

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE SNV



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Immunologie Approfondie

---

**Thème : Utilisation empirique d'une recette thérapeutique: Effet sur le  
système immunitaire**

---

Présenté par :

-CHABBI Wissam

-HADJADJ Amina

Devant le jury composé de :

Président : M<sup>r</sup> Hemic Ahmed

M.A.A

Université de Guelma

Examineur: M<sup>r</sup> Bouden Smail

M.A.A

Université de Guelma

Encadreur: M<sup>me</sup> Bendjeddou Dalila

Professeur

Université de Guelma

Juin 2014

## Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Madame **D. Bendjeddou**, Professeur à l'université de Guelma, pour son encadrement scientifique, sa disponibilité, ses conseils pertinents. Merci de nous avoir guidées avec patience pour mener à bon terme ce travail.

Merci à Mr Hemici A, qui nous fait l'honneur de présider ce jury. Nous lui sommes reconnaissantes d'avoir accepté ce rôle et de nous faire l'honneur de juger notre travail.

Merci à Mr Boueden S, d'avoir accepté de faire partie du jury et de consacrer un peu de son temps pour juger la qualité de ce travail.

Nos remerciements vont tout particulièrement à M<sup>elle</sup> Bensakhri pour son aide scientifique, pour toutes ses connaissances qu'elle nous a fait partager avec joie. Nous la remercions pour ses conseils qui nous ont été précieux pour la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont à toute la famille du Master Immunologie Approfondie durant toute notre formation.

Nous tenons à remercier également les techniciennes du laboratoire de biochimie et d'immunologie Ghania, Ratiba.

# *Dédicace*

*À Dieu, En qui j'ai toujours cru, En qui je croirai toujours.*

*À mes parents Rachid et Nadia, sans eux je n'aurai jamais pu réaliser tout ce parcours.*

*Ce mémoire leur est dédié.*

*À mes sœurs Sameh, Romaiassa, Rayene, et ma tante Linda et mon oncle hichem pour leur soutien et leurs encouragements continus.*

*Ce mémoire leur est dédié.*

*À mes chers amis Wissam et Amozou pour leur soutien et leur aide.*

*Je le dédie à toute ma famille et mes amies.*

*Amina*

# *Dédicace*

*Je Dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents Ibrahim et Halima, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites*

*Mon frère et mes sœurs Fayza, Warda, Hassina, Fatma et ma chère Sameh et mon oncle abd el hak, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

*Tous mes proches*

*Mes amis*

*Mes camarades de promotion*

*Tous mes enseignants*

*Tous ceux qui m'ont aidé pour la réalisation de ce mémoire*

*Wissam*

# Table de matière

Liste d'abréviations

Liste de figures

Introduction.....1

## Partie I : revue bibliographique

1. Composants du système immunitaire .....	3
1.1. Les cellules du système immunitaire .....	3
1.1.1. La lignée myéloïde .....	4
1.1.2. La lignée lymphoïde .....	5
1.2. Organes et tissus lymphoïdes.....	6
1.2.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux .....	7
1.2.2. Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques .....	7
1.3 Les substances solubles.....	8
1.3.1. Les cytokines.....	8
1.3.2. Le système du complément.....	8
1.3.3. Les immunoglobulines .....	8
1.4. La défense immunitaire.....	9
2. Les immunomodulateurs .....	12
2.1. Les immunostimulants .....	12
2.1.1. Les cytokines.....	12
2.1.2. Produits d'origine bactérienne .....	13
2.1.3. Extraits fongiques.....	13
2.1.4. Extraits de plantes.....	14
2.1.5. Produits chimiques.....	14
2.2. Les immunosuppresseurs .....	15
2.2.1. Les immunosuppresseurs biologiques .....	15
2.2.2. Les immunosuppresseurs chimiques .....	17
3. La phytothérapie .....	19

## Partie II: partie expérimentale

1. Matériels et méthodes.....	21
1.1. Matériel.....	21

1.1.1. Matériel biologique animal.....	21
1.1.2. Recette (substances naturelles) .....	21
1.1.3. Médicament de référence.....	22
1.1.4. Condition d'élevage.....	22
1.2. Méthodes.....	23
1.2.1. Protocole expérimental .....	23
1.2.2. Traitement.....	24
1.2.3. La pesée du poids corporelle .....	24
1.2.4. Prélèvement sanguin .....	24
1.2.5. Prélèvement des organes.....	25
1.2.6. Isolement des splénocytes .....	25
1.2.7. Isolement des thymocytes .....	26
1.2.8. Préparation des coupes histologiques.....	26
1.2.9. Frottis médullaire .....	27
2. Résultats et discussion.....	28
2.1. L'effet du traitement sur le poids corporel .....	28
2.2. L'effet du traitement sur le poids de la rate, du thymus et des surrénales .....	29
2.3. L'effet du traitement sur le nombre de splénocytes et thymocytes.....	31
2.4. Effet du traitement sur la formule leucocytaire .....	32
2.4.1. Variation du nombre des lymphocytes.....	32
2.4.2. Variation de nombre des monocytes.....	32
2.4.3. Variation du nombre des neutrophiles.....	32
2.5. Variation du nombre des hématies .....	33
2.6. L'effet du traitement sur la structure des surrénales.....	34
2.7. L'effet du traitement sur la structure de la rate .....	37
2.8. L'effet du traitement sur la structure de thymus .....	38
2.9. L'effet du traitement sur la moelle osseuse .....	39
Conclusion et perspective.....	42

## Références bibliographiques

### Annexe

### Résumé, abstract, ملخص

## Liste des abréviations

**Ac:** Anticorps

**ACTH:** Adréno Cortico Trophic Hormone

**ADN:** Acide DésoxyriboNucléique

**Ag :** Antigène

**BCG :** Bacille Calmette-Guérin

**BCR :** Récepteur de Cellule B

**BLAT :** Tissus Lymphoïdes Associés à l'épithélium respiratoire

**CPA :** Cellules Présentatrices d'Antigène

**CRH :** Corticotropin Releasing Hormone

**CSF :** Facteurs Stimulant les Colonies

**EDTA:** Acide Ethylène Diamino Tétracétique

**EPO:** Erythropoïétine

**FNS:** Formule Numérique Sanguine

**GC:** Glucocorticoïde

**G-CSF :** Facteur Stimulant la Colonie Granulocytaire

**GLAT:** Tissus Lymphoïdes secondaires Associés au Tractus digestif

**GM-CSF:** Facteur Stimulant les Colonies Granulocytaire et Macrophagique

**HES:** Hemaleine-Eosine-Saaffran

**HHS:** Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien

**Ig :** Immunoglobuline

**IgE:** Immunoglobuline E

**IL :** Interleukines

**INF:** Interférons

**LB:** Lymphocytes B

**LT:** Lymphocytes T

**MALT:** Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuses

**MDP:** Muramyl Dipeptide

**MGG:** May-Grunwald-Giemsa

**NK:** Natural Killer

**PALS:** Peri Arteriolar Lymphatic Sheath

**PBS:** Phosphate Buffer Saline

**PNMT:** Phényl-N-Méthyl Transferase

**PNN:** Polynucléaires Neutrophiles

**PR:** Polyarthrite Rhumatoïde

**rpm :** Round par minute

**TCR :** Récepteurs d'antigène des Cellules T

**TH :** Tyrosine Hydroxylase

**TH1 :** Lymphocytes T auxiliaires ou T helper de type 1

**TH2 :** Lymphocytes T auxiliaires ou T helper de type 2

**TLR:** Toll Like Receptors

**TNF $\alpha$ :** Tumor Necrosis Factor alpha

## Listes des figures

Figures N <sup>0</sup>	Le titre de Figure	Page
Fig 1	l'hématopoïèse	03
Fig 2	Les organes de l'immunité	06
Fig 3	structure d'une molécule d'anticorps	09
Fig 4	la réponse immunitaire innée et adaptative	11
Fig 5	L'engraissement magique	21
Fig 6	Médicament de référence (Prednisolone)	22
Fig 7	condition d'élevage	22
Fig 8	Schéma représentatif du protocole expérimental	23
Fig 9	la voie d'administration	24
Fig 10	la dilacération de la rate	25
Fig 11	Le frottis médullaire	27
Fig 12	Variation du poids corporelle des souris témoins et traitées	28
Fig 13	la rate de souris témoins et de souris traitées par la recette	29
Fig 14	la variation du poids de la rate, du thymus et des surrénales chez les souris témoins et traitées	30
Fig 15	Variation du nombre des splénocytes et des thymocytes chez les souris témoins et traitées	31
Fig 16	variation du nombre des lymphocytes, monocytes et neutrophiles chez les souris témoins et traitées	33
Fig 17	Variation du nombre des hématies chez les souris témoins et traitées	34
Fig 18	Coupe histologique des surrénales des souris témoins et traitées	36
Fig 19	Coupes histologiques de la rate chez les souris témoins et traitées (×4)	37
Fig 20	Coupe histologique du thymus des souris témoins et traitées	38
Fig 21	frottis de la moelle osseuse	40

## Introduction

La phytothérapie signifie la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. C'est une pratique ancestrale, qui repose sur l'utilisation de plantes médicinales à des fins thérapeutiques, suite à leurs vertus découvertes empiriquement.

Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore, massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. Le plus souvent, c'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'études cliniques systématiques.

En Algérie, les commerces spécialisés dans la vente de plantes médicinales, sont de plus en plus nombreux. Les chiffres du Centre National du Registre de Commerce montrent qu'à la fin de 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales [1].

D'après le directeur général du contrôle économique et de la répression des fraudes au ministère du Commerce, la vente de plantes médicinales est juridiquement *"une activité commerciale normale qui relève du code d'activité, et n'est soumise à aucune licence, mais la pratique du traitement et de la conversion de ces magasins en cliniques médicales n'est pas autorisée légalement"*. Ainsi, les spécialistes mettent en garde contre l'utilisation empirique des différentes recettes, du fait que, la plupart des plantes vendues ne sont pas soumises à des contrôles de qualité, d'autant que certaines d'entre elles peuvent être dangereuses à la consommation et souvent avec effet retardé [1].

Dire que telle ou telle préparation à base de plantes apparaît comme la réponse idéale à nos soucis, surtout celle utilisée dans le domaine esthétique, relève de la publicité mensongère. Les recettes d'engraissement trouvées sur le marché, représentent les préparations les plus demandées par la population jeune citons par exemple la recette dite « l'engraissement magique (El moussamina el séhria) ».

On a remarqué que la prise de cette préparation fait apparaître des manifestations et des signes semblables à ceux provoqués par la prise des corticoïdes tels que l'augmentation du poids, l'aspect gonflé du visage et la redistribution de la graisse au niveau de l'abdomen et du cou causant la « bosse du bison ». Cela nous a laissé penser que cette recette est composée entre autres, de corticoïdes d'où l'apparition des faux signes d'engraissement chez les consommatrices et nous a incité à étudier l'effet de cette recette « El moussamina el séhria »

sur le système immunitaire et ses composantes afin de confirmer ou d'infirmes nos doutes concernant cette recette.

Pour cet effet, notre modeste travail comportait deux parties : théorique et expérimentale

➤ Dans la partie théorique, nous allons essayer de donner un aperçu sur les composants du système immunitaire, la réponse immunitaire, les immunomodulateurs et la phytothérapie.

➤ La deuxième partie se rapportera sur une étude expérimentale décrivant le matériel utilisé, les méthodes suivies, discussion des résultats obtenus et enfin cette partie est terminée par une conclusion et des perspectives.

Le système immunitaire d'un organisme est un système biologique constitué d'un ensemble coordonné d'éléments de reconnaissance et de défense qui discrimine le « soi » du « non-soi ». Ce qui est reconnu comme non-soi est détruit, comme les pathogènes : virus, bactéries, parasites, certaines particules ou molécules « étrangères » (dont certains poisons). Le système immunitaire est responsable du phénomène de rejet de greffe.

## 1. Composants du système immunitaire

Le système immunitaire est fait d'un système d'interactions complexes mettant en œuvre de nombreux organes, cellules et substances différentes. La majorité des cellules ne se trouvent pas dans le sang, mais plutôt dans un ensemble d'organes appelés organes lymphoïdes.

### 1.1. Les cellules du système immunitaire

La quasi-totalité des cellules immunitaires dérivent de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes localisées dans la moelle osseuse (Fig.1), ces cellules souches sont les seules capables d'auto-renouvellement. Les cellules souches se différencient soit en cellules progénitrices lymphoïdes, soit en progénitrices myéloïdes (Aymeric et Lefranc, 2009).

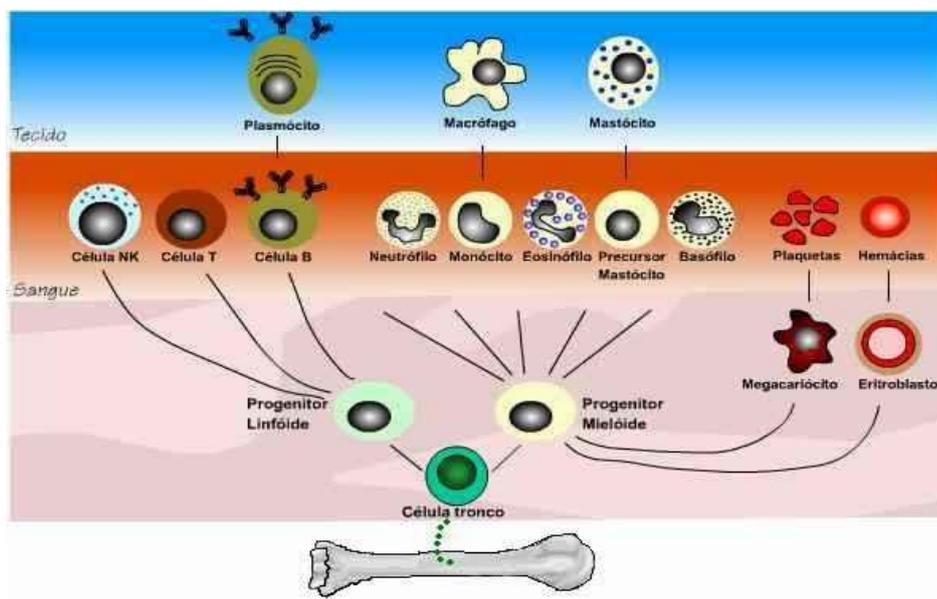


Fig.1 : l'hématopoïèse [2]

**1.1.1. La lignée myéloïde :** un progéniteur myéloïde commun est le précurseur des cellules du système immunitaire inné : les macrophages, les granulocytes, les mastocytes et les cellules dendritiques. Il peut également se différencier en mégacaryocytes et en globules rouges (Janeway *et al.*, 2009).

➤ **Les monocytes :** sont des cellules circulantes représentant environ 5% des leucocytes totaux du sang et qui peuvent migrer dans les tissu pour y devenir des macrophages qui sont des grands phagocytes distribués dans la plupart des tissus (Male, 2005). Jouant un rôle important dans l'élimination de diverses particules, dans la reconnaissance de pathogènes et dans la production de cytokines de l'immunité inné, ils constituent une première ligne de défense importante de l'immunité innée (Janeway *et al.*, 2009). Les macrophages sont les équivalents tissulaires des monocytes et forment avec ceux-ci le système phagocytaire mononucléaire (Chapel *et al.*, 2004).

➤ **Les granulocytes ou polynucléaires :** les granulocytes ou polynucléaires comprennent trois types cellulaires : les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles, tous les trois capables de quitter le sang pour migrer aux sites inflammatoires (Gorochov et Papo, 2000).

**Les neutrophiles:** les polynucléaires neutrophiles représentent la plus grande population des granulocytes circulants formant 60 à 70% des leucocytes du sang (Revillard, 2001). Les neutrophiles sont des phagocytes et jouent un rôle important en entrant dans les foyers infectieux où ils ingèrent et tuent des pathogènes extracellulaires (Janeway *et al.*, 2009).

**Les éosinophiles:** se retrouvent en petite quantité dans la circulation (3% des leucocytes circulants) (Delespesse, 2012). Ces cellules sont produites en plus grand nombre et activées lors de certaines infections parasitaires (Revillard, 2001). Leurs granules contiennent des produits toxiques pour différents parasites. Les éosinophiles produisent une histaminase et de l'aryl-sulfatase qui régulent négativement les réactions inflammatoires (Homberg, 2004).

**Les basophiles:** représentent moins de 1% des leucocytes du sang. Ce sont des cellules avec un noyau rond et des granules ovoïdes contenant des médiateurs de l'inflammation. Ces cellules ont des récepteurs membranaires d'IgE de haute affinité et qui

jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense contre les parasites et dans les réactions allergiques mettant en jeu les anticorps (Ac) de classe IgE (Revillard, 2001).

➤ **Les mastocytes** : ce sont de grandes cellules présentes dans les tissus conjonctifs de tout l'organisme dont le précurseur sanguin n'est pas bien défini (Janeway *et al.*, 2009). Ils sont particulièrement abondants dans les tissus en contact avec l'environnement (peau, muqueuses). Comme les basophiles, ils contiennent de nombreux granules et expriment sur leur membrane des récepteurs aux IgE de haute affinité. Lorsqu'ils sont activés, les mastocytes libèrent de nombreux médiateurs chimiques (dont l'histamine) et interviennent dans les réactions immunitaires dépendant des IgE (Aymeric et Lefranc, 2009).

➤ **Les cellules dendritiques** : sont un groupe particulier de cellules présentatrices d'antigène (CPA) distribuées dans de nombreux tissus de l'organisme. Elles se différencient à partir des précurseurs, soit lymphoïdes, soit myéloïdes (Male, 2005). Les cellules dendritiques qui ont rencontré des germes viennent à maturation, c'est-à-dire deviennent capables d'activer une classe particulière de lymphocytes bien que pouvant présenter des formes et des fonctions différentes selon leur localisation tissulaire (Janeway *et al.*, 2009).

**1.1.2. La lignée lymphoïde** : Le précurseur lymphoïde commun ou cellule souche lymphoïde donne naissance aux lymphocytes (Gorochov et Papo, 2000). Ces derniers constituent environ 20% des leucocytes sanguins (Male, 2005), classés en petits et grands lymphocytes. Les petits lymphocytes expriment à leur surface des récepteurs antigéniques. Il existe deux classes principales de petits lymphocytes B et T. Les grands lymphocytes sont des cellules cytotoxiques naturelles NK (pharhm, 2003).

➤ **Les lymphocytes B** : ne présentent que 5 à 10% des lymphocytes du sang (Homberg, 2004), leur rôle essentiel est la synthèse d'anticorps correspondant à l'immunité spécifique humorale. La fonction des lymphocytes B ne réduit cependant pas à la seule production d'anticorps, mais aussi capables de présenter aux cellules T l'antigène qu'elles ont internalisé par leurs récepteurs spécifiques, et d'influencer la polarisation de cette réponse (Chatenoud *et al.*, 2012).

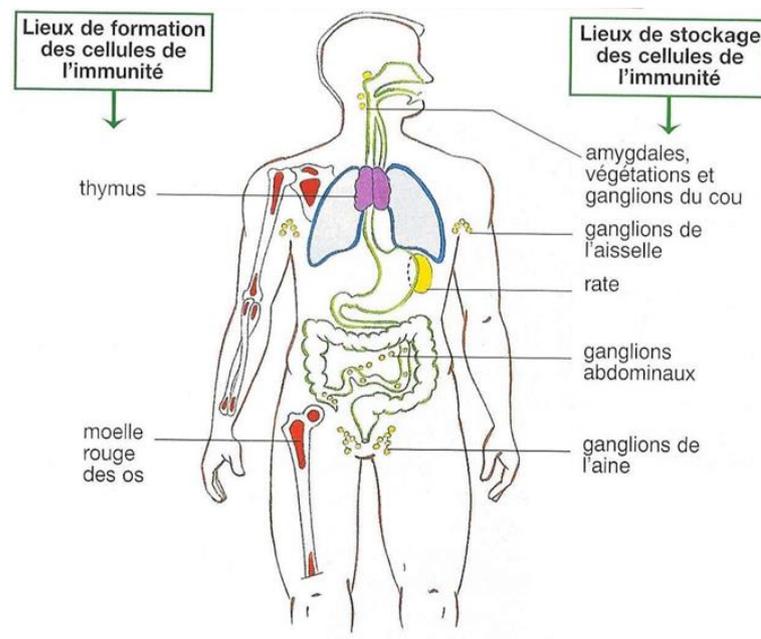
➤ **Les lymphocytes T** : ils représentent 75% des cellules lymphoïdes circulantes. Ce sont les seules cellules immunitaires qui se différencient dans le thymus, d'où leur nom (T).

Ces cellules expriment des récepteurs pour l'antigène (TCR) et se différencient en deux sous-populations principales, l'une portant le marqueur CD4, l'autre le marqueur CD8. Le rôle essentiel des cellules T est de reconnaître les antigènes (Ag) provenant de l'intérieur des cellules de l'hôte (Male, 2005).

➤ **Les cellules NK** : ils représentent 5 à 10% des lymphocytes circulants et sont localisés dans tous les tissus. Ces cellules jouent un rôle important dans la défense anti-tumorale et antivirale et sont dépourvues de récepteurs spécifiques pour l'antigène. Elles jouent donc un rôle important dans l'immunité innée (Gorochov et Papo, 2000).

## 1.2. Organes et tissus lymphoïdes

Les lymphocytes circulent dans le sang et la lymphe et résident dans les organes lymphoïdes. Ces derniers sont classés en deux catégories : primaires ou centraux et secondaires ou périphériques. Les lymphocytes se développent et arrivent à leur maturation où ils seront capables de répondre à un agent pathogène dans les organes lymphoïdes primaires, mais exercent leur fonction au sein des organes et tissus lymphoïdes secondaires (Fig.2).



**Fig. 2** : Les organes de l'immunité [3]

### 1.2.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux

➤ **La moelle osseuse** : la moelle osseuse est un tissu hématopoïétique présent dans les os longs et le squelette axial. Toutes les cellules sanguines sont dérivées des cellules souches de la moelle osseuse. Chez le mammifère adulte, les cellules B se développent et se différencient ici (Male, 2005). La moelle osseuse est par ailleurs le principal tissu contenant les plasmocytes qui synthétisent les immunoglobulines (Ig) du sérum (Revillard, 2001).

➤ **Le thymus** : le thymus est une petite glande située au centre du thorax, derrière le sternum. Il est formé de deux lobes réunis par un isthme médian. Son poids varie avec l'âge, bien développé chez le fœtus, il augmente de poids jusqu'à la puberté, il subit alors une involution lente sans disparaître totalement chez le sujet âgé (Homborg, 2004). Le thymus est l'organe central où se différencient les lymphocytes T à partir de cellules précurseurs, les pro-thymocytes, dérivés de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse (Revillard, 2001).

### 1.2.2. Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques

➤ **Les ganglions lymphatiques** : les ganglions lymphatiques sont de petites masses de tissu lymphatique en forme d'haricot longeant les vaisseaux lymphatiques. Le ganglion lymphatique traversé par la lymphe joue le rôle de filtre pour les pathogènes et les autres substances exogènes. Les germes ainsi empêchés d'atteindre le flux sanguin s'accumulent dans le ganglion ou ils activent les lymphocytes (Parham, 2003).

➤ **La rate** : la rate est l'organe lymphoïde le plus grand, joue un rôle dans la filtration et l'élimination des microorganismes circulant dans le sang par ses macrophages (Revillard, 2001). La rate fonctionne de façon semblable à celle du ganglion lymphatique à l'unique différence que les pathogènes et les lymphocytes peuvent entrer et quitter la rate par voie sanguine (Parham, 2003).

➤ **Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses** : les muqueuses qui bordent les systèmes digestif, respiratoire et urogénital ont une surface totale d'environ 400 m<sup>2</sup> ; elles représentent les principaux sites d'entrée pour la plupart des pathogènes. Ces surfaces membranaires vulnérables sont défendues par un groupe de tissus lymphoïdes organisés

connus collectivement sous le nom de tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT), les tissus lymphoïdes secondaires associés à l'épithélium respiratoire (BLAT) et les tissus lymphoïdes secondaires associés au tractus digestif (GLAT). L'importance fonctionnelle du MALT dans les défenses de l'organisme est attestée par sa grande population de plasmocytes producteurs d'anticorps, dont le nombre excède de beaucoup celui des plasmocytes de la rate, des ganglions lymphatiques et de la moelle osseuse réunis (Kindt *et al.*, 2007).

### **1.3. Les substances solubles**

#### **1.3.1. Les cytokines**

Ce sont des messagers intercellulaires, non spécifiques d'antigène qui jouent un rôle dans la réaction inflammatoire (immunité innée), l'hématopoïèse et la réponse immunitaire adaptative. Elles sont présentes sous la forme de glycoprotéines de faible poids moléculaire (entre 8 et 70 KDa), généralement monomériques (Aymeric et Lefranc, 2009).

Les cytokines sont répertoriées sous plusieurs dénominations qui comportent : les interleukines (IL), les interférons (INF), les facteurs stimulant les colonies (CSF) et les chimiokines (Aymeric et Lefranc, 2009).

#### **1.3.2. Le système du complément**

Il est constitué par une trentaine de protéines circulant dans le plasma, dont la plupart se présente sous une forme inactive. Ces protéines sont principalement synthétisées par le foie, certaines cellules intestinales et les monocytes /macrophages (Aymeric et Lefranc, 2009).

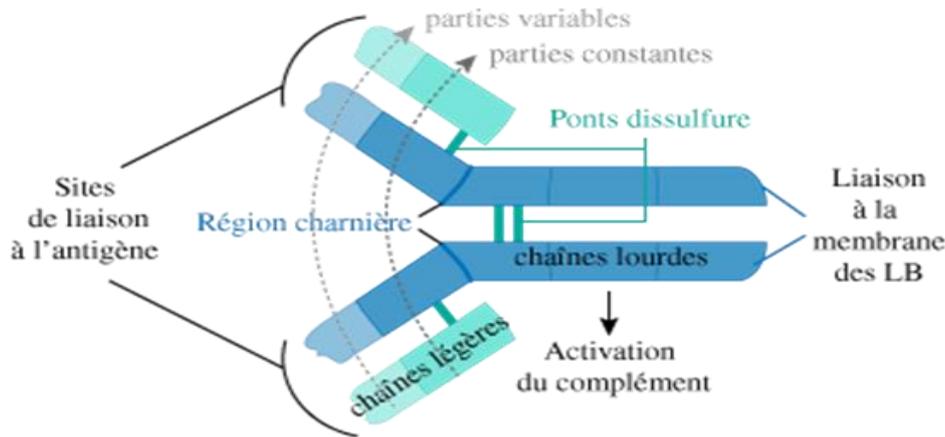
Le complément intervient dans la destruction des agents infectieux, dans l'homéostasie cellulaire mais aussi dans le contrôle de la réponse inflammatoire et la modulation de la réponse immune spécifique (Chatenoud *et al.*, 2012).

Le complément est activé par trois voies : la voie classique, la voie des lectines et la voie alterne.

#### **1.3.3. Les immunoglobulines**

Les anticorps circulants (aussi appelés immunoglobulines) sont des glycoprotéines solubles qui reconnaissent et lient l'antigène présent dans le sérum et les liquides tissulaires ou exprimées à la surface des lymphocytes (Male *et al.*, 2007) (Fig.3).

Les cellules B ne sécrètent des anticorps qu'après avoir été stimulées par l'antigène qu'elles reconnaissent grâce à leur récepteur de surface (BCR), qui n'est autre qu'un anticorps membranaire servant de récepteur à l'antigène (Gorochov et Papo, 2000).



**Fig.3** : structure d'une molécule d'anticorps [4]

#### 1.4. La défense immunitaire

Le système immunitaire est le mécanisme de défense naturel de l'organisme contre l'infection et la maladie. Le corps humain est protégé par deux principaux types d'immunité : l'immunité innée et l'immunité adaptative (Fig.4).

L'immunité innée est l'ensemble des mécanismes cellulaires et moléculaires préexistants à une infection et qui est prêt à empêcher ou à éliminer cette infection. Cette première ligne de défense très efficace empêche la plupart des infections dès le début ou elle permet d'éliminer l'agent infectieux dans les quelques heures qui suivent sa rencontre avec le système immunitaire inné (Kindt *et al.*, 2007).

Le premier obstacle rencontré par un pathogène est la rupture des barrières anatomiques protectrices de l'hôte. L'épithélium comprend la peau et les cellules épithéliales des muqueuses des tractus respiratoires, gastro-intestinales et uro-génitales. Elles constituent des barrières efficaces contre l'entrée de la plupart des micro-organismes (Kindt *et al.*, 2007) car cette dernière produit des médiateurs solubles capables d'inhiber la croissance et parfois même de détruire les micro-organismes (Chatenoud *et al.*, 2012).

L'inflammation constitue dans son ensemble un autre mécanisme effecteur de l'immunité innée. En effet, l'inflammation permet le recrutement, au site de l'infection, des cellules phagocytaires qui ne sont normalement pas résidentes dans les tissus mais qui vont y

être attirées par les facteurs solubles chimiotactiques libérés par les macrophages et certains facteurs du complément. On retrouve tout particulièrement parmi ces phagocytes les polynucléaires neutrophiles (Chatenoud *et al.*, 2012).

Les envahisseurs qui réussissent à franchir les acteurs de l'immunité innée vont coloniser les tissus cibles où leur présence sera détectée par les acteurs de l'immunité adaptative.

Les acteurs de l'immunité adaptative sont très spécifiques et n'entrent en jeu que lorsqu'il y a eu une reconnaissance spécifique d'un antigène dans l'organisme. L'immunité adaptative a un haut degré de spécificité, ainsi que la propriété de mémoire (Kindt *et al.*, 2007).

L'immunité adaptative est initiée essentiellement dans les tissus lymphoïdes secondaires, par la présentation des Ag aux lymphocytes T. Bien que les lymphocytes B puissent capter et apprêter des Ag et se comporter comme des CPA pour les lymphocytes T, ce sont principalement les cellules dendritiques migrantes, provenant des tissus infectés, qui assurent l'activation des lymphocytes T naïfs (Aymeric et Lefranc, 2009).

Après le contact avec l'antigène, les lymphocytes T activés se divisent et se différencient en cellules T effectrices.

Les cellules T CD8 deviennent des cellules T cytotoxiques impliquées dans la protection de l'hôte contre les pathogènes cytosoliques. Tandis que les cellules T CD4 peuvent se différencier pour produire des cellules effectrices, TH1 qui est impliquée surtout dans la stimulation des macrophages, et TH2 qui est impliquée dans la stimulation de la production des anticorps par les cellules B (Parham, 2003).

La nature de l'agent pathogène et le type de la réponse immunitaire nécessaire pour son élimination, déterminent laquelle des deux sous-populations de T CD4 prédominera.

Le contact avec l'antigène conduit à la différenciation des cellules B activées en plasmocytes qui sécrètent les anticorps. Ce dernier peut éliminer l'antigène en différentes façons et en cellules B à mémoire à longue durée de vie qui ont été préalablement stimulées par l'antigène, et qui sont capables de répondre de façon accélérée à cet antigène si elles le rencontrent une seconde fois (Male *et al.*, 2007).

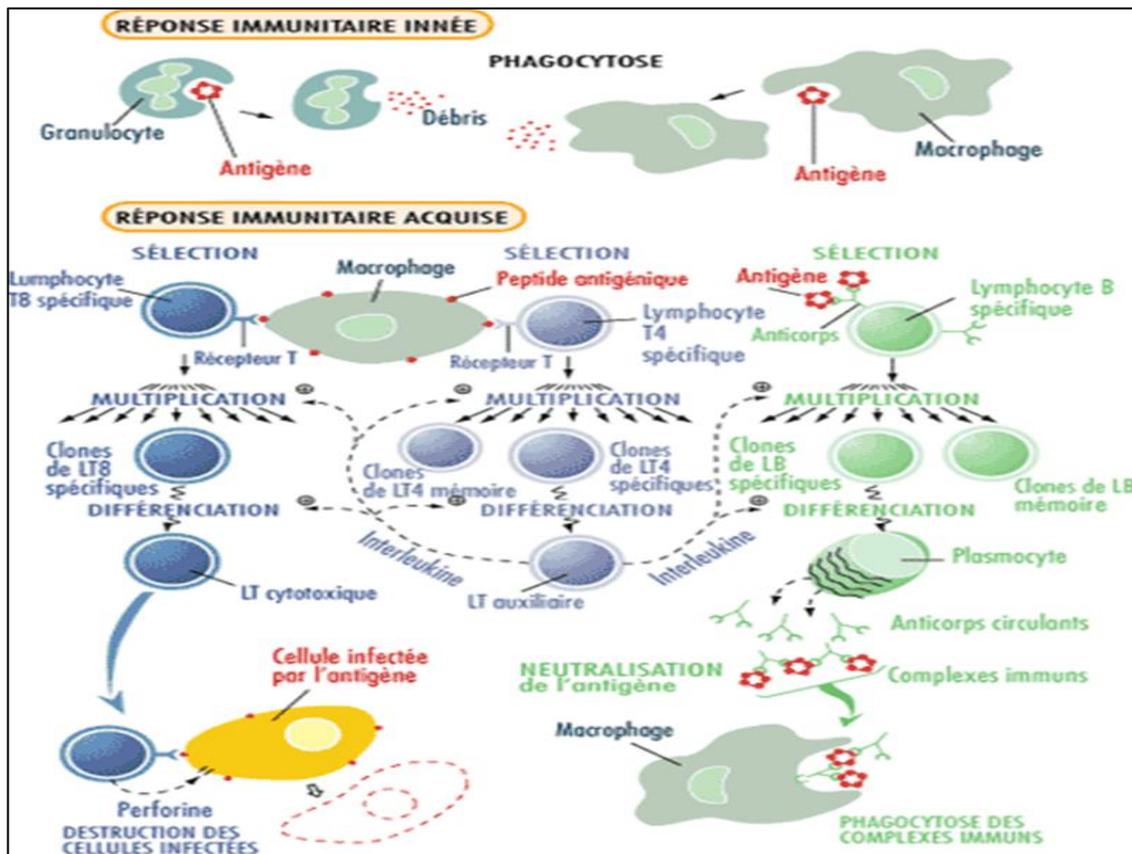


Fig.4 : la réponse immunitaire innée et adaptative [5]

## 2. Les immunomodulateurs

Ce sont des substances capables de modifier généralement par stimulation (immunostimulants) ou par inhibition (immunosuppresseurs) la réponse immunitaire d'un organisme (Pebret, 2003).

### 2.1. Les immunostimulants

Ce sont des substances qui augmentent les réponses immunitaires. Ces substances sont très hétérogènes par leur origine, leur structure biochimique et leurs propriétés biologiques [6].

Les immunostimulants ont de nombreuses applications cliniques potentielles : déficits immunitaires, maladies infectieuses, cancers.....

#### 2.1.1. Les cytokines

Les principales cytokines utilisées comme immunostimulants sont les facteurs de croissance hématopoïétiques le G-CSF et GM-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor et Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor), L'IL-2 et les interférons ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) (Lévesque, 2002). Elles peuvent être aussi des protéines synthétiques analogues à une protéine produite par l'organisme (Morlet et Abou Taam, 2009).

➤ **Les interférons** : sont des formes recombinantes de l'interféron endogène. Trois principales catégories d'interférons sont décrites : alpha, beta et gamma, sont des cytokines douées de nombreuses activités biologiques telles que l'inhibition de la réplication virale, la réplication cellulaire et de l'apoptose ou la modulation de la différenciation et de la réponse immunitaire (Arnaud, 2002).

Ils augmentent l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité, induisent l'activité des lymphocytes T et les cellules NK. Les propriétés des interférons sont utilisées en thérapeutique pour traiter certaines infections virales, certaines maladies inflammatoires et en oncologie (Meyer, 2009).

➤ **IL 2** : est une cytokine recombinante, son activité biologique et celle de l'IL-2 humaine [7]. Elle a été identifiée comme un facteur mitogénique des cellules T. La fonction biologique de cette molécule consiste en la transduction d'un signal de croissance aux cellules

NK et T. En présence d'IL-2, les cellules NK sécrètent de nombreuses cytokines dont l'IFN- $\gamma$  et le GM-CSF.

L'IL-2 représente la principale arme thérapeutique dont l'efficacité clinique a été démontrée, notamment dans le cancer du rein, le mélanome et certains lymphomes (Paul et Étienne, 2002).

### 2.1.2. Produits d'origine bactérienne

Parmi les immunostimulants qui ont été assez largement utilisés citons :

➤ **Le BCG (Bacille Calmette-Guérin)** : est une souche atténuée de *Mycobacterium bovis*, est considéré comme un stimulant de l'immunité en général vis-à-vis des infections bactériennes, virales, fongiques ou parasitaires. Il stimule les macrophages, augmente la production d'anticorps de nombreux antigènes et a également une action sur les cellules T (Lesavre et Bach, 1980).

L'application clinique majeure du BCG a été dans le traitement du cancer de la vessie (Bast et Morton, 2008). Une petite fraction de la paroi de BCG nommée le muramyl dipeptide (MDP), augmente la fonction des cellules Th et des macrophages (Lesavre et Bach, 1980).

➤ **Lipopolysaccharide (endotoxine)** : est un composant de la paroi des bactéries Gram<sup>-</sup> représentant un des plus puissants immunostimulateurs. Ses effets sur le système immunitaire sont multiples: mitogène pour les lymphocytes B qui produisent les anticorps, un puissant activateur des macrophages en se liant aux récepteurs TLR, et activant les lymphocytes T de façon indirecte par le biais des facteurs sécrétés par les macrophages activés (Lesavre et Bach, 1980).

### 2.1.3. Extraits fongiques

La tradition recommande l'usage des champignons médicinaux et de nombreux travaux confirment l'activité immunostimulante des substances d'origine fongiques. Parmi les principales espèces à connaître citons: *Coriolus versicolor* (Karawataké), *Ganoderma lucidum* (Reishi), *Grifola frondosa* (Maïtaké) et *Lentinus edodes* (shiitaké) (Donatini, 2010).

➤ **la krestine** (polysaccharide krestin) : extrait de *Coriolus versicolor* (CV), un polysaccharide de faible poids moléculaire. Il stimule les macrophages, les polynucléaires, les cellules NK et augmente la synthèse d'IL2, de TNF et d'interféron-gamma. C'est un stimulant spécifique majeur de la voie TH1. Il permettrait ainsi d'éviter la dérive vers les maladies allergiques ou auto-immunes. Ce polysaccharide a un effet antiviral et antitumoral très puissant (Donatini, 2010).

➤ **le lentinan** : est un  $\beta$  (1,3)-D-glucane extrait de *Lentinus edodes* qui stimule la fonction des macrophages, des cellules T et la production de plusieurs cytokines telles que IL-1, IL-3, IL-6, TNF, et INF- $\gamma$ , grâce à leur liaison sélective à des monocytes et à des macrophages (Bast et Morton, 2008).

L'addition de lentinan prolonge de manière significative la survie des patients atteints de cancer gastrique avancé et colorectal. Il exerce un effet anti-tumoral important (Bast et Morton, 2008).

#### 2.1.4. Extraits de plantes

Les plantes immunostimulantes à effet global sont des plantes agissant par leurs polysaccharides immuno-actifs. Ces derniers sont les constituants immunostimulants les plus efficaces en agissant sur l'arbre immunologique à divers niveaux. Ils interviennent sur les polynucléaires : macrophages et leucocytes pourvus des récepteurs pour les résidus de structure galactosyl des arabinogalactanes (Currier *et al.*, 2003). La liaison récepteur-médiateur a un effet d'opsonisation et fait croître la phagocytose. Ils agissent sur la sécrétion, par les cellules aspécifiques du système immunitaire, des cytokines : l'interleukine 1 (IL-1), l'interleukine 6 (IL-6), facteur nécrosant les tumeurs (TNF $\alpha$ ). Ils ont un effet sur la transformation des lymphocytes B et sur la prolifération des lymphocytes T (Goetz, 2004).

#### 2.1.5. Produits chimiques

➤ **lévamisole** : a été synthétisé à l'origine comme un antihelminthique (vermifuge), mais, il semblerait également restaurer la fonction immunitaire. Il stimule les cellules T, les macrophages et la fonction des granulocytes. Les études actuelles sont axées sur son effet sur la réponse immunitaire et sur le traitement du cancer (Chen *et al.*, 2008).

➤ **Isoprinosine** : l'inosine acédobène dimépranol (Isoprinosine) est un dérivé des purines de synthèse qui intervient sur la composante cellulaire et hormonale de la réponse

immunitaire : elle agit principalement sur les lymphocytes T auxiliaires (CD4 ou helper) en stimulant la production d'IL 2 (Pebret, 2003).

L'isoprinosine est surtout utilisée dans les pathologies virales (herpès, encéphalite, rougeole sévère) (Pebret, 2003).

## 2.2. Les immunosuppresseurs

Sont définis comme des substances qui altèrent les capacités de l'organisme à développer une réponse immunitaire de manière plus ou moins sélectifs [8]. Ils sont utilisés dans le traitement de nombreuses maladies allergiques et auto-immunes, comme ils sont également utilisés dans les cas de transplantations d'organes ainsi que pour la greffe de la moelle osseuse (Bach, 2012).

Ces substances peuvent être classées selon leurs caractéristiques en immunosuppresseurs chimiques et immunosuppresseurs biologiques.

### 2.2.1. Les immunosuppresseurs biologiques

Les immunosuppresseurs biologiques comprennent des anticorps polyclonaux anti-lymphocytaires et des anticorps monoclonaux (Bach, 2012).

➤ **Anticorps polyclonaux anti-lymphocytaires** : il s'agit d'anticorps obtenus chez le lapin ou le cheval après immunisation contre des lymphocytes humains. Ces anticorps entraînent une lymphopénie portant essentiellement sur les cellules T. Le mécanisme principal d'élimination est l'opsonisation des lymphocytes T et leur phagocytose. Les sérums anti-lymphocytaires induisent aussi une déplétion lymphocytaire dans les organes et un effet dépresseur sur la production des anticorps. Leur effet immunosuppresseur est particulièrement spectaculaire sur le rejet des greffes (Thervet *et al.*, 2011).

➤ **Anticorps monoclonaux anti-lymphocytaires** : les anticorps monoclonaux spécifiques de récepteurs lymphocytaires sont de puissants immunosuppresseurs utilisés essentiellement en transplantation d'organe et en cancérologie et auto-immunité (Bach, 2012). Parmi ces anticorps on peut citer.

**Anti-CD3 muronomab (OKT3)** : il s'agit d'un anticorps monoclonal dirigé contre le complexe CD3. Ce dernier est constitué de protéines membranaires qui interviennent dans la transduction du signal aux lymphocytes T (LT). L'anti -CD3 induit une déplétion du sang

circulant en LT, est utilisé pour le traitement du rejet aigu d'allogreffé rénale, hépatique ou cardiaque [9].

**Anticorps anti-CD25** : L'anti-CD25 se fixe sur la chaîne  $\alpha$  (CD25) du récepteur de l'IL2 (exprimé que sur LT activés), bloque le récepteur et inhibe l'activation cellulaire T induite par l'IL-2. Les anticorps anti-CD25 inhibent ainsi le signal de prolifération. Ces anticorps ont montré leur efficacité pour la prévention du rejet du greffe (Legendre *et al.*, 2007).

**Les anticorps anti CD-20**: le rituximab est un anticorps monoclonal spécifique pour le CD20 humain. Le CD20 est un marqueur très spécifique des lymphocytes B (LB), exprimé à la surface des lymphocytes pré-B et des LB matures. En revanche, il n'est pas exprimé à la surface des plasmocytes. L'anti CD-20 se lie à la molécule membranaire CD20. Cette fixation entraîne une déplétion massive des lymphocytes B. l'anti CD-20 est utilisé essentiellement dans le traitement des lymphomes de phénotype B et des maladies auto-immunes médiées par les auto-anticorps (Sibilia et Sordet, 2005).

➤ **Les anticorps monoclonaux anti-cytokines anti-TNF $\alpha$**  : sont des anticorps monoclonaux qui inhibent des cytokines [10], citons parmi eux les anticorps anti-TNF $\alpha$ .

Le TNF $\alpha$  est une des grandes cytokines pléiomorphes et pro-inflammatoires de l'organisme dont les principales sources cellulaires sont représentées par les monocytes ou les macrophages et les lymphocytes T. Cette cytokine joue un rôle physiopathologique dans de nombreuses maladies inflammatoires où l'efficacité des agents anti- TNF $\alpha$  été bien démontrée comme la polyarthrite rhumatoïde (PR) et la maladie de Crohn (Toussirot et Pertuiset, 2010).

### 2.2.2. Les immunosuppresseurs chimiques

Plusieurs substances chimiques sont caractérisées par leur pouvoir immunosuppresseur citons comme exemples :

➤ **Azathioprine** : l'azathioprine agit comme anti-métabolite intervenant au niveau enzymatique du métabolisme des purines. Elle inhibe la biosynthèse des nucléotides normaux entrant dans la constitution des acides nucléiques (Legendre *et al.*, 2007) et ainsi la prolifération des lymphocytes B et T activés et des macrophages.

L'azathioprine est utilisé dans la prévention du rejet d'allogreffe, dans le traitement des maladies auto-immunes et inflammatoires (maladies de Crohn, lupus érythémateux, polyarthrites rhumatoïdes) ( Marqueste, 2007).

➤ **Cyclophosphamide** : le cyclophosphamide est un agent alkylant qui agit, par interaction directe, sur l'ADN et empêche sa transcription et sa réplication ce qui entraîne l'apoptose des cellules. Il agit essentiellement sur les lymphocytes B et T et préférentiellement sur les lymphocytes B supprimant donc la formation d'anticorps circulants responsables de l'immunité humorale (Gaudy-Mrqueste, 2007). Cette substance est utilisée comme agent anticancéreux, essentiellement dans les lymphomes malins, les cancers du sein et de l'ovaire [11].

➤ **Ciclosporine** : est un polypeptide cyclique à 11 acides aminés d'origine fongique (*Tolypocladium inflatum*). La ciclosporine A possède un effet inhibiteur très spécifique sur la réponse T dépendante. Il se lie dans le cytoplasme à la cyclophiline et bloque la voie d'activation calcineurine dépendante et par conséquent la transcription et l'expression génique des cytokines nécessaires à la réponse immune. La ciclosporine a inhibé particulièrement la production d'IL-2 et d'INF- $\gamma$ , ainsi que l'expression des récepteurs à l'IL-2. Cette substance est souvent utilisée dans les greffes d'organes, de la moelle osseuse et dans les maladies auto-immunes (Canivet, 2009).

➤ **Corticostéroïdes** : à partir du cortisol l'hormone naturelle produite dans les glandes surrénales, ont été synthétisés des dérivés glucocorticoïdes (GC) (corticostéroïdes) de durée d'action plus longue, d'activité anti-inflammatoire plus importante que la molécule mère. L'industrie pharmaceutique a mis au point de nombreux dérivés du cortisol comme la prednisone, la prednisolone ou la dexaméthasone [12].

Le mode d'action des GC se situe essentiellement au niveau transcriptionnel. Ils se lient à leurs récepteurs intracellulaires pour exercer leurs effets par la répression ou l'induction de gènes. Leur activité anti-inflammatoire est relativement étendue : les GC suppriment la libération des prostaglandines et des leucotriènes, des cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), des chimiokines comme l'IL-8 et inhibent l'expression de molécules d'adhésion. Les GC inhibent également la prolifération et la différenciation des lymphocytes T par des mécanismes multiples (Hellal, 2007).

### 3. La phytothérapie

La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. Il est recommandé d'utiliser la plante entière, plutôt que des extraits obtenus au laboratoire.

Il existe différents types de phytothérapie :

- **L'aromathérapie** : c'est une thérapeutique qui utilise les huiles essentielles.
- **La gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radiceles.
- **L'herboristerie** : correspond à la méthode de la phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboriste se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, ou une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne (des gélules de poudre de plante sèche) que le sujet avale. (Vigan, 2012).

La phytothérapie est de plus en plus populaire. Il y a comme un retour, dans le traitement de différentes maladies, vers les recettes de nos traditions.

En Chine un mélange de plantes composé notamment, de réglisse, de pivoine et d'un fruit exotique le nerprun, est utilisé depuis des siècles pour traiter les troubles digestifs. Aujourd'hui cette recette est utilisée en cancéro-thérapie (Lam *et al.*, 2010).

En Côte-d'Ivoire, *Spondias mombin* est une plante médicinale utilisée dans le traitement traditionnel des troubles digestifs (Diby, 2012).

*Lobaria pulmonaria* (lichen pulmonaire) est un lichen des arbres et des rocs. Il a de nombreux usages populaires en Turquie. Les pharmacologues d'Erzeroum ont étudié les effets de cette drogue sous forme d'un extrait aqueux sur le rat. Ils concluent qu'il a un effet sur l'inflammation externe (test de l'œdème de la patte, du granulome et de la gastrite induite par l'indométhacine), mais aussi au niveau de l'estomac en prévenant fortement les inflammations de la muqueuse gastrique (Paul, 2004).

Dans le Nord-Est de l'Inde, *Centella asiatica* est utilisée pour stimuler la mémoire. La décoction de feuilles est utilisée contre l'asthme et en ophtalmologie (Ghedira et Goetz, 2013).

En Algérie, plusieurs plantes sont connues par leur usage thérapeutique telle que la Menthe (*Mentha pulegium*) utilisée comme un antispasmodique, laxative, rafraîchissante. Elle est employée contre le rhume, la toux et pour les maux d'estomac (Miara et al., 2013).

l'Alfa (*Stipa tenacissima*) est connu dans la région de Tiaret (Algérie) comme un traitement contre les problèmes de la tension (Miara et al., 2013).

Sedra (*Ziziphus lotus*) cette plante est conseillée pour toutes les maladies, notamment les affections pulmonaires (Miara et al., 2013).

Pour parvenir à une amélioration de cette médecine, plusieurs investigations phytochimiques ont été faites afin d'apporter une justification scientifique. Quant à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales, leur fabrication est confiée à des laboratoires de renommée internationale et répondant aux normes strictes de qualité de l'industrie pharmaceutique. Ainsi, l'utilisation à bon escient de toute recette traditionnelle fera du bien sans faire du mal.

En Algérie, ces dernières années les personnes fréquentent de plus en plus les magasins de vente d'herbes et des recettes naturelles médicinales dans l'espoir d'une guérison par la grâce de la nature surtout, si la médecine moderne s'est montrée, pour de multiples raisons, impuissante à guérir le mal dont elles souffrent. Mais le plus inquiétant, selon les médecins, est que certains patients préfèrent s'adresser directement à ces commerçants (médecins herboristes) au premier malaise sans en référer à un spécialiste ni même effectuer les analyses biologiques nécessaires pour déterminer le type de maladies qui les affecte.

Les recettes les plus trouvées sur le marché, sont les recettes amincissantes, engraisantes et celles utilisées en esthétique. Parmi celles-ci, citons la recette dite « l'engraissement magique (El moussamina el séhria) » très utilisée par les jeunes filles voulant prendre du poids. Selon le témoignage des consommateurs, cette recette fait augmenter le poids après deux semaines d'utilisation.

L'engraissement magique (El moussamina el séhria) est constituée d'un mélange de plantes telles que *Cyperus esculentus* et d'autres ingrédients : glucides, miel, noix...

Selon la notice de cette recette, elle induit l'augmentation du poids et de l'appétit. En outre, elle a des bienfaits pour l'anémie, mais elle est déconseillée pour les sujets diabétiques, allergiques, les femmes enceintes et les femmes allaitantes.

D'après nos observations, on a remarqué que la prise de cette recette fait apparaître des manifestations et des signes semblables à ceux provoqués par la prise des corticoïdes tels que l'augmentation du poids, un aspect gonflé du visage et la redistribution de la graisse au niveau de l'abdomen et du cou causant la « bosse du bison » (Jollin, 2011).

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie « Département des Sciences de la Nature et de la Vie » de l'université 08 Mai 1945 de Guelma.

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1. Matériel

#### 1.1.1. Matériel biologique animal

Les animaux utilisés dans le cadre de cette étude sont des souris femelles blanches, âgées de 8 semaines, pesant entre 24 et 30 g chacune et provenant de l'animalerie de l'Institut de Pharmacie de Constantine.

Les souris représentent l'espèce des vertébrés la plus utilisée dans les expérimentations scientifiques, en raison de leur taille, leur disponibilité, facilitée de manipulation, d'élevage et le taux de reproduction rapide. Ces animaux partagent 99 % de leurs gènes avec l'homme[13].

#### 1.1.2. Recette (substances naturelles)

L'engraissement magique est une recette thérapeutique, de fabrication algérienne. Ce produit est très efficace pour l'augmentation du poids. Il est mis sur le marché sous forme d'une pâte (Fig.5).

Selon la notice, elle comporte les ingrédients suivant : *Cyperus esculentus*, Glucides, miel, noix et autres.



Fig.5: L'engraissement magique

### 1.1.3. Médicament de référence

Le médicament de référence (Prednisolone, Solupred®, 20 mg) a été fournis par le laboratoire « Prodiphal Production », de Rouiba Alger, Algérie (Fig.6).

Le Prednisolone est un corticoïde synthétique, utilisé principalement pour son effet anti-inflammatoire. A forte dose, il diminue la réponse immunitaire.



**Fig.6** : Médicament de référence (Prednisolone)

### 1.1.4. Condition d'élevage

Les souris sont logées dans des cages nettoyées régulièrement, en a utilisé les copeaux comme litières qui étaient changés chaque deux jours (Fig.7).

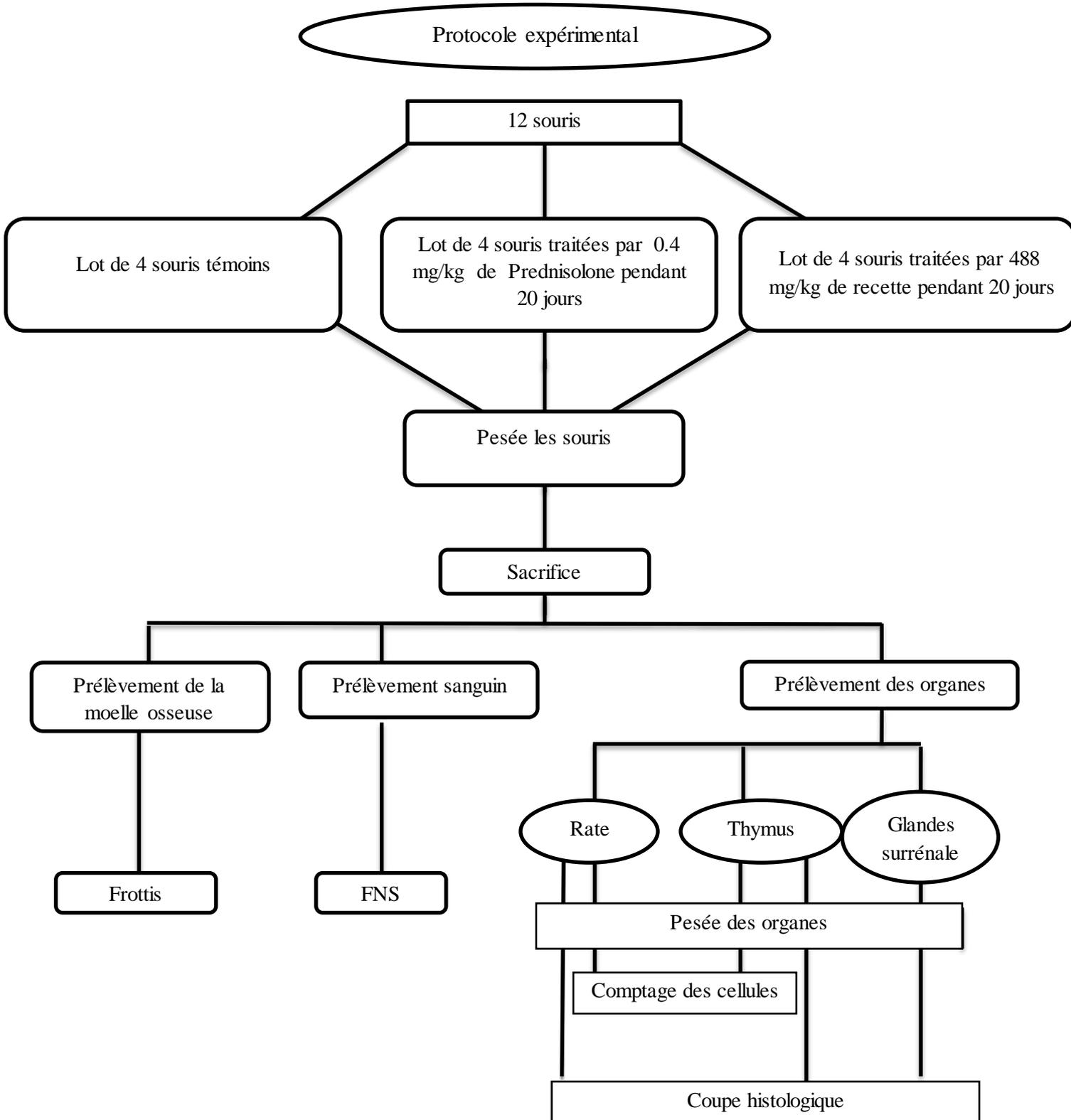
Les souris sont élevées dans des conditions caractérisées par une température ambiante, et une photopériode naturelle. Leur besoin nutritif est composé d'aliment riche en graine, du pain rassis et d'eau.



**Fig.7** : condition d'élevage

## 1.2. Méthodes

### 1.2.1. Protocole expérimental

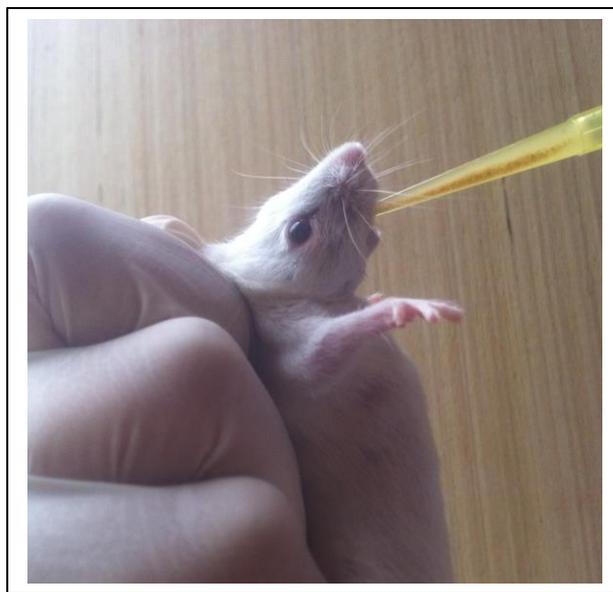


**Fig.8** : Schéma représentatif du protocole expérimental

### 1.2.2. Traitement

Le traitement consiste à administrer par voie orale et à l'aide d'une micropipette (Fig.9), un volume qui dépend du poids corporel de chaque souris et de la dose demandée. Pour cela, trois lots sont répartis comme suit :

- Lot T: 4 souris non traitées
- Lot P : 4 souris traitées par la dose 0.4 mg/kg du Prednisolone (glucocorticoïdes).
- Lot R : 4 souris traitées par la dose 488 mg/kg de la recette.



**Fig.9** : la voie d'administration

### 1.2.3. La pesée du poids corporelle

Avant tout sacrifice, les souris sont pesées.

### 1.2.4. Prélèvement sanguin

Après 20 jours de traitement les souris sont sacrifiées et le sang est récupéré dans des tubes à EDTA destinés au laboratoire d'analyses médicales pour la réalisation de la FNS (formule numération sanguin).

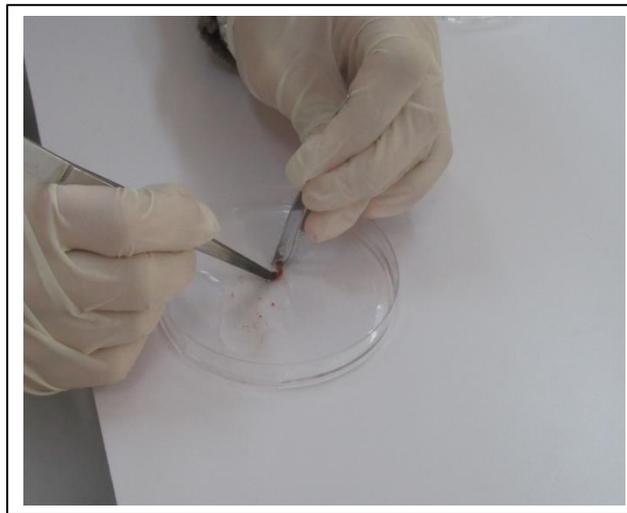
### 1.2.5. Prélèvement des organes

Après sacrifice et la dissection des animaux, la rate, le thymus et la surrénale sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius).

En outre, la rate, le thymus et la surrénale d'une souris de chaque lot, sont conservés dans du formol 10% pour l'étude histologique.

### 1.2.6. Isolement des splénocytes

Après avoir pesé la rate, cette dernière est déposée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS (voir annexe) et est débarrassée de la graisse. A l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (fig.10).



**Fig.10** : la dilacération de la rate

La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube après être filtrée sur une gaze fixée à un entonnoir et puis centrifugée pendant 10 min. à 1500 rpm.

Le culot est remis en suspension dans 0.5 ml de PBS. Puis, on lui a ajouté 4.5ml de solution de lyse des globules rouges (voir annexe). Après une incubation de 10 min, la suspension est centrifugée 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugée 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois.

À la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de trypan (voir annexe), les splénocytes sont comptés.

Le nombre des splénocytes par litre est calculé selon l'équation suivant :

$$N = \left(\frac{n}{v}\right) \times f$$

- $N$  : le nombre de cellules par litre
- $n$  : nombre de cellules comptés
- $v$  : volume de comptage en litre
- $f$  : facteur de dilution

### 1.2.7. Isolement des thymocytes

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

La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube polycarbonaté après être filtrée sur une gaze fixée à un entonnoir puis centrifugée pendant 10 min. à 1500 rpm.

Le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, puis la suspension est centrifugée 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugé 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois.

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

### 1.2.8. Préparation des coupes histologiques

Afin de réaliser des coupes histologiques pour une analyse structurale, la rate, le thymus et la surrénale des souris témoins et traitées ont été prélevés et conservés dans le formol à 10%, orientés au laboratoire d'anatomie-pathologique de l'hôpital « Ibn Zohr de Geulma ».

Les échantillons ont été enrobés en paraffine et colorés par l'HES (Hemaleine-Eosine-Saaffran).

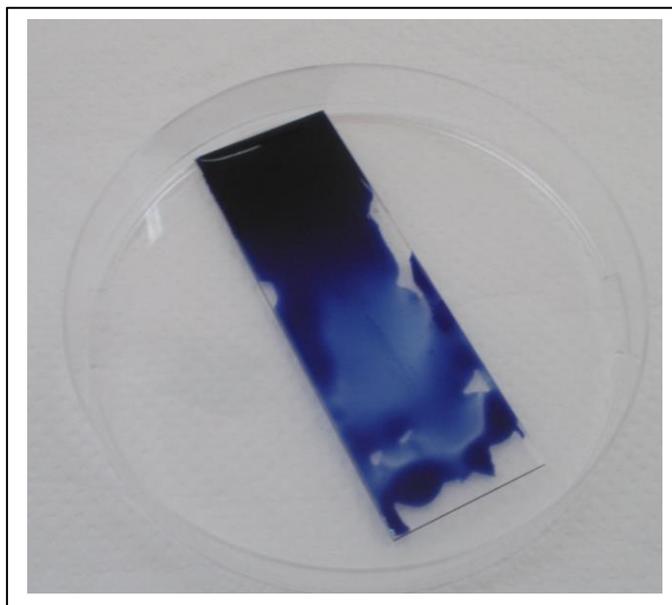
### 1.2.9. Frottis médullaire

Des frottis médullaires issus des différentes souris (traitées et témoins) ont été réalisés puis colorés au **May-Grunwald-Giemsa**.

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

Le frottis est ensuite passé à la coloration au **MGG** en déposant 10 à 15 gouttes de May-Grunwald, les laisser se fixer pendant 3 min. puis 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée (voir annexe) sont déposées et mélangées par rotation de la lame 1 min (Fig.11).

Le frottis a été recouvert de Giemsa diluée (voir annexe) pendant 15 min puis lavé à l'eau neutre, c'est la coloration.

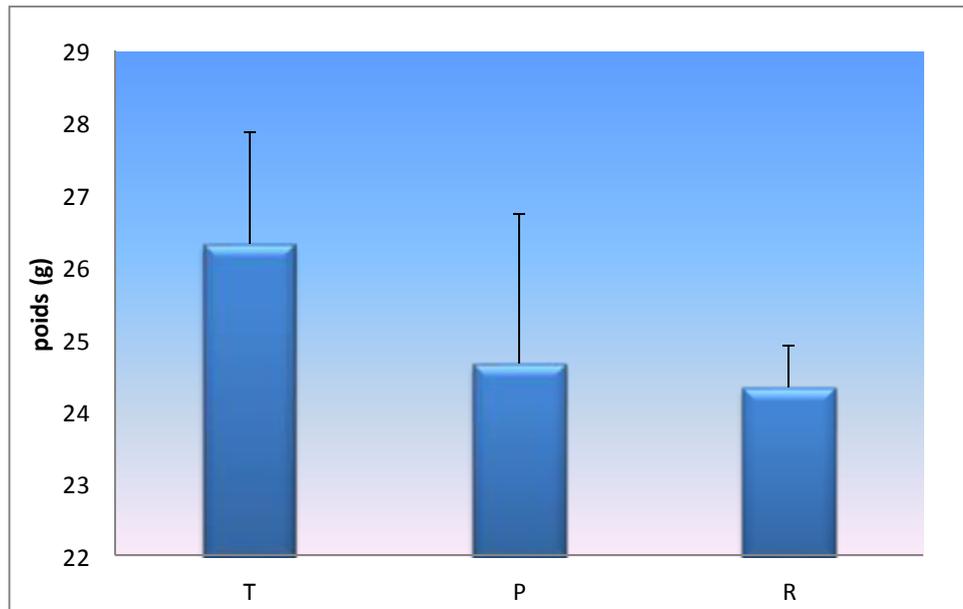


**Fig.11** : Le frottis médullaire

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. L'effet du traitement sur le poids corporel

Les résultats représentés par la figure 12, révèlent une diminution du poids des souris traitées par le corticoïde de synthèse « Prednisolone » et par la recette en les comparant à celui des témoins respectivement (P :  $24.66 \pm 2.08$ g ; R:  $24.33 \pm 0.57$ g et T:  $26.33 \pm 1.52$ g).



**Fig.12** : Variation du poids corporelle des souris témoins et traitées

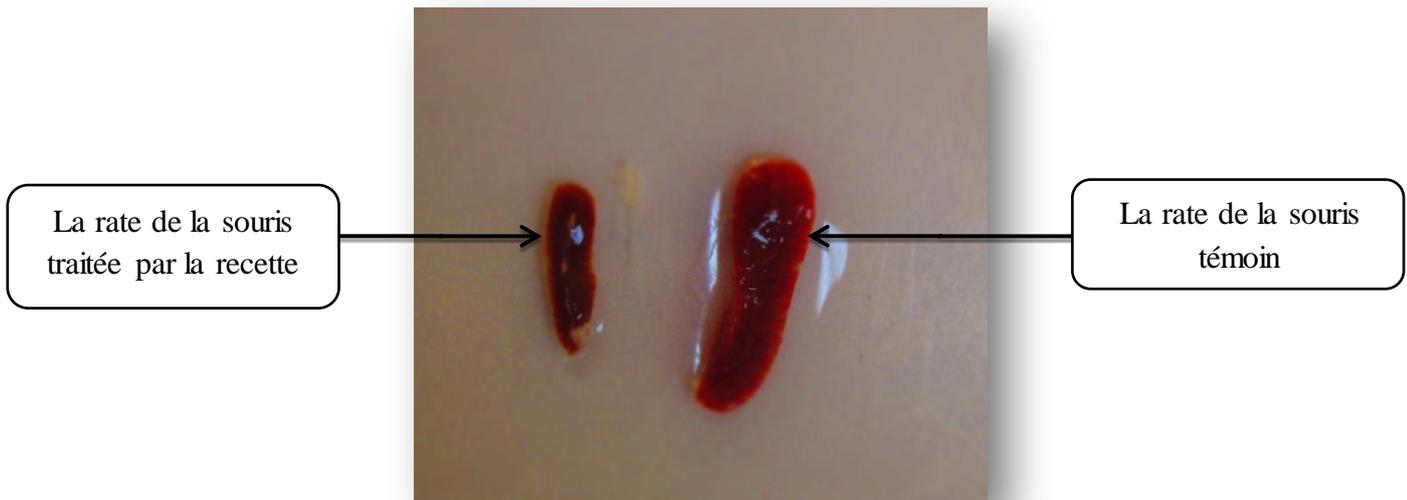
La diminution du poids corporelle observée après le traitement par le Prednisolone est due à l'induction de l'amyotrophie proximale, l'ostéoporose et la fragilité cutanée qui accompagne l'utilisation des corticoïdes (Jeunne, 2012). En outre, les corticoïdes provoquent un retard de croissance chez les petits, en raison d'une diminution de la maturation des plaques épiphysaires et une diminution de la croissance des os longs (Lorraine *et al.*, 2003). Cela, explique la diminution du poids corporelle des souris traitées par le Prednisolone.

Ce résultat se coïncide avec celui de Hristic et ses collaborateurs qui ont trouvé qu'une dose unique de dexaméthasone reçue pendant la gestation induit une diminution du poids de naissance des rats (Hristic *et al.*, 1995).

Le même résultat a été remarqué après le traitement des souris par la recette.

## 2.2. L'effet du traitement sur le poids de la rate, du thymus et des surrénales

Le poids de la rate a connu une diminution chez les souris traitées par le Prednisolone et par la recette ( $0.04 \pm 0$  g et  $0.02 \pm 0.01$ g) respectivement, en le comparant à celui des témoins qui a atteint ( $0.06 \pm 0,005$  g) (Fig.13 ; Fig.14). Cette diminution a été statistiquement significative chez les souris traitées par la recette dont  $P= 0,002$ .



**Fig.13** : la rate de souris témoins et de souris traitées par la recette

Selon la littérature, le traitement des rongeurs par les corticoïdes rétractent le poids de la rate de façon visible (Kindt *et al.*, 2007) en induisant une apoptose rapide des splénocytes (Lorraine *et al.*, 2003), cela explique la diminution du poids de la rate chez les souris traitées par le Prednisolone ou par la recette.

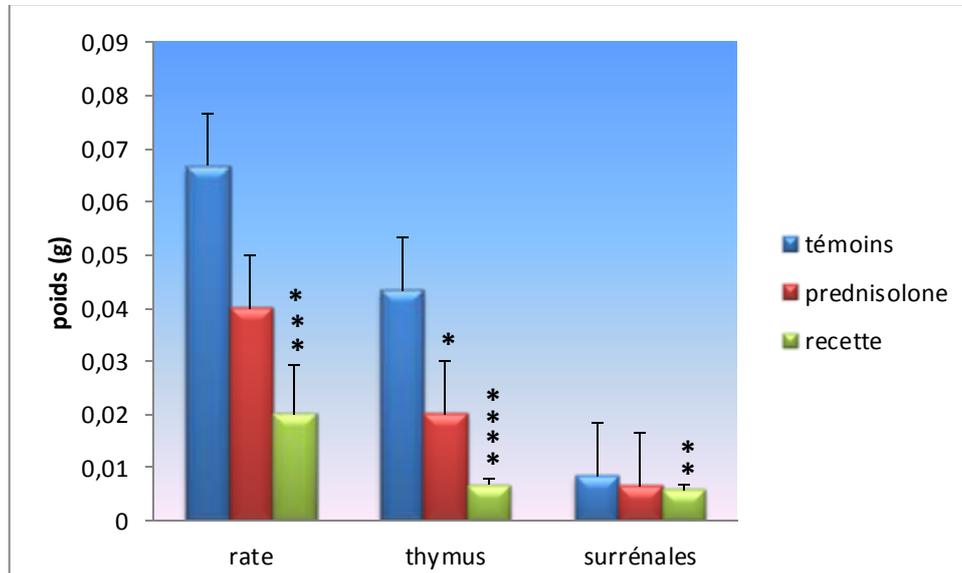
D'autre part, une baisse significative du poids du thymus a été observée chez les souris traitées par le Prednisolone ( $0.02 \pm 0.01$  g) ( $P = 0,025$ ) comparé aux témoins, idem pour le thymus des souris traitées par la recette. Notant, que la diminution du poids de cet organe chez ces dernières est statistiquement plus significatif ( $0.006 \pm 0.001$  g) ( $P = <0,001$ ) en le comparant à celui des souris témoins où le poids enregistré a dépassé ( $0.04 \pm 0.005$  g). (Fig.14).

Les glucocorticoïdes ont des actions multiples sur le système immunitaire et sur ses composantes cellulaires principalement les lymphocytes T (Guilpain et Jeunne, 2012). Ils diminuent la taille du thymus en inhibant l'activité mitotique des lymphocytes [14], et en

induisant une apoptose rapide dans ce tissu lymphatique chez les rats et les souris, (Lorraine *et al.*, 2003). Chez les rongeurs, le traitement par les corticoïdes réduit le poids du thymus de 90% (Kindt *et al.*, 2007). Cela explique la diminution de poids du thymus chez les souris traitées par le Prednisolone et probablement de celui des souris traitées par la recette.

Quant à l'effet du traitement par le Prednisolone et la recette sur les surrénales, les résultats ont révélé une diminution de leur poids chez les souris traitées par rapport aux témoins (T : 0.0079 ±0,0007 g ; P : 0.0064 ±0,0022 g ; R : 0.0065±0,0009 g) respectivement (Fig.14). Cette diminution est significative chez les traitées par la recette comparés aux témoins où  $P = 0,022$ .

La diminution du poids des surrénales due à l'administration exogène des corticoïdes a pu augmenter le taux plasmatique de stéroïde qui provoque l'inhibition de la production d'ACTH (Adrénocorticotrophique Hormone) [15]. L'ACTH ou le corticotrophine est connu par son action trophique sur la corticosurrénale. Ainsi, la conséquence d'une corticothérapie prolongée est généralement une insuffisance surrénale par atrophie surrénalienne progressive (Jeune, 2012).



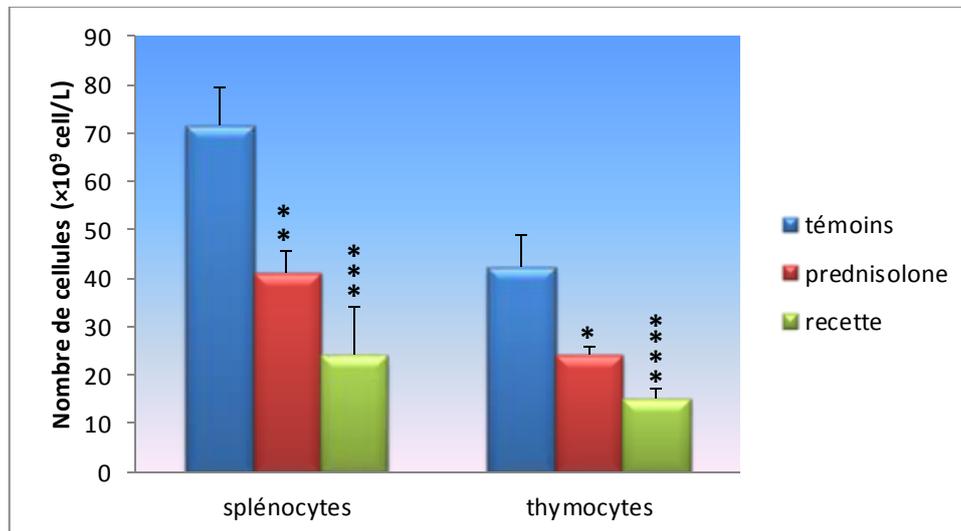
**Fig.14** : la variation du poids de la rate, du thymus et des surrénales chez les souris témoins et traitées

(\*\*\* $P = 0,002$  ; \* $P = 0,025$  ; \*\*\*\* $P = <0,001$  ; \*\* $P = 0,022$ ).

### 2.3. L'effet du traitement sur le nombre de splénocytes et thymocytes

L'énumération des splénocytes a montré une diminution importante chez les souris traitées par rapport aux témoins (T :  $70 \pm 7,57 \times 10^9 \text{ cell/L}$  ; P :  $41 \pm 4,58 \times 10^9 \text{ cell/L}$  et R :  $24 \pm 10,14 \times 10^9 \text{ cell/L}$ ). Cette différence est significative où  $P = 0,004$  pour les traitées par le Prednisolone et  $P = 0,003$  pour les traitées par la recette (Fig.15).

Idem, pour le nombre des thymocytes où les résultats ont révélé aussi une diminution significative chez les souris traitées par la recette par rapport aux témoins (R :  $15 \pm 2 \times 10^9 \text{ cell/L}$  ; T :  $40 \pm 6,4 \times 10^9 \text{ cell/L}$ ) ( $P = 0,002$ ). On a noté bien que cet effet dépressif de la recette sur le nombre des thymocytes est plus important que celui induit par le Prednisolone (P :  $25 \pm 2 \times 10^9 \text{ cell/L}$ ) ( $P = 0,009$ ) (Fig.15).



**Fig.15** : Variation du nombre des splénocytes et des thymocytes chez les souris témoins et traitées

(\*\*  $P = 0,004$ ; \*\*\*  $P = 0,003$  ; \*  $P = 0,009$  ; \*\*\*\*  $P = 0,002$ )

Notant, que la baisse du nombre des splénocytes et des thymocytes est plus importante chez les souris traitées par la recette que chez celles traitées par le Prednisolone.

La diminution cellulaire au niveau du thymus et de la rate peut être l'origine de la baisse remarquée de leur poids sous l'effet des glucocorticoïdes qui ont pu induire une apoptose rapide dans les tissu lymphoïdes (Lorraine *et al.*, 2003).

## 2.4. Effet du traitement sur la formule leucocytaire

### 2.4.1. Variation du nombre des lymphocytes

Le résultat illustré par la Figure 16, a signalé une diminution du nombre des lymphocytes circulants dans le sang des souris traitées par rapport aux témoins (T :  $2.59 \pm 1.24 \times 10^3$  cell/ $\mu$ l ; P :  $1.93 \pm 0.45 \times 10^3$  cell/ $\mu$ l ; R :  $0.84 \pm 0.67 \times 10^3$  cell/ $\mu$ l).

Ce résultat peut être expliqué par la lyse des lymphocytes circulants (lympholyse) sous l'effet des corticoïdes (Kindt *et al.*, 2007). L'apparition d'une lymphopénie après l'administration de corticoïdes (Bloemena *et al.*, 1990) est due à la mort cellulaire par apoptose suite à la destruction de l'ADN. Les mécanismes exacts de cette apoptose sont mal connus, mais on sait que les glucocorticoïdes induisent, au niveau du noyau, la synthèse d'endonucléases susceptibles de détruire l'ADN. Ils augmentent aussi la concentration de calcium intracellulaire et inhibent la biosynthèse du cholestérol. Les cellules contiennent donc des mécanismes dont l'activation peut conduire à leur propre mort [16].

On suppose que la diminution du nombre des lymphocytes chez les souris traitées par la recette est peut être due à la présence des glucocorticoïdes.

### 2.4.2. Variation de nombre des monocytes

D'après le résultat obtenu, une diminution du nombre des monocytes a été constatée chez les souris traitées par le Prednisolone (P :  $0.45 \pm 0.18 \times 10^3$  cell/ $\mu$ l), une baisse plus importante encore a été signalée chez les souris traitées par la recette (R :  $0.34 \pm 0.12 \times 10^3$  cell / $\mu$ l) en les comparant aux témoins (T :  $0.6 \pm 0.15 \times 10^3$  cell/ $\mu$ l) (Fig.16).

Dans le même contexte, Guilpain et Jeune (2012) ont affirmé que les glucocorticoïdes ont un effet monocytopeniant. Cette monocytopenie peut être due à l'effet antiprolifératif de ces cellules (Muster, 2005).

Cela explique la diminution du nombre des monocytes suite au traitement utilisé dans notre expérimentation (Prednisolone et la recette).

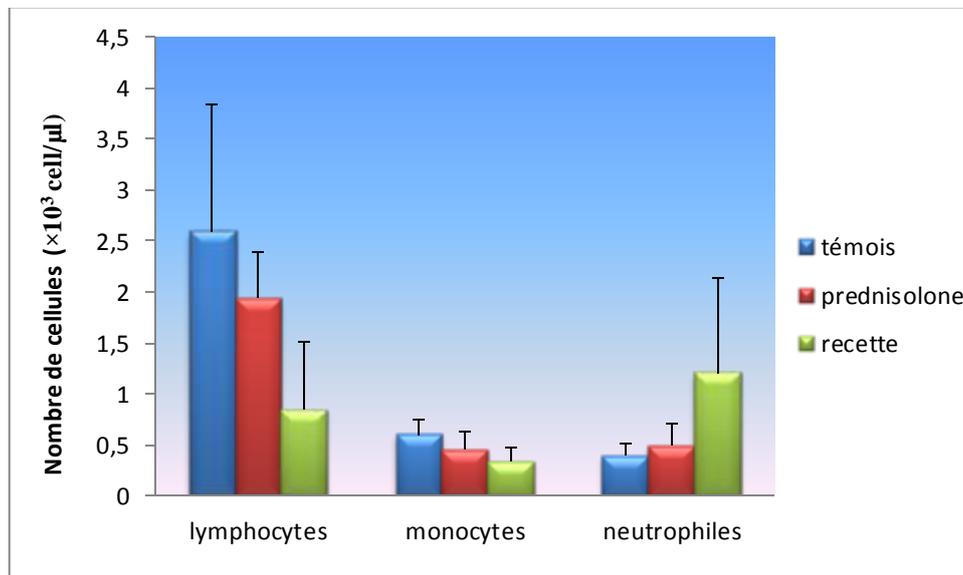
### 2.4.3. Variation du nombre des neutrophiles

Concernant le nombre des neutrophiles, les résultats illustrés par la Figure 16, indiquent une augmentation de leur nombre chez les souris traitées par rapport aux témoins. Cet

accroissement est très remarquable chez les souris traitées par la recette (T :  $0.39 \pm 0.12 \times 10^3 \text{ cell}/\mu\text{l}$  ; P :  $0.49 \pm 0.21 \times 10^3 \text{ cell}/\mu\text{l}$  ; R :  $1.20 \pm 0.93 \times 10^3 \text{ cell}/\mu\text{l}$ ).

On peut expliquer cette augmentation par le fait que, les glucocorticoïdes freinent la capacité des neutrophiles à adhérer aux cellules endothéliales suite à une réduction de l'expression de la L-sélectine sur les neutrophiles et de la P-sélectine sur les cellules endothéliales (Lorraine *et al.*, 2003; Guilpain et Jeunne, 2012), cela se traduirait par l'augmentation de leur nombre dans le sang.

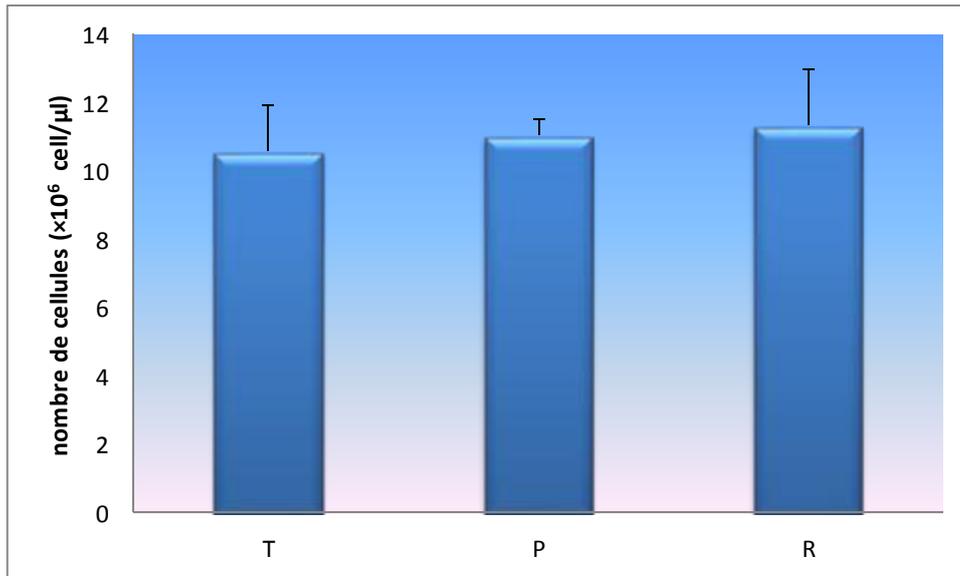
Toutes les corticothérapies sont généralement accompagnées par une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles (PNN) en accélérant leur sortie médullaire, et en diminuant leur sortie du sang circulant (Jeunne, 2012).



**Fig.16** : variation du nombre des lymphocytes, monocytes et neutrophiles chez les souris témoins et traitées.

## 2.5. Variation du nombre des hématies

Les résultats mentionnés dans la figure 17, révèlent une augmentation du nombre des hématies des souris traitées par rapport aux témoins (T :  $10.55 \pm 1.35 \times 10^6 \text{ cell}/\mu\text{l}$  ; P :  $11.03 \pm 0.45 \times 10^6 \text{ cell}/\mu\text{l}$  ; R :  $11.33 \pm 1.63 \times 10^6 \text{ cell}/\mu\text{l}$ ).



**Fig.17** : Variation du nombre des hématies chez les souris témoins et traitées

On sait que les corticostéroïdes augmentent l'hémoglobine, en retardant l'érythrophagocytose (Lorraine *et al.*, 2003) et en sensibilisant les progéniteurs érythroblastiques à l'érythropoïétine (Jeune, 2012). Cela peut expliquer l'augmentation du nombre des hématies chez les souris traitées par le Prednisolone et par la recette.

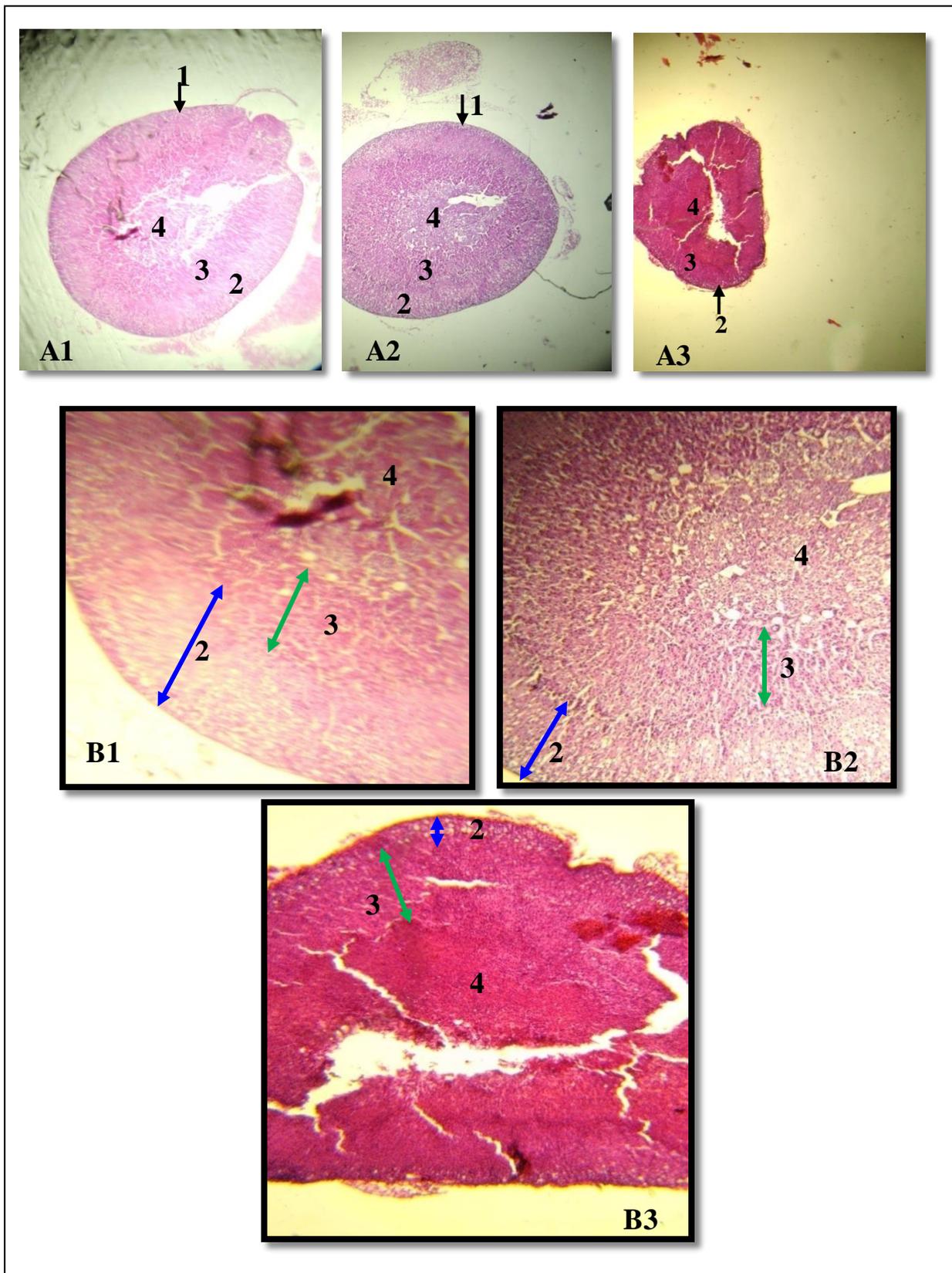
## 2.6. L'effet du traitement sur la structure des surrénales

L'examen microscopique des surrénales (Fig.18) a montré une structure normale chez les souris témoins (Fig.18A1, B1). Ces glandes sont composées du cortex et de la médulla. La corticosurrénale est formée de la zone glomérulaire qui sécrète les minéralocorticoïdes, 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).

Chez les souris traitées (Fig.18A2, A3 et 18B2, B3), on a remarqué que l'épaisseur de la partie corticale a diminué. Cette diminution a touché, particulièrement, la zone fasciculée responsable de la sécrétion des glucocorticoïdes. Par contre, un développement important de la partie médullaire a été noté.

L'involution de la partie corticale des surrénales est due à l'action des 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.

Par contre, les effets des glucocorticoïdes sur la médullosurrénale semblent être en général bénéfiques. Ils induisent un élargissement de cette zone et une meilleure trophicité de ses cellules. Cela explique 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, 1997).



**Fig.18** : Coupe histologique des surrénales des souris témoins et traitées

**A1**-surrénales des souris témoins, **A2**-traitées par le Prednisolone, **A3**-traitées par la recette(x10)

**B1**-surrénales des souris témoins, **B2**-traitées par le Prednisolone, **B3**-traitées par la recette (x40)

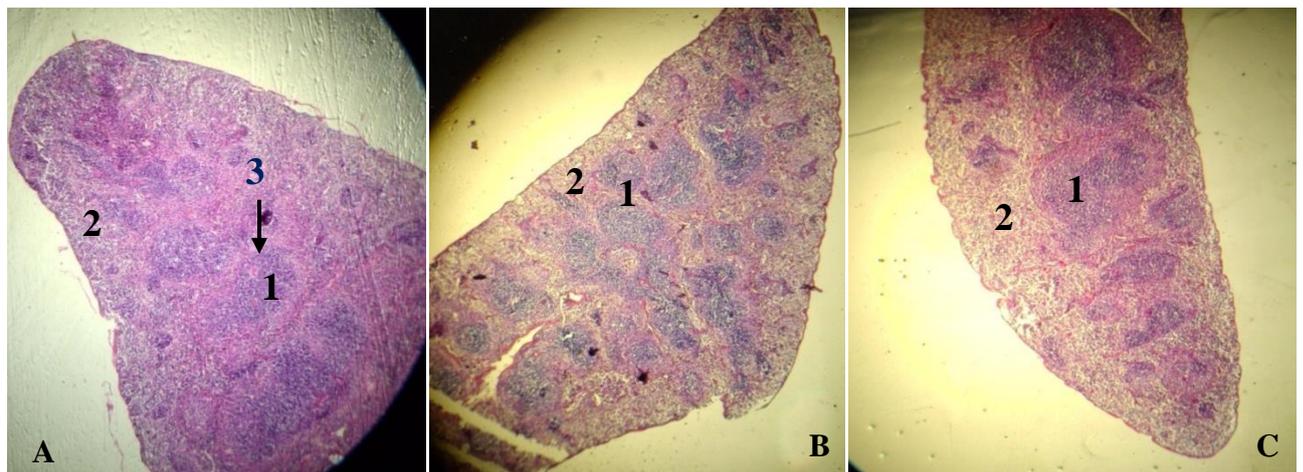
1 : zone glomérule 2 : zone corticale fasciculée 3 : zone corticale réticulée 4 : médulla

## 2.7. L'effet du traitement sur la structure de la rate

Après analyse des coupes réalisées sur la rate issue des souris témoins ou des souris traitées par le Prednisolone ou la recette, on a noté que celle des témoins (Fig.19A) représente l'aspect histologique normal de la rate, composée de masses lymphoïdes (pulpe blanche) et enrobées dans une matrice très vascularisée ressemblant à une éponge pleine d'érythrocytes (pulpe rouge). La pulpe blanche est subdivisée en périartériolaire lymphatiques (*Peri Arteriolar Lymphatic Sheath* « PALS ») gaines qui pourraient être identifiées comme la région sombre autour de l'artériole central. La rate est recouverte d'une fine capsule externe.

Par contre, l'étude histologique de la rate des souris traitées par le corticoïde « Prednisolone » ou la recette (Fig.19B et 19C) respectivement, a montré une modification structurale traduite par la congestion du tissu, la destruction de la pulpe blanche et l'apoplexie de la pulpe rouge. Notant que ces modifications sont de plus en remarquables dans la rate des souris traitées par la recette (Fig.19C).

Ce résultat peut être expliqué par le fait que les glucocorticoïdes entraînent une activation des endonucléases et la fragmentation de l'ADN aboutissant à l'apoptose cellulaire. Cela est traduit par la diminution du tissu lymphoïde ainsi que le nombre de lymphocytes (Thomasson, 2011).



**Fig.19:** Coupes histologiques de la rate chez les souris témoins et traitées (x4)

A- la rate des souris témoins, B- la rate des souris traitées par le Prednisolone,

C- la rate des souris traitées par la recette (x4)

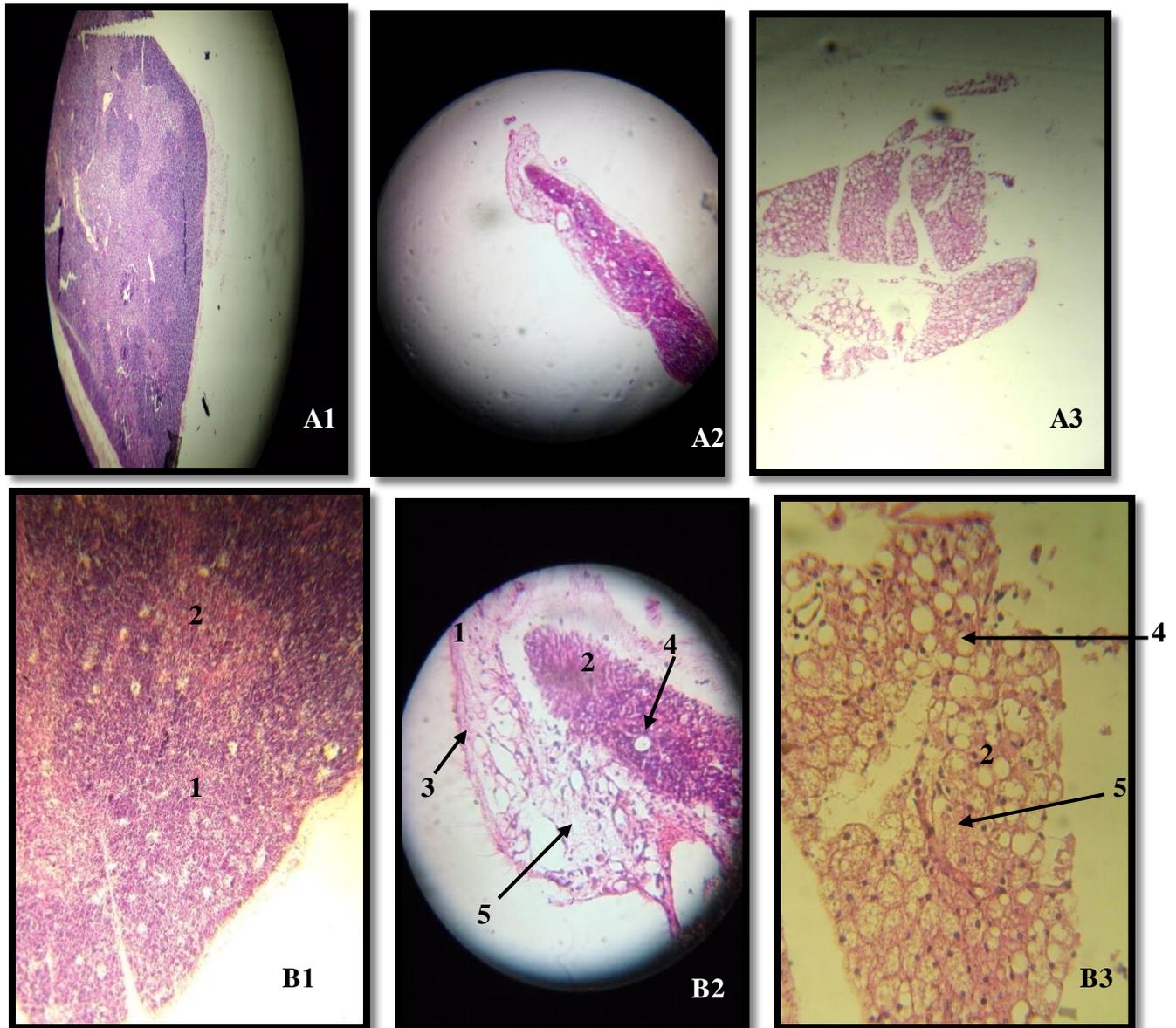
1 : la pulpe blanche

2 : la pulpe rouge

3 : vaisseaux sanguins

## 2.8. L'effet du traitement sur la structure de thymus

Après avoir préparé les coupes histologiques des thymus isolés des souris témoins et des souris traitées, on a passé à l'observation microscopique. L'analyse a révélé chez les témoins, 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 (Fig.20A1, 20B1).



**Fig.20** : Coupe histologique du thymus des souris témoins et traitées

**A1**-Rate des souris témoins, **A2**-Rate traitées par le Prednisolone, **A3**- Rate traitées par la recette(x10)

**B1**-Rate des souris témoins, **B2**- Rate traitées par le Prednisolone, **B3**- Rate traitées par la recette (x40)

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

Contrairement aux témoins, les souris traitées ont subi des changements histologiques au niveau de leur thymus. L'organe s'est 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 (Fig. 20A2, 20B2).

Au niveau médullaire, cette zone est décomposée en petites îles de taille réduite. En outre, des structures kystiques et des lésions cellulaires sont fréquemment observées (Fig. 20A2, 20A3, 20B2 et 20B3).

Ces changements structuraux 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 Junne, 2012), Ce qui explique la destruction massive du cortex par rapport aux médulla chez les traitées par le Prednisolone.

En revanche, chez les souris traitées par la recette, une disparition totale du cortex est remarquée, une présence massive de kystes est enregistrée dans la zone médullaire accompagnée des lésions cellulaires (Fig.20B3). Ce résultat indique que l'effet destructif de la recette est plus important que celui provoqué par le corticoïde « Prednisolone ».

## 2.9. L'effet du traitement sur la moelle osseuse

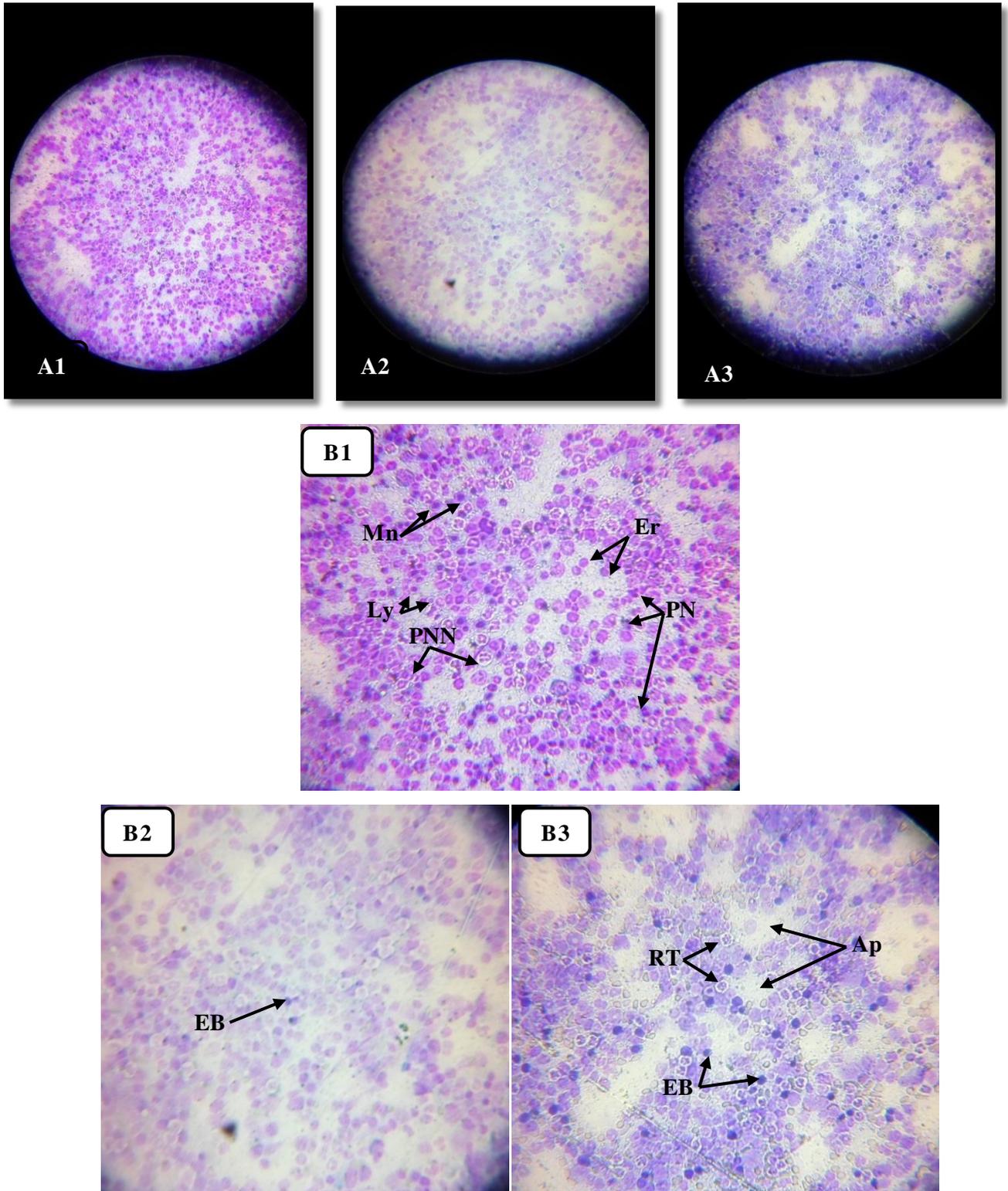
Un prélèvement de moelle osseuse a été effectué à partir des souris témoins et des souris traitées par le glucocorticoïde « Prednisolone » ou par la recette. Puis un frottis a été réalisé en vue d'un examen cytologique. La lecture du frottis a été faite en deux temps.

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

D'après notre observation, on a noté une richesse normale au niveau du frottis de la moelle osseuse issue des souris témoins (Fig. 21A1). Par contre, les frottis des souris traitées apparaissent moins riches (Fig. 21A2, 21A3).

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

Les résultats de notre lecture présentés dans la figure 21B, ont révélé la présence de toutes les populations cellulaires médullaires : polynucléaires, monocytes, lymphocytes, érythrocytes .....ect dans le frottis des souris témoins (Fig. 21B1).



**Fig.21** : frottis de la moelle osseuse

**A1**- souris témoins, **A2**-Souris traitées par le Prednisolone, **A3**-Souris traitées par la recette(x10)  
**B1**-souris témoins, **B2**-Souris traitées par le Prednisolone, **B3**-Souris traitées par la recette (x40)

**Mn** : Monocyte – **Ly** : Lymphocyte – **PNN** : Neutrophile – **Er** :Erythrocyte – **PN** : Polynucléaire –  
**RT** :Réticulocyte – **Ap** : Adipocyte – **EB** : Erythroblaste

En revanche, les frottis des souris traitées apparaissent pauvres en populations cellulaires. Une diminution des polynucléaires notamment les neutrophiles a été notée, idem pour les lymphocytes. Mais le plus marquant est l'augmentation du nombre des cellules appartenant à la lignée érythroblastique tels que les différents érythroblastes et les réticulocytes, notamment dans les frottis de la moelle osseuse issue des souris traitées avec la recette (Fig. 9B3). En outre, la présence d'adipocytes dans la moelle osseuse dévoile un état de dégénérescence.

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

En outre, les glucocorticoïdes entraînent l'accélération de la sortie des neutrophiles du stock médullaire (Thomasson, 2011). Cela explique la diminution des neutrophiles dans la moelle osseuse et leur augmentation dans le sang circulant chez les souris traitées.

Après l'évaluation des différents paramètres immunologiques sous l'effet du traitement par le glucocorticoïde « Prednisolone », on a noté un effet dépressif sur tous les paramètres évalués (le poids des organes lymphoïdes, la formule leucocytaire, la structure histologique des organes et l'observation du frottis de la moelle osseuse). Un effet dépressif plus important a été obtenu après le traitement par la recette « l'engraissement magique (El moussamina el séhria) », cela peut être due à la présence des corticoïdes plus puissants ou en concentrations plus fortes dans la composition de cette recette.

## Conclusion et perspectives

Le recours aux recettes d'utilisation traditionnelle, notamment en esthétique, connaît une demande de plus en plus importante. Malheureusement, les préparations mises sur le marché ne sont pas soumises à un contrôle de qualité, d'autant que certaines d'entre elles peuvent être dangereuses. Leur commercialisation et leur usage doivent faire l'objet d'un contrôle strict et d'une étude scientifique, afin d'éviter leur impact négatif sur la santé humaine.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail s'articule sur l'étude de l'effet d'une recette thérapeutique «l'engraissement magique (El moussamina el séhria)» sur le système immunitaire, en utilisant des souris blanches comme matériel biologique. Et afin d'atteindre notre but, il était nécessaire de mettre en œuvre des techniques utilisées en expérimentation animale (élevage et manipulation des souris), des techniques d'immunologie (isolement des splénocytes, des thymocytes et prélèvement médullaire) ainsi que des techniques histologiques (coupes histologiques de la rate, de thymus et des surrénales).

Les résultats obtenus, suite au traitement par le corticoïde «Prednisolone» ou par la recette «El moussamina el séhria», ont révélé une diminution du nombre de splénocytes et des thymocytes accompagnée par une diminution du poids des organes lymphoïdes relatifs. Idem, pour le taux des lymphocytes et des monocytes circulants. En revanche, une augmentation du nombre des neutrophiles et des hématies a été notée, ainsi que des modifications structurales importantes au niveau de la rate, du thymus et des surrénales ont été observées.

La réalisation des frottis médullaires a appuyé et consolidé ces résultats, par le fait que, les frottis issus des souris traitées apparaissent pauvres en populations cellulaires, notamment, en neutrophiles et en lymphocytes. Mais le plus marquant est l'augmentation du nombre des cellules appartenant à la lignée érythroblastique tels que les différents érythroblastes et les réticulocytes.

Sur la base de nos résultats, nous pourrions confirmer que cette recette exerce un effet dépressif sur le système immunitaire. Cela peut être à la présence des corticoïdes dans la composition de cette préparation.

Enfin, nous sommes persuadés que cette étude mérite d'être poursuivie en se basant sur des techniques immunologiques plus avancées, tout en complétant ce travail par une analyse

détaillée de la composition de cette recette, afin de sortir avec une conclusion forte et fondée scientifiquement. Cela, nous permettra de mettre en garde la population contre l'utilisation non contrôlée de ce genre de produits.

## Références bibliographiques

- **Arnaud P.** (2002): Les différents interférons : Pharmacologie, mécanismes d'action, tolérance et effets secondaires. *La Revue de Médecine Interne*, 23, 449-458.
  
- **Aymeric JL. et Lefranc G.** (2009): Immunologie humaine. De boeck (ed). Bruxelles. Paris. 136 p.
  
- **Bach JF.** (2012): Thérapeutique immunologique. In Immunologie 6<sup>e</sup> édition. Médecine Sciences (ed). Paris. 469 p.
  
- **Bast RC. et Morton DL.** (2000): Immunostimulants. In Cancer medicine. 5 édition. eds Bast RC., *et al.* Decker (ed). Hamilton. 2546p
  
- **Bloemena E., Weinreich S. et Schellekens PTA.** (1990): The influence of prednisolone on the Recirculation of peripheral blood lymphocytes in vivo. *Clinical and Experimental Immunology*, 80(3), 460-466.
  
- **Burmester GR. et Pezzutto A.** (2000) : Atlase De Poche D'Immunologie. Médecine Sciences (ed). Paris. 293p.
  
- **Canivet C.** (2009): Apport du suivi pharmacodynamique des immunosuppresseurs en transplantation d'organes. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier, 114p.
  
- **Chapel H., Haeney M., Misbah S. et Snowden N.** (2004): Immunologie clinique : de la théorie à la pratique, avec cas cliniques. De boeck (ed). Bruxelles. Paris.358p.
  
- **Chatenoud L., Reynaud CA., Ezine S. et André-Schmutz I.** (2012) : Cellules de l'immunité adaptative. In Immunologie 6e édition. Médecine Sciences (ed). Paris. 469 p.
  
- **Chatenoud L., Witko-Sarsat V., Vivier E., Leite De Moraes M., Dragon-Duroy M. et Fremeaux-Bacchi V.** (2012): Immunité innée et immunité adaptative. In Immunologie 6e édition. Médecine Sciences (ed). Paris. 469 p.

- **Chen LY., Lin YL. et Chiang BL.** (2008): Levamisole enhances immune response by affecting the activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 151(1), 174-181.
  
- **Currier NL., Lejtenyi D. et Miller SC.** (2003) : Effect over time of in-vivo administration of the polysaccharide arabinogalactan on immune and hemopoietic cell lineages in murine spleen and bone marrow. *Phytomedicine*, 10, 145-153.
  
- **Delespesse G.** (2012) : Hypersensibilité liée aux immunoglobulines E. In *Immunologie* 6e édition. Médecine Sciences (ed). Paris. 469 p.
  
- **Diby SB., Koné M. et Yapo A.** (2012) : Potentiel pharmacologique des écorces de tige de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) sur la motricité in vitro du duodénum de lapin ; une plante médicinale utilisée dans le traitement traditionnel des troubles digestifs. *Phytothérapie*, 10, 306–312.
  
- **Donatini B.** (2010) : Introduction à la mycothérapie: généralités sur l'intérêt des principaux mycelia. *Phytothérapie*, 8(3), 191–197.
  
- **Donatini B.** (2010) : Le *Coriolus versicolor*: le plus puissant immunostimulant connu. Utilisation en cancérologie, contre les virus et pour toute stimulation immunitaire. *Phytothérapie*, 8(4), 255-258.
  
- **Dorey R.** (2013) : Implication des corticoïdes et de leurs récepteurs hippocampiques dans les effets rapides et différés du stress sur le rappel mnésique. Thèse de doctorat. L'université de Bordeaux 1, 175p.
  
- **Gaudy-Marqueste C.** (2007) : Autres immunosuppresseurs : azathioprine (Imurel®), mycophénolatemofétil (Cellcept®), cyclophosphamide (Endoxan®). *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 134(12), 949-956.
  
- **Ghedira K. et Goetz P.** (2013) : Hydrocotyle : *Centellaasiatica* (L.) Urban (Apiaceae). *Phytothérapie*, 11, 310-315.

- **Goetz P.** (2004) : Les plantes immunostimulantes adjuvantes de la thérapeutique antitumorale. *Phytothérapie*, 2(6), 180-182.
  
- **Gorochov G et Papo T.** (2000) : Immunologie. Doin (ed). Paris. 487p.
  
- **Guilpain P. et Le Jeunne C.** (2012) : Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *La Presse Médicale*, 41(4), 378–383.
  
- **Hellal M.** (2007) : Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg I), 324p.
  
- **Homberg JC.** (2004) : Immunologie Fondamentale. Copyrighted material (ed). Paris. 215p.
  
- **Hristic M., Kalafatic D., Plecas B. et Jov Anovic V.** (1995): The effect of dexamethasone on the adrenal gland in fetal and neonatal rats. *Journal of Experimental Zoology*, 272(4), 281-290.
  
- **Janeway., Murphy., Travers. et Walport.** (2009): immunobiologie 3e édition. De boeck (ed). Bruxelles. Paris.889p.
  
- **Jollin L.** (2011) : Glucocorticoïdes et pratique sportive : Effets sur la prise alimentaire, la composition corporelle et différentes sécrétions hormonales. Thèse de doctorat .Université d'Orléans, 178p.
  
- **Kindt TJ., Goldsby RA. et Osborne BA.** (2007): Immunologie. Le cours de Janis Kuby Avec questions de révision. DUNOD (ed). Paris.684p.
  
- **Kufe D W., Holland JF. et Frei E.** (2003): Physiologic and Pharmacologic Effects of Corticosteroids. In Cancer Medicine, 6<sup>th</sup> edition. eds Kufe W *et al.* BC Decker (ed). Hamilton. 2699p.
  
- **Lam W., Bussom S. et Guan F.** (2010) : Un remède traditionnel chinois adjuvant utile de la chimiothérapie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011(429), 29.

- **Legendre C., Zuber J., Anglicheau D., Le Quintrec M., Martinez F., Mamzer-Bruneel MF. et Thervet E.** (2007) : Immunosuppression en transplantation rénale. *Annales d'urologie*, 41, 276–284.
  
- **Le Jeune C.** (2012) : Pharmacologie des glucocorticoïdes. *La Presse Médicale*, 41(4), 370–377.
  
- **Lesavre P. et Bach JF.** (1980) : Place de l'immunostimulation dans la thérapeutique anti-infectieuse. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 3, 391-409.
  
- **Lévesque H.** (2002) : Les interférons : Des cytokines couramment utilisées en thérapeutique. *La Revue de Médecine Interne*, 23, 447- 448.
  
- **Lupien, SJ., McEwen BS., Gunnar MR. et Heim C.** (2009): Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature review neuroscience*, 10(6), 434-445.
  
- **Male D.** (2005) : Immunologie. Aide mémoire illustré. De boeck (ed). Bruxelles. Paris.141p.
  
- **Male D., Brostoff J., Roth DB. Et Roitt I.** (2007): Immunologie. Elsevier Masson (ed). Paris. 603p.
  
- **Meyer O.** (2009) : Interférons et maladies auto-immunes. *Revue du Rhumatisme*, 76(9), 833–842.
  
- **Miara MD., Ait Hammou M. et Hadjadj Aoul S.** (2013) : Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11 ,1-13.
  
- **Moftaqir-Handaj A.** (1997) : Effet de l'exposition anténatale aux médicaments sur l'activité sympatho adrénergique au cours du développement. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré Nancy 1, 210 p.

- **Morlet B. et Abou-Taam M.** (2009) : Les cytokines du système immunitaire et leurs antagonistes en thérapeutique. *Actualites Pharmaceutiques Hospitalières*, 5(20), 36-48.
  
- **Muster D.** (2005): Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 21-29.
  
- **Parham P.** (2003) : Le système immunitaire. De boeck (ed). Bruxelles. Paris.407p.
  
- **Paul G.** (2004) : Phyto News. *Phytothérapie*. 2(5), 157-161.
  
- **Paul S.et Étienne R.** (2002) : Immunothérapie génique du cancer. *Transfusion clinique et biologique*, 9, 301–321.
  
- **Pebret F.** (2003) : Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Heures de France (ed). Paris. 593p.
  
- **Revillard JP.** (2001) : Immunologie. De boeck (ed). Bruxelles. 593p.
  
- **Sibilia J. et Sordet C.** (2005) : Le rituximab : une biothérapie originale dans les maladies auto-immunes. *La revue de médecine interne*, 26, 485–500.
  
- **Thervet E., Zuber J., Sberro R., Canaud G., Anglicheau D., Snanoudj R., Mamzer-Bruneel MF., Martinez F. et Legendre C.** (2011) : Traitements immunosuppresseurs : mécanismes d'action et utilisation clinique. *Néphrologie et Thérapeutique*, 7, 566–581.
  
- **Thomasson R.** (2011) : Effets ergogéniques, métaboliques et hormonaux des glucocorticoïdes chez l'homme et l'animal. Thèse de Doctorat.L'Université d'Orléans, 226p.
  
- **Toussirot E. et Pertuiset E** : (2010) : Agents anti-TNF $\alpha$  et sarcoïdose. *La Revue de médecine interne*, 31, 828–837.
  
- **Vigan M.** (2012): Progrès en dermato-allergologie : Besançon 2012. John Libbey Eurotext (ed). Paris. 373p.

## Webographie

- [1]- Yazid F. (2010) : La phytothérapie prend de l'ampleur.  
<http://www.djazairiess.com/fr/lemaghreb/25065>. (Consulter le 28 /04/2014).
- [2]- Anonyme. (2005) : l'hématopoïèse.  
<http://enfermeirojr.zip.net/>. (Consulter le 15 /03/2014).
- [3]- Anonyme. Les organes lymphoïdes.  
[http://jeanvilarsciences.free.fr/?page\\_id=673](http://jeanvilarsciences.free.fr/?page_id=673). (Consulter le 15 /03/2014).
- [4]- Anonyme. Les anticorps.  
<http://www.kartable.fr/terminale-s/svt/1045/cours/l-immunite-adaptative,TS07048>. (Consulter le 15 /03/2014).
- [5]- Anonyme. La réponse immunitaire innée et adaptative  
<http://www.directrss.co.il/TextPage.aspx?id=10642427>. (Consulter le 15 /03/2014).
- [6]Anonyme. (2013) : immunostimulants.  
<http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q =immunostimulant>. (Consulter le 06 /04/2014).
- [7] - Anonyme. Produits immunomodulateurs.  
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/POLY.Chp.20.3.3.html>. (Consulter le 15 /04/2014).
- [8]- Sailer L. Corticoïdes Immunomodulateurs Immunosuppresseurs.  
[www.medecine.ups-tlse.fr/dcem1/.../immunosuppression](http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem1/.../immunosuppression) pr Sailer. Pdf. (Consulter le 29/03/2014).
- [9]- Anonyme. Les immunosuppresseurs.  
[www.pharmaetudes.com/ressources/./38-Immunosuppresseurs.pdf](http://www.pharmaetudes.com/ressources/./38-Immunosuppresseurs.pdf). (Consulter le 06/04/2014).
- [10]- Anonyme. Actualités thérapeutiques traitements effets secondaires des traitements.  
[http://www.aflar.org/IMG/pdf/suite\\_livre\\_congres\\_deauville.pdf](http://www.aflar.org/IMG/pdf/suite_livre_congres_deauville.pdf). (Consulter le 10/04/2014).

[11]- Anonyme...(2013) : Cyclophosphamide.

<http://www.vidal.fr/substanc.es/1145/cyclophosphamide/>. (Consulter le 01/05/2014).

[12]- Anonyme. Corticostéroïdes.

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/corticoides.html>. (Consulter le 21/04/2014).

[13]- Sainsard-Chanet A. Base de la génétique de la souris.

[www.cgm.cnrs-gif.fr/IMG/pdf/cours\\_asc\\_m1\\_souris.pdf](http://www.cgm.cnrs-gif.fr/IMG/pdf/cours_asc_m1_souris.pdf). (Consulter le 10/05/2014).

[14]- Anonyme. (2011) : Crème de clotrimazole et de dipropionate de bétaméthasone.

[www.merck.ca/assets/fr/pdf/products/Lotriderm-PM](http://www.merck.ca/assets/fr/pdf/products/Lotriderm-PM) . (Consulter le 5/05/ 2014).

[15]- Bennani A., El Harti K. et El Wady W. Prise en charge odontologique des patients sous corticothérapie. [http://www.fndrabat.ac.ma/wjd/V6\\_N2/article\\_bennani.htm](http://www.fndrabat.ac.ma/wjd/V6_N2/article_bennani.htm). (Consulter le 15/05/2014).

[16]- Anonyme. Le cortisol ou hydro-cortisone est une hormone ... – Greffe.

[www.transplantation-medicale.wikibis.com/cortisol.php](http://www.transplantation-medicale.wikibis.com/cortisol.php). (Consulter le 15/05/2014).

## Annexe

Nom de la solution	composition	Quantité des réactifs
<b>Phosphate Buffer Saline ou PBS (10Mm) pH 7,4</b>	Na Cl	9 g
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.09 g
	Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.32 g
	Eau distillée	1000 ml
<b>Solution de lyse</b>	NH <sub>4</sub> Cl	0.83 g
	Eau distillée	100 ml
<b>Tampon phosphaté pH7 (AV)</b>	Phosphate monopotassique	1 g
	Phosphate disodique	5 g
	Eau distillée	5000 ml
<b>Eau tamponnée</b>	Tampon phosphaté	30 ml
	Eau distillée	570 ml
<b>Giemsa dilué</b>	Giemsa-R	84 ml
	Eau tamponnée	516 ml
<b>Bleu de trypan</b>	Bleu de trypan	0.2 g
	Eau distillé	100 ml
<b>Formaldéhyde 10%</b>	Formaldéhyde 34%	147 ml
	Eau distillée	353 ml

## Résumé

L'engraissement magique (El moussamina el séhria) est une des recettes les plus vendues en Algérie. Elle est très utilisée par les jeunes filles voulant prendre du poids. Malheureusement ce type de préparations n'est pas soumis à de contrôle de qualité.

Pour évaluer l'impact de cette recette sur la santé, il nous a semblé utile d'étudier son effet sur le système immunitaire. A cet effet, une dose de 448 mg/Kg du poids corporel des souris a été administrée par voie orale.

Les résultats obtenus après 20 jours de traitement, ont révélé une diminution du nombre de splénocytes, des thymocytes, des lymphocytes et des monocytes, idem pour le poids des organes lymphoïdes (rate et thymus) et le poids des surrénales. En revanche une augmentation du taux des neutrophiles et des hématies, ainsi que des modifications histologiques de la rate, du thymus et des surrénales ont été notées.

Ces résultats nous ont conduits à penser que cette recette peut comprendre des glucocorticoïdes parmi ses ingrédients, ce qui explique son effet dépressif sur le système immunitaire.

**Mots clés :** « El moussamina el séhria », glucocorticoïdes, immunosuppresseurs, système immunitaire.

## **Abstract**

Magic fattening (El moussamina el séhria) is one of the most sold recipes in Algeria, it is widely used by young girls wanting to gain weight. Unfortunately this type of preparations is not subjected to quality control.

To assess the impact of this recipe on health, it appears useful to study its effect on the immune system. For this purpose, a dose of mg / kg body weight of the mice was orally administered.

The results obtained after 20 days of treatment, showed a decrease in the number of splenocytes, thymocytes, lymphocytes and monocytes, idem, for the weight of lymphoid organs (spleen and thymus) and adrenal glands. On the other hand, an increase in the rates of neutrophils and erythrocytes, as well as histological changes for each of the spleen, thymus and adrenals were recorded.

These results led us to think that this recipe may include glucocorticoids among its ingredients, which explains its depressive effect on the immune system.

**Key words:** "El moussamina el séhria", glucocorticoids, immunosuppressors, the immune system.

## المخلص

تعتبر المسمنة السحرية في من الخلطات الأكثر بيعا بالجزائر، فهي تستخدم على نطاق واسع من قبل الفتيات الراغبات في اكتساب الوزن. لكن وللأسف، لا يخضع هذا النوع من الخلطات لمراقبة الجودة.

لذا ولتقييم آثار هذه الوصفة على الصحة، كان من الضروري دراسة تأثيرها على الجهاز المناعي. من أجل ذلك، عوملت الفئران بجرعة 488 ملغ / كغ من وزن الجسم.

وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها بعد 20 يوما من المعاملة، انخفاضاً في عدد الخلايا الطحالية، خلايا الغدة السعترية، وحييدات النوى و الخلايا اللمفاوية. كما لوحظ انخفاض في وزن الأعضاء اللمفاوية ( الطحال و الغدة السعترية ) وكذا وزن الغدة الكظرية. بالمقابل سجلت زيادة في معدل الخلايا المتعادلة و كريات الدم الحمراء إلى جانب التغيرات النسيجية لكل من الطحال، الغدة السعترية و الغدد الكظرية.

أدت هذه النتائج إلى الاعتقاد بأن المسمنة السحرية تضم بين مكوناتها الاستيروئيدات السكرية وهذا ما يفسر تأثيرها المثبط للجهاز المناعي.

**الكلمات المفاتيح:** المسمنة السحرية، الجهاز المناعي، المثبطات المناعية، الاستيروئيدات السكرية.