

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 : Etude histologique.**

Présenté par : DIARRA Houdou
SANOGO Demba

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. BOUKEMARA H.

Examinatrice : Mme KAIDI S.

Encadreur : Pr. BENDJEDDOU D.

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juin 2018



Remerciements

Louange absolue à ALLAH, le Créateur Généreux et omnipotent, le Tout Puissant, Maître des cieux et de la terre qui nous a garni la santé et la force durant toutes ces années. Louange absolue à ALLAH, pour Sa miséricorde, Sa grâce et pour tous Ses dons et Ses faveurs accordés lesquels nous ont permis de mener à bien ce travail.

A notre directrice de mémoire,

Madame le Professeur Bendjeddou Dalila

Professeur et maître de conférences au département de Biologie à la Faculté de SNV et STU de l'université de Guelma-08 Mai 1945.

Nous sommes heureux et honorés de votre encadrement, merci pour le thème proposé. Votre orientation a été très bénéfique et nous a permis d'être plus attentifs dans la réalisation de ce travail. Nous vous remercions vivement pour votre esprit critique et votre rigueur en matière de rédaction. Merci pour ces nombreuses heures de lecture et pour votre patience dans la correction de ce mémoire. Sans vous ce travail n'aurait pu aboutir, merci pour votre disponibilité permanente et pour l'intérêt porté à ce sujet, merci également pour les conseils prodigués.

En dehors de cela, nous réitérons nos vifs remerciements pour les connaissances que vous nous avez transmises durant ces cinq années à travers les différents cours. . Nous admirons l'étendue de votre savoir. Merci pour votre enseignement. Veuillez trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre respect le plus profond.

Aux membres du jury,

Mme KAIDI S.

Dr. BOUKEMARA H.

Vous nous faites l'honneur en faisant partie de ce jury de mémoire. Nous vous en sommes sincèrement reconnaissants.

Nos vifs remerciements à vous pour votre témoignage. Vous nous faites l'honneur en jugeant ce travail. Merci pour votre présence.

Aux personnels des laboratoires pédagogiques de l'université de Guelma et à ceux des laboratoires de recherches au CNRBT de Constantine.

Merci pour l'accueil. Les manipulations se sont passées à l'amiable. Merci pour les aides techniques si précieuses. Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

A Mlle Kaltoum

Doctorante à l'université de Guelma

Courageuse comme une abeille à la recherche du nectar. Un remerciement tout particulier toi. Merci pour ton soutien tout au long de ce travail, notamment dans les méthodes suivies lors des manipulations qui nous ont permis d'atteindre les objectifs visés. Nous te remercions pour ce rôle de co-encadreur tu as su joué. Ta disponibilité et les nombreuses discussions scientifiques que nous avons eu à échanger ont été d'une grande considération. Merci et bonne finition de thèse.

A nos coéquipières,

Mlle Hana Djitni et Meryem Boudjehem

Considération et grand merci à vous pour votre optimisme et votre esprit coopératif. La rencontre en immunologie nous a conduits au final à conspirer ensemble pour un même projet dans lequel vous vous êtes montrées fortes et patientes. Le temps passé ensemble restera un des plus beaux souvenirs. A jamais, nous ne pourrons vous oublier. Merci !

*Une pensée symbolique à l'ensemble des condisciples, des amis, proches ou loin (de toutes les nationalités), de la **promotion 013**, qui n'ont jamais manqués à nous motiver et à nous consolider dans les moments difficiles. Votre présence a rendu le cursus universitaire ludique et joyeux que nous n'aurions voulu qu'elle finisse à jamais. Ici nous exprimons avec le cœur satisfaisait, toute notre gratitude pour l'attention que vous nous avez accordée.*

Veillez trouver dans ces lignes le témoignage de notre amitié la plus sincère.





Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord à ma défunte mère Aminata Cissé, que son âme repose en paix. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A mes pères Dramane Sanogo et Yacouba Sanogo qui m'ont toujours dit que la vie n'est pas toujours rose. Au fait, vous aviez raison, Merci pour vos conseils.

A ma grand-mère chérie Fanta Sow. Merci de m'avoir toujours soutenu tant moralement que matériellement pour qu'aujourd'hui arrive. Sans oublier vos longues nuits de prières qui m'ont toujours rendu la vie facile.

A mes oncles Moctar Cissé, Hamidou Cissé, Larabi Cissé, Moussa Cissé, Mahi Cissé, Madane Cissé. Vous avez toujours été là pour moi dans les moments les plus importants de ma vie. Merci !!!!!

A mes tantes Mariam Cissé, Assi Coulibaly, Fatoumata Maïga, Oumou Fadil Haidara, Djenebou Cissé, Bintou Cissé, Fatoumata Zara Cissé. Vous vous êtes toujours battues pour ma réussite et je vous dis : Merci !!!

A Drissa Traoré, Bacari Traoré, Zoumana Traoré, Setou Diakité. Vous m'avez toujours soutenu, Merci.

A mon proviseur Zantigui Sidibé qui m'a été d'une grande aide dans ma réussite scolaire.

A toute ma famille

A mes ami(e)s de partout

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont épaulé de près ou de loin.

SANOGO DEMBA

Dédicace

Citation

« Etudiez, allez a la quête du savoir, efforcez et n'abandonnez jamais, car en vérité un ignorant est un aveugle »

Soungalo Diarra

*A ma mère, feu **Sitan Diarra** la perle des mamans, qui par son amour, sa tendresse, son endurance, sa vertu et ses nombreuses évocations nocturnes pour la gloire de la famille ont fait de moi un fils modeste au degré des hommes humbles. Qu'Allah par sa clémence et miséricorde t'accorde le paradis. Que la terre te soit légère. Amen... !*

*A mon père **Soungalo Diarra**, un papa véridique et ferme. Ta sincérité et ta fermeté en matière de l'éducation ont fait de moi depuis mon enfance, un homme d'esprit mur. Tu nous a toujours exhorté à étudier, je me rappelle encore de phrase suivante que tu ne cesses à nous répéter «**Etudiez, allez a la quête du savoir, efforcez et n'abandonnez jamais, car en vérité un ignorant est un aveugle**». Aujourd'hui je confirme cette phrase car plus j'étudie, plus je découvre que je suis encore ignorant ; quand en est-il pour ceux qui n'ont pas été à l'école ? Merci pour tous ces conseils, le soutien, les sacrifices et la bonne éducation que tu as su me léguée. Voir la fierté dans tes yeux est pour moi la moindre de chose à faire. Sois assuré de ma profonde gratitude de t'avoir comme père. Je t'aime papa.*

*A mon tonton feu **Adama Diarra**, durant toute ton existence, tu as été un grand espoir pour moi. Tu n'as en aucun instant manqué au moment de la reprise de l'école à faire le nécessaire pour les frais de scolarité. Merci pour ton altruisme. Que terre te soit légère.*

Diarra Houdou

Table des matières

Titres	Pages
Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Revue bibliographique	
Chapitre I	
1. Généralité.....	03
1.1.Définition.....	03
1.2.Origine des polysaccharides.....	03
1.3.Propriétés.....	04
1.4.Structure et nomenclature.....	05
2. Classification.....	06
2.1.Selon la structure.....	07
2.1.1. Les homopolysaccharides.....	07
2.1.2. Les heteropolysaccharides.....	07
2.2.Selon la fonction biologique.....	08
3. Usage thérapeutique.....	08
3.1.Activité immunomodulatrice.....	09
3.2.Activité anti-inflammatoire.....	09
3.3.Autres activités.....	10
Chapitre II	
1. Phytothérapie.....	11
1.1.Définition.....	11

1.2.Les différents types de la phytothérapie.....	12
1.3.Les avantages de la phytothérapie.....	13
2. Présentation de la plante étudiée.....	13
2.1.Description botanique.....	13
2.2.Nomenclature et taxonomie.....	14
2.3.Ecologie et répartition géographique.....	15
2.4.Etude phytochimique.....	15
2.5.Usage thérapeutique.....	16

Chapitre III

1. Inflammation.....	18
1.1.Causes de l'inflammation.....	18
1.2.Types de l'inflammation.....	18
1.3.Cellules et médiateurs impliqués dans la réaction inflammatoire.....	18
2. Immunité respiratoire.....	19
2.1.Organisation et structure des voies respiratoires.....	19
2.2.Système lymphoïde associé au tractus respiratoire.....	20
2.3.La flore respiratoire.....	20
2.4.Immunité innée et adaptative au niveau respiratoire.....	21
2.4.1. Immunité innée.....	21
2.4.2. Immunité adaptative.....	26
3. Régulation de la réponse immunitaire de la muqueuse respiratoire.....	28

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes.....	29
1.1.Matériel végétal.....	29
1.2.Matériel animal.....	30
2. Protocoles expérimentaux.....	30
2.1.Le fractionnement de l'extrait polysaccharidique.....	30
2.2.Traitement des souris.....	32
2.3.Prélèvement des échantillons.....	34
2.4.Préparation des coupes histologiques.....	35

Résultats et discussion

1. Fractionnement des polysaccharides d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	37
---	----

2. Manifestations morphologiques et comportementales.....	38
3. Traitement des souris.....	38
3.1.Effet du traitement sur le poids corporel.....	39
3.2.Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des organes.....	40
3.2.1. Poumons	40
3.2.2. Rate.....	42
3.2.3. Thymus.....	44
3.2.4. Glandes surrénales.....	46
3.3.Effet du traitement sur l'histologie des poumons.....	47
3.4.Effet du traitement sur l'histologie des glandes surrénales.....	51
3.5.Effet du traitement sur l'histologie de la rate.....	54
3.6.Effet du traitement sur l'histologie du thymus.....	56
Conclusion et perspectives.....	59
Références bibliographiques.....	61

Annexes

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

%: Pourcentage

°C : Degré Celsius

ACTH : Hormone Hypophysaire Corticotrope

ADCC: Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity

ADN: Acide DesoxyriboNucleique

ARN: Acide RiboNucleique

ARNm: Acide RiboNucleique Messenger.

C: Convertase.

CD : cluster différenciation ou Antigène de différenciation.

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

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

COX: Cyclo-Oxygenase.

CPA : Cellules présentatrice d'antigènes.

CRH : Corticotropin releasing hormone

DAMP: Damage Associated Molecular Patterns.

F1 : Fraction 1

F2 : Fraction 2

Fc: Fragment cristallisable

HDM : House Dust Mite

HE : Hematoxine-Eosine

HHS : Hypothalamo-Hypophysio-Surrénalien

Ig A : Immunoglobuline de type A

IgD : Immunoglobuline de type D

IgE : Immunoglobuline de type E

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM: Immunoglobuline de type M

IL: Interleukine

IN: Intranasal

INF α : Interferon alpha

INF β : Interferon gamma

iNOS: *Inducible Nitric Oxide Synthase.*

IP: Intraperitoneal

LB: Lymphocyte B.

LPS: Lipopolysaccharide.

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

LT: Lymphocyte T.

MA: Macrophage alvéolaire

NaCl : Chlorure de sodium

NK: cellules Natural killer.

NLR: Nod Like receptor.

NOD: Nucleotide-binding oligomerization domain.

PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

PNMT : Phényl-N-Méthyl Transferase

PNN : Polynucléaires neutrophiles.

PRR: Pattern Recognition Receptors.

RIGI: Retinoid acid-Inducible Gene-I

RLR: RIGI- like receptors

SNV-STU : Sciences de la Nature et de la Vie- Sciences de la terre et de l'univers.

TGF- β : Facteur de croissance des tumeurs β .

TH : Tyrosine Hydrolase

Th: Cellule T Help

TLR: Toll-Like receptor.

TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha.

TNFR : Tumor Necrosis Factor Regulator

Treg : cellule T régulatrice.

VAS: Voies Aeriennes Superieures

VO: Voie orale

α : Alpha.

β : Beta.

μg : Microgramme

μl : Microlitre

μm : Micromètre

Liste des tableaux

Titres	Pages
Tableau 01. Origine des principaux polysaccharides.....	04
Tableau 02. Taxonomie d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	15
Tableau 03. Quelques données phytochimiques sur l' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	16
Tableau 04. Molécules à activité antimicrobienne présentes dans l'arbre respiratoire.....	22

Liste des figures

Titres	Pages
Figure 1. Structure du fucoïdane.....	05
Figure 2. Structure de la Chitine.....	06
Figure 3. Structure des dextrans.....	06
Figure 4. Structure du chitosane.....	07
Figure 5. Structure moléculaire d'arabinoxylane.....	08
Figure 06. Anacyclus pyrethrum.....	14
Figure 07. Schéma de l'appareil respiratoire.....	19
Figure 08. Les mécanismes de défense non spécifique de l'épithélium respiratoire.....	24
Figure 09. Différentes classes de lymphocytes naïves et effectrices.....	28
Figure 10. Racines et poudre d'Anacyclus pyrethrum avant et après séchage.....	29
Figure 11. La période d'adaptation des souris.....	30
Figure 12. Etapes de précipitation et de séchage.....	31
Figure 13. La poudre des fractions.....	32
Figure 14. Déroulement du traitement.....	33
Figure 15. Dissection et prélèvement des organes.....	34
Figure 16. Résultats du fractionnement par précipitation de l'extrait polysaccharidique brut.....	37
Figure 17. Effet des différents traitements sur la variation du poids corporel des souris.....	39
Figure 18. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des poumons.....	42
Figure 19. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des rates.....	44
Figure 20. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des thymus.....	45
Figure 21. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des	

glandes surrénales.....	47
Figure 22. Effet du traitement sur l’histologie des poumons.....	50
Figure 23. Effet du traitement sur l’histologie des glandes surrénales.....	53
Figure 24. Effet du traitement sur l’histologie des rates.....	55
Figure 25. Effet du traitement sur l’histologie des thymus.....	57

Introduction

Introduction

Les dernières décennies ont été les témoins du succès de nouvelles techniques de synthèse des produits de santé, donnant l'espoir de répondre au mieux les maladies. Les recherches en médecine moderne et en pharmacie ont permis l'essor vers l'élaboration de grandes variétés de molécules à visée thérapeutique et la disponibilité des médicaments sur l'échelle internationale à bien vu le jour. Ces médicaments d'origine chimique ont permis de sauver des millions de vies humaines mais cette efficacité s'est accompagnée de nombreux incidents.

Malgré l'intérêt porté par la recherche scientifique et les techniques récentes sur la modélisation moléculaire, la chimie combinatoire et la chimie de synthèse, la thérapie à base des produits synthétiques génèrent des effets secondaires plus ou moins néfastes. Compte tenu de la recrudescence des maladies et la capacité résistante d'adaptation des micro-organismes aux différentes catégories de médicaments disponibles, l'idée de contourner les maladies paraît être loin atteinte. Face à ce constat, nous nous sommes inspirés de la thérapie traditionnelle en se posant la question à savoir davantage sur l'intérêt de la phytothérapie avec moins d'effets secondaires.

Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps, le principal, voire l'unique recours de la tradition pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne (**Ould el Hadj et al., 2003**). C'est ainsi qu'une majeure partie des recherches actuelles s'est axée sur les effets physiologiques des substances naturelles, notamment les polysaccharides issus des plantes médicinales. Ces biomolécules ont par la suite démontré des effets bénéfiques pour la santé en occurrence leur capacité à stimuler le système immunitaire (**Angone, 2010 ; Bruneton, 2009**).

Afin de valoriser et de préserver le patrimoine floristique algérien, la présente étude porte sur une plante médicinale, de la famille des Asteraceae, plus précisément *Anacyclus pyrethrum*. C'est une plante vivace dans le tell constantinois, traditionnellement utilisée pour traiter diverses pathologies.

L'objectif de cette étude est d'examiner l'effet thérapeutique des polysaccharides extraits des racines de l'espèce *Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation induite chez des souris par un allergène en menant une étude histologique sur quelques organes.

Le document est structuré en trois parties : la première constitue la recherche bibliographique composée de trois chapitres dans lesquels nous évoquerons les

Introduction

polysaccharides, leur classification et usage thérapeutique ; un aperçu sur la phytothérapie, les différents types et ses avantages, l'étude phytochimique et l'aspect botanique de la plante étudiée ; une vue générale sur l'inflammation ainsi que l'histologie détaillée de quelques organes. Dans la seconde partie nous décrivons les différentes méthodes suivies et le matériel utilisé tout au long de ce travail. La troisième partie présente les principaux résultats obtenus et leur discussion.

Une conclusion générale et des perspectives achèvent ce document.



Partie I

Etude bibliographique

Chapitre I

1.1. Généralité

Les polysaccharides sont les biopolymères les plus répandus ainsi que les matières organiques les plus abondantes sur terre (**Teegarden, 2004**). Ils constituent un groupe diversifié de glucides. A l'instar des protéines et les polynucléotides, ils sont aussi des molécules essentielles dans les organismes vivants, et possèdent des fonctions biologiques importantes. En tant que biopolymères naturels, les polysaccharides natifs sont stables, non toxiques, biodégradables et biocompatibles. Leurs propriétés très diverses, les rendent extrêmement adaptés pour de nombreuses applications.

Les applications des polysaccharides imprègnent presque toutes les facettes de nos vies, telles que le domaine biomédical, pharmaceutique, cosmétique, l'industrie alimentaire et la science des matériaux. Une large gamme de polysaccharides a déjà trouvé des applications dans la santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le κ -carraghénane, les pectines et la gomme de guar (**Persin et al., 2011**).

1. 1. Définition

Les polysaccharides sont des polymères d'unités de monosaccharides. Ils sont définis comme des structures glucidiques constituées d'enchainements covalents de dix à plusieurs milliers d'unités monosaccharidiques reliées entre elles par des liaisons glycosidiques. Ils sont aussi appelés glycanes ou polyholosides (**Krausz et al., 2014**).

1.2. Origine des polysaccharides

Les polysaccharides sont présents chez tous les êtres vivants, dans les végétaux comme l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines ; chez les animaux comme le glycogène et l'acide hyaluronique, la chitine existe aussi chez les insectes et les crustacés ; et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme le xanthane, β -glucanes, les carraghénanes (**Ruff, 2008**). Le tableau (1) regroupe quelques exemples de polysaccharides et leur origine.

Tableau 1 : Origine des principaux polysaccharides (Garon – Lardiere, 2004).

Origines des polysaccharides	Polysaccharides
Végétale	Amidon Cellulose pectinesGomme
Animale	Glycogène Acide hyaluronique Dermatane sulfate Keratane sulfate Héparine Chondroïtine
Algale	Alginates Agars Fucanes
Microbienne	Dextranes Xanthanes
Fongique	Chitine

1.3. Propriétés

Les propriétés des polysaccharides sont largement exploitées dans différents secteurs industriels, aussi bien en agroalimentaire comme agents texturants, gélifiants, stabilisants, émulsifiants et épaississants. Ces substances biocompatibles aux effets thérapeutiques sont utilisés dans le domaine pharmaceutique et médicale (**Roger, 2002 ; Jeddou *et al.*, 2016**), avec plusieurs activités pharmacologiques : immunomodulatrice, antitumorale (**Yu *et al.*, 2017**), antidiabétique (**Zhang et Li, 2015**), antioxydante, antiinflammatoire, anticoagulante (**Jeddou *et al.*, 2016**), antibactérienne (**Zhu *et al.*, 2017**).

1.4. Structure et nomenclature

La structure des polysaccharides comme indique la définition est articulée d'enchaînement covalent d'unités de monosaccharide (sucres simples) reliées par des liaisons glycosidiques et/ou combiné avec la direction générale des différentes chaînes. Ils sont de structure chimique ramifiée ou linéaire. Les unités de monosaccharide se trouvent généralement dans des cycles de furanose ou de pyranose (Edgar, 2010).

○ Les algues sont riches en polysaccharides majoritairement sulfatés, le *fucoïdane* est l'exemple type de polysaccharide sulfaté complexe, trouvé dans la paroi cellulaire de diverses espèces d'algues brunes. Sa structure montre qu'il contient principalement des résidus (1→2) fucopyranose et 4-O-sulfate (figure 1). En outre, il contient aussi des pourcentages importants de L-fucose et d'ester sulfaté (Wijesinghe et Jeon, 2012).

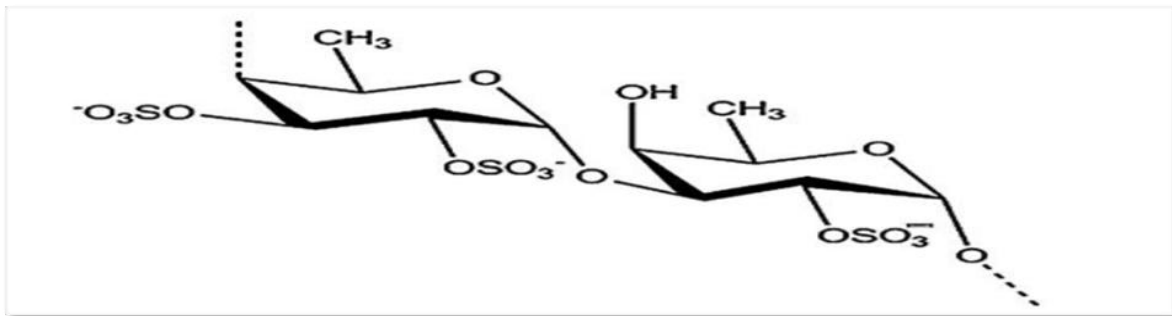


Figure 1. Structure de fucoïdane (Wijesinghe et Jeon, 2012).

○ La *chitine* (figure 2) est le principal composant des parois cellulaires des organismes fongiques. Elle est également présente dans les téguments chez certains arthropodes (par ex les crustacés). C'est un polymère non ramifié de N-acétylglucosamine lié par des liaisons osidiques de type β (1→4) (karp, 2010).

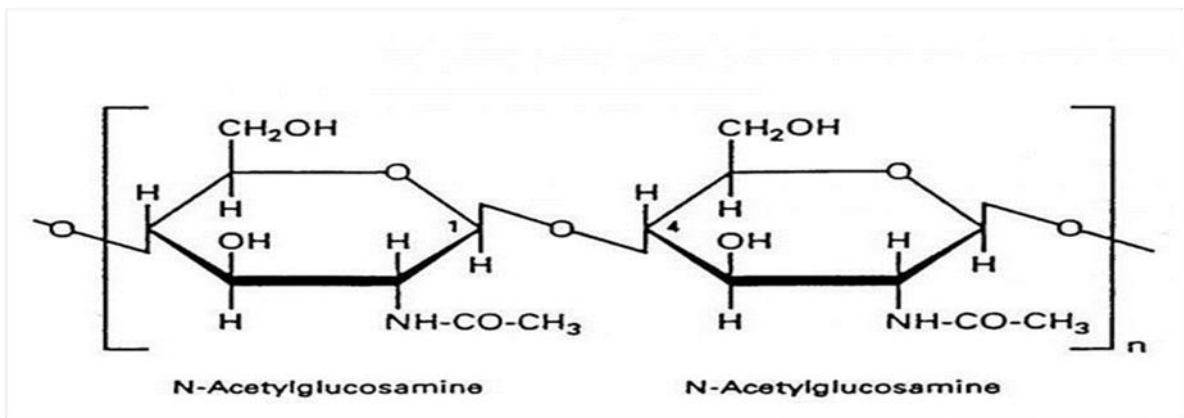


Figure 2. Structure de la Chitine [1]

○ Les *dextranes* sont des polysaccharides d'origine microbienne dont la chaîne principale ne contient que des unités D-glucopyranose répétées avec des liens α (1→6). Ils peuvent renfermer des branches de chaîne latérale qui impliquent d'autres liens tels que : α (1→2) ; α (1→3) ou α (1→4) (**figure 3**). Ces polymères sont produits par des souches appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Weisella* (**Nacher et al., 2015**).

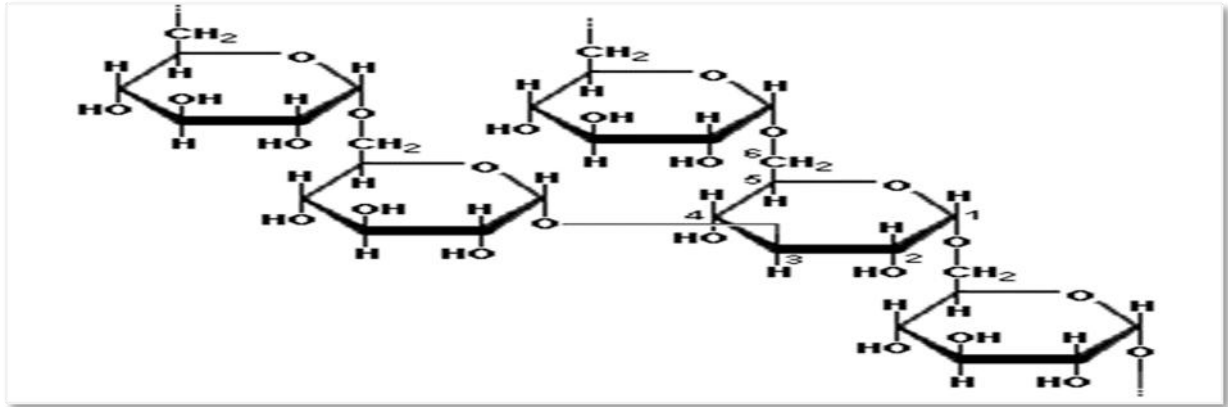


Figure 3. Structure des dextranes[2]

2. Classification

Les polysaccharides peuvent être classés en fonction de leur structure, leur fonction biologique, leur composition chimique, leur solubilité, leurs sources et leurs applications (**Liu et al., 2015**). Dans la présente étude nous nous limiterons de la classification selon la composition chimique et la fonction biologique.

2.1. Selon la structure

Les polysaccharides sont classés en deux types selon la composition chimique à savoir : les homopolysaccharides ou des homoglycane et les hétéropolysaccharides ou hétéroglycane.

a) Les homopolysaccharides : Les homopolysaccharides sont des polymères homogènes constitués d'un seul type de monosaccharide. Par exemple, le **chitosane** est un polysaccharide homogène, structurellement constitué d'une chaîne linéaire de résidus β (1→4)-D-glucosamine avec un nombre variable de groupes N-acétyl-glucosamine répartis aléatoirement (**figure 4**). C'est un monomère de D-glucosamine (**Moussard, 2006**).

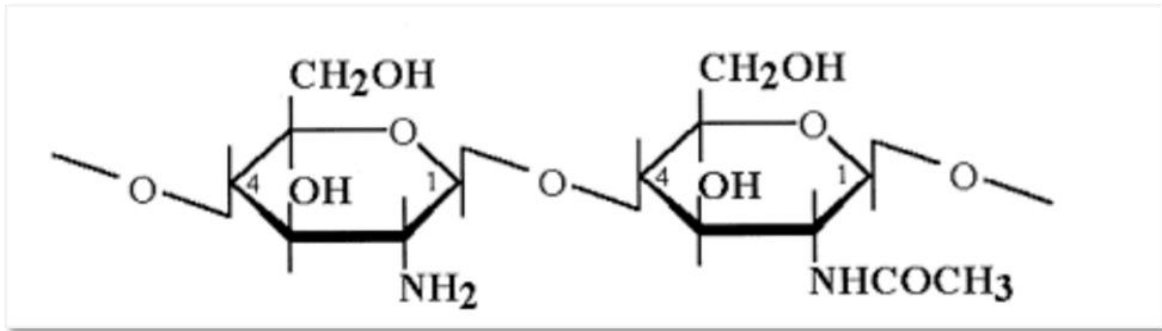


Figure 4. Structure du chitosane (Francis et Matthew, 2000).

b) **Les heteropolysaccharides** : sont des molécules de haut poids moléculaire contenant au moins deux paires de monosaccharides formant un motif de base polymérisée (Fabre, 1989 *In* Mkedder, 2012). Ce groupe peut être constitué d'un mélange de polysaccharides homogènes non séparés ou liés à des noyaux protéiques. Ils comportent comme leur nom l'indique, plusieurs types d'oses (Florian *et al.*, 2005 ; Voet *et* Voet, 2005 ; Brudieux, 2007). Par exemple, les *xylanes* représentent les principaux composés hémicellulosiques (*nom collectif de polysaccharides non cellulosiques composés d'unités glucidiques de natures différentes*), se retrouvant chez les angiospermes monocotylédones ou dicotylédones, mais aussi dans quelques familles d'algues rouges et vertes. Ce sont des polymères hétérogènes, qui sont classés et nommés en fonction des principaux oses qui les constituent (Zhang, 2012). Dans ce contexte, le terme *arabinoxylanes* concerne spécifiquement les xylanes ayant pour unique substituant osidique l'arabinose (Ying, 2012). Ils sont constitués d'une longue chaîne linéaire de D-xylopyranoses associés entre eux par des liaisons β (1-4), sur lesquels sont greffées des molécules α -L-arabinofuranose, (Figure 5).

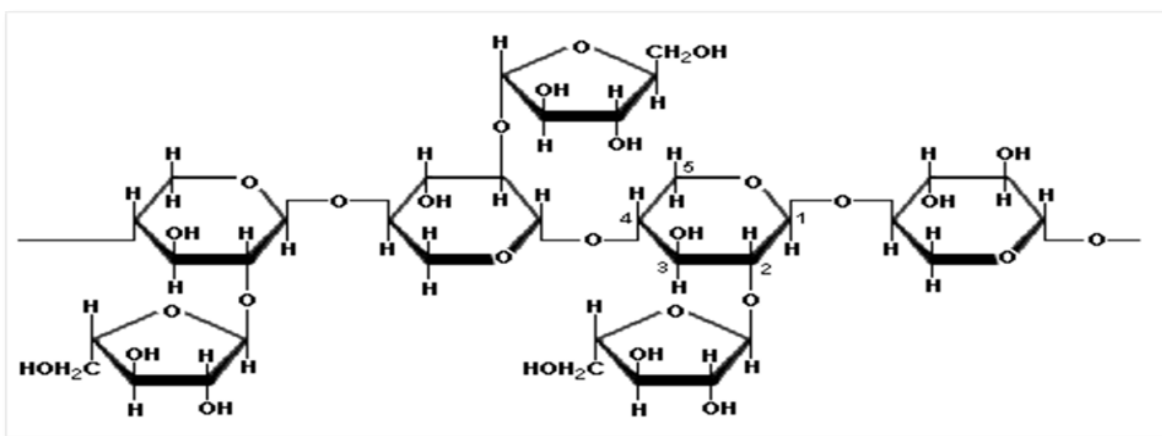


Figure 5. Structure moléculaire d'arabinoxylane [3]

2.2. Selon la fonction biologique

En plus de leurs multiples applications dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire et le domaine biomédical, les polysaccharides constituent également des réserves énergétiques pour les êtres vivants. Selon leurs fonctions biologiques, ils sont classés en polysaccharides de réserves et en polysaccharides de structures.

Les polysaccharides de réserve sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon (aussi appelé dans certains cas féculé), qui n'est synthétisé que par les plantes (**Ruff, 2008**). Les polysaccharides de structure constituent la principale composante des parois des cellules végétales, ils sont stables et rigides et ne sont pas assimilables par l'être humain. Ils jouent cependant un rôle important dans l'alimentation humaine : ce sont les fibres alimentaires, dont les plus connues sont la cellulose et la pectine (**Ruff, 2008**).

3. Usage thérapeutique

Les polysaccharides naturels ont attiré l'attention à l'échelle mondiale au cours des dernières décennies, en raison de leurs bioactivités multifonctionnelles, telles que l'activité immunomodulatrice, antioxydante, anti-inflammatoire, hypoglycémique et prébiotique. (**Srichamroen et al., 2009 ; Wang et al., 2018**).

3.1. Activité immunomodulatrice :

L'activation des moyens de défense du système immunitaire est une stratégie importante dans l'organisme pour prévenir et combattre les maladies comme le cancer. De nos jours, nombreuses études ont montrés que les polysaccharides d'origine végétale sont des substances immunomodulatrices puissantes pouvant être utilisées en clinique à des fins thérapeutiques dont voici quelques-uns.

Les polysaccharides acides d'*Angelica sinensis* ont montré un effet immunomodulateur sur les macrophages, ils stimulent la production de l'oxyde nitrique (NO) par l'induction de l'expression du gène iNOS (**Yang et al., 2007**).

Les polysaccharides extraits des racines d'*Echinacea pallida* induisent la production de cytokines TNF- α , IL1, IL6 et l'augmentation de la prolifération des lymphocytes. Ils montrent ainsi la fonction immunostimulante médiée par l'activation des plaques de Peyer du système immunitaire intestinal (**Scimeca et Tétau, 2005 ; Classen et al., 2006**).

Les travaux réalisés sur *Biophytum petersianum* Klotzsch (Oxalidaceae), une plante médicinale du Mali, ont montré que les polysaccharides isolés de la partie aérienne possèdent une activité immunomodulatrice qui stimule les leucocytes, les macrophages et les cellules dendritiques avec une légère activité sur les LT, LB et les NK (**Angone, 2010**).

De nombreux polysaccharides ont également montré des effets anticancéreux. Ces effets sont principalement dus à trois approches à savoir ; la cytotoxicité directe, la capacité immunorégulatrice, et l'effet synergique en association avec les médicaments anticancéreux (**Zong et al., 2012**). Sur la base de ces observations encourageantes, beaucoup d'efforts ont été concentrés sur la découverte de polysaccharides anticancéreux, dans un futur proche ces polymères pourront être utilisés comme substances alternatives couvrant les lacunes laissées par la chimiothérapie dans le traitement du cancer.

3.2. Activité anti-inflammatoire

Plusieurs études portant sur la recherche des activités biologiques des polysaccharides ont montré des effets anti-inflammatoires.

Hwang et al., (2011), ont montré que les polysaccharides sulfatés extraits de *Sargassum hemiphyllum* inhibent non seulement la sécrétion des cytokines inflammatoires induite par les LPS, mais aussi réduisent l'expression de l'ARNm de l'iNOS et COX-2 de manière dose dépendante.

Les polysaccharides isolés de *Golden needle mushroom* (un champignon) réduisent significativement les niveaux d'expression de CD4 et CD8, et le taux de myeloperoxydases sur des rats brûlés, et augmentent la sécrétion d'IL-10 (**Wu et al., 2010**).

Les fucoïdanes purifiés à partir de *Saccharina longicuris* inhibent l'action de la convertase C3, et empêchent également la voie alternative en bloquant la liaison entre le facteur B et C3. L'étude des hétérofucanes provenant de *Lobophora variegata* testés sur des rats présentant une arthrite induite, a montré non seulement une diminution de TNF- α , mais également diminue les cellules infiltrées dans la membrane synoviale (**Paiva et al., 2011**).

3.3. Autres activités

Bien que l'activité antioxydante soit généralement associée à des composés de faible poids moléculaire tels que les phénols, les caroténoïdes et les vitamines, plusieurs travaux ont révélé que certains polysaccharides isolés à partir de plantes et d'herbes présentent également des propriétés antioxydantes (**Mengome et al., 2014**).

Les polysaccharides provenant d'*A. Membranaceus* ont diminué le poids corporel des souris insulinoresistantes induite par un régime riche en graisses, et ceux extraits de *Rosae Fructus laevigatae* réduisent considérablement le taux de cholestérol sérique, les lipoprotéines de faible densité et les triglycérides chez les rats présentant une hyperlipidémie (Yu *et al.*, 2013). Ces résultats indiquent l'utilisation potentielle des polysaccharides dans le traitement du diabète et ses complications.

Les polysaccharides capsulaires bactériens sont très immunogènes. Ils peuvent stimuler la différenciation et la prolifération des cellules B matures, et donc d'améliorer la production d'anticorps. De nos jours ils sont purifiés et transformés en différents types de vaccins tels que le vaccin polysaccharidique contre la méningite, le vaccin polysaccharidique contre la pneumonie, le vaccin polysaccharide *anti-Haemophilus influenzae* de type b (Shi *et al.*, 2014).

Chapitre II

1. Phytothérapie

Depuis leur apparition sur terre, les plantes font partie de notre alimentation et l'homme s'est, depuis des millénaires, tourné vers la nature pour trouver des solutions lorsque la maladie apparaît. En effet, des textes égyptiens rédigés il y a plus de 4.000 ans évoquent déjà des remèdes à base de plantes pour traiter divers maux. Ces mêmes textes font référence à des écrits encore plus anciens, ce qui laisse supposer un savoir de très longue date transmis oralement au fil des générations (**Fleurentin et al., 2002**).

Les savoirs évoluant au gré des siècles avec l'expansion de la technologie, la phytothérapie fut plus ou moins oubliée, concurrencée par l'efficacité des médicaments de synthèse, dont beaucoup sont d'ailleurs fabriqués à partir de plantes. Par la prise de conscience des effets iatrogènes, les gens se tournent de nouveau vers les plantes médicinales. En effet le recours à la médecine naturelle est en pleine expansion : une croissance de 11 % du marché mondial des médicaments à base de plantes a été observée en 2011 (**Bedeau et Piquandet, 2011**).

1.1. Définition

Le mot *phytothérapie* se compose étymologiquement de deux racines grecques : "photon" et "therapeia" qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Mansour, 2015**). De nos jours, la phytothérapie est définie comme une thérapeutique utilisant les plantes ou formes dérivées de plantes, excluant les principes actifs purs (isolés) et les plantes toxiques (sur listes) (**Catier et Roux, 2007**). De ce fait, elle consiste en l'utilisation des plantes dites médicinales c'est-à-dire ayant des propriétés thérapeutiques. Cependant, il semble exister une distinction entre deux concepts :

- La phytothérapie moderne : Elle s'appuierait sur des connaissances biochimiques, cherchant à soulager des symptômes grâce à des principes actifs identifiés, testés cliniquement et contenus dans les plantes médicinales. Elle aurait surtout recours à des produits d'origine végétale obtenus par extraction et présentés comme toutes autres spécialités pharmaceutiques.

- La phytothérapie dite « traditionnelle » : qui reprendrait des usages ancestraux, empiriques et qui reposerait sur une approche holistique : elle utilise les effets de la plante totale sur l'individu dans sa globalité (**Jorite, 2015**).

1.2. Les différents types de la phytothérapie

Il existe plusieurs spécialités, éventuellement combinées entre elles, qui utilisent les plantes à des fins médicales, faisant la phytothérapie un domaine multidisciplinaire couvrant différents types thérapeutiques.

- **L'aromathérapie** : Elle utilise les essences des plantes aussi appelées huiles essentielles, les substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes. Ces substances aromatiques sont extraites par distillation. L'utilisation la plus fréquente est l'application par voie cutanée.

- **La gemmothérapie** : Elle consiste à utiliser les extraits alcooliques et glycéринés de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules. Ces extraits sont alors dilués au dixième pour pouvoir être utilisés en tant que plantes médicinales.

- **L'herboristerie** : C'est la méthode phytothérapique la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée, elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fleur, fruit, racine). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau, décoction, infusion ou macération. Il en existe sous forme plus moderne de gélules de poudre de plantes sèches, que le sujet avale. Le principal avantage est que cela permet de préserver les principes actifs.

- **L'homéopathie** : Elle fait appel aux plantes de manière prépondérante mais non exclusive. On y trouve également des souches d'origines animale ou minérale. Les plantes fraîches sont utilisées en macération alcoolique.

- **La phytothérapie chinoise** : Constitue un ensemble appelé « médecine traditionnelle chinoise » qui inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Cette phytothérapie vise à modifier les quantités de différentes énergies ou le circuit de ces énergies dans l'organisme.

- **La phytothérapie pharmaceutique** : Elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (**Strang, 2006**).

1.3. Les avantages de la phytothérapie

Les plantes médicinales d'usage courant en général ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable. Elles paraissent inoffensives et sont considérées par la population comme «une médecine douce» à l'opposé d'une médecine constituée de médicaments chimiques. La phytothérapie peut être utilisée dans le processus de détoxication du corps tout comme dans de nombreux traitements : Par exemple, la thérapie à base du gingembre, de poivron, de l'ail et de l'agripaume peut aider à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que l'hypertension artérielle, les ulcères variqueux et ainsi de suite. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies coronariennes et de réduire le niveau de cholestérol dans le sang. Dans le traitement de l'obésité, elle aide à réduire l'excès de poids et régule l'appétit.

La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique. Hormis les phytomédicaments pharmaceutiques, l'achat peut se faire sans ordonnance. L'accès est facile, les plantes médicinales sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé. **(Ben Moussa, 2007).**

Le corps humain semble mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique.

La phytothérapie reposant sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite **(Iserin et al., 2001).**

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

2.1. Description botanique

L'Anacyclus pyrethrum est une plante vivace pluriannuelle, à hauteur de 30 à 50 cm, caractérisée par des racines longues presque cylindriques, épaisses, fibreuses et rudes, de couleur brunes à l'extérieur et blanches à l'intérieur. Les tiges sont nombreuses, simples ou peu rameuses et couchées sur le sol avant de se redresser. Les feuilles sont verte-grisâtres, finement découpées, délicates et pubescentes; elles apparaissent dans la période Janvier-Décembre, alors que le stade de floraison s'étend du mois de Mai jusqu'à Septembre **(Selles, 2012)**. Il n'y a pas de risque de confusion avec les autres espèces vu qu'elle est la seule plante

à avoir une fleur avec un cœur jaune et des pétales blancs à revers rougeâtre rayé de blanc (**Figure 06**). C'est une plante d'odeur légère avec un goût âcre. La plantation peut se faire en automne, avec un rendement meilleur en fin d'avril.



Figure 06. *Anacyclus pyrethrum* (Aafi, 2013)

2.2. Nomenclature et taxonomie

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

Nom scientifique : *Anacyclus Pyrethrum*.

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

Dénomination locale : Iguendas, Gentas, tigentast, Tigenthast, igentas, gentus (berbère). La taxonomie est décrite dans le **tableau 02**

Tableau 02. Taxonomie d'*Anacyclus pyrethrum* (Annalakshmi *et al.*, 2012).

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

2.3. Ecologie et répartition géographique

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

L'*Anacyclus pyrethrum* semble mieux s'adapter dans des sols sableux, rocailloux, bien drainés et peu profonds, dans des espaces libres non ombragés. Il colonise volontiers les champs et les terrains à l'abandon, il préfère les terres ensoleillées et incultes, en particulier les steppes rocheuses sèches.

2.4. Etude phytochimique

Le genre *Anacyclus* a fait l'objet de quelques investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires. Le **tableau 03** rassemble les différents métabolites secondaires isolés de l'espèce *Anacyclus pyrethrum*.

Tableau 03. Quelques données phytochimiques sur l'*Anacyclus pyrethrum*.

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

2.5. Usage thérapeutique et toxicité

L'utilisation d'*Anacyclus pyrethrum*, plus particulièrement la partie racinaire est décrite dans de nombreuses pharmacopées.

En Algérie, l'infusion des racines du pyrèthre d'Afrique est recommandée en bain de bouche contre les maux de dents et les problèmes liés à la sécrétion salivaire comme sialagogue. Le décocté des racines est également cité en friction locale en cas de paralysie des membres. Les racines sont également utilisées sous forme de crème à base de graisses animales pour traiter la goutte et la sciatique. Les racines sont utilisées en infusion buvable par les femmes, celles-ci additionnées au lait et au miel est proposé comme réchauffant et comme aphrodisiaque, pour lutter contre l'infertilité féminine (**Boulos, 1983**). On reconnaît aux racines du pyrèthre des propriétés antiparasitaires et antibiotiques (**Baba Aissa, 1999**). On l'emploie aussi dans le traitement des maladies du foie.

La population rurale de l'ouest Algérien (région de Tlemcen) et certains herboristes suggèrent que cette plante peut être utile pour le diabète. Le pyrèthre d'Afrique est connu pour ses propriétés insecticides et antimycosiques. Mélangée à du goudron végétal, la poudre de racine est employée contre la teigne. On prépare aussi un oléate en faisant décocter les racines dans de l'huile d'olive. Cet oléate sert, en frictions sur la tête ou le pubis, à tuer les poux et la vermine.

Dans le Moyen Atlas, la poudre de racine est employée comme antimite. Les racines du pyrèthre d'Afrique purifient le sang, luttent contre l'anémie grâce à leur richesse en vitamine B12 et en Fer, redonne vigueur et clarifie la vue. Le pyrèthre lutte aussi contre les troubles digestifs, le cholestérol et les mucosités (**Selles, 2012**).

Une étude d'évaluation expérimentale effectuée sur les racines d'*Anacyclus pyrethrum* a signalé une activité immunostimulante de la fraction riche en polysaccharides (**Bendjeddou et al., 2003**). La Pellitorine, composé connu des racines, s'est montrée douer d'activités anesthésiques locales, antibactériennes, larvicides, ainsi qu'insecticides (**Chaaib, 2004**). Les racines contiennent également l'anacycline qui est considérée comme un tonique du système nerveux (**Annalakshmi et al., 2012**).

La plante n'est pas dénuée de toxicité et plusieurs accidents, (sévères inflammations des muqueuses digestives, respiratoires ou cutanées) ont été signalés, suite à des usages thérapeutiques. Par ses seules émanations, elle peut provoquer chez l'homme de la céphalée, des bourdonnements d'oreille, de la pâleur, des douleurs épigastriques, des nausées, parfois même une perte de connaissance (**Selles, 2012**).

Chapitre III

1. Inflammation

Par définition, l'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vascularisés, vivants, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. C'est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène (**Schorderet *et al.*, 1998**).

a. Causes de l'inflammation

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples et déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- Infection : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons)
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations.
- Agents chimiques : caustiques, toxines, venins.
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes.
- Défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie ;
- Agression dysimmunitaire par exemple l'anomalie de la réponse immunitaire, allergies, ou auto-immunité (**Lacavé-Lapalun, 2013**).

b. Types de l'inflammation

➤ **Inflammation aiguë** : le processus de l'inflammation aiguë est un processus dynamique et réversible conduisant à sa résolution. Ces symptômes sont liés aux effets des différents agents inflammatoires présents sur le site de l'agression (**Serhan *et al.*, 2007**).

➤ **Inflammation chronique** : est une inflammation prolongée, définie par la présence de cellules immunitaires. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années (**Iwalewa *et al.*, 2007 ; Charles *et al.*, 2010**).

c. Cellules et médiateurs impliqués dans la réaction inflammatoire

Les cellules qui interviennent dans les mécanismes de l'inflammation sont à la fois des cellules circulantes qui migrent vers le tissu interstitiel et des cellules résidentes des tissus

interstitiels. Les différentes cellules intervenant dans la réaction inflammatoire sont :
-Cellules sanguines circulantes ; Polynucléaires neutrophiles, Monocytes, Polynucléaires éosinophiles, Basophiles, Plaquettes, Lymphocytes, Plasmocytes.

-Cellules résidentes tissulaires : Macrophages, Histiocytes, Mastocytes, Cellules endothéliales, Fibroblastes (1).

De multiples médiateurs chimiques, provenant du plasma ou des cellules, déclenchent l'inflammation et interviennent à tous les stades de cette dernière. Les médiateurs d'origine plasmatique sont présents dans le plasma sous la forme de précurseurs qui doivent être activés pour acquérir leurs propriétés. Les médiateurs d'origine cellulaire sont soit préformés et séquestrés dans des granules intra-cellulaires, soit synthétisés de novo en réponse à un stimulus (2).

2. Immunité respiratoire

a. Organisation et structure des voies respiratoires

Les voies aériennes sont divisées en deux parties distinctes : voies aériennes supérieures et voies aériennes inférieures. Les voies aériennes supérieures sont situées dans la face et dans le cou et comprennent les fosses nasales, le pharynx, le larynx. Les voies aériennes inférieures sont situées dans le cou et dans le thorax et comprennent, la trachée et l'arbre bronchique (Figure 07) (Le Doussal, 2016).

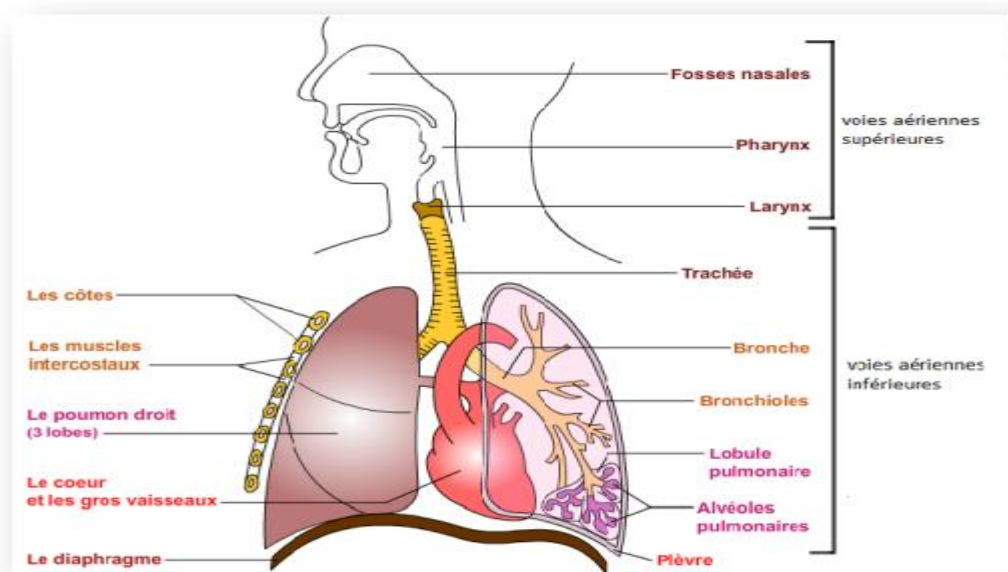


Figure 07. Schéma de l'appareil respiratoire (Le Doussal, 2016).

b. Système lymphoïde associé au tractus respiratoire

Dans le tractus respiratoire, le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) est représenté par le **NALT** (nose-associated lymphoid tissue), l'**anneau de Waldeyer** de la muqueuse pharyngée et le **BALT** (bronchus-associated lymphoid tissue) (Billen *et al.*, 2006).

Le **NALT** joue un rôle important dans la réponse immunitaire: après le dépôt local d'un antigène intranasal, celui-ci sera pris en charge et présenté par de cellules spécialisées au niveau de la lamina propria sous-jacente et/ou du nœud lymphatique régional. Cela résulte en l'activation des cellules T qui permettront aux cellules B de se différencier en plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines (Billen *et al.*, 2006). L'expression « **anneau de Waldeyer** », quant à elle, évoque le MALT entourant l'ouverture des tractus digestifs et respiratoires (Billen *et al.*, 2006). Le **BALT**, enfin, est constitué de lymphocytes épars entre les cellules épithéliales, et de plasmocytes dispersés dans la lamina propria. Des cellules dendritiques présentes dans l'épithélium transportent les antigènes vers les nœuds lymphatiques trachéobronchiques (Chabanne *et al.*, 2006).

c. La flore respiratoire

La flore commensale polymicrobienne du tractus respiratoire supérieur, du nasopharynx aux bronchioles, constitue un micro-écosystème spécifique de l'hôte et son environnement qui contribue à activer les effecteurs de l'immunité innée et adaptative. Elle participe à l'acquisition d'une immunité protectrice contre les différentes souches microbiennes qui colonisent l'épithélium respiratoire dès que l'enfant entre en collectivité. Elle intervient également en s'opposant à l'implantation et la colonisation par des microorganismes exogènes, par compétition nutritionnelle et inhibitrice (Dickson *et al.*, 2013).

Au niveau des voies aériennes supérieures (VAS), la niche naso-pharyngée est colonisée par un microbiote distinct de celui de l'oropharynx. Les phyla prédominants dans le nez sont les *Firmicutes* et les *Actinobacteria*, *Staphylococcaceae*, dont certaines sont des pathogènes opportunistes majeurs : *Staphylococcus aureus* (Lemon *et al.*, 2010). Les voies ariennes inférieures sont caractérisées par un microbiote en faible quantité. En effet, les concentrations de bactéries au niveau pulmonaire sont considérablement inférieures à celles des VAS (Charlson *et al.*, 2011). Malgré sa faible quantité, il très diversifié (Charlson *et al.*, 2012). Les phyla les plus communément rencontrés à ce niveau sont les *Proteobacteria*, les *Firmicutes* et les *Bacteroidetes* (Huang et Lynch, 2011). Le compartiment pulmonaire

proprement dit comportant les bronchioles et les alvéoles est exempt de microorganismes (Alonso, 2008).

d. Immunité innée et adaptative au niveau respiratoire

i. Immunité innée

L'épithélium des voies respiratoires est capable de se défendre face aux diverses agressions quotidiennes. Pour cela, il dispose dans un premier temps d'un système de défense inné, basé sur des barrières anatomiques s'opposant à la colonisation des voies respiratoires par des agents pathogènes et l'installation d'un foyer inflammatoire (Taront, 2008).

a) Barrières anatomiques

➤ **Clairance muco-ciliaire :** la clairance muco-ciliaire est le principal mécanisme de défense qui protège le système de conduction de l'air des agents toxiques et infectieux inhalés. Elle est définie par le mouvement unidirectionnel des particules déposées et des gaz dissous dans le mucus du tractus respiratoire, dans le but de les éliminer (Castello, 2016).

➤ **Surfactant alvéolaire :** la filtration de l'air atmosphérique dans les alvéoles fait intervenir le surfactant alvéolaire produit par les pneumocytes de type II. Les alvéolocytés membraneux et granuleux (cellules à poussières) capturent les particules poussiéreuses. Ils sont aidés dans cette tâche par le surfactant qui tapisse la paroi basale des alvéoles. Le surfactant est antimicrobien pour un grand nombre de bactéries (McDonald *et al.*, 1983).

➤ **Peptides antimicrobiens :** les molécules de défense sont présentes dans le mucus et peuvent être des peptides. Les cellules épithéliales respiratoires modulent les réponses immunitaires en produisant des substances antimicrobiennes comme les défensines, les surfactants etc. certaines de ces molécules proviennent également des macrophages, cellules dendritiques et polynucléaires neutrophiles. Brièvement, ces petits peptides chargés positivement viennent se fixer par interaction électrostatique sur les charges négatives des parois microbiennes, puis déstabilisent ces enveloppes en formant des pores, ce qui permet de détruire les microorganismes (Bals, 2000). Cependant, ces peptides antimicrobiens ont d'autres effets biologiques : ils peuvent en effet moduler la réponse pro- ou anti-inflammatoire (Mansour *et al.*, 2014). Les cellules épithéliales sécrètent également des protéines antimicrobiennes, avec des poids moléculaires plus élevés. Parmi elles, le lysozyme

hydrolyse qui entraîne la lyse des bactéries à Gram négatif. La lactoferrine, présente en forte concentration dans le mucus bronchique, séquestre le fer et diminue sa disponibilité, freinant alors la croissance de certaines bactéries. La lactoferrine a également des propriétés bactéricides directes et antivirales (Evans *et al.*, 2010; Vareille *et al.*, 2011). Le **tableau 05** regroupe quelques molécules impliquées dans la défense antimicrobienne.

Tableau 05. Molécules à activité antimicrobienne présentes dans l'arbre respiratoire
(Bellanger, 2010 *In Ganz*, 2002)

Molécules	Mode d'action	Origine
Lysozyme	lyse du peptidoglycane	Épithélium, monocytes, Polynucléaires Neutrophiles
Lactoferrine Transferrine	Captation du fer	Épithélium, Polynucléaires Neutrophiles
Phospholipase A2	Lyse des phospholipides membranaires	
Défensines et cathélicidines	Destruction de la membrane cytoplasmique	
Collectines, protéine A et D , Surfactant (SP-A, SP-D)	Opsonisation, phagocytose, modulation de la production de cytokines, production des radicaux oxygénés	Pneumocytes de type 2
IgA, IgG	Neutralisation, opsonisation, Phagocytose, activation du complément	Lymphocytes B, plasmocytes
Complément	Opsonisation, phagocytose, Lyse des membranes cytoplasmiques chimotactisme des polynucléaires Neutrophiles	Pneumocytes de type 2, macrophages, fibroblastes
Fibronectine	Opsonisation, phagocytose chimotactisme des polynucléaires Neutrophiles, inhibition de l'adhérence	Macrophages Fibroblastes Cellules épithéliales

L'appareil respiratoire possède d'autres mécanismes de barrières naturelles tels que l'éternuement ou la toux, les complexes jonctionnels intercellulaires, la flore respiratoire, qui permettent une élimination rapide et efficace des agents déclencheurs.

b) Défense cellulaire non spécifique du système respiratoire

Lorsque les microorganismes agresseurs contournent les mécanismes de défense de la barrière anatomique muqueuse, la défense cellulaire non spécifique constitue une seconde ligne de défense.

➤ **Les récepteurs de l'immunité innée :** la réponse immunitaire innée met en jeu des récepteurs spécifiques : les PRRs qui reconnaissent des « signaux de danger » : soit des motifs associés aux micro-organismes, les PAMPs, soit des signaux endogènes dérivés de cellules endommagées, les DAMPS (Mogensen, 2009). Ces récepteurs des « signaux de danger » peuvent être classés en quatre grandes catégories : les récepteurs de type toll-like receptors (TLRs), les récepteurs de type NOD-like receptors (NLRs), les retinoid acid-inducible gene-I (RIGI)- like receptors (RLRs) et un groupe plus récemment découvert de senseurs intracytosoliques d'ADN et d'ARN (Kawai et Akira, 2011).

➤ **Les cellules effectrices :** la défense cellulaire non spécifique est médiée par les cellules de l'immunité innée, notamment les macrophages alvéolaires, les cellules dendritiques, les neutrophiles et d'autres cellules sises sur l'épithélium pulmonaire (figure 08).

Les macrophages alvéolaires (MA) issus de la transformation des monocytes circulant sont l'une des armes les plus efficaces de l'immunité broncho-pulmonaire, considérés comme la première ligne de défense du système immunitaire innée. Ils sont impliqués dans la reconnaissance des pathogènes ainsi que dans la sécrétion des médiateurs de l'inflammation (Sano et Kuroki, 2005 ; Wright, 2004). Lorsque l'inoculum est faible ou l'agent infectieux est peu virulent, les macrophages contrôlent l'infection, ils éliminent les pathogènes par phagocytose au terme de laquelle ils sont soit évacués par l'appareil muco-ciliaire, soit dirigés vers les ganglions lymphatiques régionaux au travers des cloisons inter-alvéolaires. Ce phénomène survient sans déclencher une réaction inflammatoire. Dans le cas où l'inoculum est important ou l'agent infectieux possède des facteurs virulents, les macrophages synthétisent des médiateurs qui mettent en jeu d'autres populations cellulaires de l'immunité innée (McCormack et Whitsett, 2002). Les MA interviennent également dans la réponse immunitaire en préparant et en présentant les antigènes aux lymphocytes T, en sécrétant des interleukines qui stimulent et activent ces derniers.

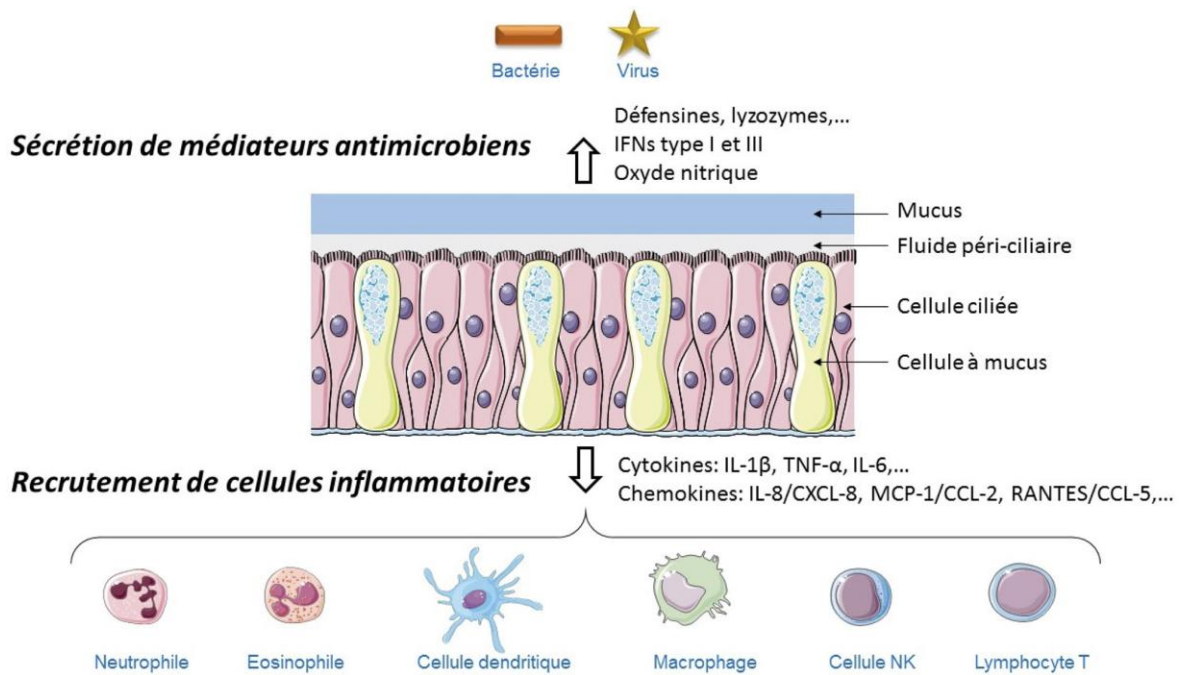


Figure 08. Les mécanismes de défense non spécifique de l'épithélium respiratoire (Jouan, 2016).

Les cellules dendritiques, sont présentes à tous les niveaux de l'arbre respiratoire et peuvent interagir avec les antigènes inhalés et intervenir précocement dans le déroulement de la réponse immunitaire. Expriment à leur surface, divers marqueurs membranaires dont les molécules de classe I et II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), elles sont des puissantes cellules accessoires vis-à-vis des lymphocytes T dont elles peuvent induire une prolifération intense (Boles *et al.*, 1994). Chez l'homme, les lymphocytes de l'arbre respiratoire sont majoritairement présents au sein des structures ganglionnaires et donc distants du foyer infectieux. Les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans pulmonaires phagocytent l'agent pathogène, l'élaborent, le transportent et présentent ses peptides antigéniques aux lymphocytes et elles orientent le type de réponse développée en fonction de la production des différentes cytokines immunomodulatrices (IL-12 et IL-10) (Vivier, 2011).

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont normalement absents dans les structures broncho-alvéolaires, mais ils s'y accumulent à la moindre agression, par recrutement à partir des capillaires alvéolaires à la suite de la phase de vasodilatation et d'œdème réactionnelle à

l'agression. Les PNN ont au moins trois fonctions (le chimiotactisme, suivi de diapédèse, la phagocytose, comprenant adhésion, ingestion et digestion des bactéries au sein des phagolysosomes, et l'inflammation), conduisant à la production d'enzymes protéolytiques (telle que l'élastase), de radicaux libres (l'ion super-oxyde) et de produits de dégradation de l'acide arachidonique provenant des phospholipides de leurs parois par exemple, les prostaglandines et les leucotriènes (**Boles *et al.*, 1994**).

Les cellules Natural Killer (NK) prennent pour cible de destruction, les cellules infectées ou tumorales ayant une expression aberrante du CMH de classe I (CMH-I). Elles sont donc cytotoxiques pour les cellules du cancer des bronches. De manière générale, la présence de CMH-I fournit un signal inhibiteur aux NK et c'est l'absence ou l'altération des molécules de CMH-I à la surface des cellules infectées ou tumorales qui permet leur activation. Par des mécanismes d'activation des récepteurs (récepteurs activateurs/activateurs), elles tuent les cellules malignes et les celles infectées par les agents pathogènes. Les granules présents dans le cytoplasme des cellules NK contiennent de la perforine et des granzymes qui seront libérés après fixation à la cellule cible. Les cellules NK possèdent également des récepteurs à domaine de mort, les TNFR (*Tumor Necrosis Factor Receptor*), qui vont permettre d'induire l'apoptose des cellules cibles. Et enfin, ces cellules possèdent le marqueur CD16 à leur surface, qui est un récepteur du fragment Fc des IgG. Ainsi, les cellules ou organismes recouverts d'anticorps pourront être reconnus par les cellules NK et seront alors lysés. Ce mécanisme est connu sous le nom de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) pour *Antibody-Dependant Cellular Cytotoxicity* (**Vivier, 2011**).

Les mastocytes muqueux ou **conjonctifs** produisent de l'histamine et des leucotriènes sous l'effet des allergènes inhalés via les IgE. Ceux-ci augmentent la perméabilité vasculaire, provoquent la contraction des muscles lisses. Ils possèdent des propriétés chimiotactiques et stimulent la production de l'IL-2, de l'IFN- γ et de l'IL-4 par les lymphocytes T (**Boles *et al.*, 1994**).

ii. Immunité adaptative

Elle se distingue de l'immunité innée par sa faculté à conserver en mémoire le souvenir de la première agression, une agression ultérieure par le même agent infectieux entrainera une

réponse immunitaire plus rapide, plus fine et plus intense (réaction *anamnesique*) (Wright, 2004 ; Haagsman, 2002). L'immunité acquise fait intervenir la présentation des antigènes aux lymphocytes via les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

a) Immunité à médiation cellulaire

Les cellules dendritiques par présentation des peptides antigéniques, activent les lymphocytes T qui se différencient en LT mémoires et LT effectrices. Les LT naïfs exprimant le corécepteur CD8 deviennent des LT cytotoxiques. Les LT CD8+ reconnaissant des complexes CMH-I se différencient en lymphocytes Tcytotoxiques qui vont lyser les cellules agressées et sécréter des cytokines, notamment de l'IFN-g et de l'IL-2. Les LT naïfs exprimant le co-récepteur CD4 deviennent, quant à eux, des LT auxiliaires (Th, *T-helper*). En effet, les cellules dendritiques produisent ensuite les cytokines immunomodutrices, l'IL-12 (phénotype Th1) et l'IL-10 (phénotype Th2) induisant la différenciation des lymphocytes T CD4+ en sous-populations à action opposée (**figure 09**) : les lymphocytes Th1, les lymphocytes Th2 ; les LT régulateurs (LTreg), et les lymphocytes Th17.

Les lymphocytes de type Th1 sont ainsi définis par leur capacité à produire l'IL-2 et l'IFN-g, stimulant l'activation et la prolifération des macrophages et les cellules T CD8, favorisant ainsi la mise en place d'une réponse cellulaire cytotoxique spécifique vis-à-vis des pathogènes intracellulaires. La réponse de type Th2 à l'inverse, est impliquée dans la protection contre des pathogènes extracellulaires et induit la sécrétion de l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et l'IL-13, qui va orienter le système immunitaire vers une réponse humorale (**Galmès, 2013**). En effet, les lymphocytes auxiliaires qui ont reconnu l'antigène, gagnent la circulation sanguine par le canal thoracique pour y murer et rejoignent le tissu lymphoïde bronchique sous forme activée; ils sécrètent des lymphokines qui agissent sur la différenciation des lymphocytes B (**Boles et al., 1994**).

b) Immunité à médiation humorale

L'immunité humorale est orchestrée par les lymphocytes B et a pour principal moyen d'action des immunoglobulines produites par les plasmocytes qui sont la forme effectrice des LB. La synthèse des immunoglobulines se fait dans la *lamina propria* de l'épithélium bronchique. Les principales immunoglobulines présentes dans la lumière de l'arbre trachéo-

bronchique sont les IgA et les IgG (**Renegar et al. 2004**). Les IgA sont secrétées sous forme dimérique et les IgM sous forme pentamérique, une faible proportion d'IgG, IgD et IgE est souvent présente dans la muqueuse respiratoire (**Bellanger, 2010**). L'immunité médiée par les IgA constitue, en synergie avec la clairance muco-ciliaire, une barrière efficace contre les agents extérieurs inhalés, prévenant la réponse inflammatoire.

Les IgA réalisent une «exclusion immune » dans la lumière de la muqueuse et inhibent l'adhésion des bactéries à l'épithélium. Elles neutralisent les microorganismes en les recouvrant par un processus d'assemblage. Les IgA agglutinent les pathogènes et activent les leucocytes qui expriment le récepteur Fc alpha (**Maury et al., 2003**). La transcytose des complexes immuns conduit les virus qui ont échappé au premier mécanisme et qui ont franchi la barrière cellulaire de la muqueuse d'être en contact avec les IgA synthétisées dans le chorion et les IgG sériques ou locales, et constitue ainsi un complexe immun qui sera reconduit à la surface apicale de la cellule. L'élimination des virus intra-épithéliaux est également possible par capture par les IgA spécifiques durant la transcytose et par reconduction vers la lumière et le mucus (**Denis et al., 2007**).

Les IgG résistent aux enzymes protéolytiques et ont une très haute affinité. Elles sont dirigées contre un agent pathogène muqueux si celui-ci a franchi la muqueuse et/ou si les antigènes ont diffusé à travers celle-ci. Elles dépendent du système immunitaire systémique et sont soit produites sur place soit diffusées à partir du sang. En cas d'infection, le passage des IgG à partir du plasma est accru.

Les IgM sont rares sauf en cas de déficit en IgA, leur intérêt fonctionnel est limité (**Denis et al., 2007**). L'ensemble des mécanismes de défense cellulaire du système immunitaire des voies respiratoires est représenté dans la **figure 09**.

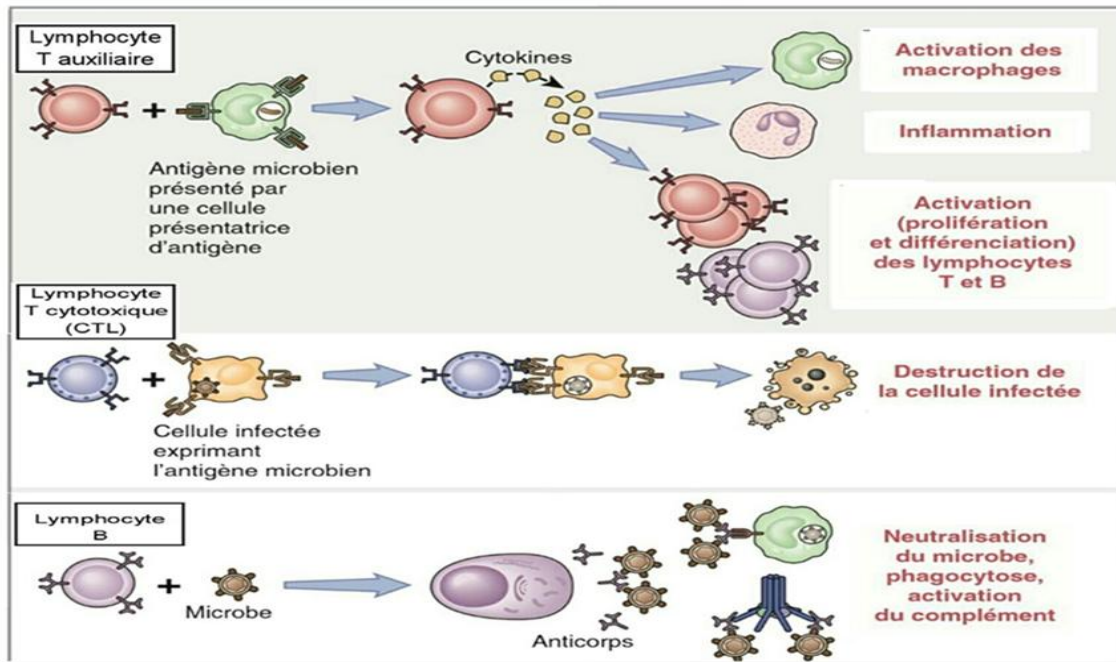


Figure 09. Différentes classes de lymphocytes naïves et effectrices effectrices (Abbas et Lichtman, 2008).

3. Régulation de la réponse immunitaire de la muqueuse respiratoire

Le contact permanent avec des agresseurs extérieurs potentiels implique qu'il y ait une régulation permanente et fine de la réponse de la muqueuse à la détection de ses agressions. De très nombreux acteurs cellulaires et moléculaires participent à cette régulation de la réponse immunitaire (Medzhitov, 2008). Les cellules présentes au sein de la muqueuse respiratoire, induisant l'inflammation, sont également équipées pour pouvoir la limiter (Soares *et al.*, 2014 ; Medzhitov *et al.*, 2012). Les mécanismes ultimes de régulation de la réponse inflammatoire de la muqueuse respiratoire, impliquent l'IL-17 et l'IL-22. Ces deux cytokines, sont produites au niveau pulmonaire par des cellules innées découvertes récemment. Ce sont, les lymphocytes $T\gamma\delta$, les cellules **NKT** (Natural killer T cell) et les **Innate Lymphoid Cells** de type 3. Outre l'IL17 et l'IL-22, les cellules épithéliales produisent aussi l'IL-10 et le $TGF\beta$ (cytokines antiinflammatoires), pour limiter les dommages tissulaires de la réponse inflammatoire (Eisele et Anderson, 2011). Enfin, il a plus récemment été mis en évidence des molécules dérivées d'acides gras polyinsaturés ayant un rôle actif dans la résolution des processus inflammatoires (Serhan, 2014).



Partie II

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire d'Immunologie de l'Université 8 Mai 1945-Guelma, il s'est déroulé du 11 Février au 15 Mai 2018. Il s'agit d'une étude portant sur l'effet de deux fractions polysaccharidiques extraits à l'eau chaude à partir des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation respiratoire.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

L'extrait polysaccharidique brut est obtenu à partir des racines de *l'Anacyclus pyrethrum*. Ces racines, une fois retranchées de la plante ont été lavées avec l'eau de robinet et de l'éthanol pour éliminer toute impureté avant d'être séchées et pulvérisées. La poudre obtenue après la pulvérisation a été ensuite soumise à différents procédés de purification dont la dialyse, éliminant les lipides, les protéines, les sels minéraux etc, donnant ainsi un extrait brut ne contenant que les polysaccharides (**Figure 10**). Ce travail a été effectué dans le laboratoire de Biochimie et d'Immunologie de l'Université de 08 Mai 1945 de Guelma dans le cadre d'une étude, au titre de l'année 2016-2017. Notre travail commence à partir de cet extrait brut, duquel nous avons obtenu deux fractions polysaccharidiques dont les étapes d'obtention seront détaillées dans la partie protocole expérimental.



Figure 10. (A) Racines d'*Anacyclus pyrethrum* avant et après séchage ; (B) Poudre des racines d'*Anacyclus pyrethrum* (Coulibaly *et al.*, 2017).

1.2. Matériel animal

Pour la réalisation de ce travail, 15 souris males blanches, d'espèce *Mus musculus*, d'un poids corporel allant de 27 à 43g, et âgées de 8 semaines ont été utilisées pour notre étude. Ces souris provenant de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger ont été soumises à une période d'adaptation dans des cages en polyéthylène tapissées de copeaux de bois, à l'animalerie de la faculté de SNV-STU de l'université de Guelma, ayant un accès libre à l'eau et à la nourriture pendant 15 jours avant de procéder à toute expérimentation (**figure 11**).



Figure 11. La période d'adaptation des souris (prise personnelle).

2. Protocoles expérimentaux**2.1. Le fractionnement de l'extrait polysaccharidique**

La préparation des fractions a nécessité 7g de poudre d'extrait polysaccharidique. La quantité pesée (7g de l'extrait brut) a été mise dans un bécher, une série d'ajout de 50ml d'eau distillée a été effectuée jusqu'à un volume final de 150ml et l'ensemble porté au bain marie à 80°C. A chaque ajout d'eau distillée, la solution est agitée à l'aide de spatule jusqu'à

l'obtention d'une solution homogène. Après quelques minutes de refroidissement, 300ml d'éthanol à 96% (soit 2 volumes) a été ajouté à la solution homogène. Le bécher est ensuite recouvert avec du parafilm et laissé à 4°C pendant 72h, la solution à précipiter est répartie en deux phases : surnageant et culot (**figure 12**).



Figure 12. Etapes de précipitation et de séchage (prise personnelle).

Le culot récupéré dans des verres de Petri recouverts de compresse stérilisée a été séché à l'air libre pour obtenir la première fraction (F1) (**figure 13**).

Le surnageant récupéré (190ml) lui est ajouté 760ml d'éthanol à 96% (soit 4 volumes) puis la solution est laissée à nouveau à 4°C pendant 72h. Après ce laps de temps, le surnageant est prélevé et le culot est réservé dans des verres de Petri. La centrifugation du surnageant prélevé a donné des traces de culot qui ont été récupérées et ajoutées au culot réservé dans les verres de Pétri. Après quelques jours de séchage à l'air libre la deuxième fraction (F2) est ainsi obtenue (**figure 13**).

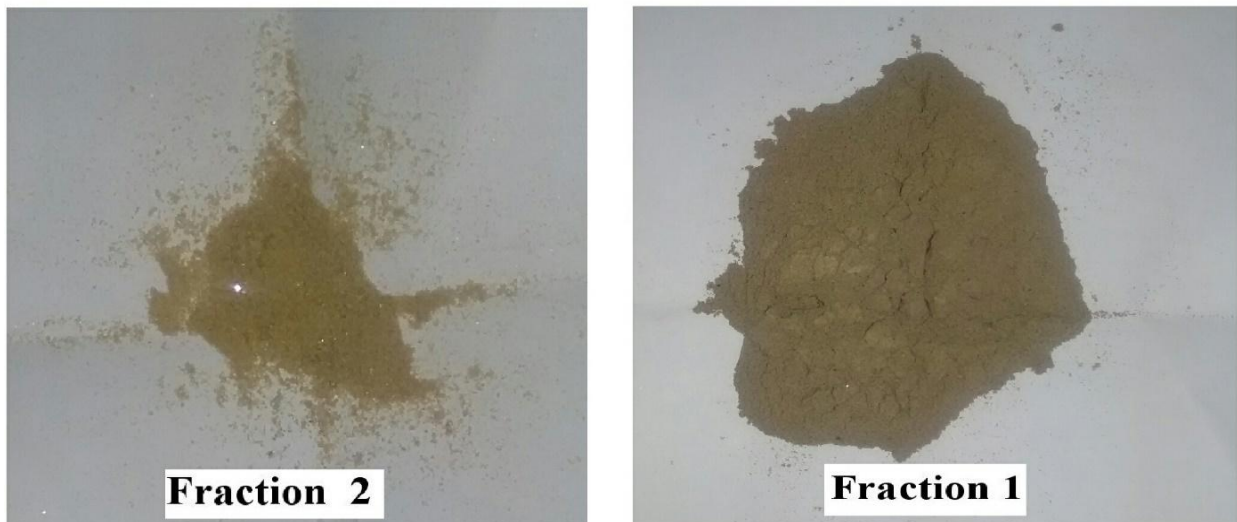


Figure 13. La poudre des fractions (prise personnelle)

2.2. Traitement des souris

Dans cette étude, les souris ont été réparties en 5 lots soit 3 souris par lot, le déroulement du traitement ainsi que les paramètres analysés sont présentés sur le diagramme ci-dessous (**Figure 14**).

Les souris utilisées comme témoins sains ont été traitées avec la solution de NaCl à 0,9% par voie intranasale à raison d'une dose de 5 μ l par narine aux jours 0, 7, 14, 15 et 16.

Les témoins malades ont été traités avec une poudre d'HDM (House Dust Mite) diluée par le NaCl à 0,9% (HDM/NaCl) par voie intranasale à raison de deux doses : 25 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 0 et 7 ; 5 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 14, 15 et 16 (**Madouri, 2014**).

Les souris traitées par le corticoïde (Physiolone) ont reçu les traitements suivants :

- ✚ 25 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 0 et 7 par voie intranasale (**I.N**).
- ✚ 5 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 14, 15 et 16 par voie intranasale.
- ✚ 2ml de solution de physiolone par kg aux jours 14, 15 et 16 par voie orale (**V.O**).

Les souris traitées par la fraction 1 ont reçu les traitements suivants :

- ✚ 25 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 0 et 7 par voie intranasale.
- ✚ 5 μ g de HDM/10 μ l de NaCl aux jours 14, 15 et 16 par voie intranasale.

- ✚ 50mg de fraction 1 par kg aux jours 14, 15 et 16 par injection intrapéritonéale (I.P) (Coulibaly *et al.*, 2017).

Les souris traitées par la fraction 2 ont reçu les traitements suivants :

- ✚ 25µg de HDM/10µl de NaCl aux jours 0 et 7 par voie intranasale.
- ✚ 5µg de HDM/10µl de NaCl aux jours 14, 15 et 16 par voie intranasale.
- ✚ 50mg de fraction 2 par kg aux jours 14, 15 et 16 par injection intrapéritonéale (Coulibaly *et al.*, 2017).

Toutes les souris ont été sacrifiées au dix-septième jour. Le traitement « 10µl de NaCl » signifie 5µl de NaCl à 0.9% par narine.

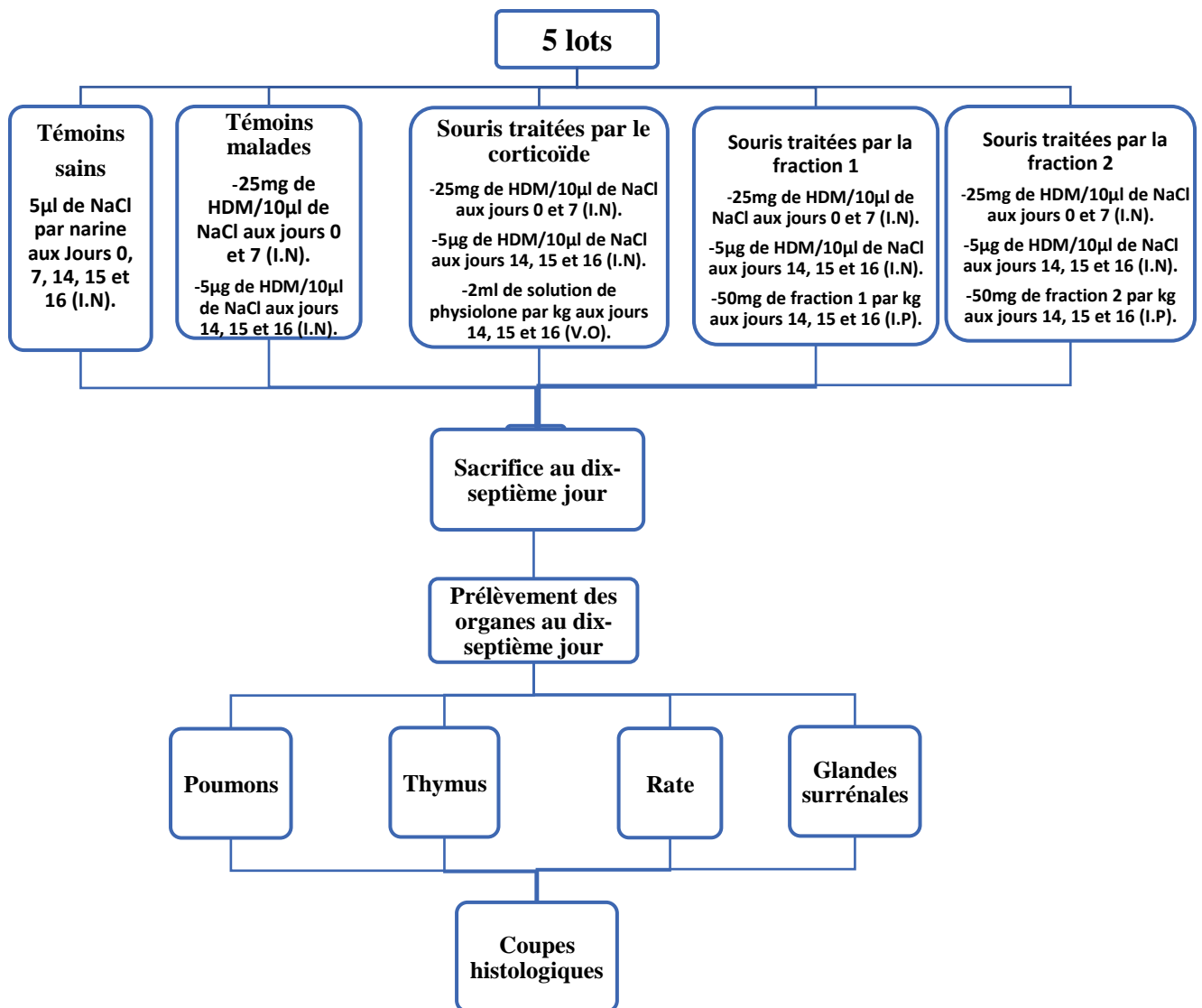


Figure 14. Déroulement du traitement

2.3. Prélèvement des échantillons

L'animal a été sacrifié et fixé en position dorsale sur la planche à dissection à l'aide des épingles. Une boutonnière faite dans la peau de l'abdomen en amont de l'orifice urinaire à l'aide de la pince et le ciseau fort a permis d'introduire la sonde cannelée sous la peau, de la boutonnière jusqu'au cou. La peau est ensuite découpée avec le ciseau jusqu'à la mâchoire inférieure suivant la direction de la sonde. Après avoir décollé la peau avec le scalpel et l'épinglée vers l'extérieur, une deuxième boutonnière a été faite dans la paroi musculaire de l'abdomen avec un ciseau fin. La paroi musculaire découpée de la boutonnière à la limite de la cavité thoracique donne accès aux organes. Les quatre organes prélevés (poumons, rate, thymus et glandes surrénales) ont été délicatement lavés avec le PBS à 4°C, éliminant le sang et la graisse (**figure 15**). Les organes ont ensuite été conservés dans des boîtes à échantillon contenant le formol à (10%) et maintenus à 4°C avant la réalisation des coupes histologiques.

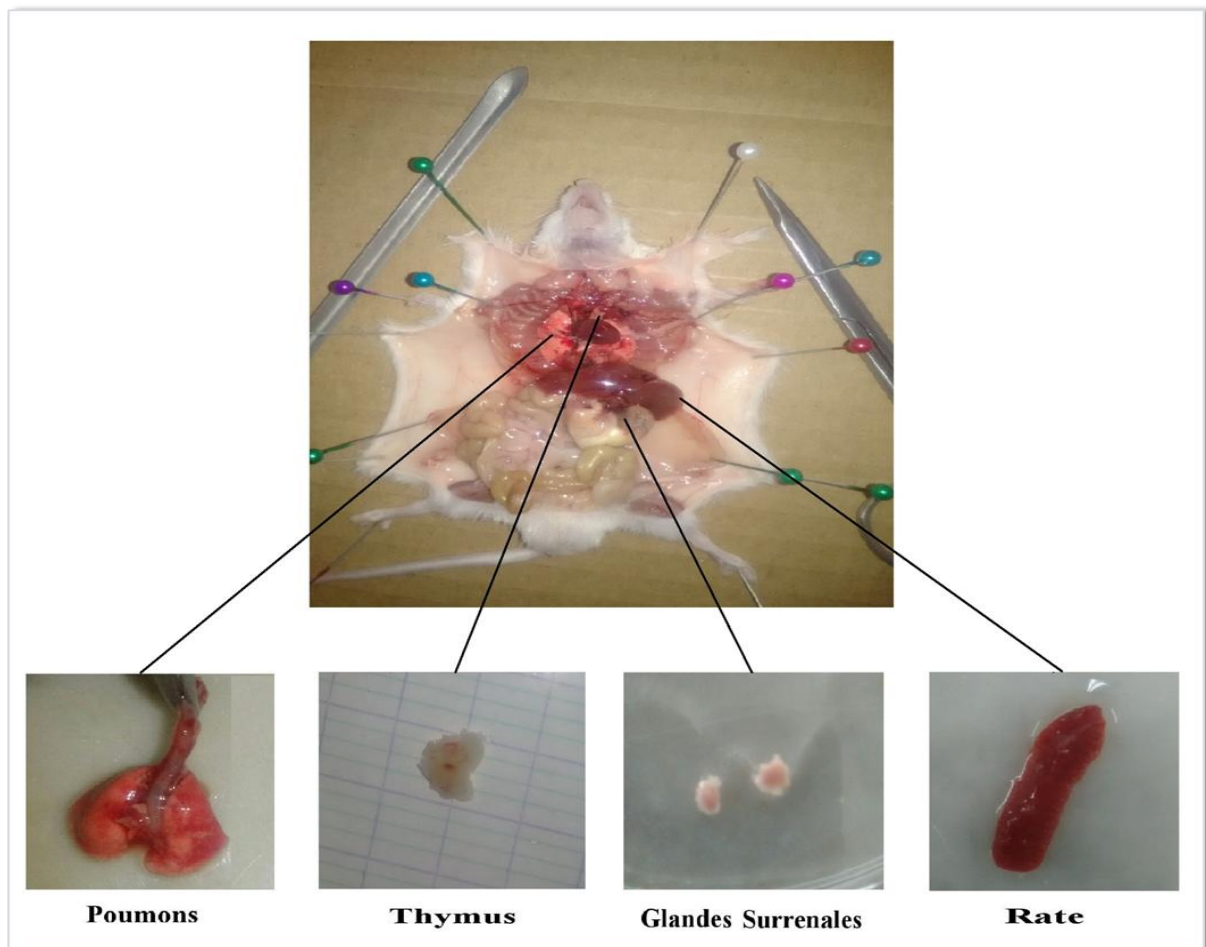


Figure 15. Dissection et prélèvement des organes (prise personnelle).

2.4. Préparation des coupes histologiques

L'obtention de coupes histologiques nécessite plusieurs étapes dont il est important de comprendre les principes. Ces étapes sont entre autres:

• Fixation

Elle consiste à plonger les organes (ici poumons, thymus, rates et glandes surrénales) dans un récipient contenant du liquide fixateur dans le but de maintenir les différentes structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Le fixateur utilisé dans ce cas présent est le formaldéhyde dilué sous forme de formol neutre à 10% qui a l'avantage de bien pénétrer les tissus et de les durcir davantage.

Ainsi, avoir été conservés dans du formol à 10%, les organes ont été soumis à un processus de déshydratation pendant laquelle le formol neutre à 10% a permis de fixer les tissus pendant 3 heures. Les tissus ont par la suite été déshydratés avec des concentrations croissantes d'éthanol (80%, 90%, 95% et 100%) pendant 6 heures et demi, puis trempés dans du xylène pendant 4 heures et demi.

• Enrobage ou inclusion

L'enrobage consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner dans un milieu d'inclusion sous l'effet de la chaleur. Le milieu d'inclusion utilisé dans cette étude est la paraffine.

Après l'étape de déshydratation, les organes ont été plongés dans des bains de paraffine liquide (56°C) pendant 5 heures puis les tissus imprégnés ont été inclus dans des blocs de paraffine qui, après refroidissement, se sont solidifiés.

• Confection des coupes (microtomie) et montage sur lame

La microtomie consiste à faire des coupes du bloc de paraffine à l'aide d'un microtome permettant ainsi de réaliser des coupes de 2 à 5 μm d'épaisseur. Quant au montage sur lame, il consiste à monter les coupes sur des lames de verre préalablement recouvertes d'albumine ou de gélatine dans le but de bien adhérer les coupes.

Dans cette étude, un microtome a servi à sectionner les tissus en des coupes de 5 μm d'épaisseur puis, les coupes ont subi une étape d'hydratation, d'étalement sur des lames et de séchage.

- **Coloration**

Cette coloration consiste à colorer les lames avec un colorant permettant ainsi de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme). Les lames ont été colorées par le colorant Hématoxyline-Eosine où l'hématoxyline colore les structures nucléaires en bleu et l'éosine colore le cytoplasme en rouge.

- **Montage permanent (entre lame et lamelle)**

Il consiste à recouvrir les coupes colorées d'une mince lamelle à l'aide d'une colle dans le but de conserver les lames ainsi préparées pendant une période illimitée. Les coupes colorées ont été par la suite montées et observées au microscope trinoculaire (grossissement x20).



Partie III

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Fractionnement des polysaccharides d'*Anacyclus pyrethrum*

Après avoir mis 7g de l'extrait polysaccharidique brut d'*Anacyclus pyrethrum* dans de l'eau distillée à 80C° au bain marie, 150ml de la solution homogène obtenu a subi un fractionnement par reprecipitation avec 2 et 4 volumes d'éthanol dans le but d'obtenir deux fractions.

La première précipitation avec 2 volumes d'éthanol a donné 4,37g de fraction 1 avec un rendement de 62,42%.

La deuxième précipitation avec 4 volumes d'éthanol a donné 0,052g de fraction 2 avec un rendement de 0.74% (**Figure 16**).

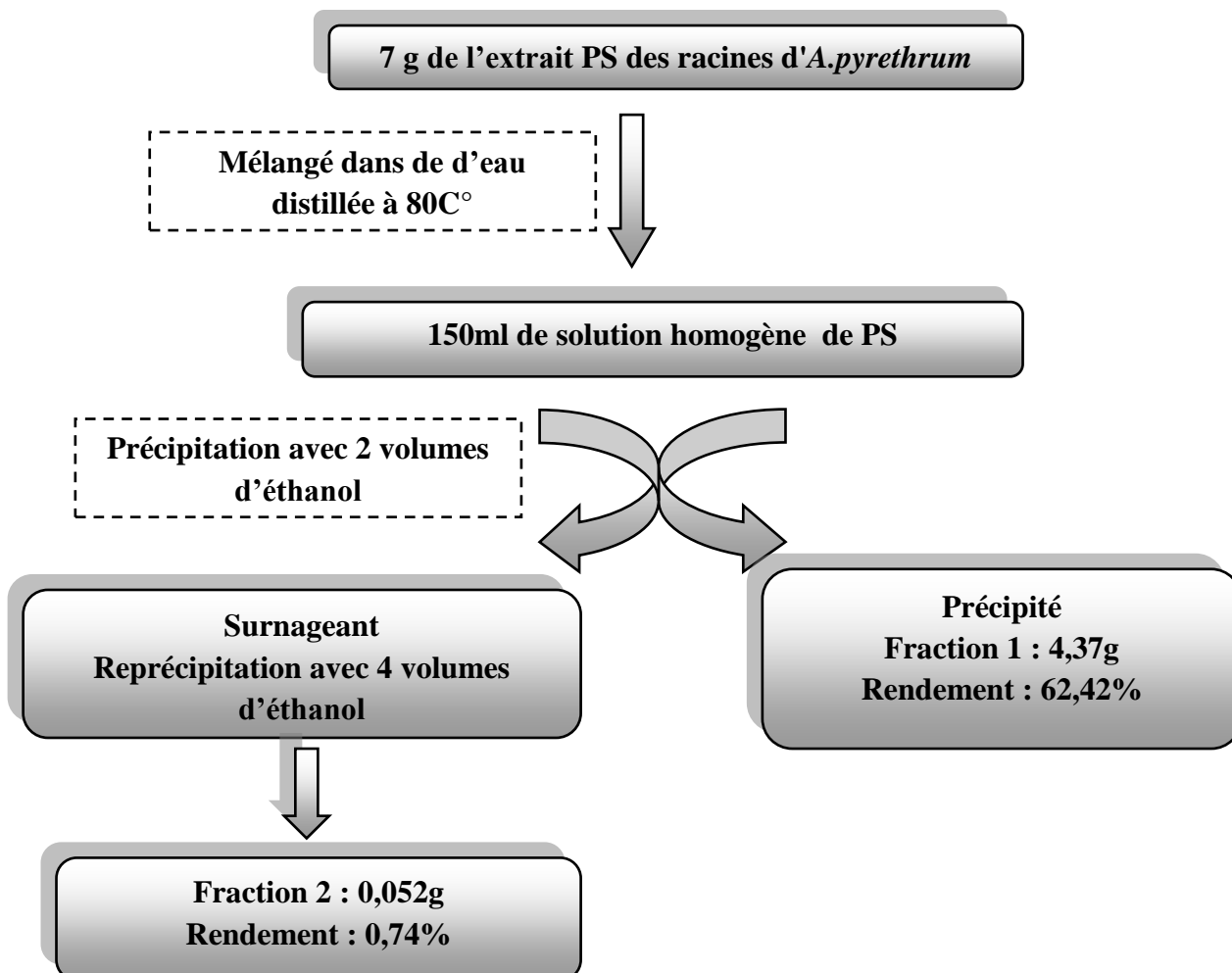


Figure 16. Résultats du fractionnement par précipitation de l'extrait polysaccharidique brut

2. Manifestations morphologiques et comportementales

Au cours du traitement des souris, un certain nombre de manifestations à caractère morphologique et comportemental ont été longuement observées. Ces manifestations ont évolué au fur et à mesure du traitement. Cependant, elles ont varié d'un lot à un autre.

Chez les souris témoins sains, aucune manifestation pouvant laisser croire à un quelconque problème de santé n'a été observée à part le caractère un peu agressif pouvant être associé à des agissements délivrés en réponse à des attaques.

Des manifestations comme l'apparition des lésions (plaie) sur la peau, un caractère agressif, une perte d'appétit, une mobilité de plus en plus réduite, un changement de couleur des selles et une augmentation de la fréquence mictionnelle (pollakiurie) ont été observées chez les souris témoins malades.

Chez les souris traitées par le corticoïde, nous avons particulièrement remarqué l'apparition d'une protubérance sur le cou avec des douleurs, amaigrissement et pollakiurie.

Les souris du lot traité par la fraction 1 ont subi au début un affaiblissement corporel accompagné de pollakiurie, perte d'appétit, mobilité réduite et fourrure surélevée. Mais après deux jours de traitement par la fraction 1, des signes de rétablissement ont été observés.

Chez les souris traitées par la fraction 2, des signes moins importants ont été notés comme l'apparition des petits boutons sur la queue des animaux.

Tout ceci semble évoquer les effets du traitement par l'allergène (HDM) qui se sont manifestés extrinsèquement chez les souris car les animaux traités ont reçu des doses de HDM (J0 et J7) avant le traitement par le corticoïde et la fraction 1 et 2.

3. Traitement des souris

Tout au long de ce travail, un certain nombre de paramètres ont fait l'objet d'étude. Ces paramètres sont d'ordre macroscopique et microscopique. Cependant, les paramètres macroscopiques ont concernés deux points : le poids corporel (évolution pondérale) des animaux et quelques données (couleur, aspect, inflammation) sur des organes. Les paramètres microscopiques sont des paramètres histologiques (coupes histologiques) permettant d'étudier et de décrire l'effet des fractions polysaccharidiques *d'Anacyclus pyrethrum* sur

l'inflammation respiratoire d'une part et d'apprécier son effet protecteur vis-à-vis de cette inflammation d'autre part.

3.1. Effet du traitement sur le poids corporel

Les résultats présentés par la **figure 17**, montrent une diminution remarquable du poids corporel des témoins malades, des souris traitées par le corticoïde et celles traitées par la fraction 2 comparativement à celui des témoins sains et des souris traitées par la fraction 1. Les différences du gain de poids corporel entre les différents lots sont : +2g pour les témoins sains, -3,33g pour les témoins malades, -2,33g pour le lot traité par le corticoïde, +0,33g pour la fraction 1 et -1,66g pour la fraction 2.

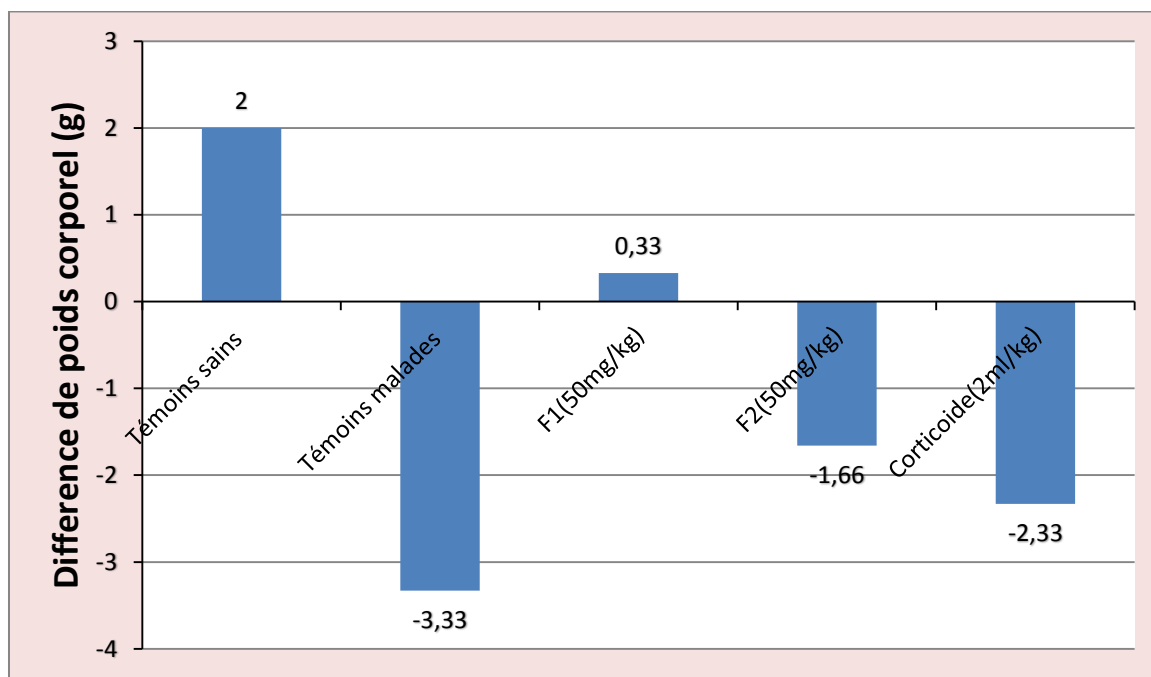


Figure 17. Effet des différents traitements sur la variation du poids corporel des souris.

La diminution du poids corporel notée après le traitement par le Prednisolone (Physiolone est sa forme buvable) est due à l'induction de l'amyotrophie proximale, l'ostéoporose et la fragilité cutanée qui accompagne l'utilisation des corticoïdes (Jeunne, 2012). En outre, une autre étude a montré que les corticoïdes provoquent un retard de

croissance chez les petits, à cause d'une diminution de la maturation des plaques épiphysaires et une diminution de la croissance des os longs (**Lorraine et al., 2003**). Cela, explique la diminution du poids corporel des souris traitées par le Prednisolone. Ce résultat confirme celui de **Hristic** et ses collaborateurs qui ont trouvé qu'une dose unique de Dexaméthasone (un corticoïde de synthèse) reçue pendant la gestation induit une diminution du poids de naissance des rats (**Hristic et al., 1995**).

Le même résultat a été trouvé après le traitement des souris par la fraction 2 et celles traitées par HDM. Par contre, les souris traitées par la fraction 1 ont été à l'abri d'une baisse de poids corporel mais cette augmentation pondérale qu'elles ont connue est néanmoins légère par rapport à celle des témoins. Ceci laisse penser que la fraction 1 aurait un effet protecteur vis-à-vis de la diminution du poids corporel. Ces résultats suggèrent donc que le traitement des souris par la fraction 1 d'*Anacyclus pyrethrum* a induit une sorte de couverture physiologique contre la baisse du poids corporel.

3.2. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des organes

3.2.1. Poumons

La figure ci-dessous (**Figure 18**) regroupe les poumons prélevés chez les 4 lots de souris : le témoin sain et les 3 lots traités.

Chez les témoins sains, les poumons ont un aspect normal (ils sont dans leur état physiologique) donc dépourvus de tout symptôme inflammatoire. L'observation à l'œil nu montre un tissu rose et mou à la touchée avec des taches sanguines post-mortem.

Ceux issus des témoins malades (traités avec l'HDM), présentent des changements notables en comparant leur aspect avec celui des témoins sains. Les poumons paraissent visiblement enflammés, ils sont recouverts des taches rouge-vif avec des zones plus sombres. L'aspect visuel indique un tissu enflé et rigide à la palpation. Ces mêmes symptômes ont été notés par **Baghezza** lors d'une étude des lésions pulmonaires. Du point de vue macroscopique, l'œdème pulmonaire se traduit par un gonflement du poumon avec perte de son élasticité. Le poumon congestionné et tuméfié, présente un aspect rouge-vif, avec une coloration soutenue sur l'ensemble de l'organe et une augmentation du volume (**Baghezza,**

2014). En effet, House Dust Mite (HDM) est un potentiel allergène des acariens. Il joue un rôle dans la rupture des jonctions serrées au niveau des cellules épithéliales, dans la production de cytokines, chimiokines, et dans la dégranulation des éosinophiles et des mastocytes, favorisant la réponse allergique (**Madouri, 2014**). Ce témoignage des fonctions biologiques de l'HDM décrit les médiateurs de l'inflammation (allergie), ce qui confirme qu'il y'a bien eu l'inflammation dans les poumons des témoins malades.

Des signes d'amélioration sont observés sur les poumons des souris traitées par le physiolone. Cette amélioration peut être expliquée par l'effet anti-inflammatoire et immunosuppresseur des corticoïdes, atténuant l'inflammation. Les glucocorticoïdes agissent au niveau de la phase vasculaire de l'inflammation en limitant la vasodilatation, s'opposant à l'augmentation de la perméabilité capillaire ce qui diminue l'œdème. Ils induisent la synthèse de lipocortine qui bloque la phosphatase A2 inhibant ainsi la production des médiateurs pro-inflammatoires cellulaires ; les prostaglandines et les leucotriènes. Par leurs effets immunosuppresseurs, les glucocorticoïdes inhibent entièrement la présentation des peptides antigène par les CPA aux lymphocytes. Ils perturbent aussi les contacts intercellulaires pour empêcher l'amplification (**Bastian, 2015**).

A l'œil nu, l'aspect (notamment la couleur) des poumons des souris traitées par la fraction (F1) est similaire à l'apparence des poumons des témoins sains. Le parenchyme pulmonaire est mou et a gardé l'aspect rose sans aucun signe inflammatoire. Cet aspect nous rappelle de la description de Vigneau lorsqu'il décrivait la structure du poumon sain lors d'une étude réalisée sur les chevaux : le tissu pulmonaire est mou, spongieux et très élastique ; sa couleur varie selon la quantité du sang contenue dans les poumons (la couleur normale est rose) (**Vigneau, 2013**). Cette description témoigne l'effet thérapeutique et protecteur de la fraction 1 (F1) sur les poumons qui se traduit par un retour à l'état normal.

Les poumons prélevés des souris traitées par la fraction (F2) ont un aspect rose-brunâtre avec quelques taches parsemées. Le retour à l'aspect normal n'est visiblement pas atteint. Partant de cette analyse, on peut admettre que l'effet protecteur de la fraction (F2) est moins efficace comparé à celui de la fraction (F1).

poumons

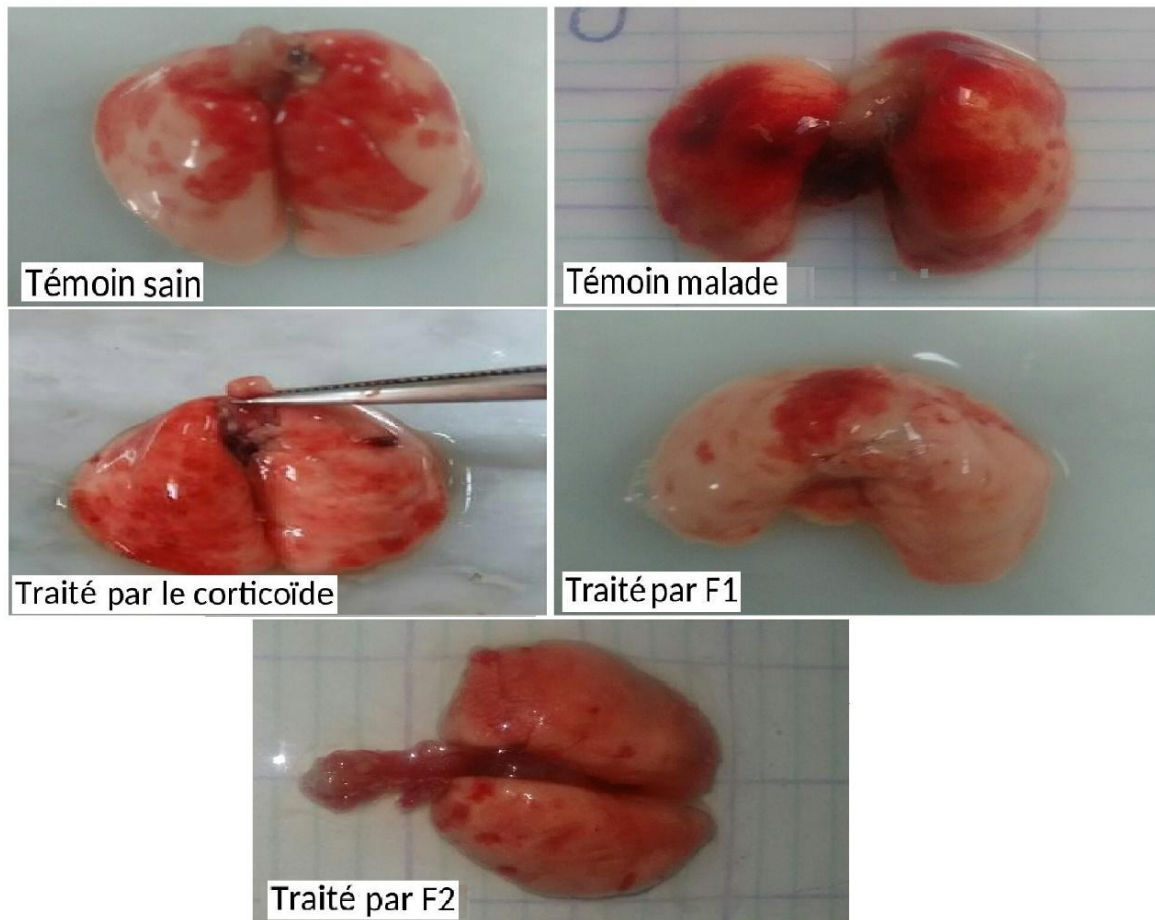


Figure 18. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des poumons

3.2.2. Rates

Les rates prélevées sont représentées par la **figure 19**. Le parenchyme splénique est rouge-clair (l'aspect normal), ce qui est caractéristique de celui du témoin sain.

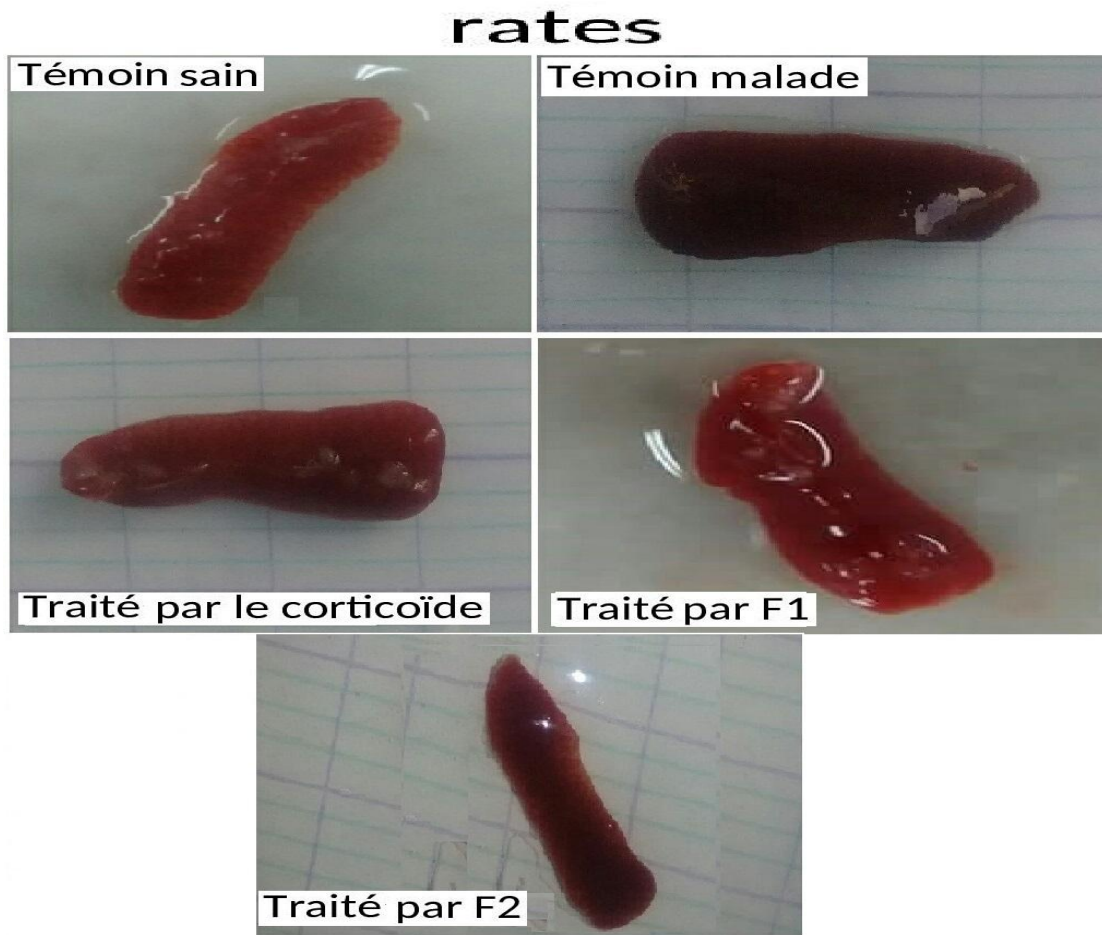
Chez les témoins malades, la couleur de la rate a entièrement changé de rouge-claire en rouge-noirâtre. On peut, à travers de nos connaissances sur les fonctions de la rate, supposer que le changement de couleur est le résultat d'une nécrose des cellules sanguines (érythrocytes et plaquettes infectées) issues du site de l'inflammation. Owen et ses collègues ont expliqué que la pulpe rouge splénique est constituée d'un réseau de sinus peuplés de macrophages et de nombreuses cellules rouges du sang (érythrocytes), c'est le site où les cellules infectées notamment les globules rouges sont détruites (**Owen *et al.*, 2014**). En effet,

la rate joue un rôle d'épuration du sang dans l'organisme, les antigènes transportés par le sang sont captés par les cellules dendritiques résidentes de la pulpe blanche, elles vont mettre en place la réponse adaptative. Les cellules défectueuses et/ou infectées sont quant à elles éliminées par les macrophages dans la pulpe rouge. L'allergène acarien (HDM) a induit l'inflammation dans les poumons, un flux sanguin gorgé de cellules infectées aurait été véhiculé vers la rate qui, à son tour a été siégée d'une lyse importante de cellules infectées modifiant sa couleur.

La rate des témoins traités par le corticoïde montre un aspect rouge -sombre, comparée à celle du témoin malade. L'organe semble moins touché, néanmoins son aspect sombre indique une légère congestion.

L'aspect rouge-claire de la rate est observé chez les souris traitées par la fraction (F1). En effet, de par sa structure, la rate est innervée par l'artère et veine splénique qui se ramifient au sein de ses compartiments : la pulpe rouge et la pulpe blanche. La pulpe rouge étant la structure dominante (80% de la masse de l'organe), la rate à l'état normal donne un aspect rouge-claire à la vue (**Owen *et al.*, 2014**). Cette couleur caractérise la rate des témoins sains et celles des souris traitées par (F1). La fraction (F1) a, de ce fait, induit un effet protecteur.

La rate des souris traitées par fraction (F2) est rouge-sombre plus remarquable que celle après le traitement de corticoïde. Toutefois, cette fraction comparant à la fraction (F1) est peu efficace.



**Figure 19. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des rates
(prise personnelle)**

3.2.3. Thymus

La **figure 20** représente les thymus prélevés chez les différents lots. Le thymus a une texture molle et très fragile de couleur blanc-sale chez le témoin sain.

Un aspect diffus et sanglant caractérise le thymus du témoin malade. Cet aspect est visiblement évocateur d'une hyperémie. En effet, le sang arrive dans le thymus par l'artère mammaire interne et artère thyroïde inférieure ; ces artères se ramifient en artères et artérioles intra et inter lobulaire à la frontière cortico-médullaire au niveau de laquelle naissent des ramifications en capillaire occupant le parenchyme thymique. De telle organisation représente un véritable réseau vasculaire. Le thymus étant un organe à couleur blanc-sale, une dilation des capillaires par congestion donnerait un aspect sanglant.

Le thymus chez les souris traitées par le physiolone présente le même aspect (blanc-sal), par ailleurs on remarque un coagulât sanguin au cœur de l'organe et des traces à la périphérie. Comparant au témoin sain, l'organe parait flasque et moins épais.

Il n'y a pas de particularité notable chez thymus des souris traitées par la fraction (F1). Son aspect est similaire à celui des témoins sains.

Le thymus prélevé après le traitement par la fraction (F2) présente au centre un léger caillot sanguin similaire à celui observé chez le témoin traité par le physiolone.

Thymus

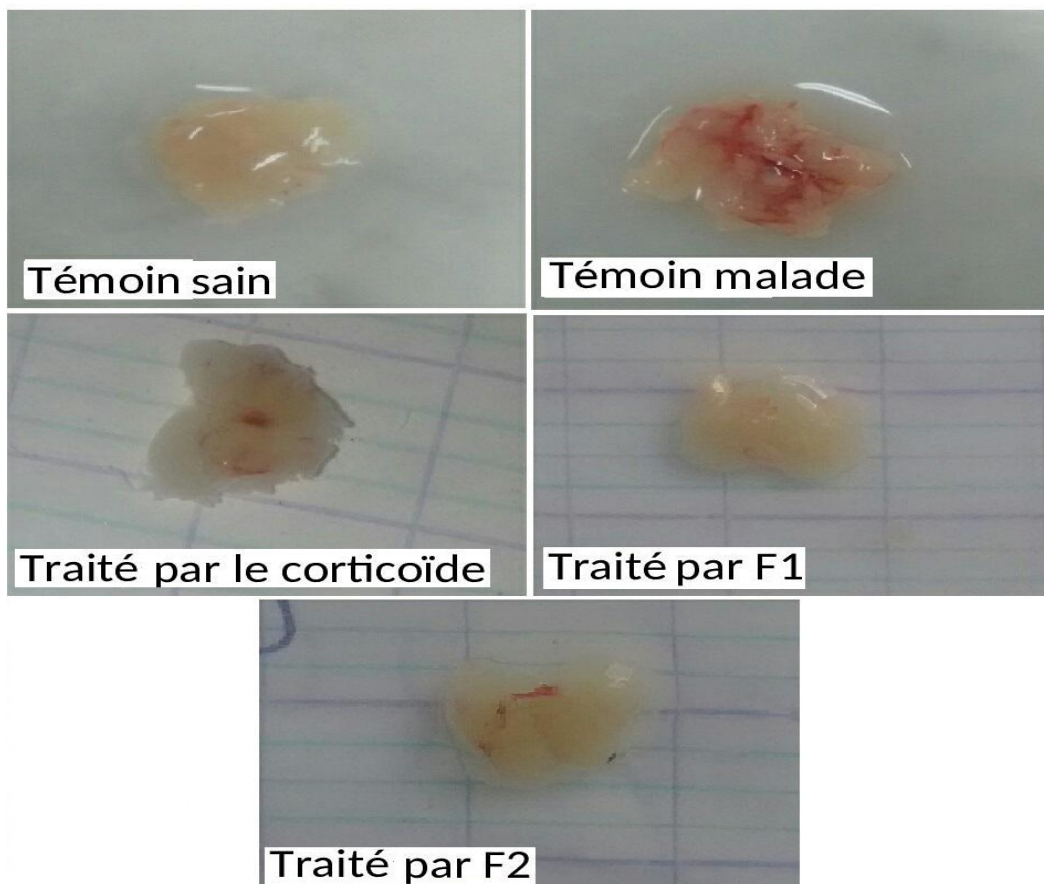


Figure 20. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des thymus (prise personnelle).

3.2.4. Glandes surrénales

Les glandes surrénales prélevées chez les différents lots sont représentées par la **figure 21**.

Chez le témoin sain les glandes surrénales sont brunes (l'aspect normal chez la souris). La couleur brune ne décrit pas les surrénales du témoin malade, en effet un aspect brun-orangé a été observé. Nous pouvons, partant de cette observation supposer qu'il y a peut-être eu la formation d'un infiltrat de cellules sanguines.

Après le traitement par le corticoïde, l'aspect des surrénales paraît similaire à celui du témoin sain. Cependant, en comparant leur taille on note une réduction (involution) remarquable chez le témoin traité par le corticoïde.

L'analyse macroscopique des surrénales après le traitement par la fraction (F1), montre que celles-ci ne présentent pas de changements notables, leur couleur est brune avec une taille presque identique à celle des surrénales du témoin sain.

Chez les témoins traités par la fraction (F2), les glandes surrénales sont brunes-orangées avec une teneur faible en les comparant à celles des témoins malades. Cet aspect nous laisse supposer qu'il a eu lieu dans ces organes un flux sanguin intense que la fraction (F2) n'a pu éradiquer.

glandes surrénales



Figure 21. Effet du traitement sur l'aspect macroscopique des glandes surrénales

3.3. Effet du traitement sur l'histologie des poumons

Pour bien apprécier l'effet des traitements au niveau pulmonaire, des coupes histologiques de cet organe ont été réalisées et ont montré les résultats suivants :

L'examen microscopique chez les témoins sains (**Figure 22**) a révélé un parenchyme pulmonaire alvéolaire de morphologie et de structure normale, caractérisé par une simple congestion vasculaire et des alvéoles avec des cloisons inter-alvéolaires. La structure semble normale avec absence d'infiltrat cellulaire. Cependant, les lumières alvéolaires sont tapissées par des cellules pneumocytaires avec des parois bronchiques bordées par un épithélium pseudostratifié respiratoire. En effet, les parois alvéolaires sont formées par un ensemble de

cellules dont les pneumocytes et des cellules endothéliales. Néanmoins, une hémorragie post-mortem a été constatée sur les coupes.

Chez les témoins malades, l'examen a montré une légère hyperplasie pneumocytaire et des alvéoles distendus se traduisant par une diminution du diamètre alvéolaire. Le traitement a entraîné une importante congestion vasculaire faite de vaisseaux à paroi épaissie et à lumière gorgée d'hématies au niveau du tissu interstitiel. En effet, une hémorragie interstitielle par endroit a été observée favorisant ainsi un discret infiltrat lymphocytaire.

Chez les souris traitées par le corticoïde, des phénomènes congestifs et hémorragiques moins étendus avec un dommage alvéolaire moins important ont été remarqué après l'analyse microscopique. Des lésions d'alvéolite interstitielle ont aussi été constatées avec un discret infiltrat lymphocytaire réalisant de rares renforcements nodulaires. En effet, cet infiltrat décrit un foyer d'ectasie.

L'aspect histologique des animaux traités par la fraction 1 est visiblement identique à celui observé au niveau des structures pulmonaires des souris témoins. Ainsi cet aspect est celui d'un parenchyme pulmonaire alvéolaire de morphologie et de structure normale avec des parois bronchiques normales qui sont bordées par un épithélium respiratoire. Toutefois, des lésions moins importantes ont été notées avec une ectasie.

Chez les souris traitées par la fraction 2, l'étude histologique a signalé la présence d'un lymphome caractérisé par un infiltrat inflammatoire se trouvant essentiellement au niveau des bronchioles et des vaisseaux. Des altérations du parenchyme pulmonaire accompagnées d'une diminution du diamètre alvéolaire ont été observées. Un foyer périphérique de pneumopathie s'est installé avec des lésions de bronchiolite, des bulles se définissant par une hémorragie alvéolaire et interstitielle, des macrophages au niveau alvéolaire. Une congestion vasculaire a également été constatée.

Ces observations chez les poumons ont mis en évidence différents aspects tissulaires qui se distinguent d'un lot à un autre. D'une part, l'aspect observé chez les témoins sains diffère de celui observé chez les souris témoins malades, traitées par le corticoïde et celles traitées par la fraction 2. Chez les 3 lots, on a noté la présence des infiltrats cellulaires dans le parenchyme pulmonaire, un épaississement de la paroi épithéliale des bronchioles et une diminution de la lumière des bronchioles tout comme celle des alvéoles qui sont à peine visibles. Ces modifications ont également été rapportées par Chevrolet et ses collaborateurs

quand ils décrivaient une pathologie pulmonaire due à une inflammation des poumons. L'épaississement de la paroi épithéliale des bronchioles est dû à la formation d'une membrane hyaline et à un dépôt de débris cellulaires (desquamation de l'épithélium, cellules apoptotiques ou nécrosées) (**Chevrolet *et al.*, 2004**). Selon **Borish et Culp (2008)**, tous ces changements tissulaires seraient associés au recrutement et à l'activation des cellules inflammatoires conduisant à une inflammation respiratoire.

D'autre part, l'aspect histologique des poumons des souris traitées par la fraction 1 ressemble en mieux à celui des témoins sains. Ceci étaye la théorie selon laquelle les lésions moindres observées chez ces animaux traités par la fraction 1 ne seraient pas néfastes mais au contraire bénéfiques et protectrices. Selon la littérature, l'inflammation peut engendrer deux effets distincts sur les tissus, soit un effet délétère si elle n'est pas modulée et / ou le stimulus persiste, soit un effet protecteur (guérison) si elle est contrôlée et se déroule dans les normes physiologiques.

Au final, ces résultats peuvent être expliqués par l'installation d'une réponse immunitaire efficace chez les souris traitées par la fraction 1 d'*A.prethrum*. Cela laisse penser que la fraction 1 est un composant immunomodulateur et régulateur de la réaction inflammatoire allergique permettant d'éviter toute altération de l'histologie des poumons et ou bien contribuer au remodelage des tissus endommagés par l'inflammation. Plusieurs études ont d'ailleurs démontré l'importance des propriétés immunomodulatrices et immunostimulantes des polysaccharides (**Bendjeddou *et al.*, 2003**) .

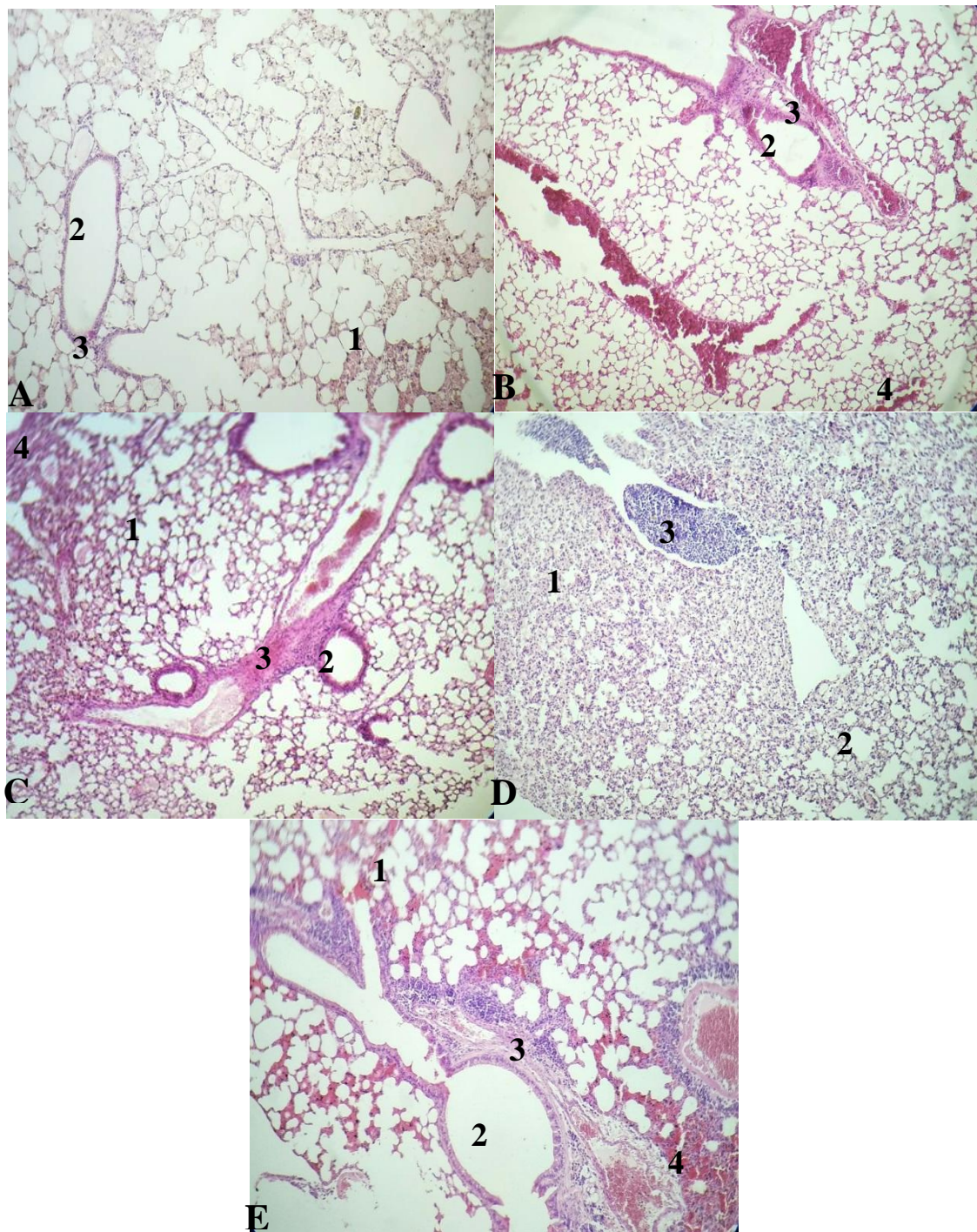


Figure 22. Effet du traitement sur l'histologie des poumons

A) Témoin sain B) Témoin malade C) Traitée par le corticoïde D) Traitée par F1

E) Traité par F2

1-Alvéole, 2- Bronchiole, 3- Vaisseaux sanguin, 4-Infiltrat cellulaire

3.4. Effet du traitement sur l'histologie des glandes surrénales

Dans le but de constater l'effet des différents traitements sur l'activité surrénalienne, des coupes histologiques ont été réalisées avec cet organe. Les résultats ci-dessous ont été trouvés (**figure 23**) :

L'observation histologique des témoins sains a montré une structure normale chez les souris témoins. Ces glandes sont composées du cortex et de la médulla. La corticosurrénale est formée de la zone glomérulaire qui sécrète les minéralo-corticoïdes, la zone fasciculée responsable de la sécrétion des glucocorticoïdes et la zone réticulée qui sécrète les androgènes. La médullosurrénale la plus interne sécrète l'adrénaline et noradrénaline (**Dorey, 2013**).

L'aspect microscopique des témoins malades a montré une dispersion de la zone glomérulaire (glomérule) accompagnée de la présence d'un infiltrat lymphocytaire au niveau des différentes couches. A noter que le glomérule a une structure très réduite.

Après traitement par le corticoïde, un discret infiltrat a été noté avec une zone glomérulaire très réduite de taille. Ainsi la médullosurrénale induit un élargissement et une meilleure trophicité de ses cellules.

Chez les souris traitées par la fraction 1, la structure histologique est sensiblement identique à celle observée au niveau des glandes surrénales des souris témoins. En effet, on a noté des glandes de structure normale composées du cortex et de la médulla avec néanmoins la présence d'un petit infiltrat lymphocytaire.

Après traitement par la fraction 2, on a remarqué que l'épaisseur de la partie corticale a diminué. Cette diminution a particulièrement touché la zone fasciculée. Par contre, un développement important de la partie médullaire a été noté. Un infiltrat lymphocytaire a également été remarqué.

D'après ces résultats, les glandes surrénales ont montré des coupes histologiques à aspect variant d'un lot à un autre. Une diminution de l'épaisseur de la région corticale et la présence des infiltrats lymphocytaires ont été notées chez les souris témoins malades, traitées par le corticoïde et traitées par la fraction 2. Ainsi l'involution de la partie corticale chez les souris traitées par le corticoïde est en partie due à l'action de ces corticoïdes, car l'administration des ceux-ci cible des sites impliqués dans le rétro-contrôle négatif. Ce dernier induit le freinage de l'axe corticotrope ou axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS)

(**Lupien et al., 2009**) et par conséquent, inhibe la production de l'ACTH(hormone hypophysaire corticotrope) produite par l'hypophyse responsable de l'effet trophique sur la zone fasciculée (**Jeunne, 2012**). En outre, les corticoïdes régulent aussi la CRH (Corticotropin releasing hormone) produite par l'hypothalamus et qui contrôle la production de l'ACTH.

En revanche, les effets des glucocorticoïdes sur la médullosurrénale semblent être en général bénéfiques. Cela s'explique par l'augmentation de la production des catécholamines (adrénaline et noradrénaline) après une injection de Dexaméthasone (glucocorticoïdes). Ce phénomène est dû à la stimulation de l'activité enzymatique de la TH (Tyrosine Hydroxylase) et PNMT (Phényl-N-Méthyl Transferase) (**Moftaqir-Handaj, 1999**).

Quant aux souris traitées par la fraction 1, leur aspect histologique ressemble bien à celui observé chez les témoins sains. Ce qui nous fait dire que la fraction 1 a un effet thérapeutique prévenant contre toute altération tissulaire. Cela dit, elle aurait un effet modulateur sur l'activité surrénalienne vis-à-vis d'une inflammation respiratoire.

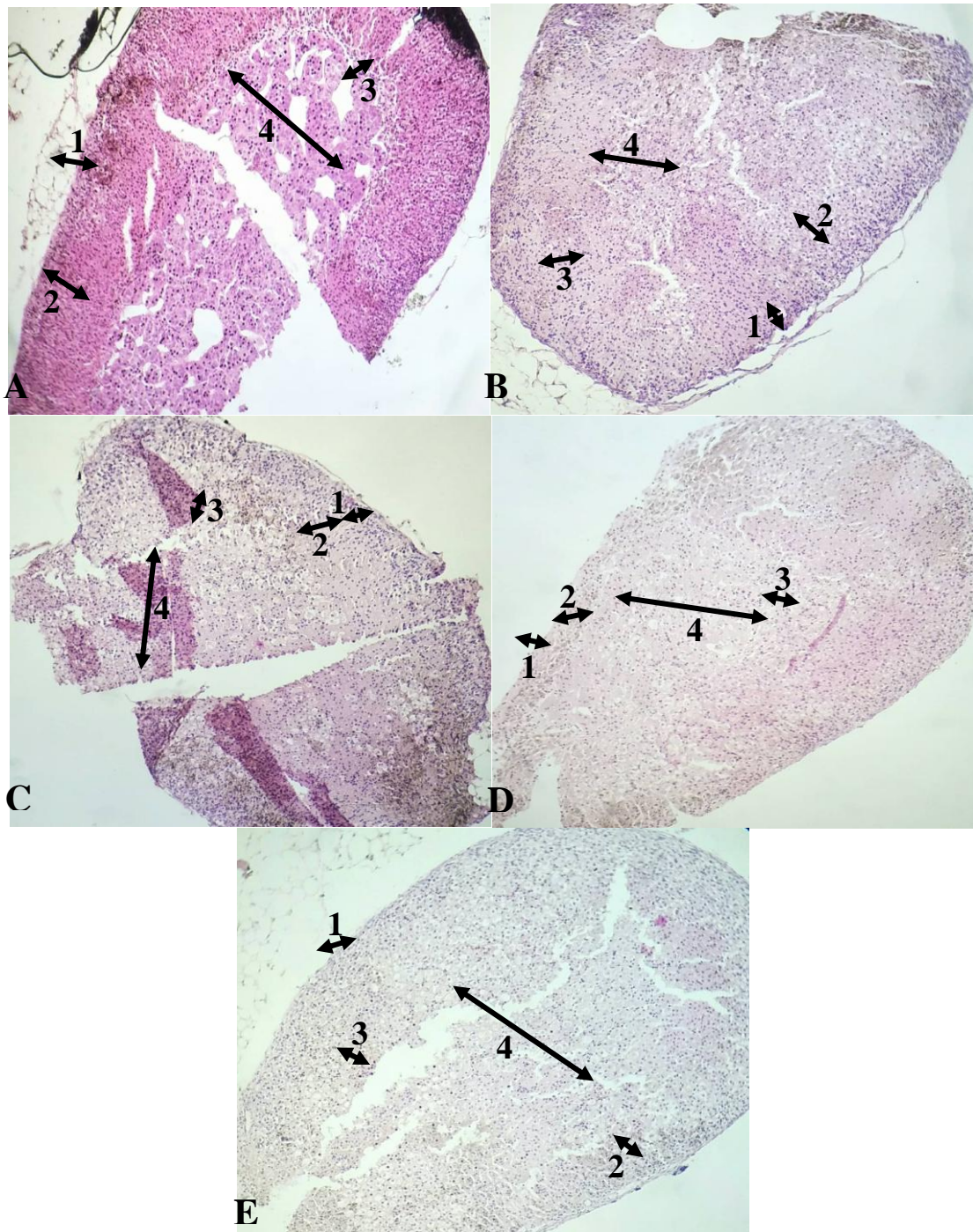


Figure 23. Effet du traitement sur l'histologie des glandes surrénales

A) Témoin sain B) Témoin malade C) Traitée par le corticoïde D) Traitée par F1

E) Traité par F2

1 : zone glomérule 2 : zone corticale fasciculée 3 : zone corticale réticulée 4 : médulla

3.5. Effet du traitement sur l'histologie de la rate

Après analyse des coupes (**figure 24**), on a noté un aspect histologique normal de la rate composée de la pulpe blanche et de la pulpe rouge chez les témoins sains. Toutefois, un peu d'œdème accompagné d'une extravasation sanguine a été constaté.

Chez les témoins malades, l'étude histologique a montré une modification structurale traduite par la congestion du tissu avec une pulpe rouge plus développée que la pulpe blanche.

L'étude microscopique des souris traitées par le corticoïde a révélé une extravasation sanguine avec une pulpe rouge plus importante se traduisant par la destruction de la pulpe blanche.

Après traitement par la fraction 1, une congestion vasculaire associée à une dilatation de la pulpe rouge ainsi qu'à une extravasation sanguine a été notée.

Et enfin, l'aspect histologique a montré un élargissement de la pulpe rouge ainsi que son apoplexie chez les souris traitées par la fraction 2.

Ces résultats ont montré en général des modifications de la structure tissulaire chez tous les lots sauf les témoins sains. Ces modifications chez les souris traitées par le corticoïde peuvent être expliquées par le fait que les glucocorticoïdes entraînent une activation des endonucléases et la fragmentation de l'ADN aboutissant à l'apoptose cellulaire. Cela se traduit par la diminution du tissu lymphoïde ainsi que le nombre de lymphocytes (**Thomasson, 2011**). Les modifications tissulaires semblent être non lésionnelles et moins importantes chez les animaux traités par la fraction 1 par rapport aux autres traités. La structure histologique de la rate de ces derniers se rapproche plus à celle des témoins sains. Pour une fois de plus, ce constat confirme celui des coupes précédentes (poumons et glandes surrénales) par le fait que la fraction 1 soit plus protectrice des lésions tissulaires que les autres.

Ainsi, selon la littérature, la rate semble être un organe très vascularisé, ce qui peut expliquer les extravasations observées chez certains lots.

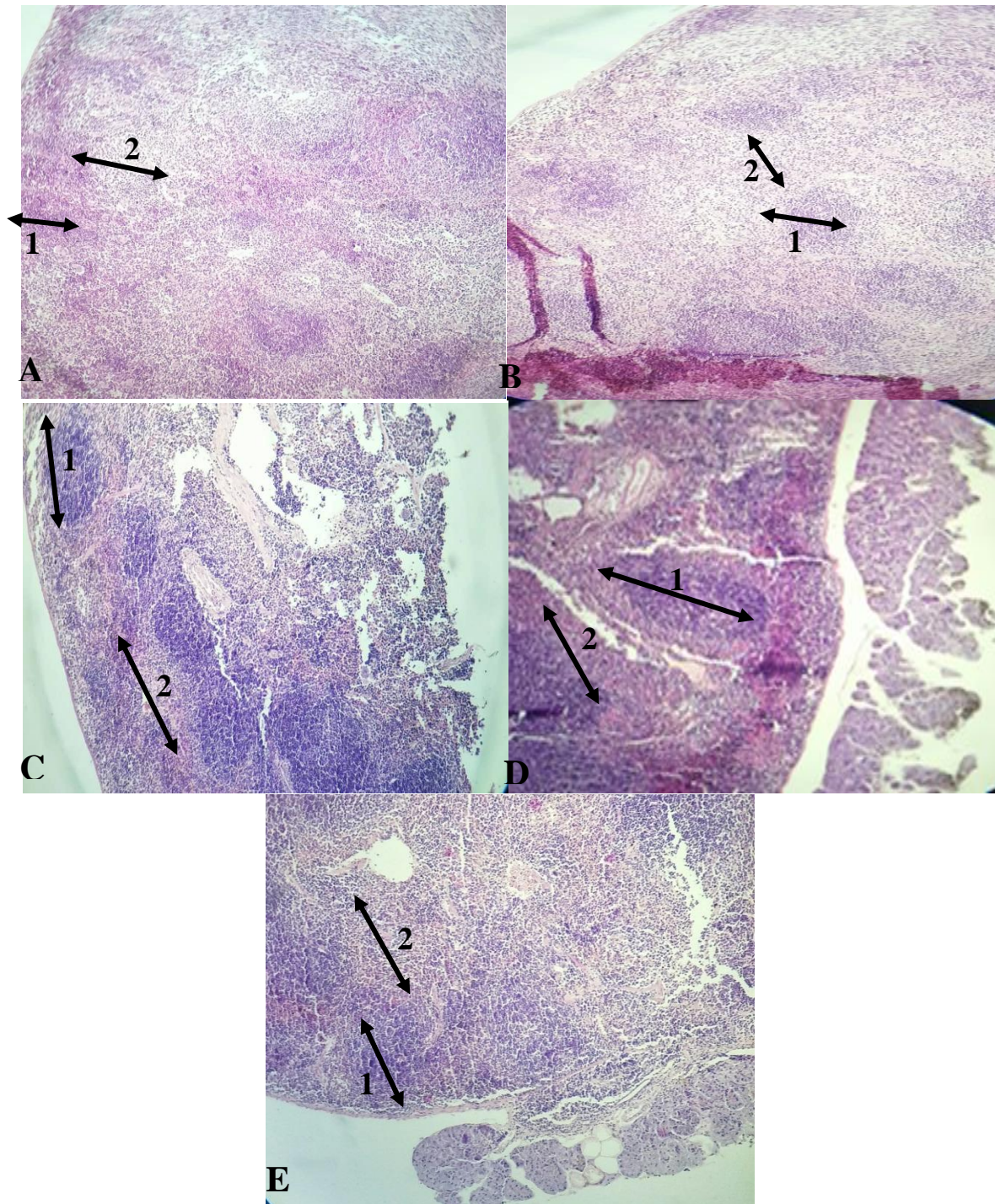


Figure 24. Effet du traitement sur l'histologie des rates

A) Témoin sain B) Témoin malade C) Traitée par le corticoïde D) Traitée par F1

E) Traité par F2

1 : la pulpe blanche

2 : la pulpe rouge

3.6. Effet du traitement sur l'histologie du thymus

L'analyse histologique (**figure 25**) chez les témoins sains a révélé un thymus normal organisé en lobules. Chaque lobule a montré une zone fortement coloré externe c'est le cortex. Ce dernier est riche en cellules. A l'intérieur, une zone plus pâle centrale moins chargée de cellules c'est la zone médullaire.

Chez les souris témoins malades, le thymus s'est très rétréci, son architecture normale est perdue, une déplétion cellulaire (lymphocytes) au niveau du cortex est observée. Cette dernière est accompagnée d'une ampleur du tissu conjonctif environnant adipeux. Une disparition presque totale du cortex se traduisant par un œdème médullaire est remarquée avec structures kystiques et des lésions cellulaires fréquemment observées.

Chez les souris traitées par le corticoïde, l'aspect histologique a révélé les mêmes changements structuraux que celui des témoins malades.

L'étude microscopique chez les souris traitées par la fraction 1 a montré une structure thymique normale identique à celle observée chez les souris témoins. Ainsi, on a noté un thymus normal organisé en lobules présentant néanmoins une congestion vasculaire.

Après traitement par la fraction 2, la structure histologique est identique à celle observée chez les souris traitées par le corticoïde.

Partant de ces résultats, l'aspect histologique semble favoriser une perte de l'architecture thymique avec quelques lésions tissulaires chez les souris témoins malades, traitées par le corticoïde et celles traitées par la fraction 2. Ces changements structuraux observés chez les souris traitées par le corticoïde peuvent être expliqués par le fait que les corticoïdes ont un effet inducteur de la mort cellulaire des thymocytes immatures possédant des récepteurs de haute affinité pour les glucocorticoïdes(**Thomasson, 2011**).

Quant aux thymocytes CD4+ou CD8+ matures, ils sont moins sensibles à l'apoptose induite par les glucocorticoïdes (**Guilpain et Jeunne, 2012**), ce qui explique la destruction massive du cortex par rapport à la médulla chez les traitées par le Prednisolone.

Par contre, l'aspect histologique des souris traitées par la fraction 1 ressemble à celui des témoins sains. Ce qui suggère que le traitement par la fraction 1 semble visiblement atténuer les dommages causés par l'instillation nasale de l'allergène (HDM).

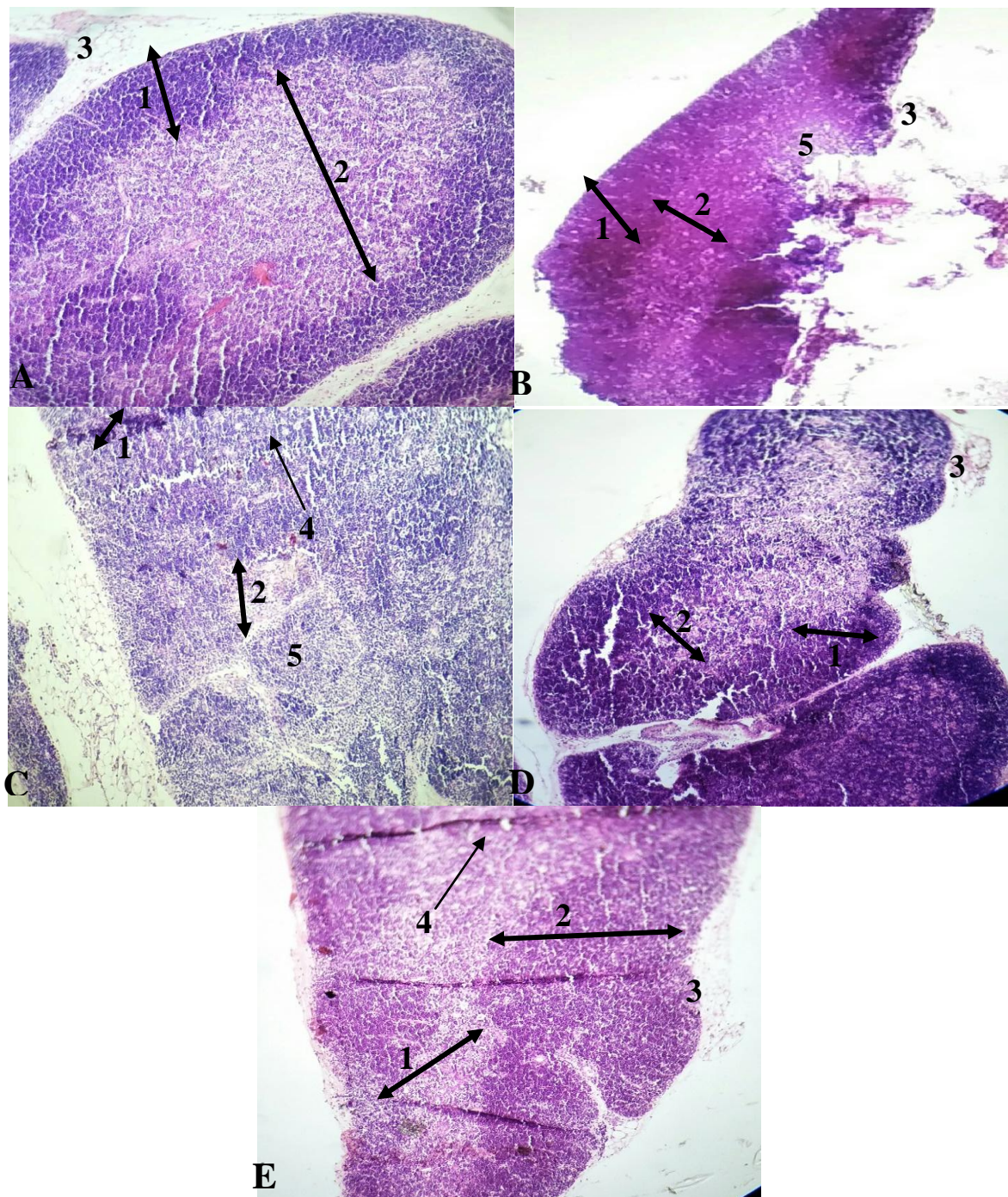


Figure 25. Effet du traitement sur l'histologie des thymus

A) Témoin sain B) Témoin malade C) Traitée par le corticoïde D) Traitée par F1
E) Traité par F2

1 : cortex 2 : médulla 3 : adipocyte 4 : kyste 5 : lésions cellulaire

En outre, des études plus récentes ont montré que les polysaccharides extraits des plantes utilisées en médecine traditionnelle présentent des activités importantes sur le système immunitaire, ce qui semble être finalement le cas de la fraction 1 de l'*Anacyclus pyrethrum*. L'ensemble de ces résultats confirme ceux de l'étude menée au niveau cellulaire par nos collègues Meriem Boudjehem et Djitni Hana.

Après une évaluation générale des différents paramètres sous l'effet des différents traitements, on a noté un effet protecteur (thérapeutique) du traitement par la fraction 1 sur tous les paramètres évalués (poids corporel, aspect macroscopique des organes ainsi que leurs structures histologiques). Par contre, un effet délétère plus ou moins important a été obtenu après le traitement par l'allergène (HDM), le corticoïde et la fraction 2. Par ailleurs, nous pouvons évoquer un effet neutre de l'instillation nasale de NaCl à 0,9% chez les témoins sains.

Tout compte fait, la fraction 1 de la plante étudiée (*Anacyclus pyrethrum*) a favorisé une réaction immunitaire de façon à éliminer l'allergène (HDM) et prévenir les effets néfastes de l'inflammation sur les différents organes (poumons, glandes surrénales, rates et thymus). Cette observation justifie le succès empirique de cette fraction vis-à-vis des affections inflammatoires voire d'autres affections.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'étude des biopolymères naturels a révélé ces dernières décennies le potentiel des polysaccharides comme additifs alimentaires, mais aussi leurs potentiels thérapeutiques contre beaucoup de maladies.

La pharmacopée traditionnelle algérienne utilise de nombreuses plantes en médecine traditionnelle parmi lesquelles l'*Anacyclus pyrethrum* (le pyrèthre d'Afrique) est l'une des exemples de plantes les plus riches en espèces à valeur médicinale.

Ce présent travail est axé sur l'effet thérapeutique des polysaccharides extraits des racines d'*Anacyclus pyrethrum* sur le système immunitaire à travers une étude histologique dans un modèle expérimental d'inflammation induite par un allergène acarien (HDM) chez la souris. Nous avons examiné certains paramètres notamment les atteintes histologiques, la variation du poids corporel des animaux sur lesquels est réalisé l'expérience. Nous avons également étudié différents caractéristiques de l'aspect macroscopique des organes concernés.

Les résultats obtenus sont concluants et encourageants. Nous avons obtenu par fractionnement de l'extrait polysaccharidique des racines de la plante deux fractions dont une (la F1) à la dose de 50mg, a montré un effet thérapeutique (protecteur) vis-à-vis de l'inflammation induite par l'allergène et ce sur les 4 organes concernés. Ce résultat concorde et confirme les multiples activités biologiques et thérapeutiques évoquées par les études passées. Il valide l'usage de cette plante dans le traitement de l'inflammation ce qui devrait inciter une meilleure revalorisation de la plante car elle sert de véritable rempart contre l'une des plus grandes causes sous-jacentes de maladies actuelles.

Si l'intérêt potentiel thérapeutique (immunostimulation et immuno-régulation) de cette plante est bien montré dans ce travail, il manque suffisamment les études expliquant les mécanismes d'action des molécules biologiques responsables de l'effet thérapeutique.

Nous pouvons envisager pour la poursuite de ce travail, quelques perspectives :

- Poursuivre l'étude des extraits racinaires de la plante par des recherches complémentaires et plus approfondies afin d'isoler, purifier, identifier et d'étudier la structure chimique des molécules actives responsables de l'activité thérapeutique. Cette approche permettra de mieux comprendre les interactions avec les composantes cellulaires dans la prévention vis à vis de différentes pathologies.

Conclusion et perspectives

- Elargir l'étude aux autres parties de la plante (tige, feuilles et fleurs).
- Faire la culture des plantes médicinales pour éviter la disparition de certaines espèces intéressantes et par conséquent assurer leur pérennité.

Enfin, par ce travail, nous espérons avoir apporté notre contribution à la valorisation de la flore algérienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aafi A. (2013) : Centre de Recherche Forestière : Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification. *Projet PAM*, Rabat, Maroc, 4p.

Abbas A.K. et Lichtman A.H. (2008) : Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Edition, *Elsevier*, Paris, France, 244p.

Alonso J.M. (2008) : Immunité et physiopathologie des infections de l'arbre respiratoire. *Médecine et maladies infectieuses* 38 : 433–437.

Angone S.A.; Nguema-Ona E. et Driouich A. (2010) : La thérapie par les plantes en Afrique : activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. Article original. *Phytothérapie*, 8:223–30.

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

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

Bals R. (2000): Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res.*, 1: 141–150.

Bedeau L. et Piquand J. (2011) : Observatoire sociétal du médicament : TNS-Sofres pour les entreprises du médicament (Leem), France, 20p.

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

Bellanger A.P. (2010) : Etude des interactions initiales entre moisissures et cellules épithéliales respiratoires dans les pathologies fongiques infectieuses (aspergillose invasive) et immuno-allergiques (pneumopathies d'hypersensibilité). Thèse de Doctorat en Sciences de la vie et de la Santé, Université de Franche-Comte, Besançon, France, 185p.

Ben Moussa M.T. (2007) : Phytothérapie : Laboratoire de pharmacognosie. Département de pharmacie, université de Batna, Algérie, 8p.

Références bibliographiques

- Bendjeddou D.; Lalaoui K. et Satta D. (2003):** Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galanga* and *Citrullus colocynthis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 155-160.
- Billen F.; Peeters D.; Dehard S.; Day M. J. et Clercx C. (2006):** Distribution of Leucocyte Subsets in the Canine Pharyngeal Tonsil. *Journal of Comparative Pathology*, 135(2-3): 63-73.
- Boles J.M.; Renault A.; Menez J.F.; Garo B. et Youinou P. (1994) :** Dénutrition et immunité respiratoire. *Nutr. Clin. Métabol.*, 8 : 39-44.
- Brudieux V. (2007) :** Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France, 220p.
- Bruneton J. (2009) :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Composés du métabolisme primaire. 4^{ème} Ed. EM Inter / Lavoisier Tec. & Doc. Paris, 1270p.
- Castello R. (2016) :** Démembrement nosographique des pneumopathies du chat. Thèse de doctorat en Médecine-Pharmacie, Université Claude Bernard, Lyon 1, France, 147p.
- Catier O. et Roux D. (2007) :** Cahiers du préparateur en pharmacie : Botanique pharmacognosie phytothérapie. Edition Wolters Kluwer, Paris, France, 141p.
- Chaaib KF. (2004) :** Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagarazanthoxyloides* L.) (Rutaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacognosie et phytochimie, Genève, Suisse, 200p.
- Chabanne L.; Ponce F. et Prélaud P. (2006) :** Organisation anatomique et développement du système immunitaire du chien et du chat. In : *Immunologie clinique du chien et du chat*. Edition Elsevier Masson : Issy-Les-Moulineaux, France, 28-41p.
- Charles N.S.; Peter A.W. et Derek W.G. (2010):** Fundamentals of Inflammation. Edition : *Cambridge University Press*, Royaume-Uni, 487p.
- Charlson E.S.; Bittinger K. et Haas A.R. (2011):** Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am. J. Respir Crit. Care Med.*, 184:63-957.

Références bibliographiques

- Charlson E.S.; Diamond J.M. et Bittinger K. (2012):** Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 186(6):536-45.
- Chevrolet J.C.; Tassaux D.; Jolliet P. et Pugin J. (2004) :** Syndrome de détresse respiratoire aigüe. *EMC-Pneumologie*, 1(4) : 143-186.
- Classen B.; Thude S.; Blascek W.; Wack M. et Bodinet C. (2006):** Immunomodulatory effects of arabinogalactan-proteins from Baptisia and Echinacea. *Phytomedicine*, 13: 688–694.
- Coulibaly B. Chirouf K. et Rouabeh S. (2017) :** Effet des polysaccharides extraits d'*Anacyclus pyrethrum* sur l'inflammation intestinale. Mémoire de master, en immunologie approfondie, Université de Guelma, Algérie, 95p.
- Denis F.; Hantz S. et Alain S. (2007) :** Immunité et vaccinations antivirales : exemple de la muqueuse respiratoire. *Vacc. Antibiot.*, 9 : 130-8.
- Dickson R.P.; Erb-Downward J.R. et Huffnagle G.B. (2013):** The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev. Respir. Med.*, 7(3): 245-57.
- Edgar K.J. (2010):** Polysaccharide chemistry: Frontiers and challenges, ACS Symp. Series, 1017. First edition American Chemical Society. Oxford University Press, Royaume-Uni, 304p.
- Eisele N.A. et Anderson D.M. (2011):** Host defense and the airway epithelium: frontline responses that protect against bacterial invasion and pneumonia. *Journal Pathog.*, 2011: 1–16.
- Elazzouzi H.; Soro A.; Elhilali F.; Bentayeb A.; Alaoui el Belghiti M. et Zair T.(2014):** Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* of Middle Atlas (Morocco), and *in vitro* study of antibacterial activity of *A. pyrethrum*. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 8(8): 131-140.
- Boulos L. (1983):** Medicinal plants of North Africa. Edition Reference Publications Inc. Michigan, Algonac, Michigan, USA, 286p.
- Evans S.E.; Xu Y.; Tuvim M.J. et Dickey B.F. (2010):** Inducible innate resistance of lung epithelium to infection. *Annu. Rev. Physiol.*, 72: 413–435.

Références bibliographiques

Fleurentin J.; Pelt J.; M. et Mazars G. (2002) : Des sources du savoir aux médicaments du futur. Ed. IRD, Montpellier, France, 468 p.

Florian H.; Lindenmeier G.; Moc I.; Berghold C.; Sneider N.; Munster B. et Grillhòsl C. (2005) : Biochimie Humaine. Ed : Flammarion, Paris –France, 596p.

Francis Suh J.K. et Matthew H.W.T. (2000): Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials*, 21: 2589-2598.

Galmès J. (2013): Isolement et caractérisation de nouvelles espèces de Torque Teno Mini Virus (TTMV) : implication potentielle dans la pathogenèse de la pneumonie. Thèse de doctorat en science de la vie, Université de Lyon, France, 179p.

Ganz T. (2002): Antimicrobial polypeptides in host defense of the respiratory tract. *Journal. Of Clinical investigation* 109: 693-7.

Garon-Lardiere Sandrine. (2004) : Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopisarmata* (Bonnemaisoniales). Thèse de doctorat en Biochimie, Université de Bretagne occidentale, France, 332p.

Haagsman H.P. (2002): Structural and functional aspects of collectin SP-A. *Immunobiol.*, 205: 476-489.

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

Huang Y.J. et Lynch S.V. (2011): The emerging relationship between the airway microbiota and chronic respiratory disease : clinical implications. *Expert Rev. Respir. Med.*, 5(6):809-21.

Hwang P.A.; Chien S.Y.; Chan Y.L.; Lu M.K.; Wu C.H.; Kong Z.L. et Wu C.J. (2011): Inhibition of Lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses by Sargassumhemiphyllum sulfated polysaccharide extract in RAW 264.7 macrophage cells. *J. Agr. Food Chem.* 59: 2062_2068.

Iserin P.; Masson M.; Restellini J.P.; Ybert E.; De Laage de Meux A.; Moulard F.; Zha E.; De la Roque R.; De la Roque O.; Vican P.; Deelesalle –Féat T.; Biaujeaud M.; Ringuet J.; Bloth J. et Botrel A. (2001) : Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse-Bordas, Paris, France, 275p.

Références bibliographiques

Iwalewa E.O.; McGaw L.J.; Naidoo V. et Eloff J.N. (2007): Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*, 6(25): 2868-2885.

Jeddou K.; Chaari F.; Makhtouf S.; Nouri-Ellouz O.; Helbert C.B. et Ghorbel R.E. (2016): Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels. *Food Chemistry*, 205: 97–105.

Jorite S. (2015) : La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : De l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux, France, 156 p.

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

Karp G. (2010) : Biologie cellulaire et moléculaire. 3ème édition de Boeck. Université de Paris-France, 818p.

Kawai T.et Akira S. (2011): Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*,34: 637–650.

Krausz P.; Sol V. et Granet R. (2014) : Les glucides : structures, réactions, oligo et polysaccharides-cours et exercices corrigés. Ed. Ellipses, Paris-France, 232p

Lacavé-Lapalun J.V. (2013) : Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale : manipulation thérapeutique des toll like receptors.Thèse de Doctorat en immunologie (Physiologie Physiopathologie), Université Pierre et Marie-Curie, Paris, France, 246p.

Le Doussal F. (2016) : Bronchiolite à virus respiratoire syncytial chez le nourrisson : Prise en charge en ville et conseils à l'officine. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Bretagne Loire, Renne 1, France, 113p.

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

Lemon K.P.; Klepac-Ceraj V. et Schiffer H.K. (2010): Comparative analyses of the bacterial microbiota of the human nostril and oropharynx. *Mol. Bio.*,1(3):129-10.

Références bibliographiques

- 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.
- Madouri F. (2014) :** Asthme allergique induit par un allergène d'acarien, House Dust Mite (HDM) : rôles de la caspase-1 et de la Protéine Kinase C thêta (PKC- θ). Thèse de doctorat en biologie des sciences du Vivant / Immunologie, Université d'Orléans, France, 255p.
- Mansour S. (2015) :** Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides-Etude in vivo. Thèse de Doctorat en sciences, Université Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie, 121p.
- Mansour S.C.; Pena O.M. et Hancock R. (2014):** Host defense peptides: front-line immunomodulators. *Trends Immunol.*, 35: 443–450.
- Maury G.; Pilette C. et Sibille Y. (2003) :** Immunité sécrétoire des voies respiratoires. *Revue Mal Respir.*, 20 : 928-39.
- McCormack F.X. et Whitsett J.A. (2002):** the pulmonary collectins SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung. *J. Clin. Invest.*, 109: 707-12.
- McDonald J.T.; Maheswaran S.K.; Opnda-Abiso J.; Townsend E.L. et Thies E.S. (1983):** Susceptibility of *Pasteurella haemolytica* to the bactericidal effects of serum, nasal secretions and bronchoalveolar washing from Cattle. *Veterinary Microbiology*, 8: 285-599.
- McKay L.I. et Cidlowski J.A. (2003):** Physiologic and pharmacologic effects of corticosteroids. In: Kufe D.W.; Pollock R.E.; Weichselbaum R.R. et al., 6ème édition: Holland-Frei cancer Medicine, Hamilton (ON): BC Decker.
- Medzhitov R. (2008):** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454: 428–435.
- Mengome L.E.; Voxeur A.; Akue J. P. et Lerouge P. (2014):** Screening of antioxidant activities of polysaccharides extracts from endemic plants in Gabon. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber*, 3: 77-88.
- Mkedder I. (2012) :** Modification et dégradation enzymatique de polysaccharides : Investigation par imagerie et diffusion de rayonnement. Thèse de doctorat en Chimie des polymères, Université de Grenoble, France, 143p.

Références bibliographiques

Mogensen T.H. (2009): Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Rev Clin Microbiol*, 22: 240–273.

Moussard C. (2006): Biochimie structurale et métabolique. 3^{ème} Ed. de Boeck : Université de Paris, France, 352p

Nacher-Vazquez M.; Ballesteros N.; Canales A.; Rodriguez Saint-Jean S.; Perez-Prieto S.I.; Prieto A.; Aznar R. et Lopez P. (2015) : Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate Polymers*, 124: 292-301.

Ould el Hadj M.D.; Hadj-Mouhammed M.; Zabeirou H. (2003): Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional Est). *Courrier du savoir*, 03 : 47-51.

Paiva A.A.D.O.; Castro A.J.G.; Nascimento M.S.; Will L.S.E.P.; Santos N.D.; Araujo R.M. et al. (2011): Antioxidant and anti-inflammatory effect of polysaccharides from *Lobophoravariegata* on zymosan-induced arthritis in rats. *Int. Immunopharmacol.*, 11: 1241_1250.

Persin Z.; Stana-kleinschek K.; Foster T.J.; Van Dam J.E.G.; Boeriu C.G. et Navard P. (2011): Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, 84: 22-32.

Renegar K. B.; P. A. Small Jr.; Boykins L.G.; et Wright P.F.(2004): Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. *J Immunol.*, 173: 1978-86.

Roger O. (2002) : Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens : obtention, caractérisation et relation structure/fonction. Thèse de doctorat, Université de Paris, France, 197p.

Ruff Y. (2008) : Biopolymères dynamiques : Oligo- et polysaccharides .Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur de Strasbourg, France, 308p.

Sano H. et Kuroki Y. (2005): The lung collectins, SP-A and SP-D, modulate pulmonary innate immunity. *Molecular Immunology*, 42: 279-287.

Références bibliographiques

Schorderet M.; Dayer J.M. et coll. (1998) : Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation ; Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs. In : Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 3^{ème} Edition Slatkine, Genève, Suisse, 569-606.

Scimeca D. et Tétou M. (2005) : Votre santé par les plantes. Ed: Alpen Editions, Monaco-France, 136p.

Selles Ch. (2012) : Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application des extraits aqueux a inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de doctorat en sciences physiques (Chimie-physique), Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 175p.

Serhan C.N. (2014): Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*, 510: 92–101.

Serhan C.N.; Brain S.D.; Buckley C.D.; Gilroy D.W.; Haslett C.; O'Neill L.A.; Perretti M.; Rossi A.G. et Wallace J.L. (2007): Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *The FASEB journal*. 21(2):325-332.

Shi X. L.; Yao C. X.; Lin X.; Shen L. et Feng, Y. (2014): The applications and research progresses of polysaccharide drugs. *Chinese Journal of New Drugs*, 23(9) : 1057-1062.

Soares M.P.; Gozzelino R. et Weis S. (2014): Tissue damage control in disease tolerance. *Trends Immunol.*, 35: 483–494.

Srichamroen A.; Thomson A. B. R.; Field C. J. et Basu T.K. (2009): In vitro intestinal glucose uptake is inhibited by galactomannan from Canadian fenugreek seed (*Trigonella foenumgraecum* L) in genetically lean and obese rats. *Nutrition Research*, 29(1): 49–54.

Strang C. (2006): Larousse medical. Edition Larousse. Montparnasse, Paris, France, 1219p.

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

Taront S. (2008): Interactions entre épithélium bronchique et cellules dendritiques : Implication de molécules membranaires. Thèse de doctorat en Science de la vie et de la santé, Université du Droit et de la Santé de Lille II, France, 179p.

Références bibliographiques

Teegarden D. (2004): Polymer Chemistry. Edition National Science Teachers Association, Virginia, USA. 280p.

Thomasson R. (2011) : Effets ergogéniques, métaboliques et hormonaux des glucocorticoïdes chez l'homme et l'animal. Thèse de doctorat en Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives. Université d'Orléans, France, 253p.

Vareille M.; Kieninger E.; Edwards M.R. et Regamey N. (2011):The airway epithelium: soldier in the fight against respiratory viruses.*RevClin. Microbiol.*, 24: 210–229.

Vivier E. (2011): Innate or adaptive immunity.The example of natural killer cells. *Science*, 331, 44–49.

Voet D. et Voet J.G. (2005) : Biochimie. 2^{ème}. Ed. Paris-France ; 1362p.

Wang M.; Zhao S.; Zhu P.; Nie C.; Ma S.; Wang N. et Zhou Y. (2018): Purification, characterization and immunomodulatory activity of water extractable polysaccharides from the swollen culms of *Zizania latifolia*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107: 882–890.

Wijesinghea W.A.J.P. et Jeon Y. J. (2012): Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweed: A review. *Carbohydrate Polymers*, 88, 13–20.

Wright J.R. (2004): Host defense function of pulmonary surfactant. *Biol. Neonate*, 85: 326–332.

Wu D.M.; Duan W.Q.; Yong L. et Ying C. (2010): Anti-inflammatory effect of the polysaccharides of Golden needle mushroom in burned rats. *Int. J. Biol. Macromol.* 46: 100_103.

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

Ying R. (2012) : Rôle des arabinoxylanes et des β -glucanes dans l'assemblage et les propriétés des parois de l'albumen des grains de céréales. Thèse de doctorat, Université de Nantes, France, 222 p.

Références bibliographiques

- Yu C.H.; Dai X.Y.; Chen Q.; Zang J.N.; Deng L.L.; Liu Y.H., et Ying H.Z. (2013):** Hypolipidemic and antioxidant activities of polysaccharides from *Rosae Laevigatae Fructus* in rats. *Carbohydr. Polym.* 94: 56_62.
- Yu X.H.; Liu Y.; Wu X.L.; Liu L.Z.; Fu W. et Song D.D. (2017):** Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng. *Carbohydrate Polymers*, 156: 9–18.
- Zhang S. et Li X.Z. (2015):** Inhibition of α -glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera* Abel. *Carbohydrate Polymers*, 115: 38-43.
- Zhang Y. (2012) :** Etude des relations entre structures et propriétés de films d'arabinoxylanes isolés de co-produits agricoles. Thèse de doctorat, université de Reims champagne, France, 201 p.
- Zhu K.; Zhang Y.; Nie S.; Xu E.; He S.; Gong D.; Wu G. et Tan L. (2017):** Physicochemical properties and in vitro antioxidant activities of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp. *Carbohydrate Polymers*, 155: 354-361.
- Zong A.; Cao H. et Wang F. (2012):** Anticancer polysaccharides from natural resources: a review of recent research. *Carbohydr. Polym.* 90:1395_1410.

Webographie

[1] : **Anonym.** (2017) : Chitine-quel est-il ? Application de la chitine. Disponible sur : <http://fr.nextews.com/e4191250/>. [Consulté le 14/04/2018 à 14h48]

[2] : **Antonio Z.** (2018) : Carbohydrates-chemicals structure. Disponible sur : <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html>. [Consulté le 14/04/2018 à 14h34]

[3] : **Ioelovich M.** (2013): Plant Biomass as a Renewable Source of Biofuels and Biochemicals. Disponible sur : https://www.researchgate.net/figure/molecular-structure-of-arabinoxylan_fig7_257561875. [Consulté le 14/04/2018 à 15h21]

[4] : **Boiteaux C.** (2014) : Montherapeute. La réponse inflammatoire. Disponible sur : <http://fysio7.wixsite.com/montherapeute/la-rponse-inflammatoire>.[Consulté le 23/05/2018 à 16h11].

[5] : **Anonyme.** (2017) : Medicine Key. La réaction inflammatoire : les inflammations. Disponible sur : <https://clemedicine.com/3-la-reaction-inflammatoire-les-inflammations/>. [Consulté le 23/05/2018 à 16h34].

Annexes

Nom de la solution	Composition	Quantité du réactif
Phosphate buffer saline (PBS) PH7.4	NaCl	8.0g
	Na ₂ HPO ₄	1.15g
	KH ₂ PO ₄	0.24g
	KCl	0.2g
	Eau distillée	1000ml
Formol à 10% (Formaldéhyde)	Formol à 34.5%	144.92 ml
	Eau distillée	500ml
Solution alcaline à 0.9%	NaCl	0.9g
	Eau distillée	100ml
Solution HDM 1	HDM	2.5mg
	Solution alcaline à 0.9%	1ml
Solution HDM 2	HDM	0.75mg
	Solution alcaline à 0.9%	1.5ml
Solution mère (fraction 1)	Fraction 1	44.4mg
	Solution alcaline à 0.9%	12ml
Solution mère (fraction2)	Fraction 2	42mg
	Solution alcaline à 0.9%	12ml
Solution mère (corticoïde)	Corticoïde (Physiolone)	84µl
	Eau distillée	100µl

Résumé

L'allergie respiratoire est une réaction inadaptée ou excessive du système immunitaire de l'organisme à la suite d'un contact avec une substance étrangère appelée allergène.

Si les médicaments présents sur le marché s'avèrent très efficaces, ils ne sont pas dénués d'effets secondaires, une approche phytothérapique peut être intéressante pour soulager et prévenir les allergies sans effets indésirables. L'*Anacyclus pyrethrum* est une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle locale dans le traitement de diverses maladies. Il est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires et immunostimulantes. Ces derniers sont dues à la présence de certains composants bioactifs citons entre autres les polysaccharides.

Bien que, des recherches ont étudié l'effet des extraits polysaccharidiques bruts de l'*Anacyclus pyrethrum* sur le système immunitaire, aucune n'a vu le jour sur l'effet des fractions issues de ces extraits. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet thérapeutique de ces fractions polysaccharidiques sur l'allergie respiratoire induite par un allergène acarien (HDM) chez les souris.

Les animaux ont reçu durant l'expérimentation 50mg/kg de fractions polysaccharidiques (fraction 1 ou 2) par injections intra-péritonéales aux jours 14, 15 et 16.

L'ampleur de l'inflammation causée par HDM ainsi que l'effet immunostimulant et anti-inflammatoire des deux fractions (fraction 1 et 2) ont été déterminés par des paramètres macroscopiques (poids corporel, aspect des organes, comportement des animaux au cours de l'expérimentation) et par l'aspect histologique (coupes histologiques des organes).

La Fraction F1 a montré des résultats thérapeutiques très satisfaisants qui ont révélé une nette activité anti-inflammatoire limitant de façon considérable le degré et l'extension des dommages causés par l'allergène (HDM), avec une amélioration des signes inflammatoires chez les animaux traités.

Mots clés : Réaction inflammatoire allergique – phytothérapie – polysaccharides

Anacyclus pyrethrum.

Abstract

Respiratory allergy is an inappropriate or excessive reaction of the body's immune system as a result of contact with a foreign substance called an allergen.

If the drugs on the market are very effective, they are not devoid of side effects, a phytotherapeutic approach can be interesting to relieve and prevent allergies without undesirable effects. The *Anacyclus pyrethrum* is one of the most used plants in local traditional medicine in the treatment of various diseases. It is known for its anti-inflammatory and immunostimulatory properties. These are due to the presence of some bioactive components include polysaccharides among others.

Although, research has investigated the effect of crude polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum* on the immune system, none has emerged on the effect of fractions derived from these extracts. Therefore, we were interested in the study of the therapeutic effect of these polysaccharide fractions on respiratory allergens induced by a mite allergen (HDM) in mice.

The animals received during the experiment 50 mg / kg of polysaccharide fractions (fraction 1 or 2) by intra-peritoneal injections on days 14, 15 and 16.

The extent of inflammation caused by HDM as well as the immunostimulatory and anti-inflammatory effects of the two fractions (fraction 1 and 2) were determined by macroscopic parameters (body weight, appearance of organs, behavior of animals over experimentation time) and by the histological aspect (histological sections of the organs).

The fraction F1 showed very satisfactory therapeutic results which revealed a clear anti-inflammatory activity, considerably limiting the degree and extent of allergen damage (HDM), with an improvement of the inflammatory signs in the treated animals. .

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

ملخص

يعتبر مرض حساسية الجهاز التنفسي رد فعل غير مناسب أو مفرط من نظام المناعة بعد التعرض للمواد المسببة للحساسية (pneumallergens) .

إذا كانت الأدوية المتداولة في السوق جد فعالة، فهي لا تخلو من الآثار الجانبية، لذا يمكن أن يكون التداوي بالاعشاب مفيداً لتخفيف ومنع الحساسية وبدون آثار غير مرغوب فيها. يعتبر *Anacyclus pyrethrum* واحد من أكثر النباتات استخداماً في الطب التقليدي المحلي لعلاج مختلف الأمراض، فهو يعرف بخصائصه المضادة للالتهاب والمنبهة للمناعة وتعود هذه الخصائص لوجود بعض المكونات النشطة بيولوجياً نذكر منها عديدات السكريات،

فعلى الرغم من أن الأبحاث قد درست تأثير فعل متعددات السكريات الخام المستخلصة من *Anacyclus pyrethrum* على الجهاز المناعي، إلا انه لم يهتم أي منها بدراسة تأثير القطفات المشتقة من هذه المستخلصات الخام ، وعليه اتجهت دراستنا الحالية للبحث عن التأثير العلاجي لهذه القطفات السكرية على حساسية الجهاز التنفسي التي يسببها (HDM) عند الفئران.

من اجل ذلك، تم حقن الحيوانات (الفئران) تحت الصفاق بـ 50 ملغ / كغم من قطفات عديد السكريات (القطفة 1 أو 2) في اليوم 14 ، 15 و 16. ثم تم تحديد مدى الالتهاب الناجم عن HDM وكذلك التأثير المناعي والمضاد للالتهاب بعد المعاملة بكل من (القطفة 1 و 2) و الكورتكوئيد و دراسة العبدد من المتغيرات (وزن الجسم ، مظهر الأعضاء ، سلوك الحيوانات مع مرور وقت التجارب المظهر النسيجي لبعض الاعضاء اللمفاوية .

وقد أظهرت القطفة F1 نتائج علاجية جد مرضية فهي تملك نشاط مضاد للالتهاب بشكل ملحوظ يحد من درجة وتوسع الضرر الناجم عن المسبب للحساسية (HDM) ، مع تحسن في المظاهر الالتهابية عند الحيوانات المعالجة ب القطفة F1 .

الكلمات المفاتيح: التفاعل الالتهابي التحسسي - التداوي بالاعشاب - السكريات المتعددة

Anacyclus pyrethrum