



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Evaluation de l'effet immunomodulateur de l'extrait éthanolique de  
*Crataegus azarolus* - étude *in vivo* chez la souris -**

---

Présenté par : DJOUABLI Walid

Le : 21/06/2025

Jury d'évaluation :

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

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

Examinateur : TARTOUGA Maya Abir (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 منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Evaluation de l'effet immunomodulateur de l'extrait éthanolique de  
*Crataegus azarolus* - étude *in vivo* chez la souris -**

---

Présenté par : DJOUABLI Walid

Le : 21/06/2025

Jury d'évaluation :

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

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

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

Année universitaire  
2024 - 2025

## Remerciements

En préambule à ce mémoire, Je souhaite adresser nos remerciements Les plus sincères à Dieu qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces langues années d'étude.

Je tiens tout d'abord à remercier Chaleureusement notre encadrante **Dr ARIBI boutheyna**, je suis très reconnaissant de m'avoir accepté parmi vos encadrés. Votre compétence, vos précieux conseils et votre aide durant toute la période du travail et vos qualités humaines suscitent ma grande admiration.

Je remercie également l'examinatrice de ce travail **Dr TARTOUGA Maya Abir** Je vous adresse mes sincères remerciements et mon profonds respects pour l'intérêt que vous apportez à ce travail.

Je tiens à remercier du fond du cœur **Madame MECHATI Chahinez**, **Monsieur MESSAOUDI Saber**, **Monsieur MOKHTARI Mohamed Badrredine** des enseignants d'exception, pour leur dévouement, leur pédagogie inspirante et leur accompagnement de grande qualité.

Leur soutien, leur écoute et la richesse de leurs conseils ont marqué positivement mon parcours. Je leur suis profondément reconnaissant.

**Je dédie ce mémoire :**

À mes parents, **Riad** et **Souad**, dont le soutien indéfectible, les sacrifices constants et l'amour inconditionnel ont été le socle de ma réussite. Je leur exprime ma profonde gratitude et mon respect éternel.

À mes frères, **Oussama** et **Louai**, pour leur présence bienveillante, leur affection et leurs encouragements sincères tout au long de ce parcours.

À ma seconde famille, **Mohamed** et **Djazil**, pour leur accompagnement chaleureux, leur appui moral et leur générosité de cœur.

À **Hiba**, mon amie et collègue, pour sa précieuse amitié, sa collaboration, sa rigueur et son soutien indéniable tout au long de cette étape déterminante

À toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Veuillez recevoir, chacun et chacune, l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

**Djouabli walid**

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Sommaire</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Le systèmes immunitaire</b>	
<b>1. Le système immunitaire</b>	<b>03</b>
<b>2. Les organes du système immunitaire</b>	<b>03</b>
<b>2.1. Les organes lymphoïdes primaires</b>	<b>04</b>
<b>2.1.1. La moelle osseuse</b>	<b>04</b>
<b>2.1.2. Le thymus</b>	<b>05</b>
<b>2.2.1. Les ganglions lymphatiques</b>	<b>07</b>
<b>2.2.2. La rate</b>	<b>08</b>
<b>2.2.3. Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses</b>	<b>09</b>
<b>3. Les éléments du système immunitaire</b>	<b>10</b>
<b>3.1. Les cellules immunitaires</b>	<b>10</b>
<b>3.1.1. La lignée myéloïde</b>	<b>11</b>
<b>3.1.2 Les polynucléaires</b>	<b>12</b>
<b>3.1.3 Les cellules dendritiques</b>	<b>13</b>
<b>3.1.4. La lignée lymphoïde</b>	<b>13</b>
<b>3.2. Les molécules</b>	<b>20</b>

<b>3.2.1. Cytokines</b>	<b>20</b>
<b>3.2.3. Le système du complément</b>	<b>21</b>
<b>3.2.4. Immunoglobulines</b>	<b>22</b>
<b>4. Réponses immunitaires</b>	<b>24</b>
<b>4.1. L'immunité innée</b>	<b>24</b>
<b>4.1.1 La réaction inflammatoire, des symptômes caractéristiques de la réponse innée</b>	<b>25</b>
<b>4.2. L'immunité adaptative</b>	<b>28</b>
<b>5. Le dysfonctionnement du système immunitaire</b>	<b>29</b>
<b>5.1. Les déficits immunitaires</b>	<b>29</b>
<b>5.2. Les maladies auto-immunes</b>	<b>30</b>
<b>5.1.2. L'hypersensibilité</b>	<b>31</b>
<b>6. L'immunomodulation</b>	<b>31</b>
<b>6.1. Les immunostimulants</b>	<b>32</b>
<b>6.2. Les immunosuppresseurs</b>	<b>32</b>
<b>6.3. Immunomodulateurs naturels</b>	<b>33</b>
<b>6.3.1 Immunomodulateurs d'origine végétale</b>	<b>33</b>
<b>6.3.2. Immunomodulateurs d'origine animale</b>	<b>33</b>
<b>Chapitre II : Données générales sur l'espèce : <i>Crataegus azarolus</i></b>	
<b>1. <i>Crataegus azarolus</i></b>	<b>35</b>
<b>1.1.1.1. Etymologie</b>	<b>35</b>
<b>1.2 Origine</b>	<b>35</b>
<b>1.3 Description botanique</b>	<b>35</b>
<b>1.4 Classification Botanique</b>	<b>35</b>
<b>1.5 Aires de répartition</b>	<b>36</b>
<b>1.6 Activités biologiques du fruit de <i>Crataegus azarolus</i></b>	<b>37</b>

<b>1.6.1 Activité antioxydante</b>	<b>37</b>
<b>1.6.2 Activité anticancéreuse</b>	<b>37</b>
<b>1.6.3 Activité antibactérienne</b>	<b>38</b>
<b>1.6.4 Activité anti-inflammatoire</b>	<b>38</b>
<b>1.6.5 Activité immunomodulatrice</b>	<b>38</b>
<b>Partie pratique</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
<b>I. Evaluation de l'activité immunomodulatrice de l'extrait éthanolique de <i>Crataegus azarolus</i></b>	<b>39</b>
<b>I.1. Matériel</b>	<b>39</b>
<b>I.1.1 Matériel végétal</b>	<b>39</b>
<b>I.1.2 Choix des animaux</b>	<b>39</b>
<b>II. Méthodes</b>	<b>40</b>
<b>II.1 Procédur expérimentale</b>	<b>40</b>
<b>II.1.1 Répartition des groupes</b>	<b>40</b>
<b>II.2.2. Mode d'administration du traitement</b>	<b>42</b>
<b>II.2.3. Injection du carbone</b>	<b>42</b>
<b>II.2.4 Prélèvement sanguin</b>	<b>43</b>
<b>II.2.5 Prélèvement des organes</b>	<b>44</b>
<b>II.2 Estimation de l'activité phagocytaire</b>	<b>45</b>
<b>III. Analyses statistiques</b>	<b>46</b>
<b>Partie pratique</b>	
<b>Résultats et discussion</b>	
<b>I. Effet des extraits de <i>Crataegus azarolus</i> sur le poids des souris</b>	<b>47</b>
<b>II. Effet de l'extrait éthanolique de <i>Crataegus azarolus</i> sur l'activité phagocytaire</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	

<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>55</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	<b>56</b>
<b>Annexe</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	

**AC** (Anticorps)

**ADCC** (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity) :

**AG** (Antigène)

**BALT** (Bronchus-Associated Lymphoid Tissue)

**BCR** (B Cell Receptor)

**CAM** (Cell Adhesion Molecule)

**CDR** (Complementarity-Determining Region)

**CMH** (Complexe Majeur d'Histocompatibilité)

**CPA** ( signifie Cellule Présentatrice d'Antigène)

**CSH** (Cellules Souches Hématopoïétiques)

**GALT** (Gut-Associated Lymphoid Tissue)

**G-CSF** (Granulocyte Colony-Stimulating Factor)

**GM-CSF** (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)

**IgA** (Immunoglobuline A)

**IgE** (Immunoglobuline E)

**IgG** (Immunoglobuline G)

**IL** (Interleukines)

**ITAM** (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif)

**LTC** (Lymphocytes T Cytotoxiques)

**LTH** (Lymphocytes T Helper)

**MALT** (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue)

**NK** (Natural Killer)

**PALS** (Periarteriolar Lymphoid Sheath)

**PAMP** (Pathogen-Associated Molecular Pattern)

**PGA2** (Prostaglandin A2)

**PRR** (Pattern Recognition Receptor)

**SI** (Système Immunitaire)

**TCR** (T-Cell Receptor)

**TNF** (Tumor Necrosis Factor)

**T reg** (T Regulatory Cells)

**TXA2** (Thromboxane A2)

<b>Figure 01.</b> Localisation des organes lymphoïdes primaires et secondaires	<b>4</b>
<b>Figure 02.</b> La moelle osseuse	<b>5</b>
<b>Figure 30.</b> Le thymus	<b>6</b>
<b>Figure 30.</b> Morphologie des ganglions lymphatiques	<b>8</b>
<b>Figure 05.</b> Morphologie de la rate	<b>9</b>
<b>Figure 06.</b> Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses	<b>10</b>
<b>Figure 07.</b> Hématopoïèse (production des cellules immunitaires)	<b>11</b>
<b>Figure 08.</b> BCR	<b>15</b>
<b>Figure 09.</b> TCR	<b>28</b>
<b>Figure 10.</b> Les cellules NK	<b>20</b>
<b>Figure 11.</b> Activation et fonctions du système du complément	<b>22</b>
<b>Figure 12.</b> Les différentes classes des immunoglobulines	<b>23</b>
<b>Figure 13.</b> L'inflammation	<b>27</b>
<b>Figure 14.</b> L'immunité adaptative	<b>29</b>
<b>Figure 15.</b> Différentes parties de l'Azerolier	<b>36</b>
<b>Figure 16.</b> Distribution géographique de l'espèce <i>Crataegus azarolus</i>	<b>37</b>
<b>Figure 17.</b> L'extrait éthanolique de <i>Crataegus azarolus</i>	<b>39</b>
<b>Figure 18.</b> Répartition des souris	<b>40</b>
<b>Figure 19.</b> Marquage et mesure de poids des souris	<b>41</b>

<b>Figure 20.</b> Calcul des doses de l'extrait	<b>42</b>
<b>Figure 21</b> Les étapes de l'injection du carbone	<b>43</b>
<b>Figure 22.</b> Les étapes de prélèvement sanguin	<b>43</b>
<b>Figure 23.</b> Lecture de l'absorbance des différents tubes	<b>44</b>
<b>Figure 24.</b> Dissection et séparation des organes	<b>44</b>
<b>Figure 25.</b> Prélèvements	<b>45</b>
<b>Figure 26.</b> Effet de l'extrait de <i>Crataegus azarolus</i> sur le poids des souris	<b>47</b>
<b>Figure 27.</b> Effet de l'extrait éthanolique de <i>Crataegus azarolus</i> sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ) dans le test de l'épuration sanguine du carbone chez la souris	<b>49</b>

<b>Tableau 01.</b> Les classes de cytokines	<b>20</b>
<b>Tableau 02.</b> Le rôle des cellules et molécules impliquées	<b>25</b>
<b>Tableau 03.</b> Quelques exemples de plantes à activité immunostimulante	<b>33</b>
<b>Tableau 04.</b> Quelques exemples des Immunomodulateurs d'origine animale	<b>33</b>
<b>Tableau 05.</b> Répartition des groupes et traitement des souris	<b>41</b>



# *Introduction*

Le système immunitaire représente l'un des mécanismes les plus complexes et essentielle pour l'organisme humain, il peut distinguer le « soi » du « non-soi » et il permet à l'organisme de se défendre contre toute agression (**Costentin, 2008**).

Au sein de ce système, l'immunité désigne l'ensemble des processus biologiques qui assurent la préservation de l'homéostasie de l'organisme face à une multitude d'agresseurs (antigènes) provenant de sources externes ou internes (**Calas et al., 2016**). Elle est, d'une part, non spécifique (innée), ce qui signifie qu'elle est naturellement efficace dès le premier contact avec un antigène. D'autre part, elle est spécifique, car l'antigène peut déclencher, selon sa nature et son mode d'introduction, deux types de réponses immunitaires : humoral et cellulaire (**Croisier et Croisier, 2011**).

La réponse innée -et plus particulièrement le système phagocytaire mononucléé (ou système réticulo-endothélial)- représente la première ligne de défense. La capacité de phagocytose des cellules comme les macrophages est un indicateur clé de l'efficacité de cette défense naturelle.

Le bon fonctionnement du système immunitaire repose sur un équilibre complexe entre activation et régulation. Toutefois, il arrive que ce système se dérègle, entraînant ce que l'on appelle une déviation de la réponse immunitaire. Ce déséquilibre peut se manifester de différentes manières : par une réponse excessive, insuffisante,... Ces altérations sont à l'origine de nombreuses pathologies, allant des maladies auto-immunes et des allergies aux déficits immunitaires et à certains cancers.

Actuellement, les thérapies efficaces s'appuient sur la modulation du système immunitaire (**immunomodulation**), c'est-à-dire le processus de changement de la réaction immunitaire d'une façon bénéfique (**immunostimulation**) ou défavorable (**immunosuppression**) grâce à l'apport d'un produit ou une molécule. Plusieurs protéines, acides aminés et substances naturelles ont démontré une aptitude notable à moduler la réaction immunitaire (**Nagathra, 2013**).

Bien que la médecine moderne ait démontré son efficacité et sa sécurité, certains médicaments actuels peuvent avoir des effets indésirables sur la santé, comme les troubles digestifs, la toxicité hépatique,. Dans ce contexte, l'usage de composés tirés principalement

de plantes et d'animaux dotés réellement de propriétés immunostimulantes ou immunosuppressives est envisagé car ils présentent moins d'effets secondaires (**Kpera et al., 2004**).

La plante *Crataegus azarolus* est reconnue comme une plante médicinale couramment employée dans la médecine traditionnelle, réputée pour être un excellent traitement des douleurs liées aux systèmes digestif et urinaire. Elle régule les battements de cœur, la circulation du sang, l'hypertension artérielle et calme le système nerveux (**Belouad, 2005, Fernandez, 2003**).

Notre étude vise à :

- Évaluer l'effet protecteur de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur l'activité phagocytaire *in vivo* chez la souris.
- Utiliser le test d'épuration sanguine du carbone pour mesurer l'efficacité de la clairance par les macrophages.
- Comparer l'activité phagocytaire entre l'extrait et le traitement de référence et appliquer différentes doses de l'extrait afin de déterminer une éventuelle relation dose-effet.



## *Partie Bibliographique*



## *Chapitre I : Systèmes immunitaire*

## 1. Le système immunitaire

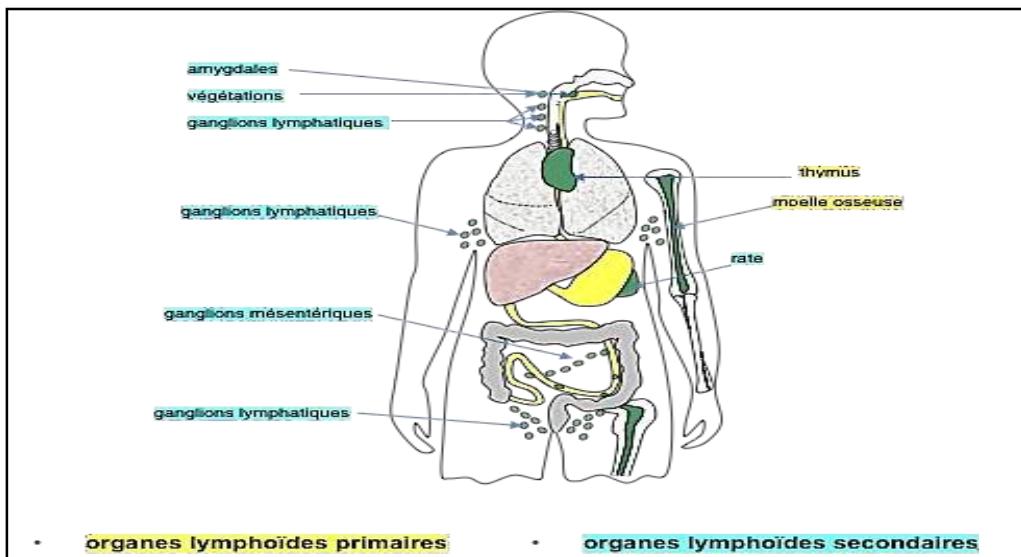
Le terme immunité, dérivé du latin *immunis* (libre de), faisait référence à la résistance face aux infections microbiennes. Cependant, son utilisation s'est élargie pour englober toutes les actions destinées à défendre le « soi » contre les agressions physiques, l'invasion de micro-organismes pathogènes ainsi que contre ses propres éléments dégradés comme les cellules cancéreuses. Dans le but de préserver l'intégrité de l'organisme, il génère une diversité considérable de cellules et de molécules qui ont la capacité d'identifier ou d'éliminer spécifiquement ce qui est perçu comme étranger ou du « non-soi ».

La défense de l'hôte implique deux types de réponses immunitaires ; innée et adaptative. L'immunité naturelle ou innée est formée de barrières anatomiques, physiologiques, phagocytaires et inflammatoires. Elle représente la première barrière de protection de l'organisme. La réponse immunitaire spécifique ou adaptative se distingue par l'identification spécifique d'antigènes (Ag) et la formation d'une mémoire immunitaire (Aymeric *et al.*, 2009).

## 2. Les organes du système immunitaire

Le système immunitaire est constitué d'organes et de tissus appelés tissus lymphoïdes, dédiés à la production des cellules et aux activités immunitaires. Ils sont reliés par les vaisseaux sanguins et lymphatiques (**figure 1**).

Le foie du fœtus est le premier organe où les cellules immunitaires se différencient, cette fonction étant ensuite transférée à la moelle osseuse après la naissance. Les cellules souches lymphoïdes continuent de se développer en lymphocytes B ou T dans les organes lymphoïdes primaires (ou centraux), où elles acquièrent, entre autres, un récepteur spécifique à chaque cellule ; c'est la formation des répertoires T et B. Les cellules dérivées des organes lymphoïdes primaires peuplent les organes lymphoïdes secondaires (ou périphériques), où se déroulent les collaborations cellulaires menant à la réponse immunitaire adaptative. Cela inclut la présentation et l'identification des antigènes, l'activation et la prolifération clonale, ainsi que la transformation des lymphocytes en cellules effectrices (Browning, 2006).



**Figure 1 :** Localisation des organes lymphoïdes primaires et secondaires (Bergereau, 2010).

## 2.1. Les organes lymphoïdes primaires

La moelle osseuse et le thymus constituent les organes lymphoïdes primaires. La moelle osseuse est responsable de la production de toutes les cellules sanguines, y compris les cellules immunitaires, et joue un rôle clé dans la maturation des lymphocytes B (LB). C'est le thymus qui est responsable de la maturation des lymphocytes T (LT) (Kierszenbaum, 2006).

### 2.1.1. La moelle osseuse

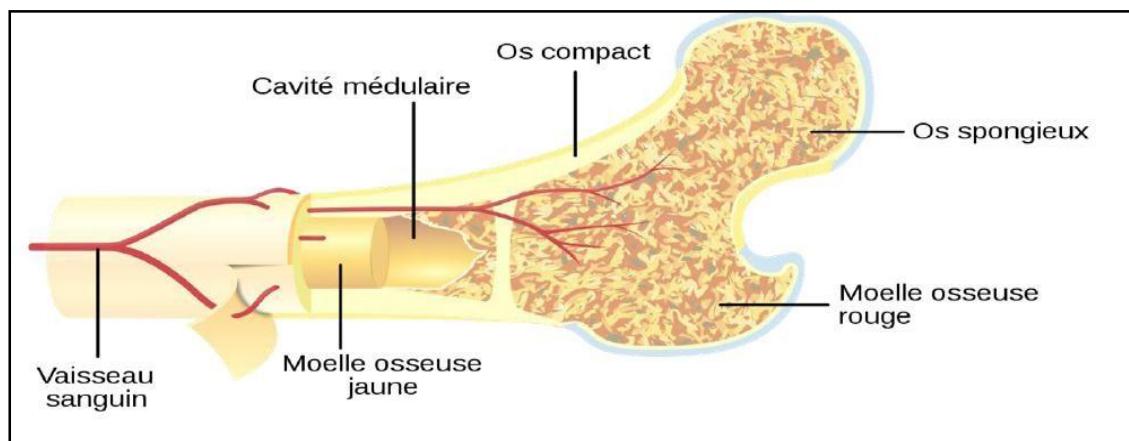
Il s'agit d'un organe hématopoïétique, et d'un organe lymphoïde central. Elle contient des cellules souches, qui se différencient en :

- cellules de la lignée myéloïde qui deviendront entre autres des monocytes et des granulocytes.
- cellules de la lignée lymphoïde qui deviendront des lymphocytes (lymphocytes T, B, NK).

La moelle osseuse est située dans les espaces libres des os et elle contient des cellules graisseuses (la moelle jaune) et du tissu hématopoïétique (la moelle rouge) dans lequel se trouvent les cellules souches hématopoïétiques totipotentes qui ont la propriété de s'autorenouveler (figure 2).

Les cellules B se différencient à partir des cellules souches lymphoïdes en cellules B matures. Les gènes codant les anticorps sont réorganisés au cours du développement des cellules B. Les cellules Pré-B expriment seulement des chaînes  $\mu$  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 (**Chatenoud et al., 2012**).



**Figure 2:** La moelle osseuse (**Munsch et al., 2022**)

### 2.1.2. Le thymus

Le thymus est un organe situé derrière le sternum, dans le médiastin antérieur, au-dessus du cœur. Cette glande régresse à l'âge adulte.

Le thymus est constitué de deux lobes séparés par une cloison et entourés d'une capsule. Chaque lobe est divisé en lobules par des travées conjonctives. Chaque lobule comprend deux zones :

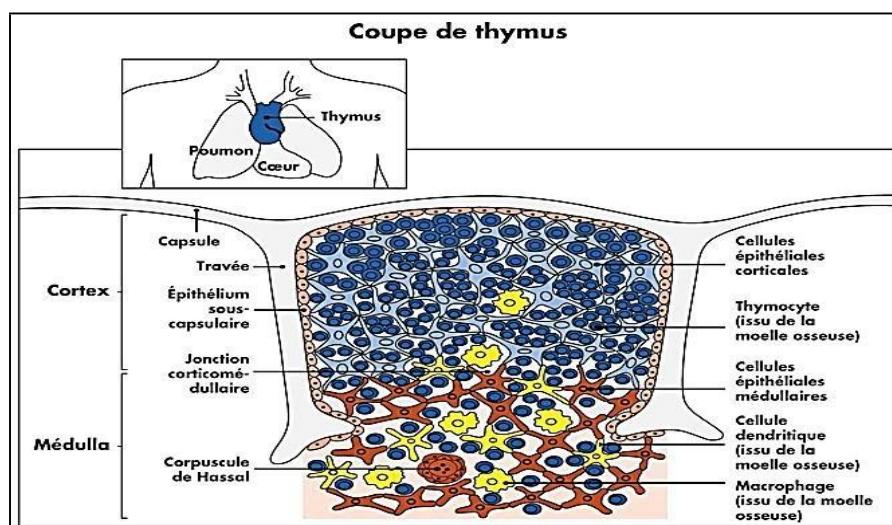
- Une zone périphérique ou cortex, peuplée de thymocytes corticaux qui sont produits par la multiplication des pro-thymocytes de la moelle osseuse,

- Une zone médullaire qui contient, en densité plus faible, des lymphocytes T matures et différenciés (**figure 3**).

Le thymus est essentiel dans la maturation des lymphocytes "T" (**Reiner et al., 2008**).

Le programme de différenciation est déterminé par des interactions séquentielles avec des micro-environnements spécialisés. Au cours de cette maturation, on observe :

- Une expansion des clones de lymphocytes T, d'abord double négatifs CD4-/CD8- puis double positifs CD4+/CD8+.
- Une différenciation des lymphocytes T avec l'expression, à leur surface, d'un récepteur spécialisé à l'antigène, le TCR.
- Un processus d'éducation qui permet une double sélection de cellules matures CD4+ ou CD8+.
  - Positive des cellules les molécules du CMH dont le récepteur se lie aux molécules du complexe d'histocompatibilité CMH I ou II et l'élimination par apoptose des cellules qui n'entrent pas en interaction avec les molécules du CMH
  - Positive des cellules dont le récepteur se lie aux molécules du CMH I ou II avec une faible affinité et une mort par apoptose des cellules possédant des récepteurs de haute affinité pour les complexes CMH-peptide du Soi (**Kaufmann, 2013**).



**Figure 3:** Le thymus (**Dondero, 2016**)

**Kaufmann SH. (2013).** Basiswissen Immunologie. Springer-Verlag, 13.

## 2.2. Les organes lymphoïdes secondaires

Les ganglions lymphatiques, la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses de l'intestin, des voies respiratoires, du nez, du système urogénital et d'autres muqueuses constituent les organes lymphoïdes périphériques (**Janeway et al., 2009**).

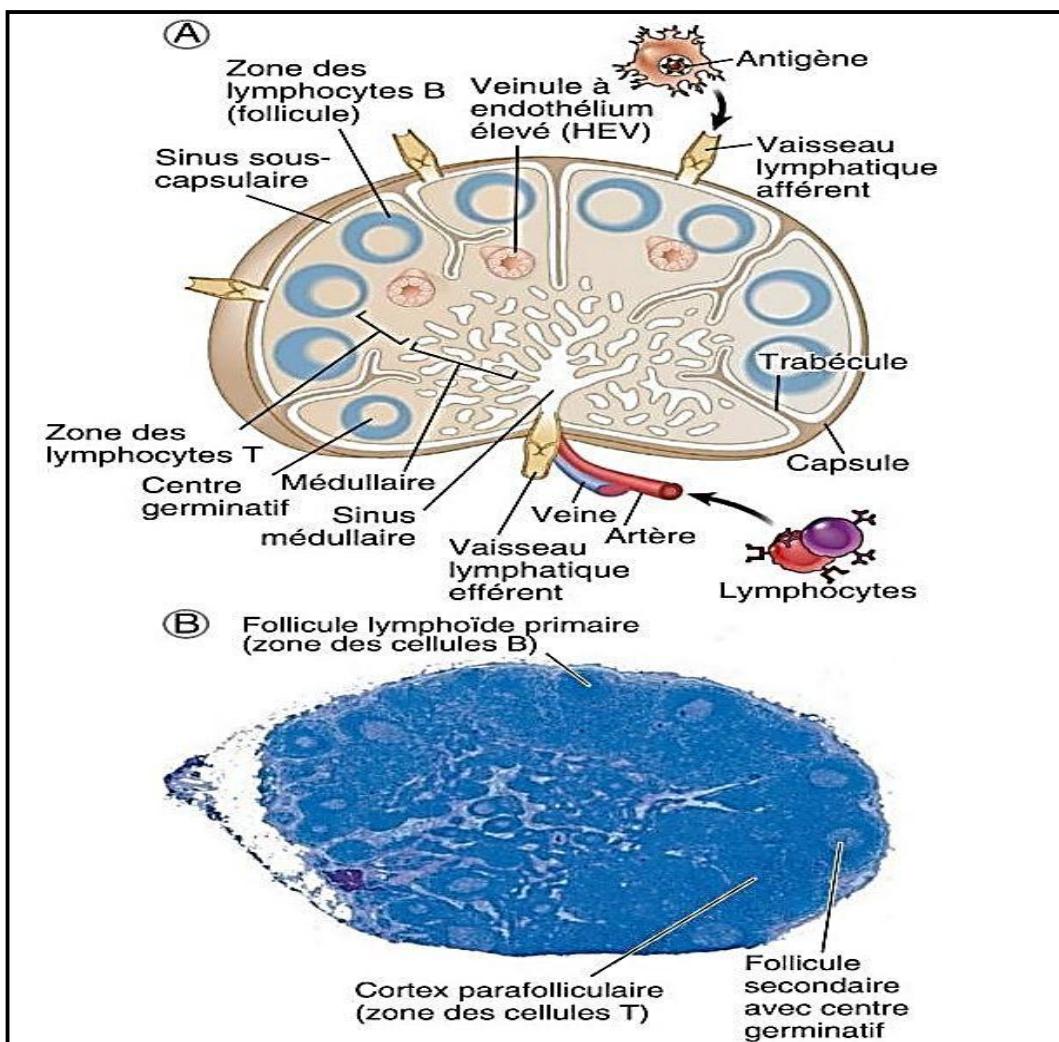
### 2.2.1. Les ganglions lymphatiques

Les ganglions lymphatiques fonctionnent comme des filtres pour les antigènes solubles ou captés par les cellules présentatrices de l'antigène (CPA).

Trois zones majeures composent les ganglions :

- **la zone corticale (zone B)** renferme des follicules lymphoïdes regroupant une grande quantité de lymphocytes B.
- **la zone paracorticale (zone T)**, est principalement composée de lymphocytes T qui interagissent avec des cellules dendritiques présentant des antigènes.
- finalement, au centre, les sinus ou cordons médullaires chargés en macrophages sont l'endroit où les antigènes particulaires transportés par la lymphe sont piégés (**figure 4**).

Les cellules présentes dans la lymphe et la lymphe elle-même quittent les ganglions via un canal efférent. Le canal thoracique recueille tout le système lymphatique pour ensuite se déverser dans la veine sous-clavière. Cette structure unique avec un système de circulation hémato-lymphatique favorise les interactions entre tous les acteurs cellulaires engagés dans la réaction immunitaire (**Schartz, 2005**).



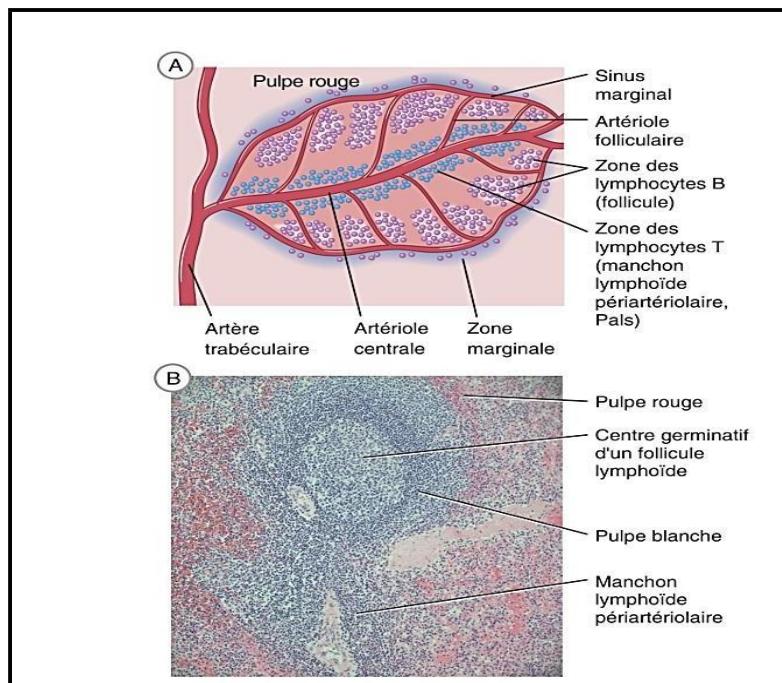
**Figure4 :** morphologie des ganglions lymphatiques (Abbas *et al.*, 2016)

### 2.2.2. La rate

De forme ovale et localisée dans l'hypocondre gauche, la rate est le plus grand organe lymphoïde secondaire, pesant approximativement entre 150 et 200 grammes. Elle est uniquement liée à la circulation sanguine, qu'elle filtre au moyen d'une vascularisation intensive qui lui donne aussi la capacité de réaliser l'immuno-surveillance des antigènes présents dans le sang.

La rate se compose d'une pulpe rouge (qui représente 99 % de son volume) riche en macrophages principalement dédiés à la destruction des hématies, ainsi qu'une pulpe blanche (soit 1 % de la masse splénique) qui entoure les artéries et constitue le site de développement des réponses immunitaires. La pulpe blanche est formée de gaines lymphatiques tissulaires ou PALS (pour Periarteriolar Lymphoid Sheaths), dominées par des lymphocytes, avec une zone centrale densément peuplée de lymphocytes T (zone T) et une

zone périphérique fortement riche en lymphocytes B (zone B). Cette dernière se compose notamment de follicules lymphoïdes primaires ou secondaires, ainsi que de la zone marginale (**Lydyard et al., 2011**).



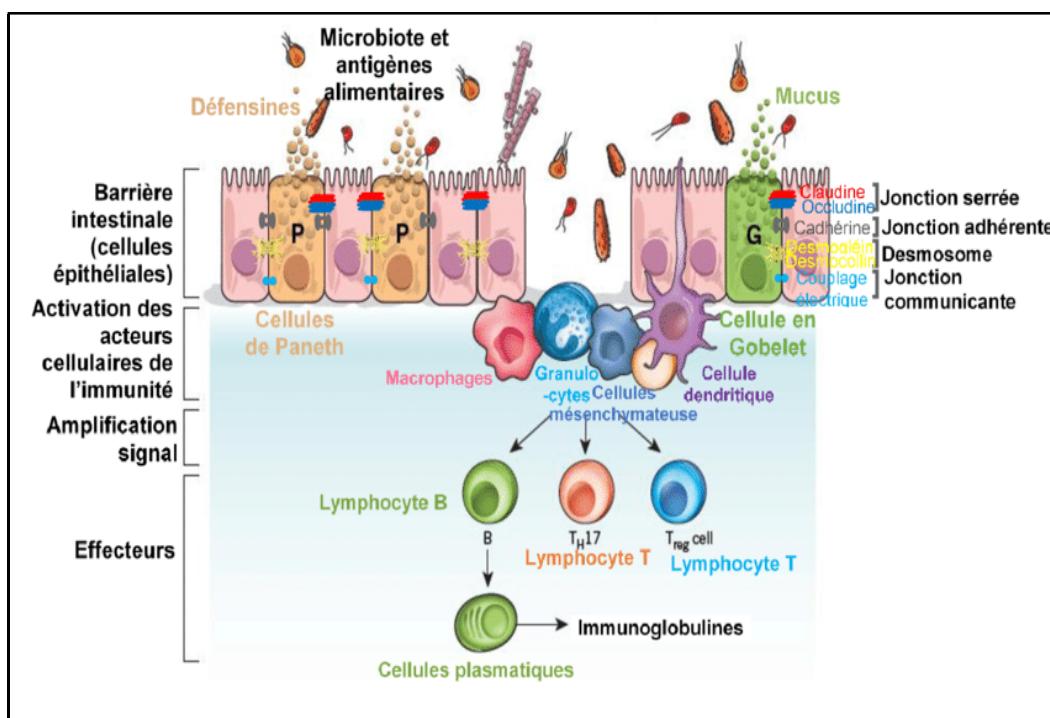
**Figure 5 :** morphologie de la rate (**Abbas et al., 2016**)

### 2.2.3. Le tissu lymphoïde associé 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 épithélium de revêtement. On distingue (**Posnett et al., 2005**) :

- Le 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.
- Le BALT (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.

Au niveau de l'épithélium des plaques de Peyer, on trouve les cellules M (cellules Microfolds), capables de transférer les pathogènes et antigènes présents dans la lumière de l'intestin vers le tissu lymphoïde sous-épithelial. Cette zone contient des cellules présentatrices d'antigènes, ainsi que des lymphocytes T et des lymphocytes B organisés en follicules, comme dans la rate et les ganglions. Les cellules dendritiques ayant capturé les antigènes, et les lymphocytes sensibilisés par des antigènes au niveau des plaques de Peyer migrent alors dans les ganglions mésentériques. Les lymphocytes activés rejoignent alors les sites effecteurs que sont les villosités intestinales (**Posnett et al., 2005**).

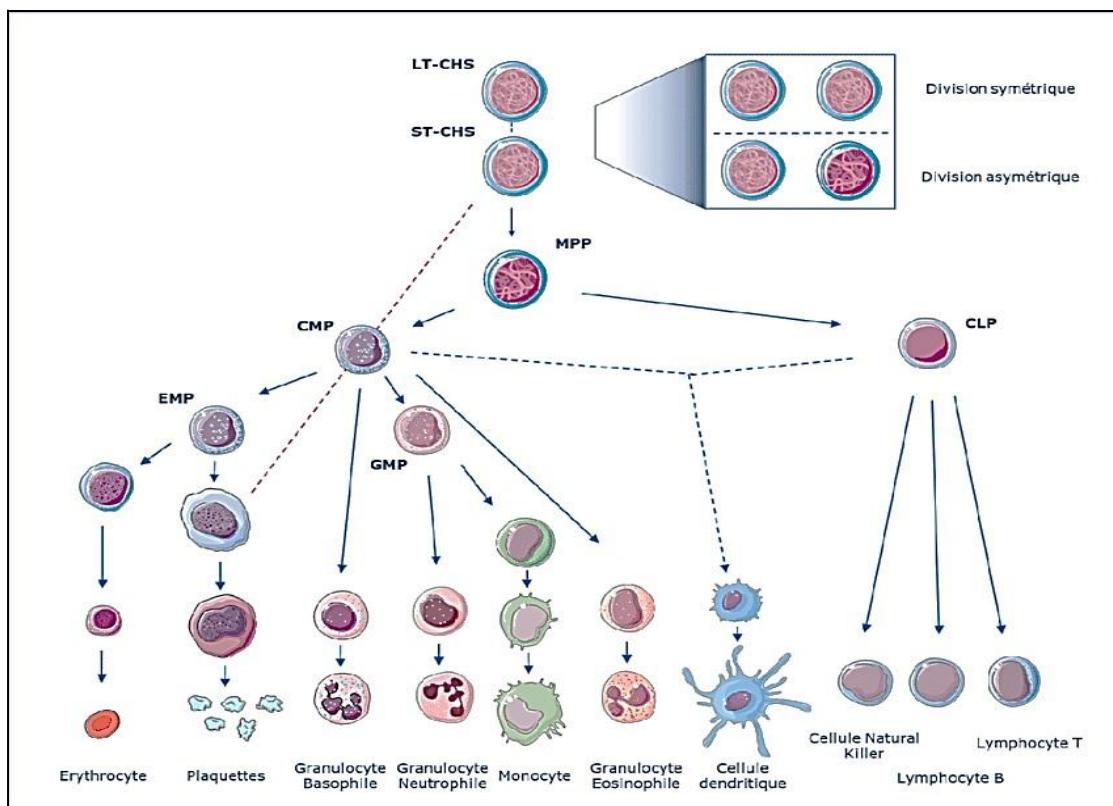


**Figure 6 : Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Arnone, 2019)**

### 3. Les éléments du système immunitaire

#### 3.1. Les cellules immunitaires

La plupart des cellules du SI proviennent d'une cellule souche hématopoïétique (CSH) de la moelle osseuse. Il existe deux lignées principales de cellules immunitaires, la lignée myéloïde et la lignée lymphoïde (**Franco et al., 2007**) (Figure 7).



**Figure 7:** Hématopoïèse (production des cellules immunitaires) (Matherat, 2018).

### 3.1.1. La lignée myéloïde

#### a. Monocytes / Macrophages

Les monocytes ont un cytoplasme granuleux contenant de nombreuses enzymes. Moins nombreux que les granulocytes, ils circulent dans le sang et adhèrent aux parois vasculaires avant de migrer dans les tissus en réponse à certains facteurs chimiotactiques, où ils s'y différencieront en macrophages. Historiquement, les macrophages tissulaires ont été désignés sous de nombreux noms en fonction des organes où ils étaient observés ; cellules de Kupffer dans le foie, microglie dans le cerveau, cellules mésangiales dans le rein, ostéoclastes dans l'os. Ce sont des cellules essentiellement phagocytaires, capables de capter des éléments de tailles diverses (antigènes particulaires, macromolécules, agents microbiens, cellules ou débris cellulaires) avant de les détruire puis de les présenter aux cellules de l'immunité adaptative. Ils produisent également de nombreuses cytokines importantes à toutes les étapes de la réponse immunitaire, y compris dans la phase de réparation tissulaire (Franco *et al.*, 2007 ; Dubourdeau *et al.*, 2010 ; Carcelain, 2018).

**Franco A., Robertson M., et Locksley R. (2007).** Immunité, La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. *New Science* : 4-6.

### b. Mastocytes

Les mastocytes se forment dans la moelle osseuse, avant de migrer en tant que précurseurs vers les tissus périphériques où ils atteignent leur maturité, principalement dans la peau, les intestins et la muqueuse des voies respiratoires. Leurs granules renferment de multiples médiateurs inflammatoires, tels que l'histamine et plusieurs protéases, qui participent à la défense des surfaces internes contre les agents pathogènes (**Janeway et al., 2017**).

### 3.1.2 Les polynucléaires

#### a. Les polynucléaires neutrophiles

Ils occupent une place centrale dans le système immunitaire, constituant approximativement 65% de la totalité des leucocytes sanguins et 99% des granulocytes (**Parham, 2003**). Le polynucléaire neutrophile représente une entité cellulaire facile à caractériser puisqu'elle se distingue par son aspect morphologique original, notamment par son noyau irrégulier formé de plusieurs lobes reliés entre eux.

Ces granulocytes sont des agents de premier plan de l'immunité innée, particulièrement lors de la réaction inflammatoire ; ils sont souvent les premiers leucocytes à migrer en grand nombre vers le site enflammé (**Witko-Sarsat, 2000**).

L'action anti-infectieuse du neutrophile repose sur ses capacités de migration transendothéliale, de phagocytose, « d'explosion oxydative » et de dégranulation. A cause de cette capacité de dégranulation, les neutrophiles constituent une source de nombreux médiateurs de l'inflammation ; des cytokines [IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor- $\alpha$* )], des chimiokines [CXCL8, CCL3 et 4 (MIP-1 $\alpha$  et  $\beta$ )], des facteurs de croissance [G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*), GM-CSF (*granulocyte/macrophage colony-stimulating factor*)] et des médiateurs lipidiques [LTB<sub>4</sub>, thromboxane (TX)A<sub>2</sub>, prostaglandine (PG)E<sub>2</sub>]. Ces médiateurs peuvent agir de manière paracrine ou autocrine. Les polynucléaires neutrophiles peuvent ainsi orchestrer la suite de la réponse immunitaire en influençant les cellules environnantes et en attirant d'autres leucocytes vers ce site. Cette production de médiateurs inflammatoires est en grande partie influencée par des agents stimulants, les cytokines et les endotoxines bactériennes comptant parmi les inducteurs les

plus efficaces. Elle peut aussi être réprimée par des cytokines dites anti-inflammatoires comme l'IL-10, l'IL-13..etc (Dumas *et al.*, 2009).

### b. Les polynucléaires basophiles

Les basophiles constituent la plus petite fraction des globules blancs circulant dans le sang (environ 1 %). Leur noyau est uni- ou bilobé multilobé et ils expriment le récepteur de haute affinité des IgE (Fc $\epsilon$ RI) et peut être activé par ce biais (Kuby, 2014).

Les basophiles sont produits dans la moelle osseuse et jouent un rôle essentiel dans la réponse inflammatoire de l'organisme, libérant de l'histamine et d'autres substances chimiques lors de réactions allergiques IgE-dépendante.

### c. Les polynucléaires éosinophiles

Ont habituellement un noyau bilobé et contiennent de nombreux granules cytoplasmiques reconnaissables à leur affinité pour les colorants acides, comme l'éosine. Représentent 2 à 5% des leucocytes sanguins chez les individus en bonne santé. Ils sont capables de phagocytter et de tuer les micro-organismes ingérés. Ces cellules sont retrouvées principalement dans les tissus et possèdent un rôle capital dans les défenses antiparasitaires et certaines réactions d'hypersensibilité (Male *et al.*, 2007).

#### 3.1.3 Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques agissent dans les tissus en tant que protecteurs qui réagissent aux microbes en générant une multitude de cytokines. Ces dernières ont deux rôles principaux ; elles initient l'inflammation et favorisent les réactions immunitaires adaptatives car elles ont la capacité de capturer des antigènes protéiques et de présenter des morceaux de ces derniers aux cellules T et B. Les cellules dendritiques, portant ainsi le nom de cellules présentatrices de l'antigène (CPA). Les cellules dendritiques, en identifiant les microbes et en interagissant principalement avec les lymphocytes T, agissent comme un lien crucial entre l'immunité innée et l'immunité adaptative (Abbas *et al.*, 2016) .

#### 3.1.4. La lignée lymphoïde

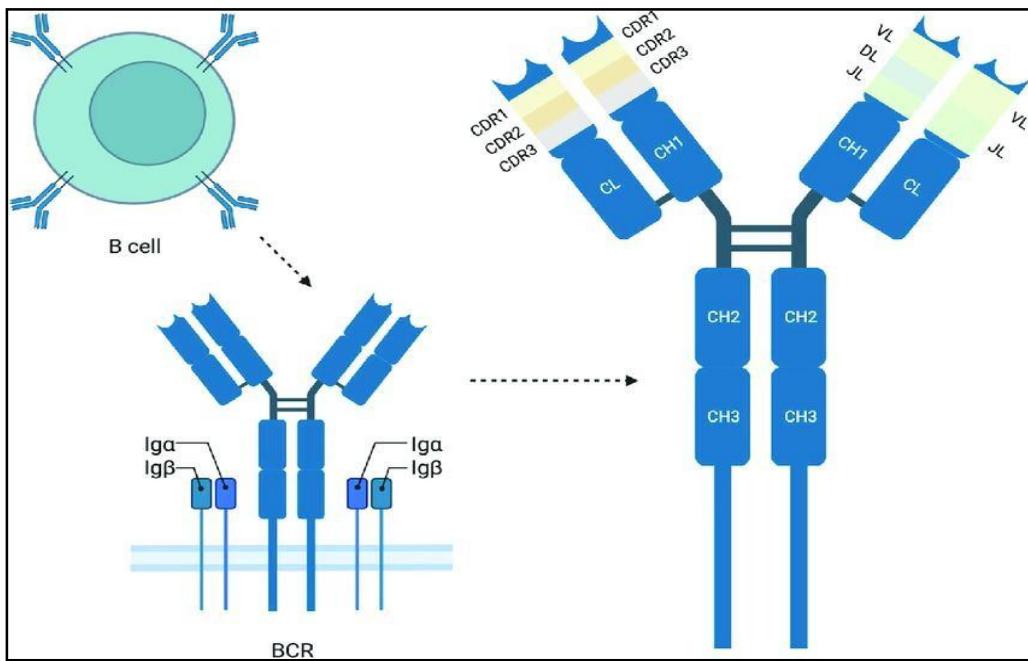
Il s'agit de la lignée à partir de laquelle sont produits les lymphocytes T, B et NK. La population de lymphocytes dans le sang se compose en moyenne de 10 à 15 % de LB, de 65 à 75 % de LT et de 10 à 20 % de cellules Natural Killer (NK) (Manda *et al.*, 2003).

#### 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 (**Lebien *et al.*, 2008**).

#### \* 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 (**Zheng *et al.*, 2022**).



**Figure 8 : BCR (Zheng *et al.*, 2022).**

### Lymphocytes T

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 lymphocytes T (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- $\gamma$ ) 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 (**Andersen *et al.*, 2006**).
- Les LT-helper 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 (**Kaiko *et al.*, 2008 ; Annunziato *et al.*, 2015**).

- 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, la psoriasis et la maladie de Crohn.
- Les lymphocytes T régulateurs (Treg) CD4+ 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

#### \* Le 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.

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 (**Manuel, 2012**).

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.

- **Le CD3** : les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  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 (Manuel, 2012).

Les chaînes du complexe CD3 sont au nombre de 6 :

- La **chaîne  $\gamma$** , la **chaîne  $\delta$**  et les **deux chaînes  $\epsilon$**  possèdent chacune un domaine immunoglobuline-like et une région intra-cytoplasmique longue présentant des motifs ITAM. Chacune des chaînes  $\epsilon$  s'associent en hétéro-dimères avec les chaînes  $\gamma$  et  $\delta$ .
- Les **deux chaînes  $\delta$**  (zêta) 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.
- **Le 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.

- **Le CD8** est une protéine hétéro-dimérique membranaire associé au TCR et dont chacune des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  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 (Manuel, 2012).

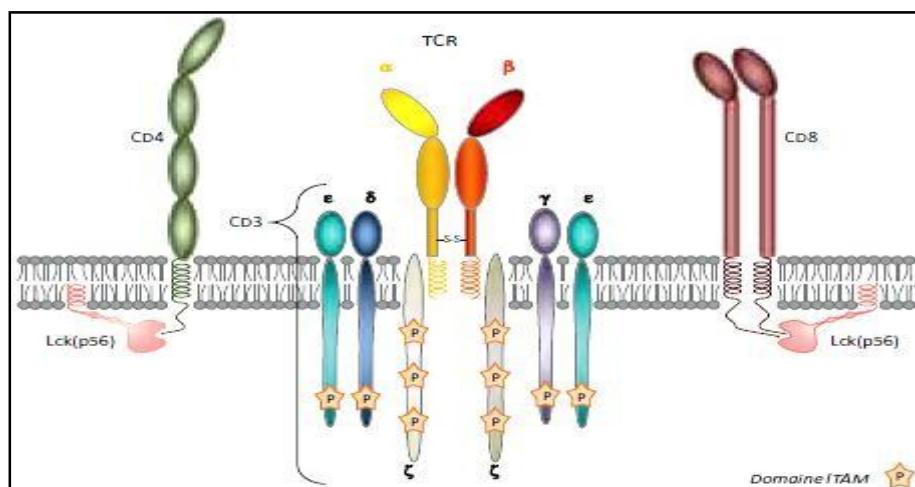


Figure 9 : TCR (Zheng *et al.*, 2022).

### Cellules NK « Natural killer »

Ce sont des cellules lymphoïdes, représentant 5% à 10% des lymphocytes dans le sang périphérique chez l'homme. Ce sont des lymphocytes historiquement appelées « cellules tueuses naturelles » en raison de leur capacité apparemment spontanée à lyser des cellules tumorales ou infectées en l'absence d'immunisation spécifique préalable. Les cellules NK sont l'un des lymphocytes de l'immunité dite « innée ».

Ils agissent sans immunisation préalable, sans reconnaissance spécifique par un TCR ou une Ig. Elles sont capables d'induire la lyse des cellules cibles selon 2 voies :

- **Cytotoxicité dépendante des Ac (ADCC)** : efficace pour lyser les cellules cibles recouvertes d'Ac,
- **Cytotoxicité naturelle** : Ce sont les cellules majeures de l'immunité naturelle, et de la surveillance anti-tumorale et antivirale mettant en jeu la perforine, granzyme, Fas-L.

Elles sécrètent diverses cytokines ; IFN, IL-3, IL-4 et IL-5, IL1, GM-CSF (**Kuby, 2014**).

Les cellules NK peuvent reconnaître le « Soi manquant », c'est-à-dire les cellules du Soi qui expriment peu ou pas de molécules HLA de classe I. Quatre principaux types de récepteurs sont retrouvés à la surface d'un lymphocyte NK :

- Les récepteurs de la superfamille des immunoglobulines : KIR (Killer Immunoglobulin-like Receptor)
- Les récepteurs de type lectine-C : CD94/NKG2, NKG2D
- Les récepteurs de la cytotoxicité cellulaire anticorps dépendante (ADCC) : CD16 a
- Les récepteurs KIR Ces récepteurs appartiennent à la superfamille des immunoglobulines. Ils comprennent des récepteurs inhibiteurs et activateurs selon que leur partie intracellulaire comporte ou non des motifs inhibiteurs appelés ITIM (*Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*). On note ainsi deux grands groupes de KIR :
  - Les KIR inhibiteurs Sont les récepteurs possédant une partie intracellulaire longue et sont notés KIRDL (L : long). Ils portent des motifs ITIM et délivrent un signal inhibiteur à la cellule suite à leur liaison à leurs ligands. Ces récepteurs ont pour ligands des molécules de HLA de classe I classique et la molécule HLA I non classique ; HLA G.
  - Les KIR activateurs Leurs parties intracytoplasmiques sont courtes ce qui leurs vaut la mention KIRDS (S : short) et sont exemptes de motifs ITIM. Ces récepteurs sont associés à une molécule adaptatrice KARAP/DAP12 permettant la transduction d'un signal activateur suite à l'engagement des KIRDS avec leurs ligands qui sont pour la majorité inconnus. Cependant, certains KIRDS se lient aux molécules HLA-C. Il a été noté que les KIRDS lient les molécules HLA de classe I avec une faible affinité comparés aux KIRDL) (**Le Thi Thu et al., 2014**).

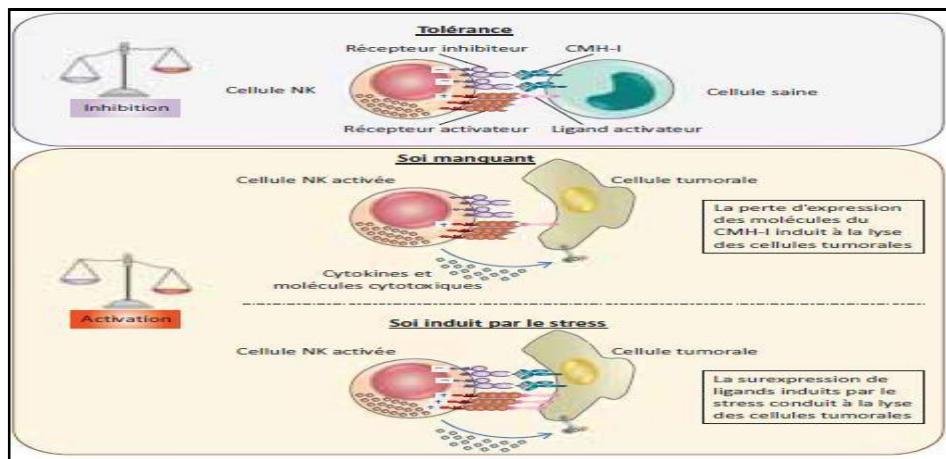


Figure10 : Les cellules NK (Kuby , 2014)

### 3.2. Les molécules

#### 3.2.1. Cytokines

Les cytokines sont des médiateurs chimiques solubles, jouant un rôle crucial de communication entre cellules, produits par les cellules immunitaires ou d'autres types de cellules ou tissus en réaction à un stimulus. Elles exercent leurs effets à de très faibles concentrations et à distance sur une multitude de cibles. Leur action, via des récepteurs dédiés, peut être de nature paracrine (visant des cellules à proximité), endocrine (ciblant des cellules ou tissus éloignés), juxtacrine (s'exerçant sur des cellules adjacentes), ou autocrine (agissant sur la cellule émettrice ou une cellule proche de même nature).

Ce sont des glycoprotéines ou des protéines dont la taille varie de 8 à 50 kDa. Ces molécules fonctionnent en réseau, créent des chaînes d'amplification et possèdent des caractéristiques pléiotropiques et redondantes. Elles jouent un rôle de relais pour réguler la réponse inflammatoire et immunitaire (innée et spécifique) (Le Thi Thu *et al.*, 2014).

Tableau 1 : les classes de cytokines (Laboudi, 2019).

<b>Interférons</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produites suite à une infection virale, une infection bactérienne, parasitaire ou à la présence de cellule tumorales.</li> <li>- Ils ont pour action principale d'interférer avec la réplication virale.</li> </ul> <p><b>Exemple :</b></p> <p><b>IFN-<math>\alpha</math>, IFN-<math>\beta</math>, IFN-<math>\gamma</math>:</b> Antiviraux et impliqués dans la réponse immunitaire innée et adaptative</p>
--------------------	--

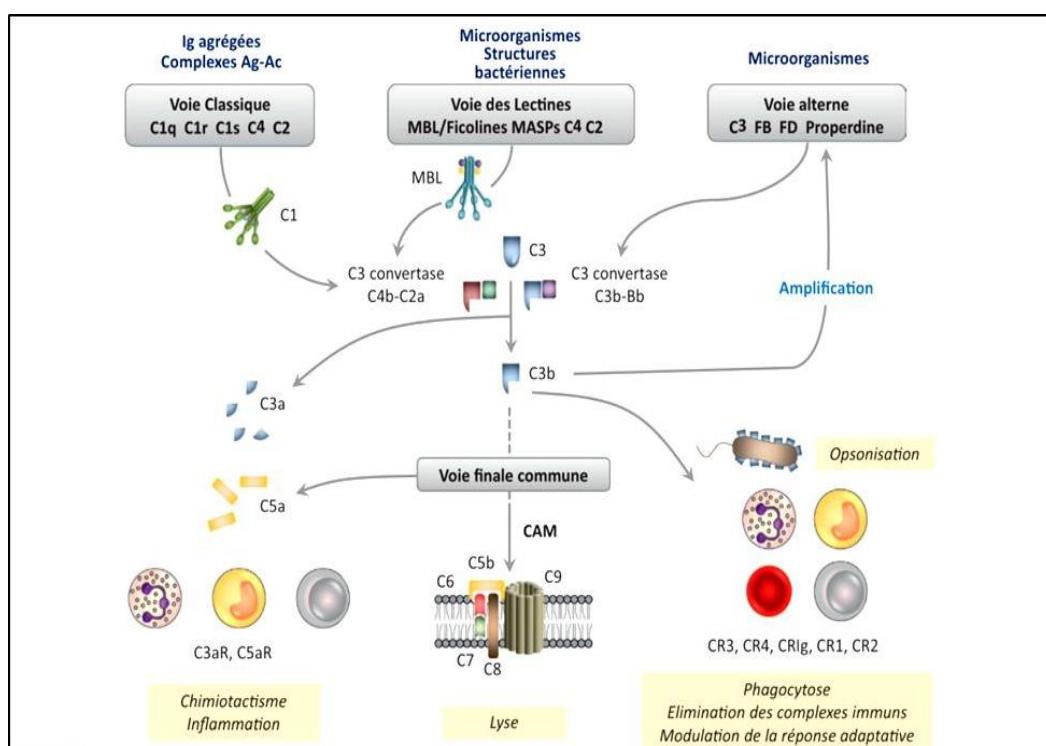
<b>Le TNF</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- induisant la synthèse de molécules de la phase aigüe de l'inflammation-induisant la synthèse de protéines membranaires qui seront indispensable à la diapédèse des cellules immunitaires.</li> </ul> <p><b>Exemple :</b></p> <p><b>TNF-<math>\alpha</math>:</b> Cytokine pro-inflammatoire majeure, impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire et l'inflammation.</p>
<b>Interleukines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Impliquées dans plusieurs processus cellulaires importants, notamment la prolifération, la maturation, la migration et l'adhésion, et participent également à l'activation et à la différenciation des cellules du système immunitaire.</li> </ul> <p><b>Exemple :</b></p> <p><b>IL-1, IL-6, IL-12, IL-18:</b> Impliquées dans la réponse immunitaire innée et l'inflammation.</p> <p><b>IL-4, IL-5, IL-10:</b> Impliquées dans la régulation des réponses immunitaires, notamment dans l'allergie et l'inflammation.</p>
<b>Chimiokines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Activation des cellules immunitaires</li> <li>- Recruter les cellules immunitaires au site de l'inflammation. Parmi elles on compte IL-8 qui recrute les polynucléaires neutrophiles.</li> </ul> <p><b>Exemple :</b></p> <p><b>CXCL8 (IL-8), CXCL10, CCL2:</b> Régulent le mouvement des cellules immunitaires vers les sites d'inflammation.</p>

### 3.2.3. 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 (Carcelain *et al.*, 2023).



**Figure11 :** Activation et fonctions du système du complément (Carcelain *et al.*, 2023).

### 3.2.4. Immunoglobulines

Les immunoglobulines sont des protéines hétérodimères, possèdent en commun, une structure de base symétrique en "Y" et comprennent 4 chaînes polypeptidiques :

- Deux chaînes légères identiques "L" (Light) avec un poids moléculaire de 23.500 Da et qui peuvent être de deux types : Kappa ( $\kappa$ ) ou lambda ( $\lambda$ )
- Deux chaînes lourdes identiques "H" (Heavy) avec un poids moléculaire compris entre 50.000 et 80.000 Da et il existe cinq types de cette chaîne, dont chacune correspond à une classe d'immunoglobuline : gamma ( $\gamma$ ) pour IgG (avec quatre sous-groupes : IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4) alpha ( $\alpha$ ) pour IgA (IgA1 et IgA2), mu ( $\mu$ ) pour IgM, delta ( $\delta$ ) pour IgD et epsilon ( $\epsilon$ ) pour IgE

Ils peuvent être divisés en domaines variables fonctionnels (V) qui se fixent sur les antigènes, et en domaines constants (C) qui déterminent les fonctions effectrices comme l'activation du complément ou l'interaction avec les récepteurs Fc. Les zones variables sont générées grâce à une séquence sophistiquée d'événements de réarrangement génique, et peuvent par la suite être exposées à une hypermutation somatique après contact avec l'antigène pour favoriser le développement de l'affinité (Lydyard, 2002).

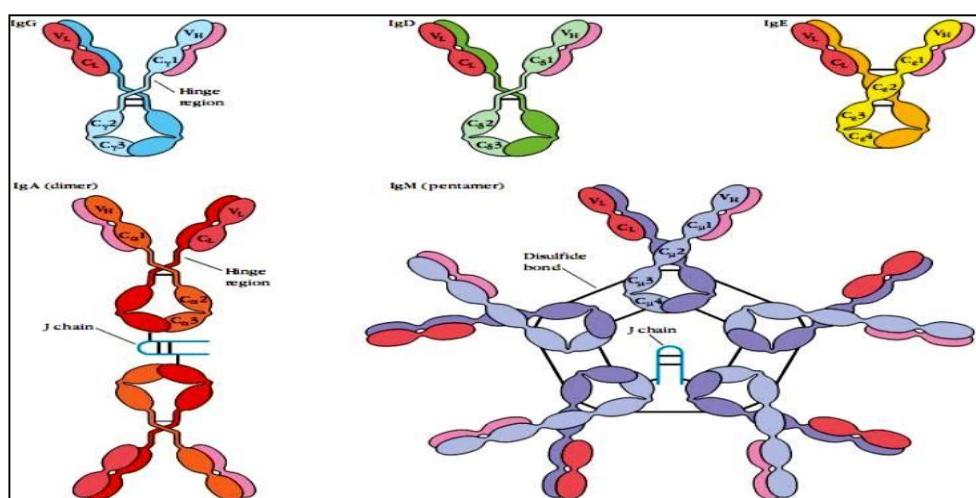


Figure 12 : Les différentes classes des immunoglobulines (Lydyard, 2002).

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.
- **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 $\epsilon$ 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 (**Boutammina, 2012**).

- **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 (**Lydyard, 2002**).

#### 4. Réponses immunitaires

On distingue deux types des réponses immunitaires, innée (ou naturelle) et adaptative.

##### 4.1. L'immunité innée

L'immunité innée, naturelle ou non spécifique, est la première ligne de défense vis-à-vis des agents infectieux et pathogènes qui nous entourent. Elle est mise en jeu immédiatement (rapide), elle est non spécifique, initiatrice de l'immunité adaptative et elle a un rôle dans l'homéostasie (élimination des cellules mortes et tumorales) et elle est marquée par l'absence d'une mémoire immunitaire. Elle met en jeu différents modules de défense comme la barrière peau-muqueuse et des modules induits comme la phagocytose et la réponse inflammatoire, qui nécessite les cellules phagocytaires, les cytokines et le complément (**Lichtman et al ., 2016**).

La barrière cutanéo-muqueuse est en contact avec les virus, parasites et bactéries. Elle empêche leurs adhésions par des mécanismes mécaniques, chimiques ou biologiques, et comporte deux éléments ; la peau et les muqueuses. La présence d'enzyme dans les larmes et la salive (lysosyme, phospholipase A), acide chlorhydrique de l'estomac, les sels biliaires détruisent aussi l'antigène (**Male , 2005**).

#### 4.1.1 La réaction inflammatoire, des symptômes caractéristiques de la réponse innée .

Lors de situations (contamination infectieuse, lésion, traumatisme, cancérisation,...) des mécanismes se mettent en place en moins de 24h, c'est la réaction inflammatoire dite aiguë, caractérisée par les quatre symptômes rougeur, chaleur, gonflement et douleur :

- rougeur, chaleur et gonflement sont dus à une dilatation locale des vaisseaux sanguins (vasodilatation) avec un afflux de sang dans les tissus et une sortie de plasma sanguin à l'origine du gonflement (on parle d'oedème).
- la douleur est due à la stimulation de récepteurs sensoriels.

Ces quatre symptômes sont la conséquence de la libération des médiateurs chimiques produits par les cellules sentinelles qui résident dans les tissus (cellules dendritiques, mastocytes, macrophages issus de la différenciation des monocytes) (**Rankin, 2004**) :

- l'histamine augmente la perméabilité de la paroi des vaisseaux.
- les prostaglandines stimulent les récepteurs sensoriels.
- des cytokines engendrent une hyperthermie (responsable d'une sensation de chaleur) et attirent les phagocytes vers les tissus lésés. Ce sont ces molécules produites par les cellules sentinelles qui permettent la mise en route de la réaction inflammatoire aigüe.

**Tableau 2 : le rôle des cellules et molécules impliquées (liste non exhaustive) :**  
**(Rankin, 2004).**

Molécules	Cellules sécrétrices	Effets physiologiques
Histamine	Mastocytes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire
Cytokines (TNF, interieukine.chimiokines)	Mastocytes, macrophages, cellules dendritiques	Activation et recrutement des phagocytes, augmentation de la perméabilité vasculaire
Prostaglandines	Mastocytes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité membranaire, responsable de la sensation de douleur et de la fièvre.

L'importance de la réaction inflammatoire se résume dans les points suivants :

- L'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins favorisent un afflux de molécules et de cellules immunitaires sur le lieu de l'infection.
- La douleur alerte l'organisme d'une agression.
- L'augmentation de température favorise le déplacement des cellules immunitaires et inhibe par exemple le développement des microorganismes pathogènes (**Botting & Botting, 2000**).

La réponse immunitaire innée repose sur des mécanismes de reconnaissance et d'action très conservés au cours de l'évolution. Elle se déroule en trois étapes (**Weill & Battaux, 2003**) :

### 1. La phase de détection

Suite à une lésion d'un tissu et à l'entrée d'agents pathogènes, les **cellules sentinelles** de l'immunité innée (les macrophages, les mastocytes et les cellules dendritiques) détectent des signaux de danger. En effet, les cellules sentinelles expriment sur leur membrane des récepteurs de l'immunité innée. Ces récepteurs appelés PRR (Pattern Recognition Receptor) sont des récepteurs membranaires ou intra-cytoplasmiques propres aux cellules de l'immunité innée. Les récepteurs PRR leur donnent la capacité de reconnaître des molécules portées par les éléments pathogènes. Ces molécules qui sont reconnues sont appelées PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) (**Weill & Battaux, 2003**).

### 2. La phase d'amplification

Les cellules sentinelles sécrètent des médiateurs chimiques (l'histamine, les prostaglandines et les cytokines). Les symptômes stéréotypés d'une inflammation se mettent en place.

- Les **mastocytes** libèrent de l'histamine et des prostaglandines qui permettent l'attraction par chimiotactisme des phagocytes qui interviennent lors de l'élimination de l'élément pathogène.

- Les **macrophages** libèrent de l'interleukine engendrant une hyperthermie qui augmente la mobilité des granulocytes (de cytokines pro-inflammatoires, IL1, IL6, TNF $\alpha$  et de chimiokines dont l'IL8....).

Ainsi, des molécules libérées sur le lieu de l'agression facilitent la venue des éléments actifs du système immunitaire, en particulier les cellules phagocytaires qui franchissent la paroi des vaisseaux sanguins par diapédèse (**Serhan *et al* .,2010**).

### 3. L'élimination de l'élément pathogène

Certaines cellules de l'immunité innée sont des phagocytes : macrophages, granulocytes, cellules dendritiques. Ces cellules réalisent la phagocytose qui se déroule en quatre étapes :

- **adhésion** du pathogène à la membrane du phagocyte
- **ingestion** par endocytose et formation d'une vacuole renfermant l'élément intrus (cette vacuole est appelée phagosome)
- **digestion** par des enzymes lytiques contenues dans des vésicules (lysosomes) qui fusionnent avec le phagosome
- **rejet des déchets** à l'extérieur de la cellule par **exocytose** (Rankin, 2004).

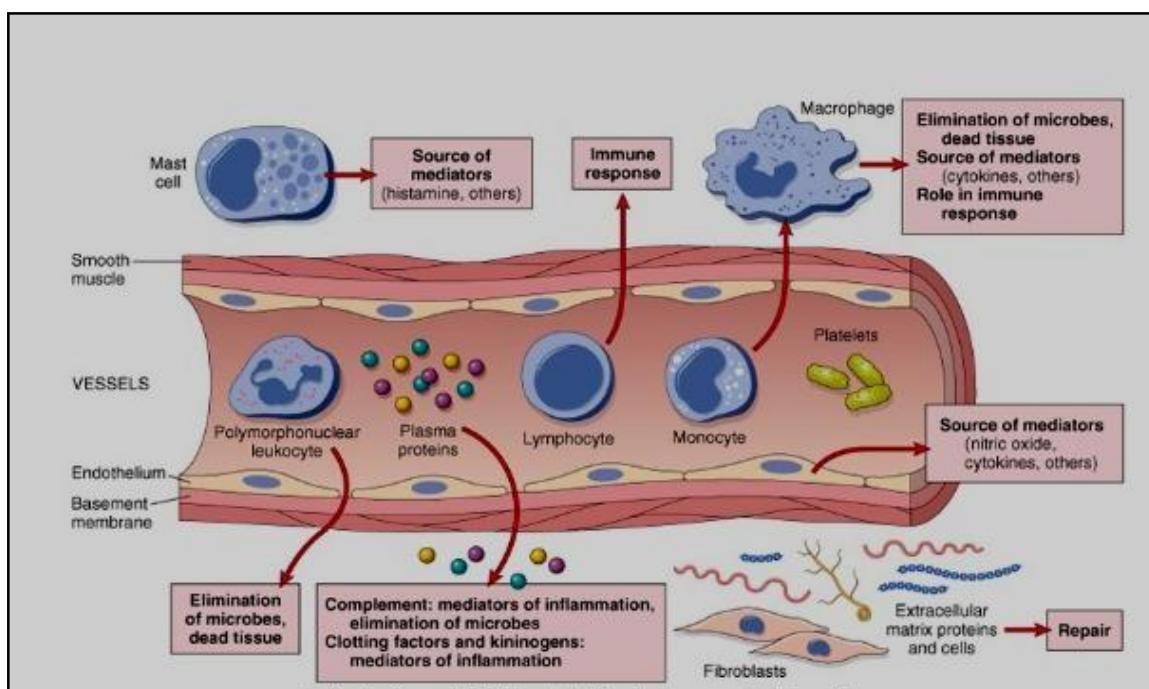


Figure13 : L'inflammation (Abbas *et al.*, 2016).

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 stimuler les lymphocytes B via les complexes CD19, CD21, CD81 (**Abbas et al., 2016**).

#### 4.2. L'immunité adaptative

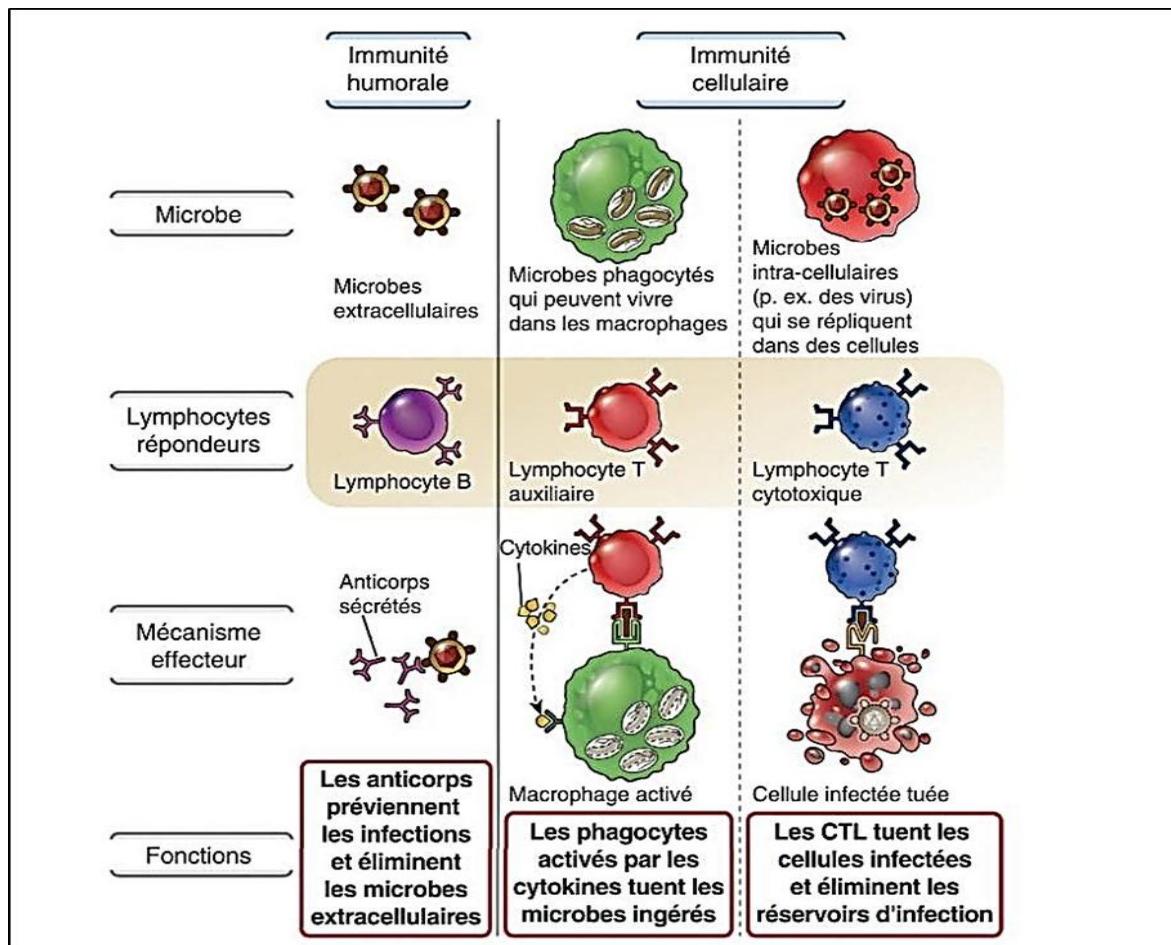
Le système immunitaire inné, grâce à ses cellules phagocytaires, agit rapidement mais sans organisation efficace pour permettre l'élimination systématique des agents pathogènes. Le plus souvent, son intervention précoce permet de contenir les agents infectieux avant qu'ils n'aient eu le temps de se développer, mais il arrive toutefois qu'il se fasse déborder. C'est pourquoi, ce système immunitaire a développé une autre fonction immune en parallèle de son rôle de première ligne de défense : alerter et initier l'activation de la réponse immunitaire adaptative (ou acquise). C'est grâce aux CPA que se fait la transition entre les systèmes immunitaires inné et adaptatif. Bien que les cellules dendritiques se soient spécialisées dans la présentation des antigènes à la branche adaptative de l'immunité, les macrophages sont également, dans une moindre mesure, capables de présenter des antigènes (**Lichtman et al .,2016**).

Une réponse immunitaire acquise, adaptative ou spécifique, ne se met en place qu'après la rencontre avec l'antigène. Elle est plus efficace, dirigée d'une manière spécifique contre l'antigène rencontré et caractérisée aussi par la présence d'une mémoire immunitaire. (**Aymeric &, Lefranc, 2009**).

Deux types principaux de lymphocytes sont à distinguer (**Demoly &, Bousquet, 2009**).

- **Les lymphocytes B** : responsables de l'immunité à médiation humorale. Ils se différencient en plasmocytes qui sécrètent des anticorps ciblant l'antigène.
- **Les lymphocytes T** : assurent l'immunité à médiation cellulaire. Ils sont divisés en deux sous-populations cellulaire 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.



**Fig 14 :** L'immunité adaptative (Abbas *et al.*, 2016)

## 5. Le dysfonctionnement du système immunitaire

C'est un dérèglement ou une déviation du système immunitaire. On peut citer :

### 5.1. Les déficits immunitaires

Les déficits immunitaires sont généralement la conséquence de l'administration d'un médicament ou d'une maladie grave au long cours (telle qu'un cancer), mais peuvent également parfois être héréditaires.

Généralement, les personnes concernées souffrent d'infections fréquentes, inhabituelles ou inhabituellement sévères ou prolongées, et peuvent développer une maladie auto-immune ou un cancer (Orsini *et al.*, 2005).

Le système immunitaire peut être sous-actif ou suractif ; entraînant des maladies liées à l'immunodéficience dans le premier scénario et des troubles de l'hypersensibilité dans le second scénario. Quand le système immunitaire est dérangé, les tissus corporels peuvent être endommagés. On se réfère alors à cela comme des maladies auto-immunes (**Brunner et al., 2011**).

Les déficits immunitaires altèrent les capacités du système immunitaire à défendre l'organisme contre l'invasion ou l'attaque de cellules étrangères ou anormales (telles que des bactéries, des virus, des champignons et des cellules cancéreuses). Par conséquent, des infections bactériennes, virales ou fongiques inhabituelles ainsi que des lymphomes ou d'autres cancers peuvent se développer.

Il existe 2 types de déficits immunitaires :

- **Primitifs (congénitaux)** : Ces troubles sont d'ordinaire présents à la naissance et sont des troubles génétiques généralement héréditaires, ils peuvent être la conséquence de mutations dans un gène particulier (exemple : mutation sur chromosome X). Ils se manifestent en général au cours de l'enfance, voire de la petite enfance. Toutefois, certains déficits immunitaires primitifs (tels que l'hypogammaglobulinémie à expression variable) ne sont diagnostiqués qu'à l'âge adulte. Il existe de nombreux déficits immunitaires primitifs et ils sont relativement rares.
- **Secondaires (acquis)** : Ces troubles se développent généralement plus tard au cours de la vie et sont souvent la conséquence de l'administration de certains médicaments, d'une autre maladie, telle que le diabète ou une infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou la malnutrition. Ils sont plus fréquents que les déficits immunitaires primitifs (**Crouzilles et al., 2012**).

## 5.2. Les maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes, qui résultent de l'absence ou de la défaillance de la tolérance immunitaire de l'organisme à un élément spécifique du soi (auto-antigène), telles que ; le diabète type 1, la polyarthrite rhumatoïde, etc... (**DeFranco et al., 2009**).

Les maladies auto-immunes sont divisées en deux catégories :

- **Les maladies auto-immunes spécifiques à un organe** : se distinguent par des dommages restreints à un tissu spécifique, résultant d'une réaction immunitaire ciblant des autoantigènes dont la répartition est confinée à ce même tissu.
- **Les pathologies auto-immunes systémiques** : se distinguent par des atteintes touchant divers organes, suite à une réaction auto-immune visant des autoantigènes omniprésents (**Chatenoud *et al.*, 2012**).

### 5.1.2. L'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.

Coombs et Gell ont défini quatre types d'hypersensibilité (I, II, III et IV) qui peuvent être isolés ou associés. Les trois premiers se déroulent dans la branche humorale et sont déclenchés par des anticorps ou des complexes antigène-anticorps ; ils comprennent les réactions induites par des IgE (type I ou allergie), par les anticorps (type II) et les réactions provoquées par des complexes immuns (type III). Un quatrième type d'hypersensibilité dépend de l'activation des cellules T de la branche cellulaire est appelé hypersensibilité retardée ou DTH (type IV). Chaque type implique des mécanismes immunitaires, des cellules et des médiateurs moléculaires distincts (**Sherwood, 2015**).

## 6. L'immunomodulation

Le concept d'immunomodulation se réfère à l'ajustement du système immunitaire, que ce soit à travers l'intensification (stratégie de l'immunopotentialisation) ou la réduction (stratégie de l'immunosuppression) des réponses immunitaires. L'immunomodulation peut être effectuée par divers agents, connus sous le nom d'immunomodulateurs, tels que les anticorps monoclonaux, les cytokines, les glucocorticoïdes, les adjuvants, la lumière ultraviolette ou encore la phytothérapie. Actuellement, différentes approches d'immunomodulation sont en cours d'évaluation en tant que traitements potentiels ou dans l'objectif de substituer les thérapies actuelles (**Abood, 2017**).

L'immunomodulation consiste à modifier une réaction immunitaire de manière positive ou négative en administrant un médicament ou un composé. Plusieurs protéines, acides aminés et substances naturelles ont démontré une aptitude notable à moduler les

réactions immunitaires. Le terme modulation du système immunitaire désigne une modification de la réaction immunitaire qui englobe la stimulation, l'intensification, l'expression ou l'inhibition d'une portion de la réponse immunitaire. (**Saroj et al., 2012**).

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

### 6.1. Les immunostimulants

Les immunostimulants ou immunostimulateurs sont des substances attrayantes qui activent le système immunitaire pour la prévention des maladies et l'amélioration de la résistance naturelle du corps à diverses infections virales et bactériennes. Ces substances biologiquement actives sont les produits dérivés de sources naturelles ou de manière synthétique avec différentes propriétés chimiques et mécanismes d'action. En général, les immunostimulants induisent la synthèse d'anticorps spécifique et de cytokines pour le traitement des maladies infectieuses (**Labh et al., 2014**).

Il existe deux grandes catégories d'immunostimulants :

- **Les immunostimulants spécifiques** : sont les vaccins destinés à la prévention des maladies infectieuses, chacun d'eux n'est efficace que contre un germe précis.
- **Les immunostimulants non spécifiques** : comprennent des substances identiques à des substances diverses, employés pour traiter les cancers, les infections (respiratoire, etc.), les déficits immunitaires, les maladies auto-immunes, ils stimulent globalement les défenses, mais leur efficacité est souvent partielle.

### 6.2. Les immunosuppresseurs

Les immunosuppresseurs sont des produits appelés aussi immunodépresseurs, qui ont pour effet de diminuer les réponses immunitaires, ils sont recherchés dans des contextes tels que les affections auto-immunes. Ils sont également employés dans le cadre de la transplantation d'organes pour prévenir et traiter le rejet des allogreffes (**Chatnoud et al., 2012**).

Les médicaments immunosuppresseurs ont été intégrés dans le domaine des greffes depuis les années 1960. Il est pourtant de comprendre leurs mécanismes d'action, encore partiellement connus, pour les utiliser de manière rationnelle (**Boitard, 2000**). C'est une

catégorie de médicaments structurés et fonctionnels très variés qui sont souvent prescrits simultanément dans le cadre de traitements combinés (Saroj *et al.*, 2012).

### 6.3. Immunomodulateurs naturels

#### 6.3.1 Immunomodulateurs d'origine végétale

L'utilisation d'une immunomodulation naturelle ou synthétique via des plantes médicinales peut représenter une autre option à la chimiothérapie traditionnelle pour divers affections, surtout quand il est nécessaire de stimuler le mécanisme de défense de l'hôte dans des contextes où la réponse immunitaire est modifiée et où une immunosuppression sélective est désirée dans des cas tels que les maladies auto-immunes (Kumar *et al.*, 2012).

**Tableau 3 :** Quelques exemples de plantes à activité immunostimulante (Dhama, 2015 ; Aribi *et al.*, 2016)

Plantes utilisées	Application clinique
<i>Ocimum sanctum</i>	Augmentation de l'activité phagocytaire du macrophage péritonéal
<i>Balasmoden dronmukul</i>	Stimule la phagocytose par le macrophage. Stimule également l'immunité humorale et la production d'anticorps.
<i>Argania spinosa</i>	La stimulation de l'immunité innée et plus spécifiquement la fonction du système réticuloendothélial.
<i>Tinospora cordifolia</i>	Production d'un mitogène polyclonal des cellules B qui améliore la réponse immunitaire chez la souris.

#### 6.3.2. Immunomodulateurs d'origine animale

**Tableau 4 :** Quelques exemples des Immunomodulateurs d'origine animale (Domerego *et al.*, 2006 ; Grosgogeat, 2009 ; Picard *et al.*, 2010 ; Koneipayeva, 2009).

Produit utilisée	Application clinique
<b>Le lait de la chamele</b>	-Activité anti cancéreuse. -Anti diabétique.
<b>L'huile de poisson</b>	- Amélioration du système immunitaire et atténuation des signes de l'inflammation

<b>La viande de bœuf</b>	Les peptides bioactif : - Activité anti hypertensive. - Anxiolytique.
<b>Le miel</b>	-Effet antimicrobien. -Stimulation du système immunitaire qui relance les défenses naturelle de l'organisme.



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

## 1. *Crataegus azarolus*

### 1.1 Etymologie

Son nom commun azérolier 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

Selon **Mazzocchi (1999)** et **Brosse (2000)**, l'azérolier trouve ses origines dans la Méditerranée orientale, ainsi que dans le sud de l'Europe, en Afrique du Nord et en Asie mineure (de la Crète au Turkestan).

Il est originaire du sud d'Europe (Malte, Majorque, Sicile), Afrique de nord (Tell algéro-constantinois, et Tunisie) et de l'Asie mineure (Jordanie, Liban, Palestine, Syrie). L'azérolier est présent à l'état sauvage dans tous les pays méditerranéens (**Bignami et al., 2000**).

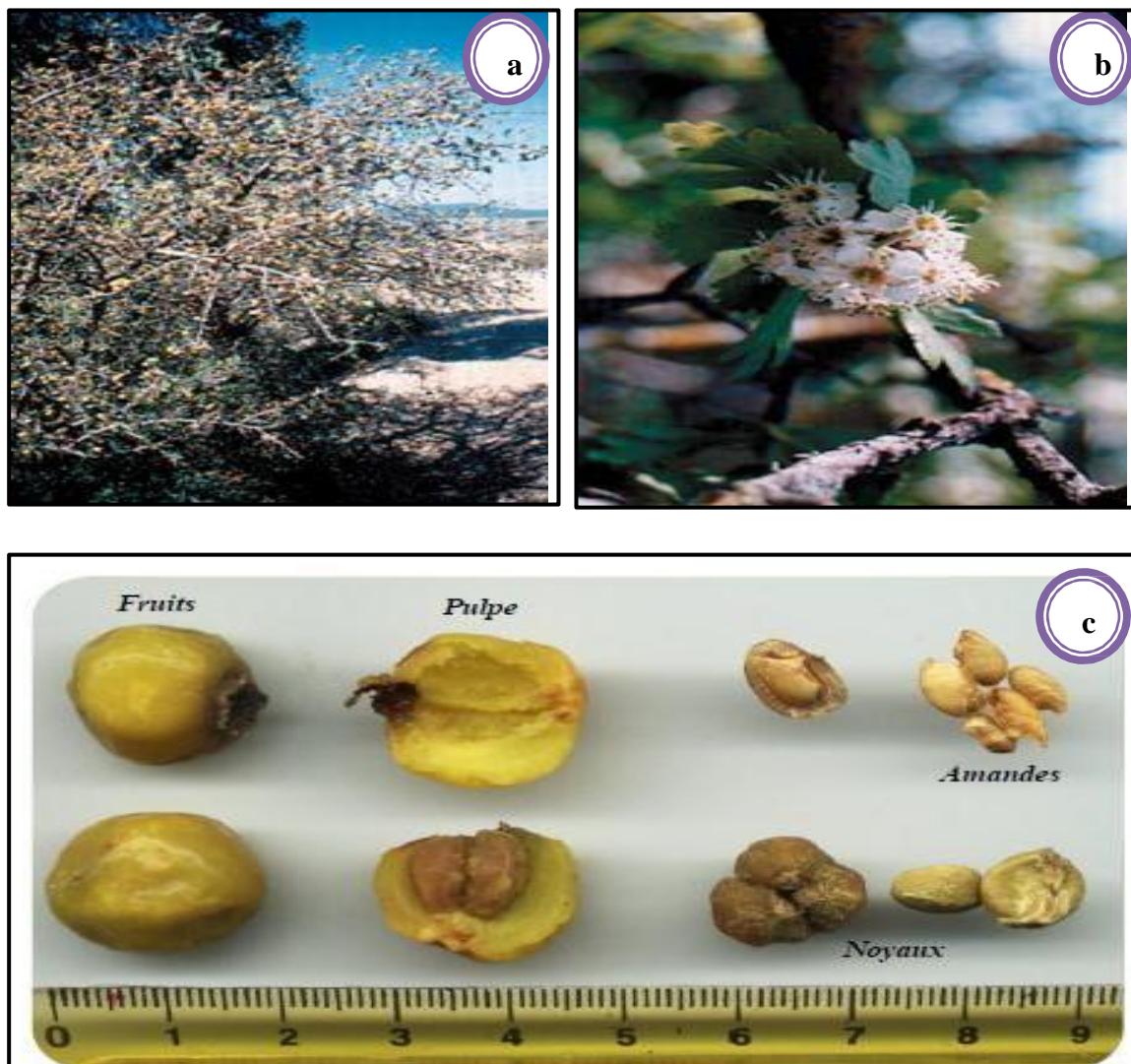
### 1.3 Description botanique

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 (**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 15.** Différentes parties de l'Azerolier (Ferhat *et al.*, 2014).

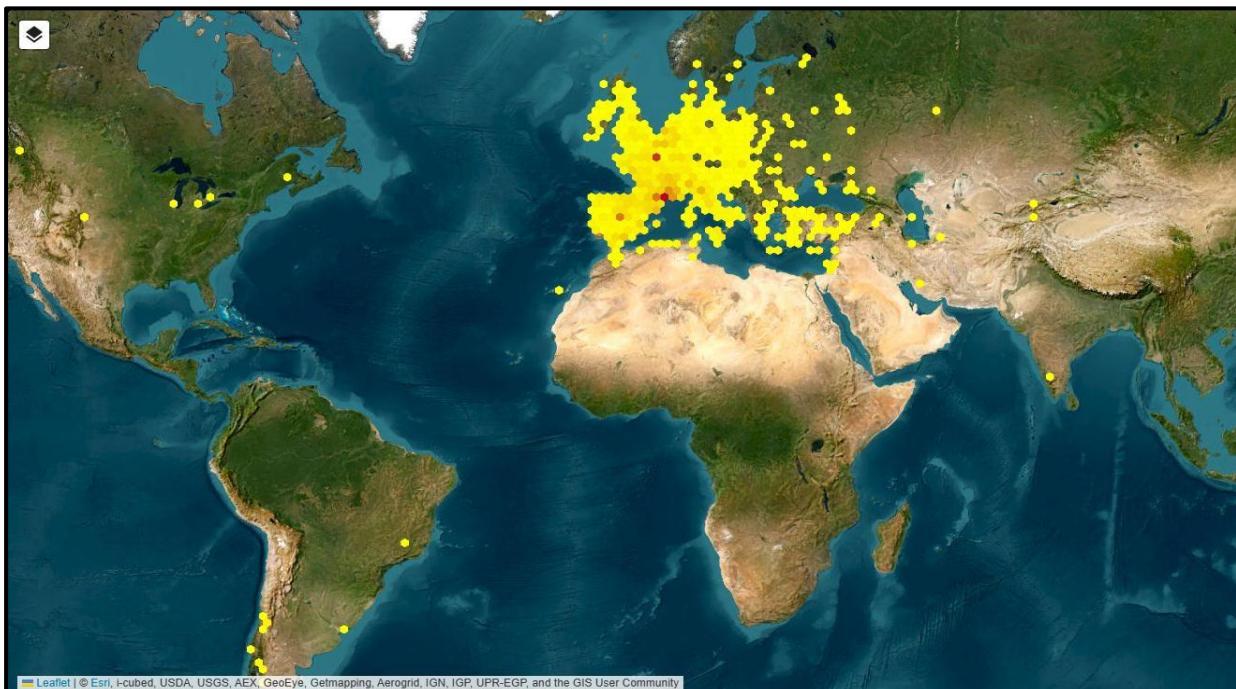
(a): branches, (b): feuilles et fleurs, (c): fruits, pulpe, noyaux et amandes.

### 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 16**) (**Boudraa et al., 2010**).



**Figure 16** : Distribution géographique de l'espèce *Crataegus azarolus* ([identify.plantnet.org](http://identify.plantnet.org)).

## 1.6 Activités biologiques du fruit de *Crataegus azarolus*

### 1.6.1 Activité antioxydante

Les métabolites secondaires produits par *Crataegus azarolus* se distinguent par leur diversité d'activités biologiques, y compris des propriétés antioxydantes (**Bruneton, 2009**).

### 1.6.2 Activité anticancéreuse

Les tanins sont des molécules biologiquement actives qui possèdent des propriétés pharmacologiques notables et des impacts spécifiques sur la santé humaine (**Chavan et al., 2001; Okuda, 2005**).

### 1.6.3 Activité antibactérienne

Plusieurs recherches ont démontré l'effet antibactérien des tanins. Selon **Chung et Wei (1998)**, ces molécules ont été signalées comme ayant des propriétés bactériostatiques ou bactéricides sur diverses souches bactériennes.

Les travaux de **Belkhir (2013)**, montre que par la méthode de diffusion prouvant que les bactéries Gram(+) *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus faecalis*, sont les plus sensibles au extrait du *Crataegus azarolus*.

### 1.6.4 Activité anti-inflammatoire

Le *Crataegus azarolus*, riche en flavonoïdes, exerce une action palliative sur l'inflammation en inhibant la libération de l'histamine et la production de leucotriènes, tout en servant de piège aux superoxydes (Lakache *et al.*, 2016).

L'acide ursolique est un composé triterpénoidé qui se retrouve dans les herbes médicinales, les autres plantes et les aliments. L'acide ursolique a montré des propriétés antiinflammatoires, hépatoprotectrices, antihyperlipidémiques, anticancéreuses, une inhibition de la peroxydation lipidique et des activités antimicrobiennes (Somova *et al.*, 2003).

De nombreuses recherches ont montré que de nombreux composants actifs des plantes médicinales, principalement les flavonoïdes et les acides phénolcarboniques, empêchant l'infiltration des neutrophiles dans la zone inflammée et neutralisant les espèces de radicaux libres, agissent comme des agents anti-inflammatoires (Maleki, 2001).

### 1.6.5 Activité immunomodulatrice

L'effet anti-inflammatoire était corrélatif à l'action antioxydante cellulaire des composés évalués sur les macrophages et les splénoctyes. Dans l'ensemble, *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*



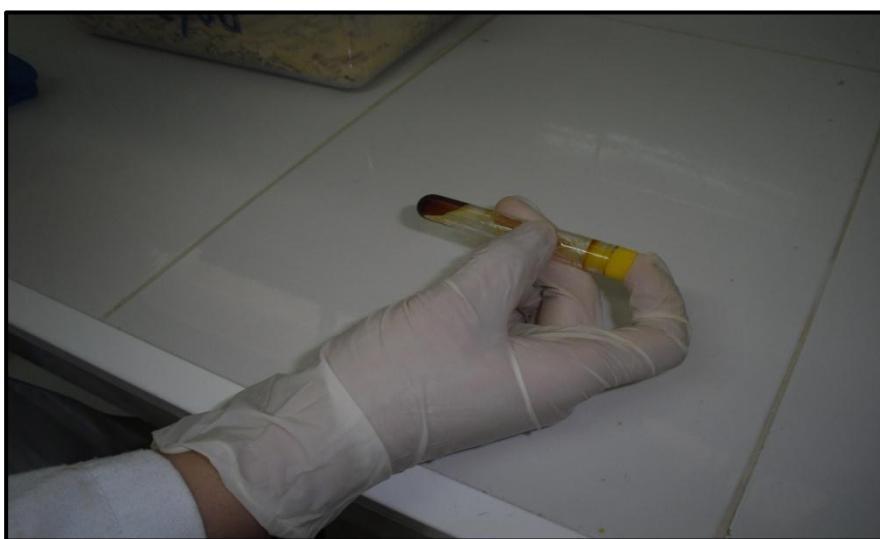
## *Matériel et Méthodes*

## I. Evaluation de l'activité immunomodulatrice de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus*

### I.1. Matériel

#### I.1.1 Matériel végétal

L'extraction de *Crataegus azarolus* a été réalisée au niveau de laboratoire d'obtention des Substances Thérapeutiques, département de Chimie – Université des Frères Mentouri Constantine (**Figure 17**).



**Figure 17:** L'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus*.

#### I.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 18**).

Les souris ont été soumises à une période d'adaptation de 7 jours environ 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 18 :** Répartition des souris.

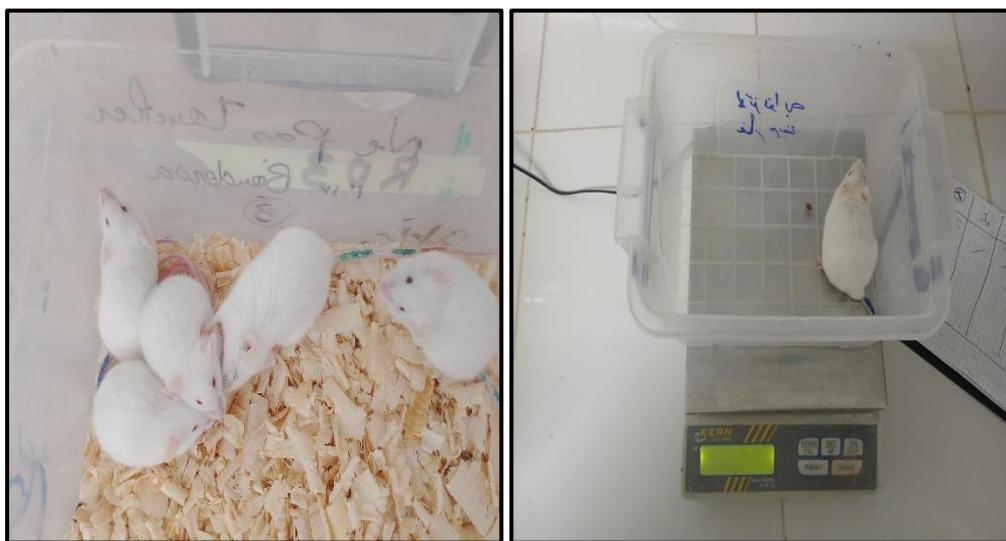
## II. Méthodes

### II.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).

#### II.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 19**).



**Figure 19 :**Markage et mesure de poids des souris.

La répartition des groupes et le traitement des souris sont résumés dans le (**Tableau 5**).

**Tableau 5 :** répartition des groupes et traitement des souris.

Groupe	Nombre de souris	Traitement	Dose	Voie d'administration
Témoin	5	Farine	1g/kg/j/souris	Voie orale
Standard	5	Sélénium + Farine	50 mg /kg/j/souris	Voie orale
Expérimental 1	5	<i>Crataegus azarolus</i> +Farine	150 mg /kg/j/souris	Voie orale
Expérimental 2	5	<i>Crataegus azarolus</i> +Farine	300 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.

### II.2.2. Mode d'administration du traitement

Les deux doses (**150 mg/Kg et 300 mg/Kg**) de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sont calculées par rapport au poids de chaque souris à traiter (**Annexe 03**).

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 20**).



**Figure 20:** Calcul des doses des extraits.

### II.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 (**Figure 21**).



**Figure 21:** Les étapes de l'injection du carbone.

#### II.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 **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1%)** à raison de *10* gouttes de sang dans **4ml deNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1%)** dans chaque tube (**Figure 22**).



**Figure 22 :** Les étapes de prélèvement sanguin.

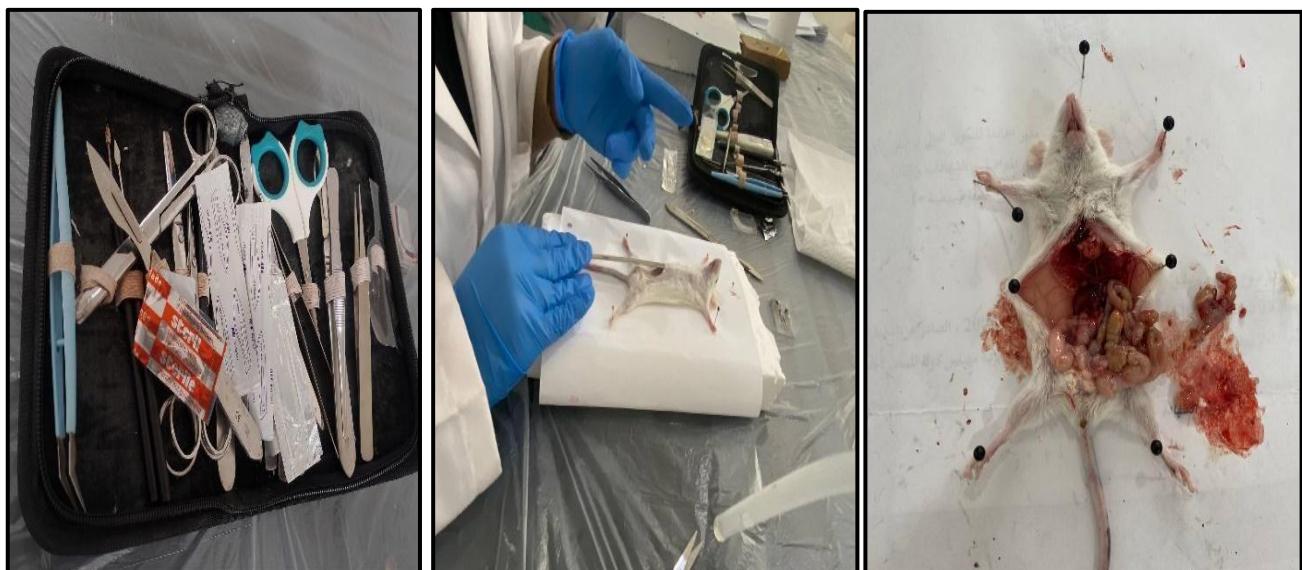
La lecture de l'absorbance des différents tubes dans un spectrophotomètre (**Thermo**) sera mesurée à une longueur d'onde de **675nm** (**Figure 23**).



**Figure 23:** Lecture de l'absorbance des différents tubes.

### II.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 24** ; **Figure 25**).



**Figure 24 :** Dissection et séparation des organes (**Foie** et **rate**)



**Figure 25 :** Prélèvements d'organes (Foie et rate) et mesure de poids

## II.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).

L'activité phagocytaire a été calculée 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.

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

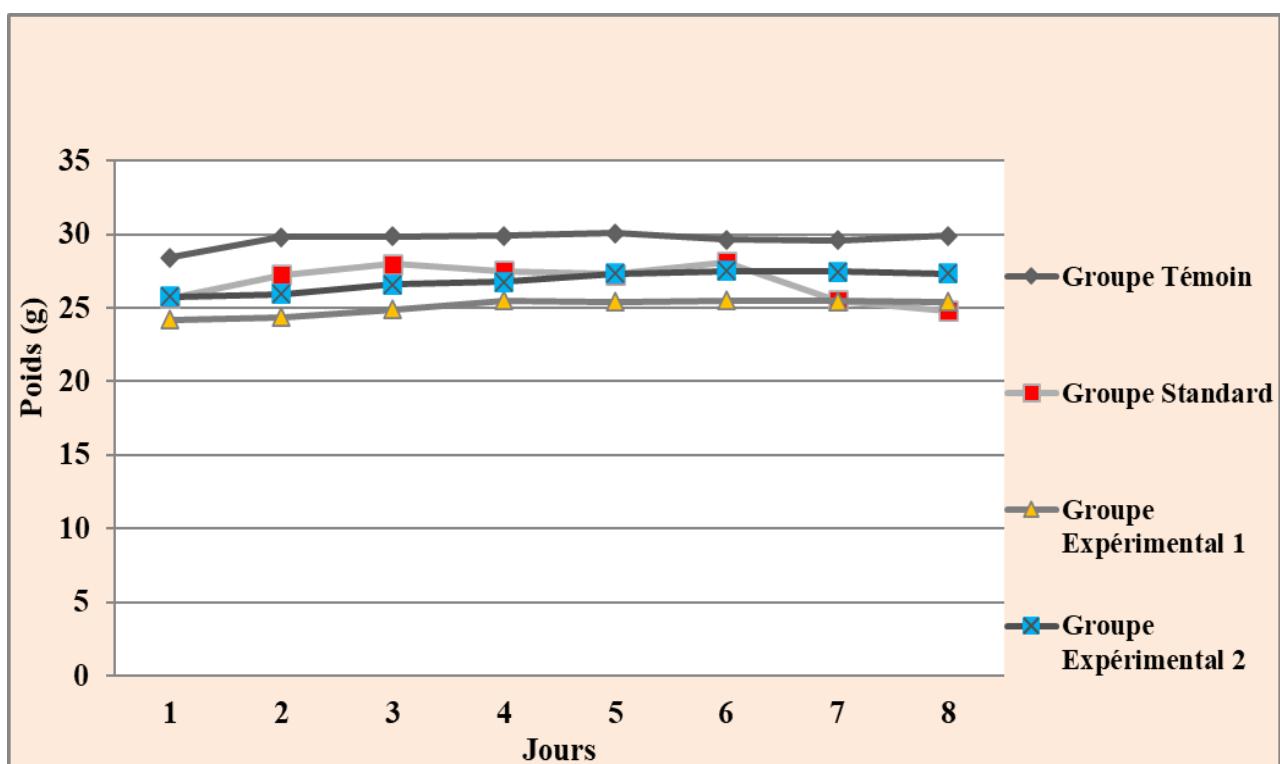


## *Résultats et Discussion*

## I. Effet des extraits de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris

Afin de déceler l'effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le poids vif des souris, les résultats sont représentés dans la (Figure 26). 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 au cours des 8 jours est entre 25,66g et 24,80g respectivement. Ces résultats montrent qu'il existe une diminution significative du poids des souris, avec **p<0,05**.



**Figure 26.** Effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur le poids des souris.

Chez le groupe (Expérimental 1) le poids enregistré pendant les 8 jours est entre 24,2g et 25,42g respectivement. Ces résultats indiquent une augmentation non significative du poids des souris, avec **p=0,09**. Le groupe (Expérimental 2), son poids durant les 8 jours varie entre 25,76g et 27,34g respectivement. Donc, il y a une augmentation non significative du poids des souris, avec **p=0,22**.

Dans notre étude, le poids vif des souris du groupe (**Standard**) est significativement plus diminué par rapport au groupe (**Témoin**).

Par contre, on constate que le traitement par l'extrait 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'espèce humaine (**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 est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en lipides comme le régime hypercholestérolémiant diminue la satiété, la sensation de faim et augmente le poids corporel. Il apparaît clairement que le traitement par l'extrait de *C. azarolus* a 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**).

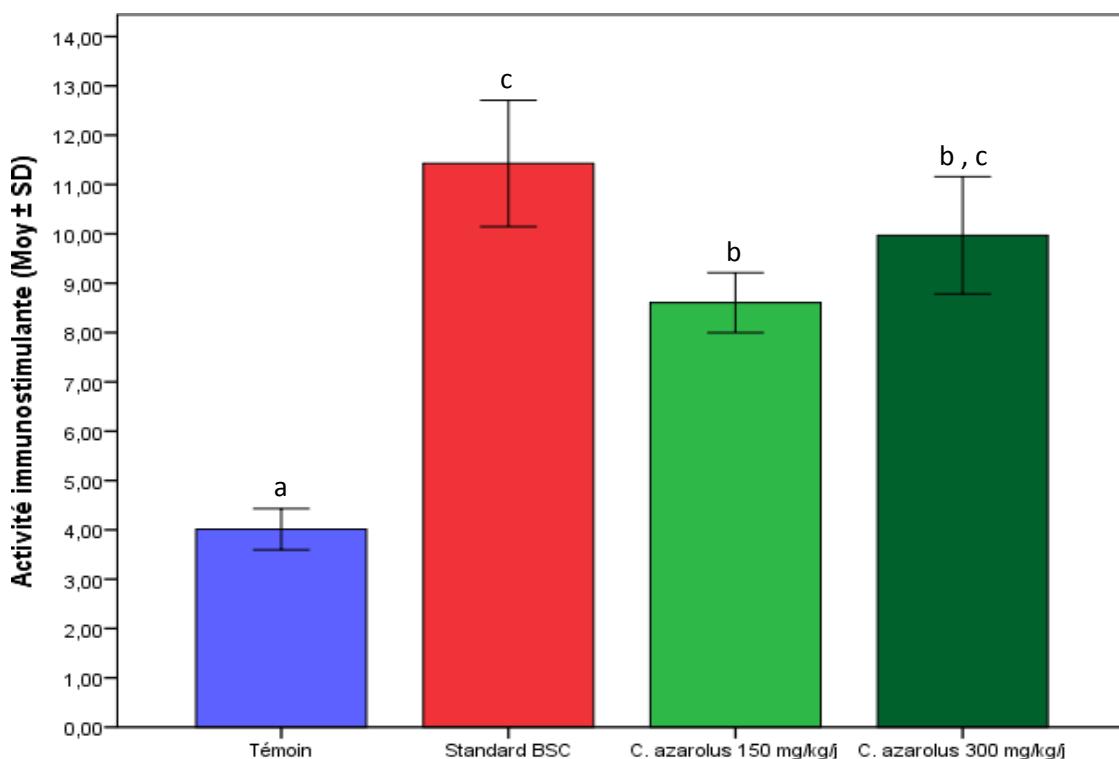
Dans notre expérience, le prétraitement des animaux par l'extrait de *C. azarolus* a induit une augmentation pondérale chez les souris, ce qui indique que nos résultats sont en accord avec les travaux d'**Armitage et al. (2005)**. Ces constatations sont similaires à celle démontrées par **Zerizer et 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.

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

## II. Effet de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur l'activité phagocytaire

L'examen de l'effet immunostimulant de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* est effectué en le comparant à un lot traité par un traitement standard et à un lot non traité servant de témoin.

La figure (27) représente l'activité immunostimulante de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* à deux doses : 150 mg/kg/jour et 300 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 ( $\alpha$ ) entre les différents groupes G1 (contrôle), G2 (standard), G3 (traité par la dose 150mg/Kg de l'extrait de *Crataegus azarolus*) et G4 (traité par la dose 300mg/Kg de l'extrait de *Crataegus azarolus*).



**Figure 27:** Effet de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ) dans le test de l'épuration sanguine du carbone chez la souris

Les données ont été exprimées en moyen  $\pm$  SD de (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 et c ...)

G1: groupe contrôle non traité; G2 : groupe standard ; G3 : groupe expérimental I traité par l'extrait (150mg/Kg par voie orale) ; G4 : groupe expérimental II traité par l'extrait (300mg/Kg par voie orale).

L'analyse statistique de l'effet de notre extrait 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 150 mg/kg/jour (moyenne =8,60 \ écart type=  $\pm 0,60$  ) et groupe traité par la dose 300 mg/kg/jour (moyenne = 9,96 \ écart type=  $\pm 1,18$  ) est hautement significative quand elle est comparée avec le groupe témoin (moyenne =4,01 \ écart type=  $\pm 0,41$  ).

On note aussi une augmentation de l'activité phagocytaire représentée par l'index phagocytaire corrigé  $\alpha$  chez les deux lots prétraités par l'extrait de *Crataegus azarolus* mais de façon inégale, cette diminution est légèrement importante mais d'une façon non significative dans le groupe traité par *Crataegus azarolus* à la dose 300mg/Kg, ainsi notre extrait n'a exercé un effet dépendant de la dose.

Une différence non significative entre les activités immunostimulantes exercées par les deux doses 150mg /kg/J (8,60  $\pm 0,60$ ), et 300 mg /kg/J (9,96  $\pm 1,18$ ) a été notée, une activité immunostimulante significativement moins efficace de la dose 150mg/kg/J (8,60  $\pm 0,60$ ) comparée au lot standard (11,42 $\pm 1,27$ ) a été observée également et finalement une activité immunostimulante significativement comparable entre la dose 300 mg /kg/J (9,96  $\pm 1,18$ ) et le lot standard (11,42 $\pm 1,27$ ) a été marquée.

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).

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'extrait éthanolique 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'extrait éthanolique 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 l'extrait de *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  $\alpha$ ) 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 activés chez les groupes traités (standard, expérimental1 et expérimental2) selon les présents data.

L'introduction d'un antigène 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'extrait éthanolique 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*. L 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 dégagement de 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'extrait éthanolique 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).

En outre, l'effet dose-dépendant n'a pas été marqué dans notre étude suggérant une non-corrélation directe entre la concentration de l'extrait et l'intensité de la réponse phagocytaire. Cela renforce l'hypothèse que les constituants bioactifs de l'extrait 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 différentes doses avec une grande échelle.

Cependant, bien que l'extrait 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 cet effet. De plus, des essais de toxicité aiguë et chronique seraient nécessaires pour évaluer la sécurité d'emploi de l'extrait à long terme.

En conclusion, l'extrait éthanolique 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*

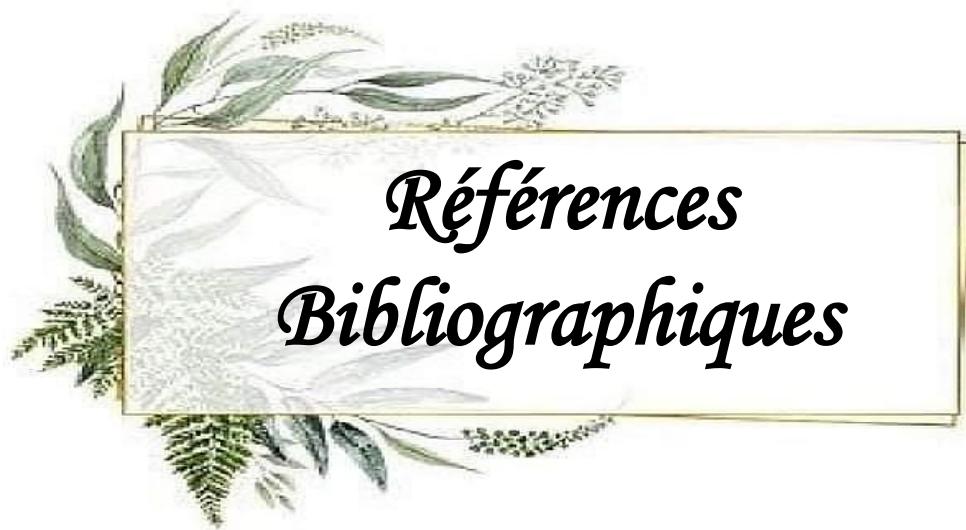
Les plantes médicinales, telles que l'aubépine, constituent des sources importantes de médicaments à forte valeur commerciale à l'échelle mondiale, grâce à la présence de substances chimiques bioactives naturelles aux capacités thérapeutiques significatives.

L'étude de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* a révélé son capacité à stimuler le système immunitaire, précisément grâce à la stimulation de l'activité phagocytaire. Les données obtenues indiquent une activation significative des cellules phagocytaires, suggérant que cet extrait contient des composés bioactifs susceptibles d'améliorer la réponse immunitaire innée. Ces effets pourraient être dus à l'abondance de flavonoïdes, polyphénols et autres antioxydants naturels présents dans la plante. Par ailleurs, une élévation des doses de l'extrait paraît renforcer l'effet noté, ce qui indique une réaction dépendante de la dose nécessitant des recherches plus approfondies. De ce fait, *Crataegus azarolus* pourrait constituer une source prometteuse de molécules immunomodulatrices d'origine végétale.

Ces recherches ouvrent de nombreuses perspectives encourageantes. Il serait approprié de :

- Procéder à une évaluation détaillée basée sur la dose afin d'identifier la concentration idéale de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* pour obtenir une activité immunostimulante maximale ;
- Utiliser d'autres modèles expérimentaux pour confirmer l'activité immunostimulante du produit et évaluer d'autres activités biologiques (antimicrobienne, anti-tumorale, antiparasitaire, anti oxydante,...) ;
- Déterminer l'effet de notre extrait sur d'autres mécanismes immunitaires innée ou adaptatif (action sur les neutrophiles, action sur les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires,...).

Finalement, cette recherche ouvre la porte à l'élaboration de formulations thérapeutiques ou de suppléments nutritionnels visant le système immunitaire, avec des perspectives d'applications cliniques possibles à prévoir sur le long terme.



*Références  
Bibliographiques*

- **Abbas AK., Lichtman AH., & Pillai S. (2016).** Les bases de l'immunologie : Fonctions du système immunitaire dans la santé et la maladie. *Elsevier Masson*, 7 : 1-31.
- **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*). *Tèses de doctorat en Biochimie*:10.
- **Abood W. (2017).** Immunomodulatory and Natural Immunomodulators. *Journal of Allergy and Inflammation*, 1(2): 1.
- **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.
- **Andersen M H., Schrama D., Thor-Straten P., & Becker JC. (2006).** Cellules T cytotoxiques. *Journal of Investigative Dermatology*, 126 (1): 32-41.
- **Annunziato F., Romagnani C., & Romagnani S. (2015).** Les 3 principaux types d'immunité effectrice innée et adaptative à médiation cellulaire. *Tourillon d'allergie et d'immunologie clinique*, 135 (3): 626-635.
- **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*. 27(3), 350–357.
- **Arnone D. (2019).** Influence de régimes hypercaloriques sur l'inflammation intestinale: rôle du microbiote intestinal et mécanismes physiopathologiques dans un contexte de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MCI). *Thèse de doctorat en Pharmacie* :19.
- **Aymeric J., & Lefranc G. (2009).** Immunologie Humaine. *De Boeck Université*, (1) : 1-9.
- **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 JL., ... & 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*,(1): 623-651.
- **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.
  - **Belkhir M., Rebai O., Dhaouadi K., Congiu F., Tuberoso C I G., Amr, M., & Fattouch,S. (2013).** Comparative analysis of Tunisian wild *Crataegus azarolus* (yellow azarole) and *Crataegus monogyna* (red azarole) leaf, fruit, and traditionally derived syrup: Phenolic profiles and antioxidant and antimicrobial activities of the aqueous-acetone extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(40): 9594–9601.
  - **Belouad A. (2005).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. *Offices des publications universitaires, Alger, Algérie*: 284.
  - **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.
  - **Bergereau E. (2010).** Rôle des LT-CD8+ dans l'auto-immunité du SNC : influence des autres effecteurs de l'immunité adaptative. *Thèse de doctorat en immunologie*, 239 : 17.
  - **Bignami C., Paolocci M., Scossa, A., & Bertazza G. (2001, July).** Preliminary evaluation of nutritional and medicinal components of *Crataegus azarolus* fruits. In *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants (Part II)*, 59: 795-100.
  - **Boitard C. (2000).** Immunomodulation. *Médecine/Sciences*, 16: 340-345.
  - **Botting R. M., & Botting J H. (2000).** Pathogenesis and mechanisms of inflammation and pain: an overview. *Clinical Drug Investigation*, 19 : 1-7.
  - **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.,

- 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*, 16: 18-61.
  - **Boutammina N E. (2011).** Les fondateurs de la Médecine. *BoD-Books on Demand France*,(1) :108.
  - **Brosse J., 2000.** Larousse des arbres et des arbustes. *Larousse (Ed). Canada*: 576.
  - **Browning J L. (2006).** B cells move to centre stage: novel opportunities for autoimmune disease treatment. *Nature reviews drug discovery*, 5(7) : 564-576.
  - **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4e éd, revue et augmentée, Paris, Tec & Doc, Éditions médicales internationales : 1288.
  - **Brunner L S., Smeltzer S., Suddarth DS., & Bare B. (2011).** Soins infirmiers en médecine et chirurgie 1: Généralités. *De Boeck Supérieur*, 1(5):121.
  - **Calas A., Boulouis H., Perrin J., Plas C., & Venneste P.(2016).** Précis de physiologie. John libbey Eurotext : 257.
  - **Carcelain G. (2018).** Immunologie fondamentale et immunopathologie, de l'ASSIM: Collègedes Enseignants d'Immunologie, *Elsevier Masson* : 10.
  - **Carcelain G., & Candon S. (2023).** Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements thématique et intégré – Tissu lymphoïde et sanguin / Immunopathologie et immuno-intervention. *Elsevier Masson*, 3 : 40-41.
  - **Chatenoud L., & Bach J. (2012).** Immunologie. *Lavoisier*, 6 : 6.
  - **Chavan S S., Jadhav R S., Khemnar K S., & Tambe V B. (2001).** Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of selected medicinal plants. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 3(5): 1–8.
  - **Chung KT., Wong TY., Wei CI., Huang YW., & Lin Y. (1998).** Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6): 421–464.
  - **Costentin J., Défosez A., Fellman D. (2008).** Histologie base fondamentales. Omniscience: 340-342.
  - **Croisier M., & Croisier Y. (2011).** Hygiène et santé en élevage. *Educagri Editions* : 91.
  - **Crouzilles C., & Siebert C. (2012).** Processus inflammatoires et infectieux : Unité d'enseignement. *Elsevier Masson*,14: 11.

- **Defranco A., Robertson M., Lochsley R. (2009).** Immunologie réponse immunitaire dans la maladie infectieuse et inflammatoire. *De Boeck Supérieur*, 288.
- **Demoly P., & Bousquet J. (2002).** La rhinite allergique. *John Libbey Eurotext* : 28.
- **Dibong S D, Mpondou Mpondou E, Ngoye A, Kwin N F, Betti J L. (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37: 2496-2507.
- **Domerego R., Imbert G., Blanchard C. (2006).** Remèdes de la ruche : découvrez tous les bienfaits santé des produits de la ruche. *Alpen Editions*: 23.
- **Dondero M G. (2016).** Pour une rhétorique sémiotique de l'image en sciences biologiques. *Argumentation et analyse du Discours*: 16.
- **Dubourdeau M., Pipy B., Rousseau D. (2010).** Rôles de PPAR et de p21WAF1/CIP1 dans la différenciation monocyte/ macrophage, Les monocytes circulants prolifèrent-ils?. *Medecine/Sciences*, 26 : 481-486.
- **Dumas A., Pouliot M. (2009).** Le neutrophile : ennemi ou ami ?. *Med Sci (Paris)*, 25(8-9) : 699-704.
- **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 SN. (2010).** Immunomodulatory effect of Hawthorn extract in an experimental stroke model. *Journal of neuroinflammation*, 7: 1-13.
- **El- Mahdy MA., Zhu Q., Wang Q E., Wani G., Patnaik S., Zhao Q., ... & Wani, AA. (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.
- **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.
- **Fernandez, M. (2003).** Quelques plantes dites médicinales et de leur fonction. Ed Aenigma. *Paris, France*: 63.
- **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*. *Tèses docteur en Médecine* : 45-57.

- **Franco A., Robertson., M., & Locksley R. (2007).** Immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. *New Science Press* : 4-6.
- **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.
- **Grosogoeat H. (2009).** Ma promesse anti-âge. *Odile Jacob*: 181.
- **Guido R; Haenen M M; Bast A. (2014).** Glutathione revisited: a better scavenger than previously thought. *Frontiers in Pharmacology*, 5: 1-5.
- **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 CA., & Murphy K. (2018).** Immunobiologie de Janeway. *De Boeck supérieur*, 08 .
- **Janeway CA., Travers P., Wolport M., & Shlomchik M J. (2003).** Immunobiologic concepts de base en immunologie. *De Boeck* ; 782.
- **Kaiko GE., Horvat J C., Beagley K W., & Hansbro P M. (2008).** Prise de décision immunologique : comment le système immunitaire décide-t-il de monter une réponse des lymphocytes T auxiliaires ?. *Immunologie*, 123(3): 326-338.
- **Kang WY., Li CF., Liu YX. (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.
- **Kierszenbaum A. (2006).** Histologie et biologie cellulaire. *De Boeck Supérieur*, 720(1) : 267-268.

- **Koneispayeva G., Fay B., Loiseau G. (2009).** The composition of milk meta-analysis of lituatuul data. *Journal of food composition and analysisysis*, 22: 25- 101.
- **Kpéra G N., Mensah G A., & Sinsin B. (2004).** Utilisation des produits et sous-produits de crocodile en médecine traditionnelle au nord du Bénin. *Bulletin de la recherche agronomique du Bénin*, 44 : 1-12.
- **Kuby J. (2014).** Immunologie cellules, organes et microenvironnement du système immunitaire. (7): 779.
- **Kumar U., Manjunath C., Thaminzhmani T., Ravi Y., & Brahmaiah Y. (2012).** A Review on Immunomodulatory Activity Plants. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 4(2): 93-103.
- **Labh SN., & Shakya SR. (2014).** : Application des immunostimulants comme alternative aux vaccins pour la gestion sanitaire en aquaculture. *Int. Fish Aquat St*, 2(1) :153-156.
- **Laboudi A. (2019).** Immunologie. *Mon Essentiel* : 55-59.
- **Lakache Z., Tigrine-Kordjani N., Tigrin C., Aliboudhar H., & Kameli A. (2016).** Phytochemical screening and antioxidant properties of methanolic extract and different fractions of *Crataegus azarolus* leaves and flowers from Algeria. *International Food Research Journal*, 23(4): 1576.
- **Le Thi Thu H., Nguyen Thi Van A., Thuc Thanh H., Nguyen Thi Dieu T. (2014).** Rôle des cytokines dans l'asthme. 26-30.
- **LeBien TW., & Tedder TF. (2008).** B lymphocytes: How they develop and function. *Blood*, 112(5) : 1570-1580.
- **Lichtman AH., Masson PL., Pillai S., & Abbas AK. (2016).** Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. *Elsevier Health Sciences*, 5: 3-40.
- **Lydyard P., Fanger M., & Whelan A. (2002):** L'essentiel en immunologie. *Berti Edition Paris*: 381.
- **Lydyard P., Whelan A., & Fanger M. (2011).** BIOS Instant notes in immunology. *Taylor & Francis*, (3) : 54-59.
- **Madore C. (2013).** Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité innée cérébrale : modulation par l'inflammation et lanutrition. *Thèse de doctorat en Neurosciences. Université Bordeaux 2* : 96-154.
- **Male D. (2005).** Immunologie aide mémoire illustré. *De Boeck Supérieur*, 3 (5): 57-59.

- **Male D., Brostoff J., Roth DB., & Roitt I. (2007).** Immunologie. *Elsevier Masson* : 586.
- **Maleki N., Garjani A., Nazemiyeh H., Nilfouroushan N. Eftekhar Sadat A T.,& (2001).** Potent antiinflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 75(2): 213–218.
- **Manda K., Glasow A., Paape D., & Hildebrandt G. (2012).** Effets des rayonnements ionisants sur le système immunitaire avec un accent particulier sur l'interaction des cellules dendritiques et T. *Frontiers in Oncology*, 2: 102.
- **Manuel M. (2012).** Étude des distorsions du répertoire immunitaire en tant que facteur pronostique de risque chez les patientes souffrant d'un cancer du sein métastatique en 1ère rechute : étude de la valeur pronostique de la lymphopénie et de la divpénie. *Thèse de doctorat en Immuno Oechnologie*, 14-22.
- **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.*
- **Matherat G. (2018).** Caractérisation fonctionnelle du facteur CXXC5 (RINF) au cours de l'hématopoïèse normale et pathologique. *Thèse de doctorat D'Hématologie* :15.
- **Mazzochi J., Dalioche, G., & Frenol, U. (1999).** Glaner dans le midi. *Paris* : 169.
- **Messaili B. (1995).** Botanique, systématique des spermaphytes. *Office des publications universitaires*, Alger, Algérie: 91.
- **Messaoudi S. (2021).** Etude comparative de l'activité biologique de certaines plantes sur les maladies cardiovasculaires, induite par une hypercholestérolémie chez les souris. *Tèses de doctorat en Biologie et Physiopathologie Cellulaire* : 15-17.
- **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.
- **Mraïhi 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  $\beta$ - carotene/linoleic acid assay. *Journal of chemistry*, (1): 264- 378 .

- **Mraïhi 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.
- **Munsch M A., Safran M R., Mai M C., Vasileff W K. (2022).** Bone marrow lesions: etiology and pathogenesis at the hip. *Journal of Hip Preservation Surgery*, 7(3) : 401-409.
- **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(6) : 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.
- **Nagarathna PKM., Reena K., Reddy S., & Wesley J. (2013).** Review on immunomodulation and immunomodulatory activity of some herbal plants. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 22(1): 223-230.
- **Nicolas J., & Thivolet J. (1999) .Immunodermatologie .** John Libbey Eurotext: 2.
- **Noack M., & Kolopp-Sarda M N. (2018).** Cytokines et inflammation : physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, (499): 28-37.
- **Oak M H., Bedoui J E., Madeira . 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.
- **Okuda T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17): 2012–2031.
- **Orsini J C., & Pellet J. (2005).** Introduction biologique à la psychologie. *Editions Bréal*, (2): 516-535.
- **Parham P. (2003).** The immune system. *De Boeck* : 407.
- **Picard B., & Bauchart D. (2010).** Muscle et viande de ruminant. *Editions Quae*: 275.
- **Posnett D N., & Yarilin D. (2005).** Amplification of autoimmune disease by infection. *Arthritis research & therapy*, 7(2) : 1-11.

- **Rankin J A. (2004).** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15(1): 3-17.
- **Reiner V., Teubner P., Ulrik B. (2008).** Cours d'anatomie. *De Boeck Supérieur* : 236-237.
- **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.
- **Saroj P., Verma M., Jha K., Pa M. (2012).** An overview on immunomodulation. *Journal of Advanced Scientific Research* , 3(1): 07-12.
- **Schwartz R H. (2005).** Natural regulatory T cells and self-tolerance. *Nature Immunology*, 6(4) :327-330.
- **Serhan C N., Ward P A., & Gilroy D W. (2010).** Fundamentals of inflammation. *Cambridge University Press* : 2-5.
- **Sherwood L. (2015).** Physiologie humaine. *De Boeck Supérieur* : 334.
- **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.
- **Somova L O, Nadar A., Rammanan P., Shode F.O.(2003).** Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*, 10(2): 115–21.
- **Weill B., & Batteux F. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck Supérieur*: 12-23.
- **Weill B., Batteux F., Dhainaut J. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck, Université (Paris)*, 2: 12.
- **Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., & Halbwachs-Mecarelli.L. (2000).** Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Laboratory investigation*, 80(5): 617-653.
- **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*.

- **Yeap S., Abd Rahman M., Alitheen N., Yong Ho W., Omar A., Kee Beh B., & Ky H. (2011).** Evaluation of immunomodulatory effect. *American Journal of Immunology*, 7(2) : 17-23.
- **Zheng B., Yang Y., Chen L., Wu M., & Zhou S. (2022).** B-cell receptor repertoire sequencing: Deeper digging into the mechanisms and clinical aspects of immune-mediated diseases. *Iscience*, 25: 2.



# 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 <sup>+2</sup>	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  $\mu\text{m}$ , 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'extrait *Crataegus azarolus* (150 mg/kg) et (300 mg /kg).

La dose I :  $1000\text{g} \longrightarrow 150\text{ mg}$   
 $\bar{X} (\text{g}) \longrightarrow Y = \text{dose (souris)}$

$$Y = \text{dose (souris) mg} = \frac{Xg * 100\text{mg}}{1000\text{g}}$$

**Y (g) :** dose de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* en g pour une souris.

La dose II :  $1000\text{g} \longrightarrow 300\text{ mg}$   
 $\bar{X} (\text{g}) \longrightarrow Y = \text{dose (souris)}$

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

**Y (g) :** dose de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* en g pour une souris.

## 2. Evaluation de l'activité phagocytaire

On a injecté une solution du carbone

La dose :  $200 \text{ g} \longrightarrow 1 \text{ ml}$

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

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

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

## Résumé

*Introduction* : Le système immunitaire inné, première barrière contre les infections, repose notamment sur l'activité des cellules phagocytaires. L'étude des plantes médicinales comme *Crataegus azarolus*, riche en composés phénoliques et flavonoïdes, s'avère prometteuse dans la recherche d'immunostimulants naturels.

*Objectif* : Évaluer l'effet de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur l'activité du système phagocytaire chez la souris *in vivo*, en utilisant le test d'épuration sanguine du carbone (utilisé comme antigène).

*Méthodes* : Des souris *Mus musculus* ont été divisées en quatre groupes : témoin, standard (traitement de référence) expérimental1 (traité à 150 mg/kg d'extrait de *C. azarolus* par voie orale pendant 7 jours), expérimental2 (traité à 300 mg/kg d'extrait de *C. azarolus* par voie orale pendant 7 jours). Le carbone a été injecté, des prélèvements sanguins ont été effectuée et ensuite la clairance du carbone a été mesurée par spectrophotométrie.

*Résultats* : Les groupes traités ont montré une augmentation significative de l'index phagocytaire, indiquant une stimulation notable de l'activité phagocytaire pour les trois groupes traités en marquant une efficacité comparable.

*Conclusion* : L'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* exerce un effet immunostimulant en activant le système phagocytaire. Cette plante pourrait constituer un produit de base pour le développement de traitements naturels modulant l'immunité.

**Mots-clés** : Immunostimulation, épuration sanguine, carbone, extrait éthanolique, *Crataegus azarolus*, système phagocytaire, *in vivo*.

## Summary

Introduction: The innate immune system, the first barrier against infections, relies particularly on the activity of phagocytic cells. The study of medicinal plants such as *Crataegus azarolus*, rich in phenolic compounds and flavonoids, proves promising in the search for natural immunostimulants

Objective: To evaluate the effect of the ethanolic extract of *Crataegus azarolus* on the phagocytic system activity in mice *in vivo*, using the carbon clearance test (used as an antigen).

Methods: *Mus musculus* mice were divided into four groups: control, standard (reference treatment), experimental1 (treated with 150 mg/kg of *C. azarolus* extract orally for 7 days), experimental2 (treated with 300 mg/kg of *C. azarolus* extract orally for 7 days). Carbon was injected, blood samples were taken, and then carbon clearance was measured by spectrophotometry.

Results: The treated groups showed a significant increase in the phagocytic index, indicating a notable stimulation of phagocytic activity for all three treated groups, marking a comparable efficacy.

Conclusion: The ethanolic extract of *Crataegus azarolus* exerts an immunostimulant effect by activating the phagocytic system. This plant could serve as a foundational product for the development of natural treatments that modulate immunity.

**Keywords:** Immunostimulation, blood purification, carbon, ethanolic extract, *Crataegus azarolus*, phagocytic system, *in vivo*.

## الملخص

مقدمة: الجهاز المناعي الفطري، وهو الحاجز الأول ضد العدو، يعتمد بشكل خاص على نشاط الخلايا البلغومية. دراسة النباتات الطبية مثل *Crataegus azarolus* ، الغنية بالمركبات الفينولية والفلافونويدية، تبدو واعدة في البحث عن المناعية الطبيعية.

الهدف: تقييم تأثير المستخلص الإيثانولي من *Crataegus azarolus* على نشاط النظام البلغومي في الفئران الحية، باستخدام اختبار تطهير الدم من الكربون (المستخدم كمستضد).

الطرق: تم تقسيم فئران *Mus musculus* إلى أربع مجموعات: مجموعة التحكم، المجموعة القياسية (علاج مرجعي)، المجموعة التجريبية 1) عولجت بـ 150 ملخ/كغ من مستخلص *C. azarolus* عن طريق الفم لمدة 7 أيام(، المجموعة التجريبية 2) عولجت بـ 300 ملخ/كغ من مستخلص *C. azarolus* عن طريق الفم لمدة 7 أيام.(تم حقن الكربون، وتم إجراء عينات دم، ثم تم قياس تصفية الكربون باستخدام الطيف الضوئي.

النتائج: أظهرت المجموعات المعالجة زيادة كبيرة في مؤشر البلغمة، مما يشير إلى تحفيز ملحوظ للنشاط البلغومي للمجموعات الثلاث المعالجة مع تسجيل فعالية متقاربة.

الخاتمة: يمارس المستخلص الإيثانولي من *Crataegus azarolus* تأثيراً منبهًياً للمناعة من خلال تنشيط النظام البلغومي. قد تشكل هذه النبتة منتجًا أساسياً لتطوير علاجات طبيعية تعدل المناعة.

الكلمات المفتاحية: التحفيز المناعي، تنقية الدم، الكربون، المستخلص الإيثانولي، *Crataegus azarolus*، النظام البلغومي، في الجسم الحي.

**Evaluation de l'effet immunomodulateur de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus*  
- étude *in vivo* chez la souris -****Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Immunologie Moléculaire et Cellulaire****Résumé**

Introduction : Le système immunitaire inné, première barrière contre les infections, repose notamment sur l'activité des cellules phagocytaires. L'étude des plantes médicinales comme *Crataegus azarolus*, riche en composés phénoliques et flavonoïdes, s'avère prometteuse dans la recherche d'immunostimulants naturels.

Objectif : Évaluer l'effet de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* sur l'activité du système phagocytaire chez la souris *in vivo*, en utilisant le test d'épuration sanguine du carbone (utilisé comme antigène).

Méthodes : Des souris *Mus musculus* ont été divisées en quatre groupes : témoin, standard (traitement de référence) expérimental1 (traité à 150 mg/kg d'extrait de *C. azarolus* par voie orale pendant 7 jours), expérimental2 (traité à 300 mg/kg d'extrait de *C. azarolus* par voie orale pendant 7 jours). Le carbone a été injecté, des prélèvements sanguins ont été effectués et ensuite la clairance du carbone a été mesurée par spectrophotométrie.

Résultats : Les groupes traités ont montré une augmentation significative de l'index phagocytaire, indiquant une stimulation notable de l'activité phagocytaire pour les trois groupes traités en marquant une efficacité comparable.

Conclusion : L'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus* exerce un effet immunostimulant en activant le système phagocytaire. Cette plante pourrait constituer un produit de base pour le développement de traitements naturels modulant l'immunité.

**Mots-clés :** Immunostimulation, épuration sanguine, carbone, extrait éthanolique, *Crataegus azarolus*, système phagocytaire, *in vivo*.

**Laboratoires de recherche :** Laboratoire d'immunologie et activités biologiques des substances naturelles

**Président du jury :** MESSAOUDI Sabar (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadrante :** ARIBI Boutheyna (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examinateuse :** TARTOUGA Maya Abir (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).