellulaire (Frottis), quelques gouttes de May-Grünwald sont déposées et laissées ainsi se fixer pendant 3 min. Puis 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée (voire annexe) sont déposées pendant 1 min en gardant la lame dans un mouvement rotatoire. Le frottis est recouvert, ensuite, avec des gouttes de Giemsa dilué (voire annexe) pendant 15 min et enfin lavé à l'eau neutre .

➤ Isolement des splénocytes

Après avoir pesé la rate, cette dernière a été déposée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et débarrassée de la graisse. A l'aide de deux pinces, la capsule a été vidée de son contenu cellulaire (**Figure 27**). La suspension cellulaire a été ensuite filtrée et centrifugée pendant 10 min à 1500 rpm. Le culot doit être suspendu dans 0,5ml de PBS et 4,5ml de solution de lyse des globules rouges (voire annexe) (**Daum et al., 1995**). Après une incubation de 10 min, la suspension a été centrifugée 10 min à 1500 rpm, le culot est ainsi remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugé 10 min à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois. A la fin du dernier lavage, le culot cellulaire a été repris dans 3ml de PBS. Le comptage des splénocytes s'effectue après avoir dilué 100µl de la suspension dans 900µl de bleu de trypan.

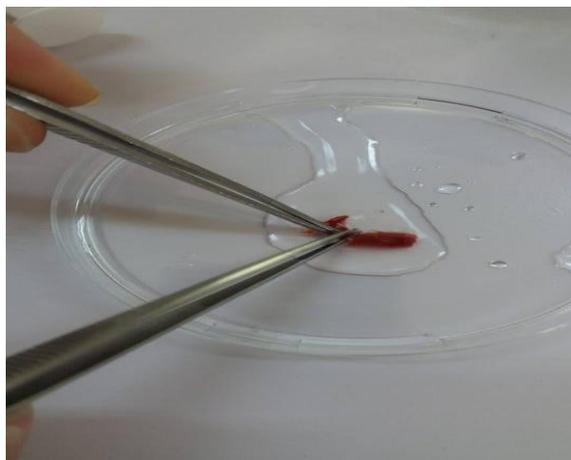


Figure 27 : Lacération de la rate .

➤ Isolement des thymocytes

Après avoir pesée le thymus, ce dernier est déposé dans une boîte de pétrie contenant 3ml de solution de PBS et débarrassé de la graisse, à l'aide de deux pinces (**Figure 28**). La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube en polypropylaine après être filtrée sur gaze fixée à un entonnoir puis centrifugé pendant 10 min à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 3 ml de PBS, puis la suspension est centrifugée 10 min à 1500 rpm. Cette dernière est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3 ml de PBS, centrifugé 10 min à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois.

A la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS et enfin l'énumération des thymocytes est réalisée après avoir dilué 100 µl de la suspension cellulaire dans 900 µl de bleu de trypan.

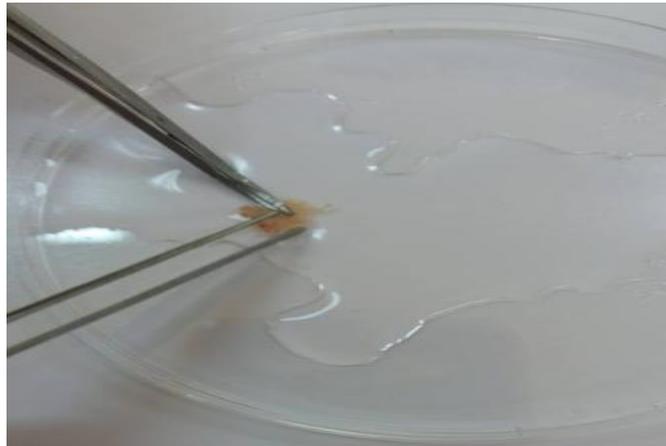


Figure 28 : Lacération de thymus .

➤ 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 :

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

➤ **Frottis médullaire**

Des frottis médullaires issus des différentes souris (témoins, malades, traitées avec les 2 fractions et avec le corticoïde) ont été réalisés puis colorés au **May-Grunwald-Giemsa**.

Un « grumeau » du suc médullaire est prélevé avec l'extrémité d'une lame et placé au tiers supérieur d'une autre lame. On fait glisser une lame propre sur la première sans appuyer trop fort, jusqu'à l'autre extrémité de la lame (**Figure 29**).

Le frottis est ensuite passé à la coloration au MGG. Après séchages les lames sont observées au microscope avec un grossissement de x10 et x40.

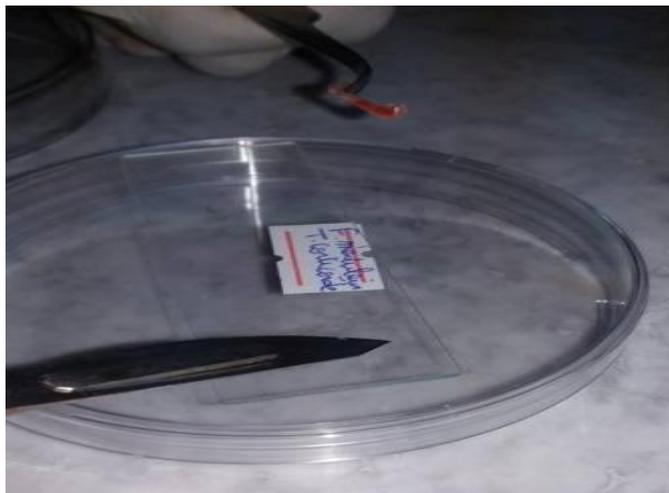


Figure 29 : Réalisation de frottis médullaire .

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Fractionnement des polysaccharides d'*Anacyclus pyrethrum*

Après avoir dissous 7g de l'extrait des polysaccharides totaux des racines de la plante médicinale utilisée (*Anacyclus pyrethrum*) dans de l'eau distillée à 80°C au bain marie, 150ml de la solution homogène de PS totaux a subit un fractionnement par précipitation avec 2 et 4 volumes d'éthanol afin d'obtenir deux fractions.

La première précipitation avec 2 volumes d'éthanol suivie d'une centrifugation nous a donné la fraction F1 de 4,37g avec un rendement de 62,42%.

Le surnageant est reprécipité avec 4 volumes d'éthanol et après une centrifugation 0,052g (fraction 2) sont obtenus avec un rendement de 0.74% (**Figure 30**).

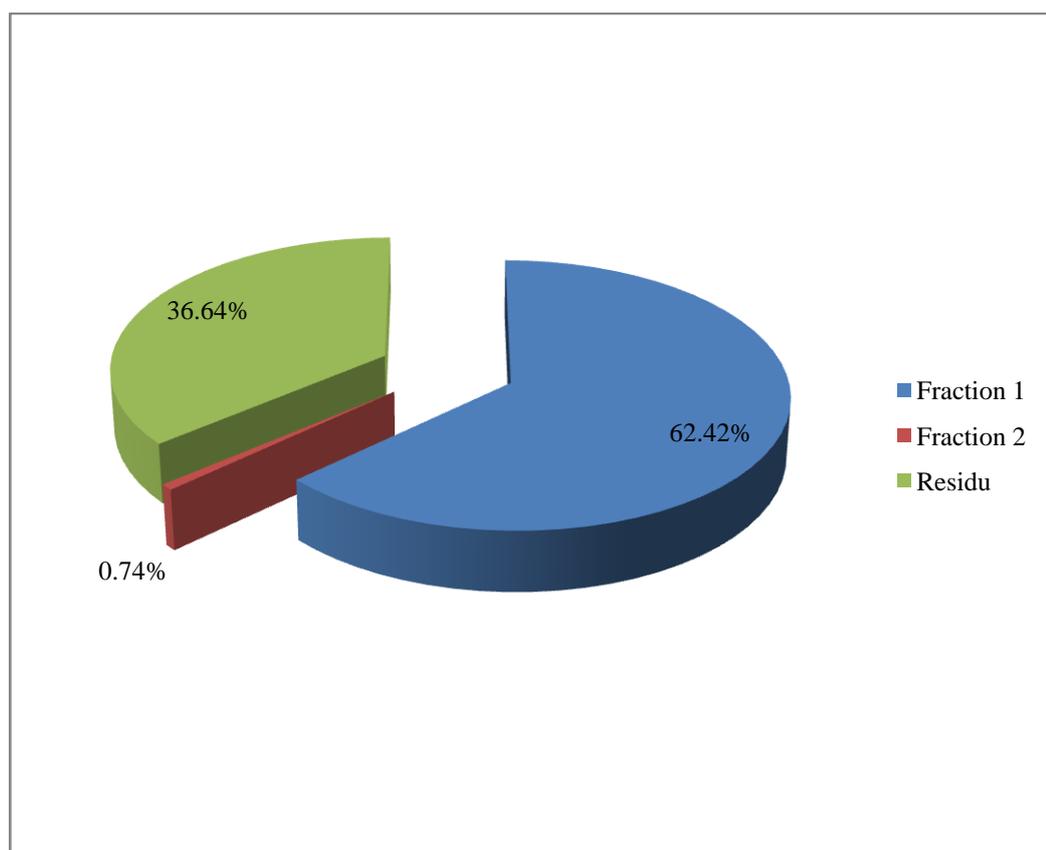


Figure 30 : L'obtention des fractions polysaccharidiques.

2. L'effet du traitement sur le poids corporel

Les résultats représentés par la **Figure 31** révèlent une diminution du gain de poids des souris allergiques, des souris traitées par le corticoïde «Prednisolone» et par la fraction 2 en les comparant avec celui des traitées par la fraction 1 et des témoins respectivement (souris allergiques: -3.33g, traitées par F2 : -1.66g, traitées par le Corticoïde : -2.33g, traitées par F1: +0.33g, Témoins: +2g).

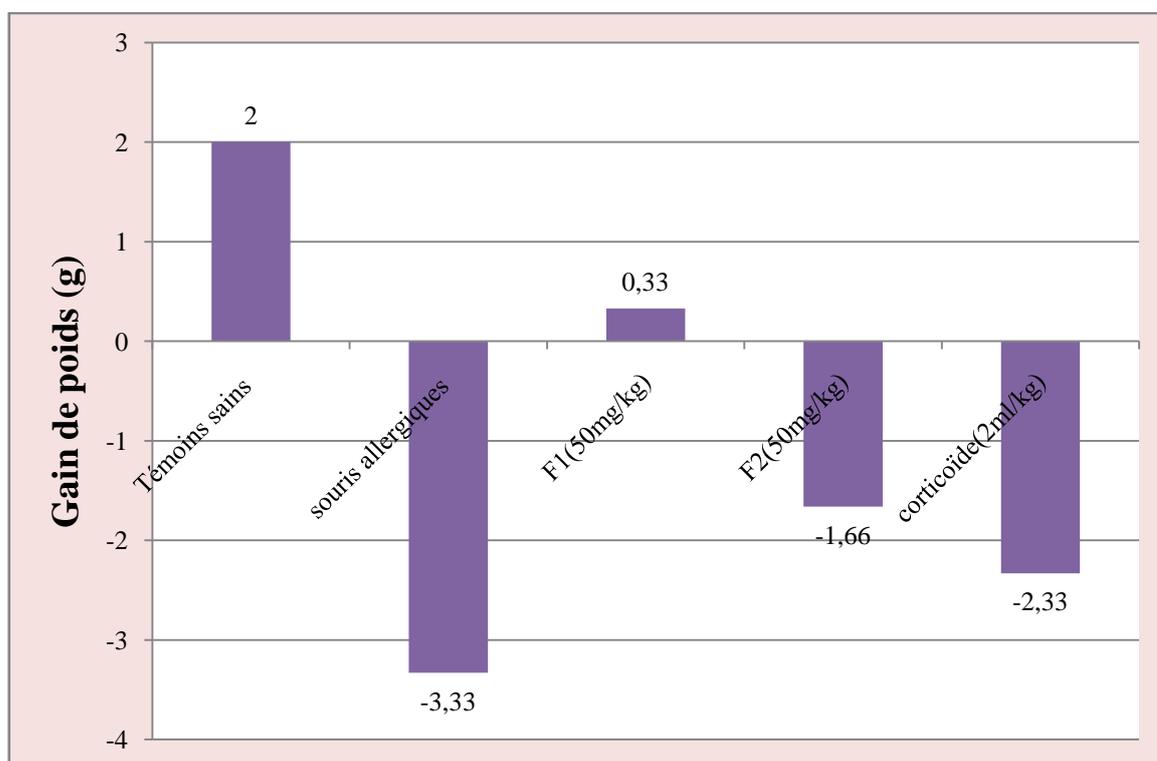


Figure 31: Effet des différents traitements sur la variation du gain de poids corporel des souris.

La diminution du gain de poids corporel observée après le traitement par le corticoïde Prednisolone est due à l'induction de l'amyotrophie proximale, l'ostéoporose et la fragilité cutanée qui accompagne l'utilisation des corticoïdes (**Le Jeune, 2012**). En outre, les corticoïdes provoquent un retard de croissance chez les petits, en raison d'une diminution de la maturation des plaques épiphysaires et une diminution de la croissance des os longs (**McKay et al., 2003**). Cela, explique la diminution du poids corporel des souris traitées par le Prednisolone. Ce résultat se coïncide avec celui de

Hristic et ses collaborateurs qui ont trouvé qu'une dose unique de dexaméthasone reçue induit une diminution du poids de naissance des rats (**Hristic et al., 1995**).

Le même résultat est enregistré après le traitement des souris par la fraction F2. Les souris traitées par la fraction F1 ne subissent pas de perte de poids par contre on a remarqué une faible prise en les comparant aux témoins sains.

3. Effet des fractions polysaccharidiques sur le système immunitaire respiratoire

2.1. Effet sur la formule leucocytaire

Le frottis sanguin est l'analyse des composants du sang. Cet examen permet de quantifier les principaux éléments du sang et orienter les diagnostics. Le **Tableau 2** et la **Figure 32** nous renseignent sur le nombre de leucocytes et le pourcentage des sous populations leucocytaires (lymphocytes, polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles). Le **Tableau 2** révèle une diminution du taux de leucocytes chez les souris allergiques, une légère augmentation chez les souris traitées par F1 et une augmentation importante chez les souris traitées par la F2 et par le corticoïde. La **Figure 32** indique une augmentation du taux des lymphocytes chez les souris allergiques et une diminution chez les souris traitées par la F2 et par le corticoïde, par contre chez les souris traitées par la F1, le taux des lymphocytes est comparable à celui des témoins. Concernant le nombre des neutrophiles, les résultats indiquent une augmentation de leur nombre chez les souris allergiques et traitées par rapport aux témoins. Cette augmentation est plus importante chez les traitées par la F2 et par le corticoïde. Pour les éosinophiles, on distingue une augmentation visible chez les souris traitées avec le corticoïde et par la F2 et une faible augmentation chez les souris allergiques et idem pour le nombre des basophiles.

Tableau 2 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre de leucocytes.

Lots	Souris saines	Souris allergiques	Souris traitées par la Fraction 1	Souris traitées par la Fraction 2	Souris traitées Par le corticoïde
Nombre de leucocytes x 10³/µl	5.31	3.96	5.77	7.51	7.77

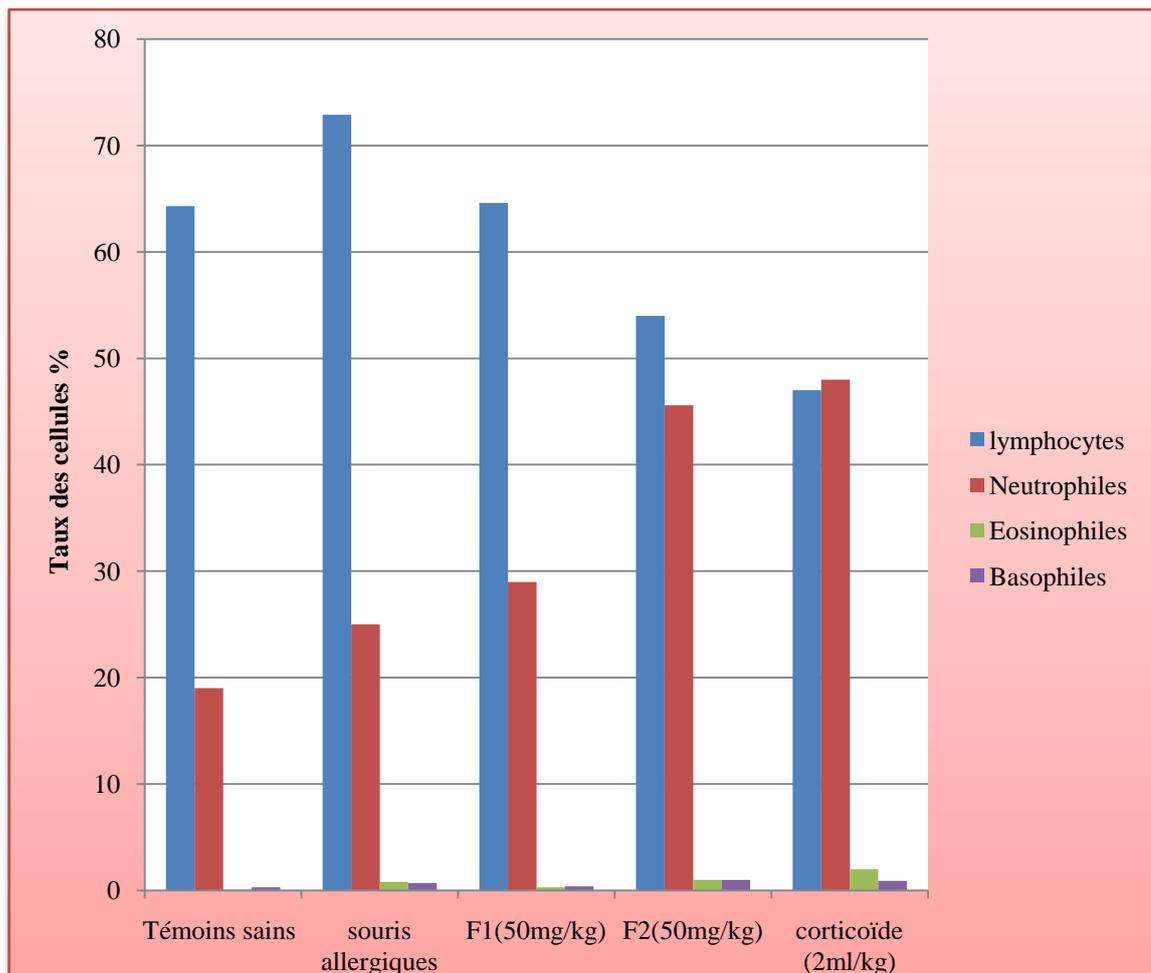


Figure 32: Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des différentes sous populations leucocytaires.

La diminution des leucocytes totaux chez les souris allergiques peut être expliquée par la sortie massive des monocytes du sang pour regagner les sites d'entrée de l'allergène et se transformer en macrophages afin d'installer une réponse inflammatoire. Alors que l'augmentation du taux des lymphocytes circulants est due à la production et la maturation accrues de ces derniers pour qu'ils soient recrutés au site inflammatoire afin de réagir spécifiquement contre l'allergène en installant une réponse humorale à base des IgE.

Concernant l'augmentation importante des leucocytes chez les souris traitées par le corticoïde et par F2, elle peut être expliquée par une leucocytose qui est due à une production accrue des neutrophiles à partir de la moelle osseuse. Cette hypothèse est

basée sur les études qui ont démontré que les corticothérapies sont généralement accompagnées par une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles (PNN) qui est la conséquence de l'accélération de la sortie de ces cellules de la moelle osseuse d'une part, d'autre part, du freinage de la capacité des neutrophiles à adhérer aux cellules endothéliales suite à une réduction de l'expression de la L-sélectine sur les neutrophiles et de la P-sélectine sur les cellules endothéliales cela diminue la diapédèse des neutrophiles et se traduit par l'augmentation de leur nombre dans le sang circulant (McKay *et al.*, 2003; Guilpain et Le Jeune, 2012).

La diminution du nombre des lymphocytes circulants chez les souris traitées par le corticoïde et par F2 au dessous de la valeur enregistrée chez les souris témoins, peut être expliquée par la lyse des lymphocytes circulants (lympholyse) (Kindt *et al.*, 2007). L'apparition d'une lymphopénie après l'administration de corticoïdes est due à la mort cellulaire par apoptose suite à la destruction de l'ADN (Bloemena *et al.*, 1990). Les mécanismes exacts de cette apoptose sont mal connus, mais on sait que les glucocorticoïdes induisent, au niveau du noyau, la synthèse d'endonucléases susceptibles de détruire l'ADN. Ils augmentent aussi la concentration de calcium intracellulaire et inhibent la biosynthèse du cholestérol. Les cellules contiennent donc des mécanismes dont l'activation peut conduire à leur propre mort [2].

3.2 Effet des fractions polysaccharidiques sur le liquide nasal et le lavage broncho-alvéolaire

a. liquide nasal

Les résultats de la **Figure 33** et la **Figure 34** montrent une augmentation remarquable des cellules leucocytaires du liquide nasal après une sensibilisation par l'HDM chez les souris allergiques par rapport aux témoins. Le nombre de cellules a diminué chez les souris traitées par F1 pour atteindre le niveau observé chez les souris témoins. En revanche, les souris traitées par F2 et par le corticoïde ont subi une diminution du nombre des cellules dans le liquide nasal en le comparant avec celui des souris allergiques.

Cette augmentation chez les souris allergiques peut être expliquée par le recrutement des cellules inflammatoires et d'autres types cellulaires de la réponse spécifique au site d'entrée des allergènes afin de cerner l'invasion. En revanche, la

Etude expérimentale

diminution du nombre de ces cellules suite au traitement par le corticoïde et les fractions polysaccharidiques est due à l'activité anti-inflammatoire exercée par ces traitements. Notons que la fraction F1 est la plus efficace car elle a abaissé le niveau cellulaire aux normes (souris témoins).

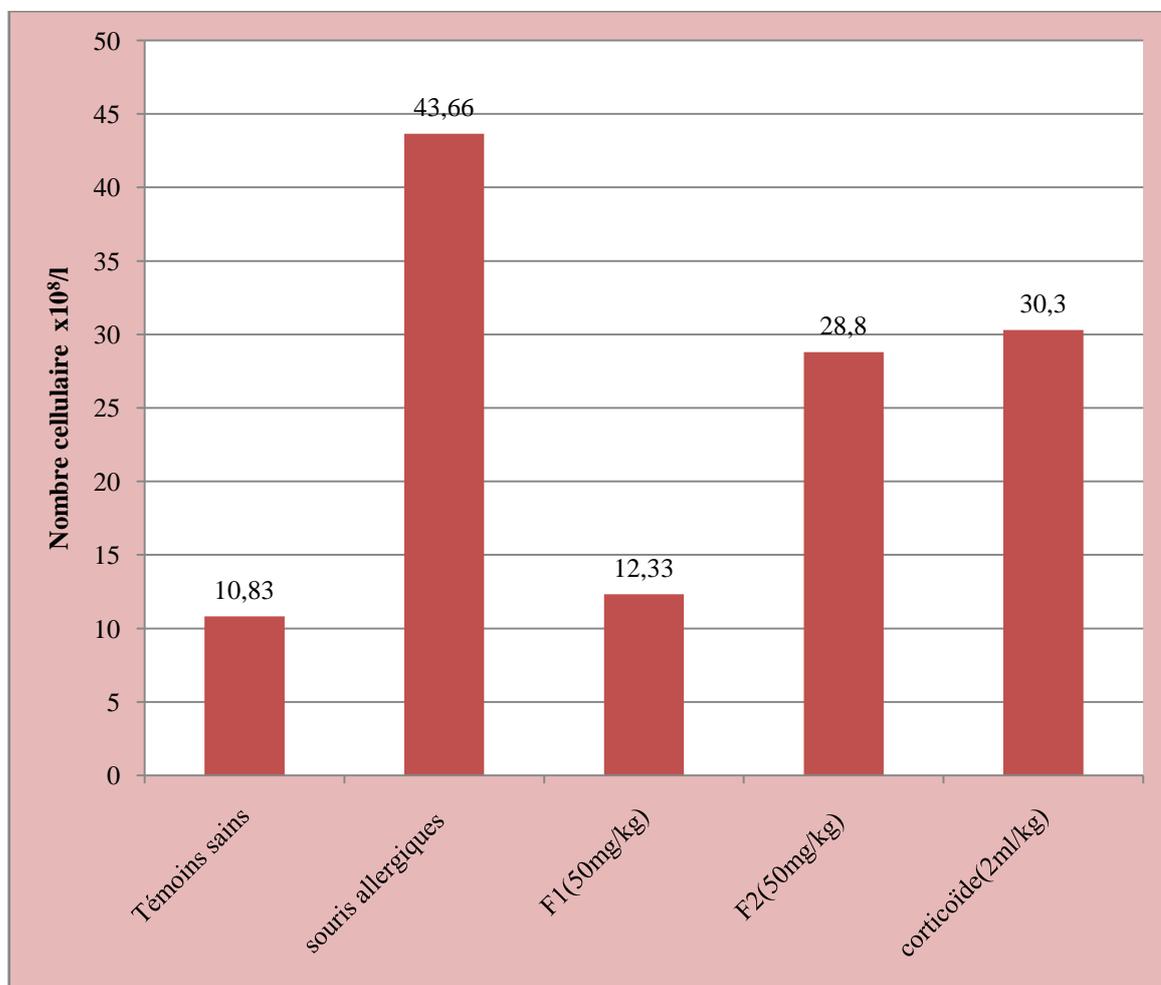
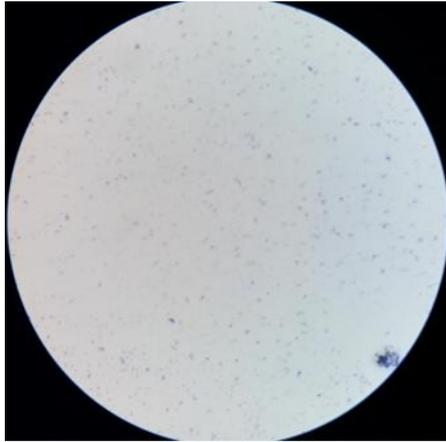
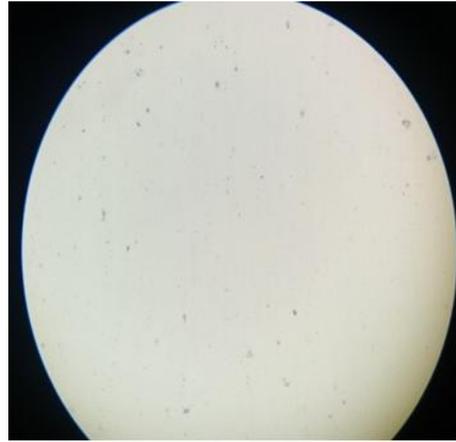


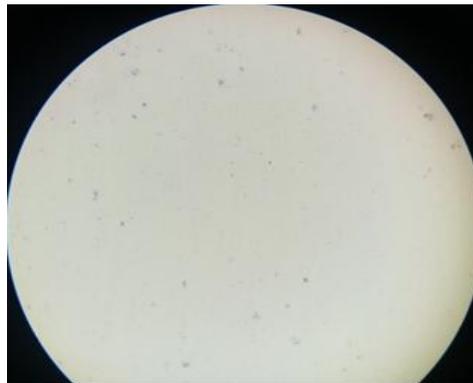
Figure 33 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des cellules du liquide nasal.



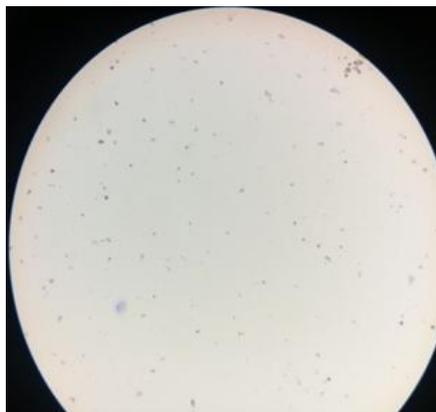
Souris allergique



Souris traitée par F1 50 mg/Kg



Témoin sain



Souris traitée par F2 50 mg/Kg



Souris traitée par le corticoïde 2ml/Kg

Figure 34 : Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis du liquide nasal .

b. liquide broncho-alvéolaire

Une augmentation du nombre des cellules dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire est observée chez les souris allergiques par rapport aux témoins sains. Ce nombre a diminué après le traitement par la fraction F1, F2 et le corticoïde jusqu'à atteindre avec la fraction F1, la valeur observée chez les témoins sains (**Figure 35** et **Figure 36**).

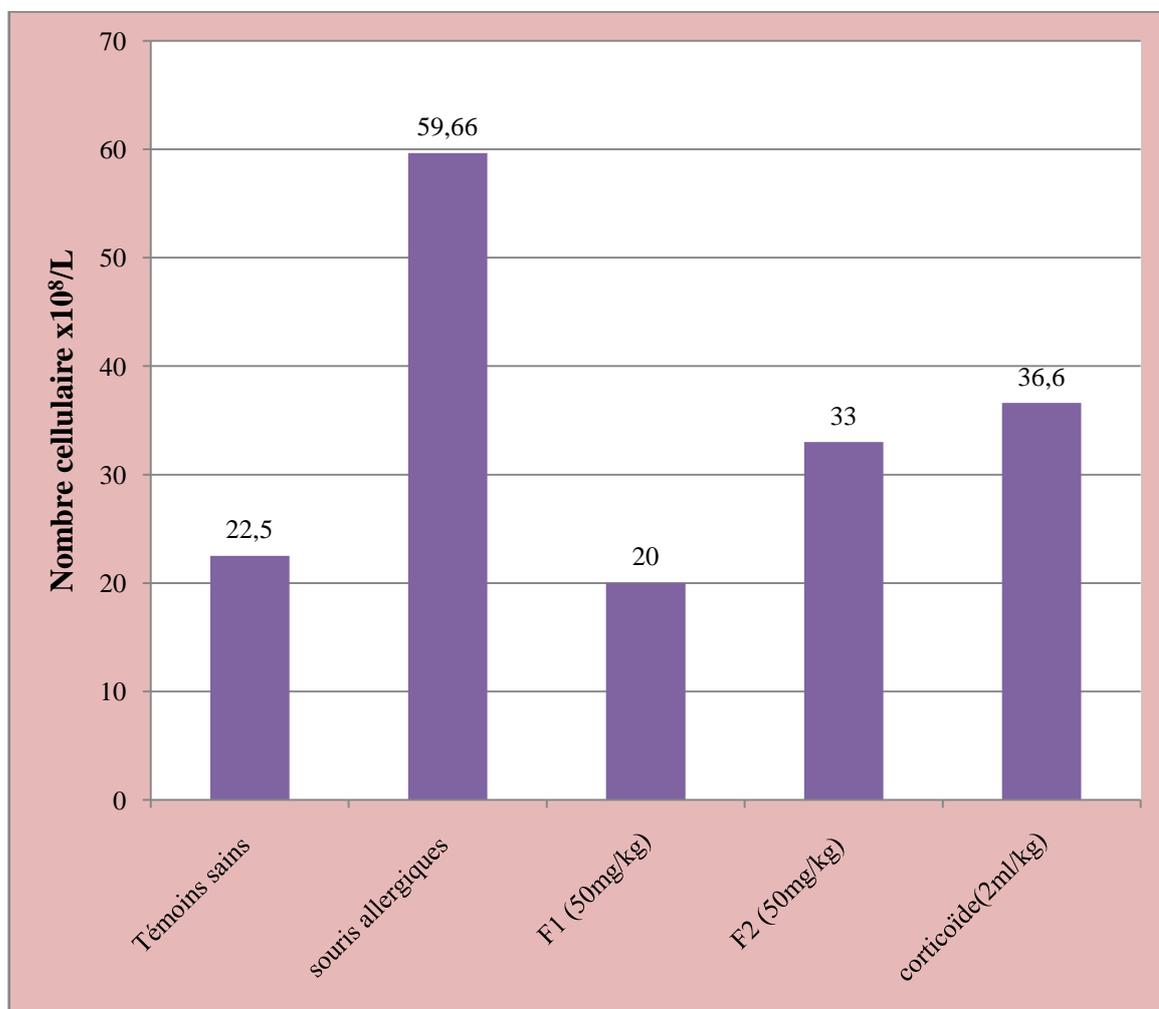
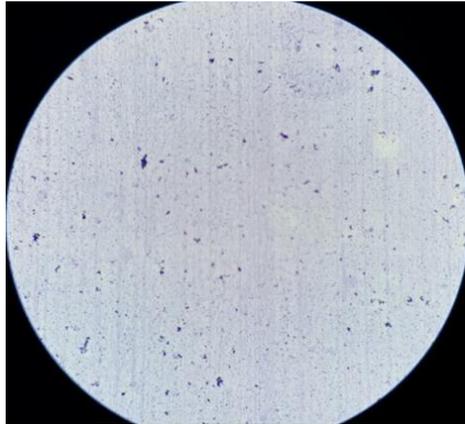
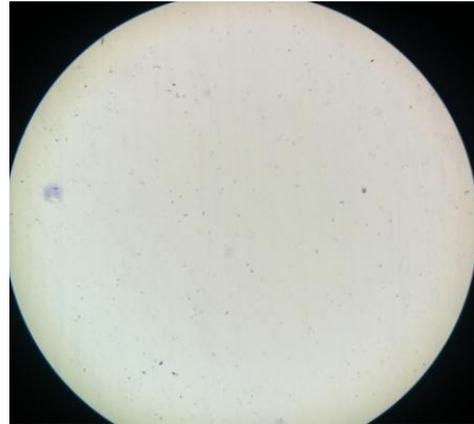


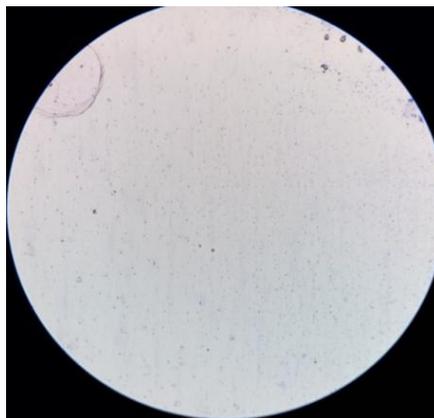
Figure 34 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le nombre des cellules de lavage broncho-alvéolaire



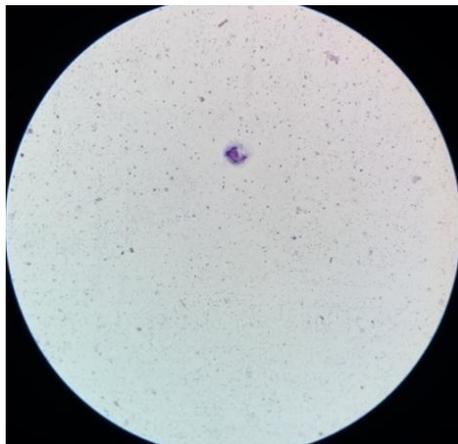
Souris allergique



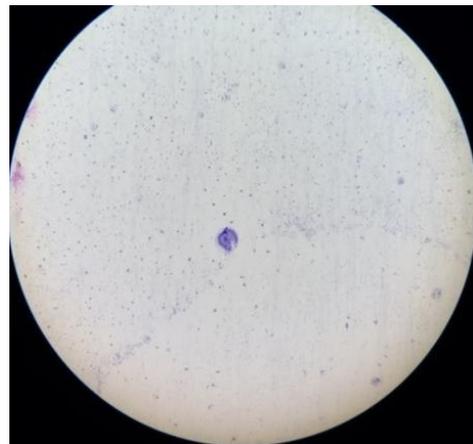
Souris traitée par F1 50 mg/Kg



Témoin sain



Souris traitée par F2 50 mg/Kg



Souris traitée par le corticoïde 2ml/Kg

Figure 36 : Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis du lavage broncho-alvéolaire.

D'après les résultats des lavages nasaux et broncho-alvéolaires qui se traduisent par une augmentation du taux des cellules chez les souris allergiques, ceci peut être expliqué par le recrutement massif des granulocytes neutrophiles et éosinophiles du sang périphérique vers le site inflammatoire. Une étude a montré une augmentation significative du nombre des mastocytes dans la muqueuse nasale des malades atteints de rhinite allergique et dans la paroi et les sécrétions bronchiques des asthmatiques (**Ito et al., 1997**). En outre, l'activation des cellules épithéliales par un allergène provoque un état inflammatoire pulmonaire conduisant au recrutement des mastocytes au niveau du foyer de l'inflammation (**Reber et al., 2006**). D'autre part, l'activation des cellules dendritiques pulmonaires par un allergène recrute les cellules T, les granulocytes éosinophiles et les basophiles au niveau pulmonaire, suite à la production des chimiokines (**Besnard, 2010**). Toutes ces cellules orientées vers le foyer inflammatoire pulmonaire peuvent être responsables de l'augmentation du taux des leucocytes des deux liquides de lavage, ce qui est en accord avec les résultats obtenus.

La diminution des cellules chez les souris traitées par F1 peut traduire une réponse positive contrôlant la réaction inflammatoire. Des études ont prouvé 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), producteurs d'IL- 10 et/ou de TGF-beta et inducteurs de tolérance étaient déficitaires chez les sujets allergiques. En outre, ces lymphocytes augmentent lors de l'immunothérapie spécifique (**Moingeon et al., 2006 ; Magnan et al., 2010**).

3.3. Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de la rate

Les résultats de la **Figure 37** ci-dessous, montrent une augmentation du poids de la rate chez les souris traitées par F1 et les souris allergiques par rapport aux souris saines. Pour les souris traitées par le corticoïde et par F2, le poids n'a pas beaucoup changé.

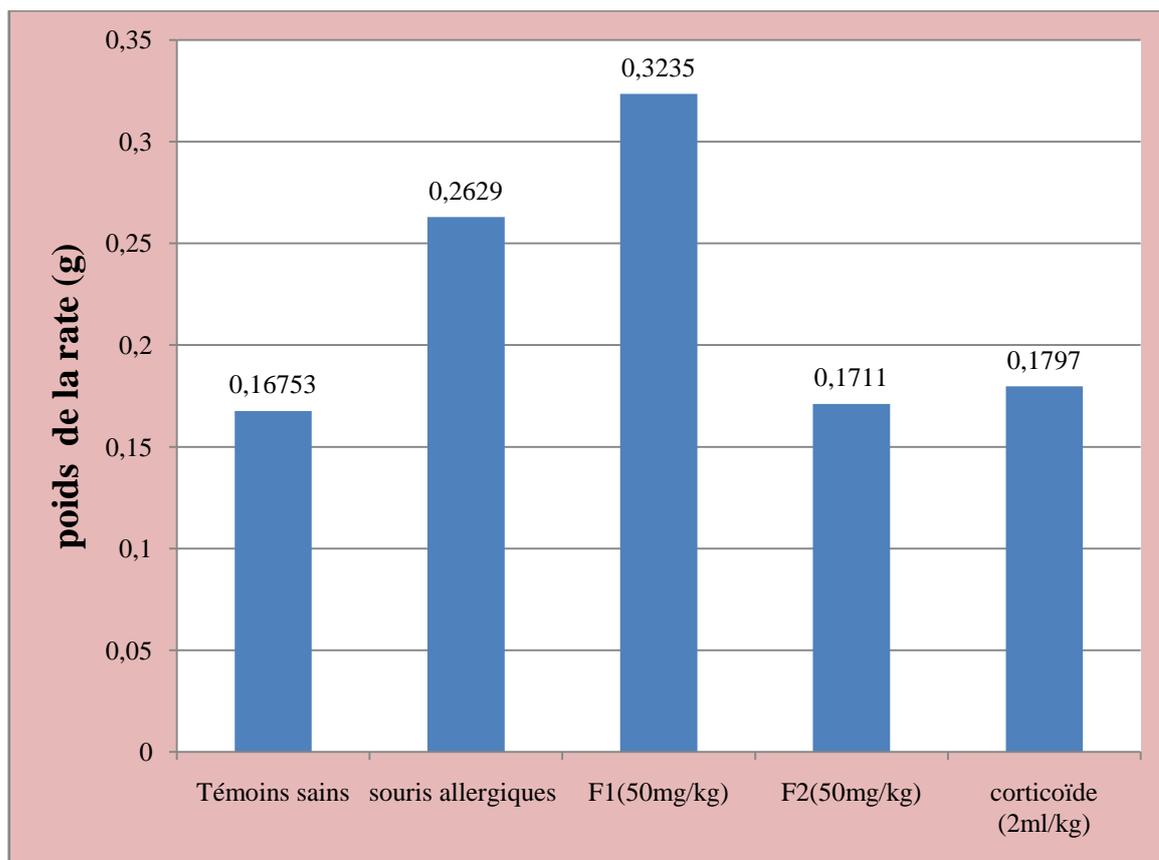


Figure 37 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de la rate.

3.4. Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de splénocytes

La **Figure 38** montre une augmentation considérable chez les souris traitées avec la fraction F1 et un peu moins chez les souris allergiques. En revanche, cette augmentation n'est pas importante chez les souris traitées avec le corticoïde et la fraction F2.

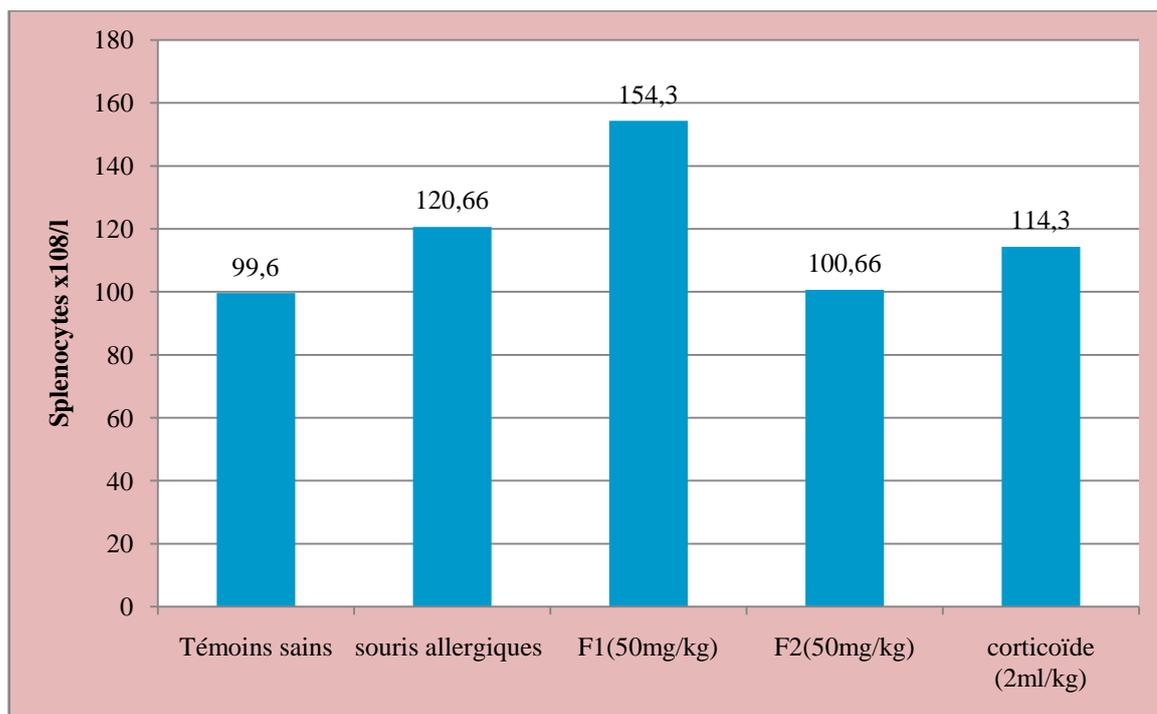


Figure 38 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de splénocytes

L'augmentation des splénocytes chez les souris traitées par F1 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 cela veut dire que la fraction F1 polysaccharidique pourra avoir des propriétés immunomodulatrices (**Bendjeddou et al., 2003**). Par contre, on suppose que le nombre élevé des splénocytes chez les souris allergiques peut être expliqué par l'augmentation de la prolifération de lymphocytes B qui ont participé à l'augmentation des lymphocytes circulants. Par contre la F2 et le corticoïde n'ont montré aucune de ces activités.

3.5. Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de thymus

Une baisse remarquable du poids du thymus a été observée chez les souris traitées par le corticoïde comparé aux témoins. Pour le thymus des souris traitées par la F2, on a observé une diminution par rapport aux souris allergiques jusqu'à atteindre la valeur normale des souris saines (**Figure 39**).

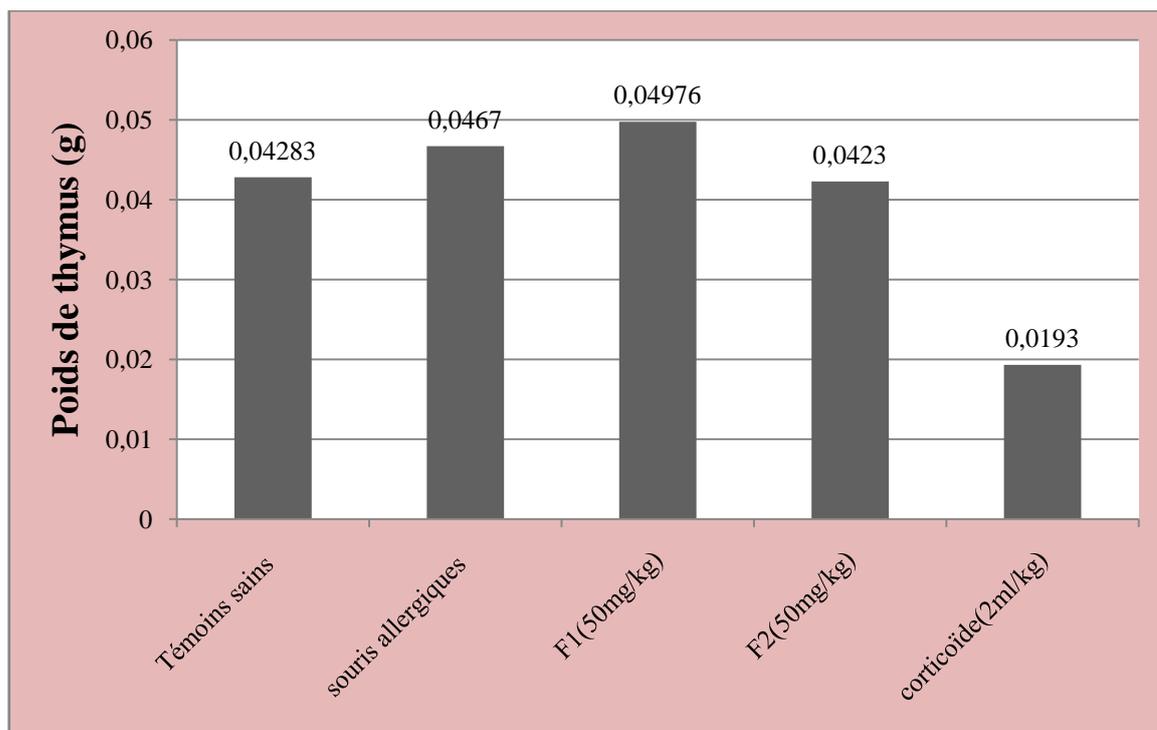


Figure 39 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le poids de thymus

Les glucocorticoïdes ont des actions multiples sur le système immunitaire et sur ses composantes cellulaires principalement les lymphocytes T (**Guilpain et Le Jeune, 2012**). Ils diminuent la taille du thymus en inhibant l'activité mitotique des lymphocytes [2], et en induisant une apoptose rapide des cellules dans ce tissu lymphatique chez les rats et les souris (**McKay et al., 2003**). Chez les rongeurs, le traitement par les corticoïdes réduit le poids du thymus de 90% (**Kindt et al., 2007**) cela explique la diminution de poids de cet organe chez les souris traitées par le corticoïde.

3.6. Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de thymocytes

Les résultats représentés par la **Figure 40** montrent une baisse importante du nombre des thymocytes chez les souris traitées par le Prednisolone cette diminution cellulaire au niveau du thymus est due à l'induction d'une apoptose rapide des cellules dans les tissus lymphoïdes sous l'effet des corticoïdes (**McKay et al., 2003**) et ceci peut être l'origine de la baisse remarquée du poids du thymus.

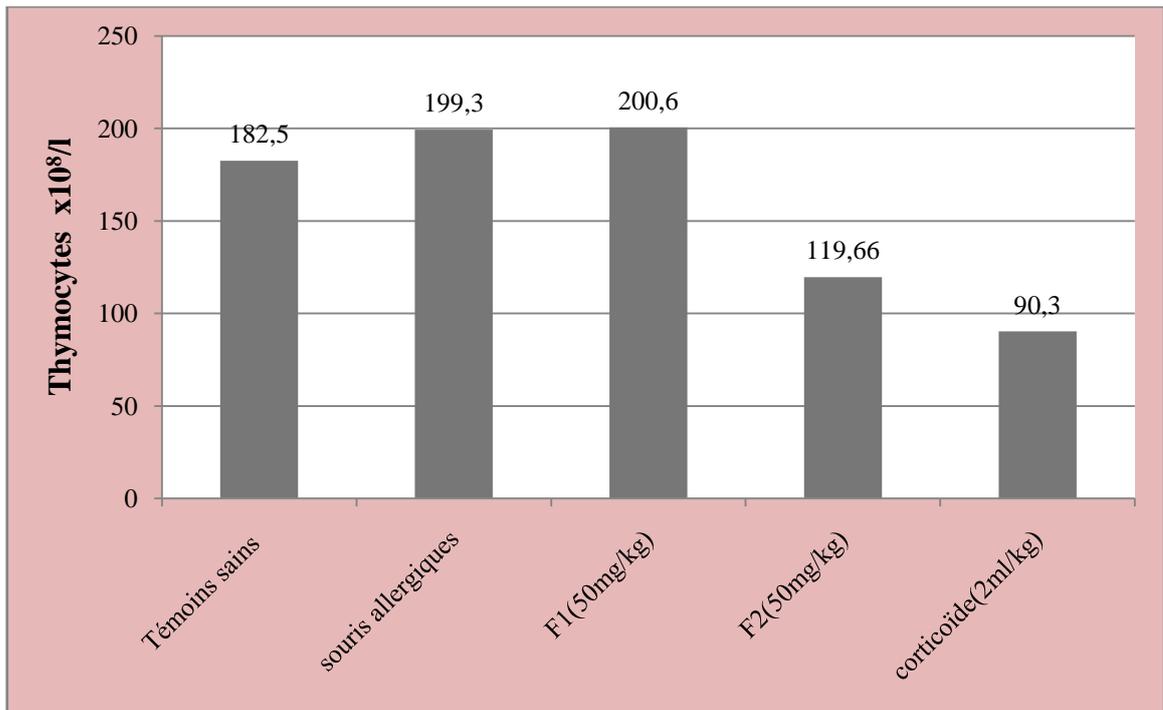


Figure 40 : Effet des fractions polysaccharidiques sur le taux de thymocytes

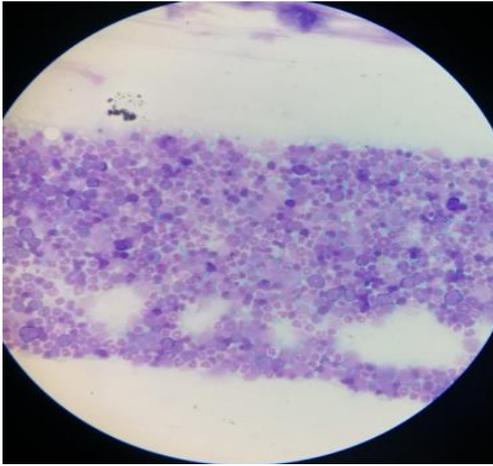
3.7. Effet des fractions polysaccharidiques sur la moelle osseuse

Un prélèvement de la moelle osseuse a été effectué à partir des souris témoins et des souris traitées par le glucocorticoïde « Prednisolone » et par les fractions polysaccharidiques. Puis un frottis a été réalisé en vue d'un examen cytologique. La lecture du frottis a été faite en deux temps

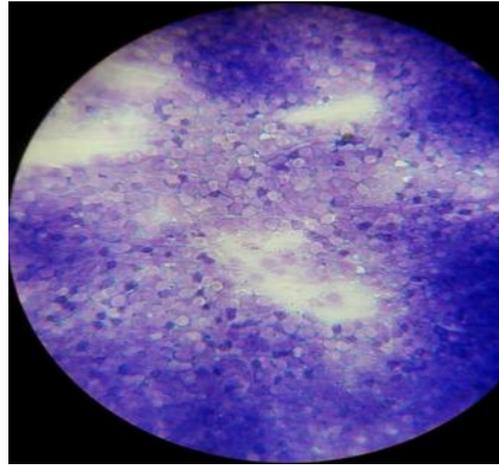
✓ La première lecture, rapide, à un faible grossissement (x10), apprécie la richesse de la moelle osseuse. Cette appréciation de la richesse est essentielle pour interpréter le myélogramme.

D'après les observations, on a noté une richesse normale au niveau du frottis de la moelle osseuse issue des souris témoins et des souris traitées par la fraction F1. Par contre, les frottis des souris traitées par le corticoïde apparaissent riches en progéniteurs érythrocytaires alors que les frottis issus des souris traitées par F2 apparaissent moins riches (**Figure 41**).

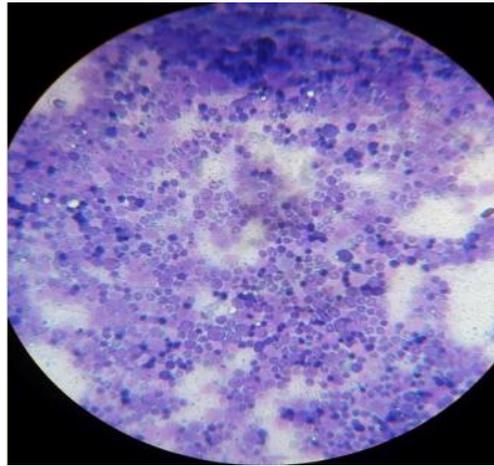
✓ La seconde lecture, approfondie, à un grossissement plus fort (x40), permet de différencier toutes les cellules médullaires observées (**Figure42**).



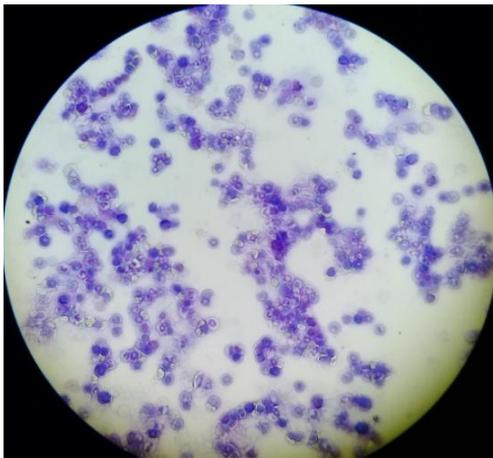
Souris allergique



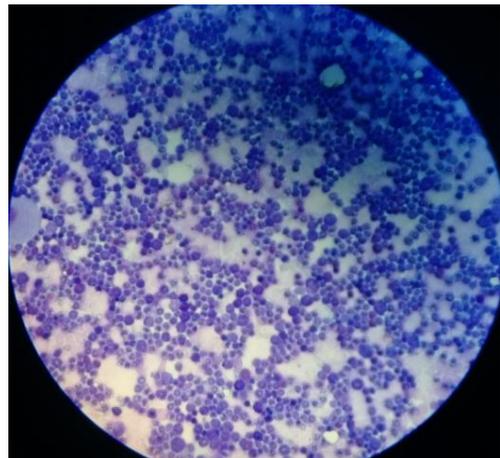
Souris traitée par F1 50 mg/Kg



Témoin sain



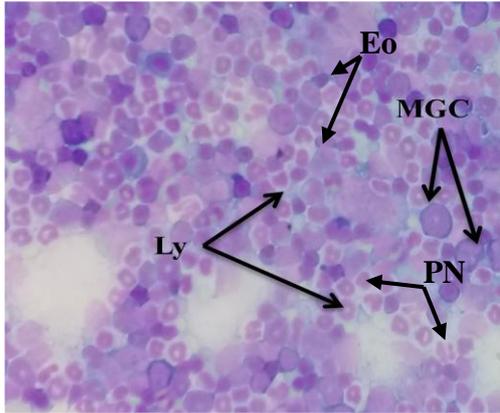
Souris traitée par F2 50 mg/Kg



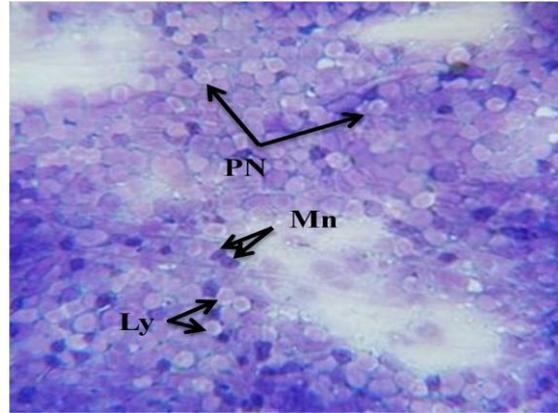
Souris traitée par le corticoïde 2ml/Kg

Figure 41 : Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis médullaires (x10).

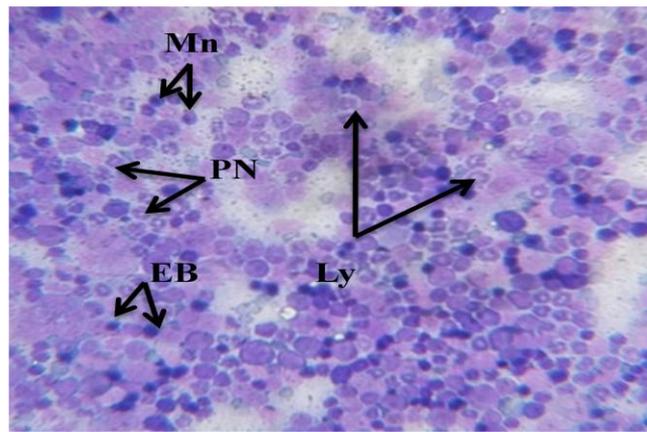
Etude expérimentale



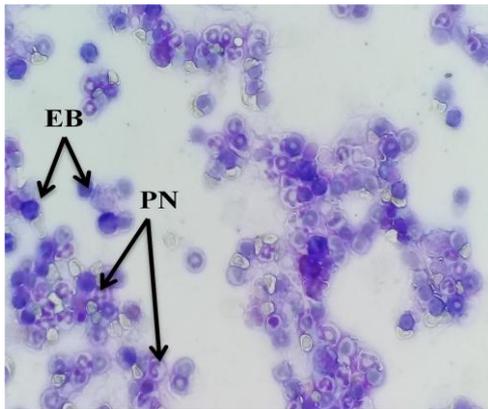
Souris allergique



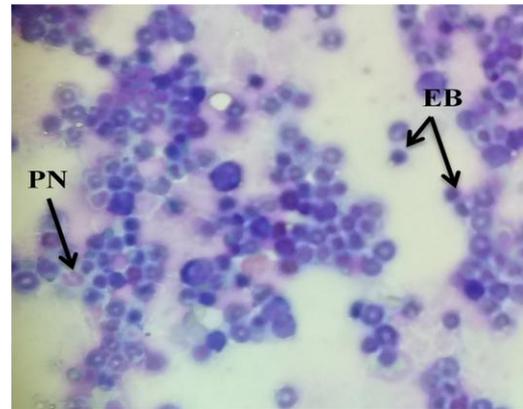
Souris traitée par F1 50 mg/Kg



Témoin sain



Souris traitée par F2 50 mg/Kg



Souris traitée par le corticoïde 2ml/Kg

Mn : Monocyte – *Ly* : Lymphocyte – *PN* : Polynucléaire – *MGC* : Mégacaryocytes –

Eo : Eosinophile – *EB* : Erythroblaste

Figure 42 : Effet des fractions polysaccharidiques sur les frottis médullaires (x40).

Les résultats de notre lecture présentés par la **Figure 42**, ont révélé la présence de toutes les populations cellulaires médullaires : polynucléaires, monocytes, lymphocytes, érythroblastes.....etc. dans le frottis des souris témoins et traitées par la fraction F1. Ce résultat prouve l'activité immunomodulatrice exercée par la fraction polysaccharidique F1 en favorisant une réaction inflammatoire de façon à éliminer l'allergène et prévenir les effets néfastes de l'inflammation. Ce résultat est très prometteur, il ouvre plusieurs possibilités qui pourraient moduler une réponse inflammatoire exacerbée.

Le frottis de souris allergique présente une augmentation remarquable des cellules lymphocytaires et polynucléaires (neutrophiles et éosinophiles) alors que les cellules de la lignée érythrocytaire sont moins représentées. Ce résultat prouve que la présence d'allergène au niveau respiratoire a stimulé la production et le développement des progéniteurs des polynucléaires afin de regagner le site inflammatoire. En outre, la présence importante des mégacaryocytes indique une production accrue de plaquettes et leur sortie dans le sang provoquant ainsi une thrombocytose. Cela peut être expliqué par le rôle et la capacité des plaquettes à mettre en place une activation de type inflammatoire en réponse à un agent étranger d'une part, et d'autre part, leur intervention concerne également leur interconnexion avec les neutrophiles afin d'entretenir l'inflammation au niveau du site inflammatoire (**Damien, 2013**).

En revanche, le frottis des souris traitées par F2 apparaît pauvre en populations cellulaires polynucléaires alors que dans le sang circulant, le nombre de ces derniers était plus important, cela a été expliqué par la sortie massive de ces cellules de la moelle osseuse sous l'effet du traitement par la fraction F2 sans qu'elle induit la production de ces cellules à partir de la moelle osseuse, idem pour les lymphocytes.

Les mêmes résultats ont été obtenus après le traitement par le corticoïde. Mais le plus frappant, c'est l'augmentation du nombre des cellules appartenant à la lignée érythrocytaire tels que les différents érythroblastes chez les souris traitées par le corticoïde ce qui n'est pas le cas pour les souris traitées par F2.

Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet des glucocorticoïdes induisant la sensibilisation les progéniteurs érythroblastiques à des facteurs de croissances médullaires comme l'érythropoïétine (EPO) et stimulant l'érythropoïèse (**Thomasson, 2011**).

En outre, les glucocorticoïdes entraînent l'accélération de la sortie des neutrophiles du stock médullaire (**Thomasson, 2011**). Cela explique la diminution des

Etude expérimentale

neutrophiles dans la moelle osseuse et leur augmentation dans le sang circulant chez les souris traitées par le corticoïde.

Conclusion

Conclusion

A travers les siècles et les continents, les hommes ont su acquérir la connaissance des plantes et de leurs propriétés thérapeutiques. La médecine traditionnelle (chinoise, indienne, sud-américaine, africaine...) est riche d'une expérience accumulée depuis les temps les plus anciens. Des études ont montré que des extraits végétaux riches en polysaccharides ont longtemps été utilisés en phytothérapie particulièrement en Afrique.

Un système immunitaire fort et fonctionnel de façon optimale est indispensable pour lutter efficacement contre les infections et s'opposer à leur développement. Ce système peut être renforcé naturellement par l'utilisation des composants polysaccharidiques naturels car ces derniers présentent une variabilité structurale et une richesse en propriétés physico-chimiques, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe de principes actifs.

C'est dans ce contexte, qu'on s'est intéressé à l'étude de l'effet anti-inflammatoire de certaines fractions polysaccharidiques provenant des racines d' *Anacyclus perythrum*, une plante médicinale très utilisée en pharmacopée traditionnelle en Algérie.

D'après les résultats obtenus, il s'est révélé que la fraction F1 polysaccharidiques a un effet immunostimulant et immunomodulateur sur le système immunitaire respiratoire qui s'est traduit par une réponse positive contrôlant l'inflammation. Cette activité a favorisé la réaction inflammatoire de façon à éliminer l'allergène d'une part, et prévenir les effets néfastes d'autre part.

En revanche, le traitement par la fraction F2 a provoqué une sortie massive de cellules polynucléaires de la moelle osseuse sans qu'il induit leur renouvellement, idem pour les lymphocytes. Les mêmes résultats ont été obtenus après le traitement par le corticoïde Prednisolone, mais ce dernier a augmenté le nombre des cellules appartenant à la lignée érythrocytaire au niveau médullaire.

Les résultats de la fraction 1 polysaccharidique sont apparemment très encourageants, prometteurs et ouvrent plusieurs possibilités qui pourraient moduler une réponse inflammatoire exacerbée.

Conclusion

Pour une meilleure évaluation de l'activité thérapeutique des fractions polysaccharidiques, il est souhaitable d'étudier :

- Le pouvoir immunomodulateur de ces composants bioactifs,
- 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.

D'autre part et pour connaître la relation structure/fonction; l'analyse structurale est nécessaire pour :

- identifier les groupements fonctionnels,
- déterminer la composition en oses constitutifs
- déterminer les types des liaisons osidiques des fractions actives qui pourront jouer un rôle dans cette relation structure / fonction des polysaccharides.

Références

Bibliographies

Références bibliographiques

Adreassian B. (1996) : Traumatologie Thoracique. In **Aubier M.; Fournier M. et Pariente R.** Pneumologie. ed. Flammarion. Paris.

Aguilar-Briseño JA.; Cruz-Suarez LE.; Sassi JF.; Ricque-Marie D.; Zapata-Benavides P.; Mendoza-Gamboa E.; Rodríguez-Padilla C. et Trejo-Avila L.M. (2015): Sulphated Polysaccharides from *Ulvaclathrata* and *Cladosiphonokamuranus* Seaweeds both Inhibit Viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. *Marine Drugs*, 13: 697-712.

Ait Yahia-Sendid S. (2012) : Chimioquinas et interaction entre immunité innée et adaptative dans l'asthme allergique : implication des cellules dendritiques et du récepteur NOD1. [Thèse de doctorat] . Université du Droit et de la Santé de Lille 2, 184p.

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*, Springer, 8: 223-230.

Bachiri L.; Daoudi A.; Labazi N.; Ibijbijen J. et Nassiri L. (2015) : Étude floristique du val d'Ifrane « Bassin versant du Oued Tizguit ». *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26: 3977-4006.

Bellakhdar J. (1997) : La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires-Saint-Etienne. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*, 320: 465-466.

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

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

Référence bibliographique

Berthélémy S. (2011) : Les principales allergies et leurs allergènes. Actualités Pharmaceutiques, 50: 12-18.

Besnard AG. (2010) : Etude des mécanismes immunitaire dans un modèle d'inflammation pulmonaire allergique chez la souris : Rôles de l'interleukines 22. [Thèse de doctorat]. Université d'Orléans, France. 188p.

Bettelli E.; Korn T. et Kuchroo VK. (2007) : Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Curr. Opin. Immunol.*, 19 : 652–657.

Bloemena E.; Weinreich S. et Schellekens PTA. (1990) : The influence of Prednisolone on the recirculation of peripheral blood lymphocytes in vivo. *clinical and experimental immunology*, 80:460-466.

Bokov P. et Delclaux, C. (2015) : Interprétation et utilisation des explorations fonctionnelles respiratoires de routine de l'adulte : spirométrie, volumes non mobilisables, diffusion, hématose, test de provocation bronchique à la méthacholine et test de marche. *Medicine interne*, Elsevier. 11 p.

Bouaziz A. (2014) : Mise au point d'une forme stable de l'allergène Der p 3 de *Dermatophagoides pteronyssinus* pour le diagnostic rapide et le développement de nouvelles approches d'immunothérapie de l'allergie aux acariens. [Thèse de doctorat]. Université de Liège, Liège, Belgique, 106p.

Canli K.; Yetgin A.; Akata I. et Murat Altuner E. (2017) : Antimicrobial Activity and Chemical Composition Screening of *Anacyclus pyrethrum* Root. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51: 244-248.

Chakir J. (2009) : Rôle de l'épithélium bronchique dans l'asthme, Allergologie, 49: 211-213.

Charnot A. (1945) : La toxicologie au Maroc. Mémoire de la société des sciences naturelles à Rabat (Maroc), Edition Siège de l'I. S, Rabat. 717p.

Choudhary A. (2006) : herbal medicine for cough and a tonic for heart, lungs and digestion and process for preparing the same. *Indian Pat.* 325p.

Référence bibliographique

Collic-Jouault S. ; Zanchetta P.; Helley D.; Ratiskol J.; Sinquin C.; Fischer AM. et Guezennec J. (2004) : Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. *Pathologie Biologie*, 52 : 127-130.

Coraux C.; Hajj R.; Lesimple P. et Puchelle E. (2005) : Réparation et régénération de l'épithélium respiratoire. *Médecine Sciences*, 21 : 1011-1117.

Couture C. (2013) : Embryologie, anatomie et histologie du poumon. In **Boulet L-P .** *Physiopathologie respiratoire appliquée*. Les Presses de l'Université Laval. pp1-22.

Cummings J. et Stephen A. (2007) : Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61:5-18.

Damien P. (2013) : Plaquettes sanguines et entretien de l'inflammation post-infectieuse. Thèse de Doctorat en Sciences, Ingénierie, Santé. Université Jean Monnet de Saint Etienne, Lyon ; 315p

Daoudi A.; Nassiri L.; Ibijbijen J. et Boukil A. (2014) : Etude ethnobotanique du Pyrèthre d'Afrique "*Anacycluspyrethrum*" dans le cercle Meknès, El Hajeb, KhénifraAzrou and Ifrane –Morocco. *La science en liberté*, 6: 26-51.

Daum JR.; Shepherd DM. et Noelle RJ. (1995) : Physical interactions and early signaling between Helper T lymphocytes and B lymphocytes. In **Burleson GR.;** **Dean JH. et Munson AE.** *Methods in Immunotoxicology*. Wiley-Liss Inc. New-York. pp469-481.

De Franco AL.; Robertson M. et Locksley RM. (2009) : Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. De Boeck. Bruxelles. 400p.

Delespesse G. (2012) : Hypersensibilité liée aux immunoglobulines E. In **Chatenoud L. et Bach JF.** *Immunologie – 6^{ème} édition*. ed. Lavoisier. Paris, pp290-300.

Demoly P. (2005) : Rhinite allergique et polyposse nasosinusienne. Ed. John Libbey Eurotext. Paris. 158p.

Demoly P. et Bousquet J. (2002) : La rhinite allergique. John Libbey Eurotext. Montrouge. 148p.

Deslee G.; Hammad H.; Rataczak C.; Just N. ;Tillie-Leblond I. et Lebargy J. (2004): Implication des cellules dendritiques en pathologie respiratoire allergique. *Mal Respir*; 21 : 549-55.

El Hilah F.; Ben Akka F.; Dahmani J.; Belahbib N. et Zidane L. (2015) : Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25: 3886-3897.

Ferin J. (1994) : Pulmonary retention and clearance of particles. *Toxicology letters*, 72 : 121-125.

FFA, Fédération française d'allergologie, (2014) : Le grand livre des allergies, 1st ed. Eyrolles.318 p.

Fraser-Reid BO.; Tatsuta K Thiem J.; Coté GL.; Flitsch S.; Ito Y., Kondo H., Nishimura SI. et Yu B. (2008) : Glycoscience, Chemistry and biological science 2endédition. ed.Springer-Verlag Berlin Heidelberg, XCVI, 2946p.

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

Gao J.; Zhang T.; Jin ZY.; Xu XM.; Wang JH.; Zha XQ. et Chen HQ. (2015): Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. *Food Chemistry*, 169: 430-438.

Gerd-Rüdiger B. et Pezzutto A. (2000) : Atlas de poche d'Immunologie. Médecine Sciences. 293p.

Gotez P. (2017): Chaga, polysaccharides et cancer, *Actualités en phytothérapie, Phytothérapie*, 15:409-412.

Goetz P. et Ghédira K. (2012): Phytothérapie anti-infectieuse. Springer-Verlag France, Paris. 394p.

Guilpain P. et Le Jeune C. (2012) : Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *La presse Médicale* 41: 378-383.

Référence bibliographique

Heinze T.(2005) : Polysaccharides I: Structure, Characterisation and Use, Advances in Polymer Science. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, XII, 282p.

Heinze T.; Koschella A.; Liebert T.; Harabagiu V. et Coseri S. (2012) : Cellulose: Chemistry of Cellulose Derivatization, in: The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE). Springer, Vienna, pp283-327.

Heinze T.; Liebert T. etKoschella A. (2006) : Esterification of Polysaccharides. Springer Science & Business Media, 240p.

Hristic M.; Kalafatie D.; Plecase B. et Jon Anovie V. (1995) : The effect of dexamethasone on the adrenal gland in the fetal and neonatal rats . Journal of experimental zoologie , 272: 281-290.

Ito K.; Inagaki-ohara K.; Murosaki S.; Nishimura H.; ShimokataT .; Torii S.; Matsuda T. et Yoshikai Y. (1997) : Murine model of IgEproduction with a predominate Th2-receptor by feeding protein antigen without adjuvant. Eur. J. Immunol, 27:3427-3437.

JanewayCA.; Traves P.;Walport M. et Shlomchik M. (2003) : Immunobiologie: le système immunitaire fondamental et pathologique. Ed. De Boeck. Paris. 782p.

Jiao G.; Yu G.; Zhang J. et Ewart HS. (2011) : Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. Mar. Drugs, 9: 196-223.

Kindt TJ.; Goldsby RA. etOsborn BA. (2007) : Immunologie, Le de Janis Kuby avec questions de révéision BUNOD, Paris, 684p.

Krausz P.; Sol V. et Granet R. (2013) : Chimie Organique Les Glucides Structures Réactions Oligo et Polysaccharides Cours et Exercices Corrigés Niveau B. Ellipses Marketing, Paris. 240p.

Kumar V. et Kumar Choudhary A. (2016) : akarkara: a versatile medicinal plant. J of Ayurveda and Hol Med (JAHM), 4: 1-14.

Labre P. (2007) : Médecines Naturelles en élevage (Tome 2): Phytothérapie et Aromathérapie chez les ruminants et le cheval, 2eme édition. ed. Femenvet. 352p.

Le Jeune C. (2012) : Pharmacologie des glucocorticoïdes. La Presse Médicale, 41:370-377.

Létuvé S. et Taillé C. (2013) : Physiopathologie de la réponse inflammatoire dans l'asthme de l'adulte. EMC – Pneumologie, 10:1-8.

Li JE.; Nie SP.; Xie MY. et Li C. (2013): Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *Moslachinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and its antioxidant and immunomodulatory activities. Journal of Functional Foods. 9.

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

Li X.; Wang L. et Wang Z. (2015) : Radioprotective activity of neutral polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *Hohenbuehelia serotina*. Phys Med., 31: 352-9.

Li Y.; Zhang L.; Liu Y.; Yang X. et Sun X. (2010) : Establishment of a mouse model of Humulus pollen allergen-induced allergic asthma. J. Xi'an Jiaotong Univ. Med. Scien., 31: 562-565.

Madouri F.; Guillou N .; Fauconnier L .; Marchiol T.; Rouxel N.; Chenuet P.; Ledru A.; Apetoh L.; Ghiringhelli F.; Chamillard M .; Zheng SG .; Trovero F .; Quesniaux VF .; Ryffel B . et Togbe D. (2015) : Caspase-1 activation by NLRP3 inflammasome dampens IL-33-dependent house dust mite-induced allergic lung inflammation. Journal of Molecular Cell Biology Advance Access, 7:351-65.

Magnan A., Pipet A., Germaud P. Wessel F., Lair D., Botturi-Cavallès K. et Langelot M. (2010) : Lymphocytes T régulateurs. Rev. Fr. Allergol., 50 : 98-101.

Manouze H.; Bouchatta O.; Gadhi AC.; Bennis M.; Sokar Z. et Ba-M'hamed S. (2017): Anti-inflammatory, Antinociceptive, and Antioxidant Activities of Methanol and Aqueous Extracts of *Anacyclus pyrethrum* Roots. Front Pharmacol, 8: 598.

Manzoor MK. (2016) : Immunopharmacologie , 2end édition . Springer.458p.

Référence bibliographique

McKay LI, Cidlowski JA. (2003) : Physiologic and Pharmacologic Effects of Corticosteroids. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker.

Messous S ., .Grissa MH., .Beltaief K., Boukef R., Nouira S. et Mastouri M. (2018) : Bactériologie des exacerbations aiguës des bronchopneumopathies chroniques obstructives en Tunisie. *Maladies respiratoires*, 35: 36-47.

Mirhosseini H. et Amid BT. (2012) : A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. *Food Research International*, 46: 387-398.

Moigeon P., Fadel R., Batard T. et Van Overtvelt I. (2006) : Mécanismes immunologiques de l'immunothérapie sublinguale spécifique des allergènes. *Rev. Fr. Allergol.*, 46 : 713-720.

Nijkamp FP. et Parnham MJ, (2011) : Principles of Immunopharmacology. 3rd revised and extended edition. Springer Basel. 742p.

Orlando J. et Rojas. (2016): Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials, *Advances in Polymer Science*, Springer International Publishing, VIII, 333p.

Pal A.; Das D.; Kumar sarkar A; Ghorai S.; Das R. et Pal S. (2015) : Synthesis of glycogen and poly (acrylic acid)-based graft copolymers via ATRP and its application for selective removal of Pb²⁺ ions from aqueous solution. *European Polymer Journal*, 66: 33-46.

Pawankar R.; Bunnag C.; Khaltaev N. et Bousquet J. (2012) : Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma in Asia a Pacific and the ARIA update 2008. *World Allergy Organ. J.*, Symposium Report Supplement, 5: 212-217.

Pham Van L. (2010): Modulation de la réponse immunitaire par des agonistes de la voie de signalisation TLR/IL-1R dans le modèle d'asthme. [Thèse de doctorat]. Ecole Doctorale, Université Paris Descartes, 260p.

Référence bibliographique

Ponvert C. (2002) : Immunopathogénie de l'allergie immédiate et de l'anaphylaxie. In **Nicolas J.F., Cousin F. et Thivolet J.** Immunologie clinique et allergologique. ed. John Libbey Euro text. Paris. 210p.

Ponvert C. et Weill B. (2003) : Allergie et hypersensibilité chez l'enfant et chez l'adulte. In **Weill B. et Batteux F.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. ed. De Boeck. Bruxelles. 312p.

Qian ZG. (2014) : Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from *Cucurbitamoschata* and their antibacterial activity. Carbohydrate Polymers, 101: 432-434.

Ramawat KG. et Mérillon JM. (2015): Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology. Springer International Publishing, XXVIII, 2241p.

Ramberg JE.; Nelson ED. et Sinnott RA. (2010) : immunomodulatory dietary polysaccharides: systematic review of the literature. Nutrition Journal, 9-54.

Reber L.; Da Silva CA. et Frossard N. (2006) : Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets of inflammatory diseases. Eur.J.Pharmacol.533,327-340.

Rousseau G. et Domenjoud L. (2005) : Biochimie, 2e édition. ed. De Boeck, Bruxelles, 1583p.

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

Selle C. (2012) : Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. [Thèse de doctorat]. Université Abou Bekr Belkaid, (Tlemcen), 214p.

Serge W. et Pierre M. (2004): Tout la biochimie. ed. De Dunod, Paris. 451p.

Shahraki S.; Sharifi Rad J.; Farzaneh MR.; Reza Shahraki M. et Reza Arab M. (2014) : Effects of Aqueous Root Extracts of *Anacyclus pyrethrum* on Gonadotropins and Testosterone Serum in Adult Male Rats. American Journal of Phyto medicine and Clinical Therapeutics, 2: 767-772.

- Silbernag S. et LangF. (1998):**Atlas de poche de physiopathologie. La voisier. 455p.
- Singh RM.; Kaur N. et Kennedy JF. (2015):**Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate Polymers*, 123: 190-207.
- Sofowora A. (2010) :**plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique.ed. Karthala. 384P.
- Suganya S.; Srikanth A.; Sumitha M.; Nithya S.; Anbu J.; Ravichandiran V. et Suba V. (2012) :** Anti-convulsant activity of hydroalcoholic extract of *Anacyclus pyrethrum* root. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*, 1: 369-373.
- Sujith K.; Darwin R. et Suba V. (2012) :** Toxicological evaluation of ethanolic extract of *Anacyclus pyrethrum* in albino wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2: 437-441.
- Suzuki T.;Chow CW.et Downey GP. (2008) :** Role of innate immune cells and their products in lung immunopathology. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 40:1348-1361.
- Tauheed A.; Hamiduddin. et Akhtar A. (2017) :** Aqarqarha (*Anacyclus pyrethrum* DC.) a potent drug in Unani medicine: A review on its historical and phyto-pharmacological perspective. *J Pharm SciInnov*, 6: 22-28.
- Thomasson R. (2011) :** Effets ergogéniques, métaboliques hormonaux des glucocricoides chez l'homme et l'animal . [Thèse de Doctorat]. Université d'Orléans , 226p.
- Torres R.; Picado C. et De Mora F. (2005) :** Use of the mouse to unravel allergic asthma: a review of the pathogenesis of allergic asthma in mouse models and its similarity to the condition in humans. *Arch. Broncopneumol*, 41: 141-152.
- Ummartyotin S. et Manuspiya H. (2015) :** A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41: 402-412.

Référence bibliographique

- 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: 1335-1340.
- Usmani A.; Khushtar M.; Arif M.; Siddiqui MA.; Prakash Sing S. et Mujahid Md. (2016) :** Pharmacognostic and phytopharmacology study of *Anacyclus pyrethrum*: An insight. *J App Pharm Sci.*, 6: 144-150.
- Valentin P. (2011) :** Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical. Smithers-A Smithers Group Company Application. 430p.
- Van Kessel N.; Dorenbosch M.; Crombaghs B.; Niemeijer B. et Binnendijk E. (2013):** First record of Asian weather loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor, 1842) in the River Meuse basin. *Bio Invasions Records*, 2: 167-171.
- Verbois S. (2015) :** La phytothérapie. ed. Eyrolles, Paris. 193p.
- Veryser L.; Taevernier L.; Roche N.; Peremanst K.; Burvenich C. et De Spiegeleer B. (2014) :** Quantitative transdermal behavior of pellitorine from *Anacyclus pyrethrum* extract. *Phytomedicine*, 21:1801-1807.
- Virginie R. (2012) :** Implication des canaux CaV1 dans la signalisation calcique des lymphocytes Th2 murins et humains : possibles applications thérapeutiques dans l'asthme. [Thèse de doctorat]. Université De Toulouse III Paul Sabatier, 184p .
- Wang H.; Zhang X.; Li Y.; Chen R.; Ouyang S.; Sun P.; Pan L.; Ren H. et Yang B. (2014) :** Antitumor activity of a polysaccharide from longan seed on lung cancer cell line A549 *in vitro* and *in vivo*. *Tumor Biol.*, 35: 7259-7266.
- Wang X.; Huang M.; Yang F.; Sun H.; Zhou X.; Guo Y; Wang X. et Zhang M. (2015):** Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics *in vitro*. *Carbohydrate Polymers*. 34p.
- Wasser SP. (2002):** Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol*, 60: 258-274.

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

Yang J.; Han S.; Zheng H.; Dong H. et Liu J. (2015) : Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. Carbohydrate Polymers, 123: 53-66.

Zhang W.; Xu P. et Zhang H. (2015) : Pectin in cancer therapy: A review. Trends in Food Science & Technology, 1-14.

Zhou J.; Yan J.; Bai Z.; Li K. et Huang K. (2015) : Hypoglycemic activity and potential mechanism of a polysaccharide from the loach in streptozotocin-induced diabetic mice. Carbohydrate Polymers, 121: 199-206.

Sites web

[1] **Rankou H.; Ouhammou A.; Taleb M.; Manzanilla V. et Martin G. (2017):** *Anacyclus pyrèthre* (version modifiée de 2015 évaluation). La Liste rouge UICN des espèces menacées 2017: e.T202924A121743450.(Consulté le **20 mai 2018**).

[2] **Anonyme. (2011) :** crème de clotrimazole et de dipropionate de bétaméthasone, Antifongique-corticostéroïde topique. https://www.merck.ca/static/pdf/LOTRIDERM-PM_F.pdf. (consulté le **18 mai 2018**).

Annexe

Annexe

Annexe : solution utilisées

Nom de la solution	Composition	Quantité des réactifs
Phosphate Buffer Saline ou PBS (10Mm) pH 7,2	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
Eau tamponnée	Tampon phosphaté	30 ml
	Eau distillée	570 ml
Giemsa dilué	Giemsa-R	84 ml
	Eau tamponnée	516 ml
Bleu de trypan	Bleu de trypan	0.4 g
	Eau distillée	200 ml
NaCl 0.9%	NaCl	0.18g
	Eau distillée	200ml