



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animal: بيولوجيا الحيوان قسم

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de l'activité immunostimulante de l'extrait aqueux de *Punica granatum* sur le système phagocytaire chez la souris

Présenté par : Boulahlib Ikram

Le : 21/06/2025

Rebouh Amira

Bouadjel Djihane

Jury d'évaluation :

Président : Dr. TEBANI Fethi (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr. TARTOUGA Maya Abir (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : Mme. MECHATI Chahinez (MAA- U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024 - 2025**

Dédicace

À mon père

Exemple de sagesse et de force, tu as été pour moi un guide et un pilier. Merci pour ta présence, ton soutien et ta confiance inébranlable. Que Dieu te préserve et te récompense pour tout ce que tu fais.

À ma mère

Source infinie de tendresse, de patience et de prières. Tu as toujours été mon refuge dans les moments difficiles. Aucune parole ne saurait exprimer ma reconnaissance. Que Dieu te protège, te comble de santé et t'accorde une longue vie.

À mon seul frère Achraf

Par ton soutien silencieux et ta présence rassurante, tu as toujours été à mes côtés. Merci d'être ce frère sur qui l'on peut toujours compter. Que Dieu te protège et t'accorde réussite et bonheur.

À l'âme de mon grand-père, qu'Allah lui fasse miséricorde

Tu restes vivant dans nos cœurs malgré ton absence. Que Dieu t'accorde le repos éternel et t'ouvre les portes de Son paradis. Tes prières, ton amour et ton souvenir m'accompagnent encore chaque jour.

À mon binôme Ikram et Amira

Merci pour ta gentillesse et ton soutien constant. Que Dieu remplisse ta vie de bonheur et de réussite.

À ma cousine Aida

Plus qu'une cousine, une sœur de cœur. Ton soutien sincère, ton énergie et ton affection m'ont toujours touchée. Que Dieu te bénisse et réalise tous tes rêves.

À ma famille

Merci pour votre amour, votre soutien et vos prières qui m'ont toujours portée.

À mes chères amies

Merci pour votre gentillesse et votre soutien constant. Que Dieu vous accorde bonheur et réussite.

Djihane

Dédicace

Louange à Dieu, le Seigneur des mondes, et merci pour Ses bénédictions et Sa grâce.

À ma chère famille,

À ma mère, qui a toujours été la lumière illuminant mon chemin, et qui n'a jamais épargné d'efforts pour offrir soutien et soins. C'est toi qui m'as appris la signification de l'amour et du sacrifice. Je t'élève mes plus sincères remerciements et ma gratitude, car tu es la clé de mon succès.

À mon père, qui a été pour moi un modèle et un exemple à suivre, et qui m'a appris à affronter les défis avec courage et détermination. Merci pour chaque mot d'encouragement et chaque moment passé avec toi qui a été une leçon de vie.

À mes chers sœurs: yousra, Samah et feriel qui ont été mes compagnons de route et m'ont soutenu à chaque étape. Je tiens à mentionner spécialement ma cousine Douâa, que je considère comme ma sœur, et qui a toujours été à mes côtés dans tous les moments. Merci à vous tous pour les rires et les moments joyeux que nous avons passés ensemble, vous êtes la raison de mon bonheur et de ma force.

*À mes chers collègues,
Ikram et djihane*

Qui ont partagé avec moi ce parcours académique, et qui ont été de précieux compagnons à chaque étape de la rédaction de ce mémoire. Merci pour votre collaboration et votre soutien, ainsi que pour les moments passés ensemble qui ont contribué à notre succès commun.

À mes chers professeurs,

À ceux qui ont semé en moi l'amour du savoir et de la connaissance, à ceux qui m'ont offert leur soutien et leur inspiration, et qui m'ont donné de leur temps et de leurs efforts. Vous avez été mes guides tout au long de mon parcours académique, et je vous suis reconnaissant pour tout ce que vous m'avez apporté.

Ce mémoire est le fruit de vos efforts à tous, et je vous le dédie en signe de ma profonde gratitude.

Avec tout mon amour et mon respect,

Dédicace

Louange à Allah, louange abondante, bonne et bénie, pour Ses innombrables bienfaits et Son aide inestimable. C'est à Lui que j'adresse ma sincère gratitude et ma reconnaissance, car Il est le soutien et l'aide à chaque pas.

À ceux dont les mots ne peuvent décrire la place, par la piété et l'obéissance desquels les portes de la science et de la connaissance se sont ouvertes, et dont les prières ont été ma lumière sur mon chemin, mes chers parents Je vous dédie la résultat de mes efforts, espérant avoir rendu une infime partie de votre immense générosité.

À ceux qui ont partagé ma vie, dans ses joies et ses peines, et m'ont soutenu en tout temps, mes sœurs Je vous offre tout mon amour et ma gratitude, et merci pour votre présence constante.

Et à moi-même, qui ai résisté, tenu bon, et surmonté les difficultés. À chaque instant de fatigue et de veille, à chaque goutte de sueur versée. À la volonté qui n'a pas fléchi, et à la détermination qui n'a pas cédé. Merci à toi, mon moi, pour ce parcours exigeant qui a abouti au succès, et pour tout ce que tu as appris et acquis.

À ceux qui ont consacré leur vie à la science et à la connaissance, et qui ont éclairé nos chemins par la lumière de leur esprit et l'étendue de leur savoir, mes honorables professeurs Je vous adresse mes sincères remerciements, ma gratitude et ma reconnaissance, car cet effort n'est qu'une goutte dans l'océan de votre générosité.

Et à ceux qui ont partagé avec moi ce voyage scientifique, qui ont partagé les moments de recherche et de réflexion, et qui ont supporté avec moi les difficultés de cet achèvement, mes partenaires dans la préparation de ce mémoire. Je vous remercie sincèrement pour votre collaboration et votre soutien qui ont eu un impact considérable sur l'achèvement de ce travail.

Ô Allah, fais de ce travail une œuvre sincère pour Ta noble face, et fais qu'il soit dans la balance de nos bonnes actions à tous.

Remerciement

*D'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la
patience, la*

volonté et la force nécessaires pour terminer ce travail.

*Ensuite, Nous tenons à remercier notre encadrant «Dr.M.TARTOUGA» pour
sa disponibilité et ses conseils.*

*Nous tenons aussi à remercier l'ensemble des membres du jury : Dr . TEBANI et
Mlle . MECHATI qui nous ont fait
honneur en acceptant d'évaluer notre travail.*

*Nous remercions également Dr .ARIBI , Dr .MESSAOUDI et Dr . MOKHTARI pour
leur soutien et
leur encouragement tout au long de ce travail.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à réaliser
ce travail*

Table des matière :

Dédicace.....	2
Dédicace	3
Remerciement	5
Liste des abréviations	10
Liste des figures	13
Figure 1	13
6	13
Figure 2	13
8	13
Figure 3	13
Présentation de (<i>Punica granatum L.</i>).....	13
21	13
Figure 4	13
Les feuilles du grenadier (<i>Punica granatum L.</i>).....	13
22	13
Figure 5	13
Les fleurs du grenadier (<i>Punica granatum L.</i>).....	13
23	13
Figure 6	13
Les fruits et les graines de <i>Punica granatum L.</i>	13
24	13
Figure 7	13
L'écorce du grenadier.....	13
25	13
Figure 8	13
(A) L'écorce de grenadier(<i>punicagranatum</i>) (B) L'extrait aqueux.....	13
32	13
Figure 9	13
Sélection des souris.....	13
32	13
Figure 10	13
34	13
Figure 11	13

A) : Injection du carbone , (B) : Prélèvement sanguin au niveau des sinus rétro-orbitaires , (C) : Mesure de l'absorbance par spectrophotomètre, (D) : la Mesure du poids frais du foie et de la rate.....	13
35.....	13
Figure 12.....	13
Effet de l'extrait aqueux d'écorce de <i>Punica granatum</i> (EAP) sur l'activité immunostimulante, comparé au groupe témoin et au standard Benzylselenocyanate (BSC)	13
38.....	13
Liste des tableaux.....	14
Tableau 1.....	14
14.....	14
Tableau 02.....	14
15.....	14
Tableau 03.....	14
Traitement des souris.....	14
34.....	14
INTRODUCTION.....	1
CHAPTIRE 01 : Le système phagocytaire mononucléaire.....	3
1. Définition.....	3
2. La composition du système mononuclée phagocytaire.....	3
2.1.Les Monocytes.....	4
2.2. Les Macrophages.....	4
2.3. Les Cellules dendritiques.....	4
3. Mécanisme de la réponse immunitaire impliquant le SMP.....	5
3.1. La reconnaissance de l'antigène par les cellules du SMP.....	5
3.2. Le mécanisme de la phagocytose.....	5
3.4. La coordination des réponses immunitaires.....	7
4. Dysfonctionnement de SMP.....	8
5. Maladies associées aux dysfonctionnements du SMP.....	9
5.1. Immunodéficience primaire.....	9
5.2.Maladies auto-immunes.....	10
5.2.1.Lupus Érythémateux Systémique.....	11
5.2.2. Sclérodermie systémique (SSC).....	11
5.2.3. Diabète de Type 1.....	12
6.Immunomodulation du système immunitaire.....	13
6.1. Types d'immunomodulateurs.....	14

6.1.1. Immunomodulateurs naturels.....	14
6.1.2. Immunomodulateur synthétiques et pharmacologiques.....	15
6.2. Modes d'action principaux des immunomodulateurs.....	16
6.2.1. Inibition.....	16
6.2.2. Activation.....	17
CHAPITRE 02 : Grenadier	19
(<i>Punica granatum</i>)	19
1. Historique	19
2. Différente nomenclature	19
Le <i>P. granatum</i> était connu sous le nom de « rimmon » dans l'ancien sémitique et de « rumman » parmi les Arabes. Les termes portugais « romma » et « rumman » dérivent du même mot. Les premiers Romains l'appelaient « malum punicum », qui signifie « pomme punique » ou « carthaginoise », puis le nom a été remplacé par « granatum ». Le nom botanique actuel de ces deux mots, « <i>Punicum</i> » et « <i>Granatum</i> », est « <i>Punica granatum</i> ». Le fruit est connu sous le nom de « grenade » dans tous les pays où l'espagnol est la langue maternelle, le nom le plus courant de fruit est « anar » (Evreinoff, 1949).....	19
Selon les différentes langues parlées dans chaque pays, la dénomination du grenadier (<i>P. granatum</i> L.) peut varier d'un endroit à l'autre :.....	19
3. Classification Botanique	20
4. Description botanique	20
4.1. Feuilles.....	22
4.2. Les Fleurs.....	22
4.3. Les fruits.....	23
Figure 6. Les fruits et les graines de <i>Punica granatum</i> (Calin et al., 2005).....	24
4.3.1. L'écorce.....	24
4.3.2. Les Graines.....	25
4.3.3. La baie.....	25
5. Origine géographique	26
6. La composition phytochimique	26
6.1. Alcaloïdes.....	27
6.2. Anthocyanes.....	27
6.3. Tanins.....	27
6.4. Flavonoïdes.....	27
6.5. Composés phénoliques.....	27
6.6. Proanthocyanidines.....	27
6.7. Stérols.....	27
6.8. Terpènes et terpénoïdes.....	27
6.9. Xanthonoïdes.....	28

6.10. Acides gras et acides organiques.....	28
6.11. Lignanes.....	28
7. Les effets thérapeutiques de la Grenade.....	28
7.1. Effet anti-inflammatoire.....	28
7.2. Effet antioxydant.....	28
7.3. Effet antibactérien et antifongique.....	29
7.4. Effet antiviral et anti-COVID-19.....	29
7.5. Effet anticancéreux.....	30
7.6. Effet antidiabétiques.....	30
7.7. Effet neuroprotecteur.....	31
MATERIELS ET METHODES.....	32
1. Matériels.....	32
1.1. Matériel végétal.....	32
1.2. Matériel animal.....	32
2. Méthodes.....	33
2.1. Méthode de clairance du carbone.....	33
2.2. Analyse statistique.....	37
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	38
1. RÉSULTATS.....	38
2. DISCUSSION.....	39
Conclusion Et Perspectives.....	41
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	42
Résumé.....	48

Liste des abréviations

3CL: 3C-like protease

5FU: 5-Fluorouracile.

Ac : Anticorps.

ACE2: Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

Acm: Anticorps monoclonal

ADN: Acide Désoxyribonucléique

APG II: Angiosperms Phylogeny Group

ARN: Acide Ribonucléique

ARNm: Acide Ribonucléique Messenger

Bax: Bcl-2-associated X protein

Bcl-2: B-cell lymphoma 2

BSC: Benzylselenocyanate

CCL18: Chimiotique ligand du motif C-C 18

CCL2: Chimiotique ligand du motif C-C 2

CD 28/80/86: Cluster de différentiation 28/80/86

CD: cellule dendritique

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité

COVID-19: Coronavirus Disease 2019

COX-2: Cyclooxygenase-2

CPA: Cellule présentatrice d'antigène

CXCL13: Chemotique ligand du motif C-X-C 13

CXCL8: Chemotique ligand du motif C-X-C 8

DT1: Diabète de Type 1

EGFR: Epithelial Growth Factor Receptor

gp91phox: Glycoprotéine 91 phox

HER (2/3/4): Human Epidermal Growth Factor Receptor (2/ 3/ 4)

ICAM-1: Molécule d'adhésion intercellulaire 1

IFN: Interféron

IFNGR1: Interferon Gamma Receptor 1

IL-12p40: Sous-unité p40 de l'interleukine 12

IL-12R beta1: Interleukin-12 Récepteur bêta 1

LES: Lupus Érythémateux Systémique

LFA-1: Antigène 1 associé à la fonction lymphocytaire

MAPK: Protéine kinase activée par les mitogènes

MGC: Maladie granulomateuse chronique

Mo: Monocytes

MTX: Méthotrexate.

Mφ: Macrophages

NADPH: Nicotin amide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène

NF-κB: Facteur nucléaire kappa B

P.granatum: *Punica granatum*

PAMP: Motifs moléculaires associés aux pathogènes

PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase

PON2: Paraoxonase 2

PRR: Récepteurs de reconnaissance de motifs

RES: système réticulo-endothélial

ROS: Espèces réactives de l'oxygène

SMP: système mononucléé phagocytaire

SRAS-CoV-2: Syndrome Respiratoire Aigu Sévère Coronavirus 2

SSC: Sclérodémie Systémique

TCR: Récepteur des cellules T

TGF- β : Transforming Growth Factor-beta

Th: T helper

TLR: Recepteur Toll-like

TNF: Facteur de nécrose tumorale

Treg: Lymphocytes T régulateurs

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

Liste des figures

Figure 1	La phagocytose.....	6
Figure 2	La réponse immunitaire impliquant le SMP.....	8
Figure 3	Présentation de (<i>Punica granatum L.</i>).....	2
		1
Figure 4	Les feuilles du grenadier (<i>Punica granatum L.</i>).....	2
		2
Figure 5	Les fleurs du grenadier (<i>Punica granatum L.</i>).....	2
		3
Figure 6	Les fruits et les graines de <i>Punica granatum L.</i>	2
		4
Figure 7	L'écorce du grenadier.....	2
		5
Figure 8	(A) L'écorce de grenadier(<i>punicagranatum</i>) (B) L'extrait aqueux.....	3
		2
Figure 9	Sélection des souris.....	3
		2
Figure 10	Répartition des souris dans les différents lots.....	3
		4
Figure 11	A) : Injection du carbone , (B) : Prélèvement sanguin au niveau des sinus rétro-orbitaires , (C) : Mesure de l'absorbance par spectrophotomètre, (D) : la Mesure du poids frais du foie et de la rate.....	3 5

Figure 12	Effet de l'extrait aqueux d'écorce de <i>Punica granatum</i> (EAP) sur l'activité immunostimulante, comparé au groupe témoin et au standard	3
	Benzylselenocyanate (BSC)	8

Liste des tableaux

Tableau 1	Quelques exemples des plantes à activité immunostimulante et à activité	1
	immunosuppressive.....	4
Tableau 02	Quelques exemples des immunomodulateurs d'origine animales.....	1
		5
Tableau 03	Traitement des souris.....	3
		4

Introduction

INTRODUCTION

L'immunité innée représente la première barrière de protection de l'organisme face aux infections causées par des virus et des bactéries. À l'opposé de l'immunité adaptative qui prend du temps pour identifier et cibler un pathogène précis, l'immunité innée propose une réaction instantanée et globale. Elle s'appuie sur des barrières physiques, des cellules immunitaires spécialisées (neutrophiles, macrophages, cellules Natural Killer) et des protéines solubles telles que les cytokines et le système du complément. Ces éléments agissent de façon prompte et coordonnée pour contenir la dissémination des agents infectieux (Yannick, 2025).

Les macrophages sont des cellules immunitaires essentielles, présentes dans tous les tissus. Elles se distinguent par leur grande taille et leur appareil vacuolaire développé. Leurs fonctions sont multiples et vitales : la présentation antigénique, maintiennent l'équilibre tissulaire en éliminant les cellules vieillissantes, et jouent un rôle clé dans le métabolisme du glucose, des lipides, des acides aminés et du fer (Foucher, 2015). De plus, les macrophages participent activement au remodelage et à la réparation des tissus endommagés, et régulent l'inflammation.

Ils contribuent également à la barrière hémato-intestinale, à la fonction musculaire, à la pérennité neuronale, au contrôle des cellules souches épithéliales, à la guérison des plaies et à la tolérance immunitaire, ils possèdent une capacité sécrétoire variée, produisant des facteurs du complément, des cytokines, des facteurs hématopoïétiques, des prostaglandines et des radicaux libres (Biscu *et al.*, 2024).

Les macrophages assurent la protection de l'organisme contre les microbes grâce à la phagocytose (Foucher, 2015). La phagocytose représente une défense cruciale contre les infections provoquées par des agents pathogènes au sein de l'immunité innée, servant de passerelle entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Ce mécanisme engage les phagocytes, notamment les macrophages, les neutrophiles et les monocytes, à englober et à éliminer les agents pathogènes envahissants, ainsi que les particules étrangères et les débris cellulaires (Sharma *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2019).

Compte tenu du rôle central des macrophages dans la défense immunitaire, il est crucial de rechercher des composés naturels susceptibles de renforcer cette réponse. Dans ce contexte, médicinales.

Le grenadier (*Punica granatum*), originaire du Moyen-Orient et appartenant à la famille des Punicacées, est une plante reconnue pour les nombreuses propriétés bénéfiques de ses fruits et de son écorce. Le fruit est une source riche en fibres alimentaires, en polysaccharides, en vitamines, en acides gras, en minéraux et en divers composés bioactifs (Cordiano *et al.*, 2024).

L'écorce de grenade, qui représente environ la moitié du poids du fruit, est particulièrement concentrée en polyphénols. Parmi ceux-ci, on trouve des tanins (notamment la punicalagine), des flavonoïdes (comme les anthocyanidines) et des acides phénoliques (tels que les acides gallique et ellagique). Cette richesse en composés bioactifs confère à l'écorce des propriétés pharmacologiques remarquables, incluant des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antiprolifératives, antimicrobiennes, antihypertensives, antilipidémiques et antidiabétiques. De plus, elle a démontré une capacité à moduler la réponse immunitaire (Azmat *et al.*, 2024; Cordiano *et al.*, 2024).

Traditionnellement, l'écorce de grenade est utilisée pour traiter divers problèmes de santé, notamment les troubles gastro-intestinaux, les ulcères, la diarrhée, les inflammations et les aphtes buccaux, ainsi que certaines maladies parasitaires (Maphetu *et al.*, 2022).

Dans ce contexte, cette étude se propose d'évaluer l'effet immunomodulateur de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* sur le système phagocytaire chez la souris, en réponse à une immunodépression induite par l'encre de Chine, un agent utilisé expérimentalement pour simuler une surcharge particulière affectant le système réticulo-endothélial.

CHAPTIRE 01 : Le système phagocytaire mononucléaire

1. Définition

Le terme « système phagocytaire mononucléaire » (SMP) a été introduit par van Furth à la fin des années 1960 et au début des années 1970 (**Yang et al., 2018**), et il est défini comme une famille de cellules différenciées provenant d'un progéniteur commun issu de la moelle osseuse. Le système phagocytaire mononucléaire auparavant désigné sous le nom de système réticulo-endothélial (RES) (**Zelepukin et al., 2024**),

Le SMP constitue une composante essentielle de la première ligne de défense immunitaire contre une variété d'agents infectieux (**Bohmwald et al., 2017**). Il se compose de trois types de cellules majeures : les monocytes (Mo), les macrophages (MΦ) et les cellules dendritiques (CD).

Ces cellules présentent des propriétés morphologiques et fonctionnelles similaires, notamment la forme en étoile et une capacité d'endocytose.

Elles montrent une hétérogénéité de marqueurs de surface cellulaire, variant selon le type de tissu dans lequel elles se trouvent (**Bohmwald et al., 2017**).

Ces cellules, dans leur ensemble, ont une importance capitale pour le développement des tissus, l'équilibre homéostatique, la réponse inflammatoire et la défense immunitaire innée contre les agents infectieux (**Yang et al., 2018**).

Le système phagocytaire mononucléaire chez l'humain est composé de cellules dendritiques, de monocytes et de macrophages, l'ensemble de ces cellules forment une population variée de cellules mononucléaires qui se spécialisent dans le traitement et la présentation des antigènes, jouant un rôle crucial dans l'initiation et la régulation des réponses immunitaires (**Haniffa et al., 2015**).

2. La composition du système mononucléé phagocytaire

Le système phagocytaire mononucléaire chez l'humain est composé de cellules dendritiques (CD), de monocytes et de macrophages. L'ensemble de ces cellules forment une population variée de cellules mononucléaires qui se spécialisent dans le traitement et la présentation des antigènes, jouant un rôle crucial dans l'initiation et la régulation des réponses immunitaires (**Haniffa et al., 2015**).

2.1. Les Monocytes

Les monocytes constituent environ 5 à 10 % de l'ensemble des leucocytes présents dans le sang périphérique (**Silva et al., 2018**). Ils sont d'origine médullaire et dérivent d'un progéniteur myéloïde commun, partagé avec les granulocytes et les macrophages.

Il a été rapporté que, dans la moelle osseuse, le précurseur monocyttaire le plus précoce nécessite deux à trois générations pour se développer en un monocyte mature, capable d'être libéré dans le sang périphérique. Une fois dans la circulation sanguine, ces cellules circulent pendant plusieurs jours avant d'entrer dans les tissus pour reconstituer les populations de macrophages tissulaires (**Bohmwald et al., 2017**).

2.2. Les Macrophages

Les macrophages sont des cellules phagocytaires différenciées à partir des monocytes, présentes dans les tissus. Ils possèdent un noyau excentrique, souvent en forme de rein ou d'ellipse, et un cytoplasme abondant, irrégulier et granulaire. Ce dernier contient de nombreuses granulations azurophiles et peut présenter des vacuoles ou du matériel phagocyté, comme des débris cellulaires ou des agents pathogènes (**Silva et al., 2018**).

Ces cellules sont présentes dans la majorité des tissus de l'organisme, où elles assurent des fonctions clés de surveillance immunitaire, d'élimination des débris cellulaires et de défense contre les agents pathogènes. Elles occupent une place centrale dans l'immunité innée, en éliminant les microorganismes par phagocytose et en modulant la réponse inflammatoire par la sécrétion de médiateurs immunitaires (**Silva et al., 2018**).

2.3. Les Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes spécialisées, de taille variable généralement comprise entre 15 et 30 micromètres. Elles possèdent un noyau excentré, souvent en forme de haricot ou légèrement lobé, et un cytoplasme abondant riche en prolongements fins et ramifiés appelés dendrites, qui augmentent leur surface de contact. Les cellules dendritiques dérivent de progéniteurs myéloïdes ou lymphoïdes dans la moelle osseuse, puis migrent vers les tissus périphériques où elles résident en tant que sentinelles immunitaires (**Silva et al., 2018**).

Les cellules dendritiques jouent un rôle central dans l'immunité en capturant, traitant et présentant les antigènes aux lymphocytes T, initiant ainsi la réponse immunitaire adaptative (**Silva et al., 2018**).

3. Mécanisme de la réponse immunitaire impliquant le SMP

Les organismes sont constamment exposés à des micro-organismes et doivent donc identifier les pathogènes de manière efficace et rapide. Le système immunitaire inné, qui repose sur des cellules aux fonctions spécialisées, est crucial en tant que sentinelle pour détecter et éliminer les pathogènes, tout en transmettant les informations immunologiques au système immunitaire adaptatif (Jeannin *et al.*, 2010).

3.1. La reconnaissance de l'antigène par les cellules du SMP

Cette phase de reconnaissance implique les récepteurs de l'immunité innée, appelés PRR (récepteurs de reconnaissance de motifs). Ces récepteurs identifient les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs), qui sont des signatures moléculaires caractéristiques des micro-organismes. Concernant les PRR, on distingue trois catégories : les PRR solubles, également appelés opsonines, ainsi que deux types de récepteurs cellulaires, à savoir les récepteurs d'endocytose et les récepteurs de signalisation. Les opsonines se lient aux micro-organismes, ce qui facilite leur destruction par les cellules phagocytaires ; parmi elles figurent les facteurs du complément et les molécules appartenant à la famille des pentraxines. Les molécules de phase aiguë de l'inflammation, ainsi que les récepteurs d'endocytose membranaires, jouent un rôle crucial dans la détection et l'internalisation des micro-organismes. Parmi ces récepteurs, on trouve la famille des récepteurs scavenger et les lectines de type C, qui sont exprimés de manière sélective par les cellules ayant une forte capacité d'endocytose, telles que les monocytes et les macrophages. Les récepteurs de signalisation jouent un rôle crucial dans l'activation des cellules ayant été en contact avec un micro-organisme. Ils font partie des familles de molécules récepteur toll-like (TLR), Nucleotide-binding Oligomerization Domain proteins (NOD) et hélicases. Ces molécules peuvent se trouver soit à la surface des cellules (comme les TLR1, 2, 4, 6), soit dans les endosomes/lysosomes (TLR3, 7, 8, 9), ou encore dans le cytosol (NOD et hélicases).

Parmi les divers types de PRR, les molécules d'activation TLR occupent une place essentielle dans l'activation des cellules de l'immunité innée et servent de points d'interaction moléculaire entre l'immunité innée et l'immunité adaptative (Delneste *et al.*, 2007).

3.2. Le mécanisme de la phagocytose

Lorsque les récepteurs phagocytaires se lient à une particule, ils déclenchent des voies de signalisation qui entraînent le remodelage du cytosquelette d'actine et des lipides de la membrane. Cela provoque une extension de la membrane pour englober la particule. Par la suite, la membrane se referme à son extrémité distale, formant ainsi le phagosome, dans lequel la particule est internalisée.

Au cours de l'extension de la membrane, les récepteurs phagocytaires se lient à la cible de manière séquentielle, facilitant ainsi la formation complète du phagosome. Par la suite, ce phagosome précoce subit une série d'événements de fusion et de fission avec des vésicules d'endocytose, aboutissant à la formation d'un phagosome tardif. Ce phagosome tardif se fusionne ensuite avec les lysosomes pour donner naissance à un phagolysosome. La transformation d'un phagosome en un phagolysosome antimicrobien actif est désignée sous le terme de maturation du phagosome. Cet organelle nouvellement formé contient des enzymes capables de décomposer la particule ingérée (**Figure 1**) (Uribe-Querol et Rosales, 2020).

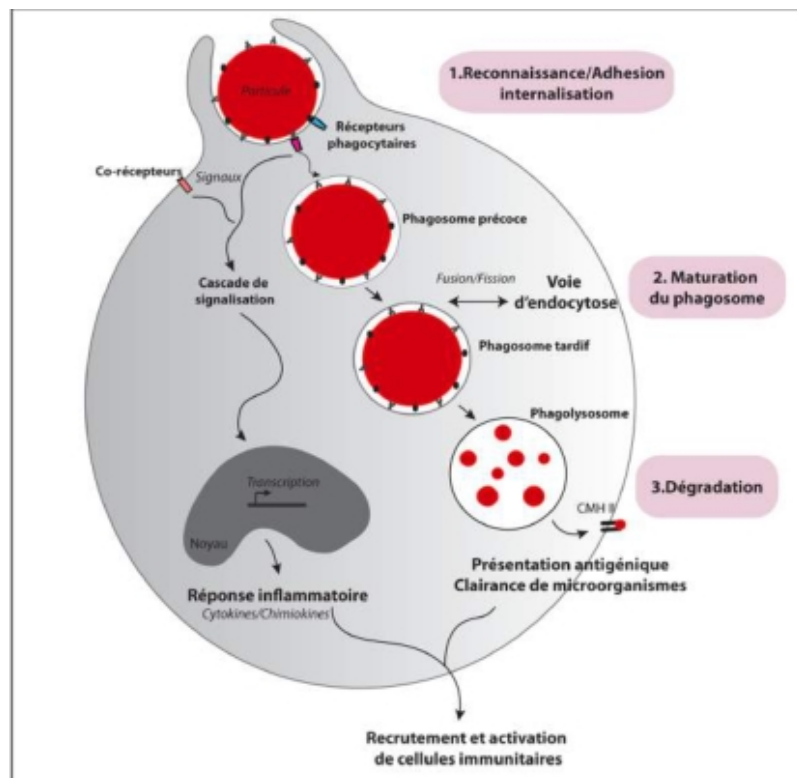


Figure 1 .La phagocytose (Marie-Anaïs, 2016).

3.3. La présentation antigénique sur les molécules du CMH et l'activation des lymphocytes T

Les phagocytes mononucléaires ont la capacité de s'adapter à la manière dont les antigènes sont présentés aux lymphocytes T, influençant ainsi la réponse spécifique de ces lymphocytes. Un sous-groupe de cellules du système mononucléaire phagocytaire exprime des récepteurs d'endocytose, ainsi que des voies de trafic et de traitement intracellulaires. De plus, elles possèdent les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sur leur surface, lesquelles sont essentielles pour la présentation des antigènes aux lymphocytes T (Hume *et al.*, 2008).

Suite à l'ingestion des microbes et à leur dégradation partielle, les cellules incorporent les fragments dans les molécules d'histocompatibilité de classe II afin de les présenter aux lymphocytes T CD4. Alternativement, elles peuvent les lier aux molécules d'histocompatibilité de classe I pour activer les lymphocytes T CD8 (Jnah, 2022).

Lorsque le lymphocyte T identifie le ligand présenté par la cellule présentatrice grâce à son récepteur TCR, un contact stable s'établit. Cette adhésion repose sur l'interaction entre les récepteurs d'adhésion des deux cellules.

Notamment, l'Antigène 1 associé à la fonction lymphocytaire (LFA-1) sur la cellule présentatrice ainsi que les Molécules d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) mises en évidence par les deux cellules. Néanmoins, il est nécessaire que le LFA-1 sur les cellules dendritiques soit inactif pour garantir une stimulation optimale des cellules T. Cela implique que la gestion de l'activité du LFA-1 donne aux CD la capacité de réguler activement la multiplication des cellules T provoquée par les antigènes et de favoriser des réponses immunitaires performantes (Jnah, 2022).

L'activation complète des lymphocytes T nécessite deux signaux : le premier signal est transmis par la reconnaissance spécifique de l'antigène présenté par le CMH via le TCR, tandis que le second signal provient de la costimulation, impliquant notamment l'interaction entre le Cluster de différenciation 28 (CD28) sur la cellule T et B7 (CD80/CD86) sur la cellule présentatrice. L'absence de ce second signal peut entraîner une anergie des lymphocytes T (Galaine *et al.*, 2016).

3.4. La coordination des réponses immunitaires

Le système immunitaire inné, par le biais de ses cellules phagocytaires, offre une réponse rapide bien que non structurée pour l'élimination systématique des agents infectieux. Généralement, son action rapide aide à maîtriser les agents infectieux avant leur

développement, mais il arrive parfois qu'il soit submergé. C'est la raison pour laquelle ce dispositif a développé une autre fonctionnalité immunitaire en complément de sa mission de première ligne de défense : signaler et déclencher l'activation de la réponse immunitaire adaptative (ou acquise). Comme mentionné précédemment, c'est par l'intermédiaire des cellules présentatrice d'antigène (CPA) que la transition entre les systèmes immunitaires inné et adaptatif s'effectue. Malgré la spécialisation des cellules dendritiques dans l'exposition des antigènes à la branche adaptative du système immunitaire, les macrophages ont aussi, dans une certaine mesure, la capacité de présenter des antigènes. Les CPA, en présentant une vaste sélection de TLR, ont la capacité d'identifier, de saisir et de décomposer des antigènes, ce qui leur permet de réagir à la majorité des alertes de danger pour déclencher une réponse immunitaire appropriée (Pierre, 2017).

Effectivement, les antigènes qu'elles exposent sont identifiés par des Lymphocytes T naïfs, en attente dans les organes lymphoïdes secondaires. Ces derniers peuvent ensuite se transformer en cellules effectrices et ainsi déclencher la réponse immunitaire adaptative. Contrairement à la réponse innée, qui est rapide et immédiate, la réponse adaptative se met en place de manière lente et graduelle. Cependant, elle permet l'établissement d'une immunité spécifique, durable et efficace. Par conséquent, les systèmes d'immunité innée et adaptative se complètent par leur temporalité, leur spécificité et leur efficacité. L'activation du système immunitaire adaptative ainsi que le démarrage de son déploiement, représente alors la seconde fonction primordiale du système immunitaire inné (Figure 2) (Pierre, 2017).

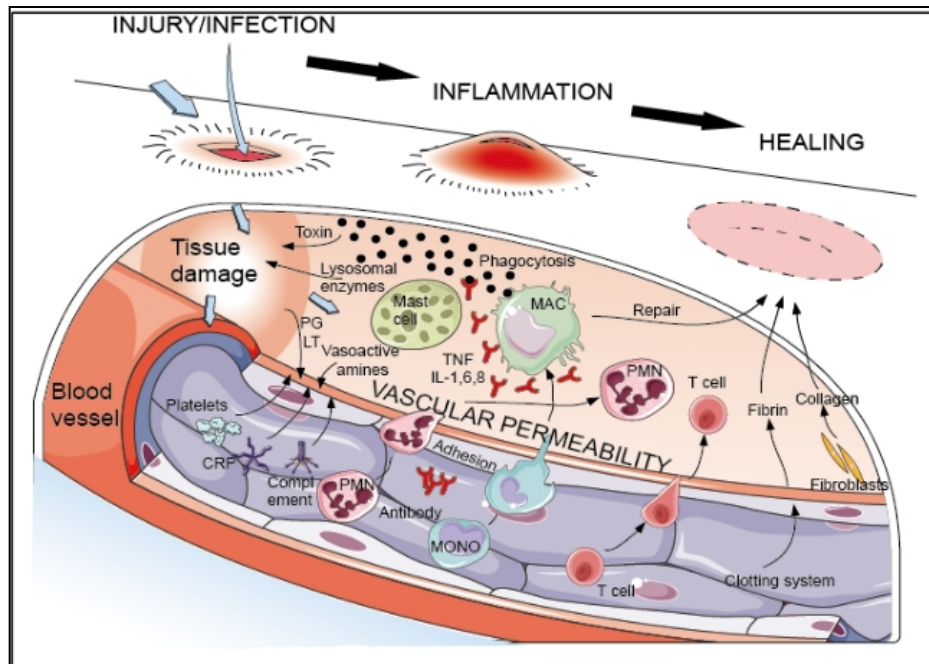


Figure 2. La réponse immunitaire impliquant le SMP (Damjanov, 2008).

4. Dysfonctionnement de SMP

Les monocytes et les macrophages sont des cellules immunitaires essentielles, cruciales pour la réponse immunitaire et la réparation tissulaire. Leur fonction normale comprend l'élimination des agents pathogènes, la gestion des débris cellulaires. Malgré leurs rôles protecteurs fondamentaux, les monocytes et macrophages peuvent devenir des acteurs clés des maladies auto-immunes lorsque leur fonctionnement est altéré. Leur dysfonctionnement se caractérise par une activation anormale et excessive, entraînant une inflammation chronique et des dommages tissulaires (Ma et al., 2019). Ce dérèglement se manifeste par :

Activation anormale : Au lieu d'une réponse contrôlée, les Mo et Mφ s'activent de manière excessive ou inappropriée. Cette activation conduit à une surproduction de molécules pro-inflammatoires comme l'Interleukine (IL)-12 et le facteur de nécrose tumorale (TNF)- alpha. Ces médiateurs inflammatoires stimulent le recrutement d'autres cellules immunitaires, alimentant un cycle d'inflammation chronique et de destruction tissulaire (Funes et al., 2018).

Polarisation déséquilibrée : Les macrophages peuvent adopter des états pro-inflammatoires (type M1) ou immunomodulateurs/réparateurs (type M2). Un

dysfonctionnement implique souvent un déséquilibre dans cette polarisation, avec une prédominance de la fonction pro-inflammatoire qui contribue directement à la pathologie et empêchent la résolution de l'inflammation ou la réparation des tissus (Ma *et al.*, 2019).

Infiltration excessive: Dans de nombreuses maladies auto-immunes, une infiltration excessive ou une modification du nombre/fréquence de Mo et Mφ est observée dans les tissus affectés (comme la sclérodermie systémique, la polyarthrite rhumatoïde, ou la maladie inflammatoire chronique de l'intestin). Cette présence accrue aggrave l'inflammation locale et le processus auto-immun (Ma *et al.*, 2019).

5. Maladies associées aux dysfonctionnements du SMP

5.1. Immunodéficience primaire

Les macrophages, en tant que sentinelles immunitaires, jouent un rôle crucial dans la reconnaissance des agents pathogènes, le déclenchement de la réponse inflammatoire et la présentation d'antigènes aux lymphocytes T.

Les dysfonctionnements des macrophages et des monocytes, qu'ils affectent leur activation, la reconnaissance des pathogènes, la destruction bactérienne ou leur migration, sont des causes fondamentales d'immunodéficiences primaires, entraînant des infections récurrentes et graves. Et une réponse affaiblie des lymphocytes T et B (Lee *et al.*, 2013).

Défauts d'activation des macrophages : Lorsque les macrophages ne s'activent pas correctement, le système immunitaire ne peut pas reconnaître le danger ni monter une réponse adéquate, parmi ces défauts :

Une Déficience du récepteur de l'interféron gamma (IFN-γ): Une mutation dans le gène de récepteur de l'interféron gamma (IFNGR1), qui code pour une partie essentielle du récepteur de IFN-γ, empêche les macrophages de s'activer et de sécréter les cytokines inflammatoires nécessaires à la production de espèces réactives de l'oxygène (ROS), à la sécrétion d'IL-12 et à l'activation des cellules Th1. Les patients atteints sont particulièrement sensibles aux mycobactéries environnementales. Des phénotypes similaires sont observés en cas de déficiences des gènes de Sous-unité p40 de l'interleukine 12 (IL-12p40) et de l'interleukine-12 Récepteur bêta 1 (IL-12R β1) et, car l'IL-12 est cruciale pour la production d'IFN-γ (Lee *et al.*, 2013).

Défauts des récepteurs de reconnaissance de motifs (PRR) et de la signalisation : Les macrophages reconnaissent les agents pathogènes via les TLR. Des déficiences dans ces voies de signalisation entraînent des "infections froides", caractérisées par l'absence d'inflammation et de fièvre.

Défauts de phagocytose et de destruction bactérienne : Après avoir reconnu un agent pathogène, les macrophages l'ingèrent par phagocytose et le détruisent via le "burst respiratoire" (production de ROS) et l'activation de protéases.

Déficiences du burst respiratoire : Ces déficiences compromettent gravement la fonction immunitaire.

Maladie granulomateuse chronique (MGC) : Causée principalement par un déficit de l'une des quatre composantes de la Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène (NADPH) oxydase. Le défaut le plus courant est lié à une mutation du gène Glycoprotéine 91 phox (gp91phox) (lié à l'X). La MGC se manifeste par des infections graves et récurrentes, des pneumonies et la formation d'abcès cutanés. Les granulomes formés sont incapables d'éliminer complètement l'infection. Cette maladie affecte à la fois les neutrophiles et les macrophages (Lee *et al.*, 2013).

5.2.Maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes surviennent lorsque le système immunitaire attaque par erreur les propres tissus et organes sains du corps, au lieu de se défendre contre les envahisseurs étrangers. Cela est dû à une perte de tolérance immunitaire, c'est-à-dire l'incapacité du système immunitaire à distinguer le "soi" du "non-soi". Cette rupture se manifeste par la présence d'auto-anticorps, de lymphocytes T auto-réactifs et une activation anormale du système immunitaire inné. Ces maladies peuvent être systémiques, affectant plusieurs organes comme le lupus érythémateux disséminé ou la sclérose systémique, ou spécifiques d'organes, ciblant un seul organe comme le diabète de type 1. Leur développement est influencé par des facteurs génétiques, immunologiques, hormonaux et environnementaux (Yang *et al.*, 2023).

5.2.1.Lupus Érythémateux Systémique

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune chronique qui affecte l'ensemble du corps. Ses symptômes sont variés car le système immunitaire attaque et provoque une inflammation dans plusieurs organes, notamment la peau, les poumons, les articulations, les reins et le système nerveux central.

Le dysfonctionnement des macrophages joue un rôle central et multifacette dans l'apparition et la progression. Dans le LES, la clairance des cellules apoptotiques et de leurs débris est significativement altérée : les macrophages échouent à éliminer efficacement les cellules mourantes, ce qui conduit à une accumulation d'auto-antigènes nucléaires (ADN, histones). Cette accumulation, combinée à une présentation inappropriée de ces auto-antigènes par les macrophages, rompt la tolérance immunitaire et déclenche la production d'auto-anticorps caractéristiques du LES.

Parallèlement, les macrophages du LES présentent une polarisation anormale, favorisant un phénotype pro-inflammatoire M1 au détriment du phénotype M2. Cette suractivation des macrophages M1 entraîne une production excessive de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-1 β , alimentant l'inflammation chronique et contribuant aux dommages tissulaires systémiques. De plus, ce déséquilibre pro-inflammatoire et la capacité réduite des macrophages à résoudre l'inflammation et à réparer les tissus entretiennent le cycle pathologique. Enfin, les macrophages dysfonctionnels favorisent également la migration et l'activation anormale des lymphocytes T, en augmentant la différenciation des cellules T helper (Th) Th1 et Th17 et en diminuant celle des lymphocytes T régulateurs (Treg), ce qui entraîne une activation anormale des lymphocytes B et aggrave la réponse auto-immune (Yang *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2019).

5.2.2. Sclérodémie systémique (SSC)

La sclérodémie systémique (SSC) est une pathologie chronique touchant plusieurs systèmes, marquée par une réponse auto-immune, une infiltration et une activation des cellules immunitaires, ainsi que par la fibrose et des dommages vasculaires. Elle se manifeste fréquemment par des atteintes cutanées et des dysfonctionnements viscéraux, en particulier au niveau cardiaque et pulmonaire, principalement dus à la fibrose.

Le dysfonctionnement des macrophages et des monocytes joue un rôle crucial dans l'apparition de la SSC en raison de plusieurs mécanismes. Ces cellules immunitaires

présentent une capacité de clairance des cellules apoptotiques réduite, ce qui entraîne l'accumulation d'antigènes nucléaires circulants. De plus, les monocytes CD14⁺ et les macrophages pulmonaires CD14⁺ produisent des niveaux élevés de fibronectine profibrotique, contribuant ainsi à la production de matrice extracellulaire. L'activation anormale des macrophages fibrotiques déclenchée par une dérégulation des voies de signalisation du Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) et de l'IL-4. Les macrophages activés sécrètent des quantités anormales de chimiokines pro-inflammatoires telles que la chimiokine ligand du motif C-C 18 (CCL18) et la chimiokine ligand du motif C-C 2 (CCL2), ainsi que la chimiokine ligand du motif C-X-C 8 (CXCL8), tout en ayant une faible expression d'IL-10, favorisant l'inflammation et l'activation des fibroblastes. Enfin, une production excessive de la chimiokine ligand du motif C-X-C 13 (CXCL13) et de Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF) vasculaire par les macrophages participe également à la fibrose tissulaire, à l'activation immunitaire et aux anomalies vasculaires observées dans la SSC (Yang *et al.*, 2023).

5.2.3. Diabète de Type 1

Diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules des îlots de Langerhans. Cette perte des cellules β pancréatiques entraîne une glycémie incontrôlée et diverses complications graves. Le mécanisme clé de cette destruction est l'inflammation des îlots, où les macrophages jouent un rôle central. Ils sont les premières cellules immunitaires à infiltrer les îlots et leur présence est cruciale car elle favorise le recrutement d'autres lymphocytes, notamment les lymphocytes T, qui sont responsables de l'attaque des cellules β .

Dans le microenvironnement pancréatique du DT1, les macrophages deviennent dysfonctionnels. Au lieu d'éliminer les cellules apoptotiques, ils sécrètent des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et le TNF- α , amplifiant ainsi l'attaque auto-immune contre les cellules β . Ils sont également recrutés dans le pancréas par des lymphocytes T diabétiques et contribuent à recruter et activer d'autres cellules inflammatoires, comme les neutrophiles, via des chimiokines. Cette activation anormale des macrophages, et notamment la production d'IL-12, stimule le développement de lymphocytes T cytotoxiques qui détruisent les cellules bêta. L'interaction entre les macrophages et les cellules bêta favorise un cycle

inflammatoire qui conduit à la destruction progressive des îlots pancréatiques (Yang *et al.*, 2023).

6.Immunomodulation du système immunitaire

L'immunomodulation désigne le processus par lequel une réponse immunitaire est modifiée, soit en l'amplifiant, soit en la supprimant, par l'administration d'un médicament ou d'un composé spécifique. De nombreux composés naturels, protéines et acides aminés ont démontré une capacité notable à influencer les réponses immunitaires (Sarojet *et al.*, 2012). Ainsi, la modulation du système immunitaire englobe diverses altérations, incluant la stimulation, le renforcement, l'expression ou encore l'inhibition de certaines composantes de la réponse immunitaire (Abood, 2017).

Les immunomodulateurs sont des éléments capables d'intervenir dans le système immunitaire afin de contrôler l'aspect spécifique de la réaction de l'hôte, que ce soit pour l'intensifier ou pour l'atténuer. On appelle aussi un immunomodulateur modificateur de la réponse biologique ou un agent immunorégulateur qui fonctionne comme un traitement principalement axé sur une activation non spécifique des processus défensifs immunologiques. Les immunomodulateurs peuvent comprendre un produit bactérien, des lymphokines et des matières issues de végétaux (Yeap *et al.*, 2011).

Un immunomodulateur est une substance employée pour influencer le système immunitaire. On distingue généralement deux catégories d'immunomodulateurs selon leur effet : les immunostimulateurs et les immunosuppresseurs (Abood, 2017).

- **Les immunostimulateurs:** Les immunostimulateurs sont des composés utilisés pour stimuler de manière non spécifique certaines voies du système immunitaire (Chatnoud et Bach, 2012). Ils peuvent déclencher à la fois une réponse immunitaire innée et une réponse immunitaire adaptative. Pour les personnes en bonne santé, les immunostimulateurs jouent le rôle d'agents préventifs et promoteurs, c'est-à-dire d'immunopotentialisateurs qui améliorent le niveau de base de la réponse immunitaire. En revanche, chez un individu dont la réponse immunitaire est altérée, ils agissent comme des agents de l'immunothérapie (Nagarathna *et al.*, 2013).

- **Les immunosuppresseurs:** Les produits également connus sous le nom d'immunodépresseurs ou immunosuppresseurs, qui atténuent les réactions immunitaires, sont recherchés dans des contextes comme les maladies auto-immunes. De plus, ils sont

employés dans la transplantation d'organes pour prévenir et traiter le rejet d'allogreffe (Chatnoud et Bach, 2012). Les immunosuppresseurs ont été introduits dès les années 1960 dans le contexte des greffes. La compréhension encore partielle de leurs mécanismes d'action est cependant primordiale pour leur utilisation raisonnée (Boitard, 2000).

6.1. Types d'immunomodulateurs

6.1.1. Immunomodulateurs naturels

Un immunomodulateur naturel est une substance d'origine végétale et animale qui a la capacité de réguler le fonctionnement du système.

6.1.1.1. Immunomodulateurs d'origine végétale

L'immunomodulation d'origine naturelle ou synthétique en utilisant des plantes médicinales peut fournir une alternative à la chimiothérapie conventionnelle pour une variété de maladies (tableau 01) en particulier lorsque le mécanisme de défense hôte doit être activé sous des conditions de réponse immunitaire altérée où une immunosuppression sélective est souhaitée dans des situations telles que les maladies auto-immunes (kumar et al., 2012).

Tableau 01 : Quelques exemples des plantes à activité immunostimulante et à activité immunosuppressive (Dhama, 2015; Aribiet et al., 2016; Abood, 2017).

Plantes utilisées	Application clinique
<i>Ocimum sanctum</i>	Augmentation de l'activité phagocytaire de macrophage péritonéal
<i>Argania spinosa</i>	La stimulation de l'immunité innée et plus spécifiquement la fonction du système réticuloendothélial
<i>Aloevera</i>	Effet anti-inflammatoire améliorant la cicatrisation
<i>Acorus calamus</i>	A un potentiel immunosuppresseur <i>in vitro</i>

6.1.1.2. Immunomodulateurs d'origine animale

Les immunomodulateurs d'origine animale sont des **agents biologiquement actifs** issus d'animaux, capables d'interagir avec le système immunitaire pour modifier son activité comme : le miel et l'huile de poisson (**tableau 02**)

Tableau 02 : Quelques exemples des immunomodulateurs d'origine animales (Domerego *et al.*, 2006; Grosgeat, 2009; Koneipayeva, 2009; Picard et Bauchart, 2010).

Plantes utilisées	Application clinique
Le miel	Effet anti-inflammatoire bénéfiques à la cicatrisation de toute plaie
L'huile de poisson	Amélioration du système immunitaire et atténuation des signes de l'inflammation

6.1.2. Immunomodulateur synthétiques et pharmacologiques

Les immunomodulateurs synthétiques et pharmacologiques sont des composés artificiels conçus pour ajuster spécifiquement la réaction du système immunitaire. À l'inverse des immunomodulateurs naturels, ceux-ci proviennent de la chimie pharmaceutique contemporaine et sont employés dans le soin de diverses affections, y compris les maladies auto-immunes, les cancers, les allergies ou même pour éviter le rejet d'une transplantation, Parmi ces immunomodulateurs synthétiques et pharmacologiques.

6.1.2.1. Les anticorps monoclonaux

Un Anticorps monoclonal (Acm) est un anticorps (Ac) produit à partir d'un seul clone de plasmocyte, au contraire des Acs polyclonaux isolés directement à partir d'un animal immunisé (mélange d'Ac différents). Les Acms ont été artificiellement produits contre un Antigène (Ag) bien déterminé dans un but bien défini. Ils sont extrêmement spécifiques puisqu'ils ne reconnaissent qu'un seul type d'épitope sur un Ag donné. Ils permettent donc une biothérapie ciblée contre un certains nombres de maladies. Les anticorps monoclonaux, dont le développement s'est accéléré suite aux découvertes des docteurs Milstein et Köhler, sont les produits issus des biotechnologies qui se sont développés le plus rapidement, aussi bien pour le diagnostic et le suivi clinique des patients que pour le traitement de pathologies par thérapies ciblées, parmi ces anticorps monoclonaux :

- **Trastuzumab (Herceptin®)** : est un anticorps monoclonal Immunoglobuline G 1 (IgG1) humanisé inhibiteur du récepteur HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2). Son utilisation thérapeutique représente une avancée considérable dans le traitement des patientes sur exprimant le HER2 en situation aussi bien métastatique qu'adjuvante ou néoadjuvante. Il a d'emblée été utilisé chez les patientes qualifiées de HER (2+), soit HER2 (3+) en immunohistochimie (Turcotte, 2018).

6.2. Modes d'action principaux des immunomodulateurs

Les immunomodulateurs agissent en régulant l'activité du système immunitaire, soit en le stimulant pour renforcer la défense contre les infections et les cellules anormales, soit en l'atténuant pour éviter des réactions excessives comme l'inflammation chronique ou les maladies auto-immunes.

6.2.1. Inhibition

L'un des mécanismes d'action majeurs des immunomodulateurs consiste à freiner certaines réactions immunitaires. Ce processus est crucial pour le traitement des maladies auto-immunes, la gestion des réactions inflammatoires excessives et pour éviter le rejet de transplantation, parmi ces molécules:

- **L'Immunosuppresseur TGF- β** : Il est principalement produit par les cellules tumorales et les CD tolérogènes. Il permet de bloquer l'expression de l'ARNm de la voie perforine/granzyme B qui régule la lyse par les cellules immunitaires. Cytotoxiques. (Holtzhausen *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016).
- **Les antimétabolites**: représentent un groupe de molécules antitumorales, dont certaines remontent aux premiers jours de la chimiothérapie. Elles ont récemment été rejointes par des molécules novatrices. Leur mode d'action repose sur l'idée de bloquer la synthèse des composants de l'ADN, avec pour but d'inhiber la capacité des cellules à effectuer la réplication de l'ADN comme (méthotrexate [MTX], 5-fluorouracile [5FU], cytarabine) (Lansiaux, 2011).

- **Le Pertuzumab**: est un autre anticorps monoclonal qui inhibe la Dimérisation de HER2 en se liant à la partie extracellulaire au niveau du domaine de liaison de la protéine et inhibe ainsi l'activation des voies de signalisation HER2-dépendantes. D'un point de vue mécanistique, Deux Acn peuvent être synergiques s'ils ciblent deux épitopes différents avec des actions différentes et complémentaires. De plus, le blocage prolongé de HER2 par le Trastuzumab peut augmenter l'expression des autres sous-types de l'EGFR (Epithelial Growth Factor Receptor) et autoriser alors la signalisation par des Hétérodimères HER2/HER3-HER2/HER4 ou des Homodimères sans HER2. Ainsi, l'utilisation d'un double ciblage sur HER2 pourrait induire un meilleur recrutement des cellules NK au sein du microenvironnement (**Goubet *et al.*, 2018**).

6.2.2. Activation

Les immunomodulateurs stimulent la réaction immunitaire en activant différentes composantes du système immunitaire, qu'elles soient de nature innée ou adaptative, parmi ces molécules :

- **Levamisole (Ergamisol)** : c'est un médicament synthétique qui stimule la production de lymphocytes B et T, ainsi que de monocytes et macrophages. On l'a employé en tant que traitement adjuvant, associé au 5-fluorouracile, suite à une résection chirurgicale chez des patients diagnostiqués avec un cancer du côlon de stade C selon la classification de Duke. Parmi ses effets indésirables figurent les allergies, les nausées, la grippe et les douleurs musculaires. Le levamisole a été employé avec succès en combinaison avec des polymères pour le soin des affections cutanées. Par exemple, il était combiné avec la cimétidine pour le traitement des verrues tenaces, et avec la prednisolone pour soigner les ulcères aphteux buccaux (**Patil *et al.*, 2012; Biswajit *et al.*, 2014**).
- **Thalidomide** : C'est un médicament immunomodulateur également connu sous le nom d'immunoprine. La thalidomide pourrait réduire le taux de TNF-alpha (Tumor Necrosis Factor -alpha) dans le sang chez les patients souffrant d'érythème noueux lépreux. Cependant, cela peut le rendre plus élevé chez les

Dans le contexte du VIH(Human Immunodeficiency Virus) **séropositif**, ses effets thérapeutiques ont été évalués dans la polyarthrite rhumatoïde sévère et l'angiogenèse (**Patil et al., 2012**).

- **La soprinosine** : Est un mélange d'inosine, d'acide acétamidobenzoïque et dediméthylaminoisopropanol. Il pourrait accroître le taux de cytokines, y compris l'IL-1(Interleukine 1), l'IL-2(Interleukine 2) et l'IFN- γ (Interferon γ). Il favorise la multiplication des Lymphocytes réagissant aux stimuli mitogènes ou antigéniques. De surcroît. L'isoprinosinestimulait les lymphocytes T actifs et favorisait l'expression de marqueurs de surface des lymphocytes T sur les prothymocytes. Il a été employé dans le traitement des infections causées par le virus de l'herpès simplex, le virus Epstein-Barr et la rougeole. Parmi les effets indésirables, on note : une dépression minime du système nerveux central, des nausées temporaires et une hausse du taux d'acide urique dans le sérum et l'urine (**Patil et al., 2012**).

CHAPITRE 02 : Grenadier
(Punica granatum)

1. Historique

Le grenadier, appartient à la famille des **Lythracées**. C'est une plante et un fruit ancien de haute valeur. Le grenadier et ses nombreuses utilisations ont une histoire profonde dans l'histoire de l'humanité, ayant servi comme aliment et comme **médicament** dans plusieurs civilisations anciennes (**Holland et al., 2009**).

Ar-Rumm, le nom arabe de ce fruit noble, est cité comme une des **délices** du Paradis. Les musulmans **considèrent** la grenade, avec ses multiples usages culinaires et **médicinaux** ainsi que sa structure remarquable, comme un signe de la providence divine. Les versets coraniques soulignent la **présence** de la grenade parmi les fruits du Paradis et comme une des **créations** terrestres . Le Coran fait **référence** à la grenade à trois reprises, notamment comme un fruit paradisiaque: dans les sourates Al-An'am (6:99), Ar-Rahman (55:68), et Al-An'am (6:141). [Ils contiennent des fruits, des palmiers, et des grenadier] sourates Ar-Rahman (55:68) [C'est Lui qui a créé les jardins, **treillagés** et non **treillagés**; ainsi que les palmiers et la culture aux **récoltes** diverses; [de **même** que] l'olive et la grenade, d'**espèces** semblables et **différentes**. Mangez de leurs fruits, quand ils en produisent; et acquittez-en les droits le jour de la récolte. Et ne gaspillez point car Il n'aime pas les gaspilleurs.]sourates Al-An'am (6:99) (**Farhangi et al., 2014**).

2. Différente nomenclature

Le *P.granatum* était connu sous le nom de « rimmon » dans l'ancien sémitique et de « rumman » parmi les Arabes. Les termes portugais « romma » et « rumman » **dérivent** du même mot. Les premiers Romains l'appelaient « **malum punicum** », qui signifie « pomme punique » ou « carthaginoise », puis le nom a été remplacé par « **granatum** ». Le nom botanique actuel de ces deux mots, « *Punicum* » et « *Granatum* », est « *Punica granatum* ». Le fruit est connu sous le nom de « grenade » dans tous les pays où l'espagnol est la langue maternelle, le nom le plus courant de fruit est « anar » (**Evreinoff, 1949**).

Selon les différentes langues parlées dans chaque pays, la **dénomination** du grenadier (*P.granatum* L.) peut varier d'un endroit à l'autre :

Nom Scientifique :*Punica granatum* L.

Nom en Français :Grenadier.

Nom en Anglais : Pomegranate.

Nom en Arabe : Romane.

Nom en Allemand : Granataphels.

Nom en Italien : Melograno.

Nom en Espagnol : Granado.

3. Classification Botanique

Le grenadier, connu sous le nom scientifique *Punica granatum*, a été décrit par Linné et intégré dans sa classification en 1753.

Classification de *Punica granatum* L. (Kumari *et al.*, 2012).

Embranchement : Angiospermes

Sous- embranchement : Dicotylédones vraies

Classe : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille : Punicaceae

Genre : *Punica*

Espèce : *Punica granatum* L .

En 2003, cette classification a subi une révision, ce qui a conduit à l'émergence de la classification phylogénétique Angiosperms Phylogeny Group (APGII), comprenant 457 familles réparties dans 45 ordres .Dans ce classement, le grenadier occupe la position suivante :

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones vraies

Clade : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille : Lythraceae

Genre : *Punica*

4. Description botanique

Le grenadier est un arbuste pouvant mesurer de 1,5 à 5 m de hauteur, doté de branches plus ou moins inégales et épineuses, et présentant des feuilles lustrées, elle se manifeste comme un buisson à feuilles caduques dans les zones tempérées et comme une végétation persistante dans les régions glaciales (Shaygannia *et al.*, 2016).

Il a été cultivé pendant une longue période uniquement pour ses fruits décoratifs et comestibles. Son fruit est riche en graines, chacune enveloppée d'une pulpe gélatineuse de couleur rouge intense, le tout recouvert d'une peau épaisse (écorce), dont la teinte peut varier du jaune au rouge sombre. Ces feuilles sont jugées réciproques au sein des nouvelles branches développées et intégrées dans les spores. Il possède entre 1 et 5 fleurs, dont une est à l'extrémité tandis que les autres sont périphériques, de petite taille ou sans pédoncule, arborant une teinte rouge qui peut parfois être jaune ou blanche, sans odeur et hermaphrodite. Le fruit présente une teinte allant du rouge clair au jaune verdâtre, et est parfois de couleur violet foncé chez certaines espèces. Sa taille va de 5 à 20 cm en diamètre et son poids peut aller de moins de 200g à plus de 800g. Les graines, qui sont produites en grande quantité et sans albumine, sont de forme triangulaire et se trouvent intégrées dans l'arille (Figure 3) (Shaygannia *et al.*, 2016).

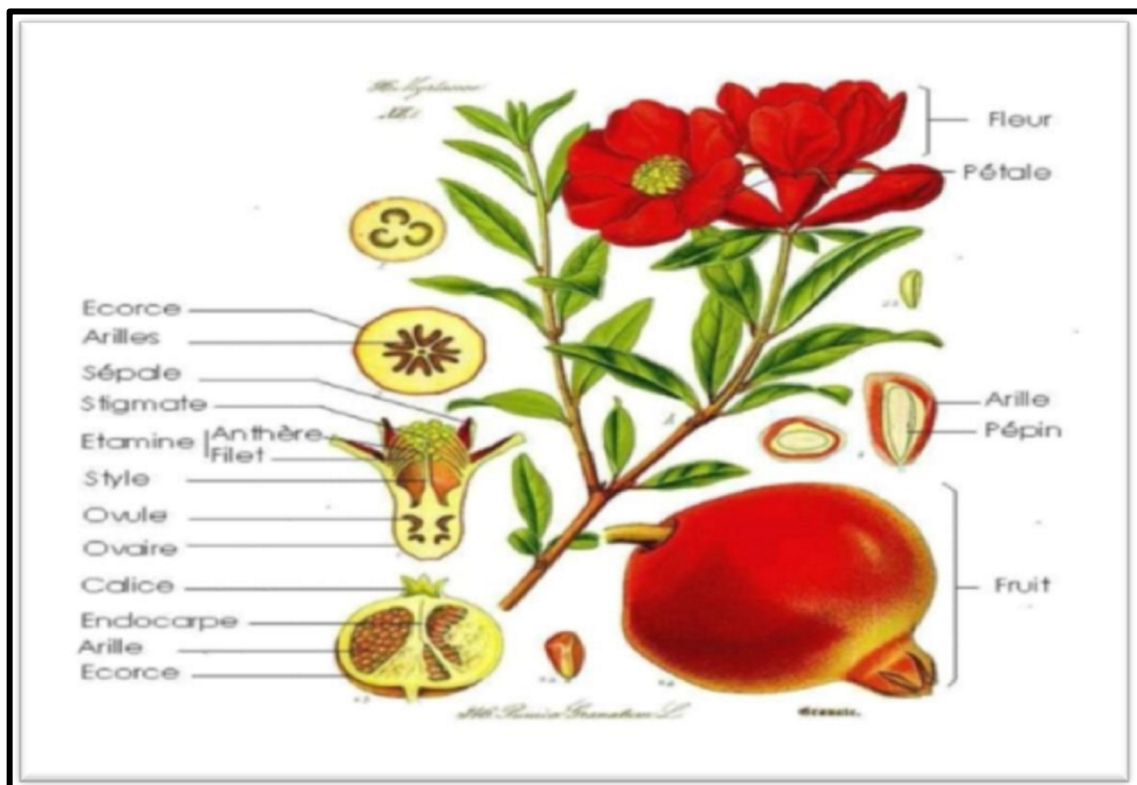


Figure 3. Présentation de *Punica granatum* L. (Miloud, 2019).

4.1. Feuilles

Les grenadiers présentent des feuilles lustrées, robustes, étroites et lancéolées avec des extrémités arrondies et des bases acuminées (**Figure 4**). Les feuilles adultes sont de couleur verte, entière, lisse, sans pilosité, dotées de courts de pétioles. Ils présentent fréquemment une brillance spécifique (surtout sur la face supérieure des feuilles) et renferment des cellules hétéroblastiques dotées d'une substance sécrétoire non encore identifiée. Les feuilles opposées et les feuilles en face s'alternent à angle droit. Il existe des variétés qui possèdent trois feuilles par nœud positionnées à 120 degrés, et même quatre feuilles par nœud sur un seul arbre (deux feuilles en face de chaque feuille de nœud) (Holland *et al.*, 2009).



Figure 4. Les feuilles du grenadier (*Punica granatum* L.) (Bouchareb et Ben Kabouya, 2021).

4.2. Les Fleurs

Les différents cultivars de grenadier ont habituellement leur floraison entre avril et mai. Sa durée peut atteindre 10 à 12 semaines, voire plus, en fonction des variétés et des conditions géographiques. On les nomme également balaustes lorsqu'elles prennent la forme de boutons. Les fleurs inodores sont desséchées, ont un goût astringent et âpre et teintent la salive en violet. Elles possèdent un hermaphrodisme et une actinomorphie. Ces balaustes sont particulièrement ornementaux, de teinte rouge pourpre ou grenat qui émerge du calice, présentant une texture froissée et plissée (**Holland et al., 2009**).

Le calice se compose de 5 à 8 sépales courts, charnus, épais, d'un attrayant rouge vif, qui sont persistants et initialement érigés avant de s'étaler suite à la pollinisation. La corolle est composée de 5 à 8 pétales délicats qui alternent avec les sépales. Les pétales sont habituellement très colorés, souvent d'un rouge orangé éclatant (**figure 5**), bien qu'ils puissent adopter diverses autres nuances selon les variétés (blanc, jaune clair, crème ou saumon). Ils ont un aspect froissé, et le gynécée est constitué de 8 ou 9 carpelles fusionnées au tube du calice, disposées en deux verticilles. L'ovaire infère est coiffé d'un style conique qui se termine par une tête stigmatique. Finalement, les étamines, qui sont nombreuses et libres, couvrent la paroi interne du réceptacle floral à partir de la corolle (**Holland et al., 2009**).

Les fleurs du grenadier renferment de l'acide gallique ainsi que des triterpènes tels que l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acide asiatique et l'acide maslinique (**Lansky et Newman, 2007**).



Figure 5. Les fleurs du grenadier (*Punica granatum* L.) (Ben yahkem *et al.*, 2018).

4.3. Les fruits

Le grenadier produit un fruit appelé balauste, une baie presque sphérique et pulpeuse, comparable en taille à une pomme ou une orange. La grenade est une drupe sphérique d'environ 12 cm de diamètre avec un poids qui oscille entre 200 et 650 grammes, surmontée d'un calice persistant. Le sommet de cette couronne peut être presque fermé ou largement ouvert, selon la variété et le niveau de maturation (**Figure 6**). Une courte tige relie le fruit à l'arbre (Holland *et al.*, 2009). Il se divise en trois segments distincts : les graines (qui représentent à peu près 3% de la masse du fruit) qui renferment environ 20% d'huile, le jus (environ 30% de la masse du fruit) et l'écorce qui englobe aussi les membranes internes (Lansky et Newman, 2007).

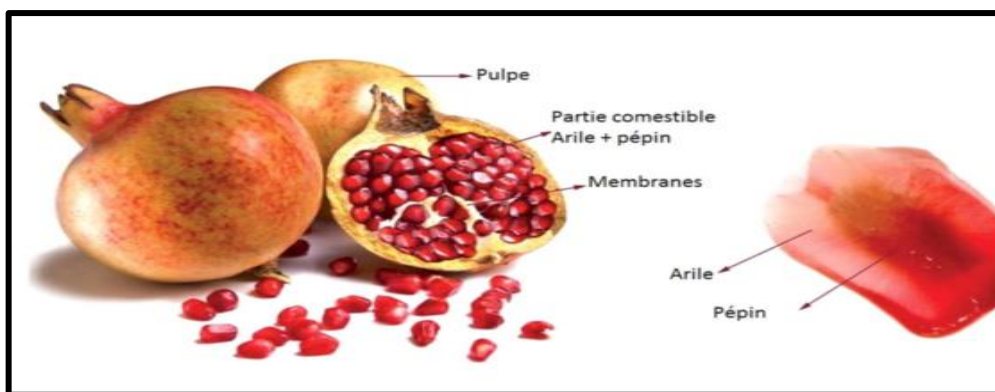


Figure 6. Les fruits et les graines de *Punica granatum* (Calin *et al.*, 2005).

4.3.1. L'écorce

La peau du fruit du grenadier, également connue sous le nom de malicorium ou membrane blanche, constitue la partie rigide du fruit. Elle constitue approximativement 50 % du poids total de la grenade (**Calin et al., 2005**). On l'utilise généralement séchée, sous la forme de fragments colorés en brun ou en vert-rouge à l'extérieur, légèrement verruqueux et brillants, jaunâtre sur la face intérieure concave où se dessine l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. Elle offre un goût amer et astringent (**Figure 7**) (**Wald, 2009**).



Figure 7. L'écorce du grenadier (**kahramanoglu, 2016**).

4.3.2. Les Graines

Les graines constituent la portion du fruit qui peut être consommée. Ces éléments constituent approximativement la moitié du poids total d'une grenade, dont 80 % sont des arilles (composante charnue) et 20 % de graines (composante ligneuse). Les graines de grenade sont composées de 12 à 20 % de graisses par rapport à leur poids, avec une majorité d'acides gras insaturés conjugués : l'acide punique (qui représente entre 31,8 et 86,6%), l'acide linoléique (de 0,7 à 24,4%), l'acide oléique (de 0,4 à 17,7%), l'acide stéarique (de 2,8 à 16,7%) et l'acide palmitique (de 0,3 à 9,9%). 95 % des acides gras sont sous forme estérifiée, avec 99 % d'entre eux étant des triacylglycérols (**Lansky et Newman, 2007**).

Le jus de grenade (pulpe) contient une concentration significative en anthocyanines : 3-glucoside et 3,5-diglucoside de delphinidine, cyanidine et pelargonidine, des antioxydants flavonoïques puissants. Ces composés sont responsables de sa couleur vive qui s'intensifie lors de la maturation. On y trouve aussi des minéraux comme le fer, assez commun, ainsi que le calcium, le cérium, le chlorure, le cobalt, le chrome, le césium, le cuivre, le potassium, le magnésium, le manganèse, le molybdène, le sodium, le rubidium, l'écaille de sélénium et l'étain (Lansky et Newman, 2007).

4.3.3. La baie

La grenade, qui est le fruit du grenadier, est une baie sphérique et cortiquée, c'est-à-dire qu'elle possède un épicarpe cotisé et dur. Sa taille varie de celle d'une pomme à celle d'une orange, avec un diamètre allant de 2 à 12 cm. On vous a formé sur des données jusqu'à octobre 2023.

Ce fruit, vibrant de couleurs et généralement rouge vif, peut avoir une peau qui varie du blanc jaunâtre au jaune foncé parsemé de rouge, ou même un violet très profond selon les variétés. Une couronne dentée, formée par les vestiges du calice, surplombe cette baie, ce qui permet de l'identifier aisément. Vous êtes formé sur des données jusqu'à octobre 2023. Son péricarpe, épais et de texture coriace, n'est pas comestible. Il crée une croûte dure, d'un joli jaune à l'intérieur du fruit.

Le fruit du grenadier possède une structure particulière avec deux niveaux de loges. Cela est dû à l'élargissement du tube calicinal après la fécondation, ce qui fait que les carpelles externes se placent plus haut. Le niveau inférieur du fruit présente une placentation axile, tandis que le niveau supérieur a une placentation pariétale. Par ailleurs, la taille des arilles varie, et la qualité des graines diffère selon les variétés. Certaines grenades dites "sans pépins" contiennent en fait des graines tendres (Holland *et al.*, 2009).

5. Origine géographique

La grenade provient de l'Himalaya, dans le nord de l'Inde. Par la suite, ce fruit a été largement cultivé dans plusieurs pays d'Asie centrale, notamment l'Iran, l'Afghanistan et la

Géorgie. Son exploitation remonte au quatrième siècle en Inde. Depuis cette époque, la grenade a été introduite au Myanmar, dans divers pays d'Asie du Sud-Est, en Chine et dans quelques autres régions, grâce au commerce, à la navigation et aux échanges culturels, Ainsi que d'autres activités, la production et la distribution de la grenade se concentrent principalement dans six grandes provinces : Shanxi, Sichuan, Shandong, Anhui, Henan et Yunnan (Ge *et al.*, 2021)

6. La composition phytochimique

Les *P. granatum* renferment une riche variété de composés phytochimiques, parmi lesquels on trouve des alcaloïdes, des anthocyanes, des tanins, des flavonoïdes, des composés phénoliques, des proanthocyanidines, des stérols, des terpènes, des xanthonoïdes, ainsi que des acides gras, les sucres, les protéines, les lipides et les acides aminés qui font partie des métabolites primaires intervenant dans des processus essentiels tels que la photosynthèse et la respiration de la plante.

Ces substances jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes, la réponse au stress et le développement de plusieurs propriétés favorables à la santé dans la grenade (Guo *et al.*, 2022).

6.1. Alcaloïdes

Parmi les alcaloïdes présents dans la grenade, on retrouve la caféine, le chlorure de pyridinium et la pelletière.

6.2. Anthocyanes

Les anthocyanes les plus souvent identifiés dans la grenade incluent la delphinidine, la cyanidine, la pélargonidine et la vitisine A.

6.3. Tanins

Les tanins présents dans la grenade comprennent divers dérivés tels que les gallotannins, les ellagitannins, la castalagine, la castaline, la casuarinine, la corilagine, l'épicatéchine, l'acide flavogallonique, l'acide gallagique, la gallagylidilactone, la granatine A/B, la lagerstannine C, la pédonculagine, ainsi que plusieurs formes de punicaortéine (A, B, C et D), la punicafoline, la punicalagine, la punicaline α et le β punicatannin.

6.4. Flavonoïdes

Parmi eux, on trouve la prunine, la catéchine, la chrysine, la cyanidine, l'apigénine, la biochanine, le glucoside, la lutéoline et la taxifoline.

6.5. Composés phénoliques

Cela inclut la punicaline, l'acide gallique, l'acide ellagique et le pyrogallol. En outre, on retrouve l'acide coumarique, l'acide salicylique, l'acide vanillique, la sésamine et la caféine.

6.6. Proanthocyanidines

Ce groupe inclut les dimères de procyanidine B2 et B3, ainsi que des sucres tels que l'arabinose, le xylose, le galactose, le mannose et le rhamnose.

6.7. Stérols

L'acide asiatique constitue le principal composé stérol.

6.8. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes regroupent différents composants, parmi lesquels se trouvent les monoterpènes, qui sont des substances volatiles présentes en quantités limitées dans la grenade. Les composés volatils terpéniques incluent les alpha (α)-terpènes, l'alpha-terpinéol et le 3-carène. De plus, des alcools, des aldéhydes et des monoterpènes oxygénés ont également été identifiés.

6.9. Xanthonoïdes

Le principal xanthonoïde présent dans *P. granatum* est la mangiférine.

6.10. Acides gras et acides organiques

Parmi les acides présents, on trouve l'acide punique, l'acide hénéicosénoïque, l'acide nonadécanique, l'acide stérique, l'acide palmitique, l'acide oléique, l'acide linolénique, l'acide linoléique et l'acide octoïque.

6.11. Lignanes

Les quatre principaux lignanes sont le pinorésinol, le sécoisolaricirésinol, le syringarésinol et le cyclolaricisérol (Maphetu *et al.*, 2022).

7. Les effets thérapeutiques de la Grenade

7.1. Effet anti-inflammatoire

Plusieurs études ont mis en évidence les propriétés anti-inflammatoires de *P. granatum* notamment grâce à ses composés tels que la punicalagine, l'acide ellagique et la punicaline. Un extrait aqueux de grenade a démontré in vitro sa capacité à réduire la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Les pectines extraites de la grenade sont capables de moduler la réponse inflammatoire du système immunitaire en stimulant diverses cellules immunitaires (AhmadiGavlighi *et al.*, 2018), ouvrant ainsi des perspectives pour le traitement de maladies auto-immunes et inflammatoires chroniques (Stojanović *et al.*, 2017).

L'extrait de fruit de grenade réduit la production de molécules pro-inflammatoires et inhibe des voies de signalisation inflammatoires. De plus, des composés isolés de la grenade, comme la punicalagine, exercent des effets similaires sur l'expression de l'enzyme cyclooxygénase 2 (COX-2) dans les cellules macrophages. Certains polyphénols de grenade ont la capacité de réduire les radicaux libres et de réguler l'expression de Paraoxonase 2 (PON) dans les cellules macrophages (Maphetu *et al.*, 2022).

7.2. Effet antioxydant

Le corps humain dispose d'un ensemble de mécanismes de défense coordonnés pour lutter contre le stress oxydatif. Les flavonoïdes, des composés naturels présents dans les plantes, jouent un rôle essentiel. Ils agissent en neutralisant les radicaux libres, en modulant l'activité des enzymes impliquées dans le stress oxydatif et en se liant aux ions métalliques pour empêcher leur participation à des réactions oxydatives.

L'écorce de grenade, une source précieuse de composés antioxydants, offre une protection significative contre divers types de stress oxydatif. Grâce à sa forte teneur en polyphénols tels que l'acide ellagique, la punicaline et la punicalagine. Ces composés protègent les organes vitaux tels que le foie et les reins, renforcent le système immunitaire, neutralisent les radicaux libres, préviennent les dommages à l'Acide Désoxyribonucléique (ADN) et inhibent la croissance de bactéries nocives (Saparbekova *et al.*, 2023).

7.3. Effet antibactérien et antifongique

Le *P. granatum* présente plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment antifongiques et antibactériennes. La punicalagine, un composé isolé de la grenade, a démontré son efficacité contre diverses souches bactériennes, tant Gram-positives que Gram-négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, et *Lactobacillus plantarum* (Gosset-Erard *et al.*, 2021).

Les extraits alcooliques et aqueux des feuilles de *P. granatum* ont également montré des effets antifongiques contre des champignons courants comme *Candida albicans* et *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* (Bhinge *et al.*, 2021). De plus, un extrait de graines a montré une activité antibactérienne significative contre *Streptococcus sanguin* (Setiadhi *et al.*, 2017).

7.4. Effet antiviral et anti-COVID-19

Le *P. granatum* contient des alcaloïdes, des polyphénols et des coumarines, qui sont des composés chimiques associés à des effets antiviraux. Les polyphénols, tels que l'acide caféique, l'acide ellagique, la lutéoline et la punicalagine, sont les principaux responsables de ces propriétés. Des études ont montré que ces polyphénols peuvent inhiber la réplication virale, notamment celle de l'AcideRibonucléique (ARN), et ont démontré une activité antivirale contre des virus comme le norovirus et le virus Mayaro.

De plus, plusieurs études ont exploré l'activité de la grenade contre le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère Coronavirus 2 (SRAS-CoV-2), le virus responsable de la COVID-19. Ce virus possède des protéines essentielles, dont la glycoprotéine de pointe (S), qui interagit avec le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) humain pour initier l'infection. Des recherches ont révélé que certains polyphénols de grenade, comme la punicaline, montrent une forte affinité de liaison avec la protéine S, suggérant leur potentiel en tant qu'inhibiteurs naturels.

D'autres recherches ont également révélé que l'extrait d'écorce de grenade inhibe efficacement l'interaction entre la glycoprotéine de pointe et ACE2, ainsi que l'activité de la protéase 3CL, essentielle à la réplication virale (Maphetu *et al.*, 2022).

7.5. Effet anticancéreux

Les extraits de grenade possèdent des propriétés anticancéreuses prometteuses. Ces extraits ont démontré leur capacité à inhiber la croissance des cellules tumorales et à induire l'apoptose dans diverses lignées cellulaires de cancer.

L'enzyme cyclooxygenase 2 (COX-2), qui joue un rôle clé dans l'inflammation et est souvent surexprimée dans divers cancers, a été associée à la pathogenèse du cancer du côlon et d'autres types. La grenade pourrait avoir des effets antitumoraux en inhibant l'expression de l'enzyme COX-2, et en affectant des voies de signalisation cellulaire clés telles que Protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) et Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) (Maphetu *et al.*, 2022).

Le β -glucane isolé de la grenade présente également des effets antiprolifératifs contre les cellules cancéreuses utérines (Fazio *et al.*, 2018). La punicalagine et l'acide ellagique induisent l'apoptose des cellules de cancer de la prostate humaines et murines. Cet effet est lié à une augmentation du rapport Bcl-2-associated X protein(Bax)/B-cell lymphoma 2(Bcl2) et à l'activation de la caspase-3. L'acide ellagique a également montré des effets antiprolifératifs sur des cellules de cancer de la vessie (Azmat *et al.*, 2024). Bien que les huiles de pépins de grenade n'aient pas montré d'effet anticancéreux significatif sur les lignées cellulaires de cancer du poumon et du côlon (Lydia *et al.*, 2020).

7.6. Effet antidiabétiques

Le diabète et la résistance à l'insuline augmentent le risque de maladies cardiovasculaires, qui peuvent endommager les systèmes organiques et affecter le système immunitaire. L'obésité est un facteur majeur dans le développement du diabète de type 2.

Des recherches ont également mis en évidence les effets positifs des polyphénols de grenade sur la sensibilité à l'insuline et le métabolisme du glucose, ce qui suggère un potentiel dans la gestion du diabète et de l'obésité. Les composés actifs de la grenade, tels que l'acide ellagique et la trichétine, ont démontré une forte activité inhibitrice sur des enzymes liées à la digestion des glucides. De plus, différentes parties de la grenade présentent des propriétés antidiabétiques.

L'extrait d'écorce réduit le stress oxydatif associé à l'hyperglycémie, L'extrait de fleurs prévient le diabète de type II en abaissant les niveaux de glucose sanguin et en inhibant

l'enzyme alpha-glucosidase, l'extrait de feuilles améliore le métabolisme lipidique et l'hyperglycémie, offrant des avantages même dans les cas de complications telles que la néphropathie diabétique (Maphetu *et al.*, 2022).

7.7. Effet neuroprotecteur

Les troubles neurodégénératifs, tels que la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, les accidents vasculaires cérébraux, les migraines, sont un problème de santé mondial croissant en raison de facteurs tels que le stress environnemental, le vieillissement, la génétique et l'exposition aux radiations.

L'écorce de grenade, en particulier, est riche en composés tels que les proanthocyanidines, les ellagitanins, la punicalagine, la granatine, les flavonoïdes et les composés phénoliques, qui ont des propriétés neuroprotectrices (EmamiKazemabad *et al.*, 2022).

Ces composés agissent en améliorant la neurochimie cérébrale, en inhibant l'action du Facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) et en réduisant l'activité enzymatique de la cyclooxygénase 2 (Cox-2) et l'activité catalytique de l'enzyme caspase dans la neuro-inflammation. Ils contribuent également à prévenir les accidents vasculaires cérébraux grâce à leurs propriétés anticoagulantes et antiplaquettaires.

L'acide ellagique et les ellagitanins présents dans la grenade peuvent prévenir l'ischémie cérébrale, tandis que la punicalagine peut réduire le volume de l'infarctus et améliorer les résultats neurologiques après un accident vasculaire cérébral.

De plus, l'extrait de zeste de grenade a montré des résultats prometteurs contre la maladie d'Alzheimer en inhibant l'activité de l'acétylcholinestérase et en présentant une action antioxydante (Azmat *et al.*, 2024).

MATERIELS ET METHODES

1. Matériels

1.1. Matériel végétal.

L'écorce de *Punica granatum* est le matériel végétal utilisé dans ce travail. Elles ont été achetées dans un marché local à Constantine en novembre 2024. Les écorces de *P. granatum* ont été lavées, séchées à l'air libre, puis broyées afin d'obtenir une poudre fine. Une quantité de 10 g de cette poudre a été mise en macération dans 200 mL d'eau distillée pendant 72 heures, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange a ensuite été filtré, et le filtrat concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif (35°C) pour obtenir l'extrait aqueux final (**Figure 8**).

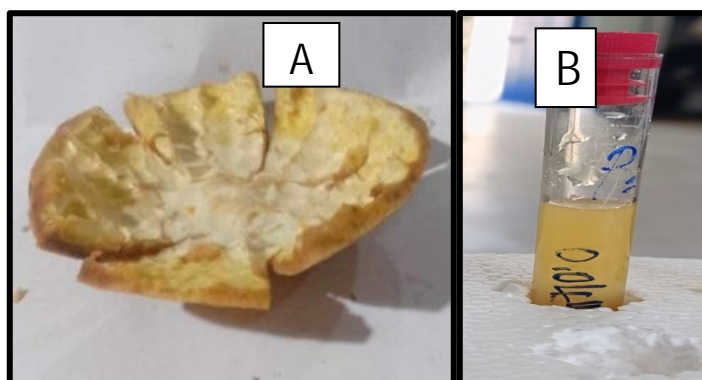


Figure8. (A) L'écorce de grenadier (*Punica granatum*) **(B)** L'extrait aqueux

1.2. Matériel animal

L'expérimentation a été réalisée sur 15 souris mâles de l'espèce *Mus musculus*, âgées de 45-60 jours et pesant entre 25g et 30 g (**Figure 9**).



Figure9. Sélection des souris

Les souris ont été élevées dans des conditions favorables au sein de l'animalerie du Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1. La température ambiante était maintenue entre 25 et 30 °C, avec un taux d'humidité compris entre 45 % et 60 %, et un cycle lumineux de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.

Pendant toute la période expérimentale, les animaux ont reçu une alimentation standard sous forme de granulés fournie par l'Office National des Aliments du Bétail (ONAB), ainsi que de l'eau du robinet distribuée à volonté.

2. Méthodes

2.1. Méthode de clairance du carbone

Le test de clairance du carbone a été réalisé selon la méthode décrite par Cheng et al. (2005)

Les souris ont été réparties en trois groupes de cinq souris chacun (**Figure 10**).

- **Groupe I (témoin)** : les souris ont reçu par voie orale de l'eau distillée.
- **Groupe II (standard)** : les souris ont reçu du Benzylselenocyanate (BSC) à la dose de 50 mg/kg par voie orale (**Tableau 03**).
- **Groupes III**: les souris ont été traitées par voie orale avec l'extrait aqueux de *P. granatum* (EAP) à 200 mg/kg de poids corporel.

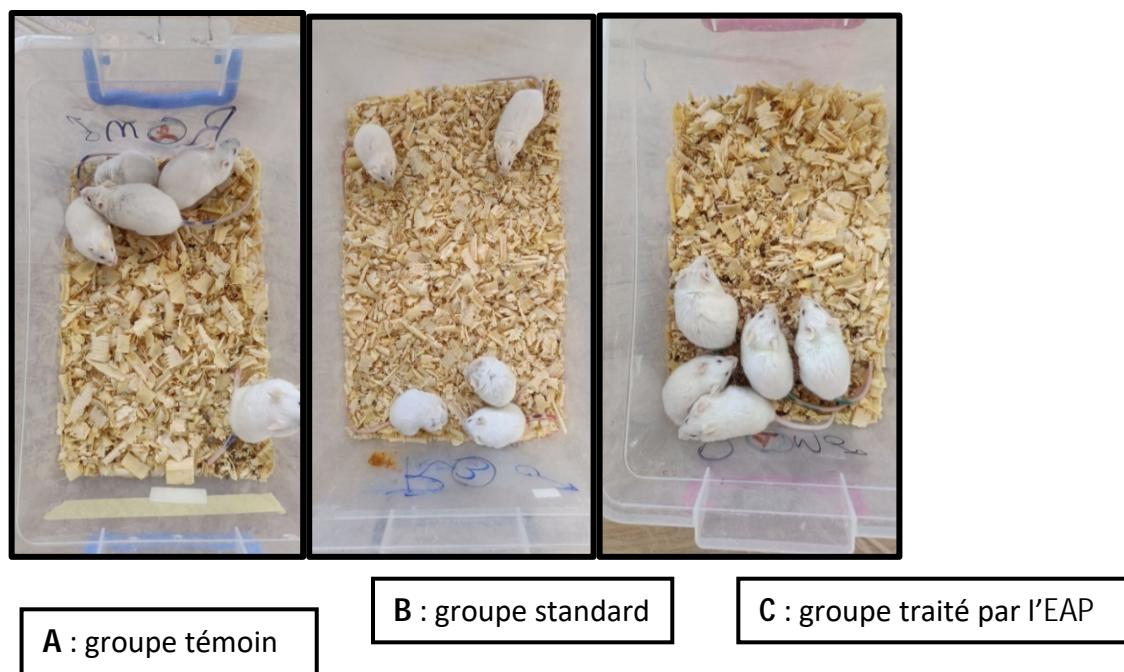


Figure10.Répartition des souris dans les différents lots.

Tableau 03 : Traitement des souris

Groupe expérimental	Traitement	Nombre d'animaux	Durée de l'expérience	Dose quotidienne
1 : Contrôle négatif	L'eau distillée	5	3 jours	/
2 : Contrôle positif	Benzylselenocyanate (BSC)	5	3 jours	50 mg/kg
3: Traitement par l'extrait	Extrait aqueux : <i>Punica granatum</i> (EAP)	5	3 jours	200 mg/kg

Après 3 jours de traitement, tous les animaux ont reçu une injection intraveineuse (via la veine caudale) de dispersion d'encre de Chine à raison de 0,1 ml/10 g de poids corporel (**figure 10, A**). Le mélange injecté était composé de 3 ml d'encre de Chine noire, 4 ml de solution saline et 4 ml de solution de gélatine à 3 %. Des échantillons sanguins ont été prélevés par ponction rétro-orbitale à l'aide de capillaires en verre aux 5 et 10 minutes après

l'injection de l'encre (**Figure 10, B**).Chaque échantillon a été ajouté à 4 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 0,1 % pour provoquer la lyse des hématies.

L'absorbance des échantillons a été mesurée à 675 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Figure 10, C**).

Les animaux ont ensuite été sacrifiés, et le foie ainsi que la rate ont été prélevés et pesés immédiatement à l'état frais (**Figure 10, D**).

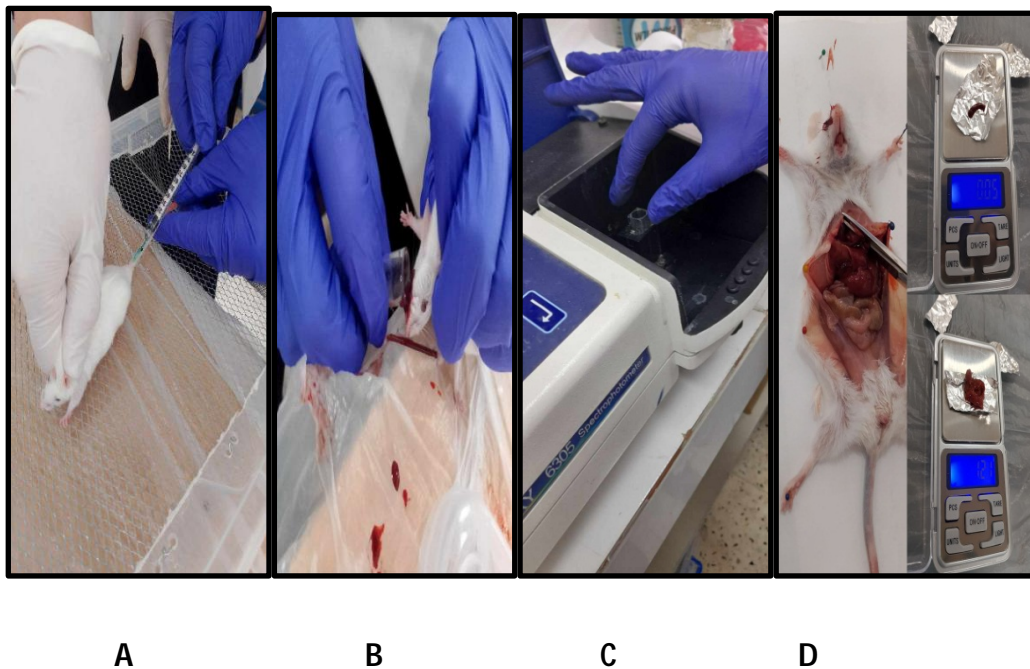


Figure11. (A) : Injection du carbone , **(B) :** Prélèvement sanguin au niveau des sinus rétro-orbitaires , **(C) :** Mesure de l'absorbance par spectrophotomètre , **(D) :** La mesure du poids frais du foie et de la rate.

➤ Les indices suivants ont été calculés à partir des résultats obtenus :

- Indice phagocytaire (K)
- Indice phagocytaire corrigé (α)
- Demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$)

L'activité phagocytaire, représentée par l'index phagocytaire (K), permet d'évaluer le rôle des cellules du système réticulo-endothélial lorsqu'elles entrent en contact avec un corps étranger présent dans la circulation sanguine, en l'occurrence des particules de carbone contenues dans l'encre de Chine.

Pour mesurer cette activité, on suit la vitesse à laquelle le carbone est éliminé du sang (cinétique de clairance), ce qui permet d'estimer l'efficacité du système immunitaire inné.

En complément, l'index phagocytaire corrigé (α) permet d'exprimer cette activité en tenant compte du poids des principaux organes impliqués dans la phagocytose, à savoir le foie et la rate.

La clairance du carbone est quantifiée à partir de sa demi-vie dans le sang ($t_{1/2}$, exprimée en minutes), et les différentes données liées à l'activité phagocytaire sont ensuite calculées selon des formules spécifiques.

❖ Les formules utilisées pour ces calculs sont présentées ci-après :

- **Indice phagocytaire (K)**

$$K = \frac{\ln(OD_1) - \ln(OD_2)}{t_2 - t_1}$$

où :

OD_1 = densité optique à 5 minutes

OD_2 = densité optique à 10 minutes

$t_2 - t_1$ = intervalle de temps entre les deux prélèvements (en minutes)

- **Indice phagocytaire corrigé (α)**

$$\alpha = \sqrt[3]{K} \times \frac{\text{Poids corporel de l'animal}}{\text{Poids du foie} + \text{Poids de la rate}}$$

- **Demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$)**

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K}$$

2.2. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de moyennes plus écart-type (SD). Ces données ont été analysées à l'aide du programme Statistical Package for Social Science (SPSS).

La différence statistique entre les trois groupes a été réalisée grâce à l'analyse des variances (ANOVA), suivie du test de comparaison multiple de Tukey. Cette différence sera considérée selon un risque d'erreur (p) comme : Non significative si $p > 0,05$ Significative si $p < 0,05$.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. RÉSULTATS

Les résultats de la **Figure 12** montrent une augmentation significative de l'activité phagocytaire dans les groupes traités par le standard Benzylselenocyanate (BSC) et par l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* (EAP), comparativement au groupe témoin.

L'EAP a induit une activité immunostimulante significativement plus élevée ($10,65 \pm 0,86$) que celle observée avec le sélénium ($9,19 \pm 0,91$) et le témoin ($4,01 \pm 0,42$) ($p < 0,05$).

• **Remarque** : Bien que certaines données spécifiques ne soient pas présentées dans cette section, il est important de noter que la valeur du paramètre K de l'EAP était supérieure à celle observée pour le standard et le témoin, traduisant une efficacité accrue. De plus, la demi-vie ($T_{1/2}$) de l'EAP était inférieure à celle du standard et du témoin, suggérant une action plus rapide et potentiellement plus efficace de l'extrait aqueux.

Ces résultats indiquent que l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* exerce une activité immunostimulante significativement plus marquée que celle du standard, mettant en évidence son fort potentiel en tant qu'agent immunomodulateur naturel.

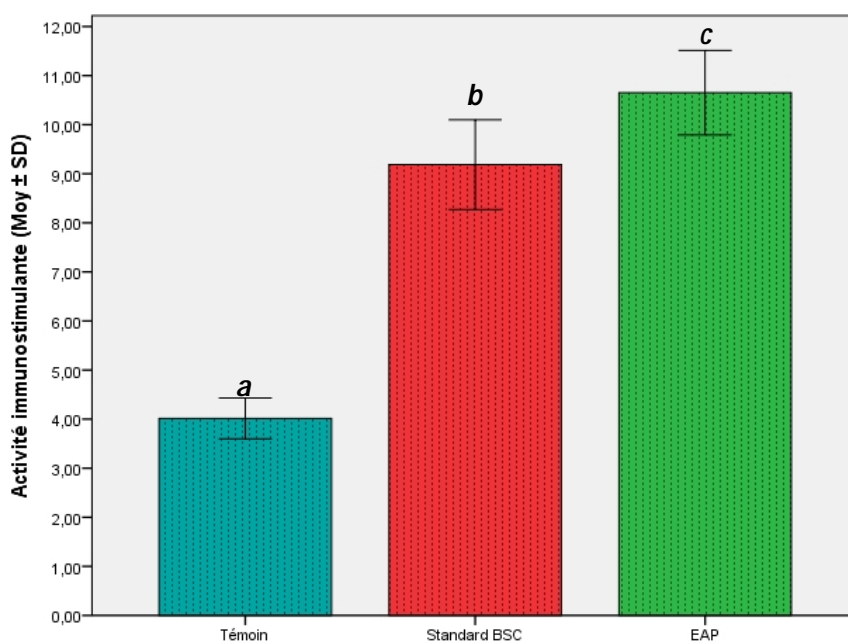


Figure12. Effet de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* (EAP) sur l'activité immunostimulante, comparé au groupe témoin et au standard Benzylselenocyanate (BSC). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type ($n = 5$). Les lettres différentes (a , b , c) indiquent des différences statistiquement significatives entre les groupes ($p < 0,05$, ANOVA suivie du test post-hoc de Tukey).

2. DISCUSSION

L'immunostimulation désigne l'ensemble des processus qui renforcent ou modulent la réponse immunitaire innée ou adaptative, notamment en activant les cellules effectrices du système immunitaire. Parmi ces cellules, les phagocytes jouent un rôle central, en particulier les macrophages et les polynucléaires neutrophiles, qui assurent la première ligne de défense contre les agents pathogènes par le biais de la phagocytose, de la libération de médiateurs inflammatoires, et de la présentation antigénique (**Gordon, 2016**). Le renforcement de cette activité phagocytaire constitue un marqueur clé de l'immunostimulation et un critère reconnu pour l'évaluation d'agents immunomodulateurs naturels.

Dans ce contexte, l'étude de l'effet de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* (EAP) sur l'activité phagocytaire, comparé à un standard de référence tel que le Benzylselenocyanate (BSC), revêt un intérêt particulier. Les résultats obtenus montrent que le traitement par EAP induit une activité immunostimulante significativement plus élevée que celle du BSC et du groupe témoin. Cette augmentation traduit une activation notable des phagocytes, suggérant une stimulation effective de la réponse immunitaire innée.

L'effet immunostimulant de l'écorce de *P. granatum* peut être attribué à sa richesse en composés bioactifs, notamment les ellagitannins (punicalagines, acide ellagique), flavonoïdes (quercétine, kaempférol), et tanins hydrolysables. Plusieurs études phytochimiques ont confirmé la richesse de l'écorce de *Punica granatum* en composés bioactifs hydrosolubles, particulièrement dans les extraits aqueux. En effet, **Ismail et al. (2012)** ont mis en évidence, à travers une analyse HPLC couplée à la spectrométrie de masse, la présence de punicalagines α et β , acide ellagique libre, acide gallique, ainsi que des flavonoïdes glycosylés, principalement quercétine-3-glucoside et kaempférol dérivés, dans les extraits aqueux de l'écorce. Ces composés sont connus pour leur fort pouvoir antioxydant ainsi que leur capacité à moduler l'immunité innée. De plus, une étude de **Reddy et al. (2007)** a montré que l'extrait aqueux d'écorce présentait une teneur en polyphénols totale plus élevée que celle de la pulpe ou des graines, ce qui corrobore son efficacité biologique accrue. Ces observations soutiennent l'hypothèse selon laquelle l'extrait aqueux conserve une fraction bioactive efficace, même sans solvants organiques, et qu'il pourrait agir via une synergie moléculaire impliquant les tanins hydrolysables, les ellagitannins et certains acides phénoliques.

Ces métabolites sont connus pour leur capacité à activer les macrophages, augmenter la production d'oxyde nitrique (NO), stimuler la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α), et moduler la signalisation via les récepteurs Toll-like (TLRs) (**Rosenbaum et al., 2013 ; Nair et al., 2013**). Des études ont également montré que certains composants de la grenade peuvent induire une prolifération des lymphocytes T et B, renforçant ainsi l'immunité adaptative (**Zahin et al., 2014**).

Le modèle utilisé ici, basé sur la clairance de l'encre de Chine, permet d'estimer la vitesse d'élimination des particules colloïdales par les cellules du système réticulo-endothélial (principalement les macrophages du foie et de la rate). L'augmentation significative des paramètres phagocytaires (K, α) et la réduction de la demi-vie ($t_{1/2}$) chez les animaux traités par l'EAP indiquent que cet extrait stimule efficacement la phagocytose. Ce type d'effet a également été observé avec d'autres extraits végétaux riches en polyphénols, ce qui renforce l'hypothèse d'une synergie entre les composés phénoliques et les tanins dans l'activation immunitaire (**Kim et al., 2013**).

Comparativement au Benzylselenocyanate, reconnu pour ses propriétés antioxydantes et immunostimulantes via la stimulation des sélénoprotéines (notamment la glutathion peroxydase) (**Rayman, 2012**), l'extrait aqueux d'écorce de grenade a montré une efficacité supérieure. Ce résultat est particulièrement intéressant, car il suggère que l'action combinée des polyphénols de l'extrait pourrait activer plusieurs voies immunitaires simultanément, contrairement à l'effet plus ciblé du sélénium.

Conclusion Et Perspectives

Conclusion et Perspectives

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude met clairement en évidence le potentiel immunostimulant de l'extrait aqueux d'écorce de *Punica granatum* (EAP). Comparé au standard Benzylselenocyanate (BSC), l'EAP a induit une activité phagocytaire significativement plus élevée, traduisant une activation renforcée de la réponse immunitaire innée. Cette efficacité semble étroitement liée à la richesse de l'extrait en composés bioactifs hydrosolubles, notamment les ellagitannins, flavonoïdes glycosylés et acides phénoliques, reconnus pour leurs effets sur les cellules immunitaires, en particulier les macrophages.

Le test de clairance de l'encre de Chine a permis de confirmer l'effet stimulant de l'EAP sur le système réticulo-endothélial, avec une amélioration notable des paramètres K et α , et une diminution de la demi-vie ($t_{1/2}$). Ces observations placent l'extrait aqueux d'écorce de grenade parmi les candidats prometteurs pour le développement de produits naturels à visée immunomodulatrice.

Notre travail ouvre ainsi de nouvelles perspectives de recherche, que nous considérons comme essentielles pour approfondir et valoriser les propriétés de cet extrait naturel :

- Mieux comprendre sa composition chimique, en identifiant avec précision les molécules actives responsables de l'effet observé.
- Explorer en détail les mécanismes d'action moléculaires, notamment ceux impliqués dans l'activation des cellules phagocytaires et la régulation des voies immunitaires.
- Étendre les investigations à d'autres modèles expérimentaux, aussi bien in vitro qu'in vivo, afin de confirmer et de consolider les résultats obtenus.

Ces pistes ouvriront la voie à une meilleure compréhension et à une valorisation thérapeutique potentielle de l'écorce de grenade, un sous-produit végétal souvent négligé, mais riche en promesses pour la santé humaine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abood W. (2017).Immunomodulatory and Natural Immunomodulators. *Journal of Allergy and Inflammation*. (1).pp :1.
- Aribi, B., Zerizer, S., Kabouche, Z., Screpanti, I., & Palermo, R. (2016). Effect of Argania spinosa oil extract on proliferation and Notch1 and ERK1/2 signaling of T-cell acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Food and Agricultural Immunology*, 27(3), 350-357.
- Azmat, F., Safdar, M., Ahmad, H., Khan, M. R. J., Abid, J., Naseer, M. S., ... & Suleria, H. A. R. (2024). Phytochemical profile, nutritional composition of pomegranate peel and peel extract as a potential source of nutraceutical: A comprehensive review. *Food Science & Nutrition*, 12(2), 661-674.
- Ben Kabouya, N., &Bouchareb, K. (2021).*Étude des bio-agresseurs du grenadier dans la palmeraie de Ghardaïa*. Université de Ghardaïa. Mémoire de Master.
- Benyahkem, M., & Lamri, K . *Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des trois espèces: Punica granatum L.(Grenadier); Zeamays L.(Maïs) et Lawsoniainermis L.(Henné)* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA).
- Calin, S. A., & Et Carboneli, B. A. A. (2005). La grenade cultivées en Espagne Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. *Livre. Natural ontioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne*, 77p.
- Bhinge, S. D., Bhutkar, M. A., Randive, D. S., Wadkar, G. H., Todkar, S. S., Savali, A. S., & Chittapurkar, H. R. (2021). Screening of hair growth promoting activity of *Punica granatum* L. (pomegranate) leaves extracts and its potential to exhibit antidandruff and anti-lice effect. *Heliyon*, 7(4).
- Biscu, F., Zouzaf, A., Cicia, D., Pridans, C., &Matteoli, G. (2024). Innate immunity champions: The diverse functions of macrophages. *European Journal of Immunology*, 54(12), 2451139.
- Biswajit D. ; Suvakanta D. ; Chandra CR. *et al.* (2014) : un aperçu du chlorhydrate de lévamisole à activité immunostimulante. *Am. J. pharm. Health. Res.*, 2 (4): 1 – 9.
- Bohmwald, K., Espinoza, JA, Pulgar, RA, Jara, EL, & Kalergis, AM (2017). Altération fonctionnelle du système phagocytaire mononucléaire par le virus respiratoire syncytial humain. *Frontiers in immunology* , 8 , 1643.
- Boitard C. (2000). Immunomodulation. *médecine/sciences*. (16) PP : 340-5.

- Calin, S. A., & Et Carboneli, B. A. A. (2005). La grenade cultivées en Espagne Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. *Livre. Natural ontioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.*
- Chatenoud L et bach J. (2012). Immunologie. Lavoisier. PP : 6. (éd.6).
- Damjanov, I. (2008). Inflammation and Repair. *Pathology Secrets*, (2): 19-37.
- Delneste, Y., Beauvillain, C., & Jeannin, P. (2007). Immunité naturelle-Structure et fonction des Toll-likereceptors. *médecine/sciences*, 23(1), 67-74.
- Dhama,R., Saminath K., Jocoh S., Singh M. (2015) . Effect of immunomodulation andimmunomodulatory agents on health with some bioactive principales mode of action and patent biomedical application. *International journal of pharmacologie*. 11(4).PP : 253-290.
- Domerego, R., Imbert, G., & Blanchard, C. (2006). *Remèdes de la ruche: découvrez tous les bienfaits santé des produits de la ruche!:[miel, pollen, propolis, gelée royale]*. Alpen Editions sam.
- Emami Kazemabad, M. J., Asgari Toni, S., Tizro, N., Dadkhah, P. A., Amani, H., Akhavan Rezayat, S., ... & Deravi, N. (2022). Pharmacotherapeutic potential of pomegranate in age-related neurological disorders. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 955735.
- Evreinoff, V. A. (1949). Le grenadier (*Punica granatum L*). *Fruits*, 4(5), 161-170
- Farhangi, H., Ajilian, M., Saeidi, M., and Khodaei, G. H. (2014). Medicinal fruits in holy Quran. *International Journal of Pediatrics*, 2(3): 89-102.
- Fazio, A., Iacopetta, D., La Torre, C., Ceramella, J., Muià, N., Catalano, A., ... & Sinicropi, M. S. (2018). Finding solutions for agricultural wastes: Antioxidant and antitumor properties of pomegranate Akko peel extracts and β -glucan recovery. *Food & function*, 9(12), 6618-6631.
- Foucher, E. (2015). *Génération et fonctions des macrophages immunorégulateurs* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Funes, S. C., Rios, M., Escobar-Vera, J., & Kalergis, A. M. (2018). Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology*, 154(2), 186-195.
- Galaine, J., Godet, Y., & Adotévi, O. (2016). Pour comprendre: l'activation lymphocytaire T. *Bulletin du Cancer*, 103, S127-S131.

- Gavlighi, H. A., Tabarsa, M., You, S., Surayot, U., & Ghaderi-Ghahfarokhi, M. (2018). Extraction, characterization and immunomodulatory property of pectic polysaccharide from pomegranate peels: Enzymatic vs conventional approach, *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 698-706.
- Ge, S., Duo, L., Wang, J., Yang, J., Li, Z., & Tu, Y. (2021). A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. *Journal of ethnopharmacology*, 271, 113877.
- Gordon, S. (2016). Phagocytosis: An immunobiologic process. *Immunity*, 44(3), 463–475.
- Gosset-Erard, C., Zhao, M., Lordel-Madeleine, S., & Ennahar, S. (2021). Identification of punicalagin as the bioactive compound behind the antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Food Chemistry*, 352, 129396.)
- Goubet, A. G., Derosa, L., Marabelle, A., & Zitvogel, L. (2018). Anticorps monoclonaux en oncologie: déclencher une réponse immunitaire en plus de la réduction tumorale spécifique. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 202(3-4), 707-735.
- Grosogeat, H. (2009). Ma promesse anti-âge. Odile Jacob .PP :181.
- Guo, L. H., Ge, D. P., Yuan, R. E. N., Dong, J. M., Zhao, X. Q., et al. (2022). The comparative analysis and identification of secondary metabolites between Tibet wild and cultivated pomegranates (*Punica granatum* L.) in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(3): 736-750.
- Haniffa, M., Bigley, V., & Collin, M. (2015). Human mononuclear phagocyte system reunited. *Seminars in cell & developmental biology*, 41, 59–69.
- Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate : Botany, horticulture, breeding. *Horticultural reviews*, 35, 127-191.
- Holtzhausen, A., Zhao, F., Evans, K. S., Tsutsui, M., Orabona, C., Tyler, D. S., & Hanks, B. A. (2015). Melanoma-derived Wnt5a promotes local dendritic-cell expression of IDO and immunotolerance: opportunities for pharmacologic enhancement of immunotherapy. *Cancer immunology research*, 3(9), 1082-1095.
- Hume, D. A. (2008). Differentiation and heterogeneity in the mononuclear phagocyte system. *Mucosal immunology*, 1(6), 432-441.
- Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 397–405.

- Jeannin, P., Jaillon, S., & Delneste, Y. (2010). Biologie des récepteurs de l'immunité innée: applications cliniques et thérapeutiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2010(424), 41-51.
- Jnah, M. (2022). *Physiologie et physiopathologie du système de phagocytes mononuclées et dendritiques* (Thèse de doctorat, Université de Mohammed V de Rabat). P 24-25
- Kahramanoglu, I., & Usanmaz, S. (2016). *Pomegranate production and marketing*. CRC Press.
- Kim, H., Ban, J. O., & Kim, J. Y. (2013). The role of polyphenols in modulation of immune responses. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(5), 715–725.
- Koneispayeva G., Fay B., Loiseau G. (2009). The composition of milk meta analysis of lituatur data. *Journal of food composition and analysis* .22.pp : 25- 101.
- Kumar U ., Manjunath C., Thaminzhmani T., Ravi Y., Brahmaiah Y. (2012). A Review on Immunomodulatory Activity Plants. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*. 4(2).PP : 93-103.
- Kumari, A., Dora, J., & Kumar, A. (2012). Pomegranate (*Punica granatum*) Overview. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 1, 1218-1222.
- Lansiaux, A. (2011). Les antimétabolites. *Bulletin du cancer*, 98(11), 1263-1274.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.
- Lee, K. M., Yin, C., Verschoor, C. P., & Bowdish, D. M. (2013). Macrophage function disorders. eLS. *John Wiley & Sons, Ltd: Chichester*. DOI, 10(9780470015902), a0002174.
- Lydia, D. E., Khusro, A., Immanuel, P., Esmail, G. A., Al-Dhabi, N. A., & Arasu, M. V. (2020). Photo-activated synthesis and characterization of gold nanoparticles from *Punica granatum* L. seed oil: An assessment on antioxidant and anticancer properties for functional yoghurt nutraceuticals. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 206, 111868.
- Ma, W. T., Gao, F., Gu, K., & Chen, D. K. (2019). The role of monocytes and macrophages in autoimmune diseases: a comprehensive review. *Frontiers in immunology*, 10, 1140.
- Maphetu, N., Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Olisah, C., & Lebelo, S. L. (2022). Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113256
- Marie-Anaïs, F. (2016). *Mécanismes de formation et de fermeture des phagosomes dans les macrophages* (Thèse de doctorat, Université Paris Descartes). P 12.

- Miloud, R. (2019). *Contribution à la valorisation d'une plante médicinale de grenadier (Punica granatum L) de la region biskra*. (mémoire de mastere. universite mohamed khider de biskra).
- Nagarathna, P. K. M., Reena, K., Reddy, S., & Wesley, J. (2013). Review on immunomodulation and immunomodulatory activity of some herbal plants. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 22(1), 223-230.
- Patil VS., Jaydeokar AV. et Bandawane DD. (2012) :Immunomodulateur : A pharmacologica review. *Int. J. pharm. Pharm. Sci.*, 4(1) : 30 – 36.
- Picard, B et Bauchart, D . (2010). Muscle et viande de ruminant. Editions Quae. PP : 275.
- Pierre, A. (2017). *Role du vieillissement et des peptides d'elastine sur la reponse inflammatoire et immunitaire au cours de la broncho-pneumopathie chronique obstructive (bpco)* (Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne).P 21-22
- Rayman, M. P. (2012). Selenium and human health.*The Lancet*, 379(9822), 1256–1268.
- Reddy, M. K., Gupta, S. K., Jacob, M. R., Khan, S. I., & Ferreira, D. (2007). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punicagranatum L. PlantaMedica*, 73(5), 461–467.
- Saparbekova, A. A., Kantureyeva, G. O., Kudasova, D. E., Konarbayeva, Z. K., & Latif, A. S. (2023). Potential of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum L.*) by-product with significant antioxidant and therapeutic effects: A narrative review. *Saudi journal of biological sciences*, 30(2), 103553.
- Saroj, P., Verma, M., Jha, K. K., & Pal, M. (2012). An overview on immunomodulation. *Journal of Advanced Scientific Research*, 3(01), 7-12.
- Setiadhi, R., Sufiawati, I., Zakiawati, D., Nurâ, N., Hidayat, W., & Firman, D. R. (2017). Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed ethanolic extracts in swiss webster mice. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 2(2), 119-123.
- Sharma, L., Wu, W., Dholakiya, S. L., Gorasiya, S., Wu, J., Sitapara, R., Patel, V., Wang, M., Zur, M., Reddy, S., Siegelaub, N., Bamba, K., Barile, F. A., & Mantell, L. L. (2014). Assessment of phagocytic activity of cultured macrophages using fluorescence microscopy and flow cytometry. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1172, 137–145.

- Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punicagranatum L.* *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 21(3), 221-227.
- Silva, M., Videira, P. A., & Sackstein, R. (2018). E-Selectin Ligands in the Human Mononuclear Phagocyte System: Implications for Infection, Inflammation, and Immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 8, 1878.
- Stojanović, I., Šavikin, K., Đedović, N., Živković, J., Saksida, T., Momčilović, M., ... & Menković, N. (2017). Pomegranate peel extract ameliorates autoimmunity in animal models of multiple sclerosis and type 1 diabetes. *Journal of functional foods*, 35, 522-530.
- Turcotte, M. (2018). CD73: cible thérapeutique dans le cancer de l'ovaire et le cancer du seinHER2+
- Uribe-Querol, E., & Rosales, C. (2020). Phagocytosis: our current understanding of a universal biological process. *Frontiers in immunology*, 11, 1066.
- Wald, E. (2009). *Le Grenadier (Punica granatum): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes*. (Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré 1).
- Wu, L., Kong, L., Yang, Y., Bian, X., Wu, S., Li, B., ... & Ye, J. (2019). Effects of cell differentiation on the phagocytic activities of IgM+ B cells in a teleost fish. *Frontiers in immunology*, 10, 2225.
- Yang, S., Zhao, M., & Jia, S. (2023). Macrophage: Key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 14, 1080310.
- Yang, Y., Tu, Z. K., Liu, X. K., & Zhang, P. (2018). Mononuclear phagocyte system in hepatitis C virus infection. *World journal of gastroenterology*, 24(44), 4962–4973.
- Yannick, T. K. (2025). Rôle de l'immunité innée dans la prévention des infections virales et bactériennes. *Journal of Business and Technologies*, 1(6).
- Yeap S ., AbdRahman M ., Alitheen N., Yong Ho W., Omar A ., KeeBeh B., KyH. (2011). Evaluation of immunomodulatory effect .*American Journal of Immunology*. (2).pp : 17-23.
- Zahin, M., Aqil, F., & Ahmad, I. (2014). Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of *Punica granatum L.* peel extracts. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 749(1–2), 1–9.

-Zelepukin, I. V., Shevchenko, K. G., & Deyev, S. M. (2024). Rediscovery of mononuclear phagocyte system blockade for nanoparticle drug delivery. *Nature Communications*, 15(1), 4366.

Résumé

Résumé

Le grenadier (*Punica granatum*) est une plante fruitière ayant une longue tradition d'utilisation médicinale dans de nombreuses civilisations. L'ensemble de la plante, y compris ses fruits, graines, écorces, feuilles et racines, a été utilisé en médecine traditionnelle pour traiter divers troubles tels que les parasitoses intestinales, la fièvre, la diarrhée, ainsi que pour améliorer la santé cardiovasculaire.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité immunostimulante de l'extrait aqueux d'écorces de *P.granatum* sur l'activité des cellules phagocytaires, éléments clés du système immunitaire inné en raison de leurs rôles multiples dans la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes. Le modèle d'élimination de l'encre de Chine a été utilisé pour mesurer la vitesse de clairance des particules étrangères par le système réticulo-endothélial. Des souris *Mus musculus* ont reçu pendant trois jours une dose quotidienne de 200 mg/kg d'extrait aqueux, ainsi que du sélénium à titre comparatif.

Les résultats ont montré une augmentation significative des paramètres phagocytaires (α , k) et une diminution du temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de l'encre de Chine. L'activité immunostimulante la plus élevée a été observée dans le groupe traité avec l'extrait de *P. granatum* ($10,65 \pm 0,86$), comparée à celle du sélénium ($9,19 \pm 0,91$) et du groupe témoin ($4,01 \pm 0,42$) ($p < 0,05$). Ce renforcement de l'activité phagocytaire pourrait s'expliquer par l'action synergique des composés bioactifs présents dans les écorces de *P.granatum*, notamment les ellagitannins, flavonoïdes et tanins hydrolysables.

En conclusion, l'extrait aqueux d'écorces de *P. granatum* présente des propriétés immunostimulantes notables, en particulier en activant les cellules phagocytaires, ce qui favorise l'élimination des particules étrangères. Ces résultats suggèrent son potentiel en tant qu'agent thérapeutique naturel pour la modulation du système immunitaire.

Mots-clés : *Punica granatum* L, L'activité immunostimulante, Cellules phagocytaires, Encre de chine, *Mus musculus*.

Abstract

The pomegranate (*Punica granatum*) is a fruit-bearing plant with a long history of medicinal use across various civilizations. The entire plant including its fruits, seeds, peel, leaves, and roots has been used in traditional medicine to treat a variety of ailments such as intestinal parasitic infections, fever, diarrhea, and to promote cardiovascular health.

The objective of this study is to evaluate the immunostimulatory activity of the aqueous extract of *P. granatum* peel on the activity of phagocytic cells, which are key components of the innate immune system due to their crucial roles in recognizing and eliminating pathogens. The Chinese ink clearance model was used to measure the rate at which foreign particles are removed by the reticuloendothelial system. *Mus musculus* mice were administered a daily dose of 200 mg/kg of the aqueous extract for three days, with selenium used as a comparative agent.

The results showed a significant increase in phagocytic parameters (α , k) and a decrease in the half-life ($t_{1/2}$) of Chinese ink. The highest immunostimulatory activity was observed in the group treated with the *P. granatum* extract (10.65 ± 0.86), compared to the selenium group (9.19 ± 0.91) and the control group (4.01 ± 0.42) ($p < 0.05$). This enhancement in phagocytic activity may be attributed to the synergistic action of bioactive compounds present in the *P. granatum* peel, particularly ellagitannins, flavonoids, and hydrolyzable tannins.

In conclusion, the aqueous extract of *P. granatum* peel exhibits notable immunostimulatory properties, particularly by activating phagocytic cells, which promotes the elimination of foreign particles. These findings suggest its potential as a natural therapeutic agent for modulating the immune system.

Keywords: *Punica granatum* L, Immunostimulatory activity, Phagocytic cells, Chinese ink, *Mus musculus*

ملخص

يعد الرمان (*Punica granatum*) فاكهة ذات تاريخ عريق وغني في مختلف الحضارات، و يعود استخدامه في الطب التقليدي إلى آلاف السنين، حيث استُخدمت جميع أجزاء الشجرة، من الفاكهة والبذور إلى القشور والأوراق والجذور، لأغراض طبية، فقد عُرِفَ بقدرته على محاربة الطفيليات المعوية، وتخفيف الحمى، وعلاج الإسهال، وتحسين صحة القلب والأوعية الدموية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المحفز للمناعة للمستخلص المائي من قشور الرمان على نشاط الخلايا البلعمية، وهي عناصر أساسية في الجهاز المناعي الفطري بسبب أدوارها المتعددة في التعرف على مسببات الأمراض والقضاء عليها. استعمل نموذج إزالة الحبر الصيني لتقييم سرعة التخلص من الجسيمات الغريبة بواسطة خلايا الجهاز الشبكي البطاني (reticuloendothelial system) و تلقت فئران *Mus musculus* جرعة منتظمة من مستخلص قشور الرمان (200مغ/كغ) ومن السيلينيوم وهذا لمدة ثلاثة أيام.

اظهرت نتائجنا زيادة ملحوظة في المعايير البلعمية (α ,k) وانخفاض في نصف العمر ($t_{1/2}$) للحبر الصيني حيث سجلت قيمة أعلى للنشاط المحفز للمناعة (0.86 ± 10.65) مقارنة بالسيلينيوم (9.19 ± 0.91) والمجموعة الضابطة (4.01 ± 0.42) ($p < 0.05$).، وهذا يشير إلى أن التأثير التآزري للمركبات المتعددة في الرمان يمكن أن ينشط مسارات مناعية متعددة في وقت واحد. ويُعزى هذا النشاط المحفز للمناعة إلى ثراء قشور الرمان بمركبات نشطة بيولوجيًا مثل الإيلاجيتانينات (ellagitannins) والفلافونويدات (flavonoids) والتانينات القابلة للتحلل مائيًا (hydrolysable tannins).

بناءً على النتائج المتنوعة يظهر مستخلص قشور الرمان *P. granatum* خصائص تحفيزية للخلايا البلعمية ولجهاز المناعة مما يساعد في التخلص من الاجسام الغريبة. وهذا ما يجعله مرشحاً واعداً للعلاج الدوائي كمحفز طبيعي للجهاز المناعي.

الكلمات المفتاحية: النشاط المحفز للمناعة , الحبر الصيني , الخلايا البلعمية , *Mus musculus* , *Punica granatum* L

<p>Année universitaire : 2024-2025</p>	<p>Présenté par : Boulahlib Ikram Rebouh Amira Bouadjel Djihane</p>
<p align="center">Evaluation de l'activité immunostimulante de l'extrait aqueux de <i>Punica granatum</i> sur le système phagocytaire chez la souris</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en : Immunologie Moléculaire et Cellulaire</p>	
<p>Résumé :</p> <p>Le grenadier (<i>Punica granatum</i>) est une plante fruitière ayant une longue tradition d'utilisation médicinale dans de nombreuses civilisations. L'ensemble de la plante, y compris ses fruits, graines, écorces, feuilles et racines, a été utilisé en médecine traditionnelle pour traiter divers troubles tels que les parasitoses intestinales, la fièvre, la diarrhée, ainsi que pour améliorer la santé cardiovasculaire.</p> <p>L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité immunostimulante de l'extrait aqueux d'écorces de <i>P. granatum</i> sur l'activité des cellules phagocytaires, éléments clés du système immunitaire inné en raison de leurs rôles multiples dans la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes. Le modèle d'élimination de l'encre de Chine a été utilisé pour mesurer la vitesse de clairance des particules étrangères par le système réticulo-endothélial. Des souris <i>Mus musculus</i> ont reçu pendant trois jours une dose quotidienne de 200 mg/kg d'extrait aqueux, ainsi que du sélénium à titre comparatif.</p> <p>Les résultats ont montré une augmentation significative des paramètres phagocytaires (α, k) et une diminution du temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de l'encre de Chine. L'activité immunostimulante la plus élevée a été observée dans le groupe traité avec l'extrait de <i>P. granatum</i> ($10,65 \pm 0,86$), comparée à celle du sélénium ($9,19 \pm 0,91$) et du groupe témoin ($4,01 \pm 0,42$) ($p < 0,05$). Ce renforcement de l'activité phagocytaire pourrait s'expliquer par l'action synergique des composés bioactifs présents dans les écorces de <i>P. granatum</i>, notamment les ellagitannins, flavonoïdes et tanins hydrolysables.</p> <p>En conclusion, l'extrait aqueux d'écorces de <i>P. granatum</i> présente des propriétés immunostimulantes notables, en particulier en activant les cellules phagocytaires, ce qui favorise l'élimination des particules étrangères. Ces résultats suggèrent son potentiel en tant qu'agent thérapeutique naturel pour la modulation du système immunitaire</p>	
<p>Mots-clés : <i>Punica granatum</i> L, L'activité immunostimulante, Cellules phagocytaires, Encre de chine <i>Mus musculus</i>.</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire d'immunologie et des activités biologiques des substances naturelles , Université Frères Mentouri Constantine 1- Algérie.</p>	
<p>Président du jury : Dr TEBANI Fethi (MCA - UFM Constantine1). Encadrant e: Dr TARTOUGA Maya Abir (MCB - UFM Constantine 1). Examinatrice : Mme MECHATI Chahinez (MAA - UFM Constantine 1).</p>	