



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة مtentouri
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Département : Biologie Animale

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 :

**Etude *in vivo* de l'activité immunomodulatrice de l'huile de graines de
*Crataegus azarolus***

Présenté par : EUTAMENE Khaoula

Le : 22/06/2025

Jury d'évaluation :

Présidente: MECHATTI Chahinez (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : MESSAOUDI Sabar (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateuse: ARIBI Boutheyna (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024- 2025**



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة مtentouri
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Département : Biologie Animale

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 :

**Etude *in vivo* de l'activité immunomodulatrice de l'huile de graines de
*Crataegus azarolus***

Présenté par : EUTAMENE Khaoula

Le : 22/06/2025

Jury d'évaluation :

Présidente: MECHATTI Chahinez (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : MESSAOUDI Sabar (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateuse: ARIBI Boutheyna (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024- 2025**

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **ALLAH**, Le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la patience dans les moments de besoin, la force dans les instants de faiblesse, la volonté face au désespoir, et de nous avoir permis d'arriver jusqu'ici.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à notre encadreur, **Dr. MESSAOUDI Sabar**, Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1 – Algérie – pour avoir accepté de nous encadrer, nous orienter, et pour sa disponibilité tout au long de la préparation de notre mémoire.*

*Nous adressons une pensée particulière à **Mme MECHATI Chahinez, Dr. ARIBI Boutheyna, Dr TARTOUGA Maya Abir et Dr MOKHTARI Mohamed Badreddine** pour leur disponibilité et leur gentillesse tout au long de notre stage.*

*Nos remerciements vont également à **Mr. BAHRI Laïd**, responsable de l'animalerie, ainsi qu'à toute l'équipe pour leur aide précieuse et leurs explications tout au long de notre travail expérimental.*

*Nous remercions sincèrement le chef de département de biologie animale **Dr. BEN DJABALLAH Mohamed** et tout le personnel de l'Université des Frères Mentouri pour leur contribution et leur sérieux.*

Dédicace

Avec toute ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux à qui, quels que soient les mots choisis, je n'arriverai jamais à exprimer l'ampleur de mon amour sincère.

À mes très chers parents, ce travail est le fruit de leur soutien inconditionnel tout au long de ma scolarité. Mes remerciements ne pourront jamais égaler leur amour, leurs encouragements et leurs innombrables sacrifices.

*À mon frère **Mohamed El Amine**.*

À mes sœurs, toujours soucieuses d'apporter la joie et le bonheur à toute la famille.

À mes chères amies, pour leurs encouragements, leurs conseils et leur précieux soutien moral.

*À ma sincère amie, mon âme sœur «**Rayenne**» qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager, que dieu la protège.*

À mon fiancé, merci pour ta présence, ton soutien et tes encouragements durant ce travail.

Remerciements	
Dédicaces	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : Système immunitaire	
1. Définition du système immunitaire	03
2. Les organes lymphoïdes	03
2.1 Les organes lymphoïdes centraux	04
2.1.1 La moelle osseuse	04
2.1.2 Le thymus	05
2.2 Les organes lymphoïdes périphériques	06
2.2.1 Les ganglions lymphatiques	06
2.2.2 La Rate	07
2.2.3 Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses	08
3. Les cellules du système immunitaire	10
3.1 La lignée lymphoïde	11
3.1.1 Les lymphocytes T	11
3.1.2 Les lymphocytes B	13
3.1.3 La cellule tueuse naturelle	15
3.2 La lignée myéloïde	16
3.2.1 Les Mastocytes	16
3.2.2 Les monocytes	16
3.2.3 Les macrophages	17

3.2.4 Les granulocytes	17
3.2.5 Les cellules dendritiques	18
4. Les molécules du système immunitaire	19
4.1 Les Immunoglobulines (Ig)	19
4.2 Le système du complément	21
4.3 Les cytokines.....	22
5. La réponse immunitaire	23
5.1 L'immunité innée	24
5.1.1 Implication des composants sanguins dans l'inflammation	25
5.2 L'immunité adaptative	26
5.2.1 Immunité humorale	26
5.2.2 L'immunité à médiation cellulaire	27
6. Le dysfonctionnement du système immunitaire	27
6.1 Les maladies auto-immunes	27
6.2 Cancer	27
6.3 Hypersensibilité	28
7. L'immunomodulation	28
7.1 Les immunostimulateurs	29
7.2 Les immunosuppresseurs	29
Chapitre II : donnée générales sur l'espèce <i>Crataegus azarolus</i>	
1. <i>Crataegus azarolus</i>.....	30
1.1 Etymologie.....	30
1.2 Origine	30
1.3 Description botanique	30
1.4 Classification Botanique	30
1.5 Aires de répartition	31
1.6 Activités biologiques du fruit de <i>Crataegus azarolus</i>.....	32
1.6.1 Activité antioxydante	33

1.6.2 Activité anticancéreuse	33
1.6.3 Activité anti-inflammatoire	33
1.6.4 Activité immunomodulatrice	33
Partie pratique	
Matériel et méthodes	
1. Evaluation de l'activité immunomodulatrice de l'huile des graines de <i>Crataegus azarolus</i>	
1.1 Matériel	34
1.1.1 Matériel végétal	34
1.1.2 Choix des animaux	34
2. Méthodes	35
2.1 Procédure expérimentale	35
2. 1.1 Répartition des groupes	35
2.2.2 Mode d'administration du traitement	37
2.2.3 Injection du carbone	38
2.2.4 Prélèvement sanguin	39
2.2.5 Prélèvement des organes	40
2.2 Estimation de l'activité phagocytaire	41
3. Analyses statistiques	41
Résultats et discussion	
1. Effet de l'huile de graines de <i>Crataegus azarolus</i> sur le poids des souris	42
2. Effet de l'huile de graines de <i>Crataegus azarolus</i> sur l'activité phagocytaire	43
Conclusion et perspectives.....	51
Références bibliographiques.....	51
Annexe	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Liste des abréviations

Ac: Anticorps

ADCC: Cytotoxicité Cellulaire Dépendante des Anticorps

Ag: Antigène

AND: Désoxyribonucléique

BCR: B Cell Receptor

CAM: Cell Adhesion Molecule

CD: Cluster of differentiation

CDR: Complementary Determining Region

CMH: Complexe Majeur d’Histocompatibilité

CSH: Cellule Souche Hématopoïétique

DCs: Cellules Dendritiques

Fc: Fragments Constants

GALT: Tissu Lymphoïde Associé à l’Intestin

HS: Escherichia coli

IFN- γ : Interféron Gamma

Ig: Immunoglobulin

ITAM: Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif

LB: Lymphocytes B

LT: Lymphocytes T

Liste des abréviations

LTc: Cytotoxiques

LTh: LT helpers

MALT: Mucosal Associated Lymphoid tissue

Na2Co3: Carbonate de sodium

NK: Naturel Killer

OD: Densité Optique

PLAS: Manchons Lymphoïdes Périartériolaires

TCR: T Cell Receptor

TNF: Facteurs de Nécrose Tumorale

Treg: Lymphocytes T régulateurs

μ : Mu

α : Alpha

γ : Gamma

δ : Delta

ε : Epsilon

ζ : Zêta

Liste des Figures

Figure 01. Le système immunitaire	03
Figure 02. La moelle osseuse rouge	04
Figure 03. Structure du Thymus.	06
Figure 04. Structure d'un ganglion lymphatique.	07
Figure 05. Structure de la rate.	08
Figure 06. Localisation des tissus lymphoïde.	10
Figure 07. Hématopoïèse et formes des cellules immunitaires.	10
Figure 08. TCR	13
Figure 09. BCR	15
Figure 10. Récepteurs et fonctions effectrices des cellules NK.	16
Figure 11. Cellule dendritique.....	19
Figure 12. Structure de base d'Ig.	20
Figure 13. Les voies d'activation du complément	22
Figure 14. Réponse immunitaire (innée et adaptative).....	24
Figure 15. Réponse inflammatoire.	25
Figure 16. Différentes parties de l'Azerolier	31
Figure 17. Distribution géographique de l'espèce <i>Crataegus azarolus</i>	32
Figure 18. Extraction de l'huile par pression à froid	34
Figure 19. Répartition des souris	35
Figure 20. Markage et mesure de poids des souris.	36

Liste des Figures

Figure 21. Calcul des doses des extraits.	38
Figure 22. Les étapes de l'injection du carbone.....	38
Figure 23. Les étapes de prélèvement sanguin.	39
Figure 24. Lecture de l'absorbance des différents tubes.	39
Figure 25. Dissection et séparation des organes (Foie et rate)	40
Figure 26. Prélèvements d'organes (Foie et rate) et mesure de poids	40
Figure 27 : Effet l'huile de graines de <i>Crataegus azarolus</i> sur le poids des souris.....	42
Figure 28 : Effet de l'huile de <i>Crataegus azarolus</i> sur l'index phagocytaire corrigé (α) dans le test de l'épuration sanguine du carbone chez la souris.....	45

Liste des tableaux

Tableau 01. Rôle des cytokines dans la réponse inflammatoire	23
Tableau 02. Répartition des groupes et traitement des souris.....	36





Partie bibliographique



Introduction

Introduction

Le système immunitaire protège contre les forces destructrices soit à l'extérieur du corps (bactéries, virus et parasites) ou à l'intérieur (cellules malignes et autoréactives). Il comprend deux divisions fonctionnelles qui travaillent ensemble de manière coordonnée (**Goldsby *et al.*, 2000**).

Le système immunitaire inné se compose de composants cellulaires, de facteurs solubles, de barrières physiques et du système réticulo-endothélial (SER). Il fournit une défense précoce de l'hôte contre les infections avant le développement d'une réponse immunitaire adaptative (**Borgdan *et al.*, 2000**).

Le système immunitaire adaptatif produit une réaction spécifique et une mémoire immunologique à chaque pathogène et comprend des composants cellulaires et des facteurs solubles .Le SER se compose des cellules phagocytaires telles que les monocytes et les macrophages qui tuent l'organisme envahissant par la phagocytose, et ce dernier est un multi-processus étape qui commence par engloutir l'organisme et se termine par la modification et la décomposition chimique de ses composants structurels (**Brannon-Peppas et Blanchette, 2004**).

De plus, l'immunomodulation est la régulation et la modulation de l'immunité soit en augmentant soit en réduisant la réponse immunitaire. Un immunomodulateur peut influencer tout constituant ou toute fonction du système immunitaire d'une manière spécifique ou non spécifique, y compris les bras innés ou adaptatifs de la réponse immunitaire (**Shivaprasad *et al.*, 2006**).

Un immunomodulateur peut provoquer une immunostimulation en stimulant les cellules effectrices ou la production de leurs inducteurs métaboliques ou en inhibant les facteurs limitant l'immunité. L'immunosuppression peut être obtenue en stimulant les cellules inhibitrices et les facteurs humoraux, ou en inhibant les cellules effectrices (**Dumet, et Watier, 2019**).

Les immunostimulateurs sont connus pour soutenir la fonction des cellules T, activer les macrophages, les granulocytes, le complément et les cellules tueuses naturelles, en plus d'affecter la production de diverses molécules effectrices générées par les cellules activées. Il est attendu que les effets non spécifiques offrent une protection contre différents agents

Introduction

pathogènes, y compris les bactéries, les champignons et les virus, et constituent une alternative à la chimiothérapie conventionnelle (**Wagner et al., 2003**).

Le mode actuel de traitement de diverses maladies inflammatoires basé sur des médicaments synthétiques est coûteux, modifie les voies génétiques et métaboliques et présente également des effets secondaires indésirables. De ce point de vue, les produits naturels sont de bons remèdes dans le traitement des maladies et ils sont abordables et efficaces sans aucun effet indésirable (**Rahmani et al., 2014**).

Les plantes ont toujours été la source de la médecine et d'une utilisation directe pour l'humanité. Tous les systèmes de médecine traditionnelle ont leurs racines dans la médecine populaire et les remèdes ménagers (**Panda et al., 2011**).

De plus, un grand nombre de plantes ont montré une immunité potentielle. Il a même été démontré que certaines plantes médicinales exercent une activité immunomodulatrice et anticancéreuse (**Luthra et al., 2011; Singh, et al., 2017; Bharti et al., 2023**).

En conséquence, et en raison des divers intérêts biologiques dans les métabolites secondaires (flavonoïdes, diterpènes, glycosides phénylethanoïdes, acide ursolique..) de l'espèce *Crataegus azarolus*, nous pouvons utiliser son huile de graines pour évaluer son effet thérapeutique et évaluer son activité immunomodulatrice potentielle (**Mustapha et al., 2016**). En outre, ils peuvent être utilisés comme substances thérapeutiques afin de prévenir l'apparition de différentes pathologies.

À cette fin et dans la présente étude, nos objectifs étaient les suivants :

- Évaluer l'effet de la consommation de l'huile obtenu à partir de graines de *Crataegus azarolus* sur le poids corporel des souris *Mus musculus*.
- Évaluer l'effet immunomodulateur de l'huile de graines de *Crataegus azarolus* en utilisant un essai de clairance du carbone.



Chapitre I :

Le système immunitaire

1. Définition du système immunitaire

Le système immunitaire est le système biologique de l'organisme capable de distinguer le « soi » du « non soi ». Il existe deux grands types d'immunité, l'immunité innée et l'immunité acquise ou adaptative. L'immunité innée permet d'assurer la réponse immédiate lors d'une agression de l'organisme par un pathogène, cette réponse est médiée par les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules naturel killer (NK).

L'immunité acquise quant à elle, assure l'élimination du pathogène dans la phase terminale de l'infection et permet d'assurer la mémoire immunitaire. Elle est médiée par les lymphocytes B et T (LB et LT). Dans chacun de ces deux mécanismes, les cytokines jouent un rôle prépondérant, elles permettent la différenciation de chaque type de cellule immunitaire et assurent également le recrutement des acteurs de la réponse immune pour l'élimination du pathogène (Musilli, 2016) (Figure 01).

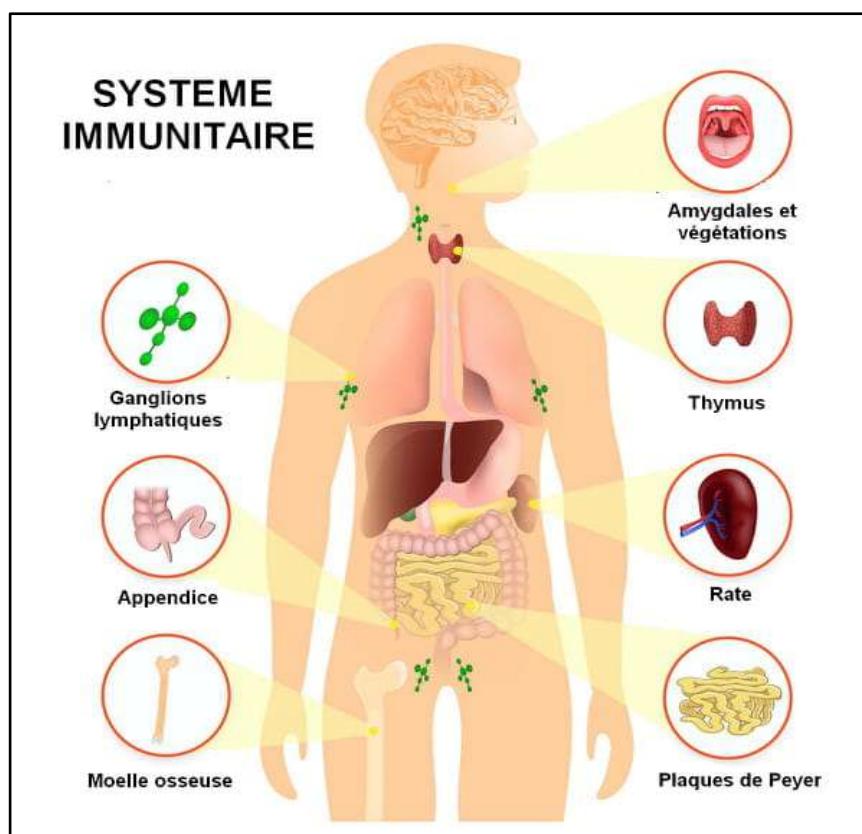


Figure 01 : Le système immunitaire (Musilli, 2016).

2. Les organes lymphoïdes

Il existe deux types d'organes lymphoïdes ; les organes lymphoïdes primaires ou centraux, qui représentent le site de production et de maturation des cellules lymphoïdes, et les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques, qui sont le site de la rencontre des cellules de la défense immunitaire avec l'antigène (Ag) (Soltani *et al.*, 2020).

2.1 Les organes lymphoïdes centraux

La moelle osseuse et le thymus sont des organes lymphoïdes primaires chez l'homme adulte, représentant le site de production et de maturation des cellules lymphoïdes (Janeway, 2009).

2.1.1 La moelle osseuse

La moelle osseuse n'est pas un organe anatomique, mais l'un des tissus composant l'os. C'est un organe hématopoïétique contenant différentes lignées sanguines, et constituant également un site de maturation des lymphocytes B.

On distingue la moelle osseuse rouge, ainsi nommée car elle contient de nombreux vaisseaux et érythrocytes, et la moelle osseuse jaune, majoritairement composée d'adipocytes. Cependant, seule la moelle osseuse rouge remplit une fonction immunitaire. Elle est présente dans tous les os à la naissance, mais elle régresse progressivement au cours de la vie pour être remplacée par de la moelle osseuse jaune. Chez l'adulte, seuls les os plats et les vertèbres contiennent encore de la moelle osseuse rouge (Chatenoud *et al.*, 2012) (Figure 02).

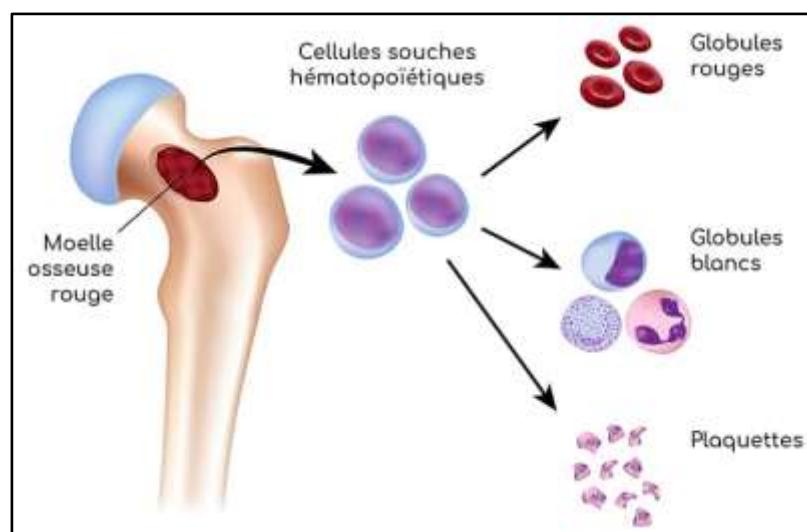


Figure 02 : La moelle osseuse rouge (Chatenoud *et al.*, 2012).

Toutes ces cellules hématopoïétiques dérivent de cellules souches multipotentes, capables de générer non seulement toutes les cellules immunitaires, mais aussi toutes les cellules sanguine (**Ben-krinah et al., 2023**).

En plus, la moelle osseuse est le lieu de la prolifération cellulaire et de la différenciation des LB. Les gènes codant les anticorps sont réorganisés au cours du développement des cellules B. Les cellules Pré-B expriment seulement des chaînes μ intracytoplasmiques. Les cellules B immatures n'ont que des IgM de surface et les cellules B matures des IgM et des IgD. Donc, d'une part, seuls les lymphocytes B ayant effectué des réarrangements productifs de leurs gènes d'immunoglobulines, c'est-à-dire exprimant un récepteur BCR fonctionnel, seront retenus. Par ailleurs, les lymphocytes B qui expriment des anticorps auto-réactifs seront éliminés par apoptose.

La maturation ultérieure des cellules B dépend de la présence de l'antigène spécifique du récepteur du lymphocyte B. Cette maturation a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires. Après stimulation antigénique, les cellules B sont activées, prolifèrent et se différencient en plasmocytes ou en cellules B à mémoire (**Soltani et al., 2020**).

2.1.2 Le thymus

Le thymus est composé de deux lobes comprenant chacun des lobules. À l'intérieur de ce dernier se trouve une partie périphérique nommée cortex, contenant les thymocytes (lymphocytes T immatures). Plus en profondeur, se trouve la médulla, laquelle contient les thymocytes les plus matures. En effet, les pro-thymocytes en provenance de la moelle osseuse colonisent d'abord le cortex, puis migrent vers la médulla. Cette migration des thymocytes est un processus complexe qui nécessite diverses chimiokines telles que CCR7, CCR9 et CCR4 (**Ben Krinah et al., 2023**) (**Figure 03**).

Le thymus est un organe lympho-épithéial. Il est la source des lymphocytes T dont la maturation dépend d'une double sélection, positive et négative, grâce à des interactions cellulaires avec les cellules épithéliales de la corticale et les cellules dendritiques et les macrophages de la médullaire.

- **La sélection positive** s'effectue dans le cortex thymique. Elle permet de retenir les lymphocytes T (LT ou Thymocytes) qui expriment, après réarrangement génique, un récepteur antigénique (TCR, T Cell Receptor) capable d'interagir avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH I/II) qui sont présentées par les cellules

épithéliales. Cette interaction moléculaire implique les molécules CD4 et CD8, et elle détermine la spécialisation des LT qui deviennent soit CD8+ soit CD4+.

- **La sélection négative** entraîne l'apoptose des LT ayant une trop forte affinité de leur récepteur antigénique avec des peptides du soi, qui sont présentés par des molécules du CMH de classe I et II par les cellules dendritiques et les macrophages de la médullaire.

Seuls les lymphocytes tolérant le «soi» pourront sortir du thymus par les veinules post-capillaires situées à la jonction de la corticale et de la médullaire, assurant ainsi leur périphérisation dans les organes lymphoïdes secondaires (**Legrand, 2002**)

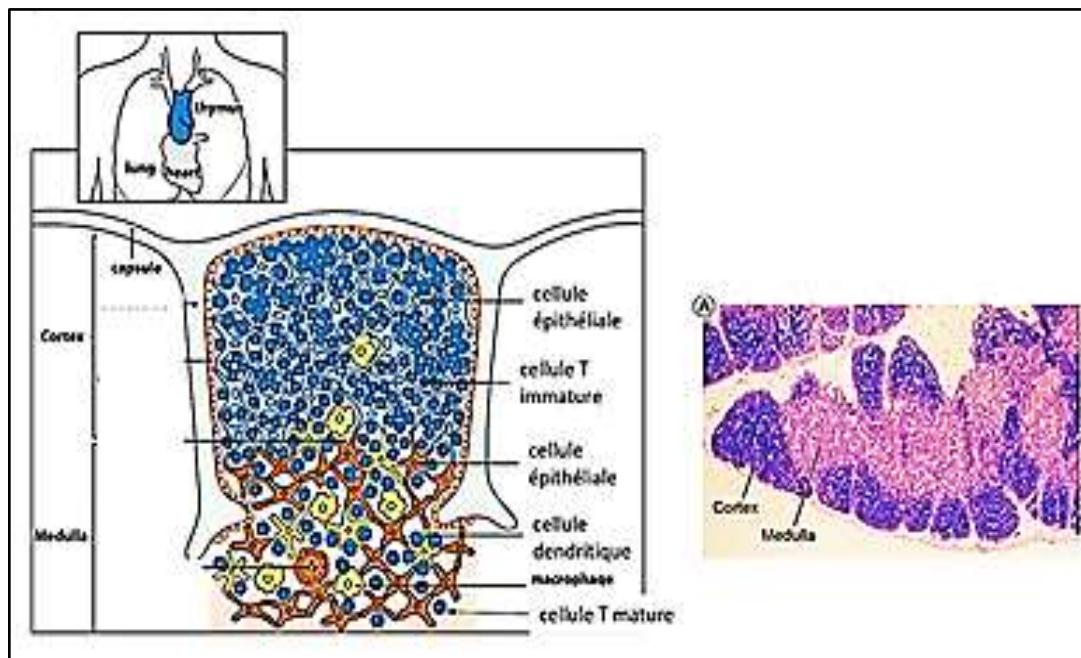


Figure 03 : Structure du Thymus (**Ben Krinah et al., 2023**).

2.2 Les organes lymphoïdes périphériques

Les organes lymphoïdes périphériques comprennent les ganglions lymphatiques, la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses de l'intestin, du tractus respiratoire et nasal, du tractus urogénital et d'autres muqueuses. Au niveau des organes lymphoïdes secondaires, les cellules matures et naïves sont retenues, et c'est là que la réponse immunitaire acquise débute. Cependant, avant cela, l'infection déclenche une réponse immunitaire innée (**Benali, 2023**).

2.2.1 Les ganglions lymphatiques

Les ganglions lymphatiques sont des organes encapsulés qui ponctue le réseau lymphoïde et qui contiennent des agrégats de lymphocytes et des cellules présentant l'antigène. Ils sont placés de façon stratégique afin d'intercepter les antigènes provenant de la périphérie.

Les ganglions sont constitués de trois régions principales :

- La zone corticale (zone B) contient des follicules lymphoïdes, riches en lymphocytes B.
- La zone paracorticale (zone T) contient essentiellement des lymphocytes T interagissant avec des cellules dendritiques qui leur présentent des antigènes.
- La médullaire : c'est une zone mixte qui contient des LT, des LB et de nombreux macrophages et plasmocytes (**Figure 04**).

A l'intérieur des ganglions lymphatiques, circule la lymphe qui est collectée au niveau des interstices des organes. Cette organisation permet l'élimination des débris, des bactéries et des cellules cancéreuses via la lymphe (filtration) et l'interaction entre lymphocytes B/T, macrophages et cellules dendritiques pour générer des réponses humorales (anticorps) et cellulaires, c'est l'activation immunitaire (**Ben krinah et al., 2023**).

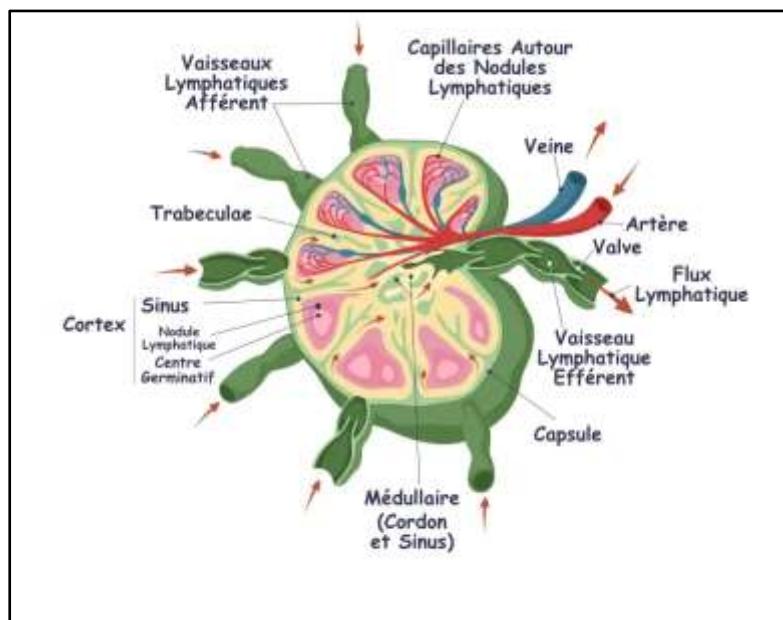


Figure 04 : Structure d'un ganglion lymphatique (**Ben krinah et al., 2023**).

2.2.2 La rate

La rate est l'organe lymphoïde secondaire le plus volumineux de l'organisme, en effet, il mesure environ 12 à 13 cm de long chez l'adulte, possédant le ¼ des lymphocytes corporels et initie les réponses immunitaires. C'est un organe allongé d'environ 150 g chez l'homme, situé dans la partie supérieure gauche de l'abdomen.

Elle est entourée d'une capsule conjonctive dense, fine, comportant des fibres élastiques et des cellules musculaires lisses (dont la proportion varie selon les espèces). De plus, la couche

la plus externe de la capsule de la rate est composée de cellules mésothéliales, qui ne peuvent pas être évidentes sur les coupes histologiques. Par la suite, la capsule envoie des travées très courtes dans le parenchyme splénique. Ces travées sont complétées par un réseau de fibres de réticuline abondant qui soutient le parenchyme splénique. À l'intérieur de ces travées, cheminent une artère et une veine trabéculaires (**Figure 05**).

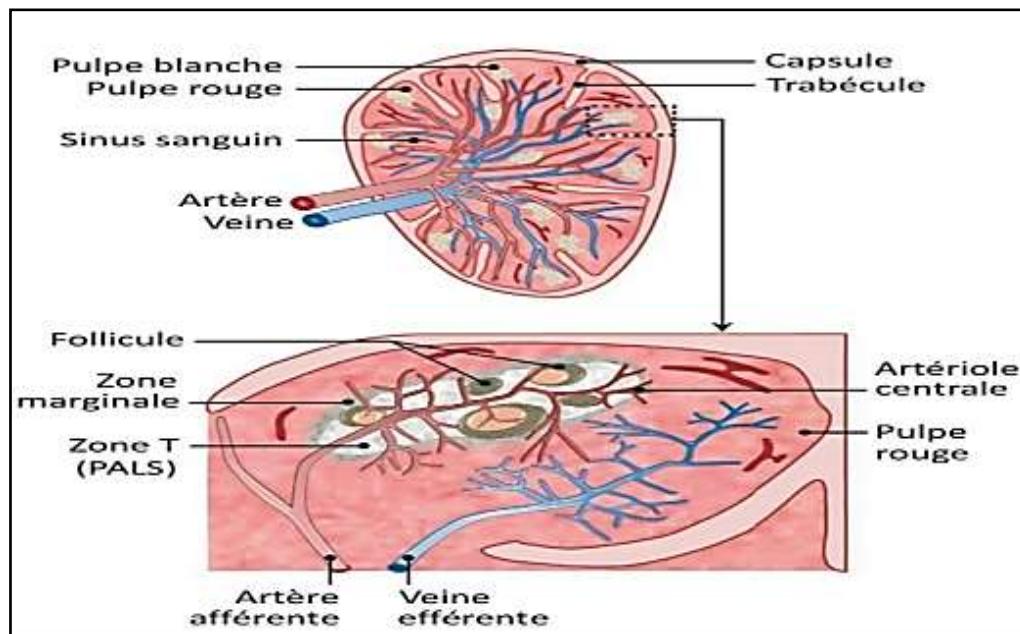


Figure 05 : Structure de la rate (Ben krinah *et al.*, 2023).

La rate ne comprend ni cortex ni médulla. En revanche, elle possède deux compartiments distincts morphologiquement et dont les fonctions diffèrent :

- La pulpe rouge : assure la fonction hémolytique ; un filtre du sang qui permet l'élimination de la circulation sanguine des globules rouges âgés et altérés, des plaquettes, ainsi que des substances particulières telles que les micro-organismes.
- La pulpe blanche : la pulpe blanche constitue la composante immunitaire de la rate. Elle permet de déclencher une réponse immunitaire dirigée contre les antigènes présents dans le sang. Les cellules qui la composent sont similaires à celles des ganglions lymphatiques, à la différence près que les antigènes atteignent la rate par voie sanguine, et non par la lymph. L'artère splénique traverse la capsule de la rate et se divise en artéries de plus en plus fines, qui débouchent dans des sinus vasculaires, eux-mêmes drainés par la veine splénique. Ces sinus sont entourés par la pulpe rouge, riche en érythrocytes. La pulpe blanche, quant à elle, s'organise en manchons lymphoïdes périartériolaires (PALS) autour des artéries.

Ces manchons sont riches en lymphocytes T. Adjacent au PALS, on trouve la zone marginale, une région riche en lymphocytes B. Cette zone contient des follicules lymphoïdes qui peuvent évoluer en follicules secondaires avec des centres germinatifs en réponse à l'activation antigénique (**Kacem, 2014**).

2.2.3 Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses

Les muqueuses contiennent des formations lymphoïdes d'autant plus abondantes que le contact avec le milieu extérieur est facile à travers l'épithélium amenant une exposition avec les antigènes. La muqueuse digestive, respiratoire et uro-génitale contient un tissu lymphoïde diffus ou des formations lymphoïdes bien individualisées ; MALT (mucosal associated lymphoid tissue) étroitement associé aux épithéliums de revêtement (**Figure 06**). On distingue :

- Les GALT (formations lymphoïdes associées à l'appareil digestif) qui comprend notamment les amygdales, les plaques de Peyer situées au niveau de l'iléon et l'appendice.
- LES MALT (formations lymphoïdes associées aux bronches) situé dans la muqueuse des grosses voies aériennes.
- Des lymphocytes B et des plasmocytes disséminés dans le chorion des muqueuses intestinales et respiratoires.
 - ❖ Les amygdales (ou cercle lymphoïde de Waldeyer) : Elles sont situées dans la bouche (amygdales palatines) et dans la gorge, au niveau de la paroi de l'oropharynx. Leur taille varie, mais elles sont généralement plus développées chez l'enfant. Elles ont la capacité de détruire les antigènes avalés ou inhalés et peuvent également être le siège d'inflammations, comme l'amygdalite ou l'angine.
 - ❖ Le tissu lymphoïde de l'intestin (plaques de Peyer) : Il est localisé à l'extrémité distale de l'iléon, où les replis de la muqueuse intestinale deviennent de plus en plus réduits. On y trouve de nombreux follicules lymphoïdes, appelés plaques de Peyer, considérés comme des structures lymphoïdes secondaires. Ces plaques contribuent à neutraliser les agents pathogènes présents dans la lumière intestinale (**kacem, 2014**).

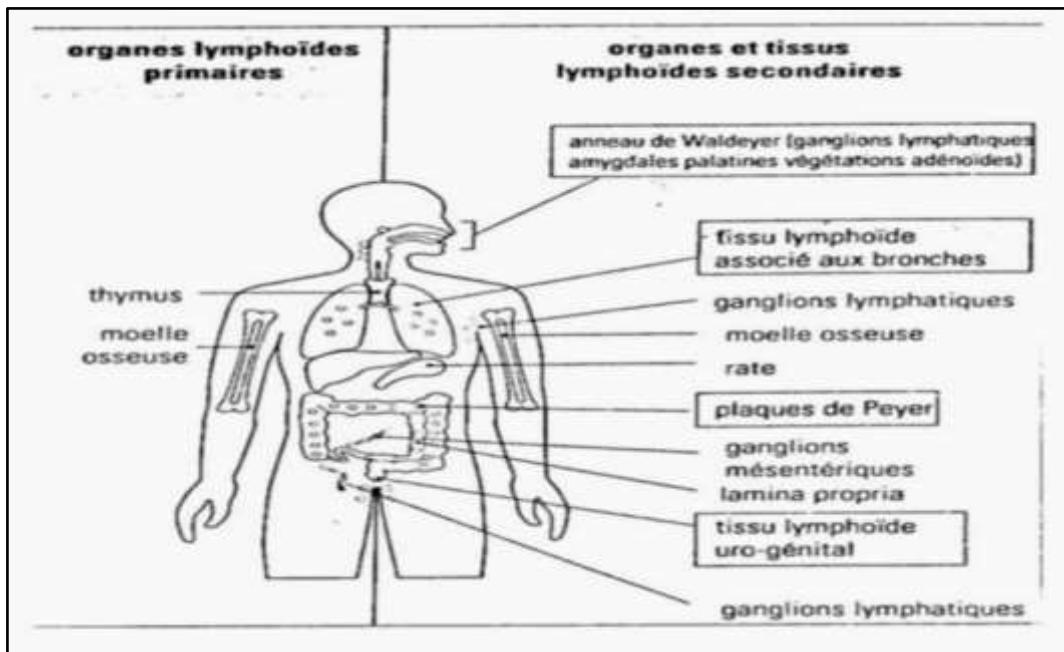


Figure 06 : Localisation des tissus lymphoïde (kacem, 2014).

3. Les cellules du système immunitaire

Le système immunitaire est constitué de cellules différentes, reparties dans tout le corps, chaque catégorie a une fonction spécifique, et toutes ces cellules dérivent originellement d'un même progéniture << la cellule souche hématopoïétique >> (CSH) au cours d'un processus appelé hématopoïèse, donnant naissance à des cellules progénitrices lymphoïdes et des cellules progénitrices myéloïdes (Boutabet *et al.*, 2021) (Figure 07).

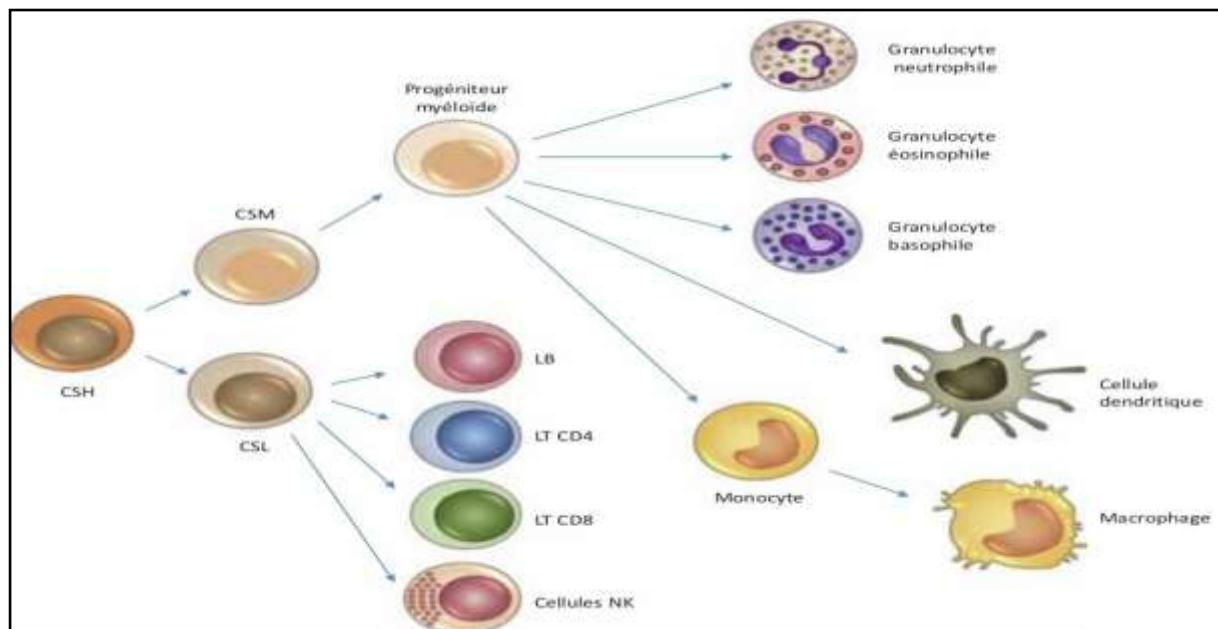


Figure 07 : Hématopoïèse et formes des cellules immunitaires (Boutabet *et al.*, 2021).

3.1 La lignée lymphoïde

Cette lignée englobe les cellules lymphoïdes qui constituent 25% des globules blancs, et qui jouent un rôle vital dans le système de défense immunitaire de l'organisme. Ce type cellulaire se subdivise en trois catégories cellulaires dont les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK (**Labadla et al., 2021**).

3.1.1 Les lymphocytes T

Comme toutes les cellules immunitaires, les LT ont pour origine les CSH qui vont se diviser et se différencier en précurseurs des LT nommés pro-thymocytes. Ces cellules migrent vers le thymus sous l'effet des chimiokines CXCL12 et CCL25 où elles vont maturé en LT (**Eaves, 2015 ; Ben Krinah et al., 2023**).

C'est une classe de lymphocytes qui occupe un rôle majeur dans la réponse immunitaire, tant primaire que secondaire. On distingue deux principaux types de LT, les LT auxiliaires ou helpers (LTh) et les LT cytotoxiques (LTc), qui ont des rôles distincts dans la réponse du système immunitaire.

- Les LTc manifestent le regroupement CD8 à leur surface. Ils participent à la destruction des cellules infectées par un agent pathogène et des cellules tumorales par la libération de cytokines telles que l'interféron gamma (IFN- γ) et le TNF (Facteurs de Nécrose Tumorale). Ils ont aussi la capacité de libérer le contenu de leurs granules (incluant la perforine et les granzymes) dans le but d'induire l'apoptose des cellules dangereuses.
- Les LTh montrent à leur surface l'expression du cluster de différenciation CD4. Leur rôle principal sera d'orchestrer la réponse immunitaire. On distingue trois catégories majeures de LTh : les Th1, les Th2 et les Th17. Chacune d'elles présente des phénotypes distincts en matière de sécrétion de cytokines, engendrant des propriétés fonctionnelles spécifiques à chaque type (**Matthieu, 2009**). Les Th17 ont des propriétés pro-inflammatoires marquées et contrôlent les bactéries extracellulaires principalement à la surface des épithéliums. Les cellules Th17 sont aussi les effecteurs principaux de pathologies auto-immunes à spécificité d'organe dont la sclérose en plaques, le psoriasis et la maladie de Crohn.
- On trouve aussi les lymphocytes T régulateurs (Treg) CD4+ qui sont impliqués dans le maintien de la tolérance périphérique et la prévention des maladies auto-immunes. Ils

régulent également les réponses immunes observées dans les allergies, les greffes, les cancers et les maladies infectieuses (Lalle, 2022).

* Les TCR

Les TCR sont des récepteurs membranaires caractéristiques des lymphocytes T. Ils procurent aux LT la propriété de reconnaître des fragments peptidiques antigéniques associés aux molécules du CMH et ceci de manière spécifique. (Laale, 2022) (Figure 08).

Les TCR sont des hétéro-dimères extrêmement polymorphe au sein de l'individu. Ils sont de deux types suivant les chaînes composant l'hétéro-dimère et sont caractérisés par différentes régions présentes au niveau des deux chaînes associées l'une à l'autre par un pont disulfure :

- Une **région V** (pour *variable*) qui va permettre la reconnaissance de l'antigène et qui va être à l'origine du polymorphisme des TCR. Elle-même possède des **régions hypervariables CDR** (pour « *Complementary Determining Region* ») qui sont les zones de contact avec l'antigène.
- Une **région C** (pour *constante*).
- Une **région transmembranaire**.
- Une **région intra-cytoplasmique** qui est très courte.

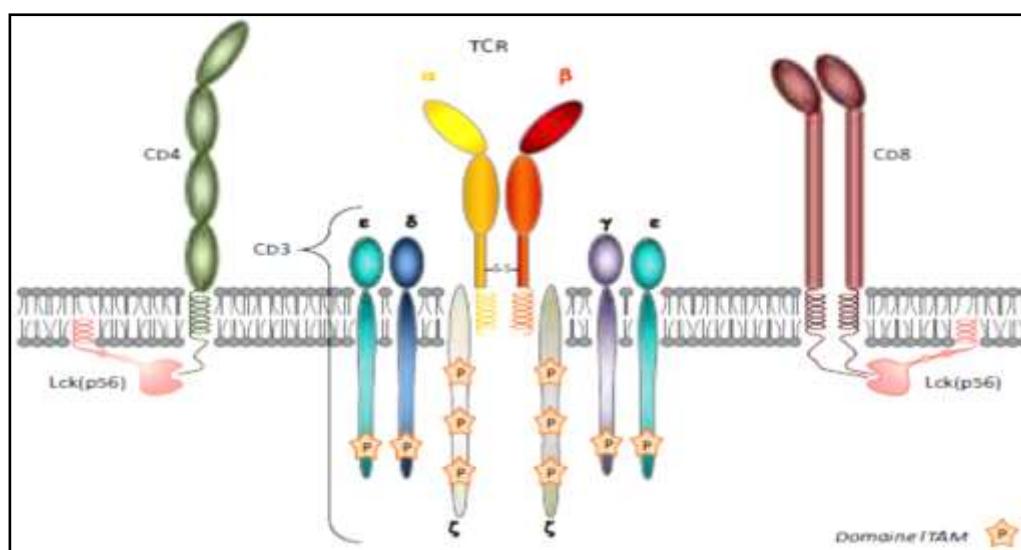
Les clusters de différenciation sont des molécules associées au TCR et ayant des fonctions complètement différentes les uns des autres. Les LT présentent le TCR associé avec le complexe CD3, plus un des deux clusters de différenciation CD4 ou CD8.

- CD3 : les chaînes α et β du TCR possèdent une région intra-cytoplasmique très courte ; ceci ne permet donc pas de transmettre le signal secondaire au sein de la cellule. La transmission du signal est donc réalisée par d'autres chaînes possédant des segments intra-cytoplasmiques plus longs, qui font parties du complexe protéique CD3 toujours associé au TCR. Le CD3 est indispensable à l'expression du TCR. Les chaînes du complexe ne possèdent pas de sites de liaisons à un ligand mais jouent simplement comme rôle de transmettre le signal d'activation du TCR lorsque celui-ci rentre en contact avec les peptides antigéniques présentées sur le CMH (Laborde, 2022).

Les chaînes du complexe CD3 sont au nombre de 6 :

- La chaîne γ , la chaîne δ et les deux chaînes ϵ possèdent chacune un domaine immunoglobuline-like et une région intra-cytoplasmique longue présentant des motifs ITAM. Chacune des chaînes ϵ s'associent en hétéro-dimères avec les chaînes γ et δ .

- Les deux chaînes ζ (zéta) ont une très grande partie intra-cytoplasmique, possèdent chacune deux motifs ITAM et forment entre elles un homo-dimère. Les motifs ITAM sont des motifs d'activation présentant des tyrosines. Ces tyrosines vont pouvoir être phosphorylées par des kinases lors de la transmission du signal, afin d'activer le LT.
- CD4 : est une protéine monomérique membranaire présentant 4 domaines immunoglobuline-like et associé au TCR. Le CD4 est exprimé par certains lymphocytes T (LT-CD4), leur permettant de reconnaître les molécules du CMH-II présentent à la surface des cellules présentatrices d'antigène, au niveau de la région immunoglobuline-like formée par les domaines $\beta 2$ -microglobuline et. Il joue donc un rôle dans le renfort de l'interaction entre le LT et la cellule présentatrice d'antigène, ainsi que dans la transmission du signal aux LT.
- CD8 : est une protéine hétéro-dimérique membranaire associé au TCR et dont chacune des chaînes α et β présentent un domaine immunoglobuline-like. Les deux chaînes sont associées l'une à l'autre par un pont disulfure. Le CD8 est exprimé par LT-CD8, leur permettant de reconnaître les molécules du CMH-I présentent à la surface de cellules cibles, au niveau de la région immunoglobuline-like formée par les domaines $\alpha 2$ et $\beta 2$. Il joue ainsi un rôle dans le renfort de l'interaction entre le LT et la cellule cible, ainsi que dans la transmission du signal aux LT (Miroux, 2011).



➤ Figure 08 : TCR. (Laborde, 2022).

3.1.2 Les lymphocytes B

Les lymphocytes B (LB) sont chargés de produire des immunoglobulines (Ig), qui peuvent être soit de type membranaire, dénommées BCR (récepteur des lymphocytes B), soit sécrétées, et dans ce cas appelées anticorps (Ac). Les plasmocytes, résultant de la différenciation des cellules B activées suite à une liaison avec un antigène (Ag), sécrètent les Ac tandis que d'autres deviennent des lymphocytes B mémoire, capables de répondre rapidement et efficacement lors d'une réinfection par le même antigène. Par ailleurs, les LB présentent sur leur surface une multitude de protéines indispensables à leur fonctionnement optimal, la molécule CD20 figure parmi celles-ci et elle est présente sur toutes les LB matures. Elle est impliquée dans le processus de maturation et de multiplication des cellules B (**Pineau, 2021**).

➤ BCR

La reconnaissance spécifique de l'antigène est la caractéristique majeure de la réponse immunitaire adaptative. La molécule impliquée dans ce processus au niveau du lymphocyte B est une immunoglobuline exprimée à sa surface (BCR). Le répertoire lymphocytaire B d'un individu comporte plusieurs millions de lymphocytes B se distinguant par la spécificité de leur immunoglobuline. La génération de ces millions d'immunoglobulines différentes ne peut s'expliquer par les règles générales de la génétique conventionnelle (gène→ARN→protéine). En effet, la limitation du génome humain qui ne comporte que 30 000 gènes implique le développement d'une stratégie/mécanisme de diversification qui, à partir d'un nombre limité et fini de gènes, va permettre l'élaboration d'un répertoire phénoménal d'immunoglobulines. Ainsi, la diversité du BCR résulte de recombinaisons des segments de gènes codant les chaînes lourdes et légères qui le constituent. Les régions constantes des différentes chaînes lourdes et légères sont invariables, alors que les régions variables sont différentes d'une immunoglobuline à l'autre et spécifiques chacune d'un épitope antigénique. Cette variabilité résulte de la participation de plusieurs segments de gènes à la constitution de la séquence génique codant les régions variables de l'immunoglobuline (**Chriti, 2021**) (**Figure 09**).

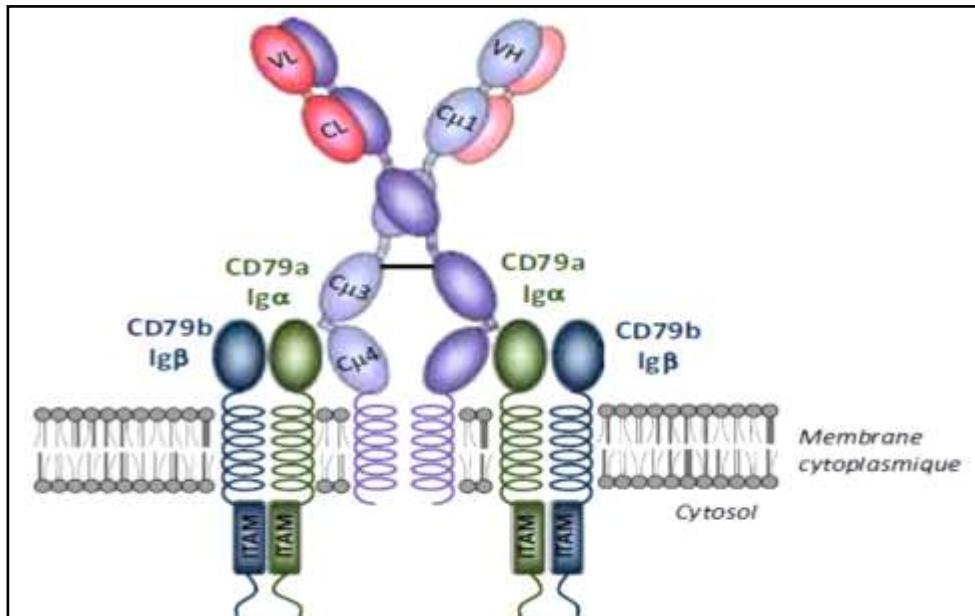


Figure 09 : BCR (Chriti, 2021).

3.1.3 La cellule tueuse naturelle

Les NK sont des cellules mononucléaires granulocytaires qui prédominent dans la rate et le foie. D'origine lymphocytaire, ces cellules ne sont en fait ni LB (pas de réarrangement des gènes des immunoglobulines) ni LT (pas de réarrangement des gènes du TCR), mais elles sont caractérisées chez l'humain par les marqueurs NKR, CD16 et CD56. Elles ont une activité cytotoxique dirigée, de manière spontanée, contre des cibles cellulaires sans activation préalable par des antigènes, contrairement aux LT. Les cellules NK sont capables de lyser, par cytotoxicité directe, des cellules tumorales ou infectées par des virus, et interviennent dans la médiation d'ADCC vis-à-vis de plusieurs cellules cibles (bactéries, parasites, champignons) par le biais d'IgG qui jouent le rôle d'opsonines, et dont les fragments constants (Fc) sont reconnus par les récepteurs Fc γ RIII (CD16) présents sur les cellules NK. En plus, elles participent au rejet de greffe allogénique par cytotoxicité directe ou par ADCC, en faisant intervenir les molécules de classe I du CMH (Carcelain *et al.*, 2018) (Figure 10).

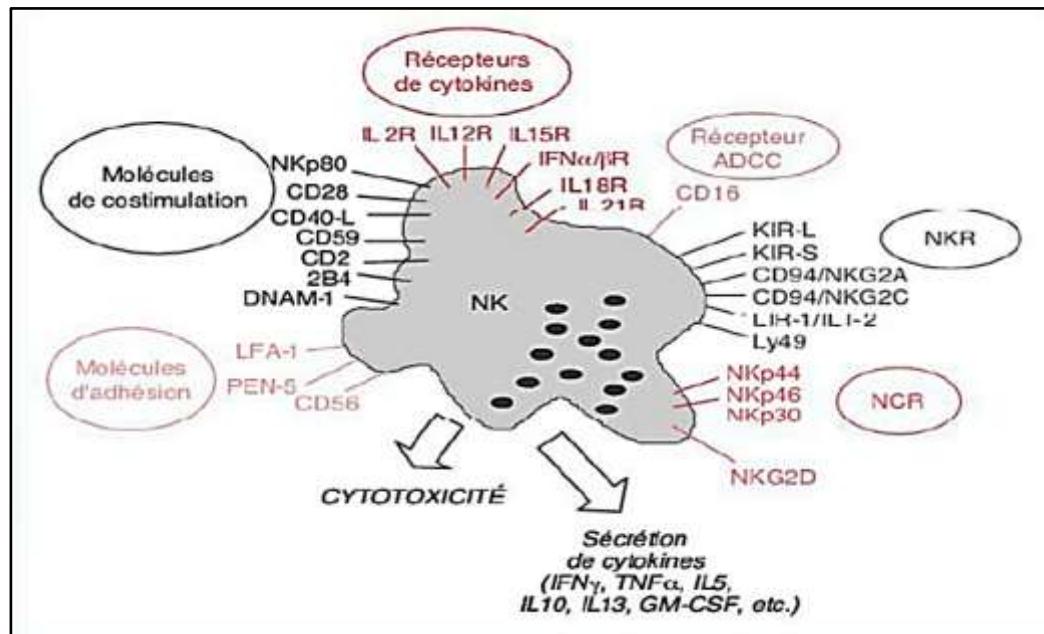


Figure 10: Récepteurs et fonctions effectrices des cellules NK (Carcelain *et al.*, 2018).

3.2 La lignée myéloïde

Cette lignée myéloïde, issue du progéniteur myéloïde commun, fournit la majorité des cellules du système immunitaire inné. Elle comprend elle-même trois grandes lignées leucocytaires : la lignée monocytaire, la lignée granulocyttaire et celle des mastocytes (**Labadla et al.**, 2021).

3.2.1 Les Mastocytes

Les mastocytes se développent dans la moelle osseuse, puis migrent comme précurseurs qui viennent à maturité dans les tissus périphériques, en particulier la peau, les intestins et la muqueuse des voies respiratoires. Leurs granules contiennent de nombreux médiateurs inflammatoires, comme l'histamine et diverses protéases, qui contribuent à la protection des surfaces internes contre des pathogènes (Janeway *et al.*, 2017).

3.2.2 Les monocytes

Les monocytes sont des leucocytes mononucléaires avec un cytoplasme granuleux, contenant de nombreuses enzymes. Ils jouent un rôle clé dans la surveillance immunitaire, la destruction des agents infectieux, l'élimination des débris cellulaires et la coordination de la réponse immunitaire, notamment en se transformant en macrophages dans les tissus pour

assurer ces fonctions. La migration des monocytes vers les tissus est en réponse à certains facteurs chimiotactiques (**Taiba, 2017**).

3.2.3 Les macrophages

Les macrophages sont des cellules essentiellement phagocytaires, capables de capturer des éléments de tailles diverses (antigènes particulaires, macromolécules, agents microbiens, cellules ou débris cellulaires), assurant ainsi une surveillance immunitaire dans ces tissus avant de les détruire puis de les présenter aux cellules de l'immunité adaptative. Ils produisent également des cytokines et des substances toxiques qui contribuent à l'inflammation et au recrutement d'autres cellules immunitaires sur le site de l'infection.

Ces cellules sont présentes dans plusieurs types de tissus ou d'organes, montrant chacun des particularités phénotypiques. Les cellules de Langerhans sont présentes dans l'épiderme, la microglie dans le cerveau et les cellules de Kupffer dans le foie. Il existe aussi les macrophages péritonéaux, les macrophages de la rate, les macrophages pancréatiques, rénaux, cardiaque et alvéolaire (**Verres, 2021**).

3.2.4 Les granulocytes

- ❖ Les granulocytes neutrophiles ; constituent la population granulocytaire majoritaire (ils représentent 65% de la totalité des leucocytes sanguins et 99% des granulocytes). Un neutrophile représente une entité cellulaire facile à caractériser puisqu'elle se distingue par son aspect morphologique original, notamment par son noyau irrégulier polylobé (généralement 2 à 5 lobes). Ce sont des phagocytes capables de rapidement arriver sur le site de l'inflammation du fait de leur grande mobilité. Leur Migration est contrôlée par chimiotactisme et grâce aux molécules d'adhésion comme les Inter Cellular Adhesion Molecule 1 et 2 (ICAM), une fois sur le site d'inflammation, ils vont amplifier le phénomène d'inflammation par relargage de facteurs présents dans les granules tels que le Tumor Necrosis Factor α (TNF α), les Interleukines 1 β et 8 (IL-1 β et IL-8) et les récepteurs antagonistes aux interleukines. Ils représentent les principaux acteurs dans la réponse immunitaire innée (**Musilli, 2016**).
- ❖ Les granulocytes éosinophiles ; sont des cellules de très courte durée de vie, générées en continu par les CSH dans la moelle osseuse, elles représentent 2 à 5% des leucocytes sanguins et elles ont un noyau bilobé. Ils ont un rôle important dans la réponse

immunitaire antiparasitaire ou les allergies, en sécrétant des substances spécifiques qui sont des protéines basiques majeures, des protéines cationiques éosinophiles, la peroxydase éosinophile et permettent la dégradation des agents pathogènes. Les éosinophiles jouent également un rôle dans la régulation de la réponse immunitaire par la sécrétion d'un large spectre de cytokines, facteurs de croissance et chémokines (**Musilli, 2016**).

- ❖ Les granulocytes basophiles ; constituent la plus petite fraction des globules blancs circulant dans le sang (environ 1 %). Leur noyau est uni- ou bilobé et ils expriment le récepteur de haute affinité des IgE (Fc ϵ RI) et peut être activé par ce biais. Les basophiles sont généralement associés à la réponse immunitaire générée par des parasites ou des allergènes, médiée par les lymphocytes T auxiliaires de type 2 (Th2) et l'immunoglobuline E (IgE). Les basophiles sont des cellules circulantes de courte durée de vie qui se différencient dans la moelle osseuse. Elles relèguent les facteurs contenus dans leurs granules, permettant la médiation de la réponse immunitaire (**Musilli, 2016**).

3.2.5 Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques (CDs) sont des cellules immunitaires appartenant à la lignée myéloïde, dérivée des cellules souches, localisées dans la moelle osseuse. On les retrouve dans divers compartiments de l'organisme, notamment dans les tissus lymphoïdes tels que la rate et les ganglions lymphatiques, mais également dans les tissus périphériques, comme la peau ou les intestins, ainsi que dans le sang périphérique. Morphologiquement, les cellules dendritiques se distinguent par la présence de prolongements cytoplasmiques caractéristiques, en forme de bras, appelés dendrites, qui leur confèrent une morphologie unique parmi les cellules du système immunitaire. Ainsi, les cellules dendritiques jouent un rôle central dans la réponse immunitaire, à la fois innée et adaptative. Enfin, les CDs possèdent une propriété unique : celle de pouvoir induire une réponse immunitaire spécifique contre les antigènes du «non-soi», tout en maintenant la tolérance immunitaire vis-à-vis des antigènes du « soi », ce qui est essentiel pour prévenir les réponses auto-immunes (**Quiniou, 2021**) (**Figure 11**).

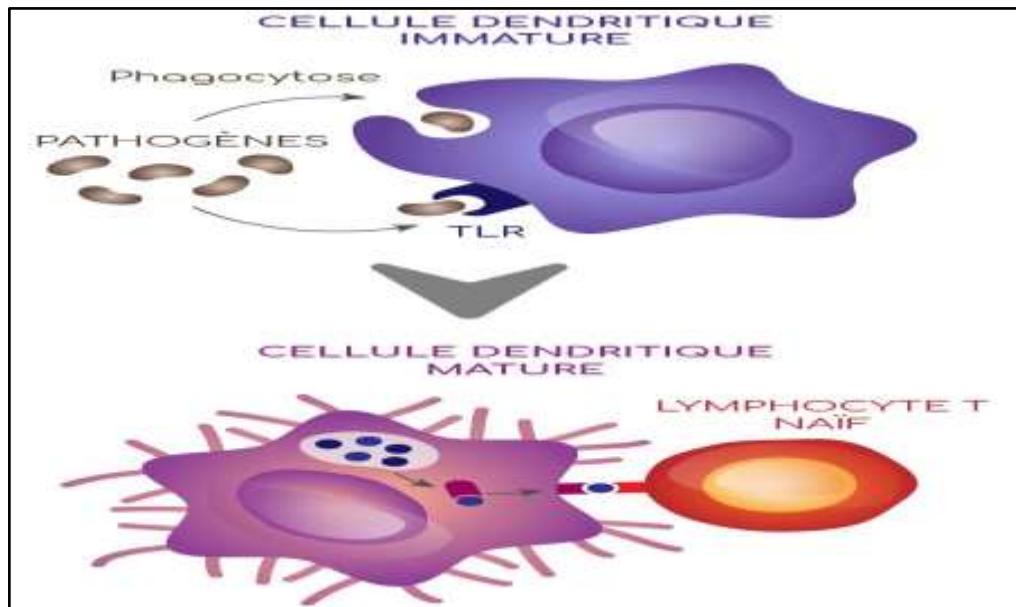


Figure 11: Cellule dendritique (Quiniou, 2021).

4. Les molécules du système immunitaire

4.1 Les Immunoglobulines (Ig)

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines synthétisées par les lymphocytes B matures, plasmocytes, en réponse à un antigène introduit dans l'organisme. Elles sont constituées d'un ensemble de 4 chaînes capables de reconnaître l'antigène qui a provoqué leur biosynthèse et sont dotées de fonctions effectrices (N'kaoua, 2020).

On les retrouve dans l'organisme :

- Sous forme membranaire, fixée sur la membrane du lymphocyte B, correspondant au récepteur de l'antigène (BCR) ;
- Sous forme soluble, dans les liquides biologiques (plasma, liquide interstitiel, autres sécrétions...), correspondant à « l'anticorps ».

Les 4 chaînes polypeptidiques (deux chaînes légères (λ ou κ) et deux chaînes lourdes (selon le type de l'Ig) sont organisées en domaines variables et en domaines constants (**Figure12**).

- IgG : (avec la chaîne lourde gamma (γ)) la plus abondante dans le sang, impliquée dans la réponse immunitaire secondaire et la mémoire immunitaire
- IgA : (avec la chaîne lourde alpha (α)) présente surtout dans les muqueuses (voies respiratoires, digestives), protège contre les infections locales.
- IgM : (avec la chaîne lourde mu (μ)) produite lors du premier contact avec un antigène.

- IgD : (avec la chaîne lourde delta (δ)) impliquée dans la maturation des lymphocytes B
- IgE : (avec la chaîne lourde epsilon(ϵ)) joue un rôle dans la défense contre les parasites et dans les réactions allergiques (N'kaoua, 2020).

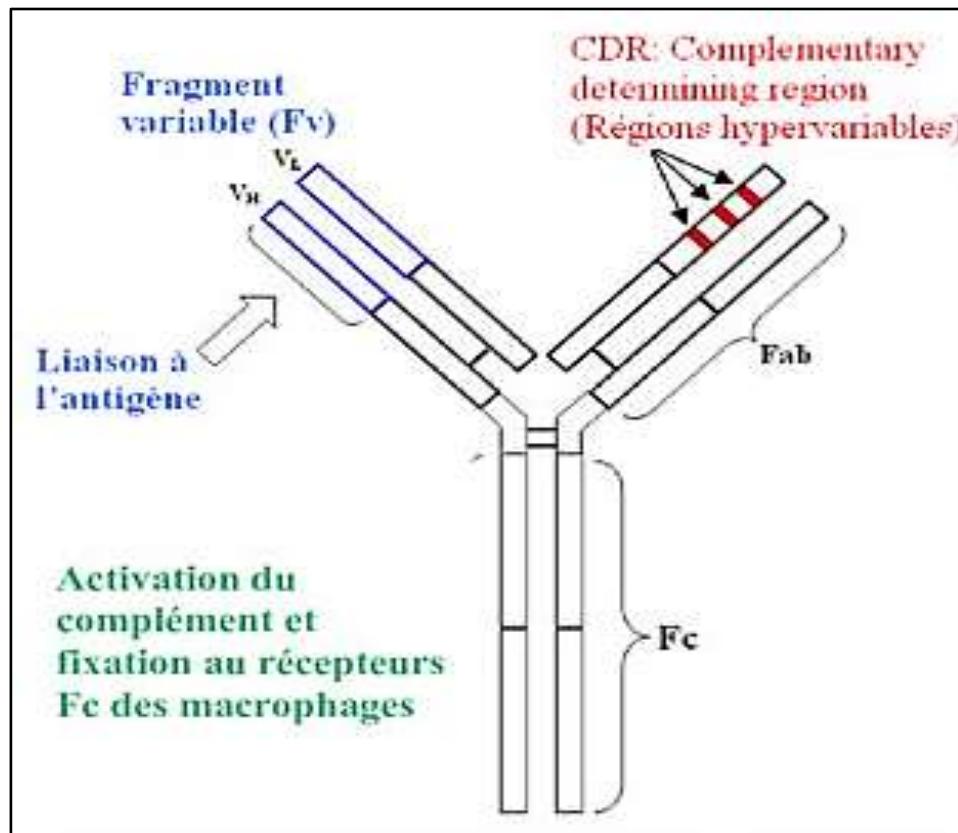


Figure 12 : Structure de base d'Ig (N'kaoua, 2020).

Les immunoglobulines peuvent accomplir plusieurs fonctions :

- L'opsonisation : Suite à la formation du complexe immun, le fragment Fc des anticorps est reconnu par des récepteurs spécifiques de la région Fc et présents sur les cellules phagocytaires.

- La neutralisation : les anticorps permettent de neutraliser les agents du « non soi » tels que les bactéries, les virus, les toxiques. Les IgG permettent une neutralisation systémique alors que les IgA agissent au niveau muqueux. Cette interaction non covalente se fait au travers de liaisons de faible énergie (Van der Waals, liaison hydrogène). Cette neutralisation permet de bloquer les fonctions biologiques de l'antigène puis de faciliter son élimination par des mécanismes effecteurs.

- L'activation du complément : activation de la voie classique pour détruire les agents du « non soi ».

- La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) : l'anticorps se fixe sur l'antigène, puis via le Fc de l'anticorps, il se fixe sur le récepteur du fragment Fc des cellules effectrices telles que les polynucléaires neutrophiles, les cellules NK et les macrophages ce qui provoque la libération de granzymes et de perforines et ainsi la lyse de la cellule.

- L'activation des mastocytes, éosinophiles, basophiles : Les IgE présentent la propriété d'être reconnue par les récepteurs de haute affinité (Fc ϵ RI) présents sur la surface des mastocytes et des basophiles. La fixation de l'antigène (allergène) sur l'IgE provoque très rapidement une dégranulation de ces cellules effectrices et libérant ainsi des médiateurs préformés et néoformés (Arnold, 2007).

4.2 Le système du complément

Le système du complément est un ensemble d'une vingtaine de protéines plasmatiques. Il constitue un élément essentiel du système immunitaire. Il joue un rôle central dans la suppression des agents pathogènes et l'homéostasie grâce à trois chaînes d'activation qui se rejoignent toutes en une seule voie (complexe d'attaque membranaire). Grâce à ses caractéristiques, ce système a longtemps été perçu comme contribuant à la réaction anti-tumorale. Toutefois, des recherches récentes ont repositionné le supplément en mettant en évidence ses effets pro-tumoraux, notamment ceux des anaphylatoxines C3a et C5a, dans une gamme étendue de cancers. Effectivement, ces protéines sont exploitées à divers stades de l'évolution tumorale, que ce soit au niveau des cellules cancéreuses, de l'angiogenèse ou de l'environnement immunitaire (Daugan *et al.*, 2017). Les trois voies d'activation du complément sont :

- La voie alternative : L'activation de la voie alternative se produit lorsqu'un certain nombre de protéines du complément sont activées à la surface des microbes et échappent à tout contrôle, car les protéines régulatrices du complément ne sont pas présentes sur les microbes, bien qu'elles le soient sur les cellules de l'hôte. Ce chemin fait partie de l'immunité innée.
- La voie classique : La voie classique est généralement activée lorsque les anticorps se lient aux microbes ou à d'autres antigènes, ce qui en fait un élément de la réponse humorale (immunité adaptative).
- La voie des lectines : La voie des lectines se met en marche après la liaison d'une lectine (MBL) à des polysaccharides contenant le mannose sur la surface bactérienne (Figure 13) (Daugan *et al.*, 2017).

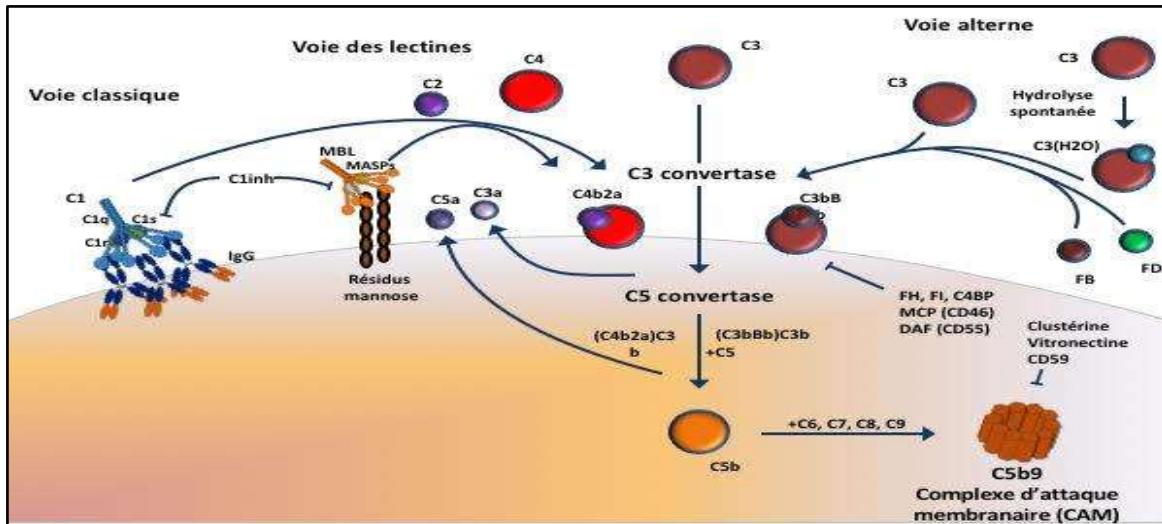


Figure 13 : Les voies d'activation du complément (Daugan *et al.*, 2017).

4.3 Les cytokines

Les cytokines sont un grand groupe de peptides de faible poids moléculaire sécrétés par diverses cellules, principalement des leucocytes. Le terme « cytokine » englobe de nombreux médiateurs structurellement divers tels que les chimiokines, les interférons, les interleukines et les facteurs de nécrose tumorale, qui jouent un rôle important dans la croissance, la pathogenèse et l'activation cellulaires. Au cours des réactions auto-immunes, les cytokines interviennent dans la destruction des tissus à médiation cellulaire et dépendante des anticorps, en modulant la fonction immunitaire et les réponses biologiques des cellules efficaces (Al-Azbjee *et al.*, 2025). Elles sont regroupées dans le (Tableau 01).

Tableau 01 : Rôle des cytokines dans la réponse inflammatoire (Guitton, 2012)

Cytokine	Cellules sécrétrices	Fonction principale
IL-1	Monocytes, macrophages, cellules endothéliales, fibroblastes, kératinocytes	Pro-inflammatoire ; provoque la fièvre
IL-2	Lymphocytes T, lymphocytes B, NK	Pro-inflammatoire ; stimule la prolifération des lymphocytes
IL-6	Macrophages, fibroblastes, lymphocytes T et B	Pro-inflammatoire ; active l'immunité innée
TNF- α	Macrophages, neutrophiles, NK, cellules musculaires lisses	Pro-inflammatoire ; favorise l'élimination des agents pathogènes
IL-12	Lymphocytes B et T	Pro-inflammatoire ; stimule NK et Th1
IL-17	LT CD4+	Pro-inflammatoire ; maintient l'inflammation
IFN- γ	Lymphocytes B, T et NK	Pro-inflammatoire ; active les macrophages et inhibe Th2
HMGB-1	Monocytes, macrophages	Pro-inflammatoire
TGF- β	Macrophages, kératinocytes, cellules épithéliales, plaquettes	Anti-inflammatoire ; favorise la cicatrisation
IL-4	Th2, mastocytes	Anti-inflammatoire ; stimule LB, inhibe LT
IL-10	LT, Th2, monocytes, LB, kératinocytes	Anti-inflammatoire ; réduit les cytokines Th1

5. La réponse immunitaire

L'organisme est sans cesse agressé par de nombreux micro-organismes, lesquels sont éliminés grâce au système immunitaire. Il existe deux types de réponse immunitaire : la réponse innée et la réponse adaptative (ou acquise). Ces deux mécanismes possèdent chacun

des caractéristiques spécifiques ; toutefois, ils ne sont pas exclusifs l'un de l'autre et interagissent pour éliminer efficacement les pathogènes (**Schenten et al., 2011**) (**Figure 14**).

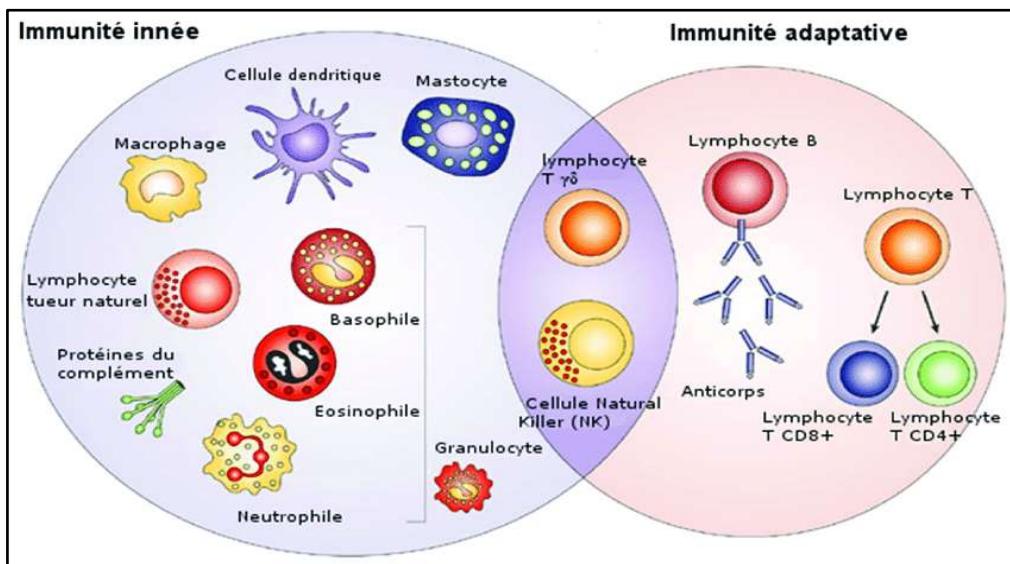


Figure 14 : Réponse immunitaire (innée et adaptative) (**Schenten et al., 2011**).

5.1 L'immunité innée

La réponse immunitaire naturelle fournit une première ligne de défense contre les pathogènes. Ses effets, humoraux ou cellulaires, mettent en jeu des modes de reconnaissance globaux, spécifiques de motifs conservés des pathogènes mais sans réarrangement génétique. Les principales activités mises en jeu sont la phagocytose et la cytotoxicité cellulaire, avec production de médiateurs pro-inflammatoires, cytokines et chimiokines (**Poli et al., 2020**).

Lorsqu'un agent pathogène parvient à franchir les premières barrières physiques, le tissu endommagé ou les cellules infectées déclenchent une réponse inflammatoire afin de commencer à combattre l'infection et d'initier les processus de réparation tissulaire.

L'inflammation induit des signes externes très caractéristiques (gonflement, rougeur, chaleur et douleur). Ces manifestations résultent principalement d'une forte vasodilatation qui survient dans les minutes suivant la lésion, entraînant une augmentation du volume sanguin dans la zone enflammée. Ce flux sanguin accru provoque une rougeur visible et une élévation locale de la température des tissus (**Pineau, 2021**) (**Figure 15**).

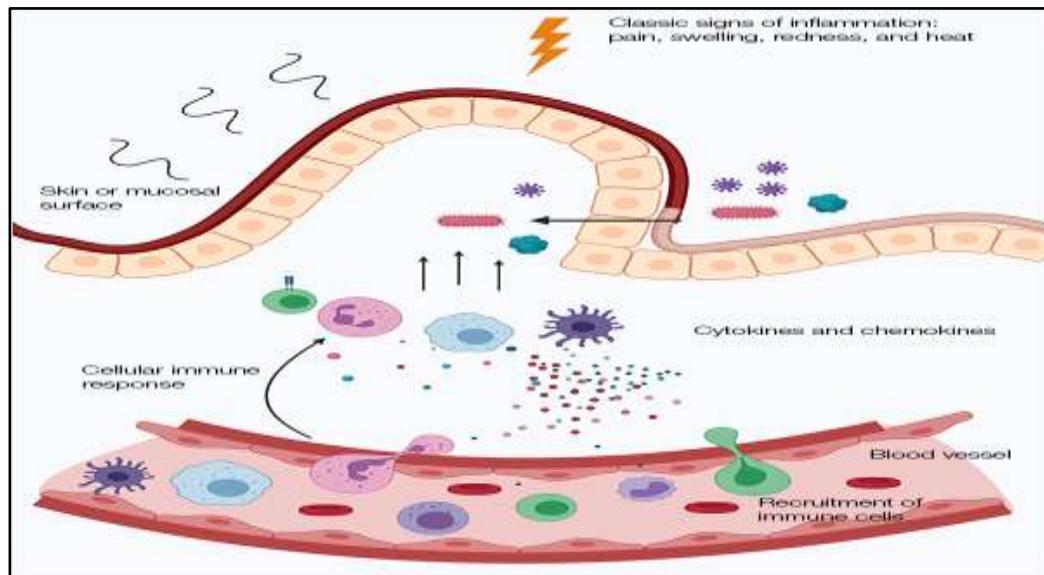


Figure 15 : Réponse inflammatoire (Pineau, 2021) .

5.1.1 Implication des composants sanguins dans l'inflammation

Les vaisseaux sanguins ne se dilatent pas seulement ; ils deviennent également plus perméables, permettant ainsi au liquide, notamment issu des capillaires, de pénétrer dans les tissus environnents. Cette accumulation de liquide provoque un gonflement local, lequel peut exercer une pression sur les terminaisons nerveuses et générer une sensation de douleur.

L'augmentation du volume sanguin favorise le recrutement des leucocytes, qui extravasent plus facilement des vaisseaux sanguins vers les tissus grâce à la perméabilité accrue des capillaires dans la zone affectée. Les leucocytes libèrent alors des cytokines pro-inflammatoires qui attirent davantage des cellules immunitaires et des phagocytes chargés d'éliminer l'agent pathogène. Les premiers phagocytes recrutés sont les neutrophiles, suivis ensuite par les macrophages et les cellules dendritiques, qui participent également à l'élimination de l'infection (Pineau, 2021).

En situation d'homéostasie, les macrophages tissulaires résidents et les cellules dendritiques ont pour rôle principal de nettoyer les cellules mortes ou les débris cellulaires, tout en patrouillant à la recherche d'agents pathogènes. Ces deux types cellulaires englobent de grandes quantités de matériel extracellulaire, soit par phagocytose, soit par macropinocytose.

Lorsqu'ils détectent un signal de danger, ils s'activent, nettoient la zone infectée, et recrutent d'autres phagocytes pour contenir l'agent pathogène. Par ailleurs, les cellules dendritiques activées réduisent leur activité de macropinocytose, migrent vers le ganglion

lymphatique le plus proche du site d'infection, où elles jouent un rôle clé dans l'activation de la réponse immunitaire adaptative. Elles présentent les antigènes phagocytés aux LT, déclenchant ainsi leur activation. Cela constitue le lien essentiel entre l'immunité innée (rapide mais non spécifique) et l'immunité adaptative (spécifique mais plus lente) (**Pineau, 2021**).

Les lymphocytes NK, qui sont issus de lignée lymphoïde, sont prêts à reconnaître et tuer les cellules cancéreuses ainsi que celles qui sont infectées par certains virus.

Sans oublié le rôle important du complément dans :

- Lyse membranaire par l'activation du CAM.
- Rôle dans l'inflammation : en réponse aux anaphylatoxines, C3a et C5a qui activent les mastocytes, les basophiles et les plaquettes.
- Les anaphylatoxines ont également un rôle immunorégulateurs ; exp : C3a déprime l'immunité tandis que C5a l'augmente.
- Facilite la phagocytose (l'opsonisation par le C3b)
- Activation lymphocytaire : des antigènes libres ou sous forme de complexes immuns recouverts de C3b peuvent stimulés les lymphocytes B via les complexes CD19, CD21, CD81 (**Delves, 2024**).

5.2 L'immunité adaptative

La réponse immunitaire adaptative est pilotée par les lymphocytes T et B, qui peuvent créer une mémoire immunologique après l'exposition à un microorganisme, améliorant ainsi l'efficacité des réponses immunitaires secondaires à ce microorganisme.

Bien que les lymphocytes T et B dérivent du même progéniteur lymphoïde commun, ils présentent des caractéristiques distinctes dans leur réponse aux agents pathogènes. Le système immunitaire adaptatif comprend à la fois des immunités à anticorps (humorale) et à médiation cellulaire. L'immunité humorale est basée sur la capacité des cellules B à produire des anticorps, ces anticorps peuvent circuler dans le corps et se lient à des agents pathogènes spécifiques et les rendent inactifs. L'immunité à médiation cellulaire est basée sur les lymphocytes T qui sont activés via leur TCR lié à un antigène spécifique présenté sur la surface d'une cellule présentatrice d'antigène(Ag) (**Mokhtar, 2023**).

5.2.1 Immunité humorale

L'immunité humorale est assurée par les anticorps, qui neutralisent et contribuent à l'élimination des agents pathogènes extracellulaires ainsi que de leurs toxines. Ils agissent en neutralisant directement ces agents ou en facilitant leur destruction par les phagocytes et/ou par le système du complément (**Pierre, 2017**).

5.2.2 L'immunité à médiation cellulaire

L'immunité à médiation cellulaire est la branche du système immunitaire adaptatif qui lutte contre les germes intracellulaires. Les lymphocytes T en sont les principales cellules, et les CPA les principales cellules accessoires (**Pierre, 2017**). Les LT sont divisés en deux sous-populations, chaque population effectue un rôle, selon leurs marqueurs membranaires (CD) :

- Les lymphocytes T4 : régulent ou « aident » à la réalisation d'autres fonctions lymphocytaires (Th après activation). Ils stimulent la prolifération clonale et la différenciation des lymphocytes T8 en cytotoxiques (Th1) et des lymphocytes B en plasmocytes (Th2).
- Les lymphocytes T cytotoxiques (CD8) détruisent les cellules infectées ou tumorales. Ces cellules sont dites cytotoxiques car elles sont à même de détruire des cellules cibles qui présentent des antigènes spécifiques à travers le CMH de classe I (**Mammette, 2002**).

6. Le dysfonctionnement du système immunitaire

6.1 Les maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes sont par l'activation anormale du système immunitaire contre les auto-antigènes (le soi), entraînant une inflammation et des lésions tissulaires. Plus de 100 maladies auto-immunes ont été identifiées parmi lesquelles on trouve la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques et le diabète de type 1...etc. Outre la prédisposition génétique et les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans l'apparition des maladies auto-immunes. En effet, les infections, la carence en vitamine D, les facteurs hormonaux, l'administration de médicaments ainsi que l'exposition à certains produits chimiques tels que les polluants pétroliers sont des facteurs suspectés d'être à l'origine de ces maladies. Par conséquent, toute perturbation du système immunitaire entraînant l'activation de

réponses immunitaires innées et adaptatives conduisant à l'apparition et au développement d'une l'auto-immunité (Al-Azbjee *et al.*, 2025).

6.2 Cancer

Le mot « cancer » est un terme générique désignant un large groupe de maladies caractérisées par le développement de cellules anormales qui se divisent de façon incontrôlable et qui ont la capacité d'infiltrer et de détruire les tissus normaux du corps. Les modalités de traitement standard pour les patients atteints de cancer comprennent la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. La radiothérapie et la chimiothérapie sont des thérapies cytotoxiques ; elles tuent les cellules tumorales en affectant directement la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou en endommageant les microtubules. Leur mécanisme d'action implique qu'ils n'ont aucun effet destructeur sélectif contre les cellules cancéreuses mais, ils détruisent toutes les cellules qui se divisent rapidement, y compris les cellules immunitaires (El Hadad, 2022)

6.3 Hypersensibilité

On appelle "hypersensibilité" une réponse immunitaire qui, parce qu'elle est exagérée ou inappropriée, est à l'origine de lésions tissulaires.

L'hypersensibilité est une caractéristique individuelle ; elle se manifeste lors d'une seconde exposition à un antigène donné.

-Hypersensibilité de type I : induite par les IgE, encore appelée hypersensibilité immédiate, est déclenchée lorsque l'antigène se fixe sur les IgE déjà liées à la surface des mastocytes ou des basophiles, entraînant la libération de médiateurs vasoactifs (Remi, 2015)

Hypersensibilité de type II : est un mécanisme cytotoxique, médié par les IgG. Ce type de réaction cytotoxique va être dirigé contre la membrane des globules rouges, des globules blancs ou des plaquettes. Dans certains cas, elle pourrait également se diriger contre les précurseurs des cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse, induisant une anémie hémolytique, une leucopénie ou une thrombopénie. Par ailleurs, il peut également s'agir d'anticorps dirigés contre d'autres récepteurs cellulaires tels que les récepteurs de la thyroïde (anticorps anti-thyroglobuline) qui seront alors responsables d'une thyroïdite auto-immune.

Hypersensibilité de type III : est liée à la présence de complexes immuns circulants. Ces derniers pourraient se lier à la cellule endothéliale et provoquer l'activation du complément.

Ainsi, les symptômes classiquement associés à ces phénomènes sont les vascularites immunoallergiques (**Hamama et al., 2019**).

7. L'immunomodulation

Le thème d'immunomodulation est défini comme la manipulation du système immunitaire, soit par l'amélioration (stratégie d'immunopotentiation), soit par la suppression (stratégie d'immunosuppression) des réponses immunitaires.

L'immunomodulation peut être réalisée par différents agents, appelés immunomodulateurs, y compris des anticorps monoclonaux, des cytokines, des glucocorticoïdes, des adjuvants, la lumière ultraviolette ou la phytothérapie. Diverses stratégies d'immunomodulation sont aujourd'hui évaluées comme traitement ou dans le but de remplacer les traitements existants (**Ye Fan, 2017**).

7.1 Les immunostimulants

Les immunostimulants sont prescrits lorsqu'on souhaite stimuler les réactions immunitaires de défense. Ce sont des médicaments ou des composés qui conduisent principalement à une activation non spécifique des mécanismes de défense immunologiques. Ces mécanismes sont liés à la fonction et à l'efficacité des macrophages, du système du complément, des granulocytes, des cellules Natural Killer (NK), des lymphocytes, ainsi qu'à la production de molécules effectrices telles que les cytokines produites par les cellules activées. Ces effets non spécifiques devraient fournir une protection contre les agents pathogène (**Meriah et al., 2022**).

7.2 Les immunosuppresseurs

Les immunosuppresseurs agissent au niveau de l'immunité cellulaire ou humorale. Ils sont utilisés dans différentes formes de greffes et de transplantations (greffe de moelle, transplantations d'organes ou de tissus), dans des situations où il est nécessaire de diminuer la réponse immunitaire. Ils sont également employés dans le traitement de maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux, le syndrome néphrotique idiopathique et les hépatites auto-immunes. Les médicaments anti-inflammatoires sont aussi considérés comme des immunosuppresseurs, car ils réduisent la réponse immunitaire innée (**Meriah et al., 2022**).



*Chapitre II : Données générales
sur l'espèce : Crataegus azarolus*

1. *Crataegus azarolus*

1.1 Etymologie

Son nom commun azerolier vient de l'espagnol 'acerola' qui désigne le fruit, ce mot a une origine arabe 'az-zou'rour ou 'az-zucrur' (**Abdeddaim, 2018**).

1.2 Origine

Originaire des régions tempérées du nord L'azarole est un arbre fruitier polyvalent, cultivé dans toute la Méditerranée comme arbre d'ornement ou utilisé comme porte-greffe pour *Pyrus communis* ou comme plante (**Bahri-sahloul, 2009**).

Selon **Mazzocchi (1999)**, cette espèce est originaire du sud de l'Europe (notamment Chypre, Malte, Majorque et la Sicile), de l'Afrique du Nord (en particulier le Tell algéro-constantinois et la Tunisie) ainsi que de l'Asie mineure (comprenant la Jordanie, le Liban, la Palestine et la Syrie).

1.3 Description botanique

L'azérole, appelée aussi «cerise des Antilles», est un petit fruit en forme de pomme, de 1 à 3cm de diamètre. Lorsqu'il mûrit, sa peau vire du blanc-crème au jaune. Sa chair est délicatement fruitée, mais elle a un goût très acide, à 2 noyaux (**Figure 16**) (**Messaoudi, 2021**).

1.4 Classification Botanique

D'après **Messaili (1995)** :

- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Ordre** : Rosales
- **Famille** : Rosacées
- **Genre** : Crataegus
- **Espèce** : *Crataegus azarolus Jacq 1775*

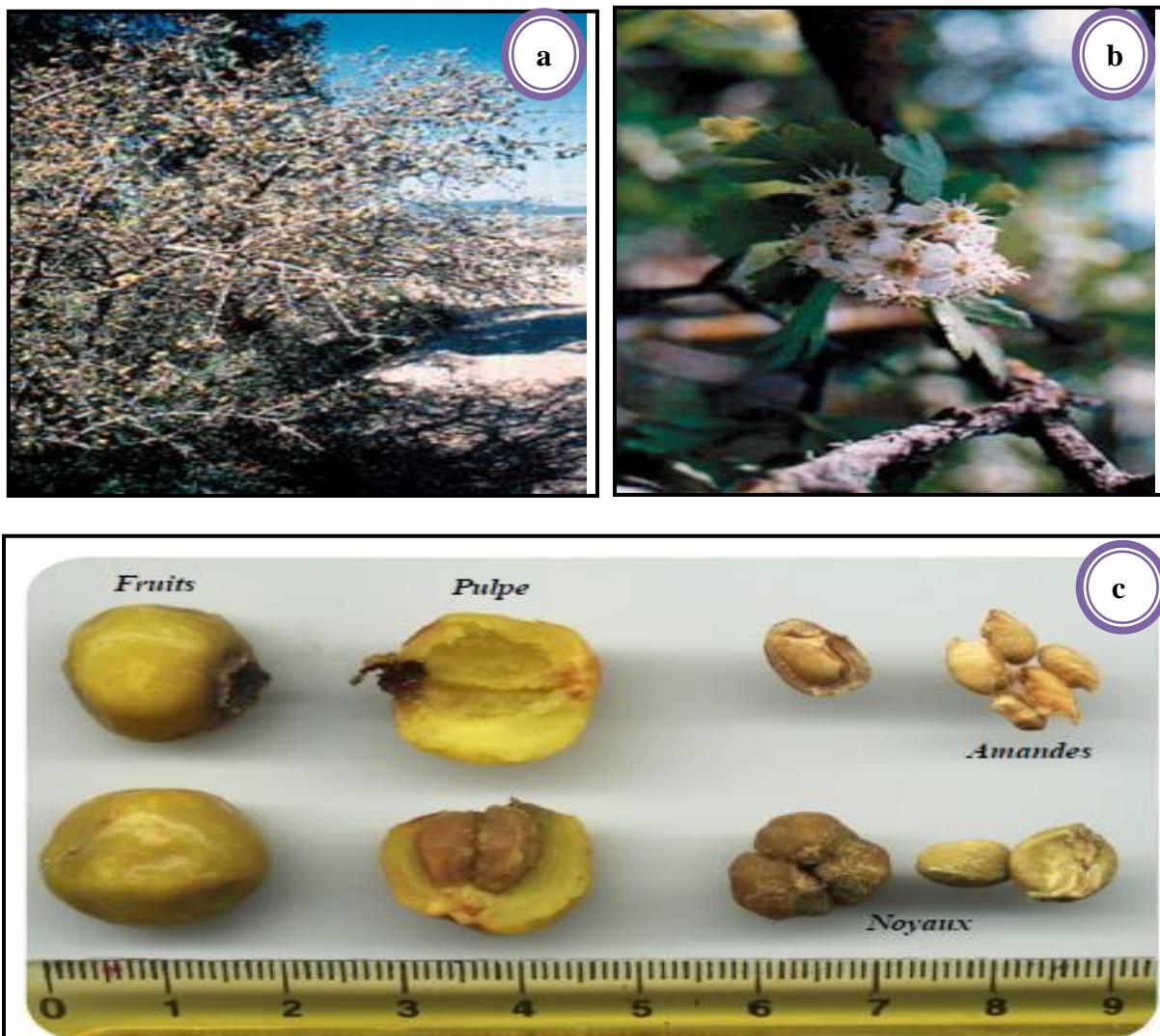


Figure 16 : Différentes parties de l'Azerolier (**Ferhat et al., 2014**).

(a) : branches, (b) : feuilles et fleurs, (c) : fruits, pulpe, noyaux et amandes.

1.5 Aires de répartition

L'aubépine, répandue dans les zones tempérées de l'hémisphère nord, comprend 200 espèces très variées.

L'azérolier est présent à l'état sauvage dans tous les pays méditerranéens. Il est aussi cultivé en Europe (notamment en France). On le rencontre également, en Amérique du nord et Asie mineure (**Rhanem, 2020**).

En Algérie, l'azérolier est localisé surtout dans le Tell algéro-constantinois, et connue sous le nom de "zaaroura" d'une façon spontanée et parfois planté en haies ou en clôture dans les jardins en zones rurales (**Figure 17**) (**Boudraa et al., 2010**).

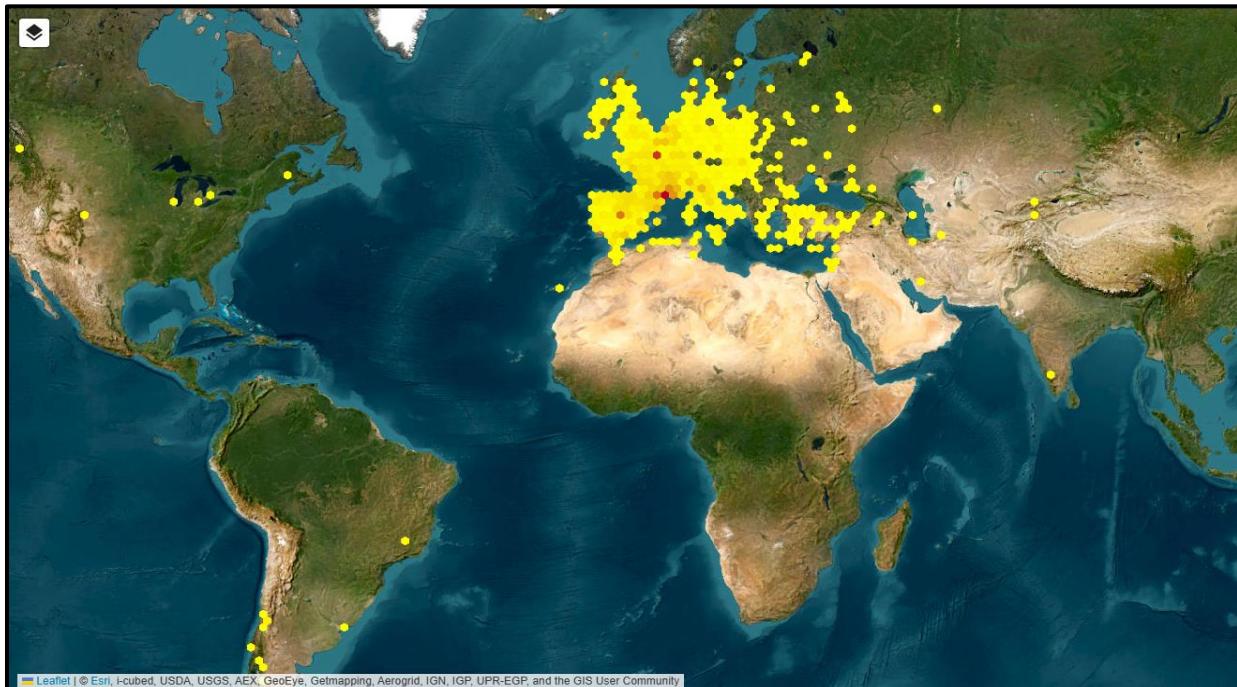


Figure 17 : Distribution géographique de l'espèce *Crataegus azarolus* (identify.plantnet.org).

1.6 Activités biologiques du fruit de *Crataegus azarolus*

1.6.1 Activité antioxydante

L'extrait hydroalcoolique de fruits de cette espèce a montré un effet antihypertensif qui peut être expliqué en partie par son activité antioxydante et par l'amélioration de la libération endothélium-dépendante du monoxyde d'azote (NO). En outre, plusieurs études ont montré le potentiel antioxydant et de protection contre le dommage oxydatif des extraits obtenus à partir de différents organes de cette espèce et ont justifié son utilisation comme remède cardioprotecteur et antihypertenseur (**Bouaziz et al., 2014**).

L'administration de l'azarole à des doses croissantes a entraîné une diminution dose et temps dépendante de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle moyenne ainsi que la suppression du nœud sinusal et du blocage atrio-ventriculaire progressif. **Dizaye et al., (2005)** ont montré des effets inotropes et diurétiques positifs des procyanidines extraits de *C. azarolus* témoignant d'un bon candidat pour le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive.

L'huile des graines a montré des activités antioxydante et antibactérienne, en particulier contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* (HS) (**Mustapha et al., 2016**).

1.6.2 Activité anticancéreuse

Une activité antiproliférative contre les cellules de mélanome B16F10 de souris a été observée en présence d'un extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de cette plante. Ce dernier a permis la réduction de la teneur en mélanine en inhibant l'activité de la tyrosinase. L'activité antiproliférative a été détectée également en présence de cellules de cancer colorectal humaines (HT-29 et HCT-116) ceci en favorisant l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose de ces cellules cancéreuses (**Mustapha et al., 2015**).

1.6.3 Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'azerolier peut être expliquée en partie par sa capacité antioxydante substantielle et par l'inhibition de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires concomitante avec un renforcement de la sécrétion des cytokines anti-inflammatoires (**Kmail et al., 2017**).

Les effets des polyphénols d'aubépine ont été étudiés chez des souris présentant une lésion hépatique induite par un régime riche en fructose. Les résultats ont révélé que les polyphénols dérivés de l'aubépine présentaient des effets protecteurs contre l'inflammation et le stress oxydatif, comme en témoigne une réduction de la production d'IL-6 et TNF- α (**Lakache et al., 2023**).

1.6.5 Activité immunomodulatrice

Crataegus azarolus a montré aussi des activités antioxydantes et immunostimulantes très importantes. Cette plante est aussi employée dans l'anxiété et la dépression douce. (**Hanus et al., 2004**).

C. azarolus et son hyperoside isolé ont démontré un effet immunomodulateur par le biais de leur activité antioxydante. L'hyperoside tiré du *C. azarolus* influence les fonctions des macrophages en régulant leur activité enzymatique lysosomale et leur production d'oxyde nitrique (**Mustapha et al., 2015**).



Partie pratique



Matériel et méthodes

1. Evaluation de l'activité immunomodulatrice de l'huile des graines de *Crataegus azarolus*

1.1. Matériel

1.1.1 Matériel végétal

L'extraction de l'huile des graines de *Crataegus azarolus* a été réalisée au niveau du laboratoire d'obtention des substances thérapeutiques, département de Chimie (**LOST**) – Université Frères Mentouri Constantine 1.

Les graines ont été collectées dans la région de Constantine et l'extraction de l'huile des graines de *Crataegus azarolus*, a été réalisée à partir des graines par pression à froid. Après triage, les graines sont soumises mécaniquement à froid à l'aide d'une presse à huile à température ambiante. L'huile obtenue, premier jus naturel, renferme tous les principes nutritifs essentiels et ne subit ni traitement chimique, ni raffinage (**Figure 18**).



Figure 18: Extraction de l'huile par pression à froid. (a) : Presse à huile, (b) : Graines après macération mécanique, (c) : L'extract.

1.1.2 Choix des animaux

Afin d'évaluer l'activité immunomodulatrice éventuelle de notre extrait, nous avons utilisé un groupe de souris femelles (20 souris), du genre (*Mus*), espèce (*Mus musculus*), âgées (de 2, 5 à 3 mois), ayant un poids entre 20g et 25g.

Les animaux sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage au niveau de l'animalerie du département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1, à une température de 25 à 30°C, un taux d'humidité entre 45 et 60% et une photopériode de 12 heures jour et 12 heures nuit.

Durant la période d'expérimentation, les souris sont alimentées avec l'aliment ONAB sous forme de granulés (**Annexe 01**) et de l'eau de robinet ad libitum (**Figure 19**).

Les souris ont été soumises à une période d'adaptation de 7 jours environs avant l'expérience. Les animaux sont séparés et répartis en 4 lots suivant le régime administré.

- Ils sont pesés tous les jours à la même heure (9h 30) pendant les 8 jours de traitement.



Figure 19 : Répartition des souris.

2. Méthodes

2.1 Procédure expérimentale

Notre expérience a été basée sur la méthode développée par **Biozzi 1957** *in vivo* qui est le test de l'épuration sanguine du carbone (carbone clearance test) et suivant la technique décrite par (**Benacerraf et al., 1956** ; **Freeman et al., 1958** ; **Benacerraf et al., 1959**), avec quelques modifications (**Annexe 02**).

2.1.1 Répartition des groupes

Pour notre étude, on a regroupé les souris en 4 lots, chacun des lots comprenant 5 souris de poids homogène et marquée par des couleurs et continuer à mesuré le poids chaque jours pendant la période d'adaptation (**Figure 20**).

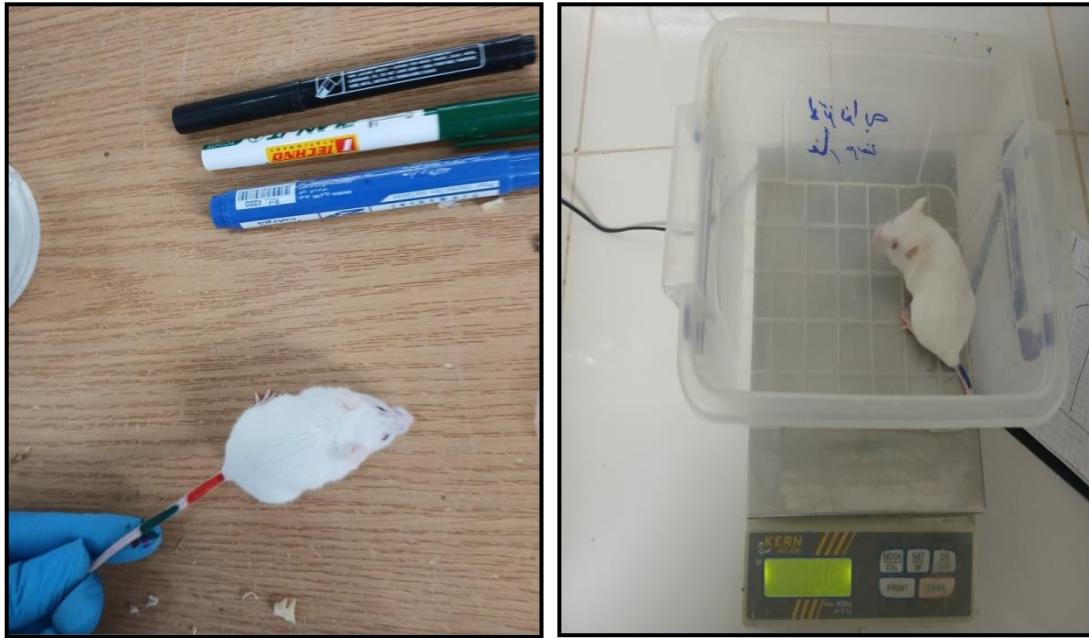


Figure 20 : Markage et mesure de poids des souris.

La répartition des groupes et le traitement des souris sont résumés dans le (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Répartition des groupes et traitement des souris.

Groupes	Nombre de souris	Traitement	Dose	Voie d'administration
Témoin	5	Farine	1 g/kg/j/souris	Voie Orale
Standard	5	Sélénium+ farine	50 mg/kg/j/souris	Voie Orale
Expérimental 1	5	Huile des graines de <i>Crataegus azarolus</i>	200 mg/kg/J/souris	Voie Orale
Expérimental 2	5	Huile des graines de <i>Crataegus azarolus</i>	400 mg/kg/J/souris	Voie Orale

Le traitement a été administré sous la forme d'une dose unique avant 24h de la réalisation de l'expérience.

2.2.2 Mode d'administration du traitement

Les deux doses (**200 mg/Kg et 400 mg/Kg**) de l'huile des graines de *Crataegus azarolus* sont calculées par rapport au poids de chaque souris à traiter.

On a utilisé la balance de précision (**Sartorius**) pour peser les doses correspondantes à chaque souris, puis on a incorporé chaque dose à une boule de farine de **1g**, ensuite chaque souris a reçu le traitement sous forme de boule par voie orale (**Figure 21**).



Figure 21 : Calcul des doses des extraits.

2.2.3 Injection du carbone

24h après le traitement, l'encre de Chine a été injectée aux animaux par voie intraveineuse (veine caudale) en vue de tester le pouvoir de phagocytose et aussi la clairance de cette substance. L'injection dans la veine caudale a été à raison de 0,1ml/10g du poids vif de l'animal (Annexe 03) (Figure 22).



Figure 22: Les étapes de l'injection du carbone.

2.2.4 Prélèvement sanguin

Deux prélèvements sanguins par voie oculaire après **5** et **10** min d'intervalle - après l'injection de l'encre de Chine-ont été réalisés. Le sang va être collecté à l'aide des tubes capillaires dans des tubes secs contenant du **Na₂CO₃ (1%)** à raison de **10** gouttes de sang dans **4ml** de **Na₂CO₃(1%)** dans chaque tube (**Figure 23**).



Figure 23 : Les étapes de prélèvement sanguin.

La lecture de l'absorbance des différents tubes dans un **spectrophotomètre (Thermo)** sera mesurée à une longueur d'onde de **625nm** (**Figure 24**).



Figure 24 : Lecture de l'absorbance des différents tubes.

2.2.5 Prélèvement des organes

Après le dernier prélèvement, les animaux sont sacrifiés. Après la dissection les organes actifs (**foie** et **rate**) sont prélevés et pesés immédiatement (**Figure 25** ; **Figure 26**).



Figure 25 : Dissection et séparation des organes (**Foie et rate**).



Figure 26 : Prélèvements d'organes (**Foie et rate**) et mesure de poids.

2.2 Estimation de l'activité phagocytaire

L'activité phagocytaire exprimée par l'index phagocytaire (**K**), nous renseigne sur la fonction de l'ensemble des cellules du système réticuloendothélial au contact du sang circulant en présence d'un corps étranger (encre de chine contenant du carbone). L'activité phagocytaire sera mesurée selon la cinétique de l'épuration sanguine du carbone colloïdal (vitesse de disparition du carbone du sang) et aussi par rapport à l'index phagocytaire corrigé (**a**) qui exprime cette activité par unité de poids des organes actif (foie et rate).

Le taux de clairance exprimé ainsi que l'activité phagocytaire sont calculés d'après les formules suivantes :

$$k = \frac{\ln OD1 - \ln OD2}{t2 - t1}$$
$$\alpha = \frac{\sqrt[3]{k} \times \text{body weight}}{\text{liver weight} + \text{spleen weight}}$$

Où **OD1** et **OD2** sont les densités optiques mesurées après **5** et **10 min** respectivement.

3. Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de **moyenne ± écart type**. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes est effectuée par le test **One-way ANOVA** et complétée par le test de **Tukey**. L'analyse statistique est effectuée sur le logiciel **SPSS**, version **26.0**.

La comparaison est considérée, selon la probabilité (**p**), comme suit :

La différence significative (**p<0.05**) est exprimée par des lettres différentes (**a, b, c ...**).



Résultats et discussion

1. Effet de l'huile de graines de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris

Afin de déceler l'effet de l'huile de graines de *Crataegus azarolus* sur le poids vif chez les souris, les résultats sont représentés dans la (**Figure 27**). Chez le groupe (**Témoin**), l'évolution du poids durant les 8 jours est entre 28,4g et 29,9g respectivement. Donc, il existe une augmentation significative du poids des souris, avec **p<0,05**.

Chez le groupe (**Standard**), le poids durant les 8 jours varie entre 25,66g et 24,80g respectivement. Ces résultats montrent qu'il existe une diminution significative du poids des souris, avec **p<0,05**. Dans le groupe (**Expérimental 1**) le poids durant les 8 jours est entre 27,88g et 28,52g respectivement. Ces résultats indiquent une augmentation non significative du poids des souris, avec **p=0,09**. Dans le groupe (**Expérimental 2**), le poids durant les 8 jours est entre 28,12g et 29,92g respectivement. Donc, il y a une augmentation non significative du poids des souris, avec **p=0,22**.

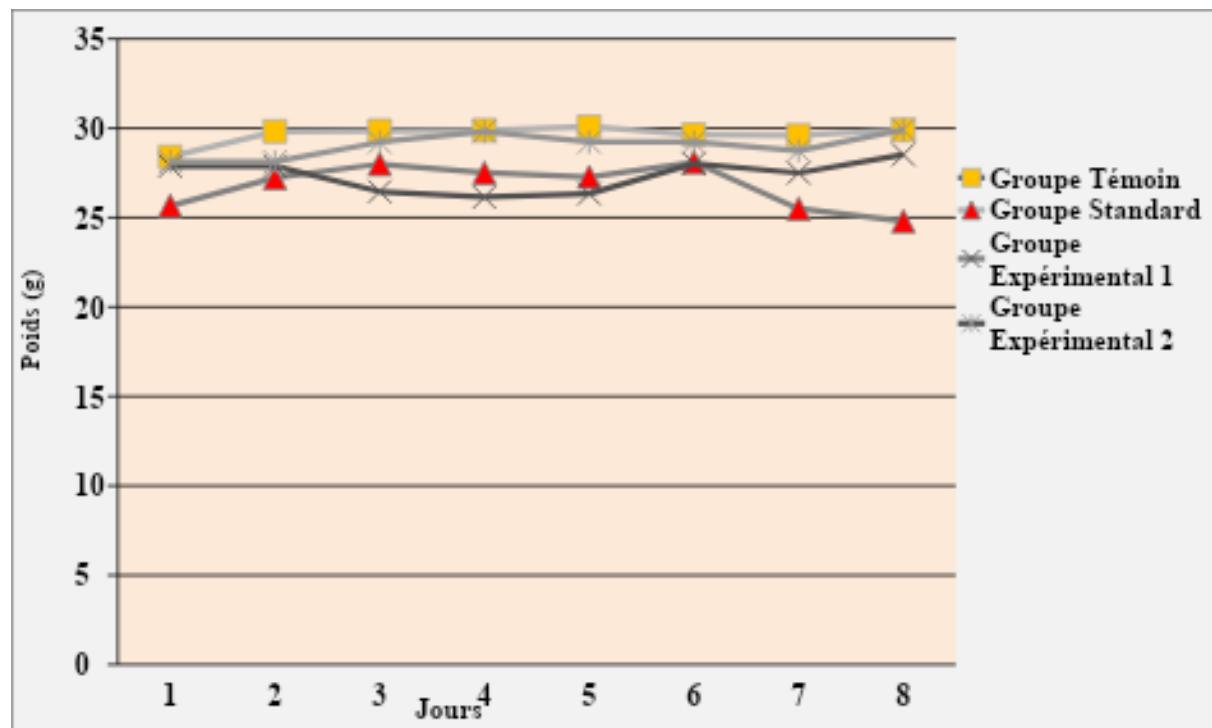


Figure 27 : Effet l'huile de graines de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris.

Résultats et discussion

Dans notre expérience, le poids vif des souris du groupe (**Standard**) est significativement plus diminué par rapport au groupe (**Témoin**). Par contre, le traitement par l'huile de graines de *C. azarolus* a augmenté la prise alimentaire chez les souris des groupes (**Expérimental 1 et Expérimental 2**). Ces résultats sont comparables à la littérature. Cette augmentation de poids est associée à des augmentations des métabolismes glucidique, lipidique et protéique similaires à celles observées chez l'être humain (**Kopelman, 2000**).

Les principaux déterminants de la densité énergétique d'une consommation alimentaire sont les lipides qui forment un élément ayant le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il apparaît clairement que le traitement par l'huile de graines de *C. azarolus* induit chez les souris une hyperphagie et une augmentation de la capacité de rétention des protéines et des lipides, favorisant une augmentation pondérale importante (**Bouanane et al., 2009**).

Dans notre étude, le traitement des animaux par l'huile de graines de *C. azarolus* a induit une augmentation pondérale chez les souris, ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Armitage et al. (2005)**. Ces constatations sont similaires à celle de **Zerizer et al. (2008)**, montrant une augmentation significative de poids chez des souris traités pendant 18 jours. Vu les résultats obtenus, on peut conclure une véritable relation entre le traitement et le poids des souris.

Les souris du groupe (**Témoin**) ont présenté un gain de poids corporel lié à une croissance normale des animaux. Les souris du groupe (**Standard**), (**Expérimental 1**) et (**Expérimental 2**) ont un gain de poids inférieur à celui des souris du groupe (**Témoin**) (mais avec **p> 0,05**); ce qui pourrait signifier que l'huile de graines de *C. azarolus* à la dose de **200 et 400 mg/kg/jour** a réduit légèrement la croissance des souris. Cette observation est en accord avec ceux de **Fehri et al. (1991)**.

Nous pouvons donc déduire qu'il existe une relation entre la consommation de l'huile de graines de *C. azarolus* et le poids des souris en confirmant les travaux de **Messaoudi, 2021**.

2. Effet de l'huile de graines de *Crataegus azarolus* sur l'activité phagocytaire

La (**Figure 28**) représente l'activité immunostimulante de l'huile de *Crataegus azarolus* à deux doses : 200 mg/kg/jour et 400 mg/kg/jour. Les résultats obtenus et affichés dans cette figure montrent qu'il y'a une différence dans les moyennes de l'index phagocytaire (α) entre les différents groupes G1 (**Contrôle**), G2 (**Standard**), G3 (traité par la dose 200 mg/Kg de l'huile de *Crataegus azarolus*) et G4 (traité par la dose 400 mg/Kg de l'huile de *Crataegus azarolus*).

L'analyse statistique de l'effet de notre huile sur l'activité phagocytaire montre que l'augmentation de l'activité phagocytaire chez les groupes traités (groupe standard (moyenne = 11,42 \ écart type = \pm 1,27), groupe traité par la dose 200 mg/kg/jour (moyenne =10,47 \ écart type= \pm 0,85) et groupe traité par la dose 400 mg/kg/jour (moyenne=10,31 \ écart type= \pm 0,50) est hautement significative quand elle est comparée avec le groupe témoin (moyenne =4,01 \ écart type= \pm 0,41).

On constate une augmentation de l'activité phagocytaire représentée par l'index phagocytaire corrigé α chez tous les lots prétraités par le traitement standard et les deux doses de l'huile de façon comparable, la différence entre les lots traités est statistiquement non significative, ainsi notre produit a exercé un effet indépendant de la dose et équivalent à celui du traitement de référence.

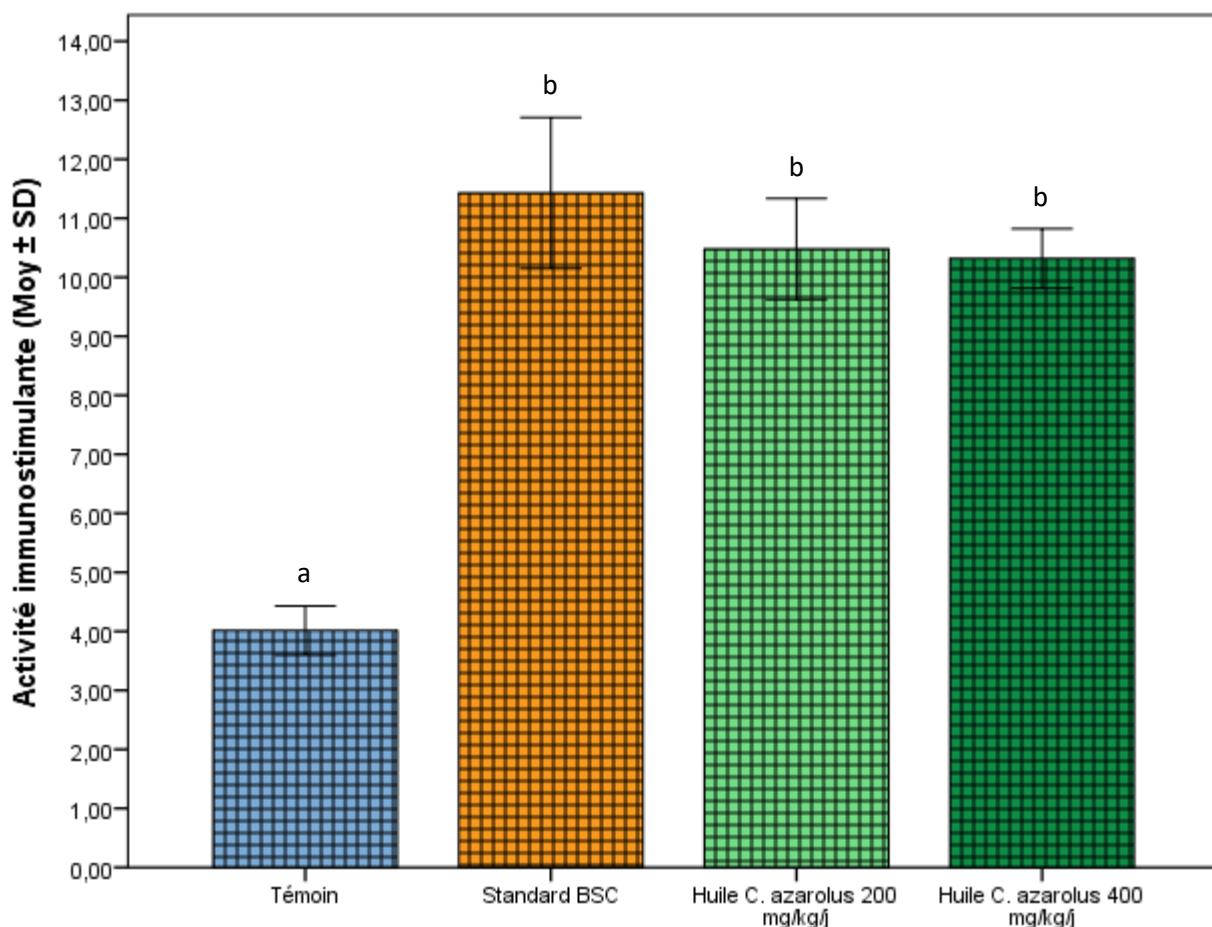


Figure 28 : Effet de l'huile de *Crataegus azarolus* sur l'index phagocytaire corrigé (α) dans le test de l'épuration sanguine du carbone chez la souris

Les données ont été exprimées en moyennes \pm SD ($n=5$) ; l'analyse statistique a été réalisée par le test one-way ANOVA suivie par le test Tukey. La différence significative ($p < 0.05$) est exprimée par des lettres différentes (a, b, c ...)

G1: groupe contrôle non traité; **G2 :** groupe standard ; **G3:** groupe expérimental I traité par l'huile (200mg/Kg par voie orale) ; **G4:** groupe expérimental II traité par l'huile (400 mg/Kg par voie orale).

➤ Les immunostimulants sont des substances qui peuvent stimuler l'immunité innée ou adaptative du système immunitaire. De nombreux immunostimulants synthétiques sont lancés par les compagnies pharmaceutiques mais avec de nombreux effets secondaires. De l'autre côté, on pense que certains produits végétaux renforcent la résistance naturelle de l'organisme aux infections sur la base de leurs constituants tels que les polysaccharides, les lectines, les saponines et les flavonoïdes. Certains d'entre eux stimulent à la fois "l'immunité humorale et l'immunité à médiation cellulaire", tandis que d'autres activent uniquement les composantes cellulaires du système immunitaire. Les molécules

immunostimulantes influencent et modifient la réponse immunitaire en s'appuyant sur sa durée et son intensité (**Kehili, 2016**).

La plupart de ces immunostimulants sont des composés phénoliques. Sur la base de la structure du carbone, les composés phénoliques peuvent être classés comme des composés flavonoïdes (flavones, isoflavones, flavanones, flavonols et anthocyanidines) ou des composés non flavonoïdes (acide benzoïque, stilbènes et acides hydroxycinamiques) (**Kang et al., 2010**).

Historiquement, les plantes sont bien connues pour leur valeur médicinale, principalement en raison de leur contenu en composants phytochimiques, y compris les composés phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et d'autres produits sensibles au stress (**El-Mahdy et al., 2008**). En effet, l'apport quotidien d'antioxydants naturels a été corrélé à une diminution de la fréquence de différentes maladies, dont le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires. De plus, les composés phénoliques et les flavonoïdes de diverses plantes médicinales présentent de puissantes capacités anti-inflammatoires et antiprolifératives et immunostimulantes (**Oak et al., 2006**). Les effets bénéfiques des polyphénols sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité de capter les radicaux libres. Ces substances présentent des propriétés anticancéreuses, immunomodulatrices, antimutagènes et antibactériennes non négligeables (**Hatano et al., 2005**).

Les flavonoïdes sont généralement non toxiques et manifestent une gamme variée d'activités biologiques bénéfiques. Les flavonoïdes alimentaires ont la propension à moduler une variété d'événements biologiques associés à la progression et au développement du cancer. Il a été démontré que ces composés ont des activités antivirales, anti-inflammatoires, antimutagènes, immunostimulantes et anticarcinogènes (**Belkhir et al., 2016**). Les flavones et les flavonols ont des squelettes basiques présentent une double liaison C2-C3 dans les flavonoïdes polyhydroxylés et le nombre de substituants sur les cycles A et B et leur nature (hydroxyles libres ou méthylés). Ce sont des structures plates avec un substituant 3-hydroxyle caractéristique. Un autre élément structurel qui peut influencer l'activité antiproliférative est le nombre et la position des substituants dans le squelette de la base flavonoïde. La lutéoline et l'apéginine (flavones) et la quercétine, le kaempférol (flavonols) ont une structure catéchol (O-hydroxy) dans son anneau B, la présence d'un nouvel hydroxyle dans cet anneau conduit à ces structures un fort effet antiprolifératif (**Mraihi et al., 2015**).

Résultats et discussion

Le test de l'épuration sanguine du carbone colloïdal chez la souris est le modèle expérimental utilisé dans notre étude, pour évaluer l'effet protecteur et immunomodulateur l'huile de graine de *Crataegus azarolus* sur le système réticuloendothélial.

En effet, le système réticuloendothélial est l'ensemble de cellules phagocytaires disséminées dans l'organisme, le rôle principal de ces cellules est la phagocytose qui est le mécanisme nécessaire pour l'élimination des microorganismes, des particules étrangères et des cellules mortes ou altérées. Un déficit qui touche le mécanisme de la phagocytose est associé à certaines pathologies humaines.

L'étude menée visait à évaluer l'effet protecteur immunostimulant de l'huile de graine de *Crataegus azarolus* à travers le test d'épuration du carbone, qui est une méthode fiable pour estimer l'activité phagocytaire du système mononucléé phagocytaire chez la souris.

Les résultats obtenus montrent une amélioration significative de la vitesse d'épuration du carbone dans les groupes traités par *Crataegus azarolus* exprimée par l'index phagocytaire K comparativement au groupe témoin. Cette augmentation suggère une stimulation de l'activité phagocytaire des macrophages et des cellules de Kupffer hépatiques, responsables de l'élimination des particules colloïdales du sang.

Une fois les particules de carbone (sous forme d'encre) ont été injectées par voie intraveineuse, la clearance de ces particules (antigènes) est dirigée par une équation exponentielle (**Elango et Devaraj, 2010**).

Au cours du suivi des différents lots utilisés dans cette expérience, et après l'injection du carbone au niveau de la queue des souris, le prélèvement sanguin effectué à 5min et 10min et enfin la lecture de l'absorbance, on a noté une stimulation du système phagocytaire traduite par l'augmentation des index phagocytaires (K et α) chez tous les groupes traités par rapport au groupe témoin, ce qui prouve bien que le carbone injecté comme antigène a induit un recrutement des phagocytes conduisant à l'élimination de cette particule du sang. Les cellules phagocytaires ont été plus activées chez les groupes traités (**standard, expérimental1 et expérimental2**) selon les présents résultats.

L'introduction du carbone induit une réaction immunitaire primaire caractérisée par une phagocytose assurée surtout par les macrophages, qui sont des éléments clés possédant en plus de leur activité phagocytaire la fonction d'indicateur pour l'activation de la

réponse immunitaire adaptative. Cette activité a été évaluée par la mesure du taux de clearance d'une dose de carbone testée *in vivo*.

La clearance des cellules apoptotiques, des accumulations protéiques et des pathogènes exogènes par les phagocytes sont des actions importantes pour maintenir l'homéostasie. La clairance des débris cellulaires à la suite de l'apoptose est nécessaire pour limiter les dommages faits aux cellules voisines saines. En effet, les débris vont inhiber la croissance et la réparation des tissus donc la phagocytose est essentielle pendant le développement et pendant la réparation tissulaire après une lésion (**Madore, 2013**).

Dans la présente étude, nous avons constaté que l'huile de graine de *Crataegus azarolus* a pu jouer un rôle crucial dans la stimulation du système phagocytaire. Nos résultats sont en accord avec ceux de (**George et al., 2014**) qui rapporte que le traitement par l'extrait aqueux de *P. Munis* après injection des particules de carbone directement dans la circulation sanguine stimule le système réticuloendothélial qui joue un rôle important dans l'élimination de ces particules, nous avons également constaté que ces résultats sont compatibles avec ceux de (**Benmebarek et al., 2013; Aribi et al., 2016 ; Bouratoua et al., 2016; Maouche, 2017**) et qui ont confirmé que l'administration de l'extrait *Phoenix dactylifera*. La variété de TOLGA et l'extrait *S. mialhesi* et l'extrait butanolique d' *Hypericum tomentosum subsp* chez les souris ont augmenté l'indice phagocytaire à différentes concentrations et ont amélioré le taux de l'élimination du carbone.

Ces résultats viennent donc confirmer les premières conclusions de l'équipe de **Mustapha et al. (2016)**. Qui ont constaté que l'utilisation de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur un modèle murin d'inflammation chronique possède une activité antiinflammatoire et donc un effet modulant les composants du système immunitaire.

Les phénomènes de phagocytose par les polynucléaires et macrophages induisent une augmentation de la consommation d'oxygène par ces cellules, à l'origine de la formation des radicaux libres oxygénés (**Fiedos, 2018**). L'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant» (**Yassia, 2016**). De nombreuses maladies sont associées à la production d'espèces oxydantes réactives qui endommagent les molécules physiologiquement essentielles. Le point de vue classique est que les antioxydants éliminent ces molécules oxydantes réactives et offrent ainsi une protection contre les maladies (**Guido et al., 2014**).

En outre, les récentes découvertes des plantes ont révélés de nombreux composés comme les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les vitamines ayant été prononcés antioxydant, anti-inflammatoire et immunostimulant (**Millogo-Koné et al., 2012**).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature, notamment les études ayant démontré l'effet immunomodulateur de diverses espèces du genre *Crataegus*. Par exemple, plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet stimulant de ces plantes (**Bahri Sahloul et al., 2009; Egea et al., 2010; Mraihi et al., 2013; Bahri Sahloul et al., 2014; Belkhir et al., 2016 ; Mustapha et al., 2016**).

L'effet immunostimulant observé pourrait être attribué à la richesse en composés bioactifs présents dans l'huile de graine de *C. azarolus*, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques et les triterpènes. Ces composés sont largement reconnus pour leur capacité à moduler la réponse immunitaire, en stimulant la prolifération des cellules immunitaires, l'activation des macrophages et la production de cytokines. L'acide ursolique est un composé triterpénoïde présent dans diverses plantes médicinales et de nombreux fruits. L'acide ursolique a montré des propriétés anti-inflammatoires, hépatoprotectrice, antihyperlipidémique, anticancéreuses, une inhibition de la peroxydation lipidique et des activités antimicrobiennes (**Somova et al., 2003**). Cela a été confirmé par l'étude de **Jain et Singhai, (2012)** qui ont démontré que l'effet immunostimulant est dû à l'activité synergique des flavonoïdes dans l'huile de graines de *C. azarolus*, compte tenu du fait que l'huile de graines de *C. azarolus* contient une forte concentration de phénols et de flavonoïdes.

En outre, l'effet dose-dépendant n'a pas été marqué dans notre étude suggérant une non-corrélation directe entre la concentration du produit et l'intensité de la réponse phagocytaire. Cela renforce l'hypothèse que les constituants bioactifs de l'huile exercent une action pharmacologique spécifique sur les cellules immunitaires mais d'une façon dose-indépendante d'où la nécessité d'utiliser des produits plus purifiés et d'autres doses.

Cependant, bien que l'huile de graine de *Crataegus azarolus* ait démontré un effet immunostimulant *in vivo*, il est important de souligner certaines limites de l'étude. Le mécanisme exact d'action n'a pas été élucidé et d'autres tests, tels que la mesure de la production de cytokines, l'évaluation de la prolifération lymphocytaire ou l'analyse des marqueurs de surface des macrophages, pourraient permettre une meilleure compréhension de

Résultats et discussion

cet effet. De plus, des essais de toxicité aiguë et chronique seraient nécessaires pour évaluer la sécurité d'emploi du produit à long terme.

En conclusion, l'huile de graine de *Crataegus azarolus* semble posséder des propriétés immunostimulantes notables, particulièrement sur l'activité phagocytaire. Ces résultats ouvrent la voie à des recherches plus approfondies sur l'utilisation de cette plante comme immunomodulateur naturel.



Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail a été orienté pour évaluer l'influence de la phytothérapie base de l'huile de *Crataegus azarolus*. Les différents tests réalisés *in vivo* ont porté sur l'évaluation de l'activité immunomodulatrice.

Plusieurs études récentes montrent que la *Crataegus azarolus* est riche en flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les vitamines qui sont potentiellement intéressants pour leurs propriétés biologiques.

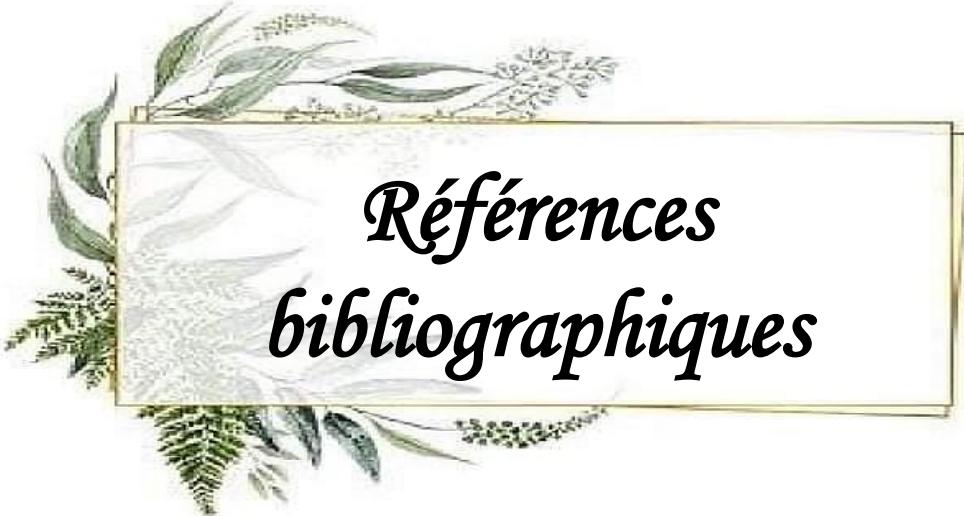
L'étude de l'activité immunomodulatrice démontre que *Crataegus azarolus* un agent immunomodulateur et agisse comme un immunostimulant dans le système réticuloendothéliale. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de *Crataegus azarolus* a augmenté l'activité phagocytaire à **200 mg/kg** par la stimulation du SRE, tandis qu'à **400 mg/kg**, une diminution de cette activité a été observée, suggérant un effet immunosuppresseur à forte dose. En effet, le taux de clairance du carbone a été significativement plus rapide lors de la concentration de **200 mg/kg** lorsqu'il est comparé à la concentration **400 mg/kg**.

Nous pouvons affirmer que l'huile de *Crataegus azarolus* présentait un effet immunostimulant dépendant de la dose sur le système réticuloendothélial.

En conclusion, la plante *Crataegus azarolus* est une source prometteuse d'agents immunostimulants, ce qui est expliqué par la nature des composants présents dans cette plante.

Par ailleurs, cette étude ouvre de nouvelles voies d'investigation pour :

- Analyses chimique de l'extrait utilisé.
- Etude histologie et immunohistochimique du foie.
- Appliquer l'huile de *Crataegus azarolus* comme un agent liant dans l'industrie pharmaceutique et comme un agent antioxydants dans l'industrie agroalimentaire.
- Déterminer l'effet de l'extrait sur d'autres mécanismes immunitaires innée ou adaptatif (action sur les neutrophiles, action sur les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires,...).



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdeddaim, M. (2018).** *Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique (celtis australis L, crataegus azarolus L, crataegus monogyna J, elaeagnus angustifolia L, et zizyphus lotus L)* (Doctoral dissertation).
- Abu-Gharbieh, E., & Shehab, N. G. (2017).** Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* var. eu-azarolus Maire leaves and its isolated compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-13.
- Akira, S. (2009).** Pathogen recognition by innate immunity and its signaling. *Proceedings of the Japan Academy*, 85(4), 143-156.
- Akira, S., Uematsu, S. et Takeuchi, O. (2006).** Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*, 124(4), 783-801.
- Aribi B., Zerizer S., Kabouche.Z., Screpantic 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*. Vol. 27, No. 3, 350–357.
- Arnold, J. N., Wormald, M. R., Sim, R. B., Rudd, P. M. et Dwek, R. A. (2007).** The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annual Review of Immunology*, 25, 21-50.
- Bahri-sahloul, R.(2009).** L'azorolier(*crataegus azorolus* L.) Un arbre fruités polyvalent méditerranéen. *Revue des régions arides*, 22(1),1-10
- Bahri-Sahloul, R., Ammar, S., Grec, S., & Harzallah-Skhiri, F. (2009).** Chemical characterisation of *Crataegus azarolus* L. fruit from 14 genotypes found in Tunisia. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(1), 23-28.
- Bahri-Sahloul, R., Ben Fredj, R., Boughalleb, N., Shriaa, J., Saguem, S., Hilbert, J. L., ... & Harzallah-Skhiri, F. (2014).** Phenolic composition and antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from *Crataegus azarolus* L. var. aronia (Willd.) Batt. Ovaries calli. *Journal of Botany*, 2014(1), 623651.

Références bibliographiques

- Belkhir M., Dhaouadi K., Rosa A., Atzeri A., Nieddu M., et al. (2016).** Protective effects of azarole polyphenolic extracts against oxidative damage using *in vitro* biomolecular and cellular models. *Industrial Crops and Products*, 86: 239-250.
- Belkhir, M., Dhaouadi, K., Rosa, A., Atzeri, A., Nieddu, M., Tuberoso, C. I. G., ... & Fattouch, S. (2016).** Protective effects of azarole polyphenolic extracts against oxidative damage using in vitro biomolecular and cellular models. *Industrial Crops and Products*, 86, 239-250.
- Benacerraf, B., Bilbey, D., Biozzi, G., Halpern, B. N., & Stiffel, C. (1957).** The measurement of liver blood flow in partially hepatectomized rats. *The Journal of Physiology*, 136(2), 287.
- Benacerraf, B., Sebestyen, M., & Cooper, N. S. (1959).** The clearance of antigen antibody complexes from the blood by the reticulo-endothelial system. *The Journal of Immunology*, 82(2), 131-137.
- Benmebarek, A., Zerizer, S., Laggoune, S., & Kabouche, Z. (2013).** Immunostimulatory activity of *Stachys mialhesi* de Noé. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 9, 1-4.
- Bharti, P. K., Singh, S. K., & Kumari, S. (2023).** Elicitors: role in secondary metabolite production in medicinal plants. In *Genetic Manipulation of Secondary Metabolites in Medicinal Plant* (pp. 147-178). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Bisig, B., Reyniès, A., Bonnet, C., Sujobert, P., Rickman, D. S., Marafioti, T., et al. (2013).** CD30-positive peripheral T-cell lymphomas share molecular and phenotypic features. *Haematologica*, 98(8), 1250-1258.
- Borgdan, C., Röllinghoff, M., & Diefenbach, A. (2000).** Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Current opinion in immunology*, 12(1), 64-76.
- Bouaziz, A., Seddik, K., Shtaywy, A., Saliha, D., Mussa, A. Z., Assia, B., ... & Smain, A. (2014).** Phytochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarole (*Crataegus azarolus* L.) leaves extracts.
- Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., & Boudraa, H. (2010).** Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie: *Celtis australis* L.,

Références bibliographiques

Crataegus azarolus L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. *Fruits*, 65(2), 75-84.

Bouratoua A ;Ouassila T; Kabouche A; Zerizer S ; Kabouche Z.(2016) . Activities Of *Hypericum tomentosum* subsp. *Pubescens* In Chemistry of Natural Compounds, 016, 18061.

Brannon-Peppas, L., & Blanchette, J. O. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced drug delivery reviews*, 56(11), 1649-1659.

Call, M. E. et Wucherpfennig, K. W. (2004). Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor–CD3 complex. *Molecular Immunology*, 40(18), 1295-1305.

Carcelaine, A., Dupuis, M., Bernard, L. et Roussel, C. (2018). L'impact du stress oxydatif sur les cellules immunitaires. *Immunologie Cellulaire et Moléculaire*, 32(2), 115-123.

Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2, 2), 3-23.

Chatenoud, L. et Bach, F. J. (2012). *Immunologie*. Paris : Médecine sciences publications. *Lavoisier*, 6,469.

Collège des Enseignants d'Immunologie. (2018). *Immunologie fondamentale et immunopathologie*. France : Elsevier Masson, de l'Assim, p. 11.

Daugan, M., Noe, R., Fridman, H. W., Sautes-Fridman, C. et Roumenina, T. L. (2017). Le système du complément, une arme à double tranchant dans la progression. *Paris*, 33, 871–877.

Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R. et Roitt, I. M. (2017). *Roitt's Essential Immunology*. Wiley-Blackwell, 13.

Dizaya, K. F., AL-JEBOORY, A. L. I. A., & AL-JAFF, H. N. (2005). The pharmacological studies of procyanidine isolated from *Crataegus azarolus* (Iraqi endogenous). *Pakistan Journal of Pharmacology*, 22(1), 57-79.

Références bibliographiques

- Dumet, C., & Watier, H. (2019).** Quelles chaînes lourdes d'immunoglobulines pour quels anticorps d'immunostimulation?. *médecine/sciences*, 35(12), 975-981.
- Egea, I., Sánchez-Bel, P., Romojaro, F., & Pretel, M. T. (2010).** Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant foods for human nutrition*, 65(2), 121-129.
- Elango, C., & Devaraj, S. N. (2010).** Immunomodulatory effect of Hawthorn extract in an experimental stroke model. *Journal of neuroinflammation*, 7, 1-13.
- El-Mahdy, M. A., Zhu, Q., Wang, Q. E., Wani, G., Patnaik, S., Zhao, Q., ... & Wani, A. A. (2008).** Naringenin protects HaCaT human keratinocytes against UVB-induced apoptosis and enhances the removal of cyclobutane pyrimidine dimers from the genome. *Photochemistry and photobiology*, 84(2), 307-316.
- Espinosa, E. et Chillet, P. (2006).** *Immunologie. Ellipses*, 432.
- Ferhat R., Laroui S., Abdeddaim M. (2014).** Huile et profil en acides gras des amandes du *Crataegus azarolus* L. *Lebanese Science Journal*, 15(2): 73-79.
- Fiedos, D. (2018).** *Recherche de biomarqueurs inflammatoires et métabolites cérébraux associés aux conduites suicidaires chez les patients souffrant d'épisode dépressif caractérisé: étude de spectroscopie par résonance magnétique: projet BICS* (Doctoral dissertation).
- Fonteneau, P. (2002).** *Immunologie : Aide-mémoire illustré*. De Boeck Université, 2.
- Freeman, T., Gordon, A. H., & Humphrey, J. H. (1958).** Distinction between catabolism of native and denatured proteins by the isolated perfused liver after carbon loading. *British Journal of Experimental Pathology*, 39(5), 459.
- George A; Chinnappan1 S; Choudhary Y; Bommu P; Sridhar M. (2014).** Immunomodulatory activity of an aqueous extract of *Polygonum minus* Huds on Swiss albino mice using carbon clearance assay. *Asian Pac J Trop Dis*, 4(5): 398-400.
- Ginhoux, F. et Martin, G. (2016).** Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*, 44(3), 439-449.
- Ginhoux, F. et Steffen, J. (2014).** Monocytes and Macrophages: Developmental Pathways and Tissue Homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 14(6), 392-404.

Références bibliographiques

- Goldsby, R. A., Kindt, T. J., & Osborne, B. A. (2000).** *Kuby immunology* (p. 670). New York: WH Freeman.
- Guido R; Haenen MM; Bast A. (2014).** Glutathione revisited: a better scavenger than previously thought. *Frontiers in Pharmacology*, 5: 1-5.
- Hanus, M., Lafon, J., & Mathieu, M. (2004).** Double-blind, randomised, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of a fixed combination containing two plant extracts (*Crataegus oxyacantha* and *Eschscholtzia californica*) and magnesium in mild-to-moderate anxiety disorders. *Current medical research and opinion*, 20(1), 63-71.
- Hatano T., Kusuda M., Inada K., Ogawa T. O., Shiota S., et al. (2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66(17): 2047-2055.
- Jain, V., & Singhal, A. (2012).** Catch up growth in low birth weight infants: striking a healthy balance. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13, 141-147.
- Janeway, C. A., Kenneth, M., Paul, T., Mark, W. et Pierre, L. M. (2009).** *Immunobiologie. De Boeck*,
- Kang W. Y., Li C. F., Liu Y. X. (2010).** Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* Kuntze *in vitro*. *Medicinal chemistry research*, 19(9): 1222-1232.
- Kehili H. (2016).** Biological activities of *Phoenix dactylifera* and Treg in Rheumatoid arthritis induced by hyperhomocysteinemia and formalin and on tumoral process. Option: Immuno-Oncology. University of Frères Mentouri Constantine1.
- Kmail, A., Lyoussi, B., Imtara, H., Zaid, H., & Saad, B. (2017).** In vitro evaluation of anti inflammatory and antioxidant effects of *Asparagus aphyllus* L., *Crataegus azarolus* L., and *Ephedra alata* Decne. in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacognosy Communications*, 7(1), 24.
- Lakache, Z., Aliboudhar, H., Laassami, A., Metidji, H., Hacib, H., Tounsi, H., & Kameli, A. (2023).** Evaluation of antioxidant, antibacterial, antalgic and anti-inflammatory properties of *Crataegus azarolus*. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut University*, 46(2), 867-880.

Références bibliographiques

- Lalle, G. (2022).** Régulation de la biologie des lymphocytes T CD4+ conventionnels par les facteurs de transcription NF-KB. *Thèse de doctorat en immunologie*.
- Legrand, N. (2002).** Sélection centrale, survie et sélection périphérique des lymphocytes T ab CD8+. *Immunologie*, 265.
- Luthra, N., Pathak, S. O., Tater, A., Tewari, S., Nain, P., Sharma, R., ... & Kaushal, A. (2024).** Role of biochar in acidic soils amelioration. In *Biochar Production for Green Economy* (pp. 185-203). Academic Press.
- Madore C. (2013).** Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité innée cérébrale : modulation par l'inflammation et la nutrition. Thèse de Doctorat, mention : Sciences, Technologie, Santé, spécialité : Neurosciences. Université Bordeaux 2.
- Male, D. (2005).** *Immunologie : Aide-mémoire illustré*. De Boeck, 4, 114-124.
- Maouche S. (2017).** Contribution à l'étude biologique des dattes « Phoenix dactylifera L » variété de TOLGA. Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire. Faculté : des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Larbi Tébessa Tébessa.
- Mazzocchi, F. (1999).** Origine géographique de certaines espèces méditerranéennes. *Journal de Botanique Méditerranéenne*, 45(2), 123–135
- Meriah, Y., Negar, M. et Hanache, S. (2022).** L'immunomodulation naturelle dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. *Mémoire de Master en Immunologie*.
- Miles, K. K., Stern, S. T., Smith, P. C., Kessler, F. K., Ali, S., et al. (2005).** An investigation of human and rat liver microsomal mycophenolic acid glucuronidation: evidence for a principal role of UGT1A enzymes and species differences in UGT1A specificity. *Drug Metab Dispos*, 10, 1513-1520.
- Millogo-Koné, H., Kini, B. F., Yougbaré, Z., Yaro, M. B., & Sawadogo, M. (2012).** Etudes de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne in vitro des feuilles de Moringa oleifera (Moringaceae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 16.

Références bibliographiques

Mraihi F., Fadhil H., Trabelsi-Ayadi M., Chérif J. K. (2015). Chemical characterization by HPLC-DAD-ESI/MS of flavonoids from hawthorn fruits and their inhibition of human tumor growth. *Journal of New Sciences*, 3: 840-846.

Mraihi, F., Journi, M., Chérif, J. K., Sokmen, M., Sokmen, A., & Trabelsi-Ayadi, M. (2013). Phenolic contents and antioxidant potential of crataegus fruits grown in Tunisia as determined by DPPH, FRAP, and β -carotene/linoleic acid assay. *Journal of chemistry*, 2013(1), 378264.

Mustapha, N., Bzéouich, I. M., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2015). Compounds isolated from the aerial part of *Crataegus azarolus* inhibit growth of B16F10 melanoma cells and exert a potent inhibition of the melanin synthesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 139-144.

Mustapha, N., Bzéouich, I. M., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2015). Compounds isolated from the aerial part of *Crataegus azarolus* inhibit growth of B16F10 melanoma cells and exert a potent inhibition of the melanin synthesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 139-144.

Mustapha, N., Mokdad-Bzéouich, I., Sassi, A., Abed, B., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2016). Immunomodulatory potencies of isolated compounds from *Crataegus azarolus* through their antioxidant activities. *Tumor Biology*, 37, 7967-7980.

Mustapha, N., Mokdad-Bzéouich, I., Sassi, A., Abed, B., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2016). Immunomodulatory potencies of isolated compounds from *Crataegus azarolus* through their antioxidant activities. *Tumor Biology*, 37, 7967-7980.

Mustapha, N., Pinon, A., Limami, Y., Simon, A., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2016). *Crataegus azarolus* Leaves Induce Antiproliferative Activity, Cell Cycle Arrest, and Apoptosis in Human HT-29 and HCT-116 Colorectal Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(5), 1262-1272.

Mustapha, N., Pinon, A., Limami, Y., Simon, A., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2016). *Crataegus azarolus* Leaves Induce Antiproliferative Activity, Cell Cycle Arrest, and Apoptosis in Human HT-29 and HCT-116 Colorectal Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(5), 1262-1272.

N'Kaoua, E. (2020). Pénurie en immunoglobulines : Impact et conséquences cliniques dans un centre de référence. *Thèse de doctorat en Pharmacie*.

Références bibliographiques

- Oak M. H., Bedoui J. E., Madeira S. F., Chalupsky K., Schini-Kerth V. B. (2006).** Delphinidin and cyanidin inhibit PDGFAB-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK. *British journal of pharmacology*, 149(3): 283-290.
- Panda S., Rout S., Mishra N., Panda T. (2011).** Phytotherapy and traditional knowledge of tribal communities of Mayurbhanj district, Orissa, India. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(7): 101-113.
- Pierre, A. (2025).** Rôle du vieillissement et des peptides d'élastine sur la réponse inflammatoire et immunitaire au cours de la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). *Thèse de doctorat en Immunologie*.
- Pineau, J. (2021).** Polarisation dynamics and force generation at the B cell immune synapse. *Thèse de doctorat en Biologie cellulaire et biologie du développement*.
- Rahmani A.H., Aly S.M., Ali H., Babiker A.Y., Srikanth S., Khan A.A. (2014).** Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention of diseases via modulation of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumor activity. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7: 483-491.
- Rémi, C. (2015).** Les dermatoses immuno-allergiques fréquemment rencontrées en officine, exemple de l'urticaire, de la dermatite atopique et de l'eczéma de contact : origines, physiopathologies, traitements, éducation thérapeutique et conseils à l'officine. *Thèse de doctorat en Pharmacie*, 41.
- Rhanem, M. (2020).** Le mimétisme phénologique de *Viscum cruciatum* Boiss.: une stratégie de dispersion performante au sein des formations à *Crataegus laciniata* Ucria de bas-fonds du Moyen Atlas (Maroc). *SOCIETE DE BOTANIQUE*, 73(1-4), 55-90.
- Schenten, D. et Medzhitov, R. (2011).** The control of adaptive immune responses by the innate immune system. *Advances in Immunology*, 109, 87-124.
- Shivaprasad, H. N., Kharya, M. D., Rana, A. C., & Mohan, S. (2006).** Preliminary immunomodulatory activities of the aqueous extract of *Terminalia chebula*. *Pharmaceutical Biology*, 44(1), 32-34.

Références bibliographiques

Singh, S., Verma, S. K., & Kumar, S. (2017). Analysis of anti-cancer potential of Terminalia arjuna. *Int. J. Adv. Sci. Res. Manag*, 2(11), 82-87.

Somova, L. I., Shode, F. O., Ramnanan, P., & Nadar, A. (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from Olea europaea, subspecies africana leaves. *Journal of ethnopharmacology*, 84(2-3), 299-305.

Wagner H., Kraus H., and Jurcic K. (2003). Search for potent immunostimulating agents from plants and other natural sources. In Immunomodulatory agents from plants. 1st edition. Edited by Wagner H. Switzerland: Birkhauser verlag Basel : 1-6.

Yassia H. (2016). Propriétés antioxydants de différents produits issus de formulation alimentaire d'un mélange de miels de dattes et de courbe. Spécialité : biotechnologie alimentaire. Institut de la nutrition. Université des frères Mentouri Constantine 1.

Ye, F. (2017). L'effet immunomodulateur de cellule souche mésenchymateuse et ses exosomes sur l'activité des lymphocytes. *Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé*.

(1): <https://identify.plantnet.org/ar/k-worldflora/species/Crataegus%20azarolus%20L./data>



Annexe

Annexe

Annexe 01 : Composants de l'aliment des souris (ONAB) (Office National du Bétail).

Protéines	15%
Lipides	2,5%
Cellulose	8%
Humidité	13%
Vitamine A	150.000 UI
Vitamine D3	200.000 UI
Vitamine E	3 mg
Fer	6 mg
Cu	1,2 mg
Zn	14,400 mg
Cobalt	60 mg
Mn	10,800 mg
Iode	150 mg
Sélénium	300 mg
Ca ⁺²	1%
Phosphore	0,8%

Annexe 02 : Méthode de Biozzi

Suivant la méthode de **Biozzi, Benacerraf et Halpern (1953)**, l'administration du carbone sous la forme d'encre. Cela consiste en une suspension très uniforme de particules de carbone stabilisé avec de la colle de poisson et conservé avec du phénol. Le diamètre moyen des particules est cité par **Biozzi et al.** à 25 µm, l'encre a été injectée par voie intraveineuse (**Freeman et al., 1958**). Les particules de carbone ont été éliminées principalement par le phagocyte. La distribution relative du matériel phagocytaire est généralement localisé dans le foie et la rate, La vitesse de clairance est maximale et indépendante de la quantité injectée, et presque toute la matière injectée est contenue dans les cellules de Kupffer (**Benacerraf et al., 1956**).

Annexe 03 : Calcul des doses du traitement

1. Test de l'activité immunomodulatrice : Dose de l'huile des graines de *Crataegus azarolus* (200 mg/kg) et (400 mg /kg).

La dose I : $1000\text{g} \longrightarrow 200 \text{ mg}$
 $\bar{X} (\text{g}) \longrightarrow Y = \text{dose (souris)}$

$$Y = \text{dose (souris) mg} = \frac{\bar{X} \text{g} * 200 \text{mg}}{1000\text{g}}$$

$\bar{X} (\text{g})$: dose de l'huile des graines de *Crataegus azarolus* en mg pour une souris.

La dose II : $1000\text{g} \longrightarrow 400 \text{ mg}$
 $\bar{X} (\text{g}) \longrightarrow Y = \text{dose (souris)}$

$$Y = \text{dose (souris) mg} = \frac{\bar{X} \text{g} * 400 \text{ mg}}{1000\text{g}}$$

$\bar{X} (\text{g})$: dose de l'huile des graines de *Crataegus azarolus* en mg pour une souris.

2. Evaluation de l'activité phagocytaire

On a injecté une solution du carbone

La dose : 200 g \longrightarrow 1 ml

\bar{X} (g) \longrightarrow \bar{Y} = dose (souris)

$$\bar{Y} = \text{dose (souris) mg} = \frac{\bar{X}g * 1 ml}{200g}$$

Y (ml) : volume de solution du carbone en ml pour une souris.

Résumé

Résumé

L'immunomodulation est le processus de modification d'une réponse immunitaire sous l'effet des immunomodulateurs qui peuvent stimuler ou supprimer la réponse immunitaire et qu'ils sont d'origine végétale ou animale.

L'objectif de cette étude était d'évaluer *in vivo* l'activité immunomodulatrice de l'huile de graine de *Crataegus azarolus* en utilisant le test de l'épuration sanguine colloïdale d'une dose de carbone. L'effet immunomodulateur a été étudié sur le système phagocytaire d'un modèle murin *in vivo* consistant à administrer l'huile de *Crataegus azarolus* à deux différentes doses (200 et 400 mg/Kg/j) avant 24h de la réalisation de l'expérience.

En fait, l'expérience est basée sur une technique s'installant sur l'introduction d'un antigène (carbone sous forme d'encre) via la circulation sanguine (injection intraveineuse) et enfin prélever le sang, le foie et la rate pour estimer l'activité phagocytaire et la clearance du carbone.

Les résultats montrent que l'huile de *Crataegus azarolus* a augmenté l'activité phagocytaire du système réticulo-endothélial. Le taux de clairance du carbone a été significativement plus rapide lors de la concentration de 200 mg/kg/j lorsqu'il est comparé à la concentration 400 mg/kg/j ($P < 0,05$). De plus, l'huile de *Crataegus azarolus* est apparue immunostimulateur à faibles concentrations et immunosuppresseur à fortes concentrations.

En conclusion, les résultats de ces travaux affirment que, la plante *Crataegus azarolus* est une source prometteuse d'agent immunostimulants, ce qui est expliqué par la nature des composants présents dans cette plante.

Mots-clés : activité immunomodulatrice, immunostimulants, molécules bioactives, *Crataegus azarolus*.

Abstract

Abstract

Immunomodulation is the process of altering an immune response through the action of immunomodulators, which can either stimulate or suppress the immune system and may be of plant or animal origin.

The objective of this study was to evaluate the *in vivo* immunomodulatory activity of *Crataegus azarolus* seed oil using the carbon clearance test. The immunomodulatory effect was assessed on the phagocytic system of a murine model *in vivo* by administering *Crataegus azarolus* oil at two different doses (200 and 400 mg/kg) 24 hours prior to the experiment.

The experiment is based on a technique involving the intravenous injection of an antigen (carbon in the form of ink) into the bloodstream, followed by the collection of blood, liver, and spleen samples to evaluate phagocytic activity and carbon clearance.

The results showed that *Crataegus azarolus* oil enhanced the phagocytic activity of the reticuloendothelial system. The carbon clearance rate was significantly faster at the concentration of 100 mg/kg compared to the two higher concentrations of 200 and 400 mg/kg ($P < 0.05$).

In conclusion, the findings of this study suggest that *Crataegus azarolus* is a promising source of immunostimulant agents, which can be attributed to the nature of the bioactive compounds present in the plant.

Keywords: immunomodulatory activity, immunostimulants, bioactive molecules, *Crataegus azarolus*.

ملخص

التنظيم المناعي هو عملية تعديل الاستجابة المناعية تحت تأثير العوامل المنظمة للمناعة، والتي يمكن أن تحفز أو تثبط هذه الاستجابة، وتكون هذه العوامل إما ذات أصل نباتي أو حيواني. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المعدل للمناعة داخل الكائن الحي لزيت بذور نبات *Crataegus azarolus*، باستخدام اختبار إزالة الكربون من الدم.

تمت دراسة التأثير المناعي لزيت على الجهاز البلعومي باستخدام نموذج فأري حي (*in vivo*)، حيث تم إعطاء زيت *Crataegus azarolus* بجرعتين مختلفتين (200 و 400 ملغم/كغ) قبل 24 ساعة من إجراء التجربة.

تعتمد التجربة على تقنية تقوم على إدخال مستضد (كربون على شكل حبر) إلى الدورة الدموية عن طريق الحقن الوريدي، ومن ثم تُجمع عينات من الدم والكبد والطحال لتقدير النشاط البلعومي ومعدل إزالة الكربون. أظهرت النتائج أن زيت *Crataegus azarolus* زاد من النشاط البلعومي للجهاز الشبكي البطاني. كما أن معدل إزالة الكربون كان أسرع بشكل ملحوظ عند تركيز 100 ملغم/كغ مقارنة بالتركيزين 200 و 400 ملغم/كغ. ($P < 0.05$).

وفي الختام، تؤكد نتائج هذه الدراسة أن نبات *Crataegus azarolus* يُعد مصدراً واعداً للعوامل المنشطة للمناعة، ويعزى ذلك إلى طبيعة المركبات الفعالة بيولوجياً الموجودة في هذا النبات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المعدل للمناعة، منشطات المناعة، المركبات الفعالة بيولوجياً، *Crataegus azarolus*.

Etude *in vivo* de l'activité immunomodulatrice de l'huile de graines de *Crataegus azarolus*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Immunologie Moléculaire et Cellulaire

Résumé

L'immunomodulation est le processus de modification d'une réponse immunitaire sous l'effet des immunomodulateurs qui peuvent stimuler ou supprimer la réponse immunitaire et qu'ils sont d'origine végétale ou animale.

L'objectif de cette étude était d'évaluer *in vivo* l'activité immunomodulatrice de l'huile de graine de *Crataegus azarolus* en utilisant le test de l'épuration sanguine colloïdale d'une dose de carbone. L'effet immunomodulateur a été étudié sur le système phagocytaire d'un modèle murin *in vivo* consistant à administrer l'huile de *Crataegus azarolus* à deux différentes doses (200 et 400 mg/Kg/j) avant 24h de la réalisation de l'expérience.

En fait, l'expérience est basée sur une technique s'installant sur l'introduction d'un antigène (carbone sous forme d'encre) via la circulation sanguine (injection intraveineuse) et enfin prélever le sang, le foie et la rate pour estimer l'activité phagocytaire et la clearance du carbone.

Les résultats montrent que l'huile de *Crataegus azarolus* a augmenté l'activité phagocytaire du système réticulo-endothélial. Le taux de clairance du carbone a été significativement plus rapide lors de la concentration de 200 mg/kg/j lorsqu'il est comparé à la concentration 400 mg/kg/j ($P < 0,05$). De plus, l'huile de *Crataegus azarolus* est apparue immunostimulateur à faibles concentrations et immunosuppresseur à fortes concentrations.

En conclusion, les résultats de ces travaux affirment que, la plante *Crataegus azarolus* est une source prometteuse d'agent immunostimulants, ce qui est expliqué par la nature des composants présents dans cette plante.

Mots-clés : activité immunomodulatrice, immunostimulants, molécules bioactives et *Crataegus azarolus*

Laboratoires de recherche : Laboratoire d'Immunologie et Activités Biologiques des Substances Naturelles (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : MECHATI Chahinez (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : MESSAOUDI Sabar (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateuse : ARIBI Boutheyna (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).