

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**Université Constantine I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale**



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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : *Immuno-oncologie*

Intitulé :

**Effets potentiels antioxydant et anti inflammatoire
de l'homogénat d'*Hélix aspersa* dans un modèle
expérimental de colite chimio-induite.**

Présentée et soutenu par : Djadouri Djalel

Le : 10/07/2014

Ben dahra Ismahane

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr AN. BOUDDAH	Maître de conférences au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.
Directrice du mémoire : Mme D. NAIMI	Professeur au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.
Examinatrice : Mme I. ELOUAR	Maître Assistante chargée de cours au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.

*Année universitaire
2013 - 2014*



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Constantine I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : *Immuno-oncologie*

Intitulé :

**Effets potentiels antioxydant et anti inflammatoire
de l'homogénat d'*Hélix aspersa* dans un modèle
expérimental de colite chimio-induite.**

Présentée et soutenu par : Djadouri Djalel

Le : 10/07/2014

Ben dahra Ismahane

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr AN. BOUDDAH	Maître de conférences au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.
Directrice du mémoire : Mme D. NAIMI	Professeur au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.
Examinatrice : Mme I. ELOUAR	Maître Assistante chargée de cours au Département de Biologie Animale. Université Constantine I.

Année universitaire
2013 - 2014

Remerciement

Nous adressons nos remerciements à :

*Notre directrice de mémoire Madame le Professeur
D. NAIMI qui nous a guidé dans notre travail, qui nous a aidé à
trouver des solutions pour avancer et pour le temps qu'elle nous
a consacré.*

Nous ne vous remercierons jamais assez Madame.

*Notre président de jury Monsieur A N. BOUDDAH pour avoir
présidé notre jury et jugé notre travail, veuillez trouver ici le
témoignage de nos sincères remerciements.*

*Notre juge examinatrice Madame I. ELOUAR pour ses critiques
et ses jugements constructifs*

*Votre gentillesse et votre générosité ne nous ont pas laissé
indifférents.*

Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.

*Notre chef de département Mr B.Madaci pour sa gentillesse et
son dévouement.*

On vous sera toujours reconnaissants.

Me C.Agoun pour sa précieuse aide et sa collaboration.

*Au binôme avec qui on a travaillé au sein du laboratoire Melle
Toini N Hatuikulipi et Melle L,Bochtob cette expérience en votre
compagnie demeurera inoubliable.*

Aux deux doctorantes Melle M.Kouachi et Melle R.Mebirouk pour leur sens de l'humour, leurs contributions et leurs précieux conseils.

On vous souhaite du succès et de la réussite.

Nos remerciements vont également à :

Me M.Benlatarache

Messieurs BENNOUAR et LARABA du Département de Biochimie.

Monsieur YAZID du service d'Anatomo-pathologie du CHU de Constantine.

Et pour toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace :

Tout d'abord louange a Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas

Je dédie ce travail a :

A mes chers parents

Pour leurs amour, sacrifices, aide et soutien, qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études, sans vous je ne serai jamais là ou je suis aujourd'hui, j'espère que vous puisez trouver dans ce travail le fruit de vos labeur

*A ma sœur HAMIDA et A Mes frères, spécialement DJAMEL
merci pour vos encouragements, je vous souhaite de réussir brillamment dans vos études ainsi que votre vie privée.*

Pour les personnes qui ont été toujours près de moi, merci pour vos nombreux encouragements et vos conseils

A mes amis ASMA, TOINI, ISMAHANE avec qui j'ai réalisé ce travail, pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble

A toute ma famille

*A tous mes amis et mes camarades de la promotion de master immunologie et oncologie
2013-2014*

Djadouri Djatal

Dédicace :

Tout d'abord louange a Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas

Je dédie ce travail a :

A mes chers parents

A mon cher oncle et sa femme qui ont été ma deuxième famille

Pour leurs amour, sacrifices, aide et soutien, qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études, sans vous je ne serai jamais la ou je suis aujourd'hui, j'espère que vous puisez trouver dans ce travail le fruit de vos labeur

A ma sœur Selma et son époux Abd El Aziz et leurs petit ange Rahma, je vous souhaite une vie pleine de bonheurs

A mes sœurs Sara, Nawel, et Chaima, merci pour vos encouragements, je vous souhaite de réussir brillamment dans vos études ainsi que votre vie privée.

Pour les personnes qui ont été toujours près de moi, merci pour vos nombreux encouragements et vos conseils

A mes amis Djalel, Asma, Toini, avec qui j'ai réalisé ce travail, pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble

A toute ma famille

A tous mes amis et mes camarades de la promotion de master immunologie et oncologie 2013-2014

Ben dahra Ismahane

Table des matières

Liste des figures
Liste des tableaux
Résumé en Français.
Résumé en Anglais.
Résumé en Arabe.

Pages

Introduction.....01

Partie bibliographique

Chapitre I : Biologie de l'escargot Helix aspersa

1.1. Classification de l'helix aspersa.....	03
1.2. Morphologie externe	04
1.2.1. La coquille.....	04
1.2.2. Le corps.....	05
1.3. Biologie et physiologie d'Helix aspersa.....	06
1.3.1. L'appareil digestif	06
1.3.2. Système nerveux.....	06
1.3.3. Appareil circulatoire et respiratoire	06
1.3.4. Appareil génital	06
1.4. La reproduction	08
1.5. Les rythmes de vie de l'escargot.....	09
1.6. Influence des paramètres externes sur le comportement des escargots	10
1.7. L'élevage des escargots	11
1.8. Biochimie de l'escargot Helix aspersa	14

Chapitre II : Le système digestif

2.1. Organisation générale du tube digestif.....	16
2.2. Histologie de tube digestif	17
2.3. L'intestin grêle	19
2.4. Renouvellement de l'épithélium intestinal	22
2.5. Le colon et le rectum	23

Chapitre III : Les organes lymphoïdes

3.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux	29
3.1.1. La moelle osseuse	29
3.1.2. Le thymus	31
3.2. Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques	33
3.2.1. La rate.....	33
3.2.2. Le foie	35

3.2.3. Les ganglions lymphatiques	37
3.2.4. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT).....	39

Chapitre IV : L'immunité intestinale

4.1. L'immunité intestinale	40
4.1.1. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT)	40
4.1.1.1. Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale : le GALT	41
4.1.1.1.1. Le GALT organisé	41
4.1.1.1.2. Le GALT diffus	41
4.2. La réponse immunitaire intestinale	42
4.3. L'intégration de l'antigène	42
4.4. La migration cellulaire et l'activation des lymphocytes T	43
4.5. Le retour des lymphocytes T sur le lieu de l'infection	44
4.6. Les immunoglobulines de la muqueuse intestinale.....	44

Chapitre V: Maladies Inflammatoires de l'Intestin

5.1. Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII)	45
5.2. L'inflammation intestinale.....	46
5.3. Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin (MICI)	49
5.3.1. La maladie de Crohn (MC)	50
5.3.2. La recto-colite ulcéro-hémorragique (RCUH)	50
5.4. Les facteurs de risque	51
5.5. Foyer de cryptes aberrantes	54
5.6. Adénomes	55
5.7. Evolution	58
5.8. Anatomie pathologique	58
5.9. Les polypes non épithéliaux	58
5.10. Les polypes épithéliaux	58

Chapitre 06 : le stress oxydatif

6.1. Origine du stress oxydant.....	66
6.2. Différentes formes de radicaux libres de l'oxygène (ROS).....	67
6.2.1. Principaux radicaux libres rencontrés en biologie.....	69
6.3. Système anti-oxydants	69
6.4. Les transaminases TGP – TGO et la GGT	71
6.4.1. TGP ou Alanine aminotransférase (ALAT).....	71
6.4.2. TGO ou Aspartate aminotransférase (ASAT).....	72
6.4.3. GGT ou gamma glutamyl-transpeptidases.....	72
6.5. Le MDA (malondialdéhyde).....	72

6.6.	Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant.....	72
6.7.	Les maladies liées au stress oxydant.....	73

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

- I. Préparation de l'homogénat des escargots « *Hélix aspersa* ».
- II. Détermination de la dose létale de l'homogénat sur souris *Mus musculus*
- III. Protocole expérimentale :
 - Traitement des rats par l'homogénat de l'*Hélix aspersa* préparé avant induction.
 - Induction de l'inflammation par ACT au 8ème jour de l'expérience .
 - Traitement des rats par l'homogénat de l'*Hélix aspersa* préparé après induction.
- IV. Prélèvement du sang sur 3 tubes : EDTA, Hépariné et sec pour doser :
TGO, TGP, γ GT, CRP, FNS, Protéines totales plasmatiques,
- V. Réalisation des frottis sanguins périphériques et médullaires.
- VI. Dissection des rats, prélèvement et coupes histologiques des organes : Rate, Thymus, Foie, colon.
- VII. Dosage des protéines totales tissulaire et MDA
- VIII. Observation microscopique des coupes et prise des photos.

Résultats et discussions

1. Résultats physiologiques
2. Résultats enzymatiques et hématologique
3. Résultats Cytologique Et Histologique

Discussion

Conclusion et Perspectives

Annexes

Références bibliographique

Liste des figures :	pages
Figure 01 : Helix Aspersa (Petit Gris).....	03
Figure 02 : escargot en extension.....	05
Figure 03: Anatomie interne de l'escargot Helix aspersa.....	07
Figure 04 : accouplement de helix aspersa.....	08
Figure 05 : Dessin d'une boîte de reproduction	12
Figure 06 : Organisation générale de tube digestif.....	16
Figure 07 : Organisation générale de la paroi du tube digestif	18
Figure 08 : glandes de Lieberkühn.....	21
Figure 09: Schéma général de la paroi de l'intestin grêle.....	22
Figure 10 : Vue antérieure du gros intestin	23
Figure 11 : histologie du colon	24
Figure 12 : Zone ano rectal.....	25
Figure 13 : Structure histologique de l'appendice	27
Figure 14 : Localisation des organes lymphoïdes	28
Figure 15 : structure histologique de la moelle osseuse rouge et jaune.....	29
Figure 16 : histologie de la moelle osseuse.....	30
Figure 17 : localisation et morphologie du thymus chez l'homme	31
Figure 18 : structure histologique du thymus	32
Figure 19 : structure de la rate.....	34
Figure 20 : Structure de foie.....	35
Figure 21 : vascularisation du foie.....	36
Figure 22 : Structure générale d'un Ganglion Lymphatique	38
Figure 23 : Tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale (GALT)	40
Figure 24 : Mise en route d'une réponse immunitaire	42
Figure 25 : Aspect anatomopathologique de la maladie de Crohn et de la RCUH.....	45
Figure 26 : Représentation des pathologies reprises sous le terme de MICI	49
Figure 25 : Caractéristiques anatomo-pathologiques des MICI.....	51

Figure 28 : Schéma général de la physiopathologie des MICI.....	54
Figure 29 : Evolution du cancer colorectal dans le temps.....	55
Figure 30 : Stades T de la classification TNM 2009. Extension de l'adénocarcinome à travers les tuniques pariétales du côlon.....	56
Figure 31 : Histologie de polypes non-épithéliaux et non-adénomateux.....	59
Figure 32 : Histologie des adénomes.....	61
Figure 33 : Histologie des adénomes de haut grade.....	63
Figure 34: déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro – oxydants.....	66
Figure 35: Schéma des différentes formes de ROS.....	67
Figure 36 : Différentes étapes de la préparation de l'homogénat.....	77
Figure 37 : gavage d'une souris avec l'Homogénat d' <i>Helix aspersa</i>	78
Figure 38 : L'induction de l'inflammation aigue au niveau de colon par l'ACT	
Figure 39 : Un lot de six rats mâles dans une cage.....	79
Figure 40 : Traitement d'un rat par gavage de Nacl 9%.....	80
Figure 41 : Traitement d'un rat par gavage	81
Figure 42 : prélèvement de sang au niveau sinus caverneux.....	81
Figure 43: Différentes étapes de réalisation des frottis sanguins périphériques	82
Figure 44 : Réalisation des frottis sanguins médullaire.....	83
Figure 45 : Fixation au May-Grünwald.....	84
Figure 46 : Coloration au Giemsa.....	85
Figure 47 : dissection et prélèvement des organes	88
Figure 48 : détermination de la concentration de protéines totales par dosages colorimétrique (méthode BRADFORD).....	88
Figure 49 : Courbe etalon du MDA	92
Figure 50 : évolution du poids des rats.....	92
Figure 51 : le taux de la Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase (TGO) des rats.....	94

Liste des tableaux :	pages
Tableau 01 : Données sur la composition d'escargots <i>Helix aspersa</i>	14
Tableau 02 : Composition biochimique de l'escargot <i>H. aspersa</i>	15
Tableau 03 : Classification TNM 2009 du cancer colo-rectal et correspondances cliniques.....	57
Tableau 04 : Différentes formes de polypes festonnés.....	62
Tableau 05 : Classification de Vienne modifiée.....	64
Tableau 06 : les principaux radicaux libre	67
Tableau 07 : poids des rats une semaine avant l'expérience.....	91
Tableau 08 : poids des rats la 1 ^{ère} semaine de l'expérience.....	91
Tableau 09 : poids des rats la 2 ^{ème} semaine de l'expérience.....	91

Liste des abreviations :

A.P.U.D : A.P. = amine précurseur, U. = captent = (uptake), D. = decarboxyl

ALAT : Alanine aminotransférase

APP : Acute Phase Proteins

ASAT : Aspartate amino transférase

BS : Basophile

CA: Colon Ascendant

CC : cancer colorectal

CD: Colon Descendant

CD4-8 : cluster de différenciation 4-8

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : cellules présentatrices d'antigènes

CRP : C-Reactive Protein

CSH : Cellules Souches Hématopoiétiques

CT: Colon Transverse

Cu : cuivre

DL50 : Dose létale

EC : extracellulaire

EDTA : acide éthylène diamine tétra acétique

EO : éosinophile

ERAs : espèce réactif de l'azote

EROs : espèce réactif de l'oxygène

FAE : follicle associated epithelium

FCA : Foyers de Cryptes Aberrantes

Fe : fer

FNS : Formule Numération Sanguine

GALT :

GB : globules blancs

GM-CSF : granulocyte macrophage – colony stimulating factor

GPx : Glutathion peroxydase

GR : globules rouges

GR : reductase

GRA : granulocytes

H.aspersa : Helix aspersa

H° : humidité

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

HB : l'hémoglobine,

HEVs : veinules post-capillaires
HT : l'hématocrite
ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1
IFN- α/γ : interféron- α/γ
IgA : immunoglobuline A
IgM : immunoglobuline M
IL-1,.....18 : interleukine-1,.....18
IS-X : Immunosuppresseur-X
L'IgG : immunoglobuline G
LDL : low density lipoprotein
Le BALT : Branchis Associated Lymphoid Tissue
LM : Lymphocyte
LYM : lymphocytes
M1 : Myélocyte neutrophile
M2 : Métamyélocyte
MAdCAM-1 : mucosal addressin cell adhesion molecule-1
MALT : Mucosa Associated Lymphoid Tissue
MC : la maladie de Crohn
MDA : malondialdéhyde
MGG : May-Grünwald Giemsa
MICI : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin
MII : Maladies Inflammatoires de l'Intestin
MIP-1 : macrophage inhibitory protein 1
Mn : manganèse
MN: Monocytes
MON : monocytes
MPO : la myéloperoxydase
NALT : Associated Lymphoid Tissue
NF-IL6 : Nuclear Factor-IL6
NF-kB : Nuclear facto-Kappa B
O₂ • : Superoxyde anion
OH• : radical hydroxyle
P : Plaquettes
p53 : proteine 53
PALS :
PLA : plaquettes
PNAd : peripheral lymphnode addressin

PNN : Les neutrophiles polymorphonucléaires
PNN: Polynucléaire Neutrophile
PUFA : acides gras polyinsaturés
RCH : la rectocolite hémorragique
RCUH : La recto-colite ulcéro-hémorragique
ROS : Reactive Oxygen Species
SAA : le sérum amyloïde A
SALT : Associated Lymphoid Tissue
SDS : Sodium Dodécyl Sulfate
Se : sélénium
SED : système neuro-endocrinien diffus
SGOT : sérum glutamooxaloacétique transférase
SGPT : sérum glutamopyruvique transférase
SLA : sclérose latérale amyotrophique
SOD : Superoxyde dismutase
T.D : tube digestif
t/min : tours/minute
TBA : Acide thiobarbiturique
TCR : T cell receptor
TGF- β : tumor growth factor- β
TGO : Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase
TGP : Glutamate-Pyruvate-Transaminase
TNF- α/β : tumor necrosis factor- α/β
TNM : tumor node metastasic
VALT : Associated Lymphoid Tissue
VCAM-1 : vascular cell adhesion molecule-1
VGM : volume globulaire moyen
Zn : zinc
 γ GT : Gamma Glutamyl Transpeptidase

Résumé :

Notre travail consiste à explorer les effets anti-inflammatoires et antioxydants de l'homogénat de l'escargot *Helix aspersa* chez des rats soumis à une inflammation colorectale aigüe chimio-induite.

Les rats ont reçu un traitement de l'homogénat par gavage avant et après induction, L'effet de l'homogénat a été évalué sur différents paramètres et marqueurs de l'inflammation (TGO, TGP, γ GT, CRP, protéines totales plasmatiques et tissulaire, FNS, Histologie et le stress oxydant «MDA»)

Les résultats enzymatiques, biochimiques et cytologiques révèlent que l'homogénat a un effet anti-inflammatoire sur l'inflammation aigüe du colon, confirmés par les résultats histologiques qui révèlent une protection de l'épithélium du colon et des tissus des organes lymphoïdes.

On conclut que l'homogénat de l'escargot *Helix aspersa* possède un effet anti-inflammatoire et antioxydant sur l'inflammation intestinale aigüe chimio-induite.

Mots clés : *Helix aspersa*, homogénat, inflammation, histologie, colon, organes lymphoïdes, stress oxydant, chimio-induite.

Abstract :

Our work is to explore the effects anti-inflammatory and antioxidant of the homogenat of the snail *Helix aspersa* in rats subjected to an acute colorectal inflammation chemo-induced.

Rats received the homogenat by force feeding before and after chemical induction of the inflammation, the effect of the slimewas evaluated on various parameters and markers of inflammation (Histology, CBC, CRP, ... etc) and oxidative stress (MDA).

The complete blood count (CBC) and cytological results revealed that the homogenat has an anti-inflammatory effect on the acute colon inflammation, confirmed by the histological results which showed that the homogenat has protected the epithelium of the colon and the tissues of lymphoid organs.

It is concluded that the homogenat of the snail *Helix aspersa* has an anti-inflammatory and antioxidant effect on acute intestinal inflammation chemo-induced.

Key words: *Helix aspersa*, homogenat, Inflammation, Histology, Colon, Lymphoid organs, Oxidative, Chemo-induced.

الملخص :

إن دراسة الحالة الفيزيولوجية و النسيجية للأعضاء الداخلية تبين لنا الحالة العامة للحيوان وخاصة بعد خضوعه لعلاج ما. وعليه قمنا بهذه الدراسة والتي تهدف إلى محاولة إظهار خواص حلزون *Helix aspersa* المضادة للالتهاب والمضادة للأكسدة وهذا باستعمال فئران عولجت بمادة كيميائية تولد التهاب القولون الحاد.

تم علاج هذه الفئران بمستخلص الحلزون عن طريق التغذية الأنبوبية لمدة أسبوع قبل وبعد توليد الالتهاب على مستوى القولون, وعليه تم تقييم تأثير الحلزون باستعمال علامات ومحددات الالتهاب الموجودة في دم وأنسجة الحيوان $FNS, CRP, \gamma GT, TGP, TGO$, مجموع البروتينات في بلازما وأنسجة الحيوان و MDA ...

ولقد أظهرت النتائج البيوكيميائية و الخلوية والنسيجية للحيوانات المستعملة في هذه الدراسة أن مستخلص الحلزون له خاصية مضادة للالتهاب ومضادة للأكسدة وقام اللعاب بحماية أنسجة القولون والأعضاء للمفاوية من الالتهاب .

وفي الأخير خلصنا إلى أن الحلزون *helix aspersa* له خاصية مضادة للالتهاب ومضادة للأكسدة الناجم عن العلاج الكيميائي .

الكلمات المفتاح:

الحلزون, *helix aspersa*, الالتهاب, القولون, الأعضاء للمفاوية, مضاد للالتهاب, مضاد للأكسدة, العلاج الكيميائي

Introduction

Les Gastéropodes sont des Mollusques présentant un corps mou, non segmenté et complètement dépourvu d'appendices articulés, qui se divise en trois parties : la tête, bien différenciée, la masse viscérale et le pied, organe caractéristique de ces gastéropodes. Musculeux et ventral, il sert à la locomotion (reptation, fousissement).

A l'origine, tous les gastéropodes étaient aquatiques, et possédaient une coquille ainsi que des branchies. Au cours de l'évolution, une partie des gastéropodes ont perdu certaines de ces caractéristiques. A ce titre, limaces et escargots au sens large font partie des gastéropodes terrestres: ils sont pulmonés et mènent une vie exclusivement terrestre. (1)

L'escargot, est un mollusque gastéropode pulmoné du genre Hélix, il l'est utilisé en médecine, domaine dans lequel on n'a cessé depuis l'Antiquité de lui attribuer de multiples propriétés.

C'est alors principalement l'*Helix pomatia* (escargot de Bourgogne) qui est utilisé, mais également l'*Helix aspersa* ou encore l'escargot de mer : *Helix maritima*.

En effet, avec le temps la diversité d'emploi des escargots en thérapeutique a pris de l'ampleur : dès l'Antiquité, de multiples utilisations des escargots à des fins thérapeutiques ont vu le jour, des personnages de l'Antiquité font état de l'utilisation de l'escargot :

Hippocrate recommande le mucus de limaçon contre la protocèle.

Celse considère l'escargot cru et pilé avec sa coquille comme cicatrisant ; bouilli il aurait des propriétés émollientes.

Durant le Moyen-âge, L'abbesse **bénédictine Hildegarde de Bingen**, estime, dans son livre des subtilités des créatures divines (XIIe siècle), que la nature froide de l'escargot lui permet d'enrayer le feu de l'infection. Plus tard, en 1738, la Pharmacopée universelle de **Lemery** nous donne la façon de préparer l'eau de limaçons.

Le XIXe siècle réhabilite totalement l'escargot pour lui accorder une place importante en thérapeutique et débute, en 1808, avec les travaux de **Georges Tarenne** sur l'emploi de cet animal contre la hernie, ayant constaté que le "suc d'escargot" se fixe de façon particulièrement tenace sur les textiles, **Tarenne** a pensé qu'il pénétrerait facilement la peau et se répandrait ainsi dans toute la partie malade.

En 1840, **O. Figuier** publie un Mémoire sur la composition chimique des escargots et sur les préparations pharmaceutiques dont ils sont la base.

Dans son Mémoire sur les préparations à base d'hélicine admises à l'exposition universelle de 1855, **Baron-Barthélémy** parle de l'hélicine, Il cite également les nombreuses indications des préparations hélicées : employées contre la plupart des phlegmasies, contre les rhumes et les toux opiniâtres, les bronchites, les catarrhes, les asthmes, les diverses hémoptysies, les inflammations des amygdales, angines, enrouements et la grippe.

Les travaux de ce siècle sont approuvés par des médecins utilisant ces préparations.

Ainsi le **Dr Chrestien de Montpellier** explique à propos de la pâte et du sirop d'escargot de la Maison Mure : "Depuis 50 ans que j'exerce la médecine, je n'ai pas trouvé de remède plus efficace que les escargots contre les irritations de poitrine".

Les travaux du XXe siècle vont réellement confirmer les propriétés thérapeutiques de l'escargot. Mais ce siècle est avant tout marqué par les travaux de *Quevauviller*, en 1953, qui expose la composition chimique des Hélix : plus de trente enzymes dans le suc digestif, de nombreuses enzymes dans l'hépatopancréas, le muscle et l'hémolymphe.

Il met en évidence les activités pharmacologiques du mucus : une activité mucolytique *in vitro*, une action inhibitrice sur les cultures de bacilles coquelucheux de Brolet et Gaugon et une activité spasmolytique sur les voies respiratoires. Les travaux de Quevauviller et de son équipe aboutissent en 1957 à la mise sur le marché de l'Hélicidine, sirop anti-tussif employé chez l'adulte et l'enfant comme chez le nourrisson.

Plus tard, en 1999, Pons et al. Montrent que l'effet bronchorelaxant de l'hélicidine fait intervenir une libération de prostaglandine E2. (2)

L'objectif de notre travail est d'évaluer les effets et l'impact d'une alimentation à base d'homogénat d'*Helix aspersa* sur l'inflammation colique chimio-induite chez le rat Wistar. Dans une première partie bibliographique nous évoquerons la biologie-physiologie d'*Helix aspersa*, l'histologie du tube digestif et des organes lymphoïdes, l'immunité des muqueuses, ainsi que les pathologies inflammatoires intestinales.

Dans une deuxième partie expérimentale, nous testerons *in vivo* et sur 30 rats les effets et l'impact de l'homogénat sur l'inflammation intestinale chimio- induite et qui sera comparée à une substance connue pour ses effets potentiels anti-inflammatoires au niveau du colon chez l'homme.

Partie
Bibliographique

Partie
Bibliographique

Chapitre I

Chapitre II

Le système digestif

2.1. Organisation générale du tube digestif :

Le tube digestif est un tube creux ouvert aux deux extrémités et dont la lumière est en contact direct avec l'environnement extérieur. Le tube digestif comprend la cavité buccale, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon), le côlon (ascendant, transverse et sigmoïde), le rectum et l'anus. La structure du tube digestif varie sur toute sa longueur selon les fonctions particulières de chaque région. Cependant, il existe de nombreux points communs dans l'organisation générale des tissus. La paroi de l'intestin est composée de plusieurs tuniques circulaires. De l'extérieur vers la lumière intestinale, on distingue la séreuse, la musculuse externe, la sous-muqueuse, la musculaire muqueuse et la muqueuse en contact direct avec le contenu intestinal. (L.LENOIR, 2011)

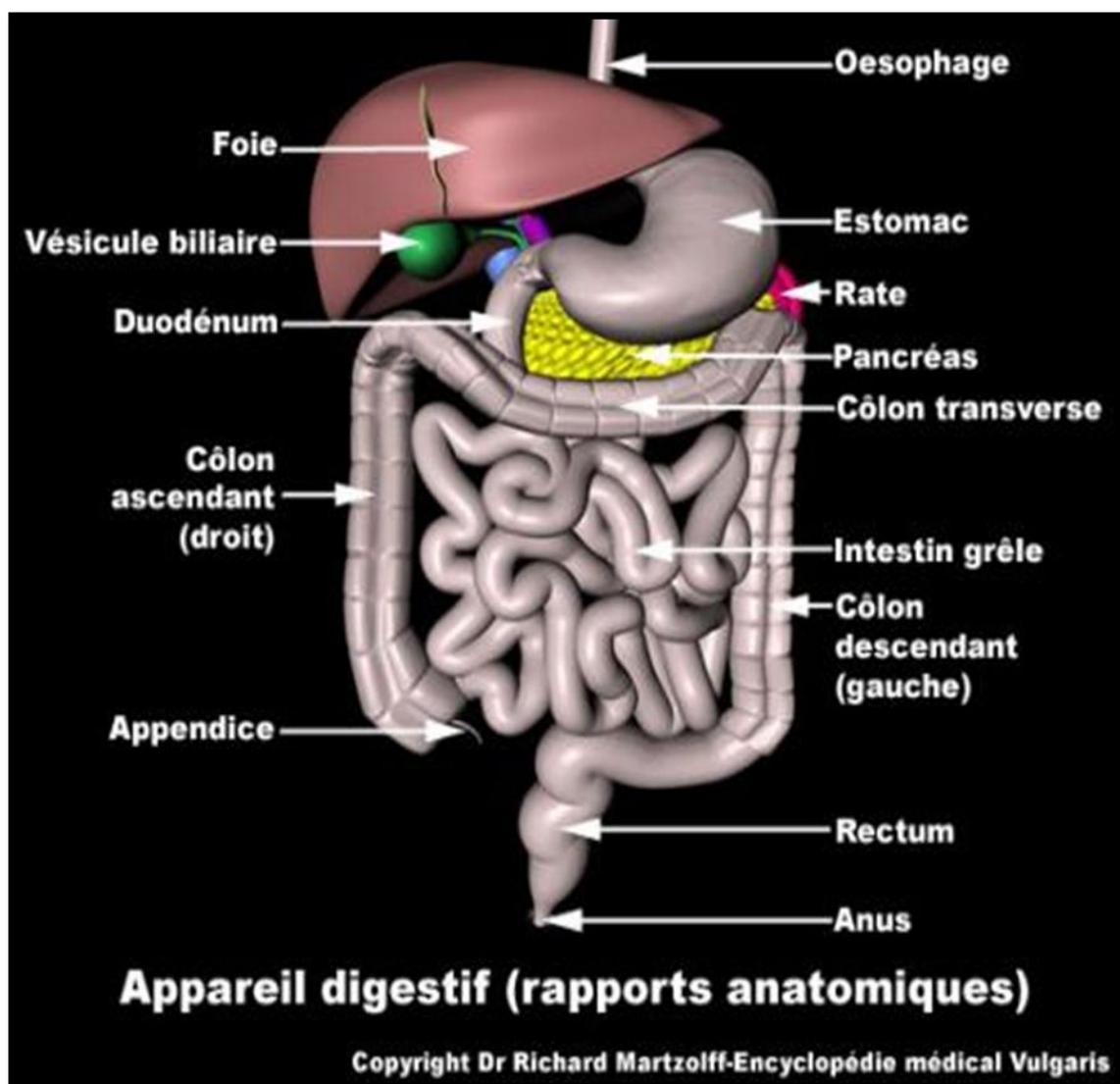


Fig 06 : Organisation générale de tube digestif.

2.2. Histologie de tube digestif :

Sur le plan histologique, le tube digestif est constitué de 5 tuniques concentriques, plus ou moins bien individualisées selon les segments considérés, qui sont à partir de la lumière: la muqueuse, la musculaire muqueuse, la sous-muqueuse, la musculeuse, et une tunique conjonctive externe qui est soit un adventice, soit une séreuse.

-La muqueuse :

Comporte un épithélium de revêtement sur une lame basale, et un tissu conjonctif sous-jacent, le chorion. Le chorion contient du tissu lymphoïde diffus et des follicules lymphoïdes. Il peut renfermer dans certaines localisations des glandes. Il est riche en vaisseaux ayant un rôle nutritif pour ces glandes, ou bien un rôle de récupération des nutriments liés à la fonction d'absorption

-La musculaire-muqueuse :

Est constituée d'une mince couche de tissu musculaire lisse, comprenant 2 feuillets (longitudinale externe et circulaire interne) difficile à distinguer ; elle est absente aux extrémités du tube (1/3 supérieur de l'œsophage et canal anal). On peut y distinguer 2 feuillets: un longitudinal externe, et une circulaire interne.

-La sous-muqueuse :

Est constituée de tissu conjonctif et contient le plexus nerveux de Meissner (ou « plexus sous-muqueux de Meissner ») ainsi que des vaisseaux sanguins et lymphatiques pour la muqueuse.

-La musculeuse :

À une disposition générale en 2 couches de fibres musculaires lisses : circulaire interne et longitudinale externe. Entre ces deux couches, se situe le plexus nerveux d'Auerbach (ou « plexus myentérique d'Auerbach »).

-La tunique externe :

Est soit une adventice, soit une séreuse. Aux extrémités du tube digestif, la tunique externe est constituée par tissu conjonctif lâche qui la rend solidaire aux organes voisins ; on lui donne le nom d'adventice. Entre ces deux extrémités, la tunique externe comporte un tissu conjonctif tapissé sur son versant externe par un épithélium simple (mésothélium), constituant ainsi le feuillet viscéral de la séreuse péritonéale. On lui donne le nom de séreuse. En fonction des localisations, on constatera des particularités histologiques propres à chaque étage du tube digestif.

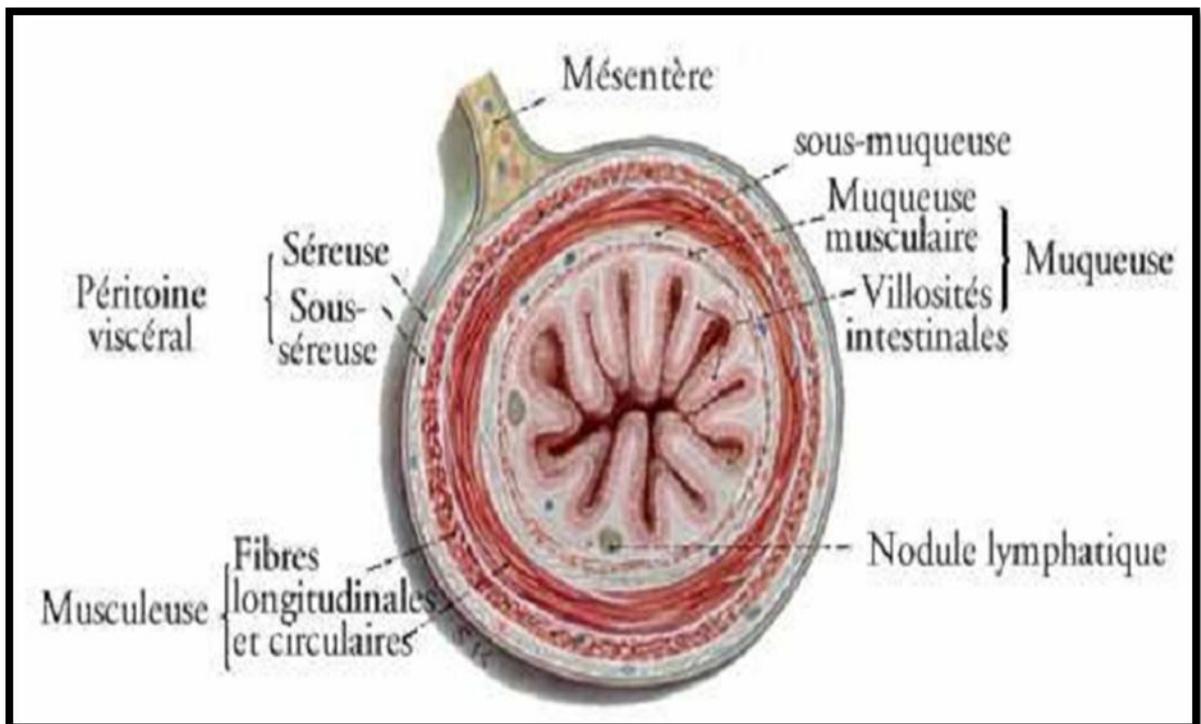
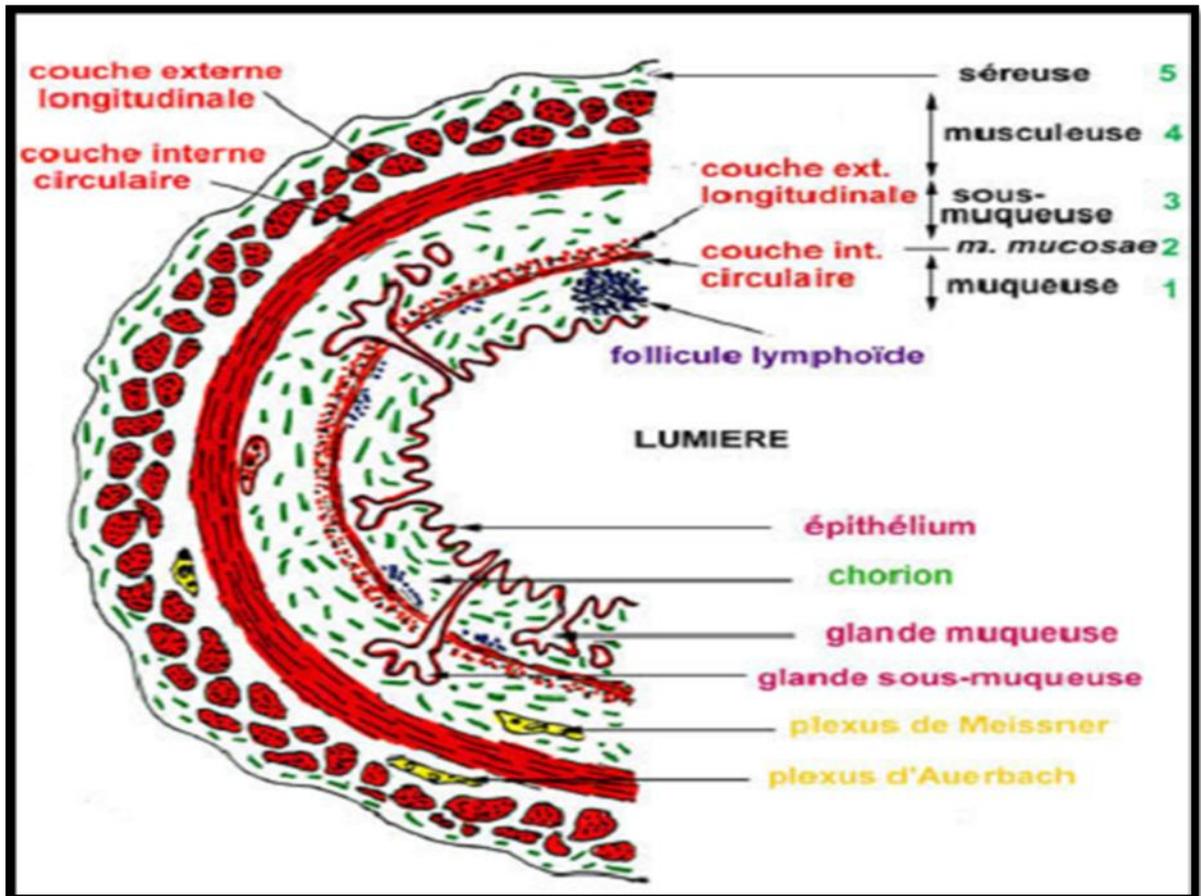


Fig 07 : Organisation générale de la paroi du tube digestif (F.Pellestor)

2.3. L'intestin grêle :

On peut le diviser en deux parties : - une partie fixe : le duodénum

- une partie mobile : le jéjuno-iléon.

En histologie, le duodénum s'étend du pylore à l'ampoule de Vater (milieu de la deuxième portion du duodénum des anatomistes). Le jéjuno-iléon va de l'ampoule de Vater au caecum. L'intestin grêle joue un rôle prépondérant dans la dégradation enzymatique des aliments et dans l'absorption des produits de la digestion.

En effet, l'intestin grêle se caractérise par l'apparition de dispositifs permettant l'augmentation de la surface d'échange entre la lumière intestinale et la surface de l'épithélium de revêtement. Cette surface est estimée à 200 m². Ce dispositif est d'abord :

- anatomique, par la constitution d'anses intestinales, de 6 à 7 m de long
- puis visible macroscopiquement après ouverture longitudinale de la paroi intestinale, les valvules conniventes de l'ordre du cm, sous forme de replis circulaires ou semi-circulaires de la sous-muqueuse. Les valvules conniventes sont des replis transversaux qui sont seulement visible en coupe longitudinale. Elles disparaissent dans la moitié distale de l'iléon.

-La muqueuse: On y distingue deux couches : - la couche des villosités

- la couche des glandes.

➤ Les villosités :

Ce sont des évaginations de la muqueuse en forme de doigts de 1 mm de hauteur. Elles sont tapissées par un épithélium de revêtement cylindrique simple, reposant sur une membrane basale, et dans lequel on peut distinguer 4 types cellulaires :

✓ **Les entérocytes :**

Elles sont plus nombreuses, ce sont des Cellules cylindriques de 25 microns de haut. Des microvillosités apicales régulières (1 à 2 microns / 0,1 micron), au nombre de 3000/cellule, constituent le plateau strié. L'axe des microvillosités est occupé par des microfilaments d'actine ancrés sur un réseau de microfilaments soulignant l'ensemble des microvillosités, et appelé "terminal web".

✓ **Les cellules caliciformes :**

Cellules à mucus, dites à pôle muqueux ouvert, elles sont moins nombreuses que les entérocytes, et généralement isolées parmi les entérocytes. En forme de calice évasé vers le haut, les 2/3 apicaux sont occupés par des grains de mucus. Le noyau triangulaire est refoulé au pôle basal.

✓ **Les cellules "M" (microfold cells) :**

Il s'agit de cellules présentatrices d'antigènes, captant les antigènes dans la lumière du T.D. et les transmettant aux cellules immunocompétentes (les macrophages et les lymphocytes) qui se situées dans des replis cytoplasmiques. Elles ont un noyau basal et de nombreuses vésicules.

✓ **Les cellules endocrines :**

Elles sont dispersées tout le long du T.D. mais aussi dans les glandes annexes et les canaux excréteurs. Elles appartiennent à un système plus vaste : “ le système neuro-endocrinien diffus” (SED). Ces cellules se retrouvent au niveau de nombreux organes : bronches, appareil urinaire, trompes et muqueuse utérine, système nerveux. Une quarantaine de types cellulaires ont été identifiés. Cette complexité n'est qu'apparente. En effet, elles ont toutes un caractère commun qui est la capacité de fixer et de décarboxyler les précurseurs des amines biogènes (qui sont des acides aminés : le tryptophane, l'histidine, la tyrosine et la phenylalanine) et de former respectivement de la sérotonine, de l'histamine, de la dopamine et de la noradrénaline. Ces cellules sont donc regroupées sous le terme de système “ A.P.U.D.” (A.P. = amine précurseur, U. = captent = (uptake), D. = decarboxyl)

➤ **Chorion des villosités :**

C'est un tissu conjonctif lâche renfermant des artérioles, des capillaires sanguins, des veinules, des fibres nerveuses, on observe un vaisseau lymphatique, le chylifère central, qui se draine dans le plexus lymphatique sous-muqueux, après avoir traversé la musculaire muqueuse. Ce chorion renferme aussi des macrophages, des polynucléaires, des plasmocytes et de nombreux lymphocytes en plus des fibroblastes et fibrocytes.

➤ **Les glandes de Lieberkühn :**

Ce sont des glandes tubuleuses simples qui s'ouvrent à la base des villosités : une vingtaine de glandes débouchent autour d'une villosité. L'épithélium des glandes est constitué de cinq types cellulaires disposés en couche unique et reposant sur une lame basale entourée de chorion.

➤ **Cellules indifférenciées (ou intermédiaires):**

A la jonction de la villosité-épithélium glandulaire. Interviennent dans le renouvellement de l'épithélium (F.Pellestor)

➤ **Cryptes aberrantes et Foyers de Cryptes Aberrantes (FCA) :**

Les microadénomes ou FCA sont des foyers de cryptes aberrantes (ils sont constitués de plusieurs cryptes aberrantes, leur nombre pouvant aller jusqu'à jusqu'à 20). Les FCA ont été observés préférentiellement dans les portions distales du côlon. Ils sont Très rares chez les sujets sains, les FCA sont recensés en plus grand nombre chez les sujets cancéreux.

Description et caractéristiques des cryptes aberrantes et FCA : (Bird et al. 1989)

Par rapport aux cryptes normales, les cryptes aberrantes apparaissent sous le microscope:

- plus grosses
- surélevées
- à "lumière" en forme de fente (ronde pour les normales)
- colorées plus intensément au bleu de méthylène
- à zone péri-cryptale augmentée (Eric et al)

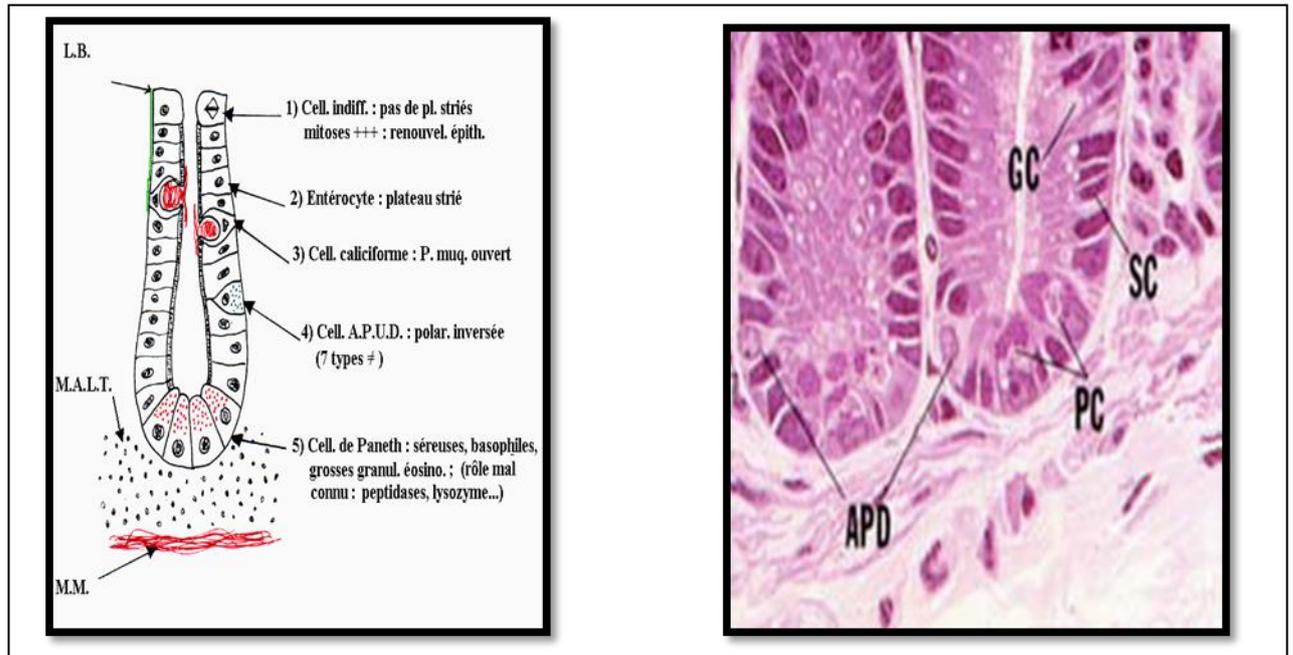


Fig 08 : glandes de Lieberkühn (F.Pellestor)

- La musculaire muqueuse :

Deux couches de fibres musculaires lisses: circulaire interne et longitudinale externe. Elles donnent des émergences vers le sommet des villosités et forment le muscle de "Brücke" qui joue un rôle dans l'absorption.

-La sous-muqueuse (permet de distinguer le duodénum du jéjuno-iléon) :

C'est un tissu conjonctif lâche. Au niveau du duodénum, elle est envahie par les glandes de Brunner qui sont des glandes muqueuses en tubes ramifiés. Elles sécrètent un mucus alcalin neutralisant l'acidité du chyme stomacal. Les glandes de Brunner se jettent au fond des glandes de Lieberkühn. Pour cela, elles dissocient la musculaire muqueuse du duodénum. On les rencontre jusque dans la partie profonde de la muqueuse duodénale.

Dans le duodénum, Il n'existe pas de valvules conniventes dans le duodénum. Au niveau du jéjuno-iléon, la sous-muqueuse constitue l'axe des valvules conniventes. Elle est dépourvue de glandes de Brunner.

-La musculuse :

Deux plans de fibres musculaire lisses: circulaires internes paisse et longitudinales externes. Entre ces couches, se trouve le plexus d'Auerbach.

- La séreuse :

Correspond au feuillet viscéral du péritoine. Au niveau du duodénum, pas de séreuse mais une adventice. (F. Pellestor)

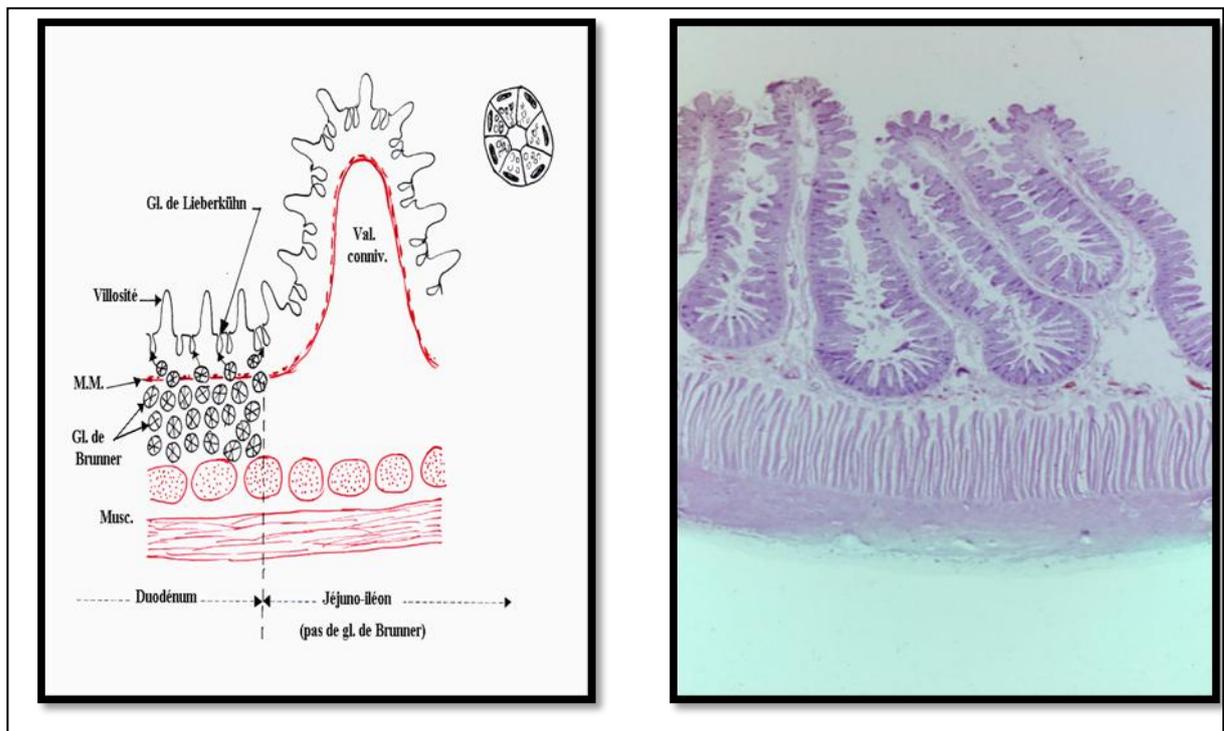


Fig 09 : Schéma général de la paroi de l'intestin grêle (F.Pellestor)

2.4. Renouvellement de l'épithélium intestinal:

La durée de vie des entérocytes et des cellules caliciforme est de 5 jours. L'élimination des cellules se fait par desquamation apicale. Le renouvellement résulte de la multiplication et de la différenciation des cellules souches situées au départ des glandes de Lieberkühn. Les cellules indifférenciées des glandes de Lieberkühn renouvellent aussi les autres types cellulaires.

2.5. Le colon et le rectum :

A cet étage du tube digestif, on observera des caractéristiques histologiques spécifiques notables au niveau de 2 des 5 tuniques constitutives du tube : la muqueuse et la musculuse. Le colon et le rectum ont pratiquement la même structure histologique. Plus large que l'intestin grêle (entre 3 et 7 cm de diamètre), cette partie du tube digestif est comprise entre le caecum et le canal anal. Elle comprend: le colon ascendant, le colon transverse, le descendant, suivi par le sigmoïde, prolongé par le rectum.

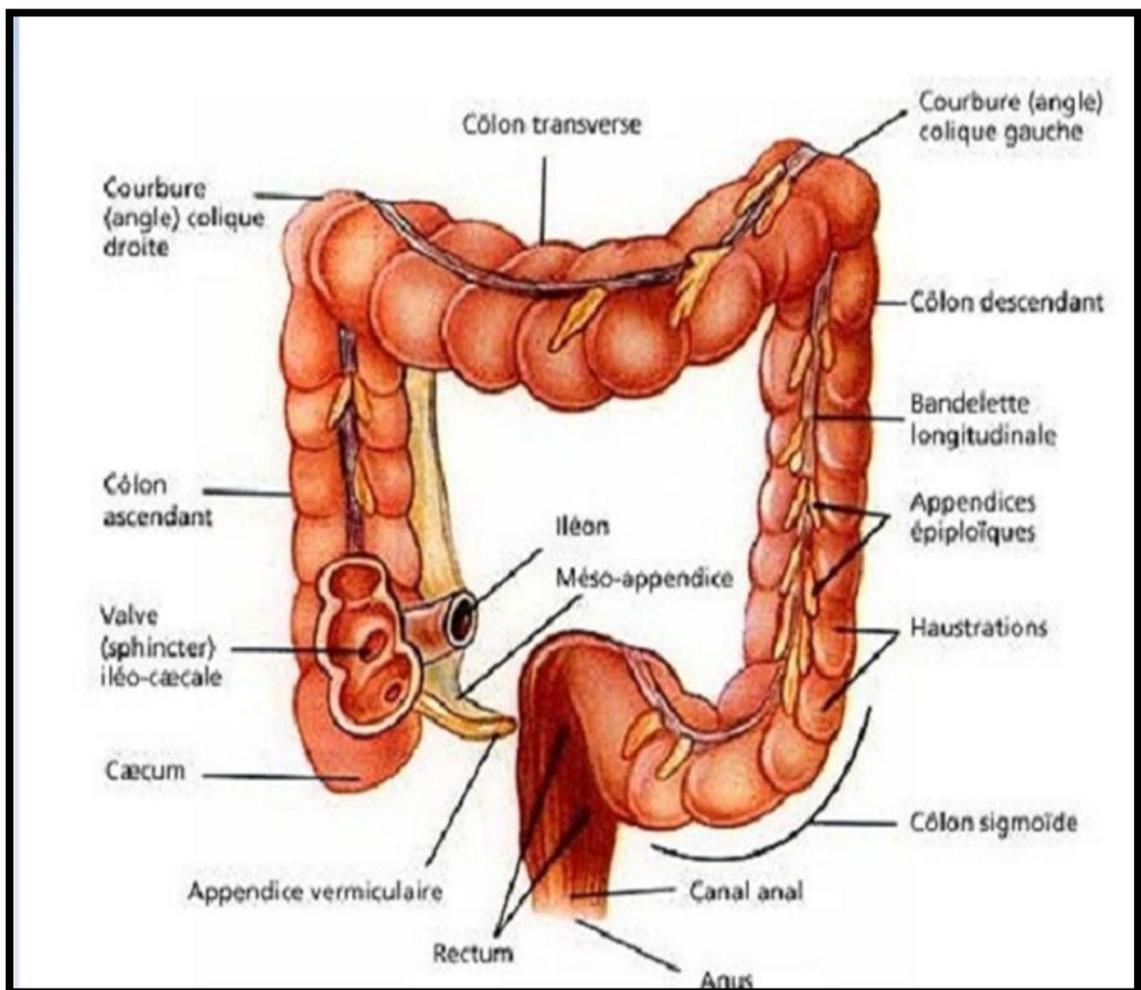


Fig 10 : Vue antérieure du gros intestin (F.Pellestor)

2.5.1. Histologie générale en coupe transversale :

Le gros intestin se distingue de l'intestin grêle par la disparition des dispositifs d'amplification de surface. Ainsi: l'absence de valvules conniventes et l'absence de villosités : la muqueuse est lisse, elle se limite à la couche des glandes de Lieberkuhn.

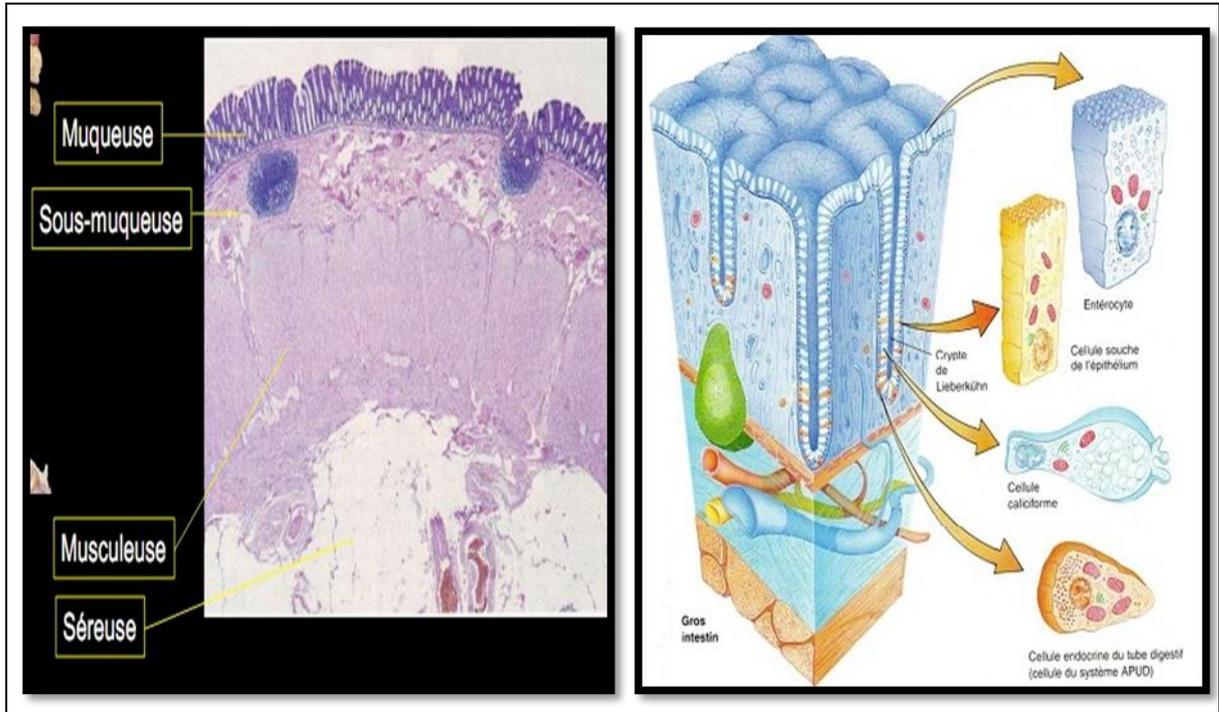


Fig 11 : histologie du colon (F.Pellestor)

-La muqueuse:

Elle est constituée par un épithélium de type intestinal avec de nombreuses cellules caliciformes, qui sont d'autant plus nombreuses que l'on se rapproche du rectum. Les glandes de Lieberkühn y sont plus longues que dans l'intestin grêle. Elles comportent 4 types cellulaires:

- des entérocytes (quelques)
- des cellules indifférenciées (partie supérieure de la glande)
- des cellules caliciformes (aspect caractéristique en "marguerite" en coupe transversale)
- quelques rares cellules APUD (SED)

Il n'y a pas de cellules de Paneth Le chorion est riche en tissu lymphoïde.

Cette couche lymphoïde forme quelques fois des follicules clos pouvant déborder dans la sous-muqueuse. Ces follicules ne sont jamais regroupés en plaques de Peyer.

-La sous-muqueuse :

Elle est classique. Sans particularité, si ce n'est qu'elle peut être effondrée par les nodules lymphoïdes.

-La musculuse:

Elle est formée par une couche circulaire interne épaisse avec de nombreux renforcements circulaires (aspect particulier de la surface : sorte de bosselures = "les haustrations). La couche longitudinale est réduite; elle présente 3 renforcements : les bandelettes coecocoliques, formant le Taenia coli (cette couche longitudinale est continue au niveau du rectum).

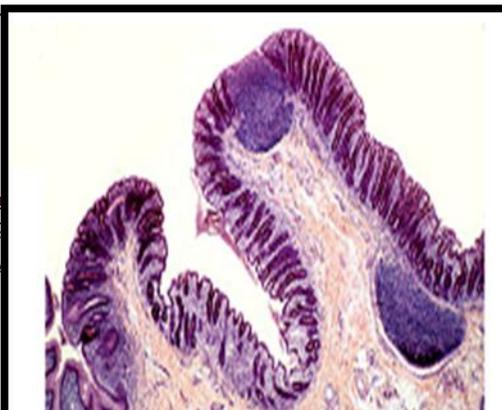
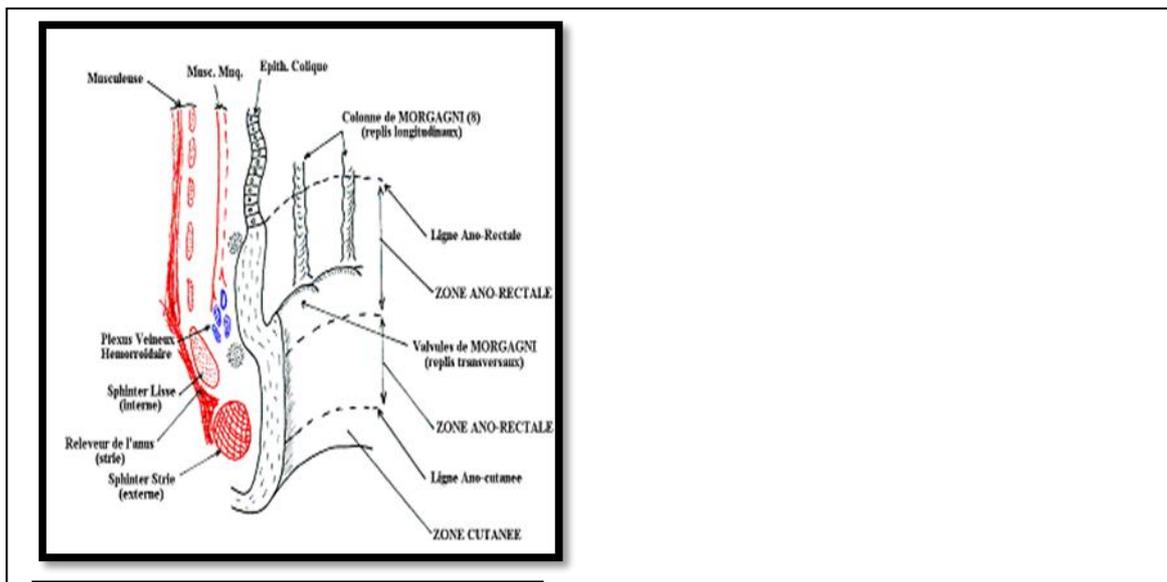
-La séreuse:

Sans particularités. Tissu adipeux abondant. Quelques formations adipeuses (les appendices épiploïdes).

2.5.1.1. Le canal anal :

Partie terminale du T.D., situé entre le rectum et le revêtement cutané superficiel. C'est une région de 2 à 3 cm de longueur. L'épithélium est d'origine épiblastique. Le canal anal est compris entre deux limites :

- en haut : la ligne ano-rectale, marquée par le passage brutal de l'épithélium colique à l'épithélium du canal anal (épidermoïde, malpighien, non kératinisé).
- en bas : la ligne ano-cutanée, (moins bien délimitée) à partir de laquelle on retrouve les éléments caractéristiques de la peau : follicules pileux, glandes sudoripares, sébacée.



Canal anal (F.Pellestor)

On peut distinguer 2 zones:

➤ **La zone ano-rectale :**

L'épithélium est de type épidermoïde non kératinisé. Le chorion papillaire contient de nombreuses veines disposées en plexus : "les veines hémorroïdaires", plus quelques formations lymphoïdes. La musculaire muqueuse se termine dans cette zone entre les plexus veineux. Ses faisceaux résiduels forment des soulèvements, des replis verticaux: les valvules ou colonnes rectales de Morgagni. La musculature comprend une couche circulaire interne qui s'épaissit pour former le sphincter lisse. La couche longitudinale vient se fixer sur un muscle strié : le releveur de l'anus.

➤ **La zone ano-cutanée :**

L'épithélium est lisse, pavimenteux, stratifié, kératinisé mais dépourvu de follicules pileux. La musculaire muqueuse est absente. La sous-muqueuse n'est plus individualisée. La musculature n'existe plus en tant que tel, mais on trouve dans le tissu conjonctif une formation musculaire : le sphincter externe ou sphincter strié.

Au delà: La zone cutanée : on retrouve les caractéristiques habituelles du revêtement cutané (pigmentation, kératinisation, annexes pilo-sébacées).

2.5.1.2. L'appendice :

C'est un diverticule du caecum, transformé en un véritable organe lymphoïde : il mesure 6 ou 7 cm de long.

-La muqueuse:

De type colique, les glandes sont irrégulières. On y trouve quelques rares cellules de Paneth et du "GALT". Les cellules APUD sont nombreuses (70% des tumeurs carcinoïdes siègent sur l'appendice).

-La musculaire muqueuse:

Elle est discontinue et interrompue par les formations lymphoïdes. Les follicules très volumineux font saillie dans la sous-muqueuse.

-La sous-muqueuse:

La sous-muqueuse est infiltrée de lymphocytes, mais aussi de plasmocytes, de polynucléaires et de macrophages.

-La musculuse:

Elle est peu développée. On reconnaît 2 couches et quelques éléments nerveux non organisés en plexus.

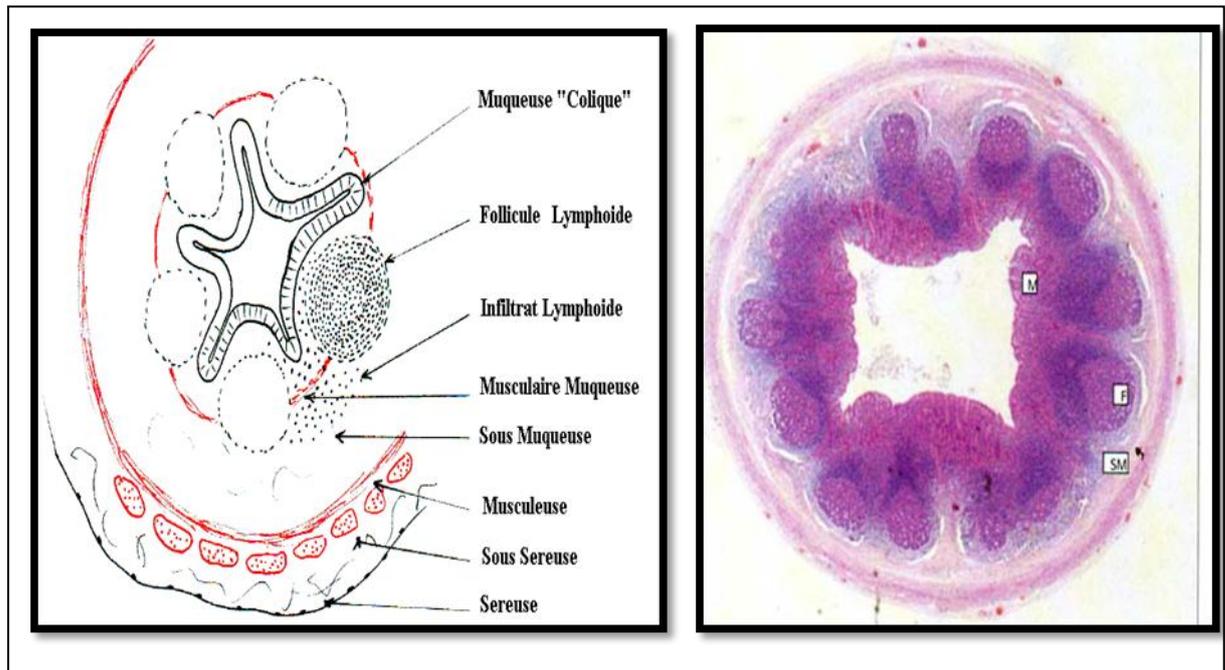


Fig 13 : Structure histologique de l'appendice(F.Pellestor)

2.5.2. Fonction de colon :

Le colon assure plusieurs fonctions :

- ✓ La transformation du bol intestinal. Au niveau du colon, les résidus liquides de l'intestin grêle sont transformés en matières solides non digestibles appelés fécès. Cette transformation fait intervenir la réabsorption d'eau et de sels solubles par des entérocytes dépourvus d'activités enzymatiques digestives, le stockage et le brassage du bol fécal par la contraction de la musculuse, et la propulsion vers le rectum par des péristaltiques non permanentes.
- ✓ Il permet la fermentation et la digestion de certains composés par la flore microbienne, en particulier la cellulose (+ absorption de certaines vitamines). On distingue la flore microbienne de fermentation et la flore microbienne de putréfaction.
- ✓ Il permet la progression et l'évacuation du bol fécal grâce à une importante sécrétion de mucus (cellules caliciformes +++). (F.Pellestor)

Introduction :

L'*Helix aspersa* est une espèce bien connue d'un escargot, dont la propagation peut être due à son utilisation comme produit alimentaire. C'est une espèce dominante développée dans des fermes d'escargot dans toute l'Europe.

Il est indigène dans la région méditerranéenne comprenant l'Afrique du Nord et probablement dans les régions côtières atlantiques du Portugal aux îles néerlandaises et britanniques. (Sandrine et al)



Fig 01: Helix Aspersa (Petit Gris)

1.1. Classification de l'*helix aspersa* :

L'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa*) appartient à l'embranchement des Mollusques, animaux à corps mou et dépourvus de squelette. Sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certains de ses organes : il fait partie de la classe des Gastéropodes. Il possède un poumon (ou cavité palléale) ce qui le situe dans la sous classe des Pulmonés. Il appartient au sous-ordre des Stylommatophores caractérisés par le port des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. La forme de sa coquille enroulée caractérise la super famille des Helicacea .Il appartient à la famille des Hélicidés. (Sandrine et al)

Classification de l'Helix aspersa : (3)**Règne :** Animalia**Sous règne :** Metazoa**Embranchement :** Mollusca**Classe :** gasteropoda (cuvier, 1797)**Sous classe :** Pulmoné**Sous ordre :** stylommatophores**Super famille :** Helicacea**Famille :** Helicidé**Genre :** Helix (Linnaeus , 1758)**Genre et espèce :** Helix aspersa, (Muller, 1774)**1.2. Morphologie externe :**

L'escargot *Helix aspersa* possède une coquille spiralée pouvant contenir tout son corps. Lorsqu'il est en extension, seul le pied apparaît, la masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columellaire.

1.2.1. La coquille :

Elle s'enroule autour d'un axe central appelé columelle, dans le sens des aiguilles d'une montre : enroulement dextre. Elle est composée :

- d'une partie organique : trame protéique, représentant 1 à 2% de la coquille.
- d'une partie minérale : carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite, représentant 98% de la coquille. La coquille est sécrétée par le bord du manteau. A la fin de la croissance, le bord de la coquille se retourne et se durcit, l'escargot est dit bordé.

1.2.2. Le corps :

Il comprend une partie renfermée dans la coquille et une partie visible chez l'animal en extension. Cette dernière est une masse musculaire dont la fonction est essentiellement locomotrice : le pied. La partie antérieure du pied, appelée tête comprend une bouche, deux tentacules oculaires (postérieures, les plus grandes), deux tentacules tactiles (antérieures, les plus petites), un orifice génital sur le côté droit. La bouche est entourée de quatre lèvres et est pourvue d'une « mâchoire » supérieure cornée. La partie contenue dans la coquille s'appelle le tortillon. Il s'agit d'une masse viscérale. En région antérieure se trouve le manteau, fin et transparent, il constitue la cavité palléale, dont le plafond richement vascularisé correspond au poumon.

La partie du manteau en contact avec le péristome forme un renflement : le bourrelet palléal. Sur le bord inférieur droit de ce bourrelet, s'ouvrent l'anus, l'orifice excréteur et le pneumostome (orifice respiratoire). En arrière se trouve un rein jaunâtre (organe de Bojanus) et un cœur. Sur la partie postérieure du tortillon se trouve un organe plus sombre brun verdâtre ayant un rôle comparable à celui du foie des vertébrés : l'hépatopancréas. Sur ce dernier, se trouve une zone blanchâtre : la glande de l'albumen. (Sandrine et al)

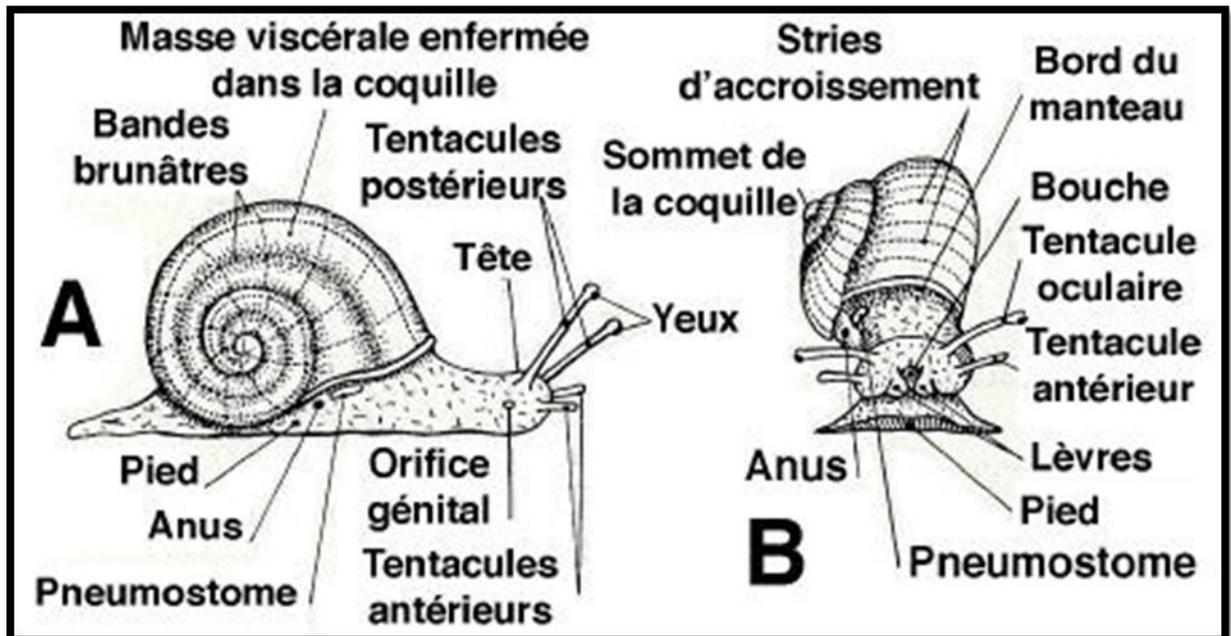


Fig 02 : escargot en extension (4)

1.3. Biologie et physiologie d'*Helix aspersa* :

1.3.1. L'appareil digestif :

En raison de la torsion à 180° du corps de l'escargot, le tube digestif forme une boucle ramenant l'anus vers l'avant. La bouche se prolonge par un bulbe buccal à l'intérieur duquel se trouve une langue musculaire recouverte d'une lame cornée : la radula, son rôle est de broyer les aliments. Dans la partie postérieure du bulbe buccal on trouve deux glandes salivaires. Ce bulbe se prolonge par un œsophage qui se renfle en un estomac, lui-même prolongé par un intestin formant une double circonvolution autour de l'hépatopancréas et aboutissant à l'anus.

1.3.2. Système nerveux :

Le système nerveux sympathique est constitué par une paire de ganglions buccaux situés sous le bulbe buccal. Ils sont reliés par deux cordons nerveux aux ganglions cérébroïdes et innervent la plus grande partie du tube digestif. Le système nerveux central est situé dans la région céphalique. Il est formé d'une chaîne de ganglions formant un double collier péri œsophagien complexe.

1.3.3. Appareil circulatoire et respiratoire :

Le cœur est constitué d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur. Le sang ou hémolymphe contient un pigment, l'hémocyanine. Il est incolore sous sa forme désoxydée et bleu sous sa forme oxydée. Le sang est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. L'aorte antérieure irrigue le pied et la postérieure le tortillon. Le sang revient au cœur par un système de veines et de sinus veineux.

Le poumon est une poche formée de l'épithélium palléal, irrigué par les vaisseaux pulmonaires, l'air y circule au travers du pneumostome par des mouvements de contraction de son ouverture.

1.3.4. Appareil génital :

L'escargot est hermaphrodite. Cette particularité explique la complexité de l'appareil, formé d'organes à la fois mâles et femelles et d'organes uniquement mâles ou femelles. Il comprend

- une gonade, ou ovotestis, où se forment ovules et spermatozoïdes située à l'extrémité postérieure de l'hépatopancréas.
- un canal hermaphrodite servant à l'évacuation des gamètes.
- une glande de l'albumine qui élabore les réserves vitellines
- un ovospermiducte Puis l'appareil se divise en deux voies :
- la voie mâle comprenant un spermiducte où les spermatozoïdes s'accumulent en un spermatophore ainsi qu'un organe copulateur, le pénis.
- la voie femelle comprend la poche qui sécrète le dard calcaire lors de l'accouplement, le vagin et l'orifice génital. (Sandrine et al)

- 1 : coquille ;
- 2 : foie ;
- 3 : poumon ;
- 4 : anus ;
- 5 : pore respiratoire ;
- 6 : œil ;
- 7 : tentacule ;
- 8 : cerveau ;
- 9 : conduit salivaire ;
- 10 : bouche ;
- 11 : panse ;
- 12 : glande salivaire ;
- 13 : orifice génital ;
- 14 : pénis ;
- 15 : vagin ;
- 16 : glande muqueuse ;
- 17 : oviducte ;
- 18 : sac de dards ;
- 19 : pied ;
- 20 : estomac ;
- 21 : rein ;
- 22 : manteau ;
- 23 : cœur ;
- 24 : canal déférent.

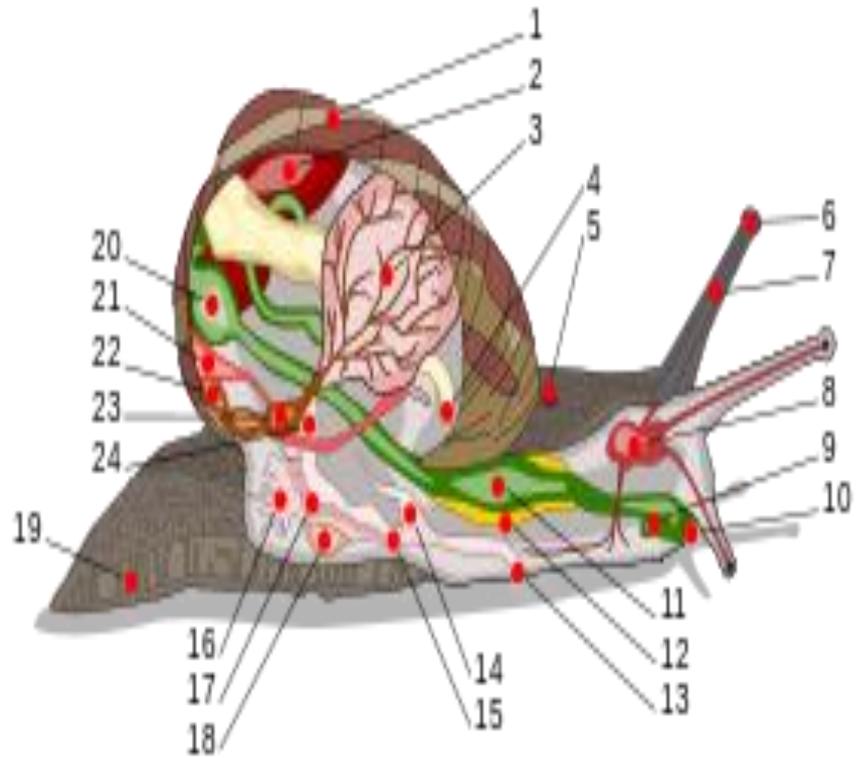


Fig 03 : Anatomie interne de l'escargot Helix aspersa

1.4. La reproduction :

L'escargot est un animal hermaphrodite, c'est à dire mâle et femelle à la fois. Toute fois, pour reproduire, l'accouplement est obligatoire, l'autofécondation n'étant pas possible. (Les escargots sont en phase mâles lorsqu'ils s'accouplent). Le climat, la température ont une grande importance sur l'âge de maturité sexuelle de l'escargot.

L'accouplement peut durer plusieurs heures (10 à 12 heures). La ponte aura lieu 15 à 30 jours après l'accouplement.

Pour pondre l'escargot creuse un nid dans la terre de 4 à 5 cm de profondeur. La durée de la ponte est comprise entre 12 et 48 heures, elle aboutit à la mise de 80 à 140 œufs pour le petit-gris, parfois plus pour le gros-gris et de 30 à 60 œufs pour le bourgogne. Dans la nature l'*Helix Aspersa* peut pondre de 50 à 200 œufs.

La durée de l'incubation et de l'éclosion est comprise entre 15 et 30 jours, suivant les conditions climatiques, les jeunes vont rester 2 à 5 jours avant de sortir à la surface pour se nourrir. Leur poids est de 0,02 à 0,04 g. En élevage, les modalités de la reproduction sont identiques. L'éleveur va jouer sur les conditions de température, d'éclairage et d'humidité de façon à créer artificiellement les conditions qui règnent dans la nature au printemps. Le contrôle rigoureux des paramètres d'ambiance va accélérer un peu le processus à tous les niveaux. Par ailleurs, en élevage on ne garde les reproducteurs que pour la période de ponte, soit 8 à 10 semaines. Cette manière d'agir correspond à l'étalement des pontes au cours d'une saison de reproduction : peu de ponte au début, un pic après 4 à 6 semaines, et un déclin jusqu'à 8-10 semaines. Au cours de cette période les escargots peuvent pondre plusieurs fois.



Fig 04 : accouplement de Helix aspersa.

1.5. Les rythmes de vie de l'escargot :

L'escargot possède deux rythmes d'activité l'un journalier et l'autre saisonnier

1.5.1. L'activité journalière:

Elle est en relation étroite avec la photopériode. Cette activité peut être inhibé par des conditions thermiques et hygrométrique défavorables, dans des conditions optimales (T° et H°), l'escargot sort de sa coquille et devient actif dès la tombée de la nuit jusqu'au lever du jour, il en profite pour se nourrir.

La phase d'inactivité relative à une durée inférieure à 18 heures, durant cette phase l'escargot est au repos et ne manifeste que peu d'activité locomotrice, sexuelle ou nutritionnelle.

L'escargot est un animal nocturne: trois nuits d'activité sont suivies d'une nuit de repos et son activité débute au printemps et s'achève en novembre ou il rentre en hibernation.

1.5.2. L'activité saisonnière :

Les escargots harmonisent leurs rythmes biologiques sur le rythme des saisons, ils se règlent sur élément de l'environnement, en l'occurrence la longueur du jour

1.5.3. Estivation :

Un rythme de vie demi-ralentie d'été, On observe ce comportement dans des régions où l'été est particulièrement chaud et sec. L'animal se présente complètement rétracté à l'intérieur de sa coquille (operculé) dont l'ouverture est fermée; par l'intermédiaire des matières muqueuses et calcaires secrétées par le mollusque lui-même. Durant l'estivation, la respiration et les mouvements cardiaques sont normaux mais il y a diminution rapide des réserves d'eau et des réserves énergétiques.

1.5.4. Hibernation :

Un rythme de vie ralenti d'hiver : durant la période hivernale, l'escargot entre en léthargie. Il secrète devant l'ouverture de sa coquille un rideau de mucus solidifié: l'épiphragme. L'animal vit sur ses réserves, en particulier sur le glycogène emmagasiné. Pendant l'hibernation, tous les métabolismes sont ralentis. Au cours de l'hibernation, un escargot peut perdre jusqu'au 30 % de son poids (perte en eau). Au printemps, les réserves perdues seront très rapidement récupérées. (Sandrine et al)

1.6. Influence des paramètres externes sur le comportement des escargots :

Un certain nombre de facteurs liés à l'environnement exercent une influence sur les escargots. Les principaux paramètres d'ambiance qui jouent un rôle sur les résultats zootechniques des escargots sont:

- La température
- L'humidité
- L'éclairement

1.6.1. Température :

Une température idéale se situe autour de 20 °C (de 18 à 22°C). Tout au long de l'année, une température trop basse (inférieure à 7 °C) entraîne l'hibernation et une température trop forte (supérieure à 28°C) entraîne l'estivation.

1.6.2. Humidité de l'air : Le contrôle de l'hygrométrie :

L'humidité préférentielle pour les escargots se situe entre 70 et 95 % tout au long de l'année.

1.6.3. L'éclairement :

C'est l'un des facteurs fondamentaux de la biologie des escargots les photopériodes en reproduction et en nurseries sont identiques (18 heures de lumière).

Bien que l'escargot soit un animal dont l'activité se déroule essentiellement au cours de la nuit, la lumière joue un rôle primordial sur les fonctions reproductrices et la croissance, et qui se caractérise par trois paramètres :

- Temporel (la durée de l'éclairement) :

Les photopériodes longues de 16 à 18 heures par jour favorisent la reproduction et les photopériodes moyennes de 12 à 16 heures par jour favorisent la croissance des jeunes.

- Quantitatif (la valeur de l'intensité lumineuse) :

Des intensités de 60 à 100 Lux favorisent la reproduction alors que celles de 60 Lux sont suffisantes pour la croissance des jeunes.

- Qualitatif (la longueur d'onde utilisée, la couleur) :

La lumière monochromatique rouge stimule les capacités de la reproduction en favorisant la ponte et la fécondité. Pour la croissance, la lumière rouge est la plus favorable au cours des 4 premières semaines, ensuite c'est la lumière blanche. (5)

1.7. L'élevage des escargots :

1.7.1. L'élevage mixte d'escargots «petit-gris » :

Ce mode d'élevage se divise en deux temps : le premier consistant en la reproduction hors sol, la deuxième phase étant celle d'engraissement, elle se déroule dans des parcs extérieurs.

Cette technique d'élevage est celle qui est décrite et préconisée par le Centre National d'Héliciculture du Magneraud (France).

1.7.1.1. Unités hors sol et parcs extérieurs :

✓ Unités hors sol :

Il s'agit d'un bâtiment isolé thermiquement de l'extérieur, les fenêtres en sont obturées. L'éclairage est assuré par des tubes fluorescents type lumière du jour. Le local est chauffé et un dispositif permet de réguler l'hygrométrie. Le bâtiment peut être séparé en deux parties, l'une consacrée à la nursery, l'autre à la reproduction.

✓ Le local de reproduction :

Ce local est occupé par des cages de reproduction. Ces cages sont réalisées en polystyrène avec des ouvertures grillagées pour leurs parties supérieures tandis que le fond est constitué d'une grille rigide recouverte d'un grillage en matière plastique de 10mm de maille.

Dans la partie du fond, un abreuvoir en PVC vient s'adapter dans une gouttière d'alimentation en eau. Afin d'assurer un taux d'humidité suffisant, le fond est recouvert d'un géotextile synthétique (Septofeutre) imbibé d'eau. Chaque boîte reçoit également deux mangeoires en toile plastifiée ainsi que 4 pots de ponte transparents remplis de sable. Ces pots sont en fait des godets perforés de pépiniéristes

D'autres systèmes comparables existent et sont d'un usage et d'un entretien plus aisés. Il s'agit essentiellement d'un système de hamac en toile plastifiée, muni d'une clôture électrique périphérique et d'un fond en grillage plastique. Dans la partie médiane, un plancher amovible permet l'écoulement permanent de l'eau et sert à la fois de mangeoire et d'abri. Les pots de ponte sont posés au niveau de ce plancher sur des supports maintenus par des tringles métalliques transversales.

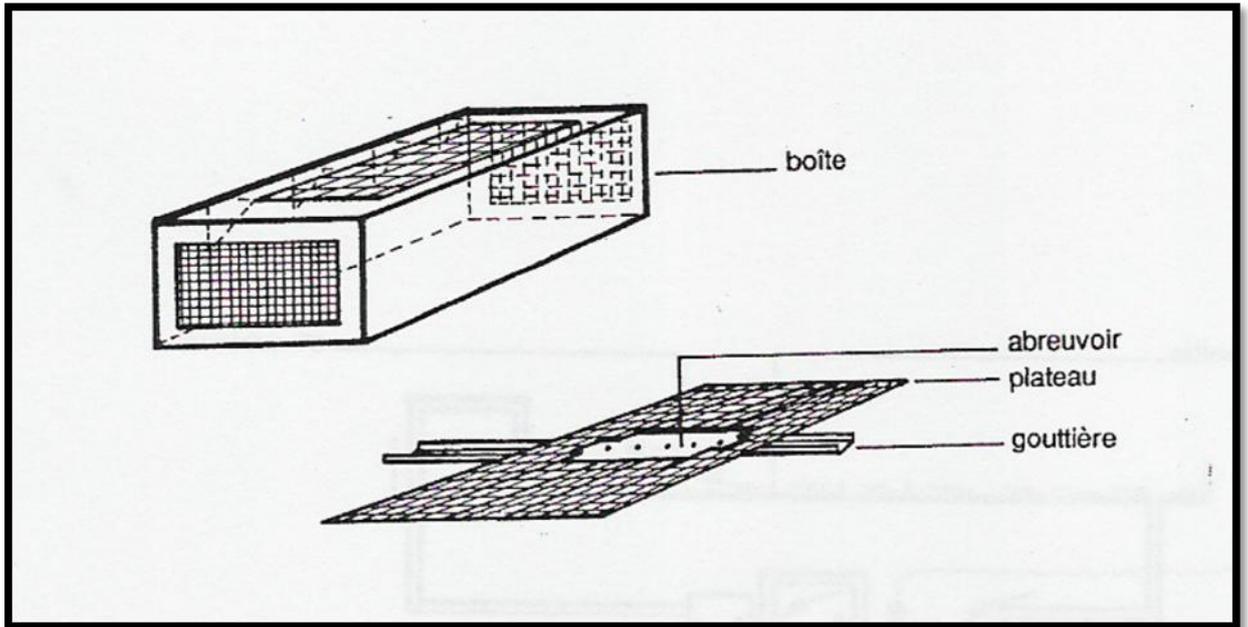


Fig 05 : Dessin d'une boîte de reproduction (Sandrine et al)

1.7.1.2. Parcs extérieurs :

✓ Petits parcs :

Les parcs extérieurs sont des structures de plein air destinées à l'engraissement des jeunes. Chaque parc d'une surface inférieure à 10 m² est entouré d'une paroi en plaque de Fibrociment d'une hauteur de 80 cm. La partie inférieure est enterrée sur 20 cm. A l'intérieur des parcs, le sol a été creusé puis comblé avec une couche de tessons de bouteille, recouverte d'un grillage galvanisé et de terre végétale. Ce système empêche la pénétration des prédateurs du sol tels que les rongeurs. Les parcs sont recouverts par des cadres en bois grillagés (type moustiquaire ou toile d'ombrage) articulés sur des traverses. Ces couvercles ont deux fonctions :

- antiprédatrice contre les oiseaux (merle : *Turdus merula* et grives : *Turdus philomelos*, *T. pilaris*, *T. iliacus*, *T. viscivarus*) et certains insectes volants (sylphe : *Aclypeaopaca* et lampyre : *Lampyrinoctiluca*)
- ils empêchent les escargots de sortir des parcs.

Une rampe d'arrosage en tuyaux polyéthylènes munie d'un brumisateurs tous les mètres, traverse le parc dans sa partie longitudinale qui est reliée à un programmeur horaire. Une sonde hygrométrique située à proximité des parcs peut, en cas de pluie, mettre ce système hors circuit.

Le tapis végétal (type ray-grass : *Lolium* sp. ou trèfle : *Trifolium* sp.) constitue l'équipement de base du parc. Il assure un maintien de l'hygrométrie élevée et le recyclage des déjections. Les abris d'une longueur d'un mètre sont des toits en bois (sapin blanc non traité) ; ils recouvrent des mangeoires en plastique rigide à raison de dix abris mangeoire par parc. De plus, le bois utilisé dans la construction des abris a des propriétés de rétention d'eau, ce qui crée un climat frais et humide favorable à l'activité.

✓ Grands parcs :

Il s'agit d'une structure serre-tunnel, en tube galvanisé recouverte d'une toile d'ombrage identique à celle utilisée pour les couvercles des petits parcs. Au Magneraud (centre d'étude sur l'escargot), la surface au sol est de 126 m², la hauteur au centre est de trois mètres. Le sol est constitué d'un grillage galvanisé de mailles de 10mm scellé à sa périphérie dans une semelle de béton et recouvert de terre végétale pour les zones d'élevage et de gravier pour les zones de passage. Le pourtour intérieur du parc est réalisé en plaques de fibrociment de 50 cm de hauteur, formant une murette périphérique sur laquelle a été fixée une clôture électrique.

Ce système empêche les escargots de monter dans la partie supérieure de la serre. Il existe un système d'arrosage programmé. Comme pour les petits parcs, les zones d'élevage sont recouvertes d'un tapis végétal réensemencé chaque année. Des abris en bois recouvrent des mangeoires en plastique destinées à recevoir l'aliment déshydraté. Ainsi, chaque zone d'élevage possède les mêmes caractéristiques structurales (végétation, abris, mangeoires) que les petits parcs extérieurs. (Sandrine et al)

1.8. Biochimie de l'escargot *H.aspersa* :

La composition en protéines, lipides, carbohydrates et minéraux de l'espèce *H. aspersa* a été établie par Cadart (1975), qui a remarqué la richesse de cette espèce en sels minéraux. Depuis cette date quelques informations sont apparues selon différents traitements de la chaire

Tableau 01 : Données sur la composition d'escargots *Helix aspersa* (Gomot, 1998).

Espèce	(%) Eau	Protéines (g par 100g de matière fraiche)	Lipides (g par 100g de matière fraiche)	Carbohydrates (g par 100g de matière fraiche)	Matière organique	Auteurs
<i>H. aspersa</i> Petit escargot de 2.5g	83.3	12	0.7	0.5	2.7	Claeys & Demeyer, 1986
<i>H. aspersa</i> Grand escargot de 3.5g	87.6	9.9	0.5	0.4	1.2	Claeys & Demeyer, 1986

La composition biochimique a permis d'analyser et de déterminer le pourcentage des protéines, des lipides et des minéraux des différentes parties de l'animal : le corps entier, la masse pédieuse avec la tête et le bord du manteau, et la masse viscérale (Gomot, 1998). Le tableau 03 représente la composition en gramme/ 100g de matière fraîche de l'escargot *H. aspersa* dont le pied représente environ 72% et les viscères 25% du poids corporel.

Tableau 02 : Composition biochimique de l'escargot *H. aspersa* (Gomot, 1998).

Analyses de l'ensemble du corps d'<i>H. aspersa</i>
Eau (% en poids d'escargot décoquillé) : 83.7 Cendre : 1.5 Protéines : 10.5 (g/100g) Lipides : 1.6 Carbohydrates : /
Analyses des pieds et des viscères d'<i>H. aspersa</i> (pieds / viscères)
Eau (% en poids d'escargot décoquillé) : 87.5 / 70.6 Cendre : 1.3 / 2.6 Protéines : 8.1 / 18.6 (g/100g) Lipides : 0.8 / 3.6 Carbohydrates : non déterminé //
Teneurs en minéraux et oligo-éléments de pieds et viscères d'<i>H. aspersa</i> (Pieds / viscères)
Ca ⁺⁺ : 200 / 328 P : 73 / 536 (mg/100g) Mg ⁺⁺ : 52.7 / 183 Fe ⁺⁺ : 10 / 64 Cu ⁺⁺ : 31 / 17 (mg/Kg) Zn ⁺⁺ : 10 / 463

Chapitre II

Le système digestif

2.1. Organisation générale du tube digestif :

Le tube digestif est un tube creux ouvert aux deux extrémités et dont la lumière est en contact direct avec l'environnement extérieur. Le tube digestif comprend la cavité buccale, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon), le côlon (ascendant, transverse et sigmoïde), le rectum et l'anus. La structure du tube digestif varie sur toute sa longueur selon les fonctions particulières de chaque région. Cependant, il existe de nombreux points communs dans l'organisation générale des tissus. La paroi de l'intestin est composée de plusieurs tuniques circulaires. De l'extérieur vers la lumière intestinale, on distingue la séreuse, la musculuse externe, la sous-muqueuse, la musculaire muqueuse et la muqueuse en contact direct avec le contenu intestinal. (L.LENOIR, 2011)

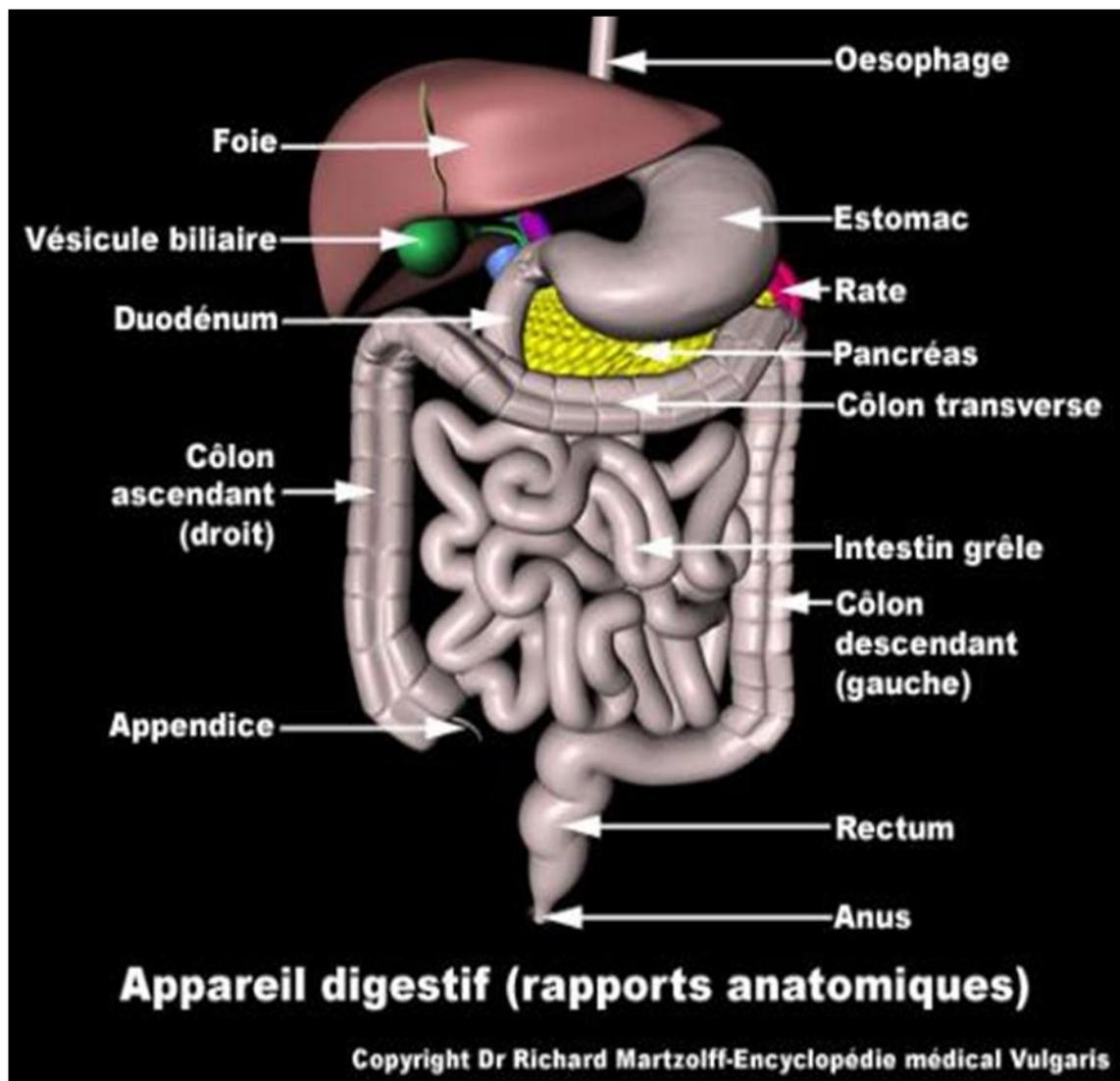


Fig 06 : Organisation générale de tube digestif.

2.2. Histologie de tube digestif :

Sur le plan histologique, le tube digestif est constitué de 5 tuniques concentriques, plus ou moins bien individualisées selon les segments considérés, qui sont à partir de la lumière: la muqueuse, la musculaire muqueuse, la sous-muqueuse, la musculeuse, et une tunique conjonctive externe qui est soit un adventice, soit une séreuse.

-La muqueuse :

Comporte un épithélium de revêtement sur une lame basale, et un tissu conjonctif sous-jacent, le chorion. Le chorion contient du tissu lymphoïde diffus et des follicules lymphoïdes. Il peut renfermer dans certaines localisations des glandes. Il est riche en vaisseaux ayant un rôle nutritif pour ces glandes, ou bien un rôle de récupération des nutriments liés à la fonction d'absorption

-La musculaire-muqueuse :

Est constituée d'une mince couche de tissu musculaire lisse, comprenant 2 feuillets (longitudinale externe et circulaire interne) difficile à distinguer ; elle est absente aux extrémités du tube (1/3 supérieur de l'œsophage et canal anal). On peut y distinguer 2 feuillets: un longitudinal externe, et une circulaire interne.

-La sous-muqueuse :

Est constituée de tissu conjonctif et contient le plexus nerveux de Meissner (ou « plexus sous-muqueux de Meissner ») ainsi que des vaisseaux sanguins et lymphatiques pour la muqueuse.

-La musculeuse :

À une disposition générale en 2 couches de fibres musculaires lisses : circulaire interne et longitudinale externe. Entre ces deux couches, se situe le plexus nerveux d'Auerbach (ou « plexus myentérique d'Auerbach »).

-La tunique externe :

Est soit une adventice, soit une séreuse. Aux extrémités du tube digestif, la tunique externe est constituée par tissu conjonctif lâche qui la rend solidaire aux organes voisins ; on lui donne le nom d'adventice. Entre ces deux extrémités, la tunique externe comporte un tissu conjonctif tapissé sur son versant externe par un épithélium simple (mésothélium), constituant ainsi le feuillet viscéral de la séreuse péritonéale. On lui donne le nom de séreuse. En fonction des localisations, on constatera des particularités histologiques propres à chaque étage du tube digestif.

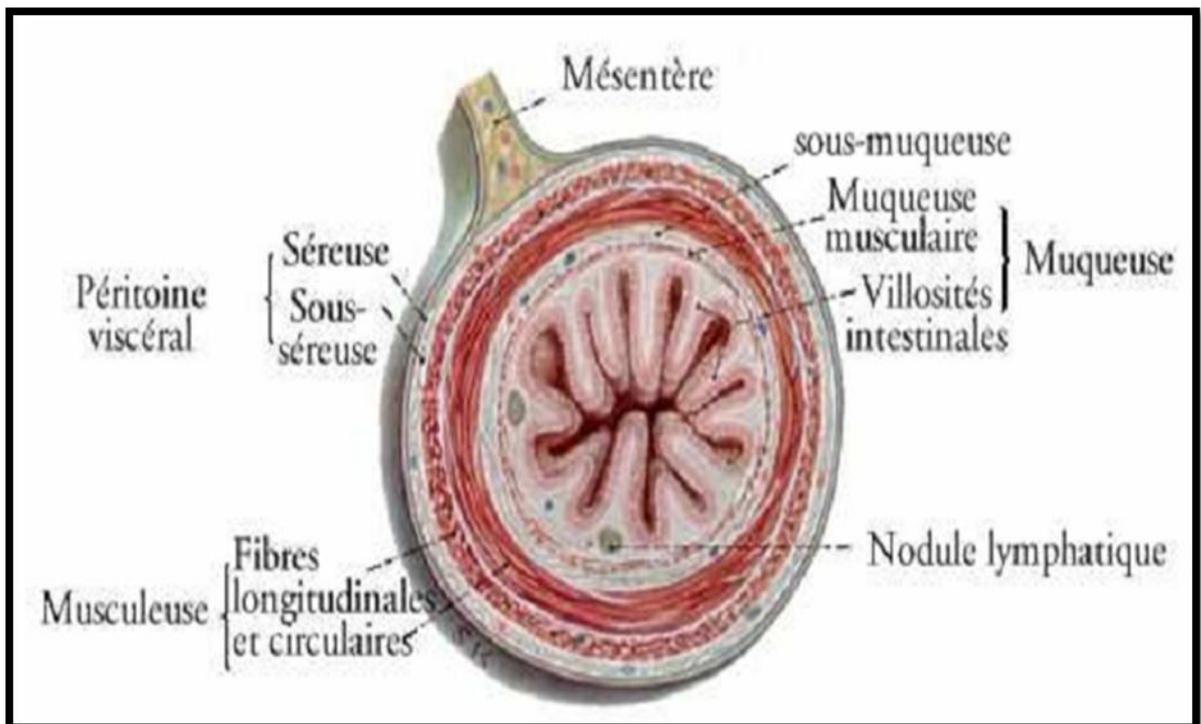
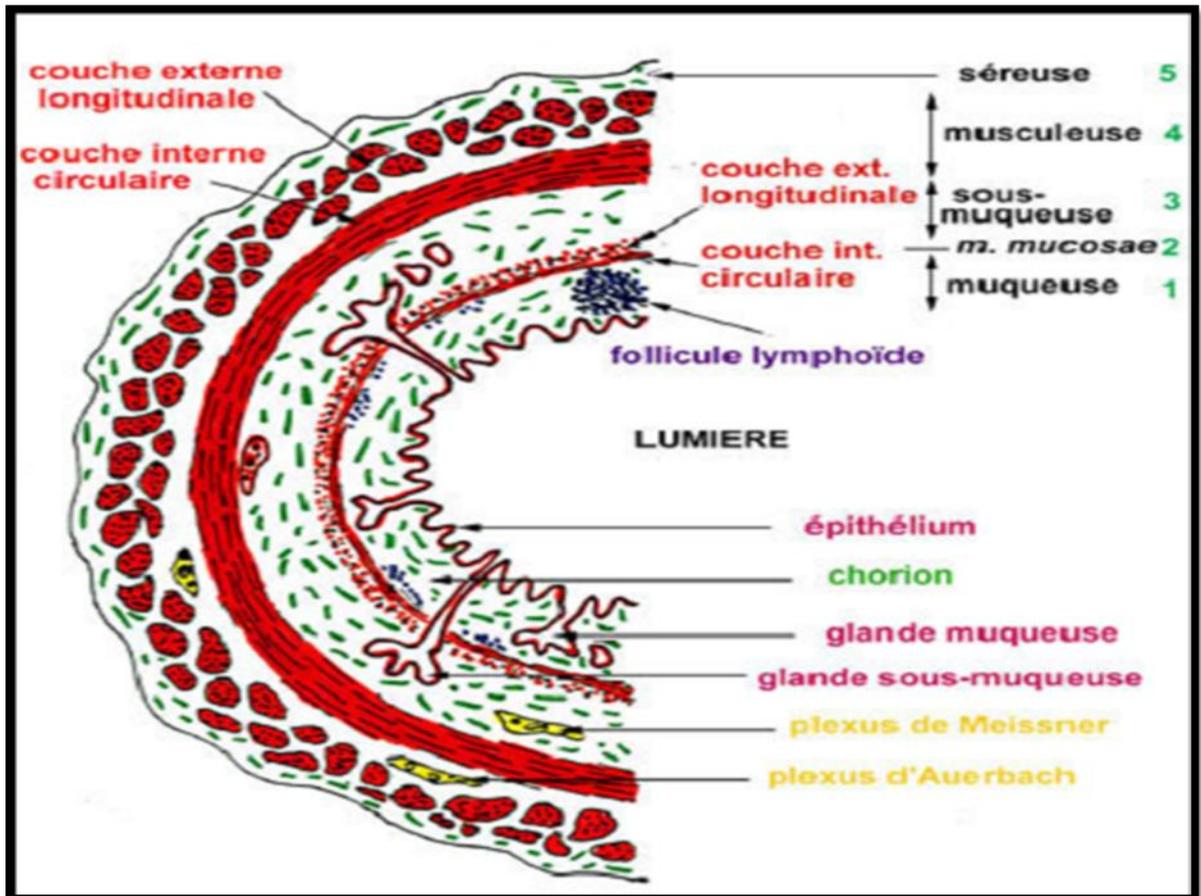


Fig 07 : Organisation générale de la paroi du tube digestif (F.Pellestor)

2.3. L'intestin grêle :

On peut le diviser en deux parties : - une partie fixe : le duodénum

- une partie mobile : le jéjuno-iléon.

En histologie, le duodénum s'étend du pylore à l'ampoule de Vater (milieu de la deuxième portion du duodénum des anatomistes). Le jéjuno-iléon va de l'ampoule de Vater au caecum. L'intestin grêle joue un rôle prépondérant dans la dégradation enzymatique des aliments et dans l'absorption des produits de la digestion.

En effet, l'intestin grêle se caractérise par l'apparition de dispositifs permettant l'augmentation de la surface d'échange entre la lumière intestinale et la surface de l'épithélium de revêtement. Cette surface est estimée à 200 m². Ce dispositif est d'abord :

- anatomique, par la constitution d'anses intestinales, de 6 à 7 m de long
- puis visible macroscopiquement après ouverture longitudinale de la paroi intestinale, les valvules conniventes de l'ordre du cm, sous forme de replis circulaires ou semi-circulaires de la sous-muqueuse. Les valvules conniventes sont des replis transversaux qui sont seulement visible en coupe longitudinale. Elles disparaissent dans la moitié distale de l'iléon.

-La muqueuse: On y distingue deux couches : - la couche des villosités

- la couche des glandes.

➤ Les villosités :

Ce sont des évaginations de la muqueuse en forme de doigts de 1 mm de hauteur. Elles sont tapissées par un épithélium de revêtement cylindrique simple, reposant sur une membrane basale, et dans lequel on peut distinguer 4 types cellulaires :

✓ **Les entérocytes :**

Elles sont plus nombreuses, ce sont des Cellules cylindriques de 25 microns de haut. Des microvillosités apicales régulières (1 à 2 microns / 0,1 micron), au nombre de 3000/cellule, constituent le plateau strié. L'axe des microvillosités est occupé par des microfilaments d'actine ancrés sur un réseau de microfilaments soulignant l'ensemble des microvillosités, et appelé "terminal web".

✓ **Les cellules caliciformes :**

Cellules à mucus, dites à pôle muqueux ouvert, elles sont moins nombreuses que les entérocytes, et généralement isolées parmi les entérocytes. En forme de calice évasé vers le haut, les 2/3 apicaux sont occupés par des grains de mucus. Le noyau triangulaire est refoulé au pôle basal.

✓ **Les cellules "M" (microfold cells) :**

Il s'agit de cellules présentatrices d'antigènes, captant les antigènes dans la lumière du T.D. et les transmettant aux cellules immunocompétentes (les macrophages et les lymphocytes) qui se situées dans des replis cytoplasmiques. Elles ont un noyau basal et de nombreuses vésicules.

✓ **Les cellules endocrines :**

Elles sont dispersées tout le long du T.D. mais aussi dans les glandes annexes et les canaux excréteurs. Elles appartiennent à un système plus vaste : “ le système neuro-endocrinien diffus” (SED). Ces cellules se retrouvent au niveau de nombreux organes : bronches, appareil urinaire, trompes et muqueuse utérine, système nerveux. Une quarantaine de types cellulaires ont été identifiés. Cette complexité n'est qu'apparente. En effet, elles ont toutes un caractère commun qui est la capacité de fixer et de décarboxyler les précurseurs des amines biogènes (qui sont des acides aminés : le tryptophane, l'histidine, la tyrosine et la phenylalanine) et de former respectivement de la sérotonine, de l'histamine, de la dopamine et de la noradrénaline. Ces cellules sont donc regroupées sous le terme de système “ A.P.U.D.” (A.P. = amine précurseur, U. = captent = (uptake), D. = decarboxyl)

➤ **Chorion des villosités :**

C'est un tissu conjonctif lâche renfermant des artérioles, des capillaires sanguins, des veinules, des fibres nerveuses, on observe un vaisseau lymphatique, le chylifère central, qui se draine dans le plexus lymphatique sous-muqueux, après avoir traversé la musculaire muqueuse. Ce chorion renferme aussi des macrophages, des polynucléaires, des plasmocytes et de nombreux lymphocytes en plus des fibroblastes et fibrocytes.

➤ **Les glandes de Lieberkühn :**

Ce sont des glandes tubuleuses simples qui s'ouvrent à la base des villosités : une vingtaine de glandes débouchent autour d'une villosité. L'épithélium des glandes est constitué de cinq types cellulaires disposés en couche unique et reposant sur une lame basale entourée de chorion.

➤ **Cellules indifférenciées (ou intermédiaires):**

A la jonction de la villosité-épithélium glandulaire. Interviennent dans le renouvellement de l'épithélium (F.Pellestor)

➤ **Cryptes aberrantes et Foyers de Cryptes Aberrantes (FCA) :**

Les microadénomes ou FCA sont des foyers de cryptes aberrantes (ils sont constitués de plusieurs cryptes aberrantes, leur nombre pouvant aller jusqu'à jusqu'à 20). Les FCA ont été observés préférentiellement dans les portions distales du côlon. Ils sont Très rares chez les sujets sains, les FCA sont recensés en plus grand nombre chez les sujets cancéreux.

Description et caractéristiques des cryptes aberrantes et FCA : (Bird et al. 1989)

Par rapport aux cryptes normales, les cryptes aberrantes apparaissent sous le microscope:

- plus grosses
- surélevées
- à "lumière" en forme de fente (ronde pour les normales)
- colorées plus intensément au bleu de méthylène
- à zone péri-cryptale augmentée (Eric et al)

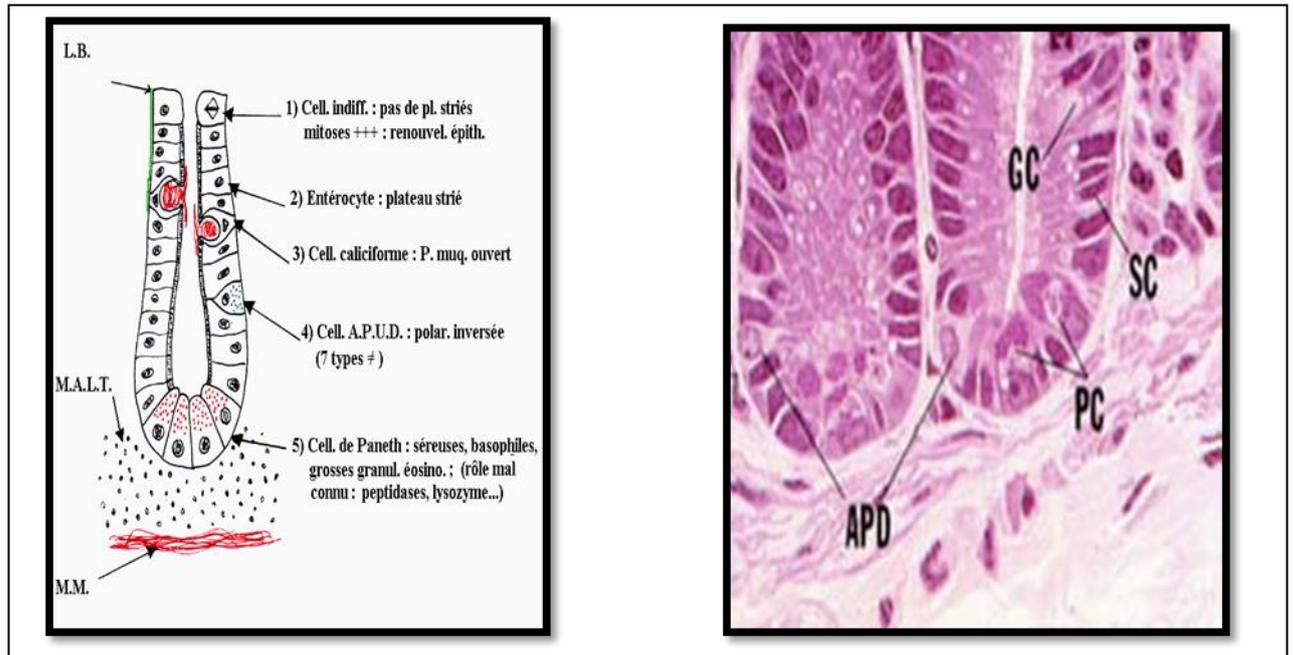


Fig 08 : glandes de Lieberkühn (F.Pellestor)

- La musculaire muqueuse :

Deux couches de fibres musculaires lisses: circulaire interne et longitudinale externe. Elles donnent des émergences vers le sommet des villosités et forment le muscle de "Brücke" qui joue un rôle dans l'absorption.

-La sous-muqueuse (permet de distinguer le duodénum du jéjuno-iléon) :

C'est un tissu conjonctif lâche. Au niveau du duodénum, elle est envahie par les glandes de Brunner qui sont des glandes muqueuses en tubes ramifiés. Elles sécrètent un mucus alcalin neutralisant l'acidité du chyme stomacal. Les glandes de Brunner se jettent au fond des glandes de Lieberkühn. Pour cela, elles dissocient la musculaire muqueuse du duodénum. On les rencontre jusque dans la partie profonde de la muqueuse duodénale.

Dans le duodénum, Il n'existe pas de valvules conniventes dans le duodénum. Au niveau du jéjuno-iléon, la sous-muqueuse constitue l'axe des valvules conniventes. Elle est dépourvue de glandes de Brunner.

-La musculuse :

Deux plans de fibres musculaire lisses: circulaires internes paisse et longitudinales externes. Entre ces couches, se trouve le plexus d'Auerbach.

- La séreuse :

Correspond au feuillet viscéral du péritoine. Au niveau du duodénum, pas de séreuse mais une adventice. (F. Pellestor)

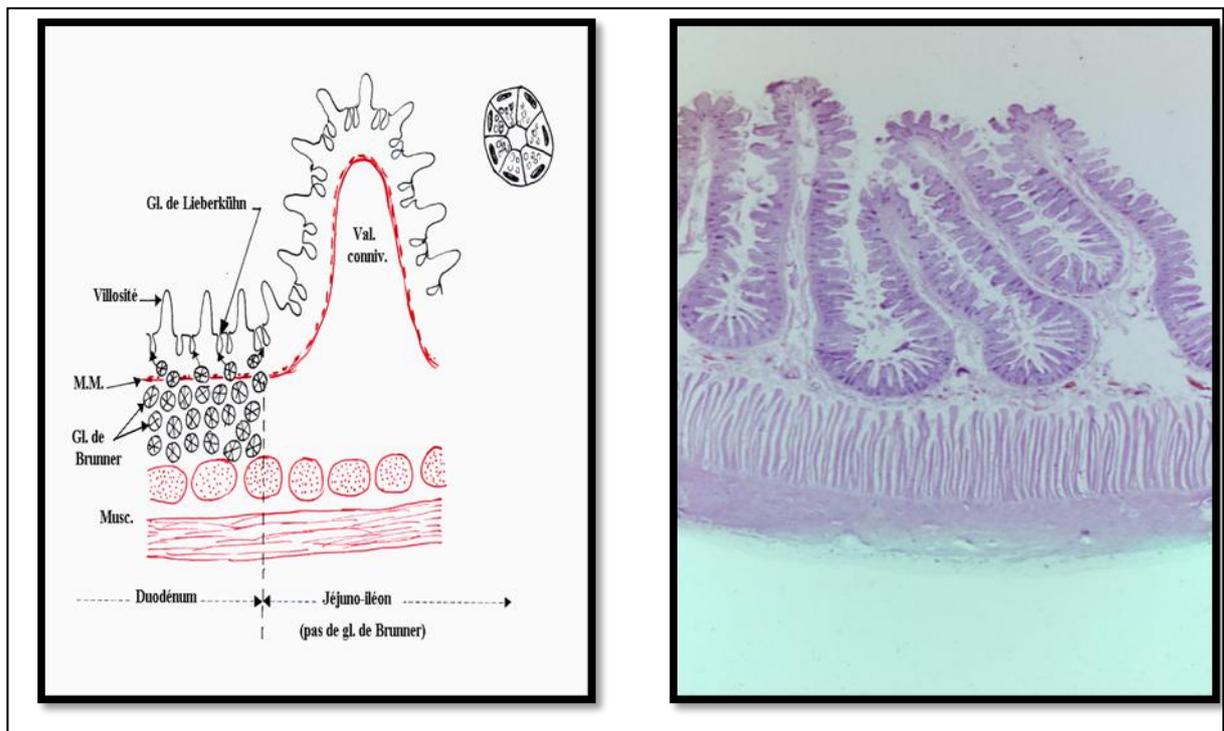


Fig 09 : Schéma général de la paroi de l'intestin grêle (F.Pellestor)

2.4. Renouvellement de l'épithélium intestinal:

La durée de vie des entérocytes et des cellules caliciforme est de 5 jours. L'élimination des cellules se fait par desquamation apicale. Le renouvellement résulte de la multiplication et de la différenciation des cellules souches situées au départ des glandes de Lieberkühn. Les cellules indifférenciées des glandes de Lieberkühn renouvellent aussi les autres types cellulaires.

2.5. Le colon et le rectum :

A cet étage du tube digestif, on observera des caractéristiques histologiques spécifiques notables au niveau de 2 des 5 tuniques constitutives du tube : la muqueuse et la musculuse. Le colon et le rectum ont pratiquement la même structure histologique. Plus large que l'intestin grêle (entre 3 et 7 cm de diamètre), cette partie du tube digestif est comprise entre le caecum et le canal anal. Elle comprend: le colon ascendant, le colon transverse, le descendant, suivi par le sigmoïde, prolongé par le rectum.

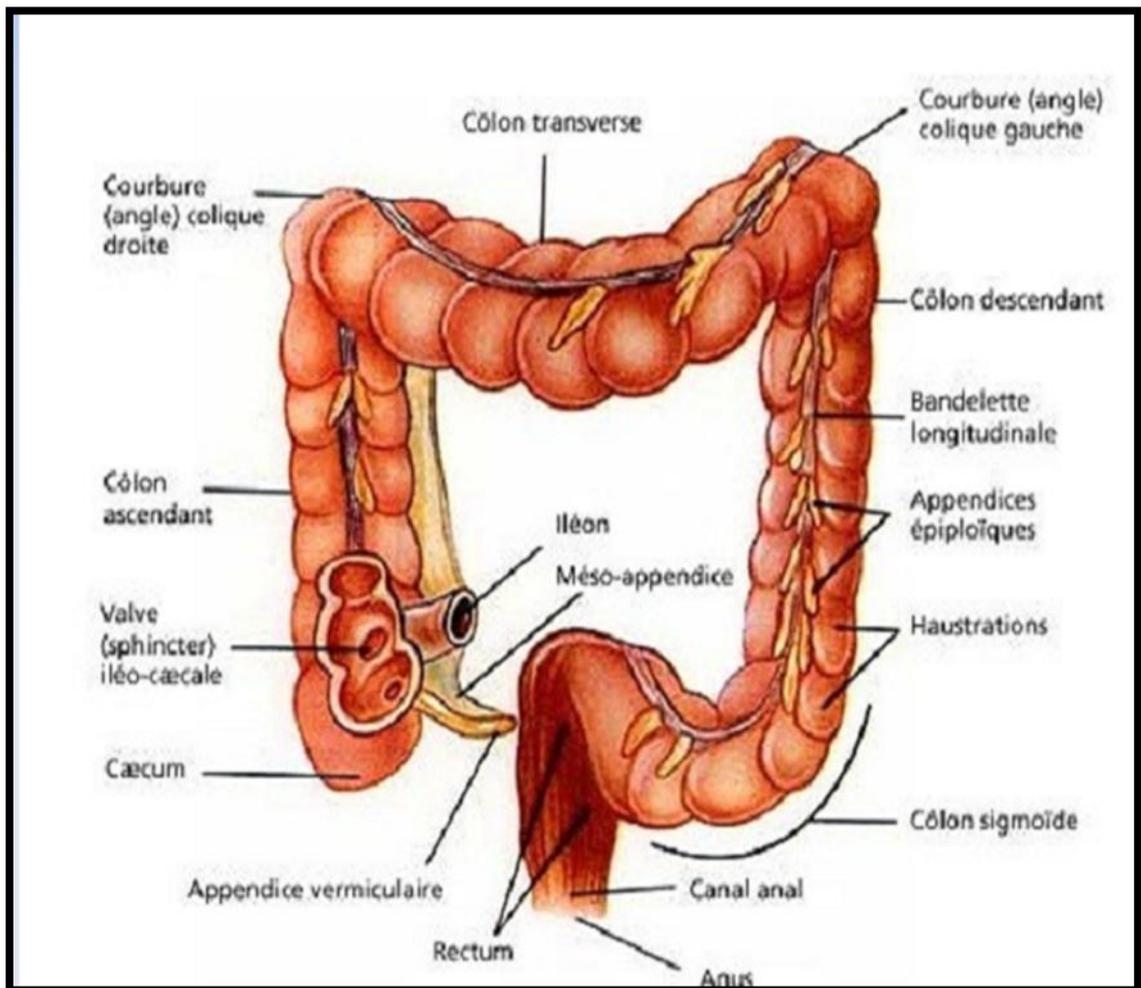


Fig 10 : Vue antérieure du gros intestin (F.Pellestor)

2.5.1. Histologie générale en coupe transversale :

Le gros intestin se distingue de l'intestin grêle par la disparition des dispositifs d'amplification de surface. Ainsi: l'absence de valvules conniventes et l'absence de villosités : la muqueuse est lisse, elle se limite à la couche des glandes de Lieberkuhn.

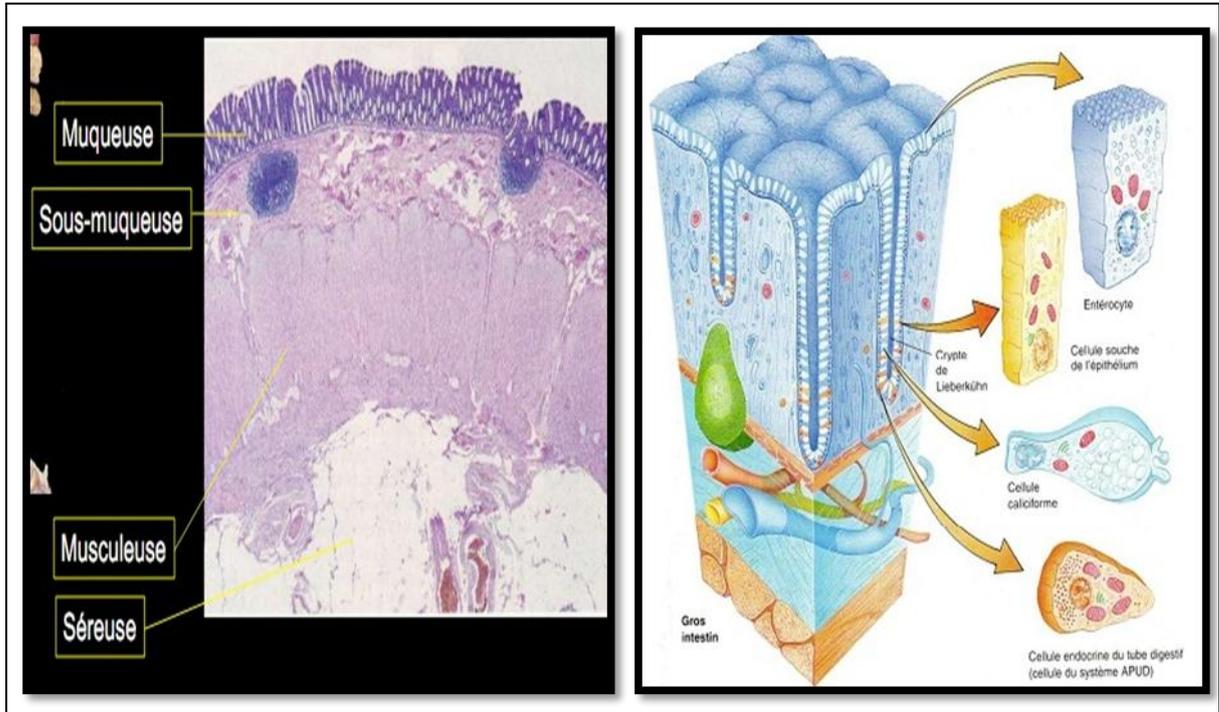


Fig 11 : histologie du colon (F.Pellestor)

-La muqueuse:

Elle est constituée par un épithélium de type intestinal avec de nombreuses cellules caliciformes, qui sont d'autant plus nombreuses que l'on se rapproche du rectum. Les glandes de Lieberkühn y sont plus longues que dans l'intestin grêle. Elles comportent 4 types cellulaires:

- des entérocytes (quelques)
- des cellules indifférenciées (partie supérieure de la glande)
- des cellules caliciformes (aspect caractéristique en "marguerite" en coupe transversale)
- quelques rares cellules APUD (SED)

Il n'y a pas de cellules de Paneth Le chorion est riche en tissu lymphoïde.

Cette couche lymphoïde forme quelques fois des follicules clos pouvant déborder dans la sous-muqueuse. Ces follicules ne sont jamais regroupés en plaques de Peyer.

-La sous-muqueuse :

Elle est classique. Sans particularité, si ce n'est qu'elle peut être effondrée par les nodules lymphoïdes.

-La musculuse:

Elle est formée par une couche circulaire interne épaisse avec de nombreux renforcements circulaires (aspect particulier de la surface : sorte de bosselures = "les haustrations). La couche longitudinale est réduite; elle présente 3 renforcements : les bandelettes coecocoliques, formant le Taenia coli (cette couche longitudinale est continue au niveau du rectum).

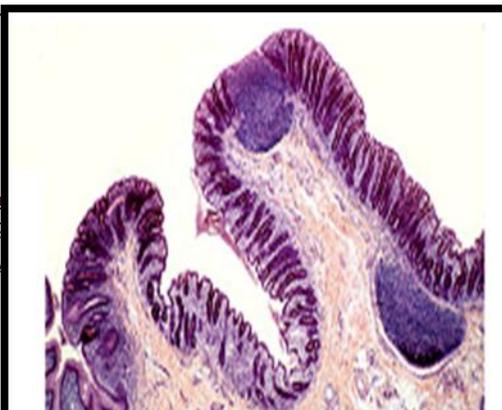
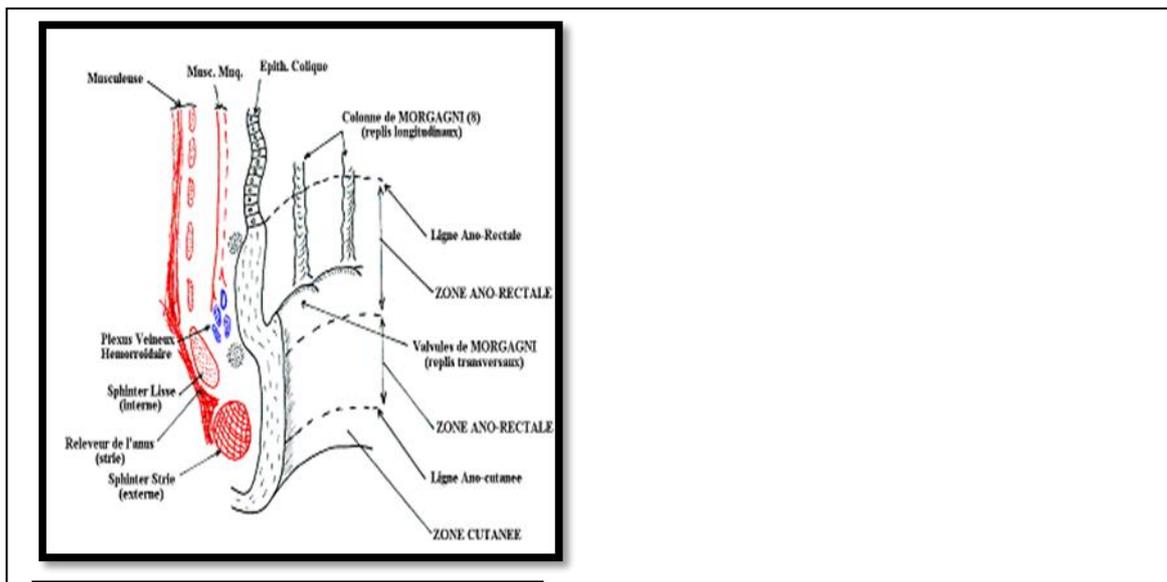
-La séreuse:

Sans particularités. Tissu adipeux abondant. Quelques formations adipeuses (les appendices épiploïdes).

2.5.1.1. Le canal anal :

Partie terminale du T.D., situé entre le rectum et le revêtement cutané superficiel. C'est une région de 2 à 3 cm de longueur. L'épithélium est d'origine épiblastique. Le canal anal est compris entre deux limites :

- en haut : la ligne ano-rectale, marquée par le passage brutal de l'épithélium colique à l'épithélium du canal anal (épidermoïde, malpighien, non kératinisé).
- en bas : la ligne ano-cutanée, (moins bien délimitée) à partir de laquelle on retrouve les éléments caractéristiques de la peau : follicules pileux, glandes sudoripares, sébacée.



Canal ano rectal (F.Pellestor)

On peut distinguer 2 zones:

➤ **La zone ano-rectale :**

L'épithélium est de type épidermoïde non kératinisé. Le chorion papillaire contient de nombreuses veines disposées en plexus : "les veines hémorroïdaires", plus quelques formations lymphoïdes. La musculaire muqueuse se termine dans cette zone entre les plexus veineux. Ses faisceaux résiduels forment des soulèvements, des replis verticaux: les valvules ou colonnes rectales de Morgagni. La musculature comprend une couche circulaire interne qui s'épaissit pour former le sphincter lisse. La couche longitudinale vient se fixer sur un muscle strié : le releveur de l'anus.

➤ **La zone ano-cutanée :**

L'épithélium est lisse, pavimenteux, stratifié, kératinisé mais dépourvu de follicules pileux. La musculaire muqueuse est absente. La sous-muqueuse n'est plus individualisée. La musculature n'existe plus en tant que tel, mais on trouve dans le tissu conjonctif une formation musculaire : le sphincter externe ou sphincter strié.

Au delà: La zone cutanée : on retrouve les caractéristiques habituelles du revêtement cutané (pigmentation, kératinisation, annexes pilo-sébacées).

2.5.1.2. L'appendice :

C'est un diverticule du caecum, transformé en un véritable organe lymphoïde : il mesure 6 ou 7 cm de long.

-La muqueuse:

De type colique, les glandes sont irrégulières. On y trouve quelques rares cellules de Paneth et du "GALT". Les cellules APUD sont nombreuses (70% des tumeurs carcinoïdes siègent sur l'appendice).

-La musculaire muqueuse:

Elle est discontinue et interrompue par les formations lymphoïdes. Les follicules très volumineux font saillie dans la sous-muqueuse.

-La sous-muqueuse:

La sous-muqueuse est infiltrée de lymphocytes, mais aussi de plasmocytes, de polynucléaires et de macrophages.

-La musculuse:

Elle est peu développée. On reconnaît 2 couches et quelques éléments nerveux non organisés en plexus.

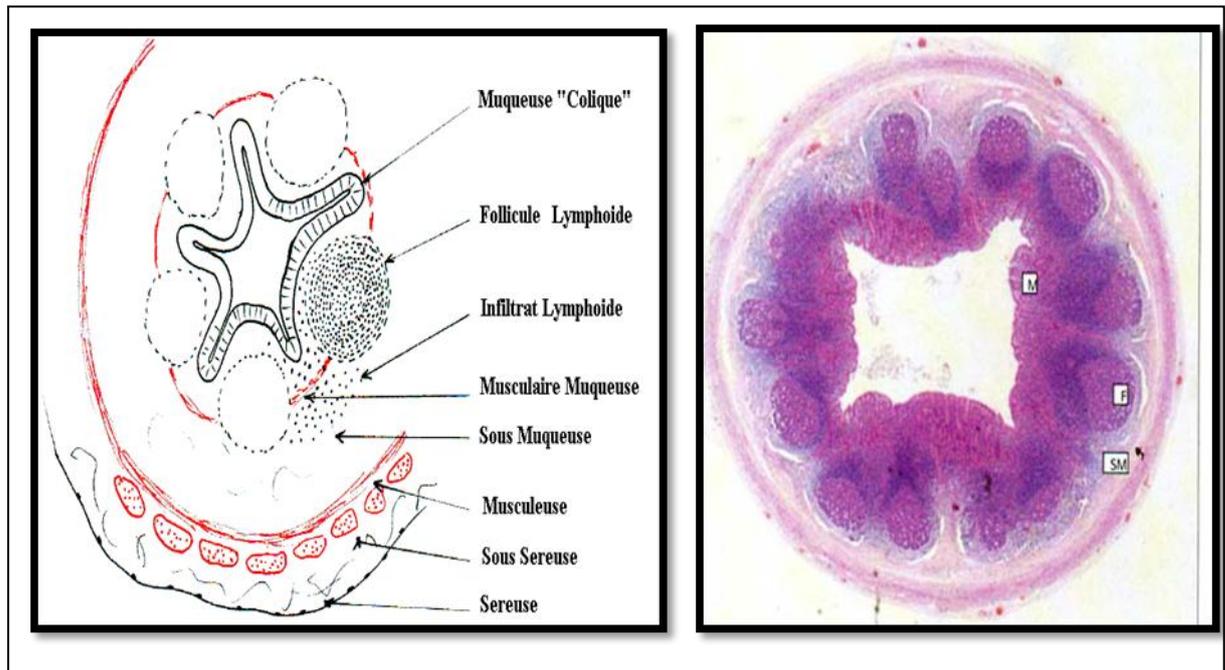


Fig 13 : Structure histologique de l'appendice(F.Pellestor)

2.5.2. Fonction de colon :

Le colon assure plusieurs fonctions :

- ✓ La transformation du bol intestinal. Au niveau du colon, les résidus liquides de l'intestin grêle sont transformés en matières solides non digestibles appelés fécès. Cette transformation fait intervenir la réabsorption d'eau et de sels solubles par des entérocytes dépourvus d'activités enzymatiques digestives, le stockage et le brassage du bol fécal par la contraction de la musculuse, et la propulsion vers le rectum parondes péristaltiques non permanentes.
- ✓ Il permet la fermentation et la digestion de certains composés par la flore microbienne, en particulier la cellulose (+ absorption de certaines vitamines). On distingue la flore microbienne de fermentation et la flore microbienne de putréfaction.
- ✓ Il permet la progression et l'évacuation du bol fécal grâce à une importante sécrétion de mucus (cellules caliciformes +++). (F.Pellestor)

Chapitre III

Les organes lymphoïdes

Les organes lymphoïdes :

Les tissus et organes lymphoïdes se caractérisent par leur richesse en lymphocytes et par leur appartenance au système immunitaire. Le système immunitaire regroupe des organes, des cellules et des molécules disséminés dans l'organisme dont la fonction est d'assurer l'immunité de l'individu, Physiologiquement, on distingue : (mémoire)

✓ **des organes lymphoïdes primaires ou centraux :**

Ce sont la moelle osseuse et le thymus, ils sont le lieu de maturation des lymphocytes où ils acquièrent un récepteur propre à chaque cellule (constitution du répertoire).

✓ **des organes lymphoïdes secondaires ou périphériques :**

Ce sont les ganglions lymphatiques, la rate et le tissu lymphoïde associé aux muqueuses, Ils sont peuplés des cellules issues des organes lymphoïdes primaires et sont le lieu où se produisent les différentes coopérations cellulaires aboutissant à une réponse immunitaire spécifique. A ce niveau, on trouve la présentation et la reconnaissance des antigènes, l'activation et la prolifération des lymphocytes aboutissant à une orientation (ou polarisation) de la réponse immune. Toutes ces étapes sont strictement contrôlées pour éviter un emballement de la réponse. (L.Prin et al)

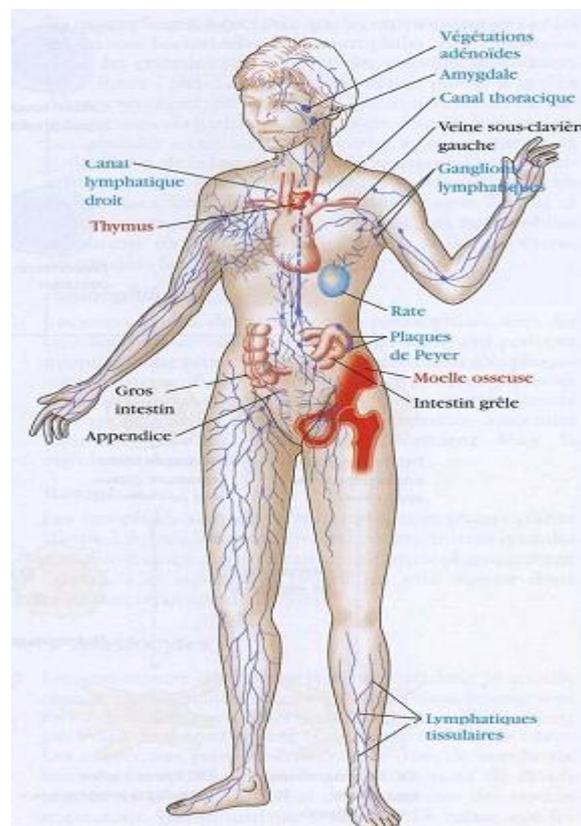


Fig 14 : Localisation des organes lymphoïdes

3.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux :

3.1.1. La moelle osseuse :

La moelle osseuse est le premier organe de l'immunité. Est le siège de la naissance et de la maturation des cellules immunitaires et siège de la prolifération des cellules sanguines.

C'est un tissu en suspension situé dans la cavité des os, responsable de la production des cellules sanguines (hématopoïèse).

Il y'a deux sortes de moelle osseuse :

- **La moelle osseuse rouge** : (dite active) ou lieu de la production des lignées de cellules sanguines. Cette production est réalisée à partir de cellules souches qui sont appelées Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH).
- **La moelle osseuse jaune** : qui est un tissu adipeux (gras). Le système de sinusoiide est remplacé par des capillaires et des veinules.

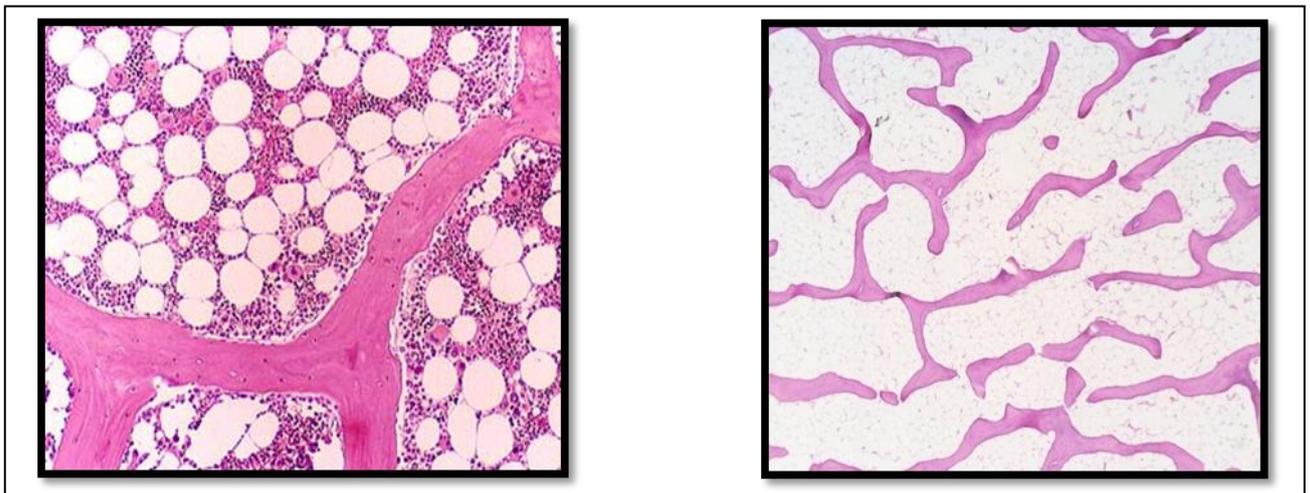


Fig 15 : structure histologique de :

a) la moelle osseuse rouge

b) la moelle osseuse jaune

3.1.1.1. Localisation :

La moelle osseuse se trouve dans 3 types d'os:

- Les os courts (crête iliaque, sternum)
- Les os longs (fémur, humérus, tibia, radius ...)
- Les os plats (omoplate, os iliaque, voûte du crâne ...)

3.1.1.2. Histologie de la moelle osseuse :

La moelle est composé de :

- des capillaires sinusoiides : ils sont larges (40 μ m) et irréguliers
- de parenchyme hématopoïétique : Il est formé des cellules sanguines et de leurs précurseurs, Les différentes cellules sanguines dérivent toutes d'un même progéniteur commun, la cellule souche pluripotente (capables d'engendrer toutes les formes

de cellules sanguines). Les cellules hématopoïétiques pluripotentes se différencient en progénitures déterminés à l'origine des lignées sanguines qui donnent naissance aux :

- - hématies,
 - - plaquettes,
 - - monocytes,
 - - macrophages,
 - - lymphocytes pro-T,
 - - lymphocytes pro-B.
- de charpente conjonctive de soutien : ce sont des fibroblastes, qui par leurs longs prolongements, forment un réseau dont les mailles abritent les cellules hématopoïétiques, ils synthétisent du collagène de type III (à la base des fibres de réticuline), des protéoglycannes des molécules d'adhésion pour les cellules hématopoïétiques (ex : fibronectine) et des cytokines. peuvent accumuler des lipides et se différencier en adipocytes de la moelle osseuse.

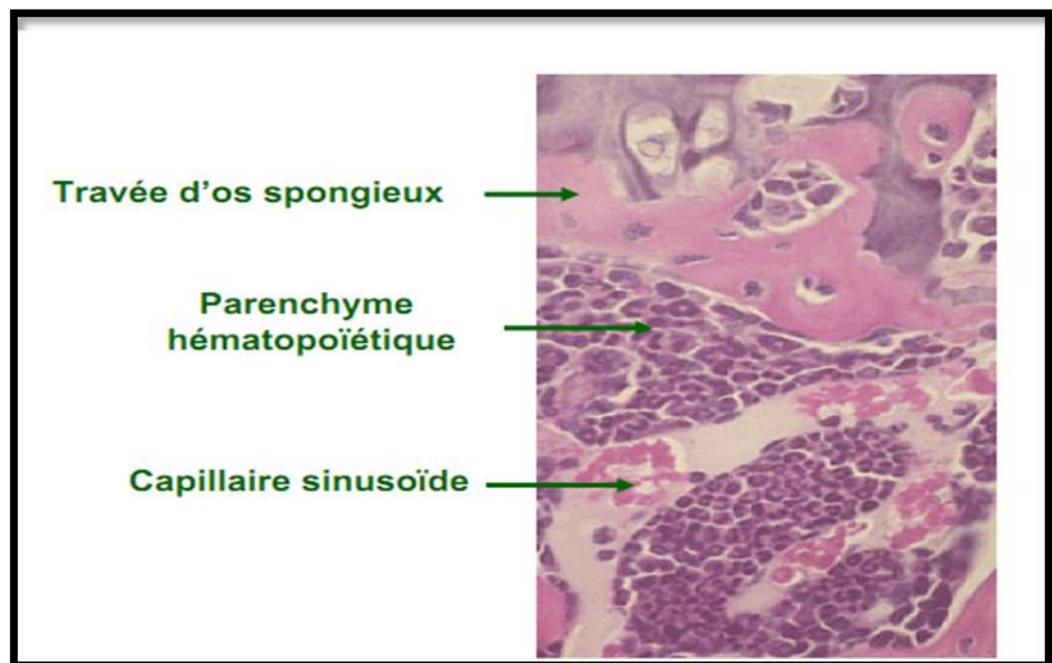


Fig 16 : histologie de la moelle osseuse

3.1.1.3. Les fonctions de la moelle osseuse :

A. hématopoïèse :

Correspond à la formation des cellules du sang.

- Son site change durant la vie embryonnaire et fœtale: vésicule vitelline, puis foie, puis foie et rate, puis (à 4 mois de vie in utero) moelle osseuse.
- Chez l'adulte fonctionne uniquement dans la moelle osseuse.

B. Différenciation des lymphocytes B :

La moelle se comporte comme un organe lymphoïde primaire pour la différenciation des lymphocytes B.

C. Phagocytose des cellules sanguines vieillissantes :

La moelle contient des macrophages résidents chargés de phagocyter les cellules vieilles.

3.1.2. Le thymus :

Le thymus est un volumineux organe lymphoïde aplati situé dans la partie antéro-supérieure du médiastin et à la partie basse du cou. Il comporte deux lobes divisés en nombreux petits lobules. L'épithélium qui le constitue forme une structure spongieuse qui renferme un labyrinthe d'espaces anastomosés.

Ceux-ci sont colonisés par des lymphocytes. Les cellules épithéliales du thymus fournissent non seulement une charpente, elles assurent une fonction de «nourrice» en favorisant la différenciation, la prolifération et la maturation des sous-populations cellulaires T.

De la naissance à la puberté, le thymus continue à croître, mais ensuite il involue lentement, au point d'être macroscopiquement difficile à différencier, chez le sujet âgé, du tissu fibro-adipeux voisin.

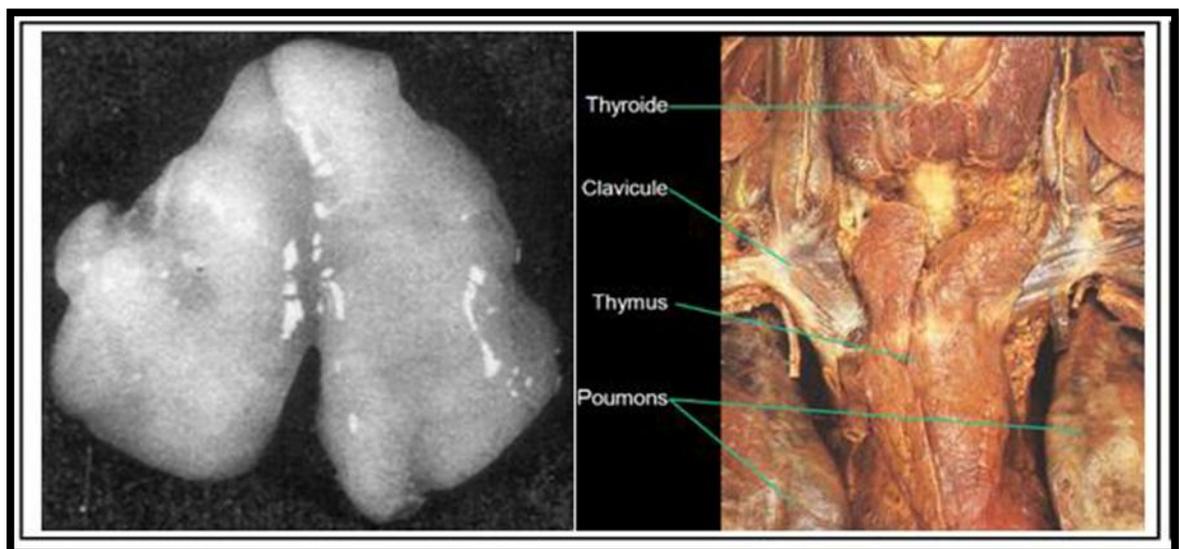


Fig 17 : morphologie et sa localisation du thymus chez l'homme (5)

3.1.2.1. Structure générale:

Le thymus est constitué de deux lobes et chaque lobe thymique est entouré par une capsule et divisé par des septums conjonctifs en lobules qui comprennent une partie périphérique, le cortex, et une médullaire.

- **une zone périphérique ou cortex :**

Peuplée de thymocytes corticaux immatures, produits par la multiplication des pro-thymocytes de la moelle osseuse.

- **une zone médullaire :**

Qui contient des lymphocytes T différenciés (ou matures). Le thymus est colonisé par les cellules pro-thymocyte de la moelle osseuse qui se différencie en thymocyte cortical exprimant CD4 et CD8, Le thymocyte cortical migre vers la médullaire et se transforme en thymocyte différencié médullaire exprimant un TCR spécifique d'un épitope du « non soi » (soit CD4, soit CD8).

Dans la corticale et la médullaire on trouve des cellules épithéliales expriment les molécules du CMH de classe I qui produisent des hormones peptidiques (ex. la thymopoïétine) nécessaires à la différenciation des lymphocytes T et des cellules dendritiques et des macrophages qui sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) donc expriment les molécules du CMH de classe II (et I) qui sont nécessaires à la différenciation des lymphocytes T, Les macrophages sont aussi impliqués dans la destruction des thymocytes apoptotiques éliminés dans la sélection thymique.

Dans la médullaire les cellules épithéliales se regroupent en structure arrondies, les corpuscules de Hassal qui sont composés d'enroulement de cellules épithéliales tassées les uns contre les autres correspondant à des résidus fortement kératinisés de cellules épithéliales médullaire dégénérées dont la signification est obscure.

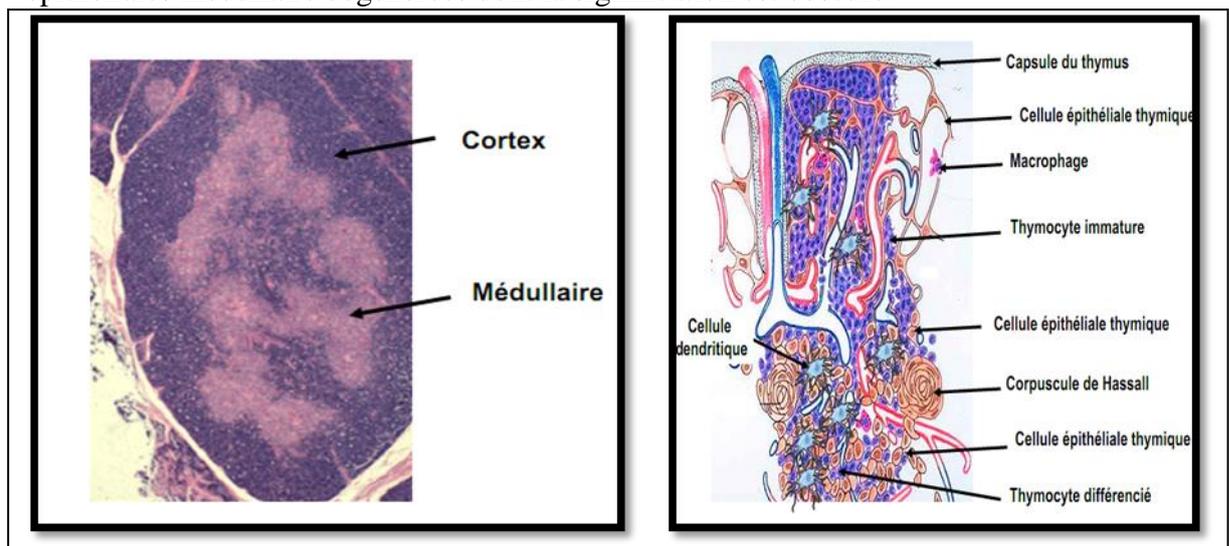


Fig 18 : structure histologique de thymus.

3.1.2.2. Vascularisation du thymus:

Le thymus possède une vascularisation particulière les artères thymiques dérivent des branches des artères mammaires internes, thyroïdiennes inférieures et péricardiques; elles cheminent dans les cloisons interlobulaires, pénètrent dans les lobules par la région médullaires et donnent naissance à un réseau capillaire développé surtout dans la région corticale, les capillaires veineux qui leur font suite se jettent dans de larges veinules post capillaires naissant dans la médullaire, les veines pénètrent dans les cloisons et traversent la capsule.

La circulation lymphatique n'est pas ou très peu représentée: quelques vaisseaux lymphatiques efférents sont localisés dans la paroi des vaisseaux sanguins et la capsule.

3.2. Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques :

3.2.1. La rate:

La rate est l'organe lymphoïde secondaire le plus volumineux de l'organisme, il mesure environ 12 à 13cm de long chez l'adulte, possédant le $\frac{1}{4}$ des lymphocytes corporels et initie les réponses immunitaires. C'est un organe allongé d'environ 150g chez l'homme, situé dans la partie supérieure gauche de l'abdomen.

3.2.1.1. Structure général de la rate:

La rate est entourée d'une capsule conjonctive dense, fine, comportant des fibres élastiques, et des cellules musculaires lisses (dont la proportion varie selon les espèces). La couche la plus externe de la capsule de la rate est composée de cellules mésothéliales, qui ne peuvent pas être évidentes sur les coupes histologiques. La capsule envoie des travées très courtes dans le parenchyme splénique. Ces travées sont complétées par un réseau de fibres de réticuline abondant qui soutien le parenchyme splénique. Dans une travée cheminent une artère et une veine trabéculaires.

La rate ne comprend ni cortex ni médullaire. Au lieu de cela, elle possède deux compartiments distincts morphologiquement et dont leur fonctions diffèrent:

- **La pulpe rouge:**

Assure la fonction hémolytique; un filtre du sang qui permet l'élimination de la circulation sanguine les globules rouges âgés et altérés, les plaquettes ainsi que des substances particulières tel que les micro-organismes.

- **La pulpe blanche:**

Est le composant immunitaire de la rate, elle permet de développer une réponse immune dirigée contre les antigènes du sang. Les cellules qui la constituent sont analogue à celles du ganglion lymphatique, hormis le fait excepté que les antigènes pénètrent dans la rate par l'intermédiaire du sang plutôt que la lymphe.

L'artère splénique traverse la capsule et se divise en artérioles de plus en plus petites, qui se terminent dans des sinus vasculaires qui s'écoulent dans la veine splénique. La pulpe rouge remplie d'érythrocytes entoure les sinus. La pulpe blanche forme un manchon lymphoïde périartériolaire (PALS) autour des artérioles; ce manchon contient de nombreuses cellules T. étroitement associée au PALS, la zone marginale, région riche en cellules B, contient des follicules lymphoïdes qui peuvent se développer en follicules secondaires contenant des centres germinatifs.

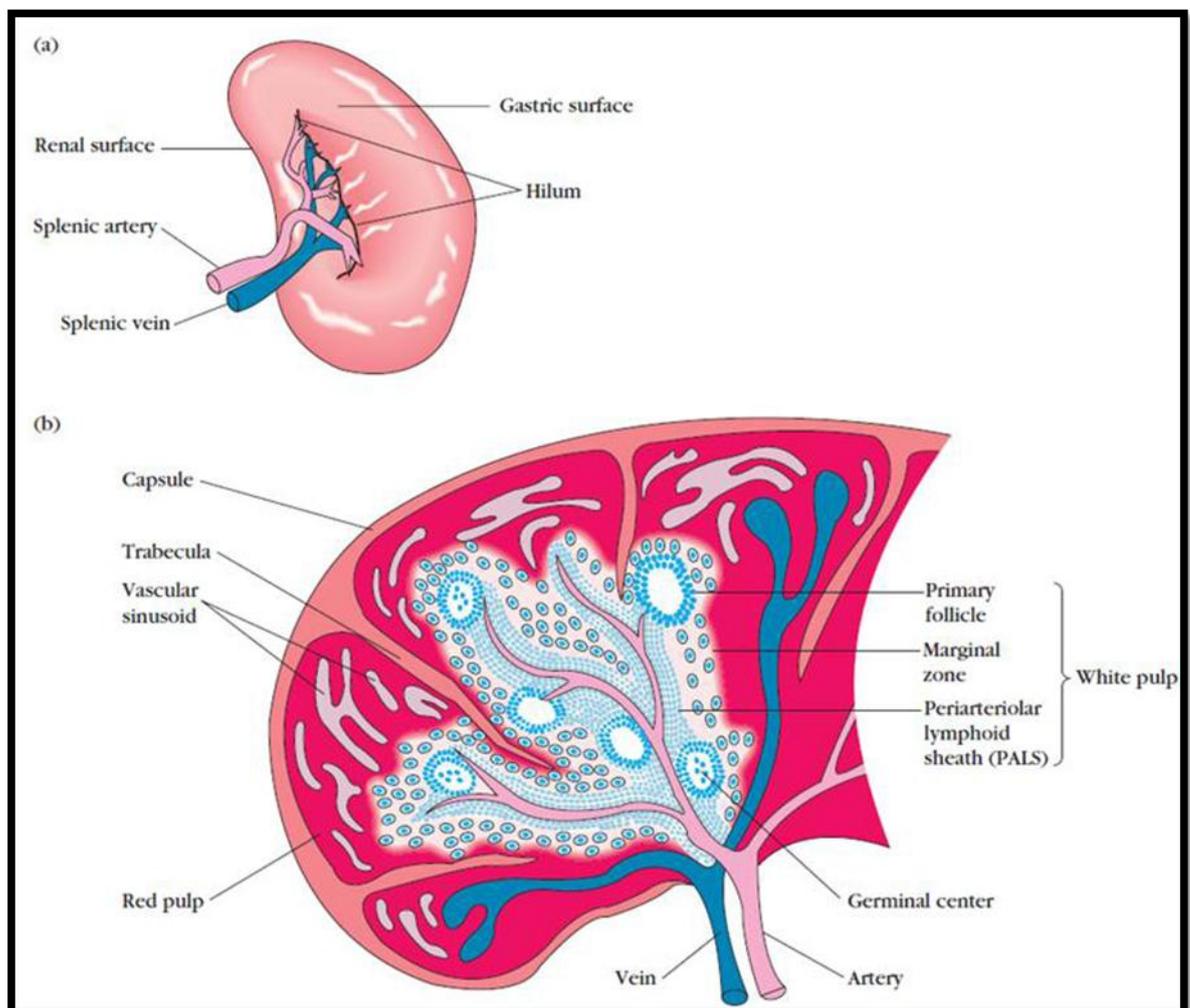


Fig 19 : structure de la rate (J.Kindt, 2008).

3.2.2. Le foie :

Organe abdominal impair et asymétrique de Couleur rouge brune et de forme triangulaire, il Pèse entre 1400 et 1600 g et mesure en moyenne 28 centimètres dans le sens transversal, 16 de haut et 8 d'épaisseur. C'est la plus grande glande annexes du tube digestif.

Le foie est logé chez l'être humain dans l'hypocondre droit, la loge sous-phrénique droite, la partie supérieure du creux épigastrique puis atteint l'hypocondre gauche

Sa face supérieure, convexe, suit les contours du diaphragme. et sa face inférieure est parcourue par trois sillons qui dessinent la lettre H

le ligament coronaire ; le ligament triangulaire droit et gauche et le ligament falciforme.

Entouré d'une capsule fibreuse, la capsule de Glisson.

Les trois sillons divisent le foie en quatre lobes : le lobe droit, le lobe gauche, le lobe carré et le lobe de Spigel (lobe caudé).

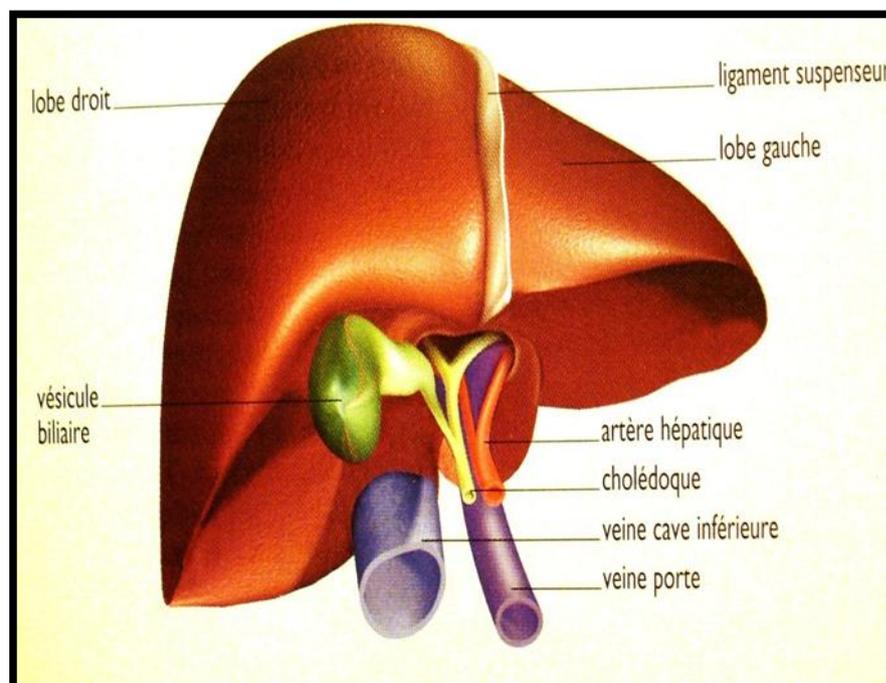


Fig 20 : Structure de foie

3.2.2.1. La vascularisation du foie :

Le foie reçoit deux systèmes vasculaires afférents.

- A. La veine porte qui est formée par l'union de la veine splénique et le mésentérique supérieur
 - Elle apporte au foie le sang de la rate et du tube digestif.
 - Elle draine le sang veineux provenant de la cavité abdominale.
 - Elle pénètre dans le foie par le hile et se ramifie pour former les branches de la veine porte qui sont situées dans les espaces portes.

- B. L'artère hépatique, qui apporte du sang artériel.
- C'est une branche du tronc cœliaque.
 - Elle pénètre par le hile hépatique et se ramifie pour donner naissance aux branches de l'artère hépatique situées elles aussi dans les espaces portes.

Le sang quitte le foie par 3 veines sus hépatiques : droite, médiane et gauche.

Celles-ci se rejoignent pour former la veine sushépatique qui se jette dans la veine cave inférieure

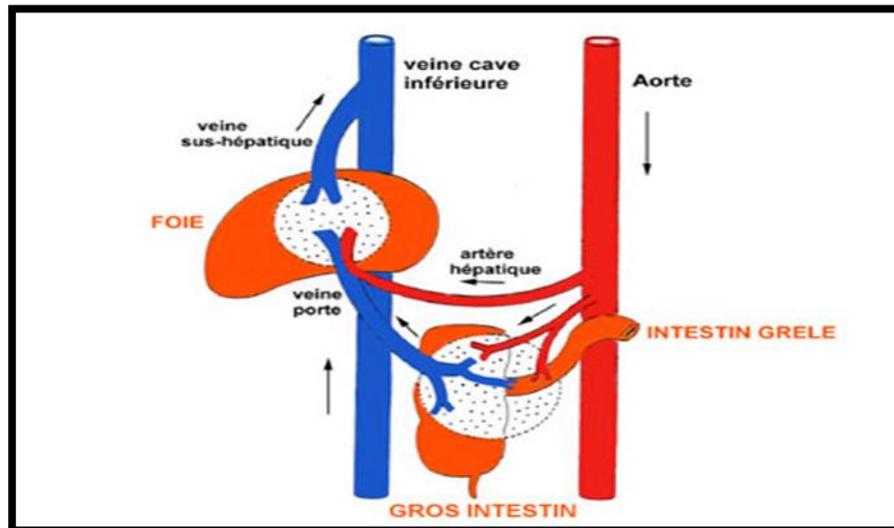


Fig 21 : vascularisation de foie

3.2.2.2. Histologie et cellules du foie :

Sur le plan histologique : organe plein parenchymateux présentant :

- **Capsule de Glisson (capsule conjonctif) :**

Capsule fibreuse qui s'invagine dans le parenchyme hépatique permettant de déterminer des lobules.

-Le foie est entouré non seulement par le péritoine, mais également par une membrane d'enveloppe conjonctive indépendante du revêtement péritonéal.

-Cette membrane entoure les vaisseaux sanguins et biliaires et pénètre avec eux dans le tissu hépatique (elles les engainent jusqu'aux espaces portes).

-C'est cette partie réfléchie intra-hépatique de cette membrane d'enveloppe, que l'on nomme capsule de Glisson (sa nomenclature revient à Francis Glisson).

Le parenchyme : Organisé en lobules qui sont des formations hexagonales, séparés entre eux par des espaces conjonctivo-vasculaires ce sont les espaces porto biliaire ou Kiernan.

- **Le parenchyme hépatique :**

Le parenchyme hépatique est formé de travées de Remack qui sont des lames cellulaires anastomosées, épaisses d'une à deux cellules. Ces dernières sont des hépatocytes entre lesquels il y a des canalicules biliaires.

Les travées de Remack sont séparées les unes des autres par des capillaires radiés (sinusoïdes). L'ensemble est supporté par des fibres de réticuline : les fibres grillagées du parenchyme hépatique.

- **Hépatocytes :**

Cellules hépatiques épithéliales, parenchymateuses. Elles forment des lames d'hépatocytes aplaties, anastomosées dont l'épaisseur est d'une seule cellule, et entre lesquels le sang circule lentement vers la veine centrolobulaire.

3.2.2.3. Fonctions du foie:

- Le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines
- L'élimination des médicaments et des hormones
- L'excrétion de la bile et La synthèse des sels biliaires-
- La phagocytose

3.2.3. Les ganglions lymphatiques :

Les ganglions lymphatiques sont de petits organes réniformes (forme de haricot) répartis le long des vaisseaux lymphatiques. Il mesure quelques mm et est entouré d'une capsule conjonctive ; il est richement irrigué. Ils sont disposés en groupe profond ou en groupe superficiel.

Il y a environ 4 ou 5 vaisseaux lymphatiques qui pénètrent dans un ganglion (vaisseaux afférents) et un seul vaisseau transportant la lymphe hors du ganglion (vaisseaux efférent).

Les ganglions lymphatiques sont des points essentiels de passage des lymphocytes de la lymphe vers le sang ou des monocytes ou macrophages du sang vers la lymphe

Il existe des ganglions cervicaux, ganglions sus-claviculaires, ganglions trachéo-bronchiques, ganglions axillaires, ganglions du hile du foie, ganglions mésentériques, ganglions lombaires, ganglions iliaques, et ganglions inguinaux.

Ils ont une fonction dans le filtrage et phagocytose.

3.2.3.1. Histologie :

- Le ganglion lymphatique est entouré d'une capsule fibreuse
- Le parenchyme ganglionnaire comprend trois zones:

- **corticale:**

Contient les follicules lymphoïdes: amas ovalaires formés de lymphocytes B et de cellules dendritiques. Avant stimulation antigénique, ces follicules au repos (follicules primaires) sont formés de petits lymphocytes B serrés les uns contre les autres, après la stimulation par l'antigène, ils se transforment en follicules secondaires, comprenant un centre clair (centre germinatif) où les lymphocytes sont transformés en immunoblastes, qui achèvent leur différenciation en plasmocytes ou en lymphocytes B mémoire dans la zone médullaire.

- **paracorticale (La région moyenne) :**

Ne contient pas de follicules lymphoïdes, C'est une aire thymo-dépendante, riche en lymphocytes T et en cellules dendritiques, Après stimulation par l'antigène, les lymphocytes T se transforment en immunoblastes T.

- **La zone médullaire:**

Contient des plasmocytes issus des immunoblastes et des macrophages.

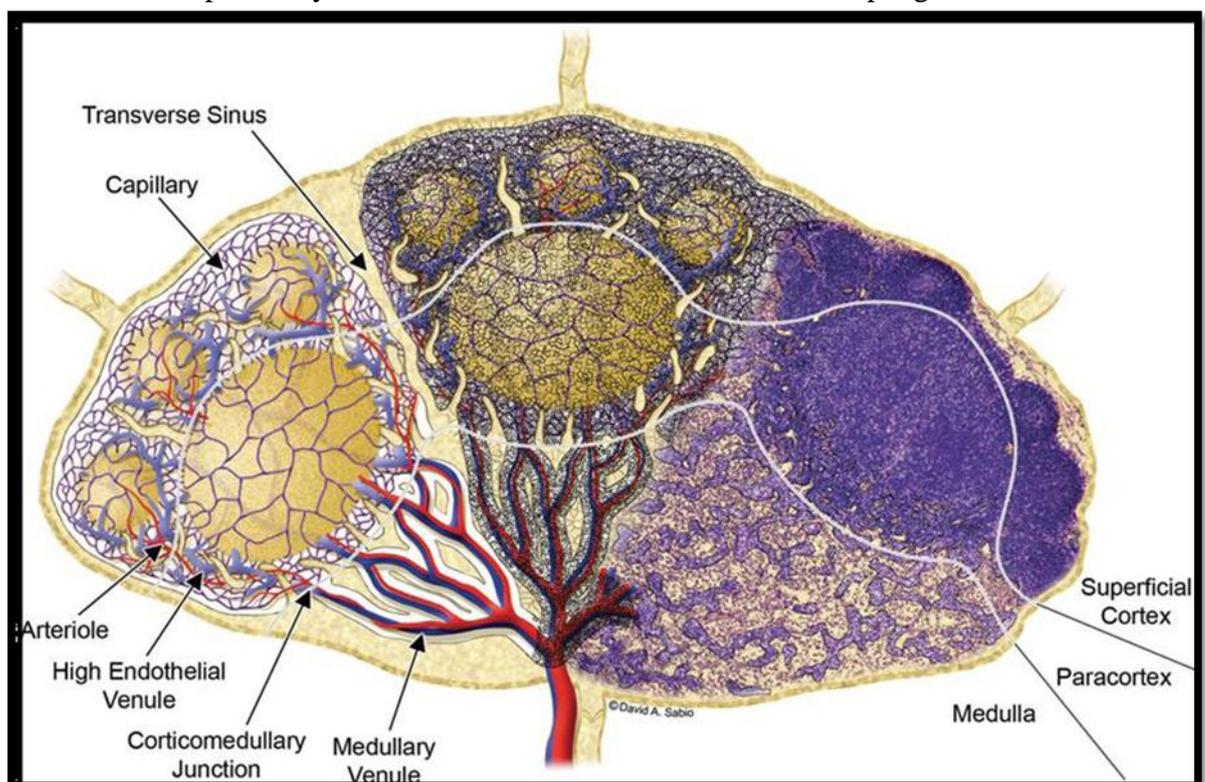


Fig 22 : Structure générale d'un Ganglion Lymphatique

(Willard-Mack, 2006).

3.2.4. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT):

Ils sont localisés dans l'ensemble du corps ils contiennent des lymphocytes B et des lymphocytes T qui auront migré de la moelle osseuse et du thymus. Ce tissu lymphoïde ne contient pas de vaisseaux lymphatiques afférents et il ne filtre pas la lymphe.

-Les amygdales (ou cercle lymphoïde de Waldeyer) :

Elles sont situées dans la bouche (amygdales palatine), dans la gorge au niveau de la paroi de l'oro-pharynx. Leur taille varie, mais elles sont plus importantes chez l'enfant. Elles peuvent détruire les antigènes qui sont avalés ou inhalés et comme peuvent être le siège d'inflammation (amygdalite ou angine).

-Le tissu lymphoïde de l'intestin (Plaques de Peyer):

il est situé au niveau de l'extrémité distale de l'iléon, les replis de la muqueuse intestinale diminuent de plus en plus. On trouve la présence de nombreux follicules lymphoïdes ou plaques de Peyer (qui sont le plus petit niveau des ganglions lymphatiques), ils rendent les agents pathogènes inoffensif.

Chapitre IV

L'immunité intestinale

4.1. L'immunité intestinale:

4.1.1. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT) :

Le tube digestif représente une immense surface de contact direct avec les aliments, les bactéries de la flore commensale, mais également avec certains pathogènes invasifs issus du milieu extérieur. Ainsi, l'intestin doit avoir une capacité de surveillance immunitaire.

La barrière intestinale limitant l'accès des substances nuisibles à l'organisme est composée de plusieurs éléments : les enzymes pancréatiques, l'épithélium intestinal, les bactéries de la flore commensale et le tissu lymphoïde secondaire. Les structures lymphoïdes secondaires comprennent des organes structurés comme la rate ou les ganglions lymphatiques et les accumulations lymphoïdes non encapsulées. Le tissu lymphoïde que l'on trouve associé aux muqueuses est appelé MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue). Ces tissus sont associés aux muqueuses où s'effectue la première rencontre avec les antigènes entrants.

Les composants mineurs de MALT sont :

- (NALT) Le tissu lymphoïde associé au nez
- (VALT) Le tissu lymphoïde associé vulvo-vaginal
- (le SALT) Le tissu lymphoïde associé à la peau

Deux composants majeurs du MALT :

- (Le BALT) le Tissu lymphoïde Associé Bronchique
- (le GALT) le Tissu lymphoïde associé à l'intestin

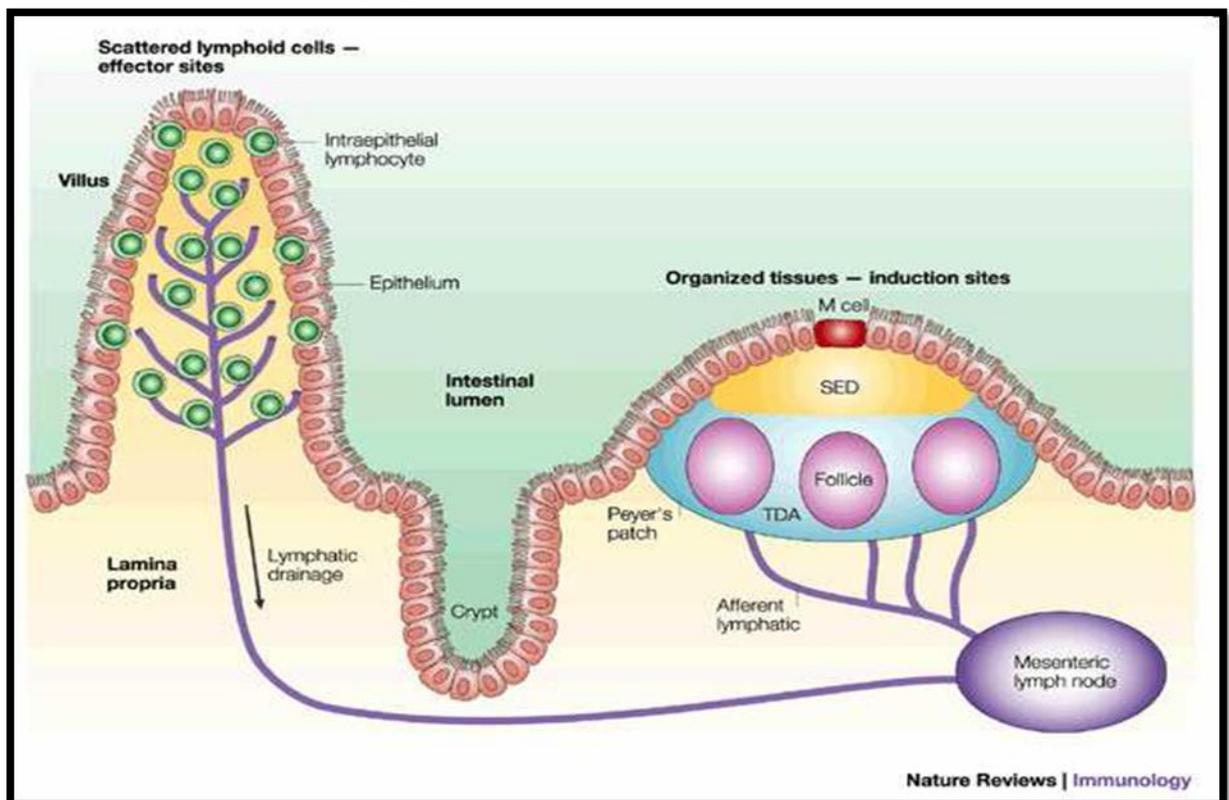


Fig 23 : tissu lymphoïde associé a la muquese intestinale (GALT)

4.1.1.1. Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale : le GALT :

Le GALT est divisé en deux compartiments : le GALT organisé et le GALT diffus.

4.1.1.1.1. Le GALT organisé :

Le GALT organisé est le site d'induction de la réponse immunitaire intestinale. Il est formé des plaques de Peyer et des ganglions mésentériques où se font la maturation et l'activation des cellules effectrices de la réponse.

✓ Les plaques de Peyer :

Sont des agrégats lymphoïdes macroscopiques situés dans la muqueuse de l'intestin grêle. Elles sont séparées de la lumière par une monocouche de cellules (follicle associated epithelium : FAE) formée de cellules épithéliales, de cellules M, de lymphocytes intraépithéliaux et de quelques cellules caliciformes. Ces cellules sont spécialisées dans l'absorption des antigènes. Sous le FAE, se trouve une région diffuse, le dôme subépithélial formé de cellules dendritiques et de quelques macrophages, en dessous de laquelle se trouve le centre germinatif comprenant de nombreux follicules constitués de lymphocytes B IgM+, précurseurs des cellules plasmiques productrices d'immunoglobuline-A (IgA).

Entre les follicules se trouvent les zones interfolliculaires comprenant des lymphocytes T (pour la plupart T helper), des cellules dendritiques matures et des macrophages.

Les plaques de Peyer ne sont pas irriguées par les vaisseaux lymphatiques afférents et l'ensemble des cellules gagne ces structures via la circulation sanguine au travers des veinules post-capillaires.

Le trafic cellulaire au départ des plaques de Peyer se fait par des vaisseaux lymphatiques efférents.

✓ Les ganglions mésentériques:

Sont situés dans le mésentère intestinal et sont divisés en trois régions de composition cellulaire différente :

-**Le cortex** : est constitué de follicules primaires et secondaires riches en lymphocytes B et en cellules dendritiques.

-**Le paracortex** : contient une forte proportion de lymphocytes T et de cellules dendritiques.

-**La zone médullaire** : est la région la plus profonde des ganglions, elle se compose de lymphocytes T et B et de plasmocytes.

4.1.1.2. Le GALT diffus :

Le GALT diffus est l'effecteur de la réponse immunitaire. Il est formé des populations lymphocytaires dispersées entre les cellules épithéliales : les lymphocytes intraépithéliaux ou lymphocytes de la lamina propria. La lamina propria contient une population hétérogène de lymphocytes et de cellules myéloïdes : macrophages, cellules dendritiques, neutrophiles et mastocytes.

4.2. La réponse immunitaire intestinale :

Lors d'une agression au niveau intestinal, le GALT permet l'induction d'une réponse inflammatoire. Afin que celle-ci se développe, les cellules T naïves doivent gagner les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques où se fait leur activation par la présentation de l'antigène suivie de leur polarisation en cellules effectrices de type Th1, Th2 ou Th17.

Ces cellules effectrices quittent ensuite les structures lymphoïdes pour gagner la circulation générale, rejoindre le site d'infection et détruire l'agent pathogène.

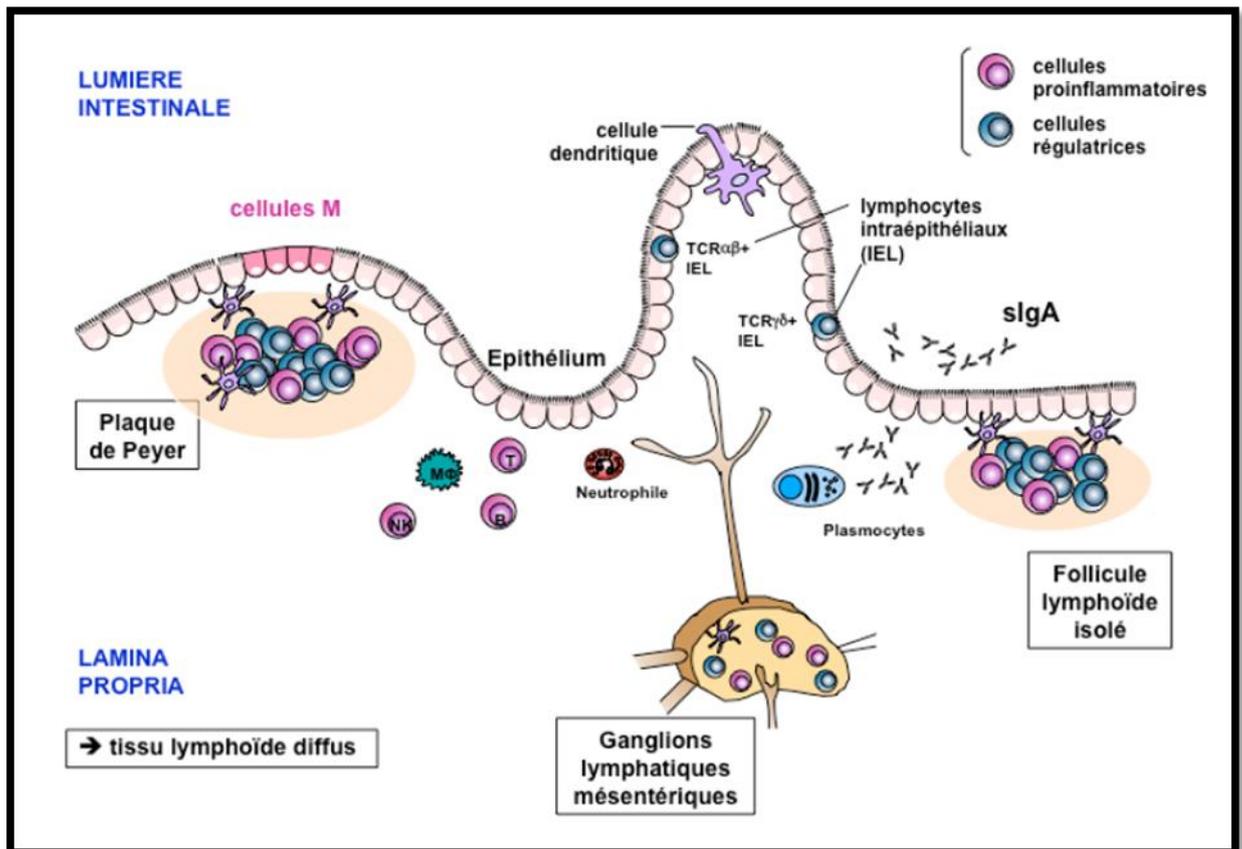


Fig 24 : Mise en route d'une réponse immunitaire

4.3. L'intégration de l'antigène :

L'antigène peut pénétrer la muqueuse intestinale de différentes façons.

La voie principale d'intégration de l'antigène passe par les cellules M de la monocouche cellulaire située en surface des plaques de Peyer.

La membrane apicale des cellules M favorise l'adhésion et l'intégration des agents luminaux comme les macromolécules, les molécules d'adhésion, les virus ou les bactéries. Ces cellules peuvent également intégrer certaines protéines alimentaires ou encore les IgA.

Les cellules M internalisent l'antigène luminal par endocytose ou phagocytose.

Les vésicules migrent alors jusqu'à la membrane baso-latérale de la cellule et relarguent l'agent infectieux dans la matrice extra-cellulaire. La membrane baso-latérale des cellules M possède de nombreuses invaginations contenant des lymphocytes et des macrophages impliqués dans la prise en charge de l'antigène pour sa présentation.

La seconde voie d'intégration des antigènes implique directement les entérocytes. Cependant, ceux-ci sont moins accessibles que les cellules M du fait de la présence d'un glycocalyx riche en enzymes hydrolytiques bloquant l'entrée d'agrégats macromoléculaires et de microorganismes. Il semblerait qu'ils soient également capables de présenter l'antigène aux cellules T.

L'intégration des antigènes luminaux peut également se faire par un mécanisme paracellulaire, via le passage des dendrites des cellules dendritiques entre les entérocytes. Une fois intégré, l'antigène luminal est transporté jusqu'aux cellules présentatrices d'antigènes (CPA) localisées sous le dôme subépithélial des plaques de Peyer.

Les CPA internalisent l'antigène et le convertissent en peptide antigénique exprimé à la surface des cellules associé au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II afin d'être reconnu par les récepteurs des cellules T (TCR : T cell receptor).

Les CPA activées peuvent interagir directement avec les lymphocytes T des plaques de Peyer ou migrer dans les ganglions mésentériques.

4.4. La migration cellulaire et l'activation des lymphocytes T :

Les ganglions mésentériques sont le lieu principal de l'activation des lymphocytes T effecteurs. Ainsi, les lymphocytes T naïfs doivent gagner les ganglions mésentériques depuis le sang via les veinules post-capillaires HEVs.

Ce phénomène de recrutement et d'activation des lymphocytes T est contrôlé par une séquence de trois étapes moléculaires distinctes : signalisation et adhésion des cellules T à la surface endothéliale, roulement à la surface de l'endothélium puis activation.

Les ganglions mésentériques et les HEVs expriment, sous l'influence de cytokines comme le TNF- α , des molécules d'adhérence MAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1) et PNA_d (peripheral lymphnode addressin) avec lesquelles vont se lier les L-sélectines situées à la surface des lymphocytes. Ceci entraîne le roulement et le ralentissement des lymphocytes T à la surface de l'endothélium.

Les interactions entre les intégrines des lymphocytes T et les molécules d'adhérence de l'endothélium (ICAM-1 et MAdCAM-1) ainsi que celles entre les chémokines du tissu lymphoïde secondaire et les récepteurs correspondant des cellules T vont permettre une forte adhésion de ces cellules suivie de leur arrêt puis de leur extravasation dans les ganglions mésentériques. Une fois les cellules T CD4⁺ dans les ganglions mésentériques, elles se lient au complexe CMH-antigène à la surface des CPA ce qui induit leur activation. Au cours de cette première activation, les cellules T perdent leur L-sélectine et expriment d'autres molécules d'adhésion spécifiques au retour à l'intestin ($\alpha\beta 7$, CCR9, LFA-1, VLA-4 et CD44).

4.5. Le retour des lymphocytes T sur le lieu de l'infection :

Une fois activées, ces cellules regagnent la circulation systémique via les vaisseaux lymphatiques efférents. Cette migration est à nouveau régulée par les interactions entre $\alpha 4\beta 7$ et CCR9 avec les molécules MAdCAM-1 et CCL25 des veinules post-capillaires.

Lorsque les lymphocytes T activés regagnent l'intestin où a lieu l'infection, une seconde interaction avec le peptide antigénique présent sur une population variée de CPA (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B) résulte en une réponse plus rapide et plus vive des cellules T avec une forte augmentation de la production d'IFN- γ , d'IL-17, de TNF- α , de lymphotoxine- α et d'IL-2. L'IL-2 va favoriser l'expansion clonale des cellules T et stimuler la fonction des cellules T helper et des cellules B. L'IFN- γ active les CPA et les macrophages pour la production d'IL-12.

De plus, les macrophages ainsi activés vont augmenter leur production de TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 ainsi que d'EROs et d'ERAs. L'IFN- γ , le TNF- α et l'IL-17 ont une action combinée pour stimuler l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales des veinules post-capillaires afin de favoriser la migration des lymphocytes T effecteurs.

L'ensemble résulte en une production massive de cellules Th1, Th2 ou Th17 et de médiateurs de l'inflammation dérivés des macrophages ainsi qu'en un recrutement de leucocytes pouvant conduire à l'induction d'une inflammation chronique.

4.6. Les immunoglobulines de la muqueuse intestinale :

Certaines cytokines comme l'IL-4, l'IL-5 ou le TGF- β induisent la synthèse d'IgA par les lymphocytes B folliculaires dans les plaques de Peyer.

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines principalement synthétisées par les lymphocytes B et présentes dans la plupart des sécrétions externes en particulier au niveau des muqueuses.

L'IgA principalement synthétisée dans la lamina propria est l'immunoglobuline la plus abondante dans la muqueuse intestinale (80-90%) et joue un rôle important dans la première ligne de défense contre les toxines ainsi que lors de la colonisation ou de l'invasion par des pathogènes. L'IgM (immunoglobuline M) est également présente à la surface de l'intestin mais en plus faible proportion (6-18%) que l'IgA en raison d'un nombre plus faible de cellules productrices ainsi que d'un transport dans la lumière moins efficace. L'IgG (immunoglobuline G) est l'isotype mineur de la muqueuse intestinale. Malgré le fait qu'il n'y ait pas de transporteur actif de l'IgG, une voie paracellulaire lui permet de gagner la lumière intestinale. (L.LENOIR, 2011)

Les altérations et les déséquilibres des fonctions du GALT laissent place au développement et à l'évolution des pathologies inflammatoires intestinales soit aiguës soit chroniques peuvent évoluer vers les FCA qui elles mêmes peuvent se compliquer en foyer tumoraux

Chapitre V

Pathologie Inflammatoires de l'Intestin

5.1. Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII) :

Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII) constituent un groupe d'affections qui entraînent la formation d'abcès ou de fissure, l'inflammation et l'ulcération graves de certaines portions du tube digestif (de la bouche au rectum).

Une réponse immunitaire anormale serait en cause dans les deux principales formes de MII, soit la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse.

En l'absence d'un traitement curatif, la prise en charge actuelle a pour objectif d'obtenir la disparition des symptômes et de la maintenir. La plupart des personnes atteintes ont besoin d'une médication continue; lorsque les médicaments ne font pas effet, la chirurgie est souvent nécessaire.

Ces affections durent toute la vie; elles apparaissent généralement chez de jeunes adultes menant une vie active et par ailleurs en bonne santé.

La maladie de Crohn et la colite ulcéreuse surviennent aussi chez les enfants et les diagnostics de MII sont de plus en plus fréquents chez les jeunes enfants.

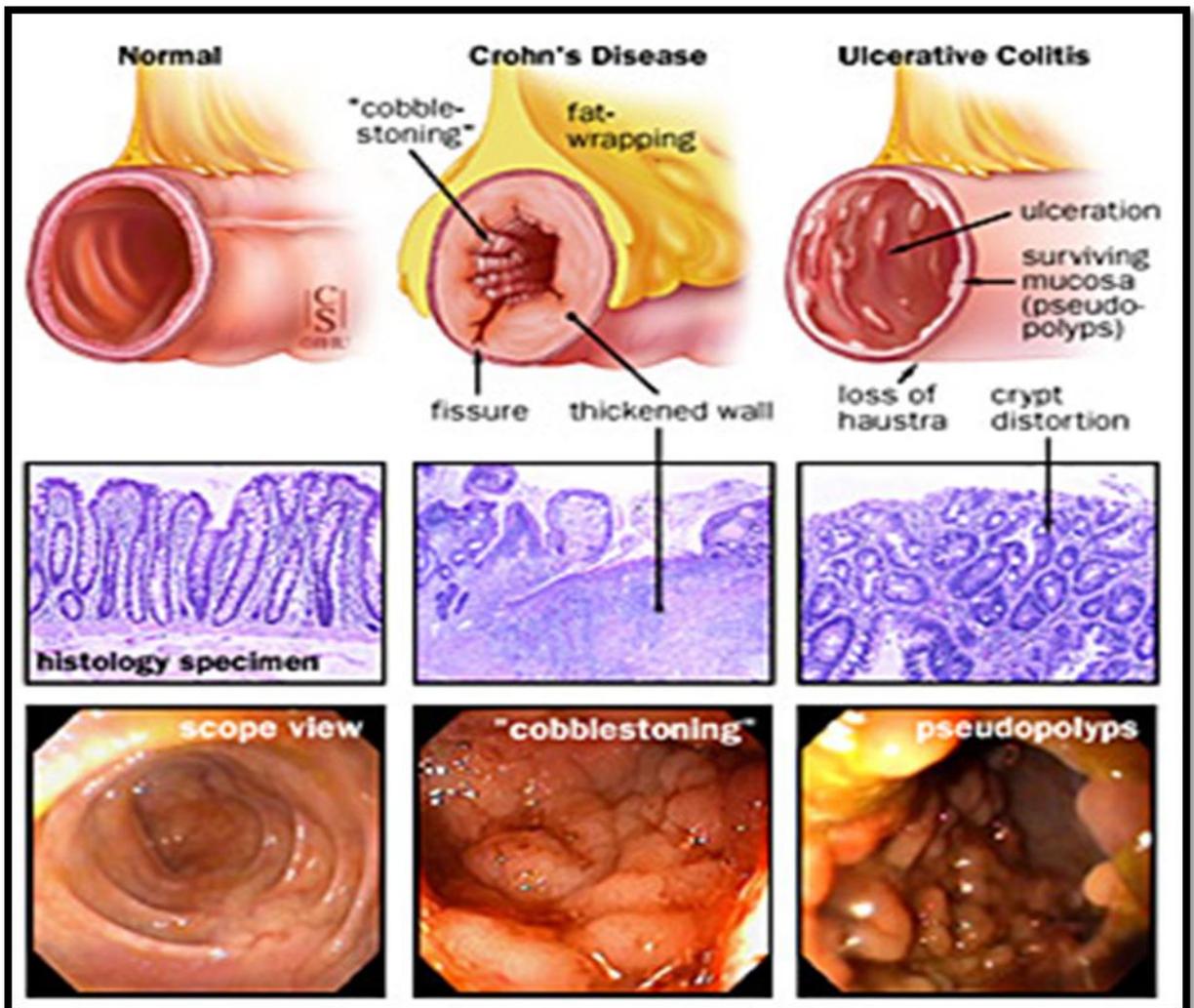


Fig 25 : Aspect anatomopathologique de la maladie de Crohn et de la RCUH

5.2. L'inflammation intestinale :

5.2.1. La réaction inflammatoire :

La réaction inflammatoire est une réponse locale mise en place à la suite d'une lésion ou d'une infection tissulaire. Elle se déroule en trois étapes principales : une augmentation de l'apport sanguin sur le site de l'infection favorisant la migration des leucocytes et des protéines sériques, une augmentation de la perméabilité capillaire favorisant l'exsudation des protéines sériques (anticorps, complément, kininogènes) et une augmentation de la migration leucocytaire dans le tissu. ()

5.2.1.1. Inflammations aiguës :

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses.

Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante.

5.2.1.2. Inflammations chroniques :

Inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années.

On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

✓ les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.

✓ Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. ()

5.2.2. Initiation de l'inflammation :

Une agression par des microorganismes ou une lésion tissulaire induit de nombreuses réponses initiées par le tissu lésé comme la libération de cytokines pro-inflammatoires permettant l'activation du système vasculaire et des cellules immunitaires.

Ces réponses sont à leur tour associées à une production accrue de cytokines et d'autres médiateurs de l'inflammation qui diffusent dans les fluides extracellulaires et circulent dans le sang.

5.2.3. Cytokines et initiation de la phase aiguë de l'inflammation :

- **Les cytokines**

Les cytokines sont des peptides de faible poids moléculaire sécrétés par les cellules inflammatoires (neutrophiles, polymorphonucléaires et macrophages) et impliqués dans l'initiation, l'amplification et la régulation de la réponse inflammatoire. Elles déclenchent également la synthèse et le relargage dans le plasma des protéines

de la phase aiguë de l'inflammation et sont associées à d'autres molécules de signalisation intra- et extracellulaire comme le monoxyde d'azote ou les glucocorticoïdes.

Les cytokines ont différents modes d'action : certaines initient et amplifient la réponse, d'autres la soutiennent ou l'atténuent, quelques-unes tendent à arrêter le processus inflammatoire induit par les premières.

On peut ainsi distinguer trois grands groupes de cytokines:

- les cytokines agissant comme facteurs de croissance positifs ou négatifs : interleukine-2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12 et GM-CSF (granulocyte macrophage – colony stimulating factor)
- les cytokines à activité pro-inflammatoire : tumor necrosis factor- α/β (TNF- α/β), IL-1 α/β , IL-6, interféron- α/γ (IFN- α/γ), IL-8 et MIP-1 (macrophage inhibitory protein 1)
- les cytokines à activité anti-inflammatoire : antagoniste du récepteur à l'IL-1, récepteur à l'IL-1 soluble, TNF- α binding protein, IL-1 binding protein.

- **Réponses induites par les cytokines :**

Les cytokines pro-inflammatoires sont responsables de nombreuses réponses locales et systémiques à l'inflammation : activation du système neuro-endocrinien et réduction de la sécrétion des hormones de croissance. Elles induisent également des modifications physiques telles que l'apparition de fièvre, d'anorexie ou encore de catabolisme musculaire. De nombreuses modifications au niveau sanguin peuvent également être décrites comme l'activation du complément ou du système de coagulation, une diminution des taux sériques de calcium, zinc, fer, vitamine A et α -tocophérol, des perturbations des taux de protéines plasmatiques dues à la modification du métabolisme hépatique.

Les cytokines induisent également l'expression des récepteurs aux protéines du complément et des sélectines à la surface des cellules endothéliales permettant le recrutement des cellules de l'inflammation depuis la circulation sanguine. Elles activent les cellules inflammatoires ainsi recrutées et développent leur activité de défense (expression des récepteurs au complément, déclenchement de la flambée respiratoire).

De plus, elles stimulent l'expression d'autres cytokines comme les chémokines, qui recruteront à leur tour les cellules de l'inflammation.

5.2.4. Activation des voies de signalisation :

Les trois principales cytokines pro-inflammatoires synthétisées sont le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6.

Lors de l'induction de la réponse inflammatoire, l'IL-6 joue un rôle central et son expression est finement régulée.

Le TNF- α est produit en premier suivi de l'IL-1 β puis de l'IL-6. TNF- α et IL-1 β stimulent la production de l'IL-6 qui exerce un rétrocontrôle négatif sur leurs expressions. De plus, l'IL-6 stimule sa propre production ainsi que celle des glucocorticoïdes qui exerceront également un rétrocontrôle négatif sur ces trois cytokines.

La liaison de ces cytokines à leurs récepteurs à la surface des hépatocytes induit la transmission du signal inflammatoire via la phosphorylation de facteurs de transcription tels que NF-IL6 (Nuclear Factor-IL6) ou l'inhibiteur I κ B auquel est associé NF- κ B. Ceci permet

la translocation de ces facteurs de transcription dans le noyau, suivie de la transcription des gènes des protéines de la phase aiguë également nommées APP (Acute Phase Proteins).

5.2.5. Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation :

Lors de la phase aiguë de l'inflammation, une rapide augmentation ou diminution de la concentration de certaines protéines plasmatiques est observée.

Il s'agit des protéines de la phase aiguë (APP) qui jouent un rôle important dans la restauration de l'homéostasie après une infection. Les APP sont définies comme celles dont la concentration augmente (positive acute phase protein) ou diminue (negative acute phase protein) dans le plasma d'au moins 25% au cours de l'inflammation. La synthèse des APP se fait quasi exclusivement dans le foie.

La première protéine de la phase aiguë, la protéine C-réactive (C-Reactive Protein : CRP), a été décrite en 1930 chez des patients infectés par un pneumocoque et sa concentration peut être multipliée par 1000 au cours de certaines pathologies.

Les protéines de la phase aiguë jouent différentes fonctions : hémostatiques comme le fibrinogène, antimicrobiennes et phagocytiques comme la CRP ou le complément, anti-thrombotiques (α 1-acide-glycoprotéine : α 1-AGT) ou encore anti-protéolytiques (α 2-macroglobuline : α 2-MG, α 1-antitrypsine, α 1-antichymotrypsine).

Parmi ces protéines, on distingue deux groupes : les APP de type I telles que le sérum amyloïde A (SAA), la CRP, le complément C3 ou l'haptoglobine, dont les expressions sont induites par les cytokines de type IL-1 like (IL-1 α / β , TNF- α , TNF- β) et les APP de type II : fibrinogène, haptoglobine et α 2-macroglobuline dont l'expression est régulée par les cytokines IL-6 like (IL-6, IL-11).

5.2.6. La migration leucocytaire :

Lors de la phase aiguë, la production de médiateurs vasoactifs induit une augmentation du flux vasculaire.

La vasodilatation des vaisseaux au niveau local favorise l'extravasation des protéines plasmatiques dans le tissu. En parallèle, la production de cytokines sur le lieu de l'agression favorise la circulation des leucocytes du sang vers le tissu.

Les neutrophiles polymorphonucléaires (PNN) sont les premières cellules à gagner le site de l'infection. Ce sont des cellules phagocytaires majoritaires qui représentent 60 à 70% des leucocytes et constituent le type cellulaire principalement impliqué dans la réaction inflammatoire innée. S'en suit une activation des phagocytes mononucléaires et des lymphocytes.

Lorsque l'inflammation devient chronique, de nombreux lymphocytes T porteurs du CD4 ainsi que des phagocytes mononucléaires sont recrutés.

Les leucocytes sont recrutés au cours de l'agression par la synthèse de molécules d'adhérence et d'agents chimiotactiques.

Parmi les cellules impliquées dans la synthèse de ces facteurs, les phagocytes mononucléaires libèrent les cytokines inflammatoires TNF- α ou IL-1 qui induisent l'expression de l'E-sélectine à la surface des cellules endothéliales ainsi que de la P-sélectine conservée dans l'endothélium et qui pourra être libérée à la surface des cellules lorsque l'endothélium est activé ou endommagé. Ces deux protéines exprimées à la surface des cellules

endothéliales favorisent le phénomène de margination en permettant l'interaction avec les PNN circulants et le ralentissement de ceux-ci via leurs glycoprotéines de surface.

Le $\text{TNF-}\alpha$ et l' $\text{IFN-}\gamma$ induisent également l'expression de molécules d'adhérence endothéliale ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) et VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) qui interagissent respectivement avec les intégrines $\alpha 1\beta 2$ et $\alpha 4\beta 1$ situées sur les membranes de neutrophiles et dont l'expression est stimulée par l'activation des cellules. Les neutrophiles migrent ensuite au travers de la paroi endothéliale et interagissent avec les protéines de la matrice extracellulaire (collagène, laminine, fibronectine).

Les neutrophiles agissent en reconnaissant les microorganismes de manière non spécifique, les ingèrent, les détruisent et meurent ; ce sont des cellules à durée de vie courte. Elles possèdent un riche arsenal en protéines antibiotiques concentrées dans trois types de granules. Les granules (azurophiles) primaires contiennent les protéinases (cathepsine G, élastase et protéinase 3), la myéloperoxydase (MPO) ainsi que le lysozyme.

Les granules secondaires participent à la reconstruction de composants membranaires et contiennent des molécules permettant de limiter les réactions avec les radicaux libres (lactoferrine, transcobalamine II) et du lysozyme. Les lysosomes contiennent les hydrolases acides.

Les organismes ingérés sont contenus dans des vacuoles appelées phagosomes qui fusionnent avec les granules pour former les phagolysosomes dans lesquels ils sont détruits.

5.3. Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin (MICI) :

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) représentent un groupe de maladies idiopathiques caractérisées par une inflammation chronique de l'intestin.

Ce groupe correspond à deux grandes affections : la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Ces deux affections comportent des caractéristiques cliniques et pathologiques distinctes mais il existe également un certain chevauchement.

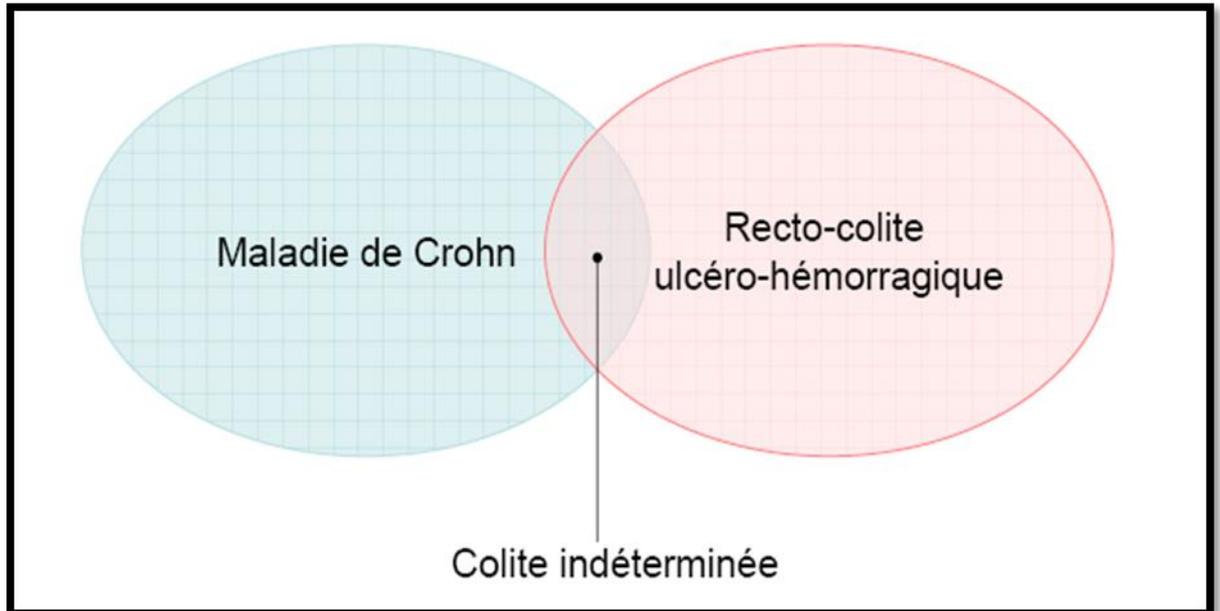


Fig 26 : Représentation des pathologies reprises sous le terme de MICI.

La pathogénèse des MICI n'est que partiellement connue à ce jour. Des facteurs génétiques et environnementaux tels qu'une modification de la flore bactérienne intra-luminale et une perméabilité intestinale accrue jouent un rôle dans la dérégulation de l'immunité intestinale, avec pour effet des lésions gastro-intestinales.

Pour pouvoir poser un diagnostic de MICI il est impératif de procéder à un examen clinique complet et à une anamnèse soignée. Divers examens parmi lesquels prises de sang, examen des selles, endoscopie, biopsies et imagerie peuvent être utiles pour exclure d'autres origines à la symptomatologie et pour confirmer le diagnostic. (1)

5.3.1. La maladie de Crohn (MC) :

La maladie de Crohn se présente habituellement chez un jeune adulte par des douleurs abdominales accentuées après les repas, de la diarrhée, de la fatigue, un amaigrissement et un état subfébrile.

Elle évolue par poussées inflammatoires dont l'intensité et la fréquence varient selon les patients. La perte sanguine chronique, due à l'inflammation intestinale, peut se manifester sous forme de rectorragie en cas d'atteinte colique et peut, en étant associée à un apport alimentaire déficient, entraîner une anémie. La malnutrition, la malabsorption et la perte

de poids sont fréquentes à tous les stades de la maladie de Crohn. Environ 10 % à 15 % des patients consultent dans le cadre d'une atteinte périanale, de fièvre ou suite à une manifestation extra-intestinale et ne présenteront des douleurs abdominales et des diarrhées que par la suite.

Le syndrome inflammatoire est marqué au niveau sanguin par une hyperleucocytose avec polynucléose et une augmentation des protéines inflammatoires. Ces protéines, dont la C-réactive protéine (CRP), servent de marqueurs de l'activité et de l'évolution de la pathologie. Un taux sérique de CRP augmenté est associé à une MC active, observable en colonoscopie, ou annonce une rechute de la maladie lorsqu'elle est associée à une stabilité clinique. Une hypo-albuminémie, une thrombocytose ainsi qu'une anémie sont également typiquement associées.

Outre les manifestations intestinales de la MC, 6-47% des malades présentent des manifestations extra-intestinales. Celles-ci peuvent être difficiles à différencier des complications extra-intestinales de la MC dues par exemple à la malnutrition, à l'inflammation chronique ou à des effets secondaires de la thérapeutique. Ces manifestations extra-intestinales et semblent être liées à une prédisposition génétique. En effet, un taux élevé de concordances entre jumeaux (80%) et apparentés (68%) suggère la présence d'un terrain génétique prédisposant.

5.3.2. La recto-colite ulcéro-hémorragique (RCUH) :

La RCUH est caractérisée par une inflammation chronique évolutive touchant exclusivement le rectum et le colon. Elle se caractérise par des phases aiguës entrecoupées de périodes de rémission.

Les manifestations cliniques principales de la RCUH sont la douleur abdominale et la diarrhée. L'atteinte rectale isolée entraîne un tableau clinique de rectorragie, ténésme et parfois constipation. La majorité des patients atteints de RCUH présentent une maladie intermittente et d'une gravité allant de mineure à modérée.

Chez les patients présentant une forme sévère, la totalité du colon est atteinte, menant à une diarrhée importante et à des symptômes systémiques tels que fièvre et amaigrissement. Comme pour la maladie de Crohn, des manifestations extra-intestinales sont associées à la RCUH.

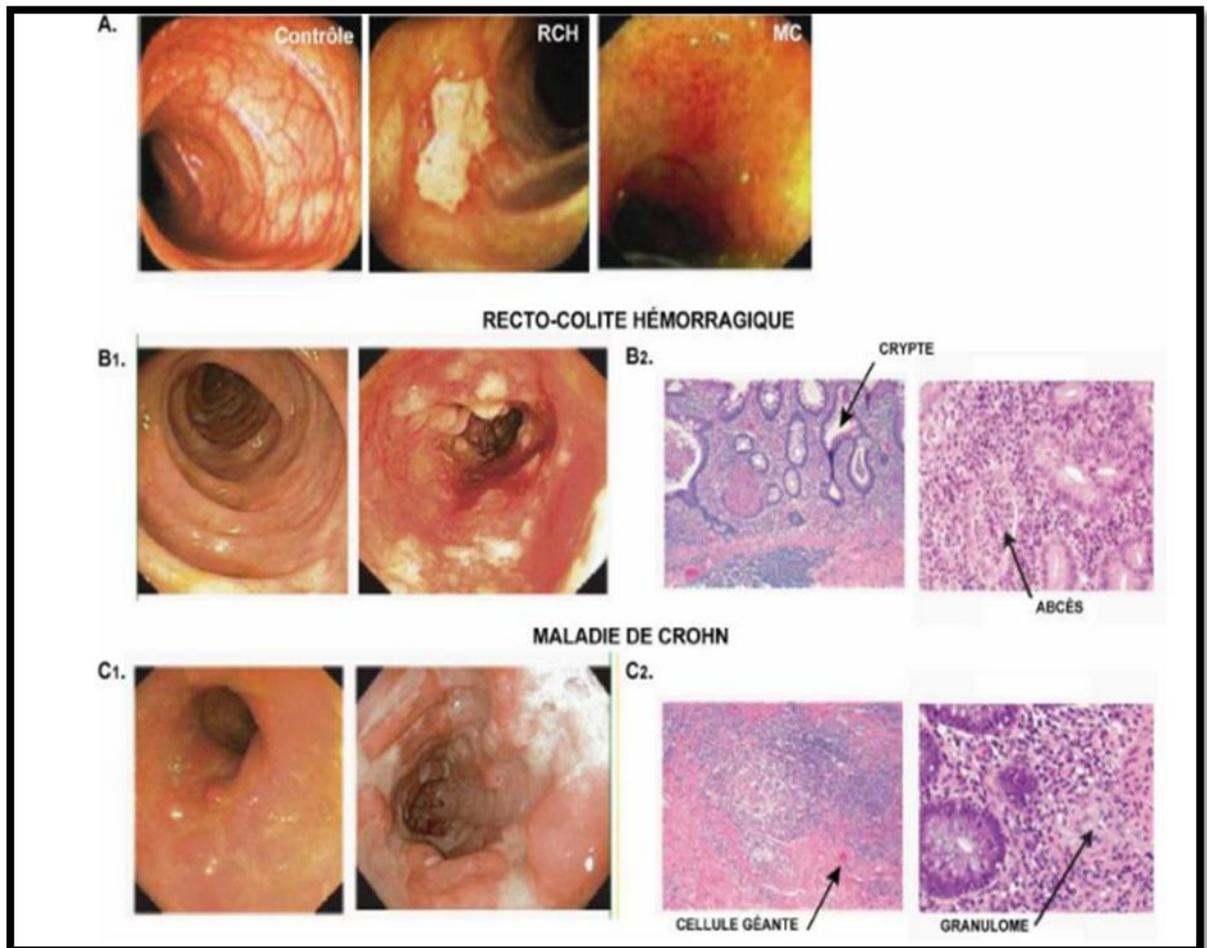


Fig 27: Caractéristiques anatomo-pathologiques des MICI.

5.4. Les facteurs de risque :

Il existe Plusieurs facteurs de risque associés aux maladies inflammatoires del'intestin ,
Les principaux :

✓ Déséquilibre de la flore intestinale :

La MC serait liée à une dérégulation de la réaction immunitaire muqueuse dérégulée vis-à-vis d'un microbiote intestinal déséquilibré sous l'influence de facteurs environnementaux et génétiques.

L'étude du microbiote intestinal comme cible antigénique et facteur d'inflammation chronique au cours de la MC suscite un intérêt grandissant.

La mise en évidence récente qu'une dysbiose bactérienne (déséquilibre entre des bactéries « délétères » et « bénéfiques ») constitue un facteur prédictif de rechute après l'arrêt de certains traitements de la MC est un argument fort en faveur de cette hypothèse. De plus, une étude multicentrique indique que des taux bas de certaines bactéries potentiellement « protectrices » dans les selles (*Clostridium coccoides* et *Bacteroides*) ainsi que de l'espèce *F. prausnitzii*, appartenant au phylum des Firmicutes, sont des facteurs prédictifs de rechute après l'arrêt d'un traitement par Anti-TNF α .

La dysbiose intestinale bactérienne apparaît donc comme un facteur prédictif de rechute de MC ; il est possible que sa correction modifie l'histoire naturelle de la MC. Plusieurs arguments sont en faveur qu'une dysbiose intestinale bactérienne puisse contribuer à l'apparition d'une MC.

✓ **Facteurs environnementaux :**

L'émergence de pathologies chroniques auto-immunes ou inflammatoires comme les MICI est considérée comme étant en partie liée aux évolutions socio-économiques.

Les MICI ont été tout d'abord observés en Europe et en Amérique du Nord, puis sont apparues après la seconde guerre mondiale en Europe centrale, au Japon et en Amérique du Sud.

Une première hypothèse « hygiéniste » a alors été mise en avant considérant que les modifications fondamentales des modes de vie ont fait passer les populations d'une exposition microbienne forte à faible et qu'une faible acquisition d'antigènes microbiens dans les premières années de la vie pouvait conduire à un système immunitaire moins adapté pour répondre aux agressions, ce qui se traduirait par des pathologies immunes chroniques. A ceci s'ajoutent d'autres modifications environnementales : l'amélioration de l'habitat, des aliments plus sains, une modification des comportements sanitaires, la généralisation des vaccins ou de l'utilisation des antibiotiques, la diminution des parasites ainsi que des régimes alimentaires de meilleure qualité mais cependant moins variés.

Cependant, les facteurs environnementaux seuls ne peuvent expliquer le développement d'une MC ou d'une RCH et une prédisposition individuelle est nécessaire au développement de ces pathologies.

✓ **L'âge :**

Les maladies inflammatoires de l'intestin constitueraient un facteur de risque pour les gens âgés de 20 et 40 ans. Mais elles peuvent apparaître à tout âge

✓ **Le sexe :**

Lorsqu'on considère les deux maladies conjointement, le risque de développer la maladie est semblable que l'on soit un homme ou une femme. Toutefois, on observe une différence selon la maladie. Ainsi, les femmes semblent développer de 20 à 30% plus souvent la maladie de Crohn que les hommes, tandis que les hommes ont une légère prédominance pour la colite ulcéreuse.

✓ **Le statut de fumeur :**

Plusieurs études ont cherché à démontrer l'évidence d'un effet positif ou négatif de la cigarette sur les maladies inflammatoires de l'intestin. Les résultats indiquent que la cigarette a une association négative avec la colite ulcéreuse, mais une association positive avec la maladie de Crohn. En d'autres termes, le fait de fumer diminue le risque de développer une colite ulcéreuse, mais augmente le risque pour la maladie de Crohn

✓ **La prise de contraceptif :**

Le risque de développer une maladie inflammatoire de l'intestin augmenterait avec le nombre d'années d'utilisation d'anovulants, il existe une association entre l'usage de contraceptifs oraux et l'apparition d'une maladie inflammatoire de l'intestin, le risque est de 2,5 fois plus élevé lorsqu'une femme prend la pilule depuis plus de deux ans pour la colite ulcéreuse et de 1,7 fois plus élevé dans le cas de la maladie de Crohn.

✓ **L'histoire familiale :**

Une histoire familiale de maladies inflammatoires de l'intestin est le plus important facteur de risque de développement de la maladie. En effet, l'histoire familiale suggère une prédisposition génétique aux maladies inflammatoires de l'intestin. Le diagnostic de maladie inflammatoire de l'intestin chez un proposant augmente la probabilité d'un diagnostic de maladie inflammatoire de l'intestin chez un membre de la famille.

✓ **Le régime alimentaire :**

La modification du régime alimentaire fait partie des interventions de médecine alternative possibles. On propose donc aux patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin une diète élevée en acides gras oméga-3 et on leur suggère d'éviter l'alcool, le blé, la caféine, les additifs alimentaires ainsi que les végétaux avec inhibiteur de protéase comme les pommes de terre

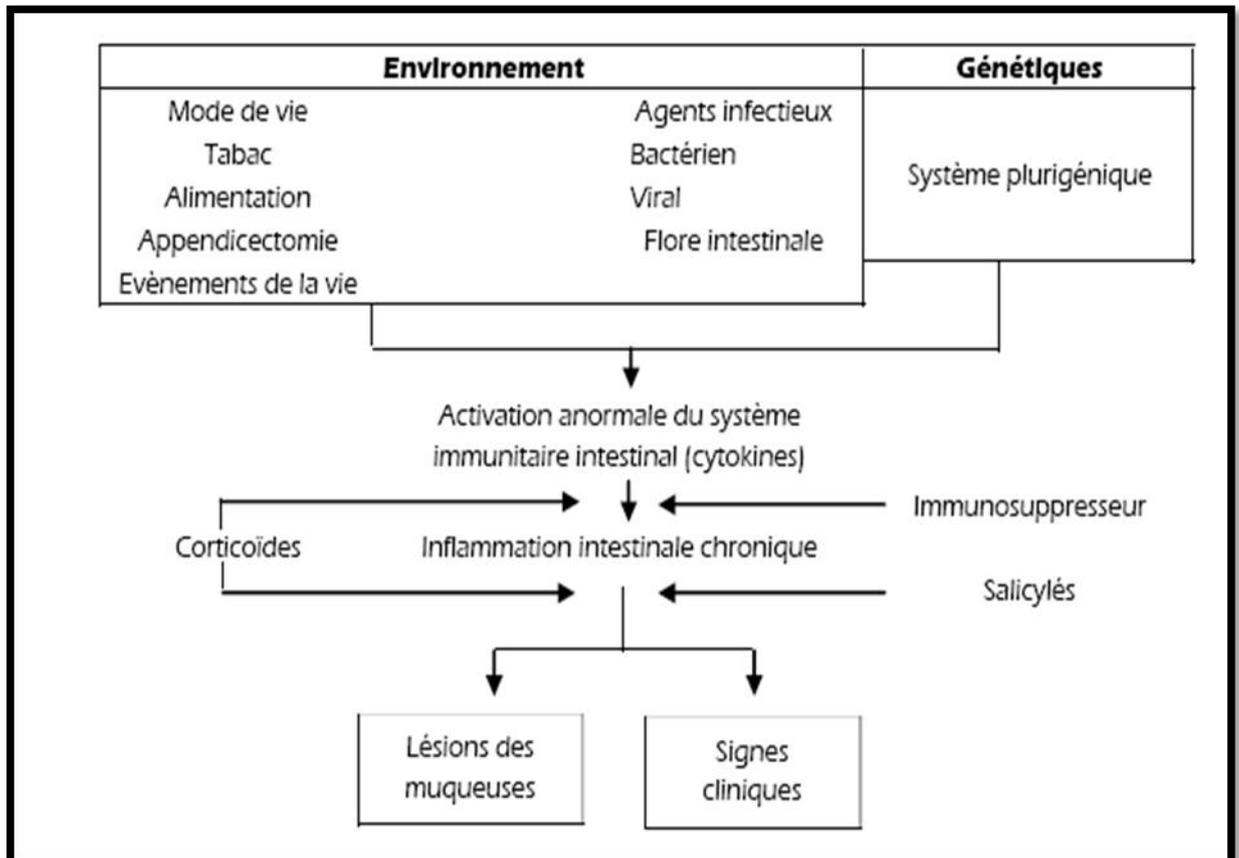


Fig 28 : Schéma général de la physiopathologie des MICI
Médecine du Maghreb 2006

5.5. Foyer de cryptes aberrantes :

La première étape du développement du CC est l'apparition d'une hyperprolifération de l'épithélium colique. Au plan morphologique, la première anomalie décelable est le foyer de cryptes aberrantes (FCA).

Il s'agit de cryptes au calibre élargi entourées d'un épithélium épaissi avec une mucosécrétion diminuée. Ces FCA existent sous la forme d'une hyperplasie, c'est à dire une augmentation de la d'une dysplasie, caractérisée par des anomalies cellulaires, nucléaires et cytoplasmiques associées à des anomalies architecturales des glandes.

Dans le côlon, la dysplasie est caractérisée par une stratification des noyaux, des mitoses dans les deux tiers supérieurs des cryptes et une raréfaction des cellules caliciformes et représentent à peu près 5% des FCA et est l'équivalent de micro adénome.

Les FCA ne sont pas visibles en routine en coloscopie. Leur détection nécessite l'utilisation de vidéo-endoscopes à optique grossissante et de colorants (chromoendoscopie au bleu de méthylène). La prolifération cellulaire anormale tend à l'accumulation des cellules dans la muqueuse et aboutit à la formation d'un polype. (A.Neuville, 2010)

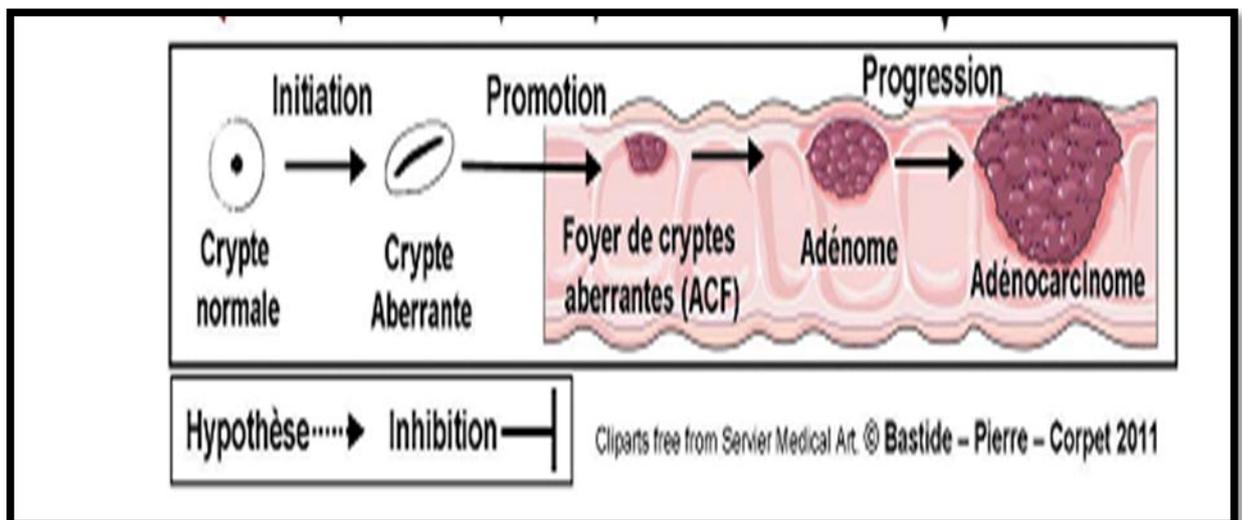


Fig 29 : 1 : Evolution du cancer colorectal dans le temps.

5.6. Adénomes :

Les adénomes sont des lésions néoplasiques qui peuvent évoluer vers un carcinome. Ils peuvent être classés selon deux critères : l'histologie et le degré de dysplasie.

La prévalence des adénomes augmente avec l'âge et atteint 30% chez des sujets de 65 ans. La plupart des CC sont des adénocarcinomes et se développent à partir d'un adénome et on estime que 5% des adénomes progressent vers un cancer. La durée de la séquence « adénome - carcinome » est en moyenne de 10 à 15 ans.

5.6.1. Adénocarcinome in situ :

Le développement d'un carcinome est d'abord superficiel, strictement intra-épithélial puis intramuqueux, sans franchissement de la lame basale et est désigné sous le terme « in situ », stade précoce de cancer.

5.6.2. Adénocarcinome infiltrant :

Le terme de carcinome invasif s'applique aux lésions entraînant une rupture de la lame basale et dépassant la musculaire muqueuse. Le carcinome s'étend ensuite progressivement en profondeur dans la paroi colique, dans la sous-muqueuse, dans la musculuse, puis dans la sous-séreuse et la séreuse.

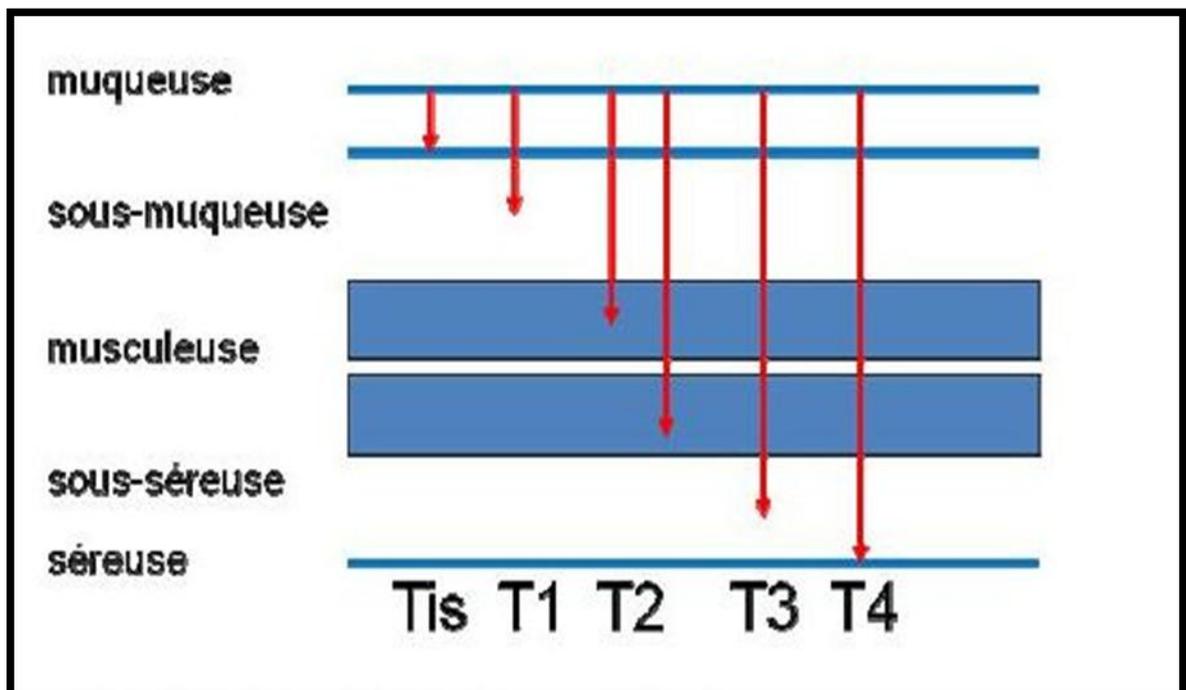


Fig 30 : Stades T de la classification TNM 2009. Extension de l'adénocarcinome à travers les tuniques pariétales du côlon.(A.Neuville, 2010)

Conformément aux recommandations de la conférence de consensus de 1998 sur le CC, un des facteurs pronostiques les plus importants concerne l'extension du carcinome en profondeur qui doit être évaluée selon la classification TNM. Cette classification évalue l'extension d'un cancer à partir de trois éléments :

- ✓ T pour la profondeur d'envahissement de la tumeur primitive
- ✓ N pour la présence/absence d'atteintes ganglionnaires
- ✓ M pour la présence/absence de métastases

Tableau 03 : Classification TNM 2009 du cancer colo-rectal et correspondances cliniques.

Stade pTNM	Signification	Stade clinique
Tis	Carcinome in situ : limité à la muqueuse et à la musculaire muqueuse	0
T1	Envahissement de la sous-muqueuse	I
T2	Envahissement de la musculuse	I
T3	Envahissement de la sous-séreuse	IIa
T4a	Envahissement de la séreuse	IIb
T4b	Envahissement par contiguïté d'un organe de voisinage	IIb
N1a	1 ganglion métastasé	III
N1b	2 à 3 ganglions métastasés	III
N1c	1 nodule métastatique sans structure ganglionnaire résiduelle	III
N2a	4 à 6 ganglions métastasés	III
N2b	≥ 7 ganglions métastasés	III
M1a	Métastase viscérale d'1 organe	IV
M1b	Métastase viscérale de plus d'1 organe ou métastase péritonéale	IV

Les adénocarcinomes conventionnels, de type lieberkühien ou intestinal, se caractérisent également par leur degré de différenciation : le grade 1 ou bien différencié, pour des carcinomes constitués à plus de 95% de glandes coliques, le grade 2 ou modérément différencié pour des carcinomes constitués de 50 à 95% de glandes, le grade 3 ou peu différencié pour des carcinomes constitués de 5 à 50% de glandes et enfin le grade 4

ou indifférencié pour des carcinomes constitués de moins de 5% de glandes coliques. Ces grades sont indicateurs de pronostic. Ueno et al. Rapportent un caractère plus agressif pour les lésions malignes peu différenciées.

En pratique courante, la distinction des grades 1 et 2 étant très subjective, une classification simplifiée a été proposée et comprend 132 grades : les adénocarcinomes différenciés, constitués de plus de 50% de glandes et les adénocarcinomes peu différenciés, constitués de moins de 50% de glandes.

5.7. Evolution :

A un stade tardif de l'évolution du CC, certains clones acquièrent la capacité de disséminer et de former des métastases.

Dans 75% des cas, les tumeurs primaires coliques métastasent au niveau du foie. Les autres localisations sont les métastases pulmonaires, osseuses ou cérébrales.

5.8. Anatomie pathologique :

Les polypes du tube digestif et plus particulièrement du côlon représentent un ensemble d'entités diverses.

Le terme polype a une signification macroscopique. Il correspond à une excroissance tissulaire faisant protrusion dans la lumière intestinale. Il faut donc lui adjoindre un terme histologique pour déterminer la nature du polype : épithélial ou non épithélial.

5.9. Les polypes non épithéliaux :

Ils peuvent être de type inflammatoire par prolapsus de la muqueuse, souvent de localisation sigmoïdienne ou rectale, ou correspondre à une tumeur mésenchymateuse qui soulève la muqueuse, comme par exemple un lipome, un léiomyome, une tumeur stromale intestinale.

5.10. Les polypes épithéliaux :

Ils sont classiquement divisés en polypes adénomateux et non adénomateux.

5.10.1. Les polypes non adénomateux :

- Le plus fréquent des polypes non adénomateux est le polype hyperplasique : prolifération épithéliale bénigne de petite taille (moins de 1 cm), il siège le plus souvent au niveau du côlon sigmoïde et du rectum. Les glandes sont allongées, bordées de cellules mucipares et non mucipares, avec une architecture dentelée dans la moitié supérieure des glandes.

Certains polypes hyperplasiques sont de plus grande taille (plus de 1 cm) siégeant au niveau du côlon droit.

- Le polype juvénile siège principalement au niveau du rectum, chez le sujet jeune. Ce polype hamartomateux est constitué de glandes tortueuses au revêtement hyperplasique associées à un chorion inflammatoire. Le plus souvent sporadique, il n'a alors pas de potentiel

de transformation cancéreuse. Ce potentiel est par contre élevé lorsqu'il est associé à une polypose juvénile.

- Le polype juvénile-like caractérise le syndrome de Cronkhite Canada. Ce polype hamartomateux de type juvénile siège au niveau colique, intestinale grêle et gastrique, sans potentiel de dégénérescence maligne et sans prédisposition familiale.

- Le polype de Peutz-Jeghers est un polype hamartomateux et siège le plus souvent au niveau de l'intestin grêle et de l'estomac. Ce polype sessile ou pédiculé a une architecture caractéristique en arbre (aussi dénommé « Christmas tree »), avec un revêtement mucipare de type hyperplasique et un chorion parfois occupé par des fibres musculaires lisses perpendiculaires à la lumière intestinale. Le revêtement est parfois mixte hyperplasique et adénomateux avec un risque de transformation cancéreuse.

- Le polype hamartomateux du syndrome de Cowden est constitué de glandes désorganisées au sein d'un chorion fibreux parfois parcouru de fibres musculaires lisses.

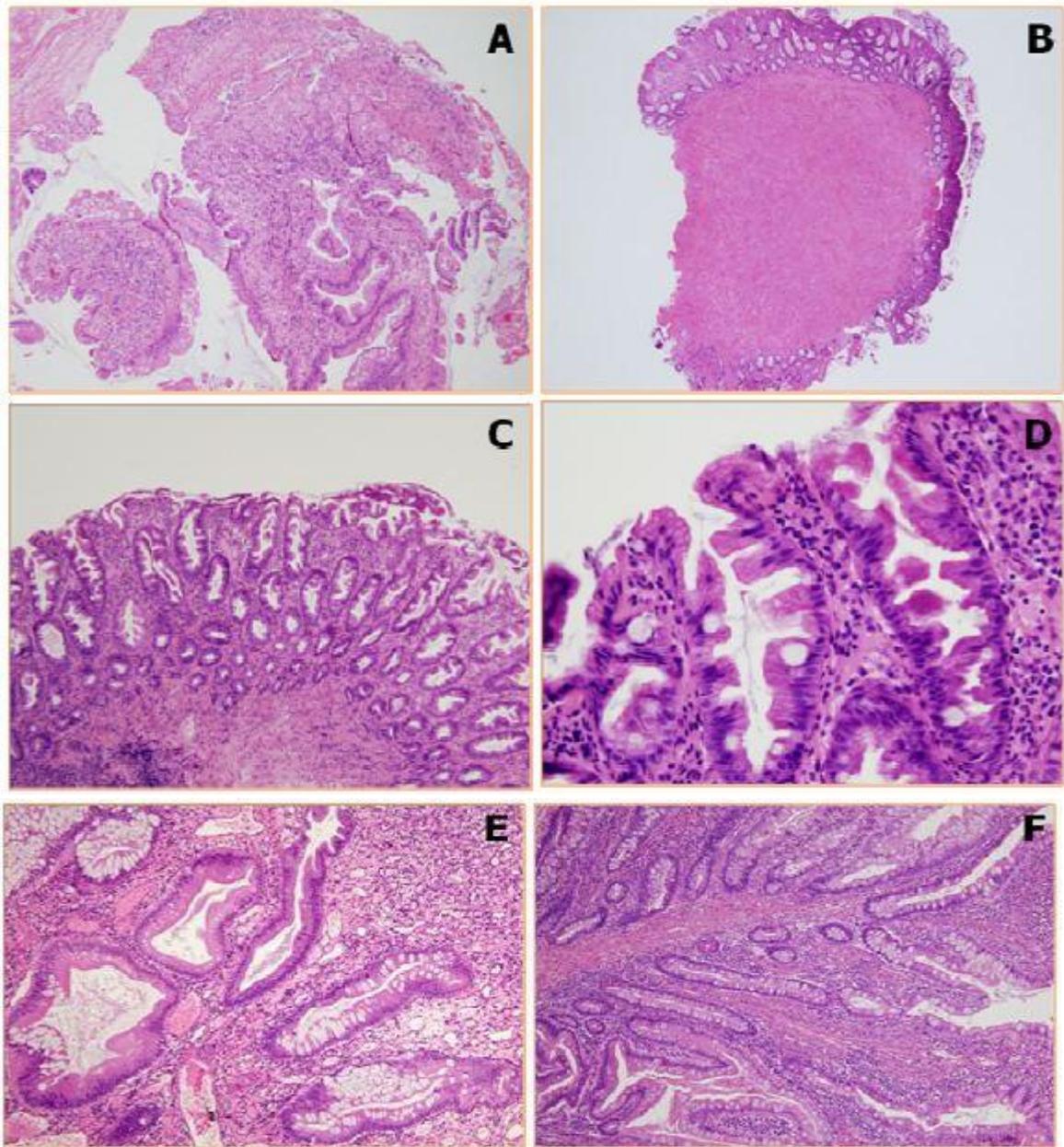


Figure 31: Histologie de polypes non-épithéliaux et non-adénomateux (H.E. x10 pour A-C-E-F, x20 pour D, x4 pour B) A : Polype inflammatoire : muqueuse ulcérée, chorion inflammatoire B : Léiomyome sous-muqueux C : Polype hyperplasique D : Polype hyperplasique : revêtement festonné sans atypies E : Polype juvénile : glandes ectasiées à revêtement mucipare, chorion inflammatoire F : Polype de Peutz-Jeghers (A.Neuville, 2010)

5.10.2. Les polypes adénomateux :

Les adénomes coliques sont des proliférations intra-épithéliales de cellules néoplasiques, ce qui signifie que tout adénome comporte de la dysplasie.

La taille des adénomes varie d'un millimètre à plusieurs centimètres. Ces adénomes se présentent dans plus de 90% des cas sous forme de polypes. On parle de polype pédiculé lorsque la taille de la base d'implantation du polype est inférieure à celle du polype et de polype sessile lorsque la taille de la base d'implantation du polype est supérieure à celle du polype.

Lorsqu'ils ne sont pas polypeux, on parle d'adénomes plans. Cette distinction macroscopique est importante pour l'évaluation des critères pronostiques des adénomes de haut grade (. Lors de l'établissement d'un diagnostic d'adénome, il est nécessaire de préciser le type histologique et le degré de dysplasie.

Au niveau histologique, l'Organisation Mondiale de la Santé individualise trois types de lésions adénomateuses avec un risque croissant de transformation tumorale : tubuleux, tubulo-villeux et vilieux. L'adénome tubuleux est le plus fréquent, observé dans 65 à 87% des cas, l'adénome vilieux dans 8 à 25% des cas et l'adénome tubulo-villeux, associant les deux formes précédentes, dans 5 à 10% des cas.

A ces trois aspects classiques d'adénomes, s'ajoute un quatrième type histologique : l'adénome festonné (serratedadenoma). Décrit en 1990 par Longacre et Fenoglio, ce type d'adénome n'a vraiment été reconnu qu'à partir de 2002. Cette entité, découverte à l'occasion d'études génomiques, est caractérisée par des voies de carcinogenèse différentes et comprend trois sous-types histologiques : le polype hyperplasique, l'adénome festonné sessile et l'adénome festonné traditionnel. Ces trois lésions ont en commun l'architecture festonnée du revêtement des glandes mais diffère par les contours des glandes et par leur revêtement plus (A.Neuville, 2010)

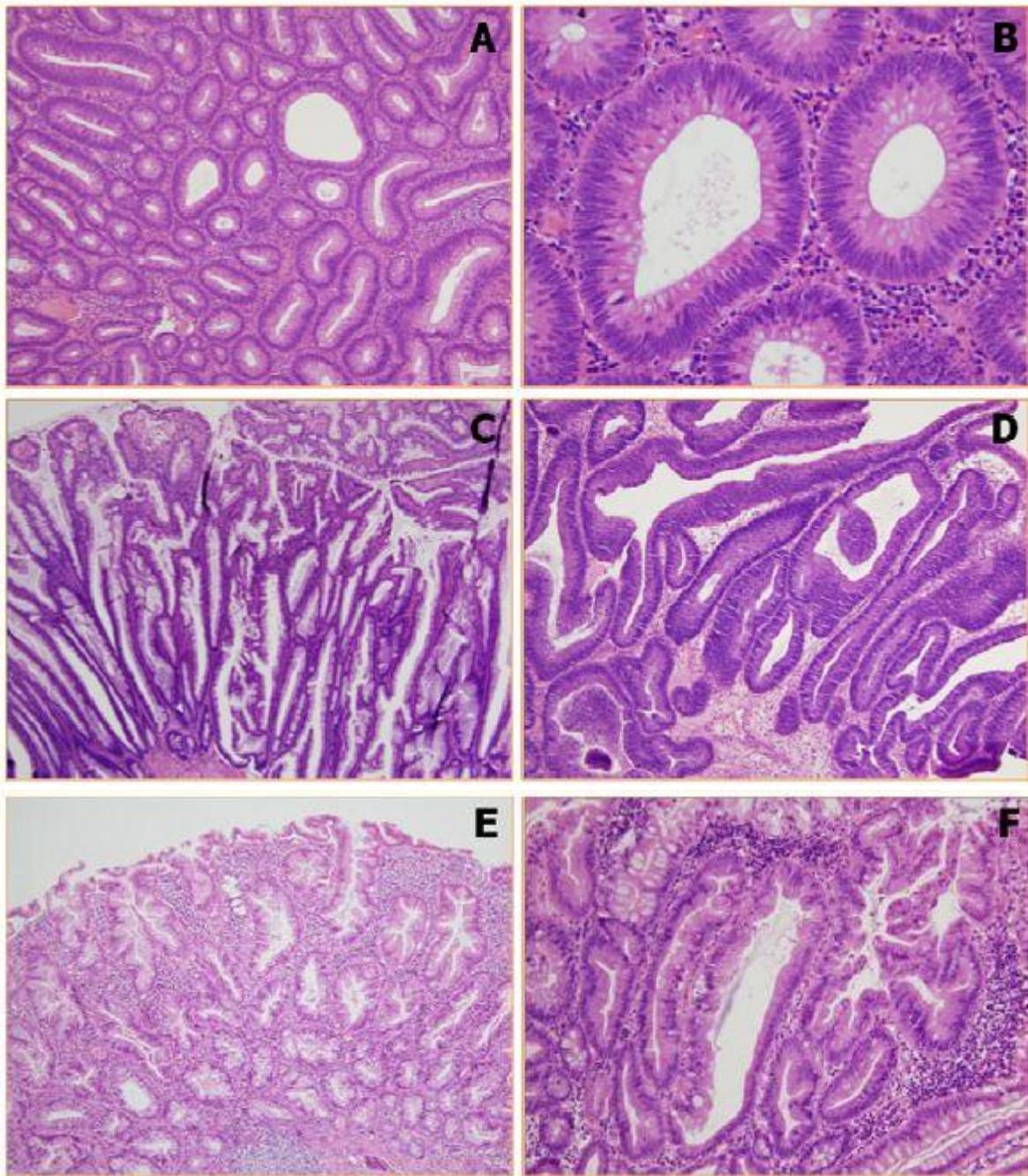


Figure 32 : Histologie des adénomes (H.E. x10 pour A-C-D-E-F, x20 pour B)
A : Adénome tubuleux : plus de 80% des glandes ont un aspect tubuleux
B : Adénome avec dysplasie de bas grade
C : Adénome vilieux : plus de 80% des glandes ont un aspect vilieux
D : Adénome tubulo-vilieux : plus de 20% des glandes sont de l'un et de l'autre type
E : Adénome festonné sessile
F : Adénome festonné traditionnel ou moins adénomateux et prolifératif.
 (A.Neuville, 2010)

Histologie	Caractéristiques
Polype hyperplasique Type à cellules Goblet Type microvésiculaire	Glandes allongées rectilignes au niveau du fond des cryptes Aspect festonné au niveau du haut des cryptes Prédominance de cellules Goblet Prédominance de cellules cylindriques microvésiculaires
Adénome festonné sessile	Glandes d'aspect festonné, dilatées et branchées jusqu'au fond des cryptes. Prolifération \pm anormale du revêtement.
Adénome festonné traditionnel	Glandes d'aspect festonné, dilatées et branchées jusqu'au fond des cryptes. Revêtement stratifié atypique.
Polype mixte	Aspect de polype hyperplasique et d'adénome.

**Tableau 04 : Différentes formes de polypes festonnés
(Selon Snover et al. 2005)**

Le deuxième critère définissant un adénome est la dysplasie. Elle comprend des anomalies cellulaires (augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique, hyperchromatisme, apparition d'un nucléole) et architecturales (pluri-stratification, perte de polarité, fusion des glandes).

Il s'agit d'une lésion limitée à la muqueuse et à la musculaire muqueuse, sans infiltration de la sous-muqueuse. Les anomalies sont classées en degrés de dysplasie : bas ou haut.

Le risque d'évoluer vers un cancer est d'autant plus grand que la dysplasie est de haut grade. Ainsi selon le degré de dysplasie on distinguera des adénomes pré-cancéreux dits de bas grade et des adénomes cancéreux dits de haut grade équivalents à de l'adénocarcinome in situ. Ce dernier est morphologiquement divisé en deux sous-types : l'adénocarcinome intra-épithélial et l'adénocarcinome intra-muqueux.

La distinction histologique de ces deux lésions est difficile et malgré la différence fondamentale de dépassement ou non de la membrane basale, elle n'entraîne aucune implication clinique puisque le risque métastatique de l'adénocarcinome intra-épithélial et de l'adénocarcinome intra-muqueux sont identiques. Ces deux états sont donc tous les deux classés en pTis dans la classification pTNM.

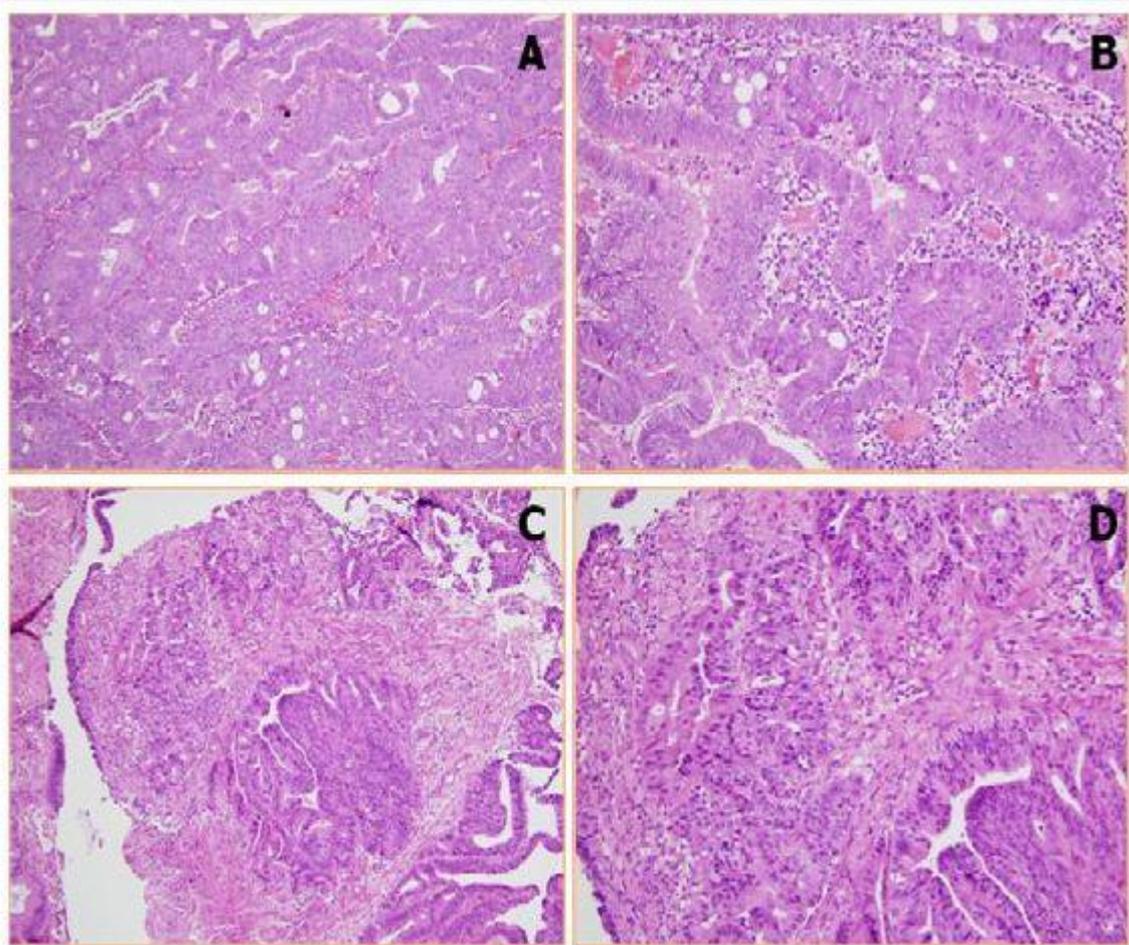


Figure 33 : Histologie des adénomes de haut grade (H.E. x10 pour A-C, x20 pour B-D) A : Adénome de haut grade : adénocarcinome intra-glandulaire B : Dysplasie de haut grade : modifications architecturales et cytologiques C : Adénome de haut grade : adénocarcinome intra-muqueux D : Dysplasie de haut grade : modifications architecturales et cytologiques, avec stroma-réaction (A.Neuville, 2010)

Depuis 2000, la classification de Vienne modifiée a permis d'uniformiser la dénomination des lésions intestinales superficielles et de comparer les études internationales épidémiologiques et cliniques.

Catégorie	Néoplasie	Correspondance pT
C1	absente	pT0
C2	indéfinie	pTX
C3	bas grade	pT0
C4	haut grade	pTis
C4.1	<i>adénome haut grade</i>	
C4.2	<i>suspicion de carcinome non invasif</i>	
C4.3	<i>carcinome intraglandulaire</i>	
C4.4	<i>suspicion de carcinome invasif</i>	
C4.5	<i>carcinome intra-muqueux</i>	
C5	carcinome invasif	≥ pT1

Tableau 05 : Classification de Vienne modifiée (Dixon, 2002).

Les facteurs pronostiques des adénomes de haut grade sont :

- La différenciation de la composante infiltrante du carcinome, comme celle déterminée au niveau de l'adénocarcinome commun.
- La présence d'embolies vasculaires
- Le niveau d'infiltration du carcinome invasive

Le niveau d'infiltration sera déterminé différemment selon que l'adénome est un polype pédiculé ou un polype sessile/ou un adénome plan.

- a. Lorsque l'adénome est un polype pédiculé, le niveau d'infiltration est défini par les niveaux de Haggitt, selon que la lésion n'a pas dépassé la membrane basale, a dépassé la membrane basale au dessus du collet, au niveau du collet ou au-dessous du collet.
- b. Lorsque l'adénome est un polype sessile ou un adénome plan, la classification japonaise du niveau d'envahissement de la sous-muqueuse s'applique.

SM2 : carcinome envahissant la sous-muqueuse sur plus de 1000 µm, mais sans atteindre le tiers inférieur.

SM3 : carcinome envahissant la sous-muqueuse sur plus des deux tiers de l'épaisseur. (A.Neuville, 2010)

Chapitre VI

Le stress oxydant

Introduction :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines.

6.1. Origine du stress oxydant :

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques.

Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines.

L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation.

Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant, soit couplant la défense à l'énergie (comme la G6PD), soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme. (A.Favier, 2003)

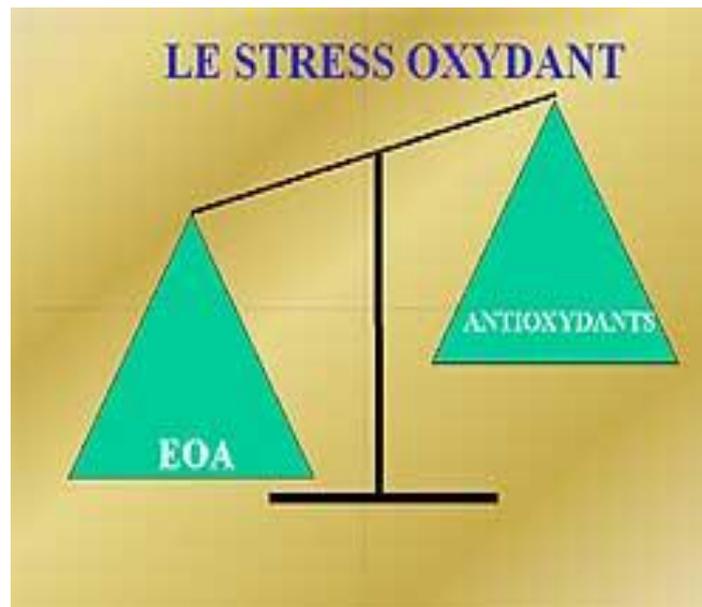


Fig 34: déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro – oxydants (3)

6.2. Différentes formes de radicaux libres de l'oxygène (ROS):

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur).

Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule. L'O₂ est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leur orbitale externe deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en O₂ •- puis en H₂O₂.

Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS) L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène anion superoxyde (O₂ •-), radical hydroxyle (OH•) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'anion superoxyde (O₂ •-) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. La dismutation de cet O₂ •- entraîne la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'H₂O₂ n'est pas un radical libre au sens propre mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production.

La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples

dommages cellulaires. L' $\text{OH}\cdot$ apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des ROS. (B.Garait, 2006)

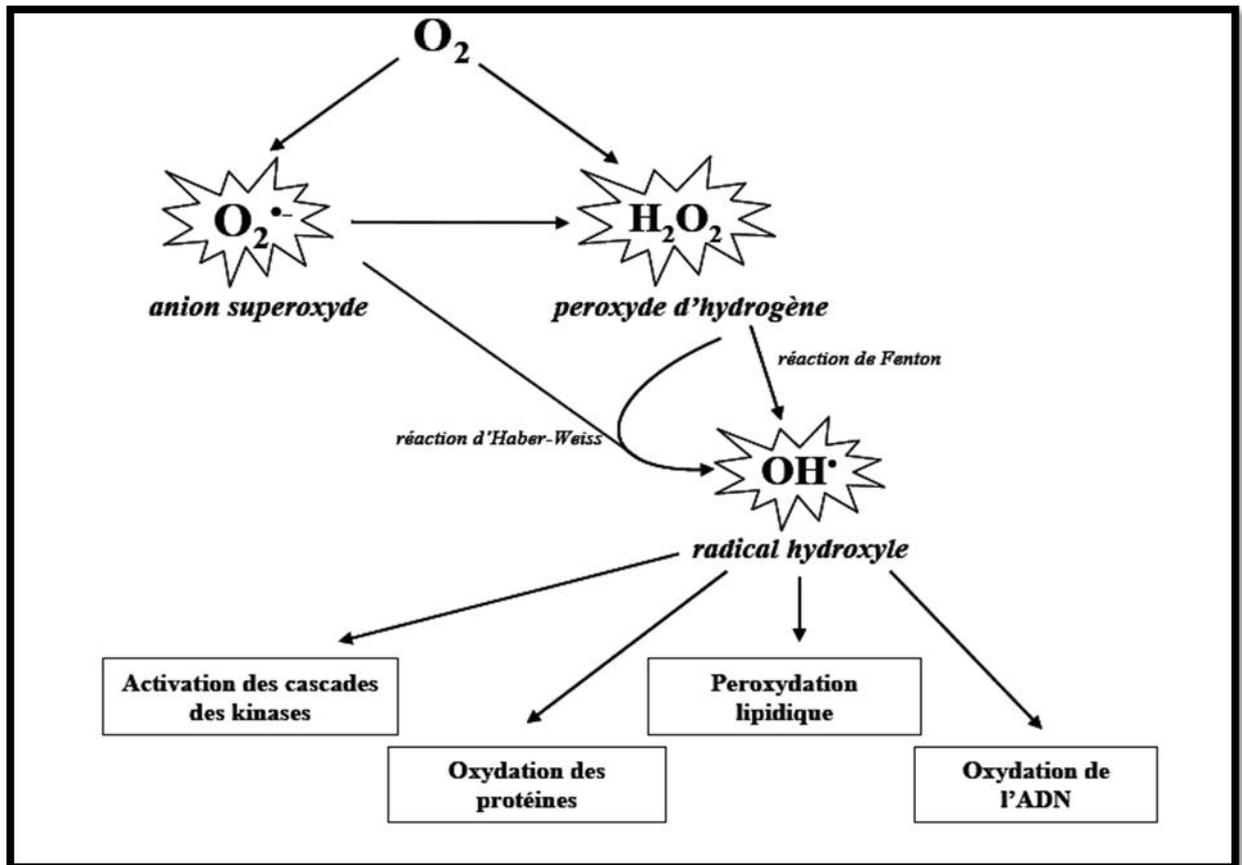


Fig 35 : Schéma des différentes formes de ROS (B.Garait, 2006)

6.2.1. Principaux radicaux libres rencontrés en biologie :

Tableau 06 : les principaux radicaux libre : (I.Hininger)

Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$
Oxygène singulet	1O_2
Monoxyde d'azote	NO°
Peroxyde d'hydrogène*	H_2O_2
Nitroxyde	NOO°
Peroxynitrite	$ONOO^{\circ}$
Radical peroxy	ROO°

6.3. Système anti-oxydants :

6.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques :

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS.

6.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Cette enzyme catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 . La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD).

Il a été récemment montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire. La distribution de ces différentes isoformes varie selon le tissu. Dans le muscle, environ 65 à 85% de l'activité de la SOD se trouvent dans le cytosol tandis que les 15 à 35% restants sont localisés dans les mitochondries.

6.3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx) et reductase (GR) :

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG).

Il existe également une glutathion peroxydase associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide nhydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) qui est spécifiquement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique. La glutathion reductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH

qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction. Ces deux enzymes sont présentes dans le cytosol et dans les mitochondries.

6.3.1.3. Catalase :

La catalase est également responsable de l'élimination d'H₂O₂ par une transformation en H₂O et O₂. Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l'H₂O₂ est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues. Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol.

6.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques :

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C.

6.3.2.1. Oligoéléments :

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante .

6.3.2.2. Glutathion :

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique . Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté.

6.3.2.3. Ubiquinones et cytochrome c :

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme antioxydant. L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui

amplifie son rôle protecteur contre les ROS. Le cytochrome c présent dans l'espace intermembranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d'O₂ ·- produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome c oxydé et de l'H₂O.

6.3.2.4. Vitamine E et vitamine C :

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant.

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique.

La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l'O₂ ·- et l'OH·. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E.

6.4. Les transaminases TGP – TGO et la GGT :

Les transaminases sont des enzymes localisées à l'intérieur des cellules. Ce sont les enzymes les plus spécifiques de la cytolyse hépatique (Herrera, 1993). La définition de la cytolyse hépatique est anatomo-pathologique. Cela va de la perméabilité membranaire jusqu'à la nécrose, lésion la plus grave, en passant par l'oedème et l'apoptose. En pratique courante, la cytolyse est définie par l'élévation de l'activité sérique des transaminases. Sur le plan biochimique, les transaminases sont deux enzymes cytosoliques qui assurent le transfert de groupements aminés à partir de l'alanine et de l'acide aspartique, pour former les acides pyruvique et oxaloacétique (Reynier, 2011). Elles augmentent donc dans le sang lors de destruction des cellules hépatiques, et ceci dans toutes les pathologies hépatiques.

Le dosage des transaminases sériques est une prescription biologique fréquente en médecine générale. Ces tests sont pratiqués non seulement pour des patients suspects de maladie hépatique, mais aussi pour des patients asymptomatiques (Reynier, 2011).

6.4.1. TGP ou Alanine aminotransférase (ALAT) :

Anciennement dénommée sérum glutamopyruvique transférase (SGPT), elle est présente essentiellement dans les hépatocytes, dans le cytoplasme, et accessoirement dans les muscles et le rein (Dufour et al, 2000 ; Reynier, 2011), toute altération de ces organes va libérer ces transaminases.

C'est un marqueur sensible et spécifique d'une atteinte hépatocellulaire. Une élévation des ALAT fait conclure à une maladie hépatique. Toutefois le taux des ALAT peut être normal en cas de maladie hépatique. Cependant, il n'y a pas de corrélation entre le niveau de nécrose hépatocellulaire objectivée par biopsie et le taux des transaminases. Une élévation légère (< 2-3 x la norme) à modérée (3-10 x la norme) se voit dans l'hépatopathie alcoolique, la stéatose, la stéatohépatite non alcoolique et l'hépatite virale chronique. Devant une élévation marquée (supérieure à 10 x et surtout 20 x la norme), on évoque surtout une hépatite virale aiguë, une nécrose hépatique induite par des médicaments ou des toxines, ainsi qu'une ischémie hépatique.

Il n'y a pas d'iso-enzymes spécifiques d'un tissu donné. Sa demi-vie d'élimination plasmatique est d'environ 45 heures (Dufour et *al*, 2000 ; Reynier, 2011).

6.4.2. TGO ou Aspartate aminotransférase (ASAT) :

Anciennement dénommée sérum glutamooxaloacétique transférase (SGOT), elle a une distribution beaucoup plus large, dans le foie (dans les mitochondries à 90%), mais aussi dans le coeur, les muscles squelettiques, les reins et le cerveau (Dufour et *al*, 2000 ; Reynier, 2011). Cette enzyme est moins sensible et moins spécifique que les ALATs pour le foie.

Il n'y a pas d'iso-enzymes spécifiques d'un tissu donné. Sa demi-vie d'élimination plasmatique est d'environ 17 heures. Cette différence de demi-vie entre ALAT et ASAT explique que les ASATs se normalisent plus rapidement que les ALAT dans les situations aiguës (Dufour et *al*, 2000 ; Reynier, 2011).

Si les transaminases sont des marqueurs de cytolysse, elles sont peu spécifiques de la fonction hépatique et de la gravité de l'atteinte. D'autres paramètres biologiques sont utiles dans l'interprétation du bilan hépatique, afin de faire la différence entre cytolysse et cholestase, et d'évaluer plus précisément la fonction hépatique (Reynier, 2011)

6.4.3. GGT ou gamma glutamyl-transpeptidases :

Les gamma glutamyl-transpeptidases (GGT) sont des enzymes retrouvées dans de nombreux organes comme le rein et les intestins, mais plus particulièrement présentes dans le foie (enzymes hépatiques). Leur dosage sanguin permet d'évaluer l'activité hépatique. Ce sont des marqueurs habituels de cholestase (Gopal et Rosen, 2000), qui est définie par l'atteinte des mécanismes d'excrétion biliaire.

L'activité sérique de la GGT est peu spécifique, mais très sensible de cholestase. Elle peut être élevée dans toutes les maladies hépatobiliaires mais aussi après la prise de médicaments inducteurs, au cours de maladies non digestives, du diabète, ou quelquefois sans cause décelable. Les GGT sont élevées dans 90% des cas lors d'une cholestase (Johnston, 1999 ; Reynier, 2011).

6.5. MDA (malondialdéhyde) :

La détection spectrophotométrique du malondialdéhyde (MDA) par le test à l'acide thiobarbiturique (TBA) est la méthode la plus ancienne et la plus populaire pour mesurer la peroxydation lipidique. Cette méthode est toute fois sujette à de très nombreux artefacts dans la mesure où la présence d'hémoglobine dans l'échantillon sanguin ou de fer dans les produits d'analyse interfère avec le test et donne en conséquence des résultats tout-à-fait erronés et peu fiables. Cependant, la MDA reste un indice peu représentatif de la présence d'une peroxydation lipidique puisqu'elle ne représente qu'un pourcent des produits de décomposition des peroxydes lipidiques (Pincemail et *al*, 1999). Néanmoins de nombreux laboratoires dans le monde reposent sur ce dosage pour évaluer l'augmentation ou la diminution du MDA afin d'évaluer les effets des traitements antioxydants

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition (oxydation) des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiée par les radicaux libres. Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (Chebab et *al*, 2009).

Le dosage repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100 °C), entre le MDA et deux TBA, d'un pigment coloré (le dérivé MDA-(TBA) 2) absorbant à 530 nanomètres et extractible par les solvants organiques comme le butanol. Les concentrations de MDA sont déduites à partir d'une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions en utilisant le tétraméthoxypropane (Chebab et *al*, 2009).

6.6. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant :

L'environnement dans lequel nous vivons mais aussi notre mode de vie sont à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme. En voici quelques exemples :

- exposition prolongée au soleil
- exposition aux radiations
- contacts avec des agents cancérigènes (ex. amiante)
- tabagisme
- prise de médicaments, pilule contraceptive
- pratique trop intense ou mal gérée d'un sport
- consommation excessive d'alcool
- stress intellectuel
- stress thermique
- ozonothérapie
- pollution
- agents infectieux (3)

6.7. Les maladies liées au stress oxydant :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'oxydation des LDL est un des phénomènes clefs transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs prooxydants (prostacycline, cytokine, facteur de fibrinolyse, superoxyde, NO), augmentation de la prolifération des fibres lisses. Un facteur de risque découvert récemment, l'homocystéine, voit son action liée en partie à la génération de radicaux libres au cours de son métabolisme. Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique.

Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène. La responsabilité la plus nette des radicaux libres est mise en évidence dans les maladies directement induites par des anomalies d'un gène antioxydant. Plusieurs mutations de la CuZn superoxyde dismutase ont été observées dans les formes familiales d'une maladie neurologique de la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Le transfert du gène de malade chez la souris recrée d'ailleurs une maladie analogue à la maladie humaine. La dégénérescence maculaire liée à l'âge est fortement associée avec la forme valine/alanine du polymorphisme de gène du superoxyde dismutase.

Partie
Expérimentale

Matériels et méthodes

Matériels et Méthodes :

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de plusieurs laboratoires : Laboratoire de biologie Physiologie Cellulaire et Moléculaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine I. Laboratoire d'analyses médicales KENZI pour les analyses biochimiques. Laboratoire d'analyses médicales Dr BELLIL .T pour la formule numération sanguine. Laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Constantine pour réaliser les coupes histologiques des organes prélevés. Laboratoire de biologie Moléculaire à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine I pour l'observation des lames et l'analyse d'images. Et qui a consisté en l'induction d'une inflammation aigue de l'intestin et le traitement par l'homogénat d'escargots *Hélix Aspersa*.

Notre étude a durée 7 mois de Décembre 2013 à Juin 2014

Plan de travail :

- I. Préparation de l'homogénat des escargots « *Hélix aspersa* ».
- II. Détermination de la dose létale de l'homogénat sur souris *Mus musculus*
- III. Protocole expérimentale :
 - Traitement des rats par l'homogénat de l'*Hélix aspersa* préparé avant induction.
 - Induction de l'inflammation par ACT au 8ème jour de l'expérience .
 - Traitement des rats par l'homogénat de l'*Hélix aspersa* préparé après induction.
- IV. Prélèvement du sang sur 3 tubes : EDTA, Hépariné et sec pour doser : TGO, TGP, γ GT, CRP, FNS, Protéines totales plasmatiques,
- V. Réalisation des frottis sanguins périphériques et médullaires.
- VI. Dissection des rats, prélèvement et coupes histologiques des organes : Rate, Thymus, Foie, colon.
- VII. Dosage des protéines totales tissulaire et MDA
- VIII. Observation microscopique des coupes et prise des photos.

I. Préparation de l'homogénat de l'escargot « *HELIX ASPERSA* » :

1. Matériel biologique et sites d'échantillonnage :

Helix aspersa a été récolté pendant la saison de l'Hiver (Janvier, février et Mars 2014) sur différentes régions de l'Est Algérien : Constantine, Skikda , Mila et Oum El Bouaghi.

L'identification systématique a été effectuée selon la description des différentes espèces sur le site d'Olivier Gireaud (Gireaud.O., 2007)

2. Méthode de préparation de l'homogénat :

Pour travailler sur un gastéropode, il faut tout d'abord extraire ses molécules bioactives. Pour cela des escargots *Helix aspersa* (environ 400 escargots) sont dépouillés de leurs coquilles , leurs masses viscérales sont éliminées, leurs pieds (avec la tête) ont été récupérés, mettre les têtes et les pieds dans le NaCl (1,2%) pour éliminer toute la bave , lavés avec l'eau , séchés sur le papier buvard, mixés dans un mixer (SAYONA MX-400 350W) et homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur (DAIHAN scientifique) à une vitesse de 20t/min pendant 10min .



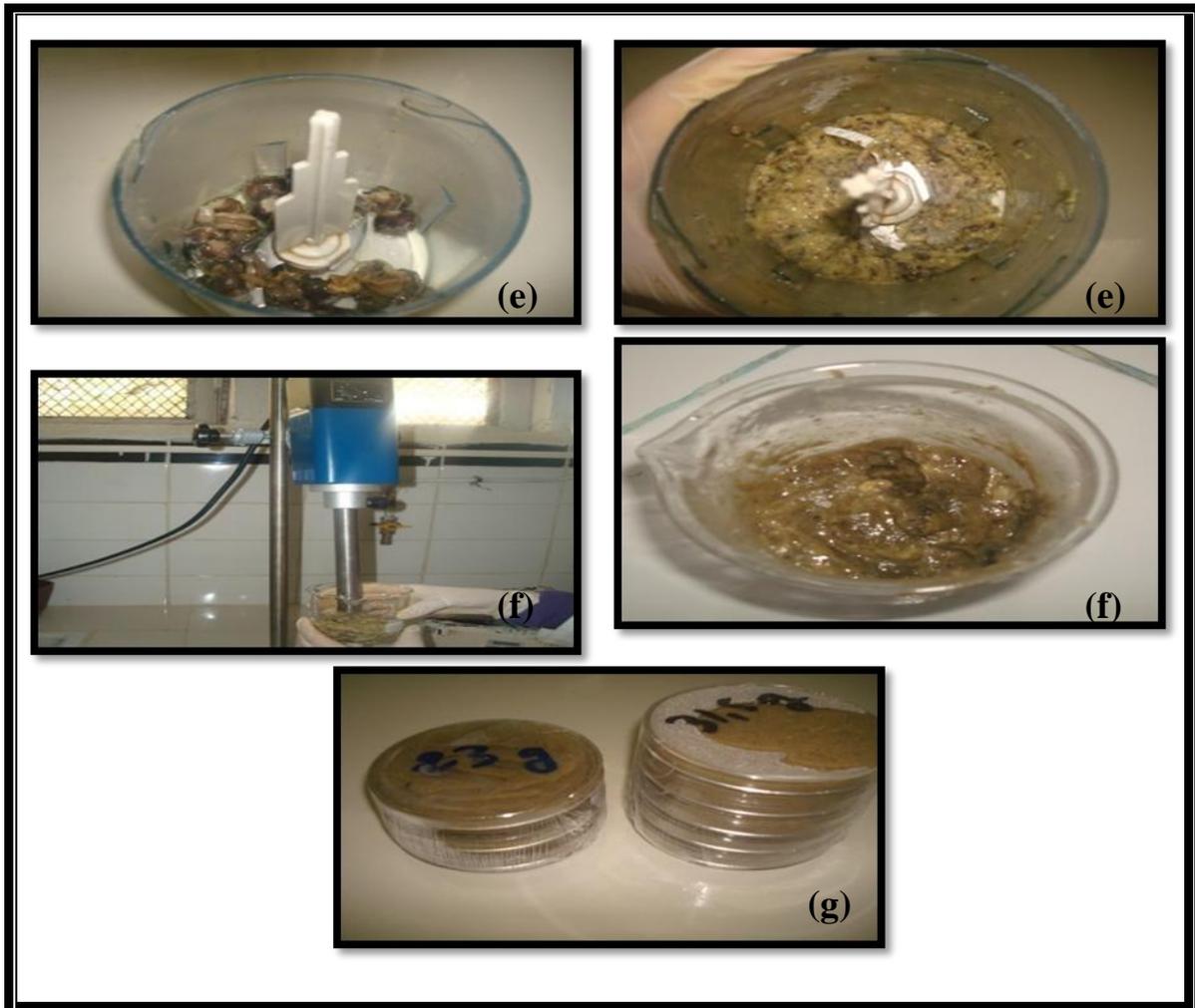


Fig 36 : Différentes étapes de la préparation de l'homogénat

- a) Concasser la coquille avec le marteau
- b) Eliminer les entrailles (tous les appareils)
- c) Mettre les têtes et les pieds dans le NaCl (12/1000) pour éliminer toute la bave
- d) Rincer et faire égoutter
- e) Broyer
- f) Homogénéiser
- g) Conserver au congélateur a -9°C jusqu'à l'utilisation

II. Détermination la dose létale de l'Homogénat d'escargot « *Helix Aspersa* » (DL50) :

Pour cette procédure, on a utilisé des souris mâles de souche *Mus musculus*, obtenues à partir de l'animalerie de l'institut de pharmacie de Constantine, leur poids corporel moyen est de 20g. Les lots 1,2 et 3 ont reçu respectivement les doses : 1g/Kg, 2g /Kg et 3g /Kg d'homogénat par gavage pendant 15 jours, en parallèle, les lots 4,5 et 6 ont reçu respectivement les doses : 6g/Kg, 7g/Kg et 8g/Kg.

Des observations sont établies chaque jour après gavage 30mn, 1h, 5h et 24h jusqu'à 15 jour, aucun cas de décès de souris n'a été signalé ainsi que leurs température et poids corporels étaient stables pendant et après l'expérience.

En se basant sur ces résultats, nous avons pris la dose maximale d'homogénat = 8g/kg pour l'effectuer comme traitement sur des rats dans notre expérience. (Amiard, 2011)



Fig 37 : gavage d'une souris avec l'Homogénat d'*Helix aspersa*

III. Protocole expérimentale :

Matériel biologique:

30 rats mâles de souche Wistar (poids corporel entre 150 et 200g), obtenus à partir de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger. Ces animaux ont été acclimatés aux conditions expérimentales au Laboratoire de Biologie, Physiologie Cellulaire et Moléculaire, 15 jours avant le gavage. Ils avaient accès à l'eau potable et à l'alimentation standard des rats (100 ± 50 g par jour). Ils ont été divisés en 5 lots de 6 rats. Chaque lot est ensuite traité par gavage. La durée de cette expérience est de 15 jours.

L'inflammation a été induite chimiquement par l'ACT. Le 5-ASA a été choisi comme un anti-inflammatoire de haute activité pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre homogénat et comparer l'effet anti inflammatoire des deux composants.

- **Lot C** : (lot contrôle) qui a reçu 1ml de NaCl 0,9% par gavage pendant une semaine, les rats ont jeûné 36 heures avant l'induction et ont reçu 1 ml d'NaCl 0,9% par injection rectale le 8^{ème} jour de l'expérience et il a reçu 1ml de NaCl 0,9% par gavage pendant la semaine d'après.
- **Lot ACT** : qui a reçu 1ml de NaCl 0,9% par gavage pendant une semaine, les rats ont jeûné 36 heures avant l'induction et a reçu 1 ml d'ACT par injection rectale le 8^{ème} jour de l'expérience comme il a reçu 1ml de NaCl 0,9% par gavage pendant une semaine.

Endormir l'animal avec le chloroforme. Une fois l'animal endormi, injecter par voie anale (rectale) 1ml d'ACT dilué à 4%. Suspendre le rat verticalement (queue en haut et la tête en bas) Pour ne pas rejeter le liquide injecter. Après 36 secondes, diluer la solution ACT 4% avec 1ml NaCl à 9‰ au niveau de rectum pour éviter l'endommagement de la muqueuse colorectale. Après la dilution, aspirer l'excès du mélange de l'ACT et le NaCl.

L'injection de l'ACT se fait par un cathéter pédiatrique de 8 mm, tout au long de 6cm allant de l'anus passant par le rectum vers le colon rectum. (Shalaby, A. Shatta, A.2013)



Fig 38 : L'induction de l'inflammation aigue au niveau de colon par l'ACT

- **Lot ASA+ACT** : ce lot a reçu une dose de 100 mg de 5-ASA/Kg de poids de l'animal/jour pendant une semaine par gavage, les rats ont jeûné 36 heures avant l'induction et il a reçu 1 ml d'ACT par injection rectale le 8^{ème} jour de l'expérience et a reçu une dose de 100 mg de 5-ASA/Kg de poids de l'animal/jour pendant le reste de l'expérience.
- **Lot Homo** : ce lot a reçu une dose de 8g d'homogénat / Kg de poids de l'animal/jour pendant une semaine par gavage, les rats ont jeûné 36 heures avant l'induction et a reçu 1 ml d'Nacl 0,9 % par injection rectale le 8^{ème} jour du gavage. Puis, il a reçu une dose de 8g d'homogénat / Kg de poids de l'animal/jour pendant une semaine par gavage.
- **Lot Homo+ACT** : il a reçu la dose de 8g d'homogénat/Kg de poids de l'animal/jour, pendant une semaine par gavage, les rats ont jeûné 36 heures avant l'induction et a reçu 1 ml d'ACT par injection rectale le 8^{ème} jour du gavage. Après, il a reçu une dose de 8g d'homogénat / Kg de poids de l'animal/jour pendant une semaine par gavage

À la fin des traitements, les animaux sont anesthésiés, un prélèvement de quelques millilitres de sang sur tube sec, EDTA et hepariné est réalisé au niveau de sinus caverneux à l'aide d'un capillaire et on s'en servira d'une goutte pour confectionner le frottis sanguin périphérique. Un prélèvement de la moelle osseuse au niveau de l'os fémur, puis le sang médullaire est récupéré à l'aide d'une seringue et servira à examiner le frottis médullaire. Ensuite, les rats seront disséqués, les organes sont prélevés, lavés au Nacl 0,9% et coupés pour la préparation histologique.



Fig 39 : Un lot de six rats mâles dans une cage



Fig 40 : Traitement d'un rat par gavage.

IV. Prélèvement de sang :

Avant tout prélèvement, les animaux ont été anesthésiés avec du chloroforme pendant 2 à 3 minutes, pour le sang périphérique, un capillaire a été inséré dans le sinus caverneux de l'œil de l'animal et le sang obtenu a été directement récolté dans des tubes EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) pour le dosage de la FNS (Formule Numération Sanguine, heparine lithium et sec pour le dosage enzymatique.

Pour les dosages enzymatiques, les tubes héparinés et secs ont subi une centrifugation à 5000 tours pendant dix minutes. Le plasma et le sérum ont été récupérés dans des tubes éppendorfs. Une partie de plasma est destinée pour le dosage enzymatique (TGO et TGP) et l'autre pour le dosage des protéines total plasmatiques. Le sérum est destiné pour le dosage des γ GT et CRP.

On a utilisé des Kits commerciaux (TGO-TGP- γ GT : SPINREACT, S.A; CRP : Biosystems A, S).



Fig 41 : prélèvement de sang au niveau sinus caverneux

V. Réalisation des frottis sanguins périphériques et médullaires:

➤ Matériel utilisés :

- Seringues stériles.
- Lames pour microscope.

1. Réalisation des frottis sanguins périphériques sur le sang frais :

Pour cela on passe par plusieurs étapes : Déposez une gouttelette de sang (d'un diamètre d'environ 3 mm) près de l'extrémité de la lame. Placer sur la goutte une lamelle inclinée à 45° de façon à ce que le sang s'étale sous la lamelle par capillarité. Poussez vers la gauche dans un mouvement fluide et rapide pour étaler uniformément la goutte. Séchez la lame à l'air.

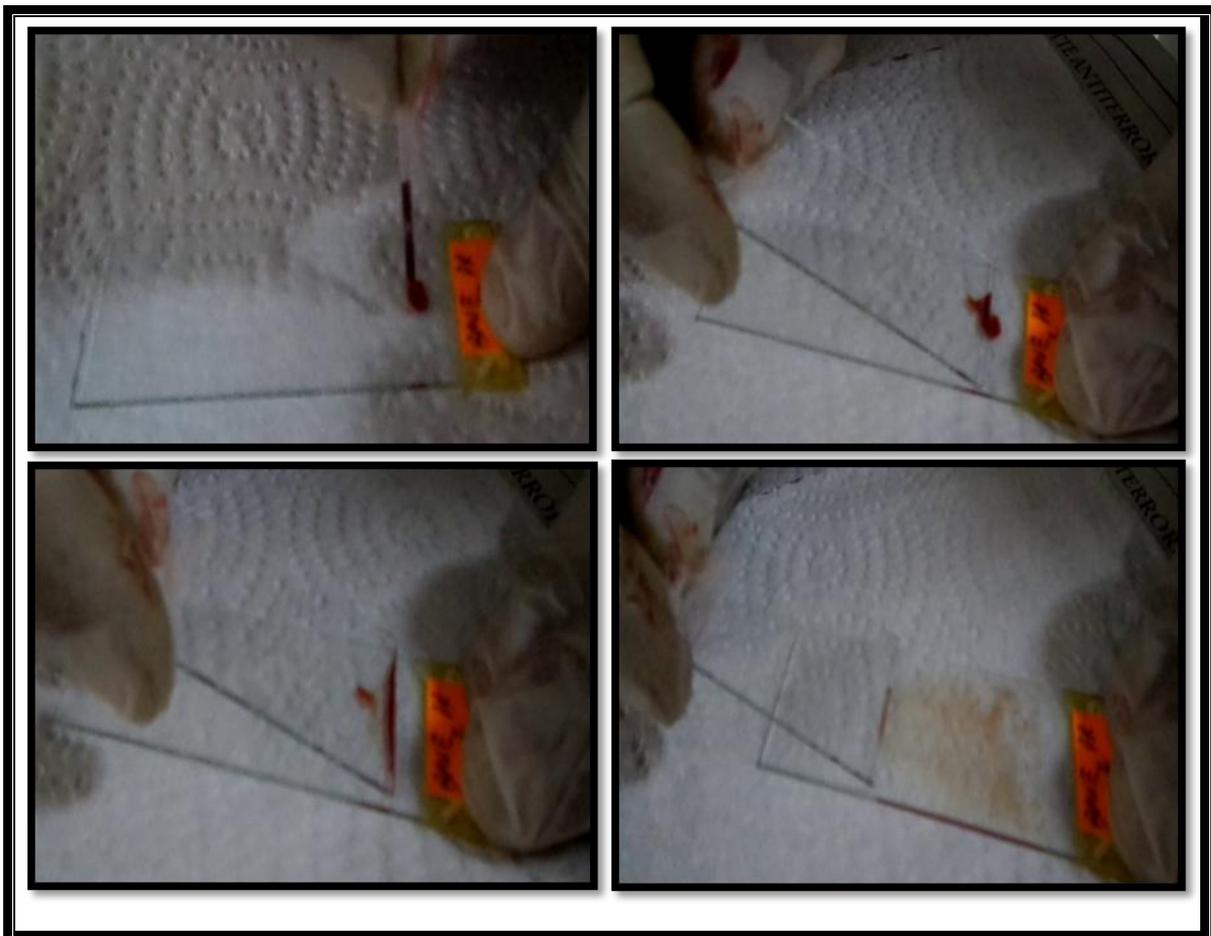


Fig 42 : Différentes étapes de réalisation des frottis sanguins périphériques

- a) Déposer la goutte de sang au bord de la lame
- b) Poser la 2^{ème} lame sur la goutte
- c) La goutte se propage au long de la 2^{ème} lame par phénomène de capillarité
- d) Tirer la lame jusqu'à la deuxième extrémité de la lame pour un étalement

(a)

(b)

2. Réalisation des frottis sanguins médullaire :

Pour le sang médullaire, le sang a été prélevé à partir de l'épiphyse de l'os du fémur de l'animal à l'aide d'une seringue pendant la dissection. Dépôt d'une goutte de moelle osseuse sur le bord de la lame en verre. Positionnement d'une deuxième lame inclinée avec un angle de 45° sur la première, de façon à prendre toute la goutte par capillarité. Application d'un mouvement de translation rapide pour étaler la goutte. Séchage à l'air libre pendant 5 minutes.



Fig 43 : Réalisation des frottis sanguins médullaires

VI. Coloration au May-Grünwald Giemsa:

➤ Principe :

L'action des ions acides et basiques obtenus après dissociation par de l'eau neutre de deux colorants alcooliques le May Grünwald (éosine –bleu de méthylène) et le Giesma (éosine-azur de méthylène) sur les éléments cellulaires complémentaires permet d'obtenir affinités : acidophile, basophile et neutrophile. (MARTEL, D.2007).

Les frottis sont colorés par la technique MGG selon les étapes suivantes :

1- Fixation au May-Grünwald :

Placer la lame du frottis sur un support horizontal au dessus d'un bac de coloration. Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur (non dilué) de façon à recouvrir complètement le frottis. Laisser agir 3 minutes. Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant. Laisser agir 8 minutes. Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre. Sécher dans l'Etuve



Fig 44 : Fixation au May-Grünwald

2- Coloration au Giemsa :

Préparer la dilution du Giemsa une heure avant la coloration. Verser le colorant Giemsa sur la lame, laisser agir 30 min pour les frottis périphérique et 45min pour les frottis médullaire. Rincer sous un jet d'eau neutre. Laisser sécher la lame à l'air, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre. Attendre au moins 5 minutes avant l'examen microscopique du frottis. Observez les frottis colorés au microscope.

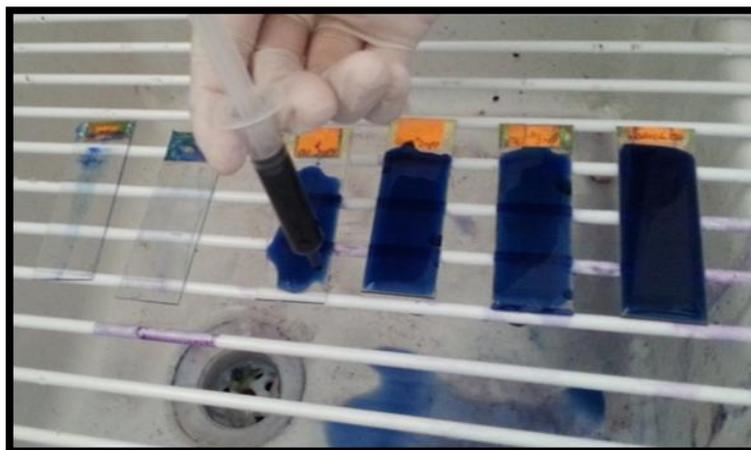


Fig 45 : Coloration au Giemsa

VII. Dissection et prélèvement des organes :

L'animal est anesthésié avec du chloroforme sous une cloche en verre. À l'aide des épingles on fixe l'animal sur la table de dissection. On fait une boutonnière dans la peau de l'abdomen en avant de l'orifice urinaire avec les ciseaux forts. Découper la peau avec un ciseau fort réalisant une incision verticale. Décoller la peau avec un scalpel et la rabattre vers l'extérieur et la fixer avec des épingles. Faire une boutonnière dans la paroi musculaire de l'abdomen avec des ciseaux fins. Découper la paroi musculaire jusqu'à la pointe du sternum. Découper le plastron thoracique. Prélever les organes lymphoïdes (foie, rate et thymus) et le colon et les conserver dans du formol. Une partie de foie a été congelé dans le NaCl 9 ‰ à -30°C pour déterminer le taux de MDA et de protéines total tissulaire.

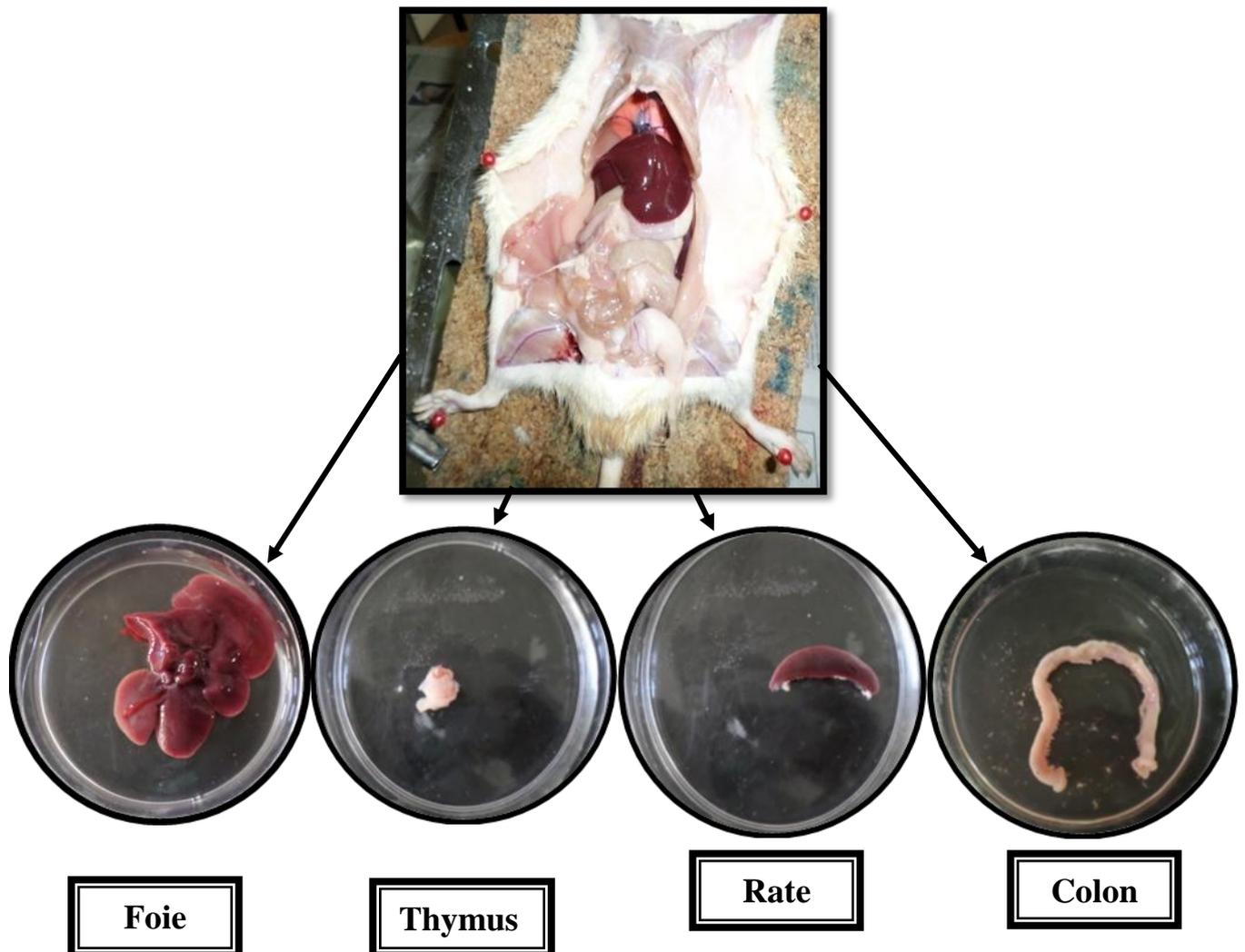


Fig 46 : dissection et prélèvement des organes

Une observation macroscopique des colons prélevés a été réalisée pour rechercher d'éventuelles nodules ou épaissements des parois (voir résultats macroscopiques).

VIII. Réalisation des coupes histologiques

1. La fixation

La fixation est un moyen technique qui permet de garder les structures tissulaires à étudier aussi proches que possible de l'état vivant. Cette fixation s'oppose à l'autolyse des constituants fondamentaux sous l'effet des enzymes cellulaires. Elle s'oppose aussi aux distorsions et rétractions et protège contre d'éventuelles attaques bactériennes.

Les organes prélevés sont mis dans des cassettes et plongés immédiatement dans une solution de formole 10% pendant 48H. On obtient alors des pièces dures.

2. La déshydratation

Les tissus contiennent de grandes quantités d'eau en intra et extra cellulaire. Cette eau doit être enlevée et remplacée par de la paraffine. Les cassettes sont plongées dans différents bains d'alcool (éthanol 90°) comme suit :

1-Bain d'alcool 1 (une nuit)

2-Bain d'alcool 2 (30mn)

3-Bain d'alcool 3 (3 mn)

3. La désalcoolisation

La pénétration du xylène dans les tissus élimine d'une part toute trace d'éthanol utilisé à la déshydratation puisque celui-ci n'est pas miscible à la paraffine et d'autre part éclaircit les pièces.

Les cassettes sont ensuite plongées dans différents bains de xylène comme suit :

1 - Xylène 1 (2heures)

2 - Xylène 2 (2heures)

3 - Xylène 3 (1heure)

4. L'inclusion dans la paraffine

Elle consiste à faire pénétrer aussi intimement que possible dans le tissu à étudier et à l'échelle cellulaire, une substance homogène solidifiable et neutre chimiquement tel que la paraffine. Les cassettes sont ensuite plongées dans des bacs de paraffine placés dans une étuve à 56°C pendant une nuit. La paraffine a pour but de durcir le prélèvement et représente aussi le meilleur moyen de conservation des tissus prélevés.

5. Réalisation des blocs

Les organes sont ensuite mis dans des moules métalliques puis recouverts de paraffine et congelés pendant une nuit. On obtient alors des blocs de paraffine contenant le tissu.

6. Coupe des blocs

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome « Leica ». On commence d'abord par le dégrossissement dans le but de faire ressortir au même niveau les fragments tissulaires inclus en enlevant la paraffine d'une manière sommaire. Ensuite en réglant le microtome à une épaisseur de 4µm, on réalise des coupes sous forme de ruban fin.

7. Etalement des coupes

Un liquide d'étalement est nécessaire pour étaler le ruban de coupe sur la lame, le liquide utilisé est l'eau gélatinée. L'étalement se fait sur une platine chauffante à 45°C pendant deux heures pour que la coupe soit bien aplatie. Les lames sont ensuite égouttées et séchées dans une étuve à 55-56°C pour enlever la paraffine.

8. Coloration et montage

L'affinité particulière de certains tissus ou constituants cellulaires pour une substance colorante donnée constitue le principe fondamental de la coloration tissulaire. La coloration utilisée est la coloration à l'hémalum éosine. L'hémalum ou hématoxyline de Harris est composé d'hématoxyline, d'alun potassique, d'acide acétique et d'eau. La solution d'éosine est composée d'éosine orange G, d'éosine pure et d'eau. Le résultat de cette coloration est :

- Noyau bleu violet (basophile).
- Cytoplasme rose (éosinophile).
- Hématies rouges claires à jaunes.
- Fibres de collagène roses-orangées.

Le processus de coloration est représenté dans les étapes suivantes :

- Deux bains de xylène de 10 minutes, chacun pour déparaffiner.
- Bain d'alcool 100% pendant 5 minutes.
- Deux passages dans de l'alcool à 100%.
- Lavage à l'eau courante pour le blanchissement des lames.
- Bain d'hémalum 10 à 20 secondes.
- Lavage à l'eau courante (bleuissement) qui donne une couleur bleu pale.
- Bain d'éosine pendant 5 minutes.
- Lavage à l'eau courante jusqu'à la disparition de la couleur rouge sur le bord de la lame.
- Deux passages dans l'alcool à 100%.
- Deux passages dans du xylène.

- Un bain de xylène pendant 10 minutes (pour l'éclaircissement des lames).
- Montage des lames.
- On obtient alors des lames prêtes à l'observation

XI. Détermination de la concentration de protéines totales plasmatiques et tissulaires par dosages colorimétrique (méthode BRADFORD) :

➤ Principe :

Le dosage de protéines par la méthode de Bradford utilise le réactif éponyme, dont le constituant principal est le bleu de Coomassie. Sous sa forme cationique libre, ce réactif absorbe la lumière à une longueur d'onde de 465nm. Lorsqu'il est mis en contact avec une solution protéique à doser, il se lie aux protéines présentes et aux groupements aromatiques ce qui a pour effet de déplacer sa principale raie d'absorption à 595nm. L'absorbance du rayonnement visible à 595 nm est mesurée par un détecteur, et permet de doser indirectement la teneur en protéine de la solution à l'aide d'une courbe d'étalonnage en BSA. (Vanquerp. S. ,2009)

➤ La méthode :

On prend 20µL de plasma du tube héparine et de l'homogénat du foie, et on met chacun dans un tube en verre, On y ajoute 180µL d'eau distillée. On met 4 ml de solution de Bradford et on agite dans l'agitateur. On incube 5 minutes dans une chambre noire. A la fin, on mesure l'absorbance par spectrophotomètre à $\lambda = 595 \text{ nm}$ et on fait les calculs à l'aide de la courbe d'étalonnage en BSA.

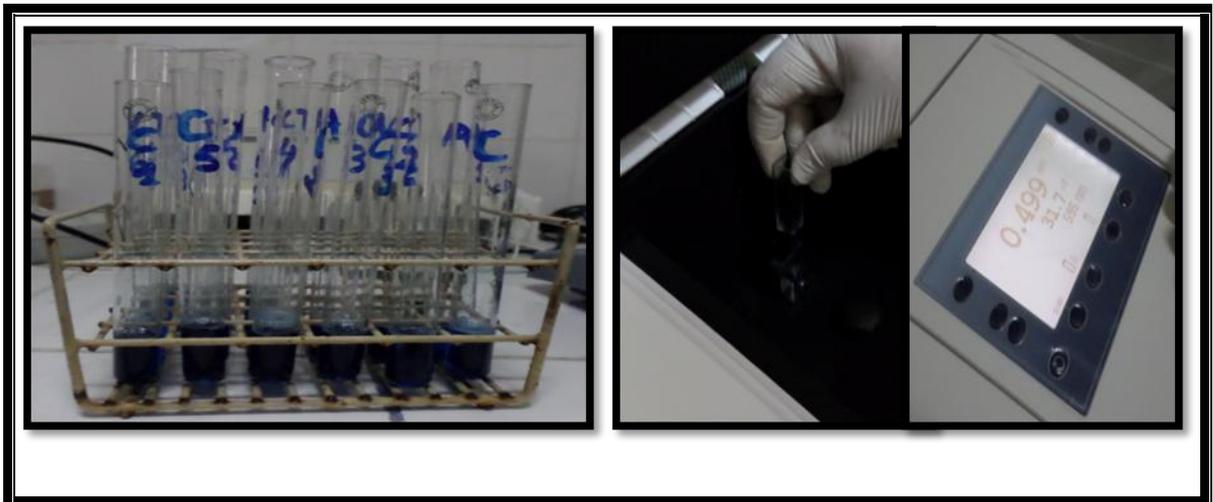


Fig 47 : Détermination de la concentration de protéines plasmatiques totales par dosages colorimétrique (méthode BRADFORD)

X. Dosage du MDA :

Le taux de MDA dans le foie est déterminé par la technique d'Okhawa et al (1979).
La méthode suivie pour chaque échantillon est la suivante :

- 100 mg de foie sont broyés dans 0.9 ml de KCl (1.15%).
- Le milieu réactionnel contient 0.2 ml de l'homogénat obtenu, 0.2ml de solution SDS « Sodium Dodécyl Sulfate » (8.1%), 1.58ml d'Acide acétique à 20% (PH 3.5) et 1.5 ml de TBARS « acide thiobarbiturique » (0.8%).
- Le volume final du milieu réactionnel est ajusté à 4 ml avec de l'eau distillée.
- Chauffer au bain-marie à 95C° pendant 60 min.
- Après refroidissement, 1 ml d'eau distillée et 5 ml de n-butanol-piridine sont ajoutés au milieu réactionnel.
- Agitation avec vortex.
- Centrifugation à 5000 tours/min pendant 10 minutes.
- Estimation du MDA par spectrophotomètre à $\lambda = 532$ nm selon le courbe étalon du MDA.

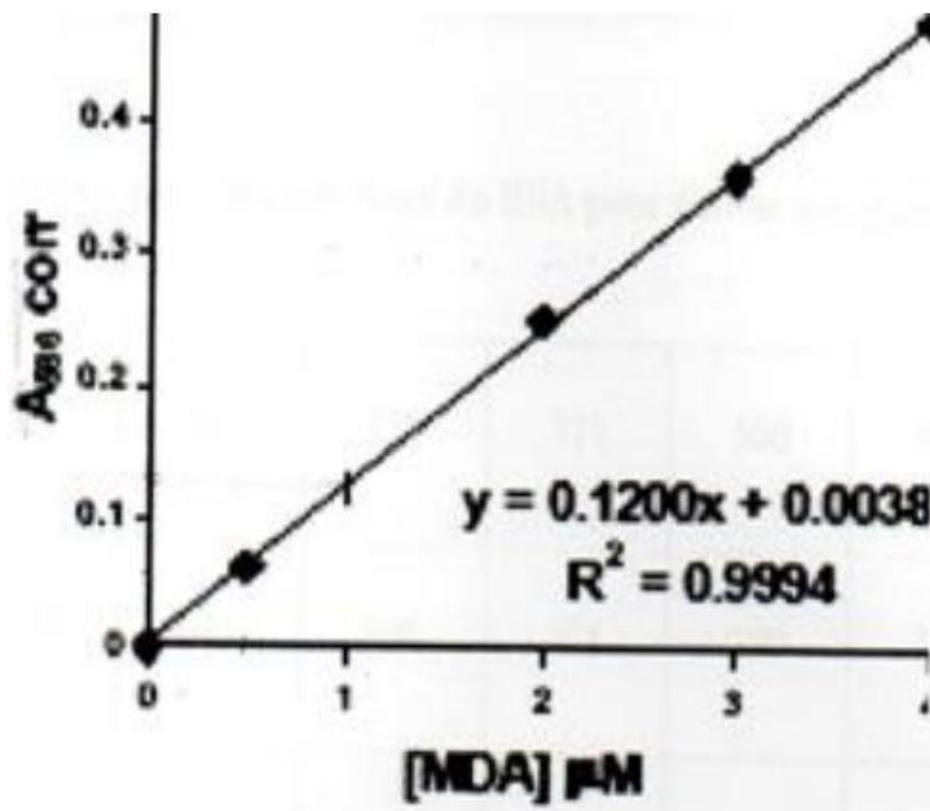


Fig 48 : Courbe étalon du MDA (Hammoud, 2013).

XI. Analyse statistique :

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm S.E.M. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel BioStat 2009 (version 5.0, Maisons-Alfort).

La comparaison entre les cinq lots des rats (**C-**, **ACT**, **ASA+ACT**, **Homo**, **Homo+ACT**) est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test de Turkey et Fisher LSD. Valeur significative $P < 0,05$.

Résultats et discussions

I. Les résultats :

1. Résultats physiologiques :

Dans cette partie du travail, nous avons pris en considération l'évolution du poids des animaux une semaine avant le traitement et durant le traitement chaque 2 jour.

❖ Tableau 07 : poids des rats une semaine avant l'expérience :

Une semaine avant l'expérience	J=-7	J=-5	J=-3	J=-1
LOT C	173,33	178,5	188,83	175,33
LOT ACT	231,33	247,33	239,16	230,83
LOT ASA + ACT	267,16	286,6	273	257,83
LOT HOMO	126,16	171,5	178,33	186
LOT HOMO+ACT	186	194,33	197,16	195

❖ Tableau 08 : poids des rats la 1^{ère} semaine de l'expérience :

1ere semaine de l'expérience	J=1	J=3	J=5	J=7
LOT C	229,83	228,33	226,83	213
LOT ACT	246,66	262,16	262,5	266
LOT ASA + ACT	263,16	275,83	264,5	257,66
LOT HOMO	196,33	205,66	205,8	211,6
LOT HOMO+ACT	190	200,66	202,66	200

❖ Tableau 09 : poids des rats la 2^{ème} semaine de l'expérience :

2eme semaine de l'expérience	J=9	J=11	J=13	J=15
LOT C	203,5	220,5	210	205,5
LOT ACT	240,5	258,3	256	252,83
LOT ASA + ACT	254,4	272,25	260	253,66
LOT HOMO	192,2	226,33	229	231,66
LOT HOMO+ACT	184,2	206	214,83	219

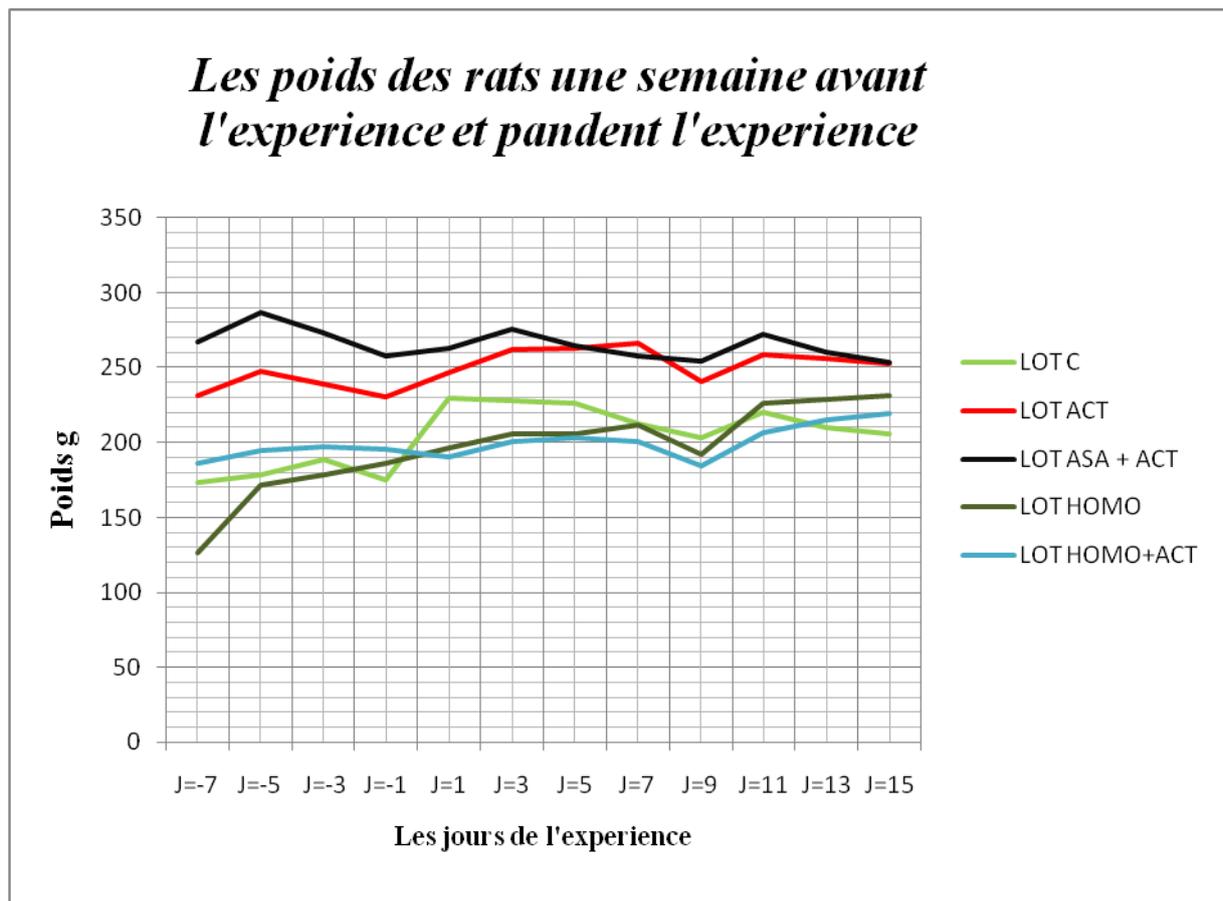


Fig 49 : évolution du poids des rats

A la fin de l'expérience, le poids des rats du lot **C** a évolué de 32,17 g, les rats du lot **ACT** ont évolué de 21,5g du poids donc l'évolution est 66,8 % par rapport au poids des rats du lot contrôle. Les rats du lot **ASA+ACT** ont perdu 13,5 g, la perte du poids est estimée à 41,9% par rapport au poids des rats du lot contrôle. L'évolution du poids des rats du lot **Homo** est plus importante, elle est de 105,5 g donc un gain de 327,9 % par rapport au poids des rats du lot contrôle. Les rats du lot **Homo+ACT** ont évolué de 33g du poids donc l'évolution est de 102,5 % par rapport au poids des rats du lot contrôle (**figure 41**).

2. Résultats biochimiques et hématologiques :

Dans cette partie du travail, nous avons pris en considération les taux des enzymes TGO (Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase), TGP (Glutamate-Pyruvate-Transaminase) et γ GT (Gamma Glutamyl Transpeptidase) ainsi que les taux de la CRP (protéine C réactive), des Protéines totales plasmatiques et tissulaires, MDA et FNS (Formule Numération Sanguine).

Ces paramètres ont été considérés dans le présent travail

- TGO pour évaluée l'état cardio-vasculaire et hépatique de l'animal
- TGP est un marqueur sensible et spécifique d'une atteinte hépatocellulaire.
- γ GT pour évaluée la fonction du foie de l'animal.
- MDA pour le statut oxydant
- CRP pour le statut inflammatoire

2.1. Taux de l'enzyme Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase (TGO) :

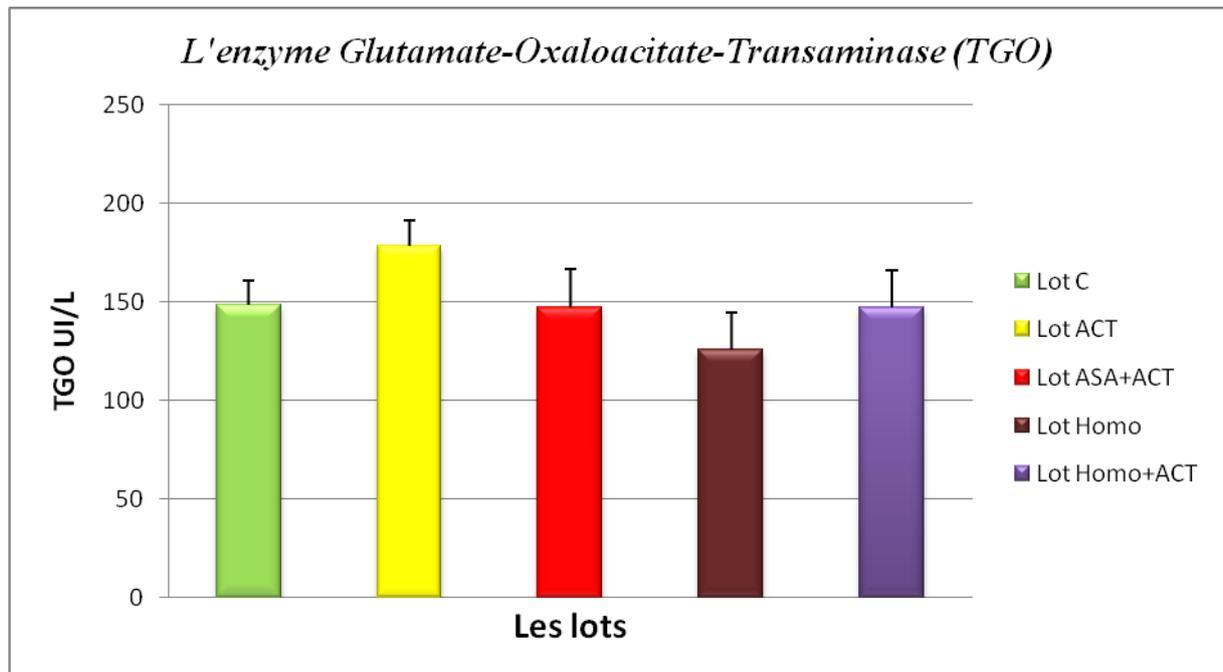


Fig 50 : taux de la Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase (TGO) des rats

2.2. Taux de l'enzyme Glutamate-Pyruvate-Transaminase (TGP) :

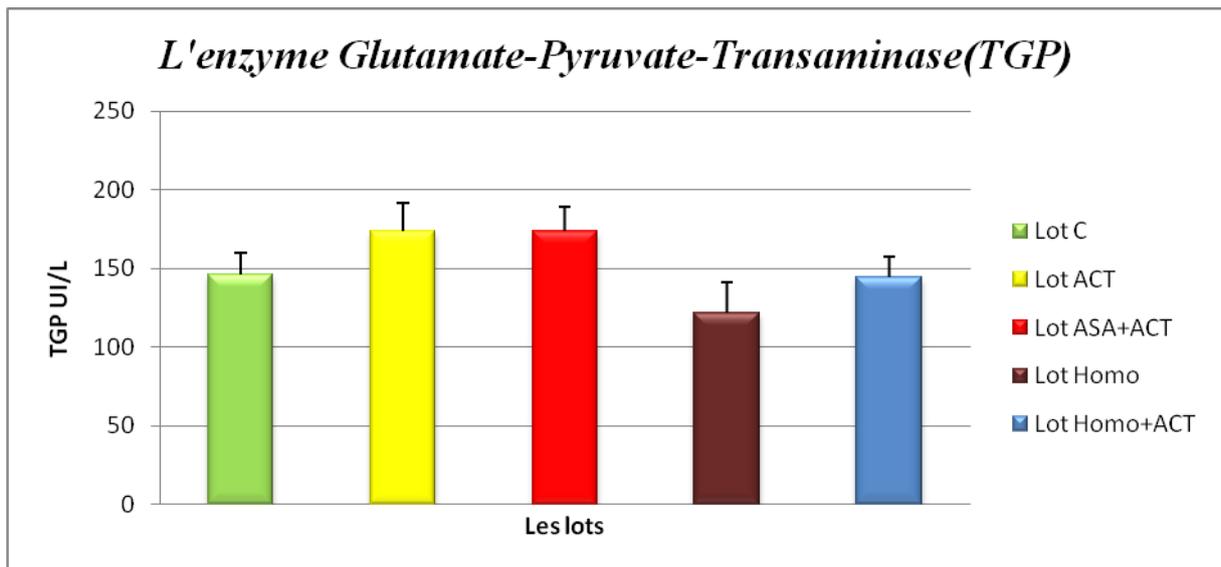


Fig 51 : le taux de l'enzyme Glutamate-Pyruvate-Transaminase (TGP) des rats

2.3. Taux de l'enzyme Gamma Glutamyl Transpeptidase (γ GT) :

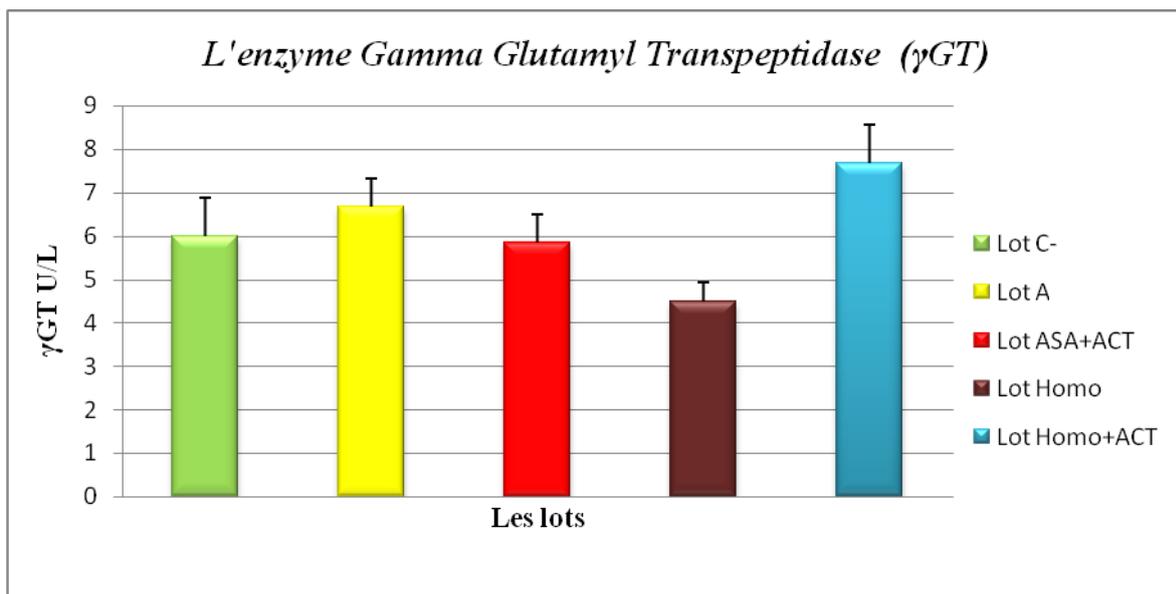


Fig 52 : le taux de l'enzyme Gamma Glutamyl Transpeptidase (γ GT) des rats.

2.4. Taux de MDA :

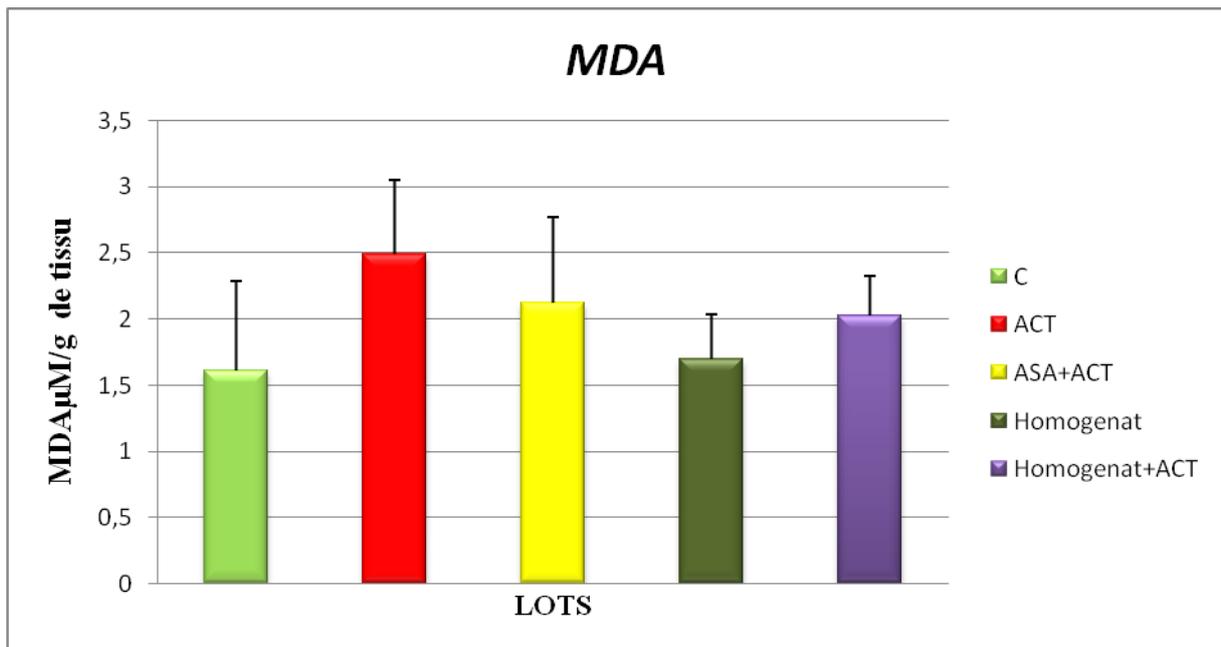


Fig 53 : le taux de MDA hépatique des rats

2.5. Taux de la protéine C réactive (CRP) :

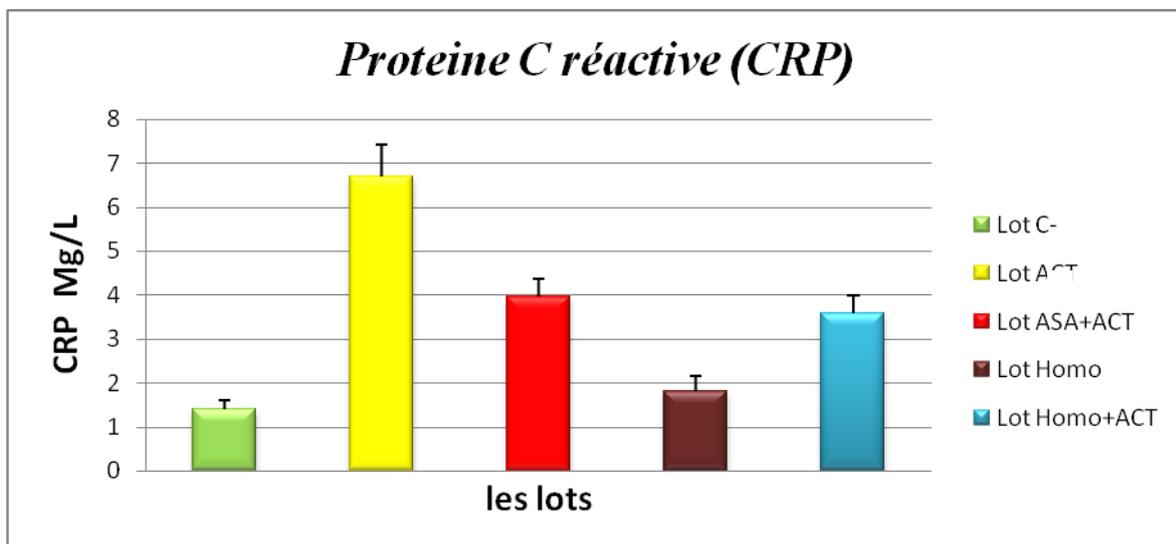


Fig 54 : le taux de la protéine C réactive (CRP) des rats.

2.6. Taux des protéines totales plasmatiques:

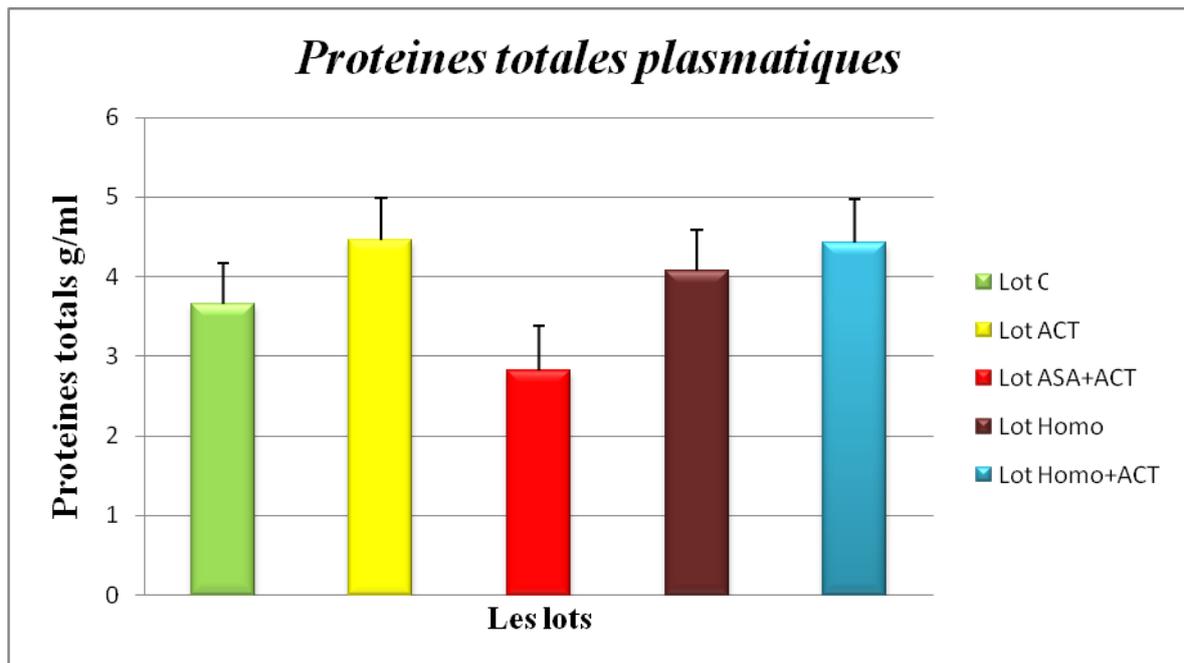


Fig 55 : le taux des protéines totales plasmatiques des rats

2.7. Taux des protéines totales tissulaires:

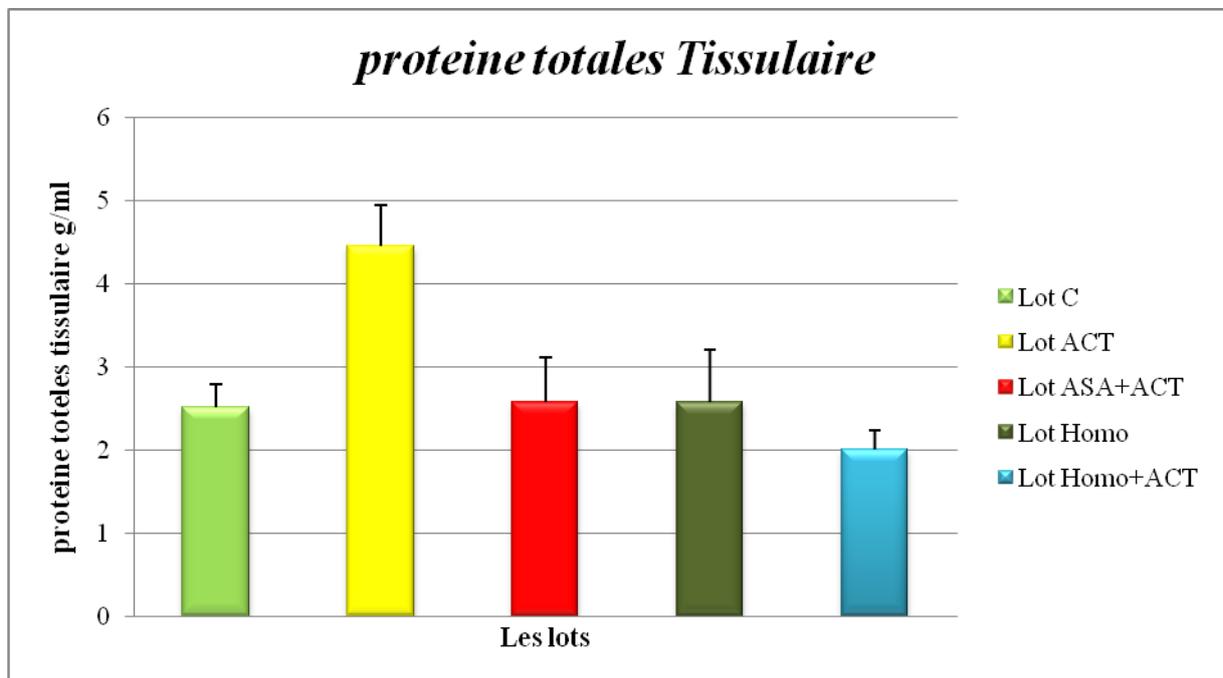


Fig 56 : Le taux des protéines totales tissulaire des rats

2.8. Formule Numération Sanguine (FNS):

Neuf paramètres ont été pris en considération : le taux de globules blancs (GB), des lymphocytes (LYM), des monocytes (MON), des granulocytes (GRA), globules rouges (GR), de l'hémoglobine (HB), de l'hématocrite (HT), de volume globulaire moyen (VGM) et les plaquettes (PLA).

Ces paramètres nous ont permis d'étudier et d'évaluer l'impact des différents protocoles sur la morphologie et le taux des cellules impliqués dans l'immunité, dans l'anémie et dans la collaboration inflammatoire (plaquettes et CRP)

Les lames des frottis sanguins périphériques et médullaires des différents lots ont été observées au microscope. Les résultats sont les suivants :

❖ Les globules blancs (GB) :

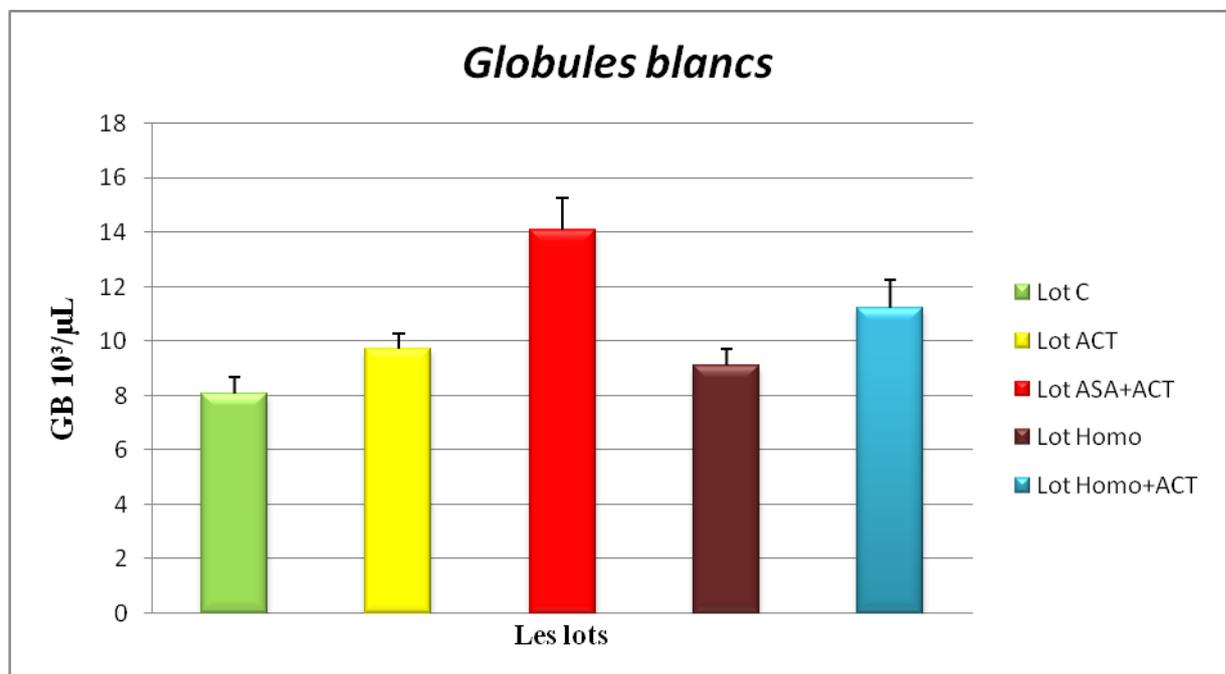


Fig 57 : le taux des globules blancs (GB) des rats

❖ Les lymphocytes :

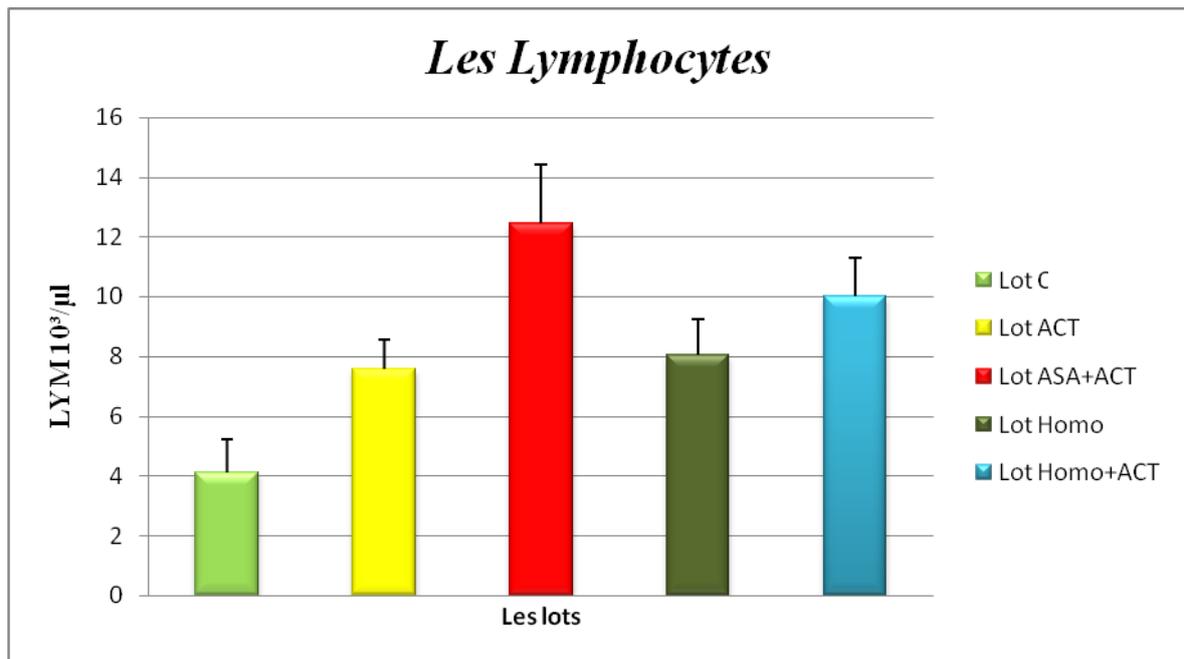


Fig 58 : le taux des lymphocytes des rats

❖ Les Monocytes :

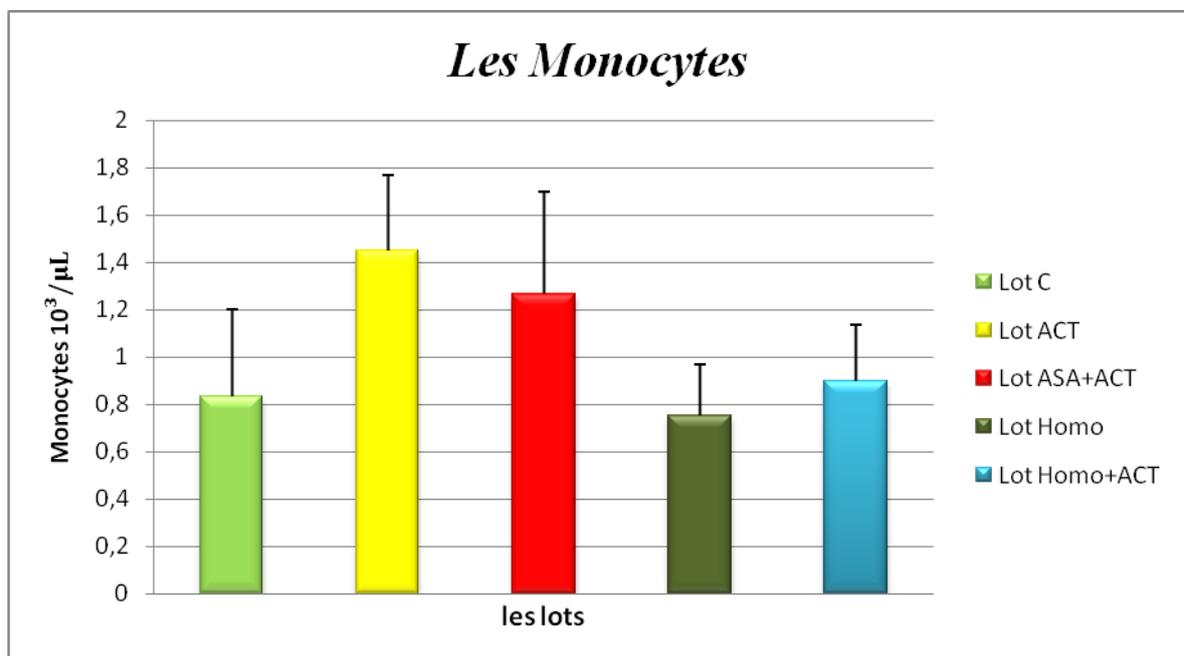
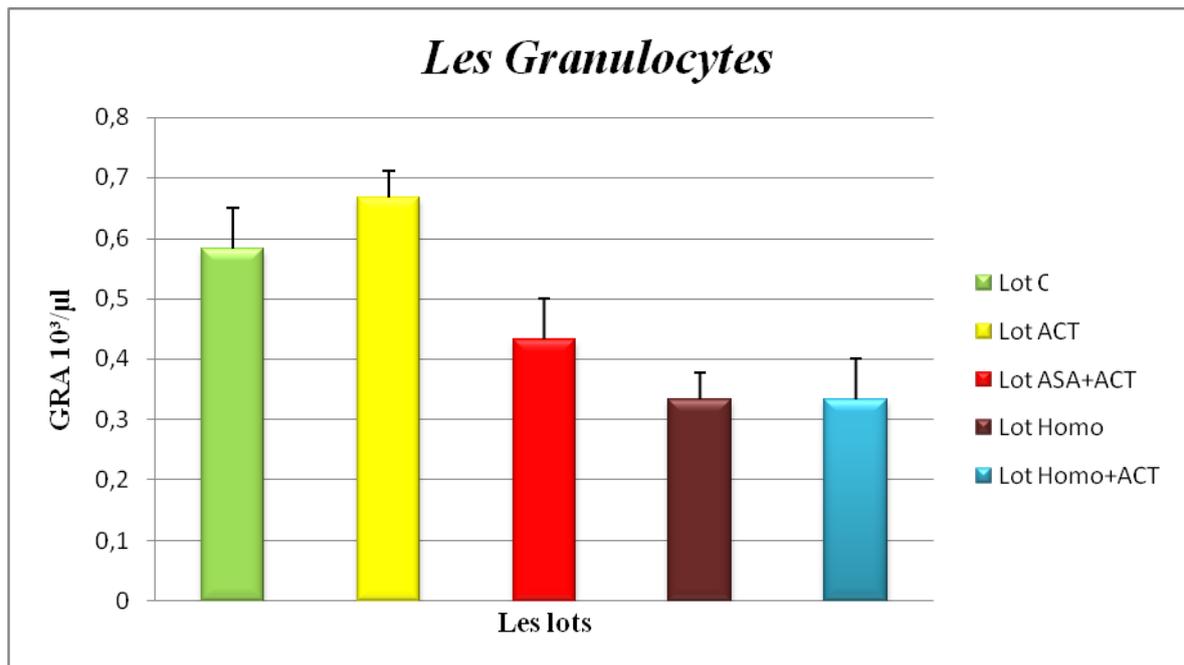
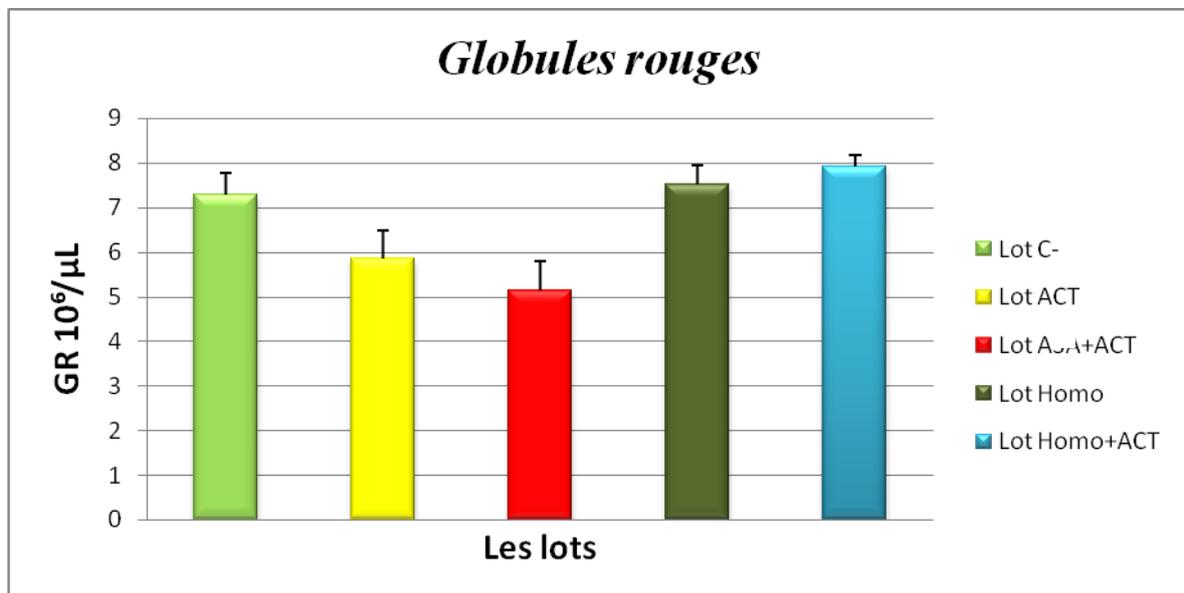


Fig 59 : le taux des Monocytes des rats

❖ **Granulocytes :****Fig 60 : le taux des Granulocytes des rats**❖ **Globules rouges (GR) :****Fig 61 : le taux des globules rouges des rats**

❖ l'hémoglobine :

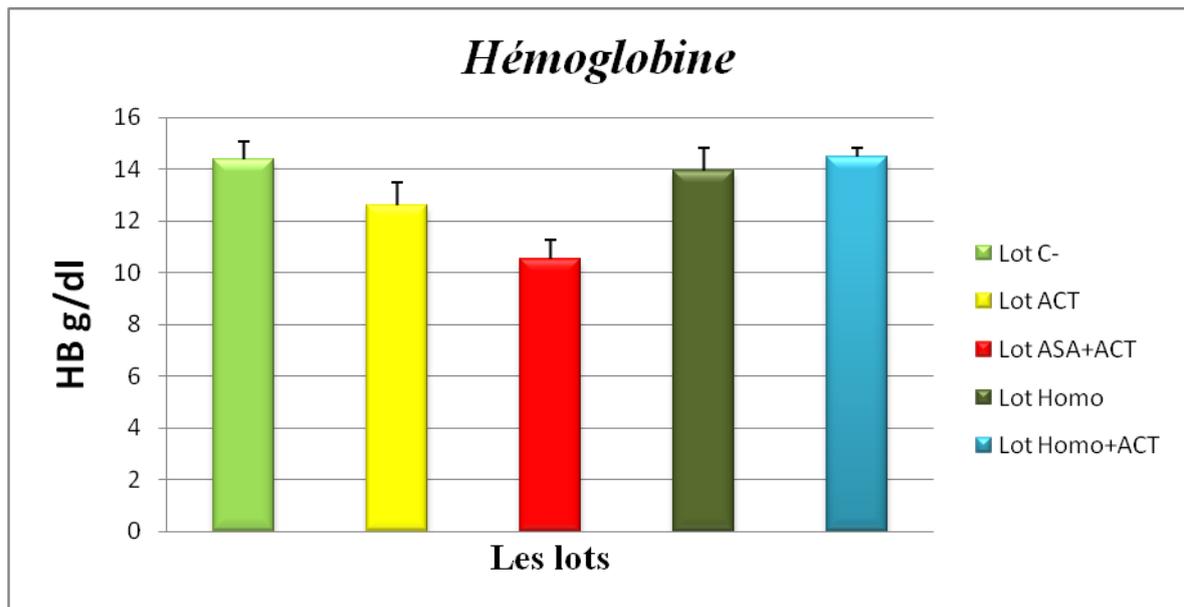


Fig 62 : le taux d'hémoglobine des rats

❖ Hématocrite :

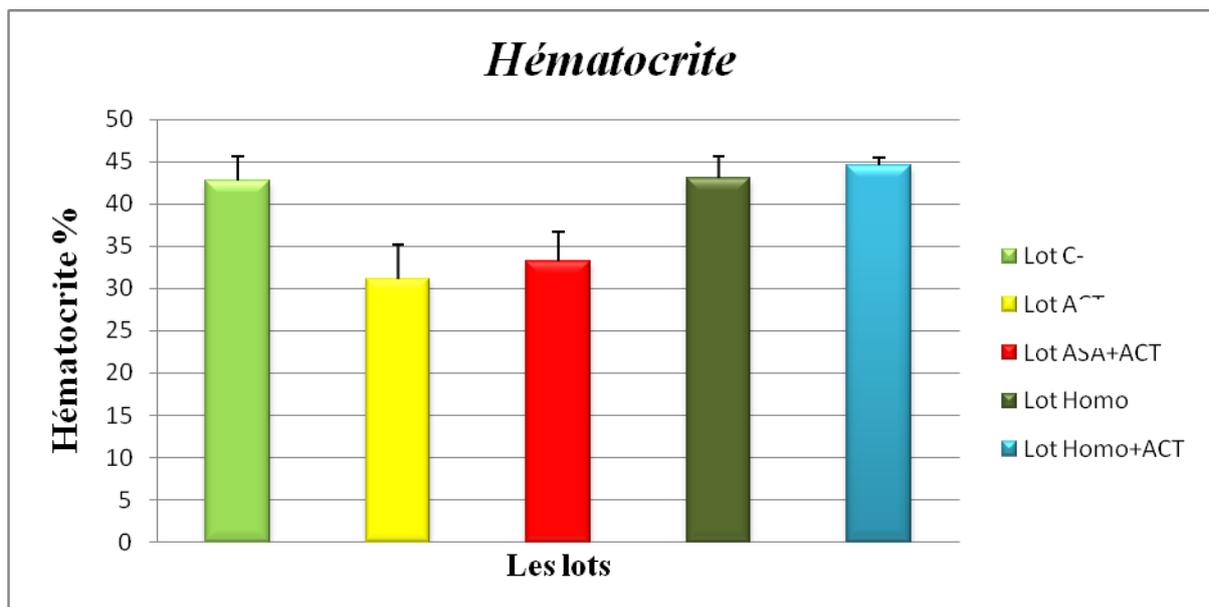


Fig 63 : le taux d'Hématocrite des rats

❖ Volume Globulaire Moyen (VGM) :

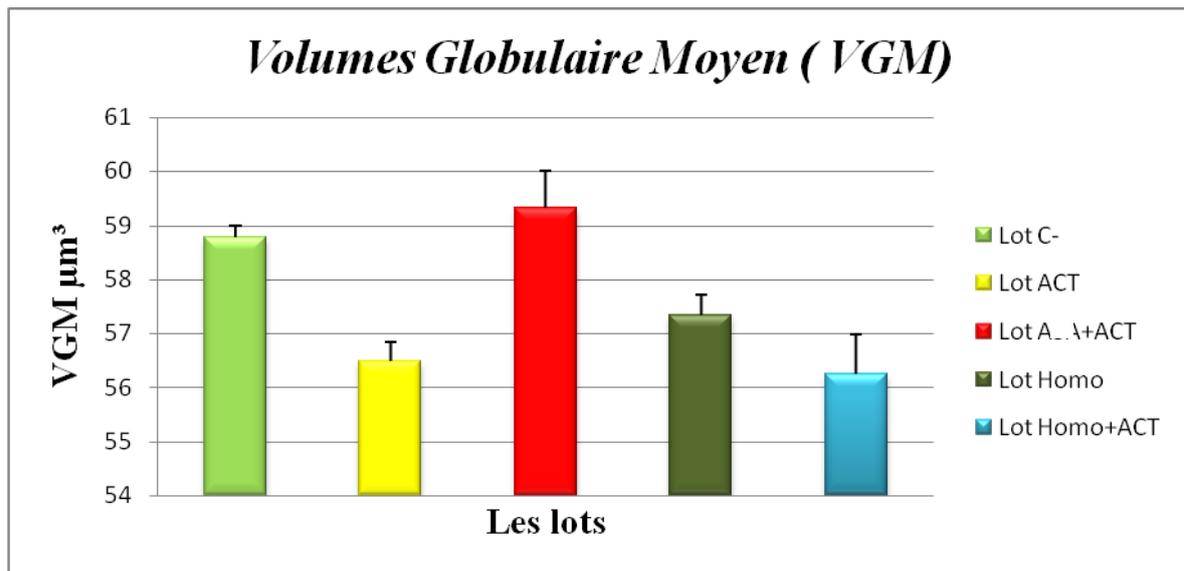


Fig 64 : le taux de VGM (Volume Globulaire Moyen) des rats

❖ les Plaquettes :

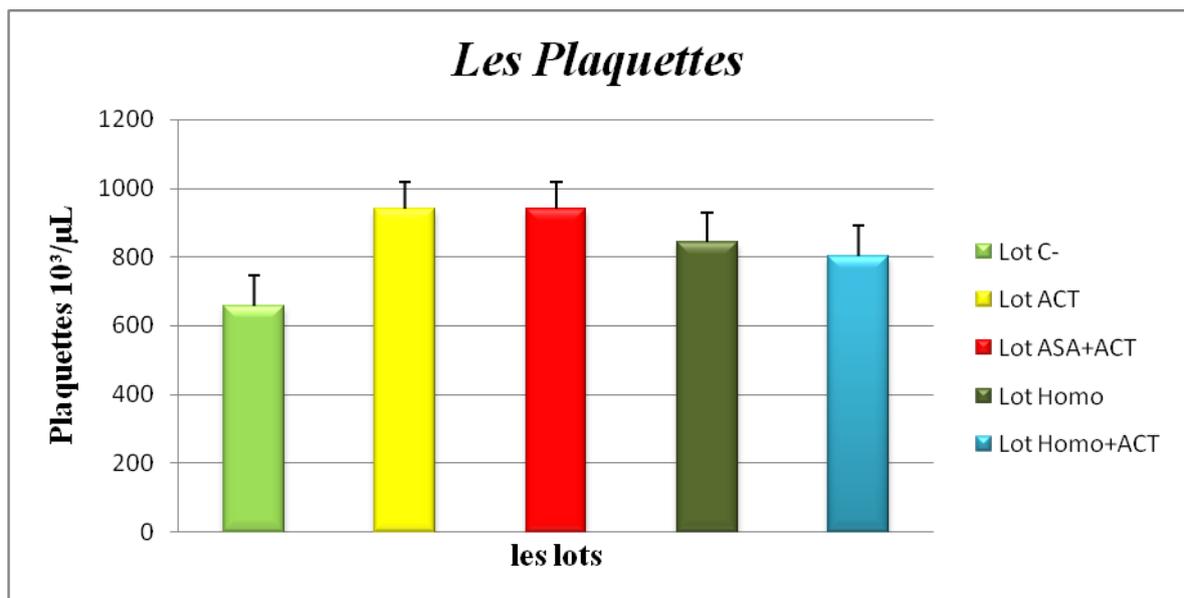


Fig 65 : le taux des Plaquettes des rats

3. Résultats Cytologiques et Histologiques :

3.1- Résultats Cytologiques :

a) Frottis périphériques :

Après une coloration MGG, les lames sont observées à l'aide un photo-microscope (OPTECH[®]) un tri a été réalisé et les photos suivantes ont été prises avec un appareil photo (Canon[®]) relié au microscope.

➤ Lot C :

On remarque la présence d'érythrocytes bien définis (**GR**), de nombreux neutrophiles en forme 8 et anneau (**PNN**), un monocyte avec un noyau encoché (**MN**) ainsi que deux petits lymphocytes avec des noyaux très dense (**LM**). (**Fig 66**).



Fig 66: Frottis périphériques du lot C. G×1000

GR : Globules rouges. **LM** : Lymphocyte. **MN**: Monocytes. **PNN**: Polynucléaire Neutrophile

➤ **Lot ACT :**

On remarque la présence d'érythrocytes bien définis (**GR**), des neutrophiles polylobés (**PNN**), un monocyte avec un noyau encoché (**MN**) ainsi que plusieurs petits lymphocytes avec des noyaux très dense (**LM**). (**Fig 67**).

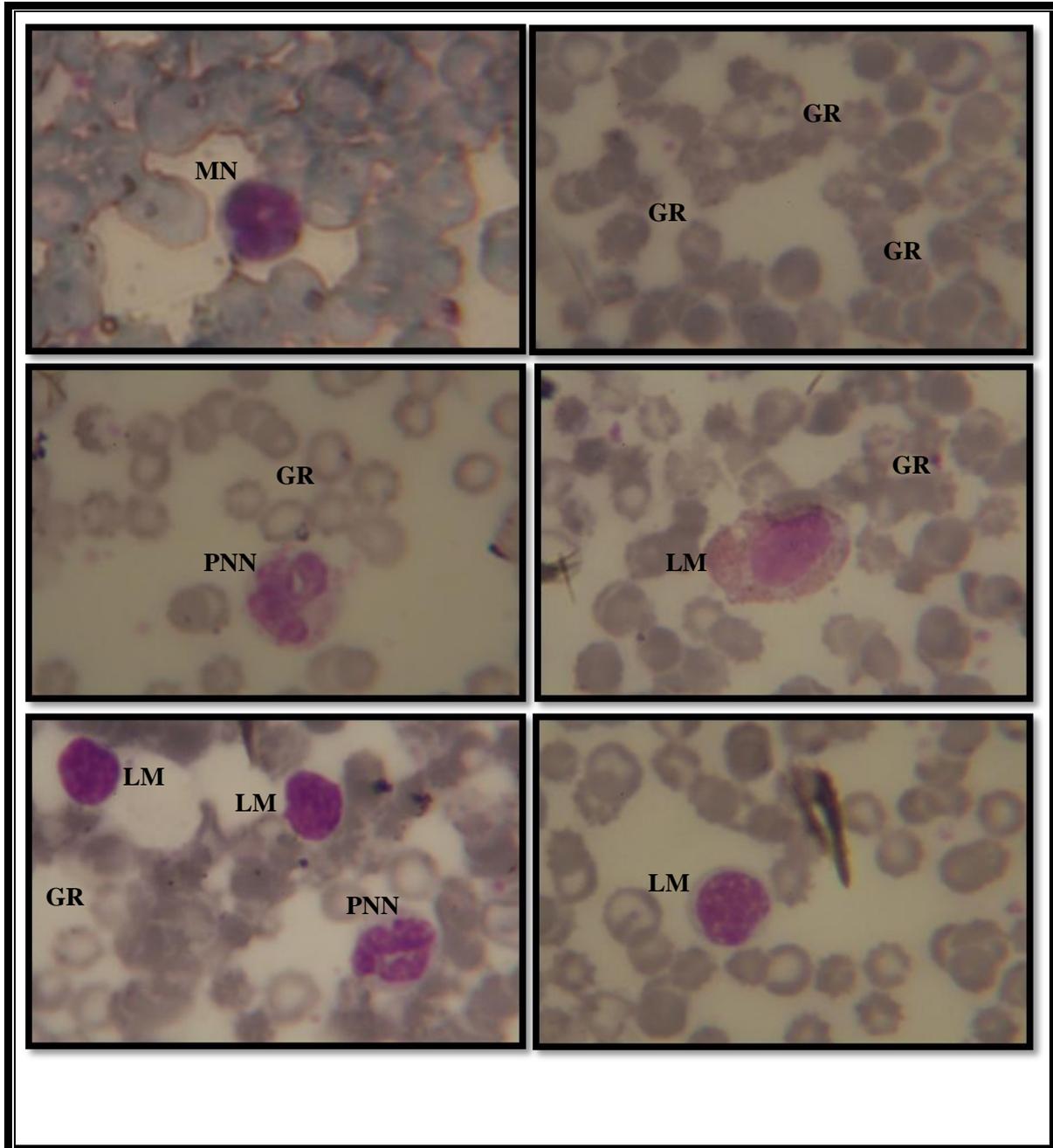


Fig 67: Frottis périphériques du lot ACT. G ×1000

GR : Globules rouges. **LM :** Lymphocyte. **MN:** Monocytes. **PNN:** Polynucléaire Neutrophile.

➤ **Lot ASA+ACT :**

On remarque la présence de nombreux neutrophiles polylobés et les noyaux en anneau (**PNN**), un monocyte un avec un noyau encoché (**MN**) ainsi que des petits lymphocytes avec des noyaux très dense (**LM**). (**Fig 68**).

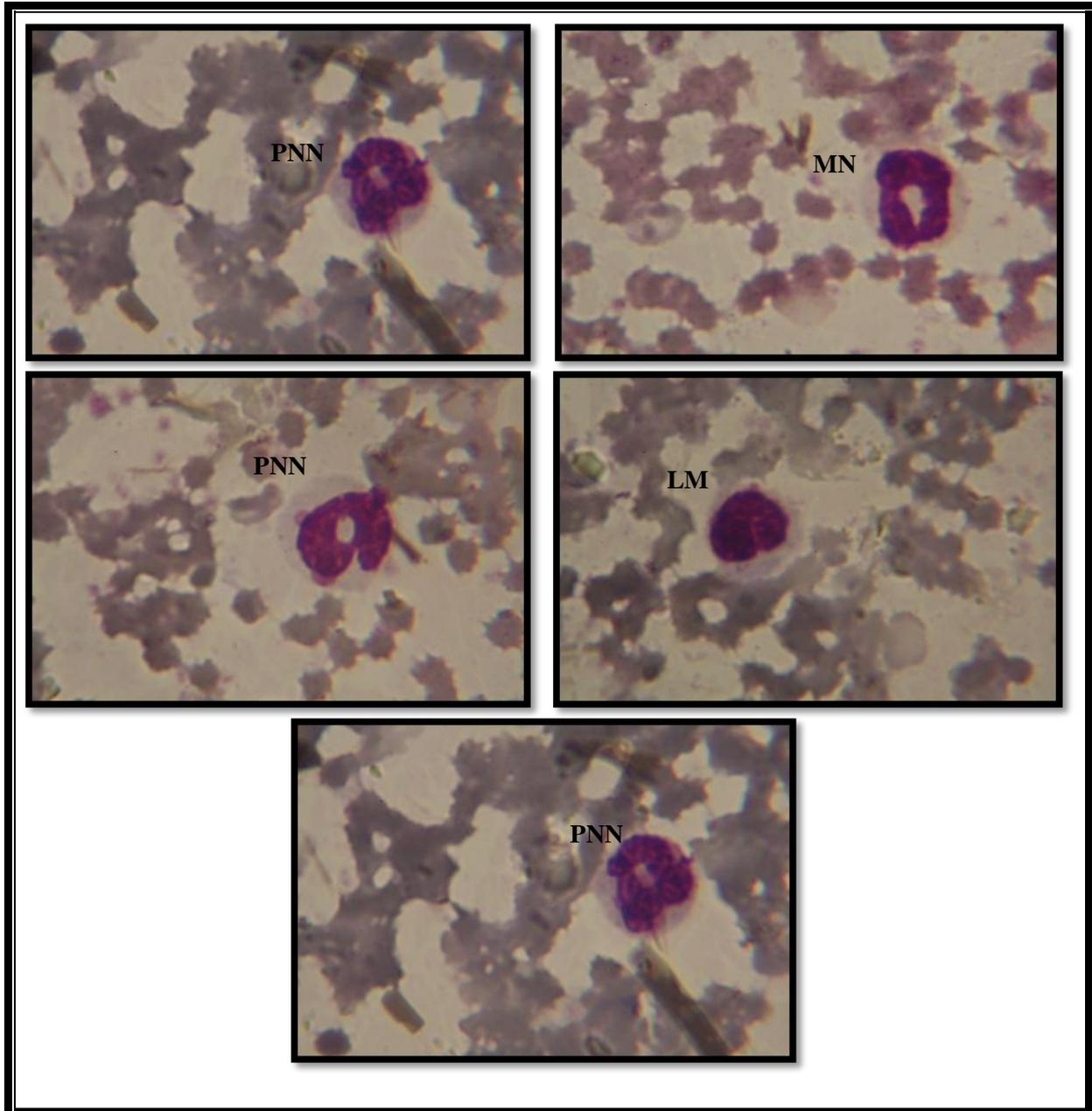


Fig 68 : Frottis périphériques du lot ASA+ACT. G $\times 1000$

LM : Lymphocyte. MN: Monocytes. PNN: Polynucléaire Neutrophile

➤ **Lot Homogénat :**

On note la présence d'érythrocytes bien définis (**GR**), de nombreux neutrophiles en plusieurs formes de noyau (**PNN**), ainsi que quelques plaquettes colorées en rose (**P**). (**Fig 69**).

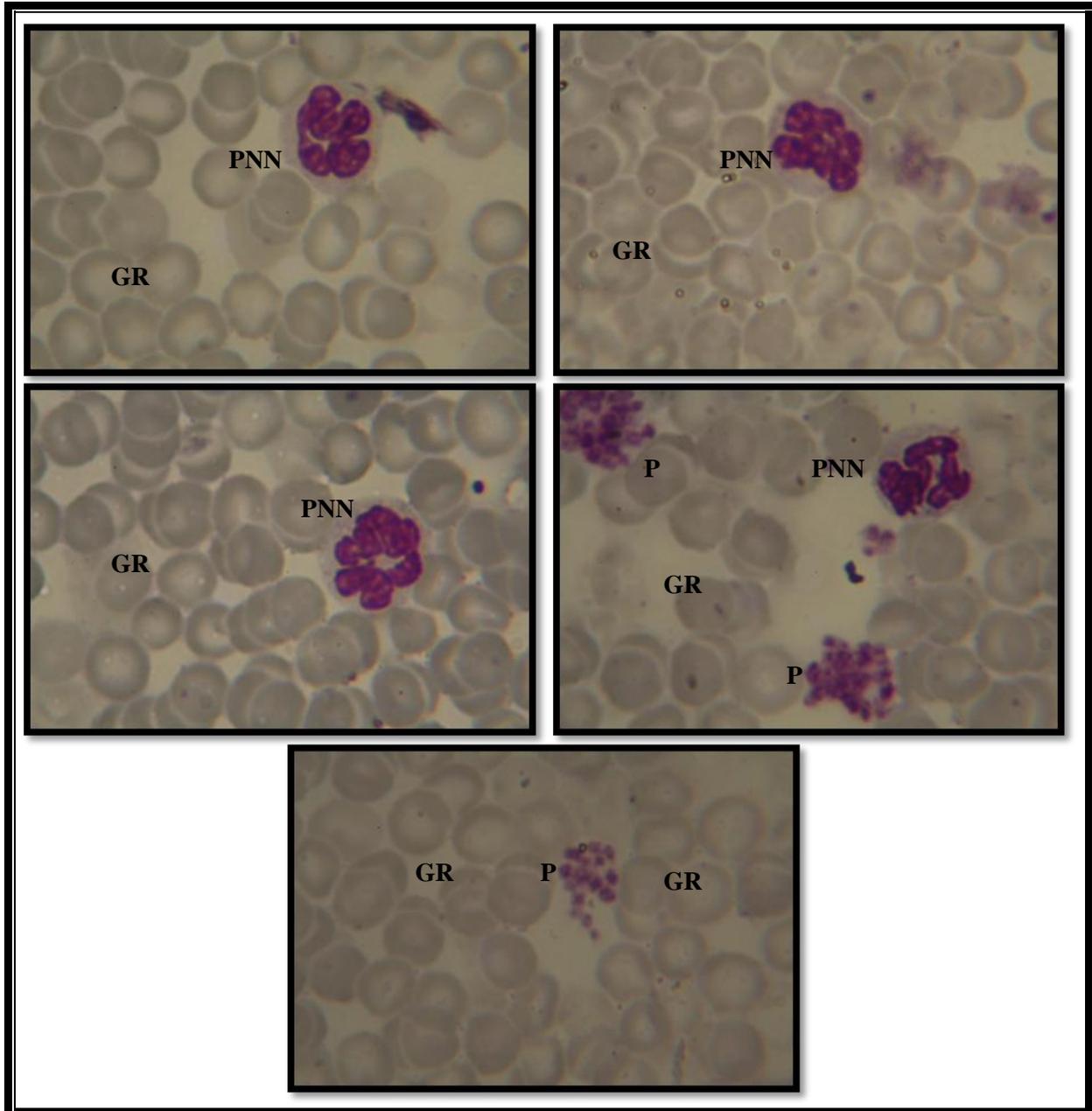


Fig 69 : Frotti périphériques du lot Homogénat. G \times 1000

GR : Globules rouges. **LM :** Lymphocyte. **PNN:** Polynucléaire Neutrophile. **P :** Plaquettes

➤ **Lot Homogénat + ACT:**

On remarque la présence d'érythrocytes bien définis (**GR**), de nombreux neutrophiles en forme 8 et anneau (**PNN**) ainsi que un grand lymphocyte avec des noyaux très dense (**LM**). (**Fig 70**).

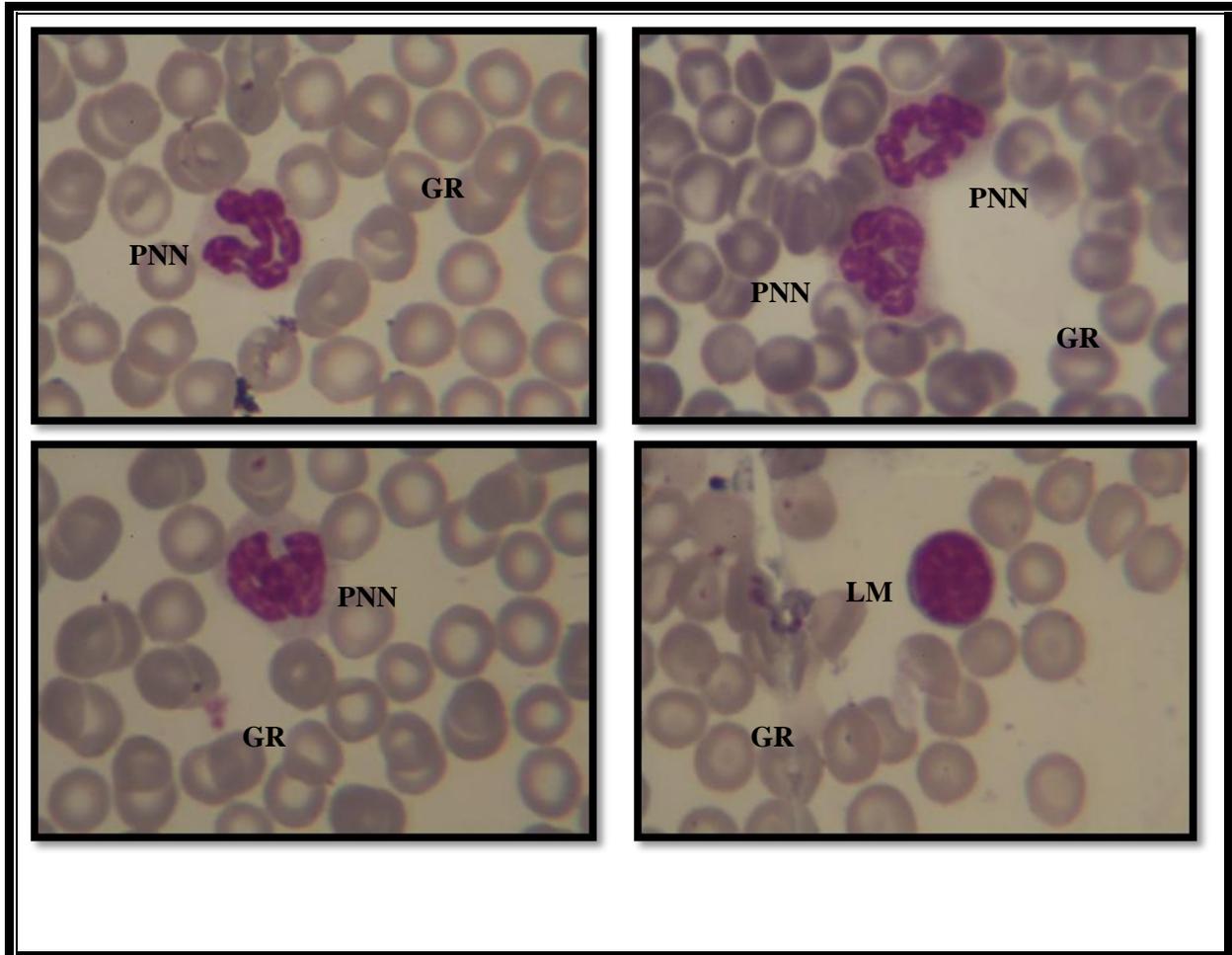


Fig 70 : Frotti périphériques du lot Homogénat +ACT.

G ×1000

GR : Globules rouges. **LM**: Lymphocyte. **PNN**: Polynucléaire Neutrophile.

b) Frotti médullaires :

Après une coloration MGG, les lames sont observées à l'aide d'un photo-microscope (OPTTECH[®]) et nous avons pris des photos avec un appareil photo (Canon[®]). Les photos suivantes sont obtenues :

➤ Lot C :

L'examen des frottis médullaires du lot control montre la présence de diverses cellules de la lignée myéloïde: Polynucléaire neutrophile segmenté (PNN), myélocyte (MY) et de la lignée mégacaryocytaire (M), quelques adipocytes (vésicule lipidique) (AD).

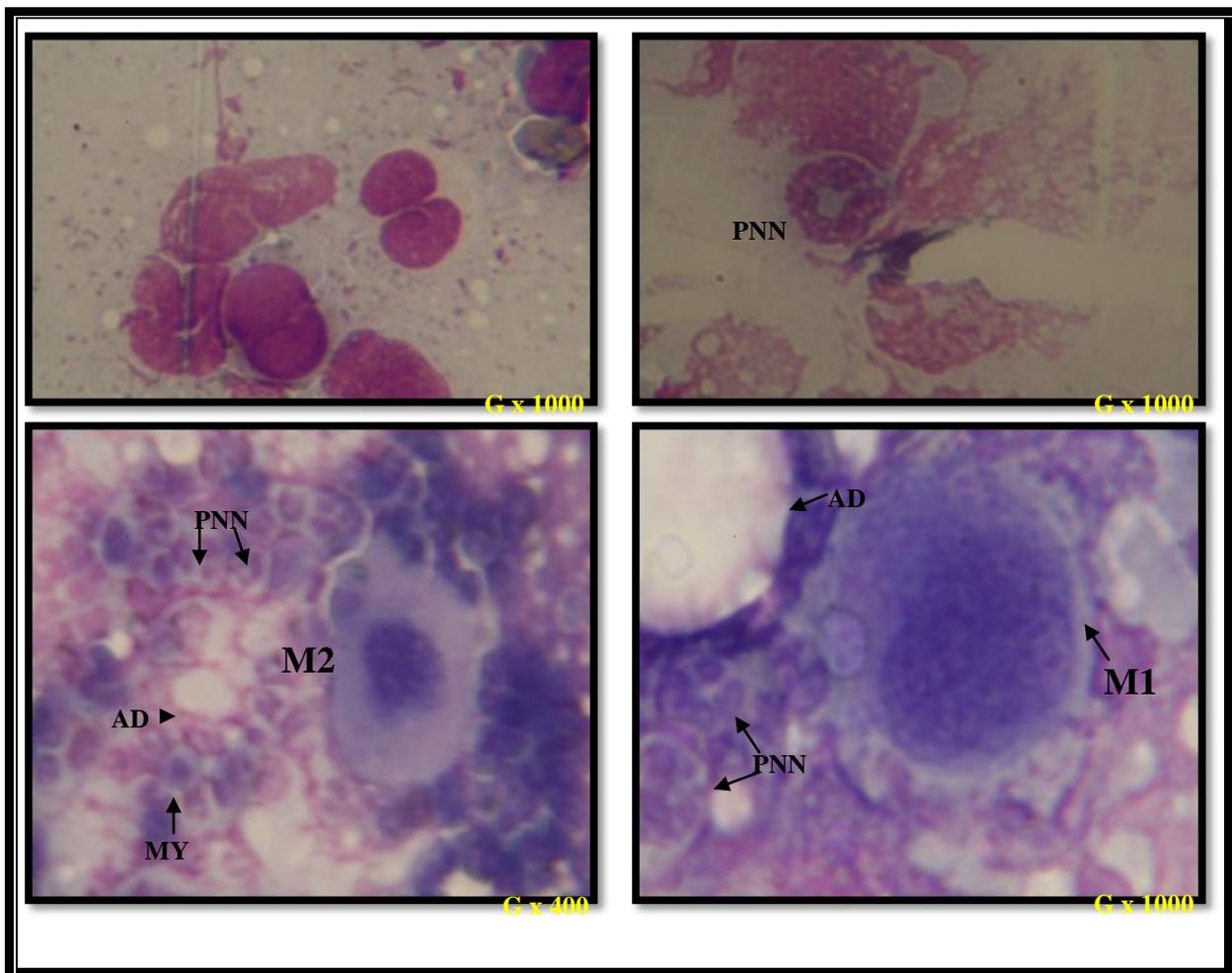


Fig 71 : Frottis médullaires du lot C. G×1000

AD: Adipocyte. **M1 :** Myélocyte neutrophile. **M2 :** Mégacaryocyte. **MY :** Myélocyte. **PNN:** Polynucléaire Neutrophile.

➤ **Lot ACT :**

L'examen des frottis médullaires du lot ACT montre la présence de diverses cellules de la lignée myéloïde: nombreux Polynucléaire neutrophile segmenté (**PNN**), myélocyte (**MY**), Mégacaryocyte (**M2**), Métamyélocyte (**M3**), précurseur d'éosinophile (**Pré- EO**) possédant des granulations cytoplasmiques acidophile et apparaissent en couleur orangé, Basophile (**BS**).

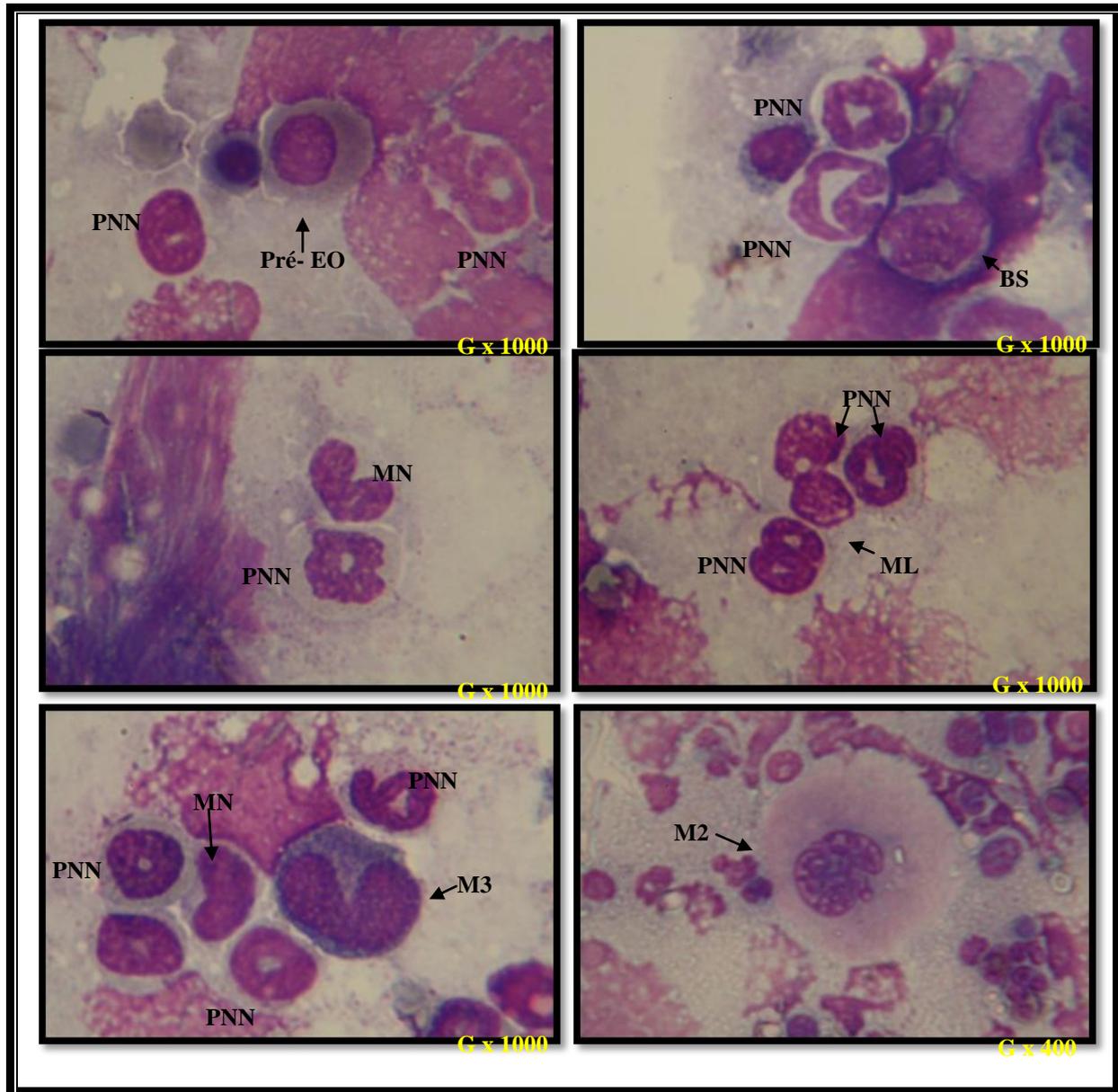


Fig 72 : Frottis médullaires du lot ACT.

BS : Basophile. **M2** : Mégacaryocyte **M3** : Métamyélocyte. **ML** : Myélocytes.
MN : Monocyte. **PNN**: Polynucléaire Neutrophile. **Pré- EO** : précurseur d'éosinophile

➤ **Lot ASA+ACT :**

L'examen des frottis médullaires du lot ASA+ACT montre la présence de diverses cellules de la lignée myéloïde: nombreux Polynucléaire neutrophile segmenté (**PNN**), Mégacaryocyte (**M2**), Myélocyte Neutrophile (**MNT**), précurseur d'éosinophile (**Pré- EO**) possédant des granulations cytoplasmiques acidophile et apparaissent en couleur orangé et des Basophiles (**BS**).

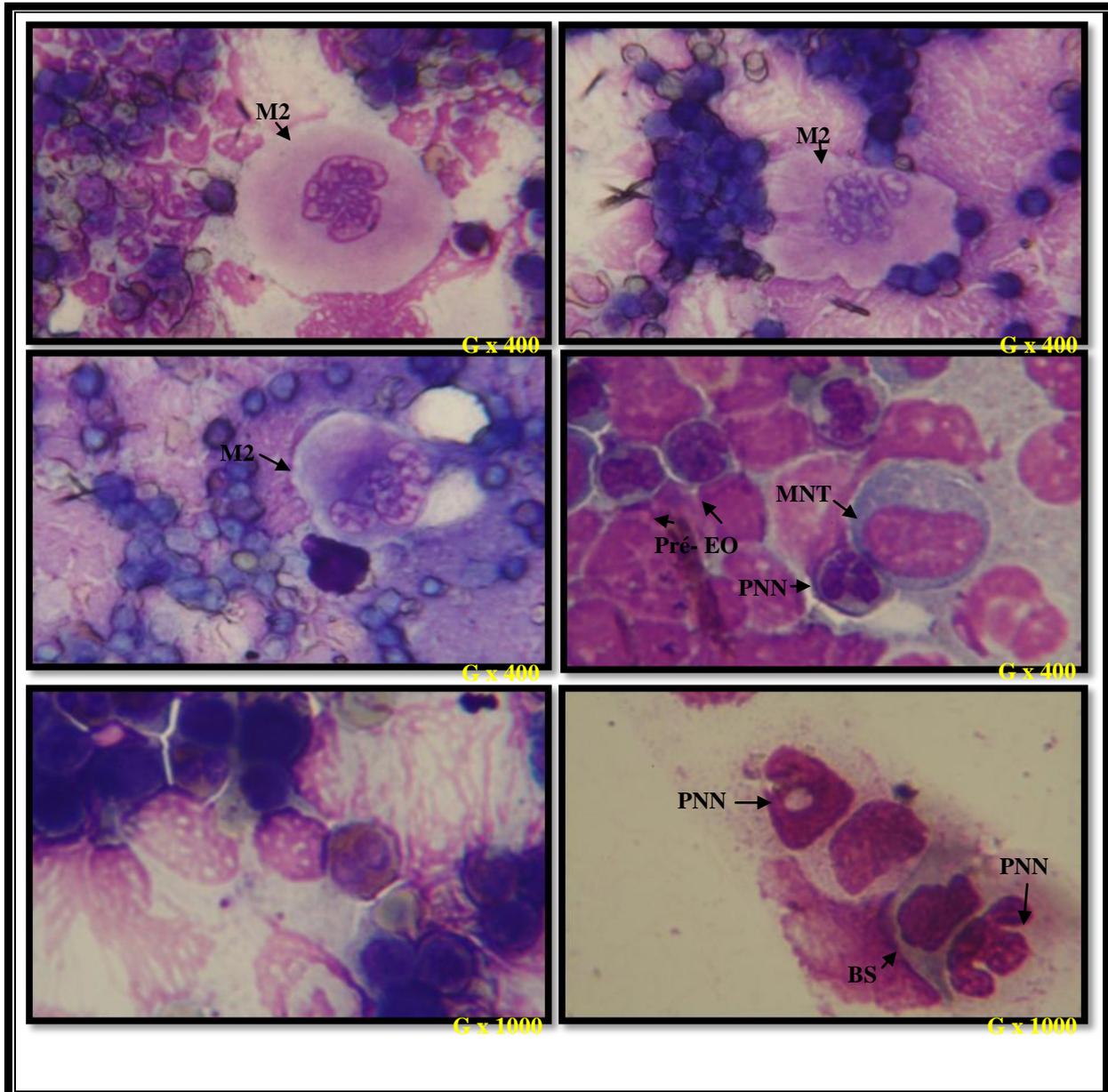


Fig 73 : Frottis médullaires du lot ASA+ACT

M2 : Mégacaryocyte. **MNT** : Myélocyte Neutrophile. **Pré- EO** : précurseur d'éosinophile
PNN: Polynucléaire Neutrophile

➤ **Lot Homo:**

L'examen des frottis médullaires du lot Homo montre la présence de diverses cellules : Polynucléaire neutrophile segmenté (**PNN**), érythroblaste basophile (**EB**) et mégacaryocyte (**M2**), monocyte (**MN**), quelques adipocytes (vésicule lipidique) (**AD**).

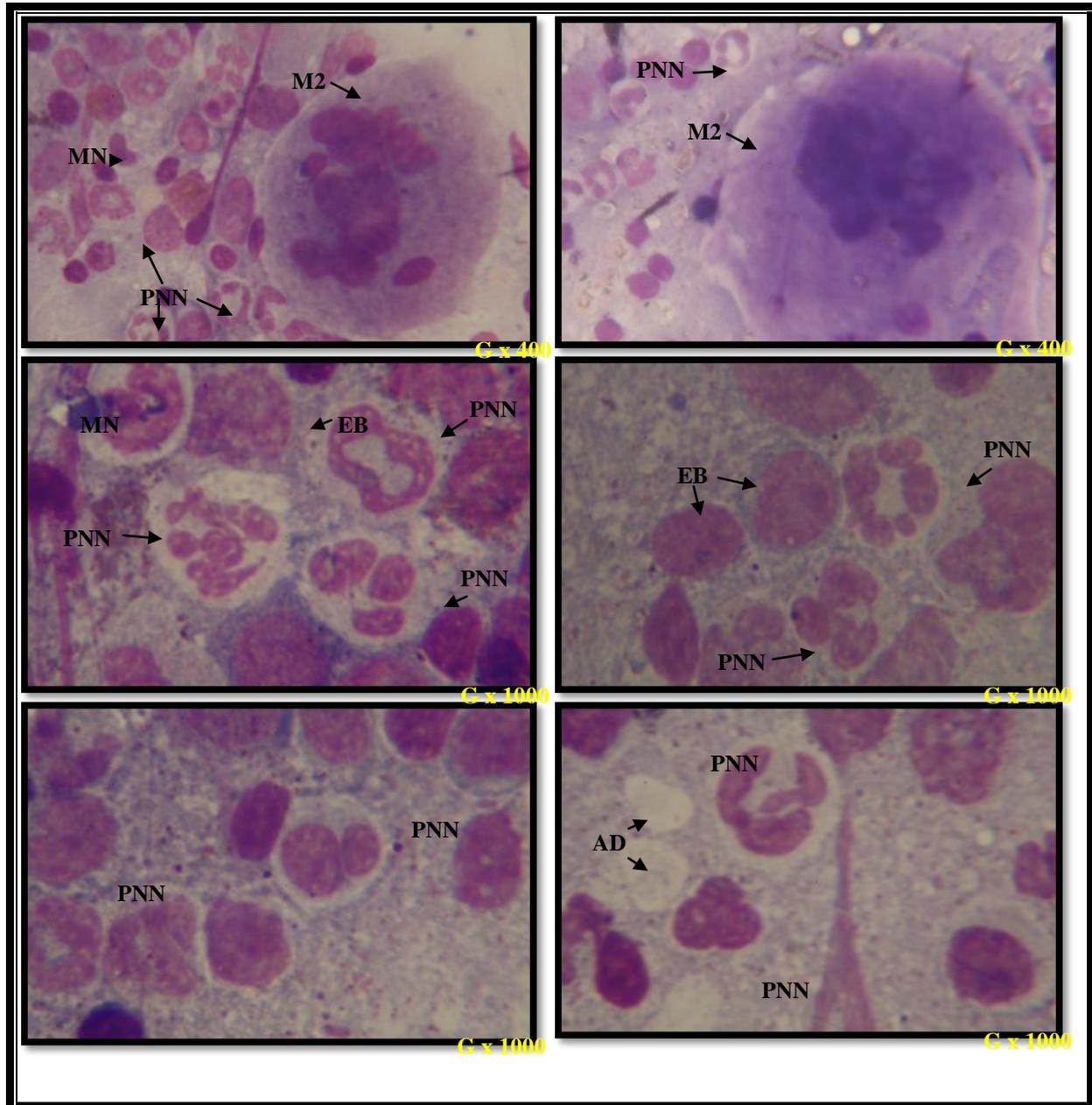


Fig 74 : Frottis médullaires du lot Homogénat

AD : Adipocytes. **EB :** érythroblaste basophile. **M2 :** Mégacaryocyte. **MN :** Monocyte.
PNN: Polynucléaire Neutrophile

➤ **Lot Homogénat + ACT :**

L'examen des frottis médullaires du lot Homo + ACT montre la présence de diverses cellules : Polynucléaire neutrophile segmenté (PNN), Mégacaryocyte (M2)

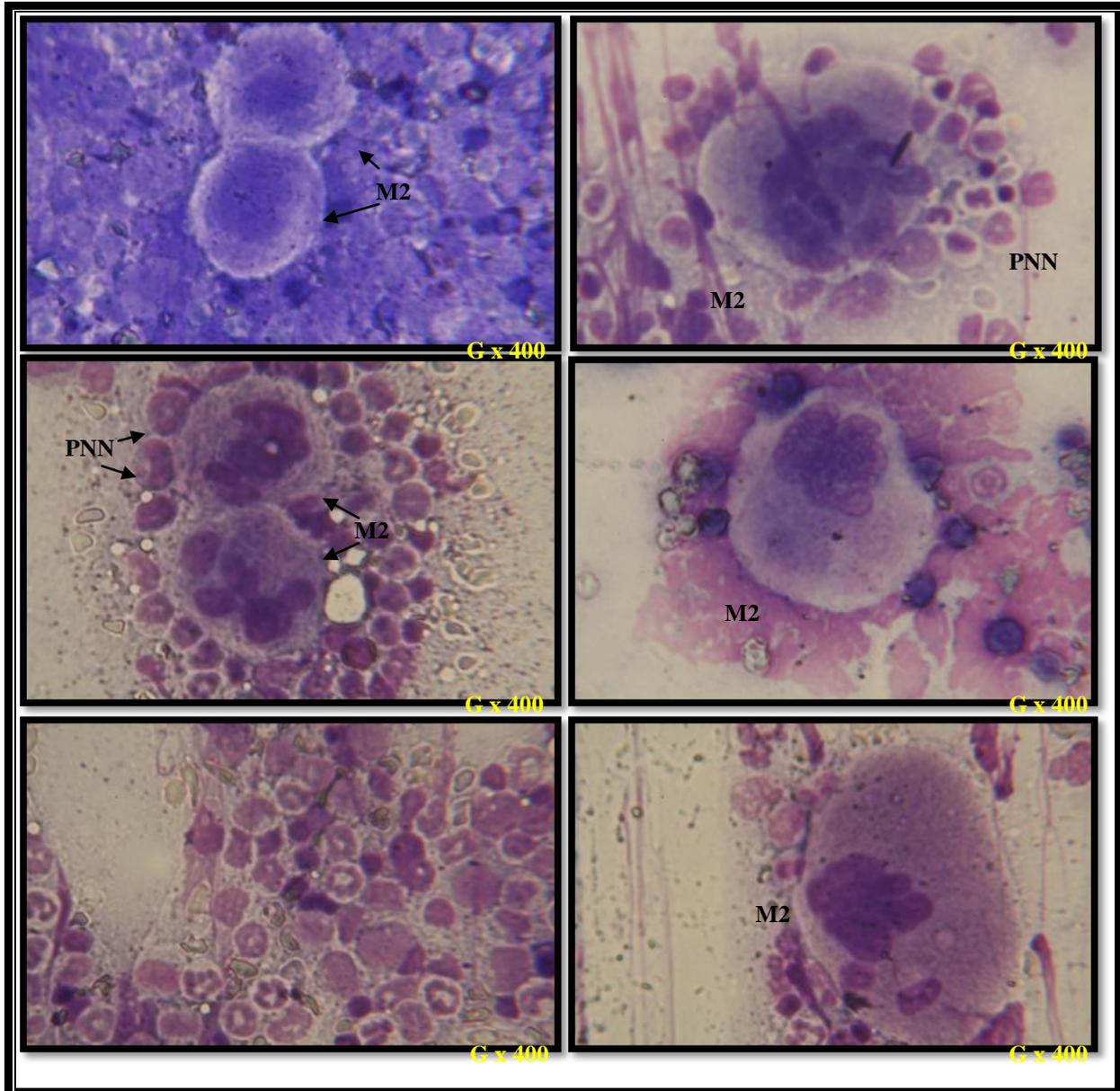


Fig 75 : Frottis médullaires du lot Homogénat + ACT

M2 : Mégacaryocyte. **PNN:** Polynucléaire Neutrophile

3-2-Résultats histologiques :

3-2-1 Résultats Macroscopique :

a) colon :

Ces résultats ont été observation à l'œil nu pendant la dissection des rats des 5 lots et prise des photos avec un appareil photo Samsung.

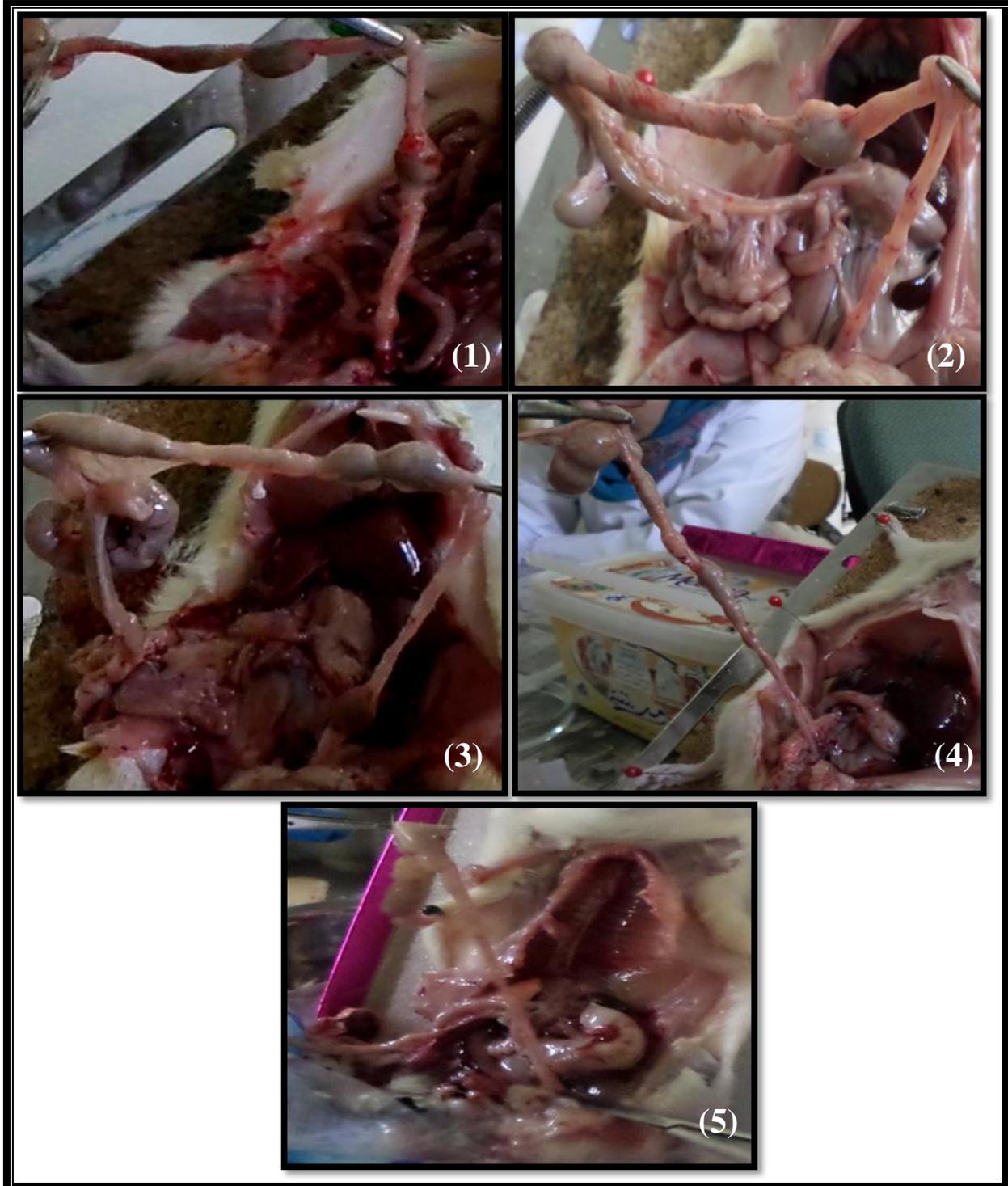


Fig 76 : Délimitation des colons des rats, du caecum jusqu'au rectum.
(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

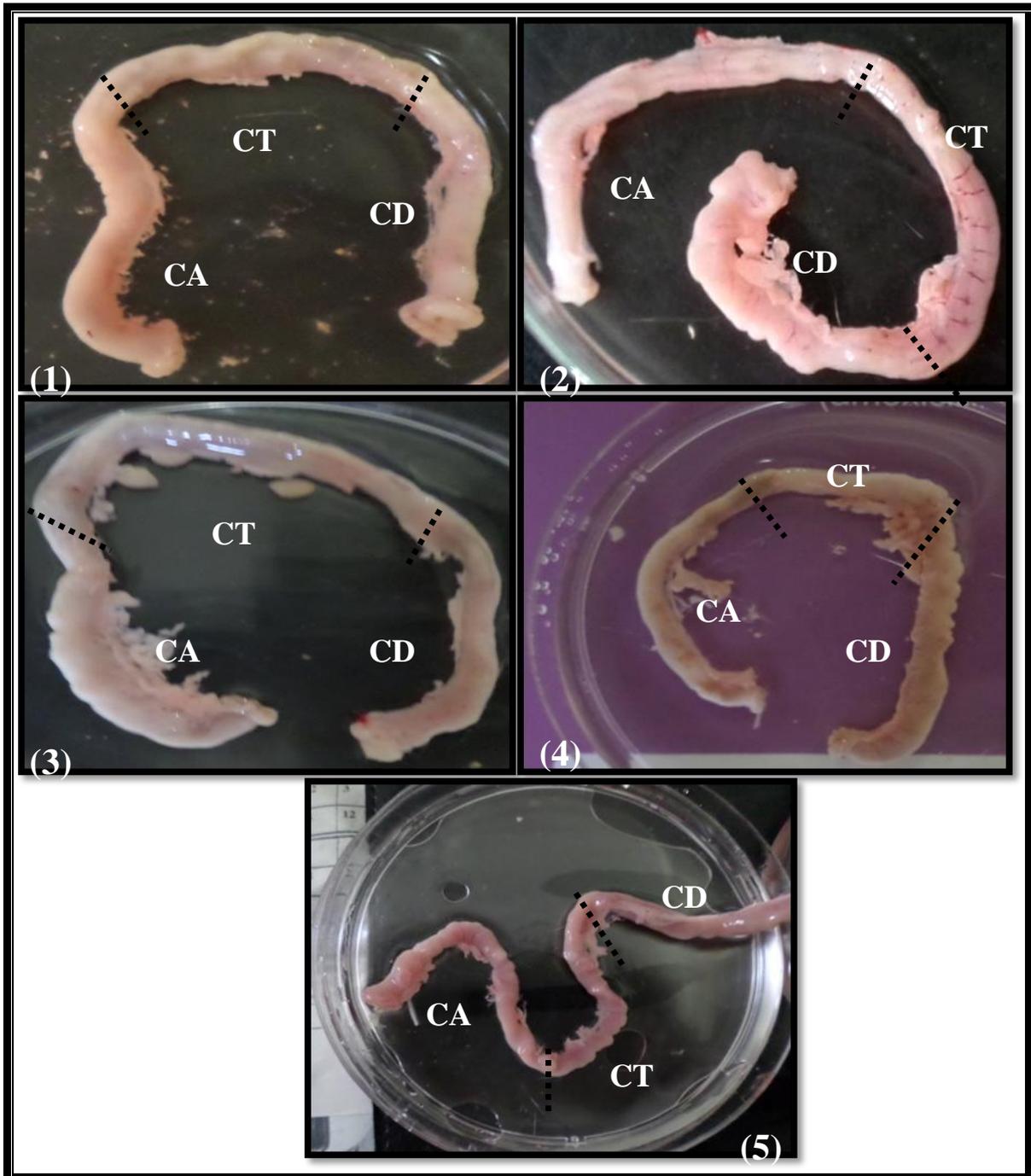
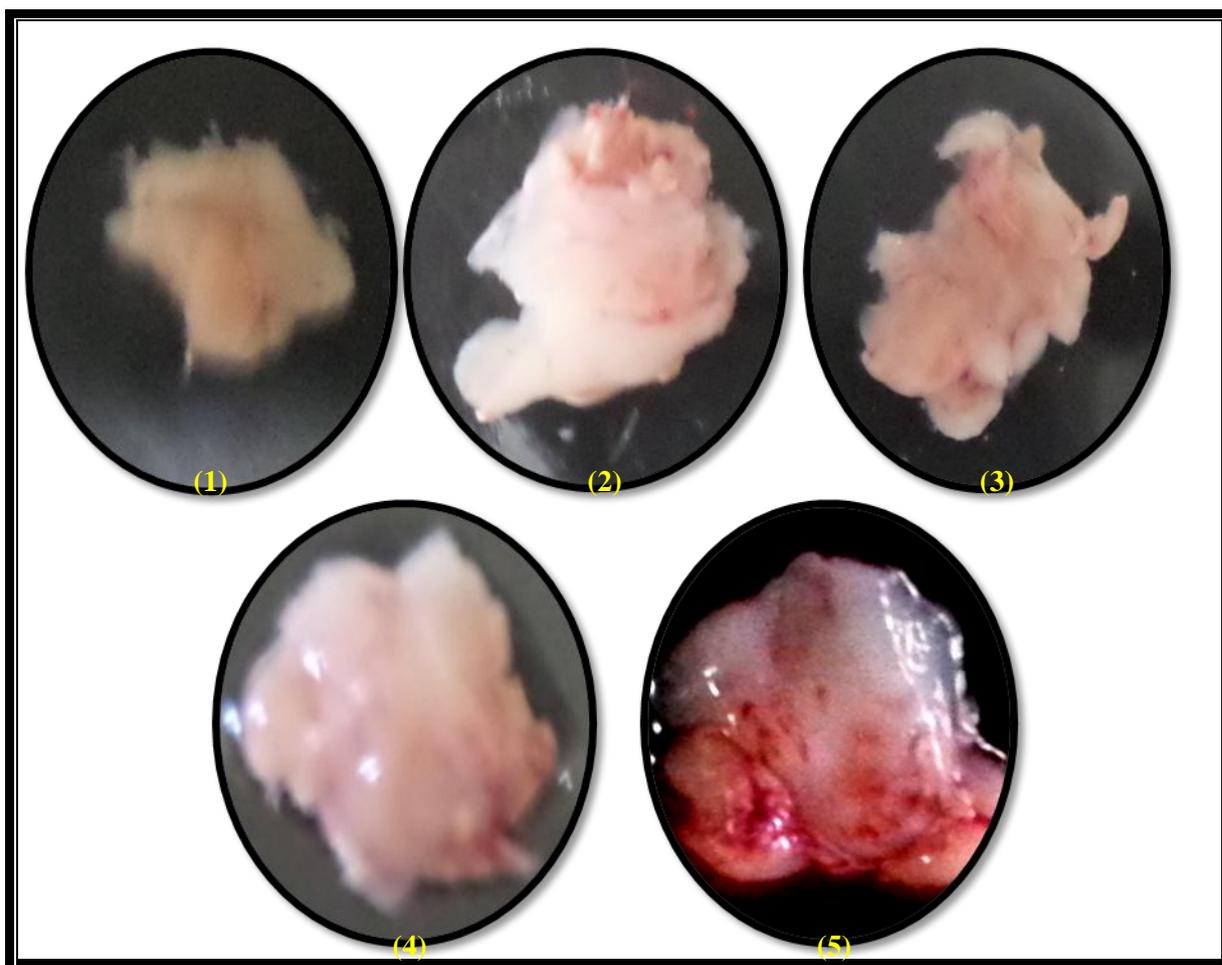
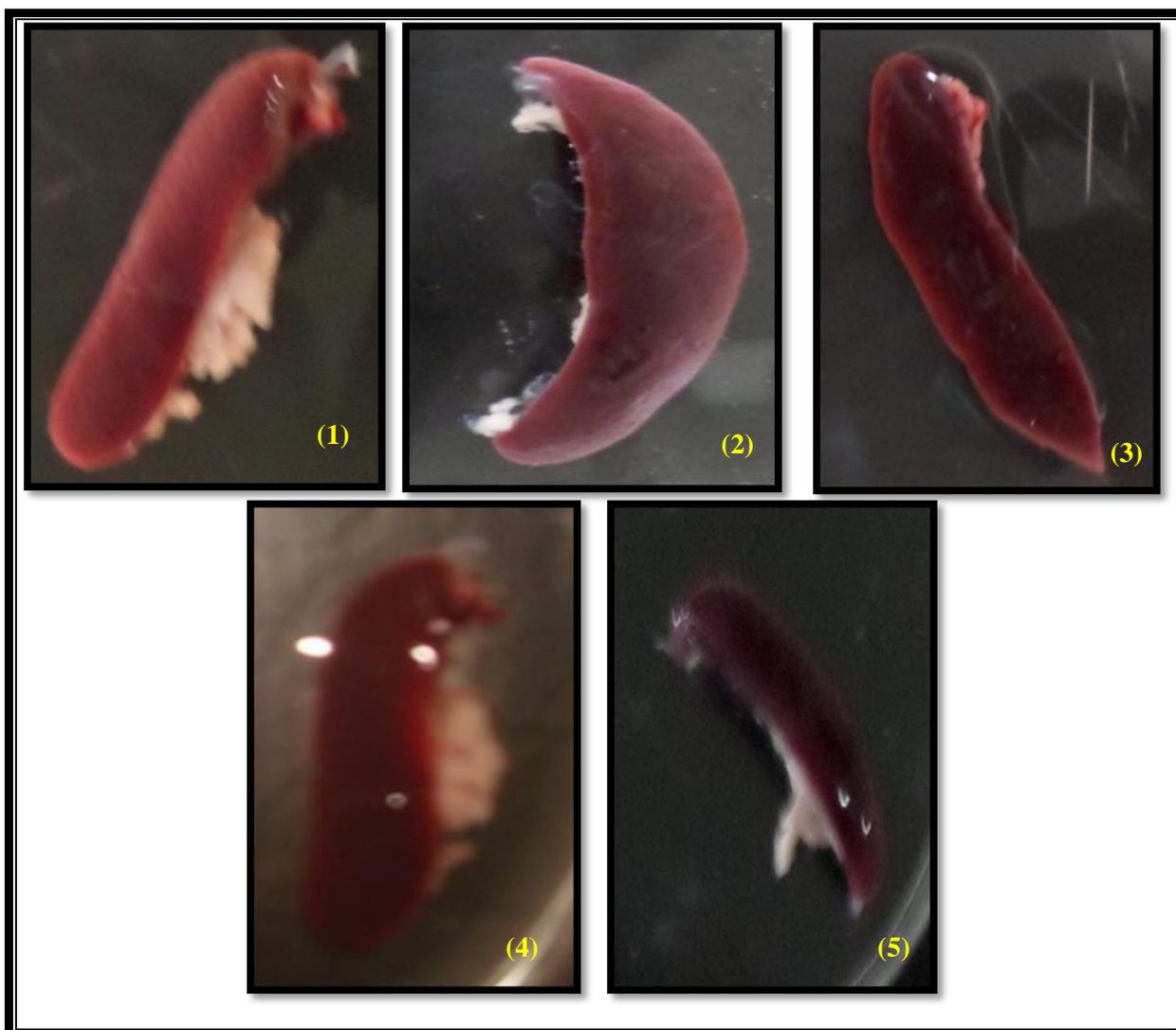


Fig 77 : Etude macroscopie du colon des rats

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.
 CA: Colon Ascendant, CT: Colon Transverse, CD: Colon Descendant

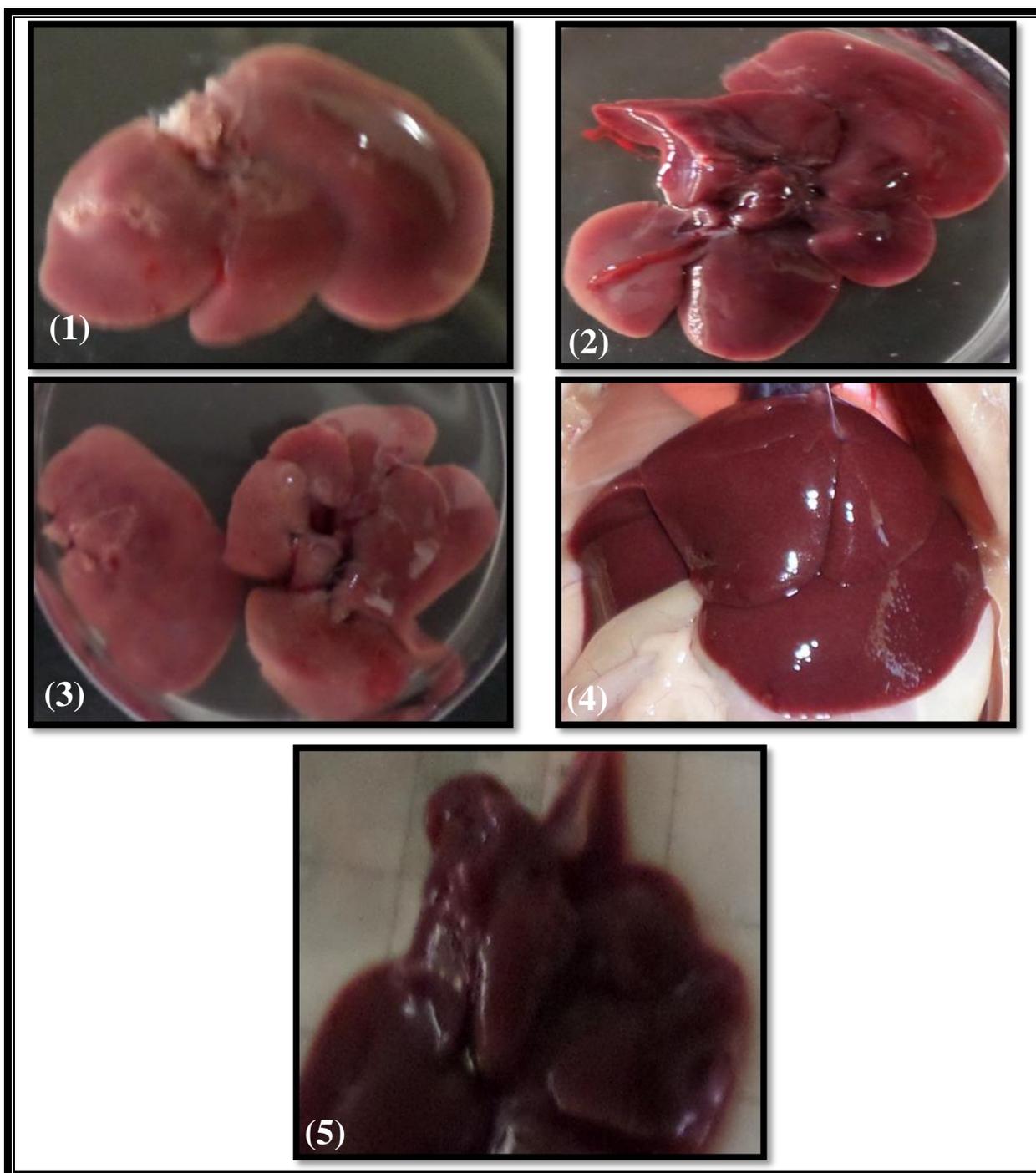
b) Thymus**Fig 78 : Les thymus des rats des 5 lots.**

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

c) Rate**Fig 79 : Les rates des rats des 5 lots.**

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

➤ Foie

**Fig 80 : Les foies des rats**

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

3-2-2-Résultats Microscopique du colon et des organes lymphoïdes:

Après avoir traité des rats, les colons et des organes lymphoïdes ont été prélevé au but d'avoir les lames des coupes histologiques colore avec la coloration de Hematoxyline-eosine. Les lames sont observer à l'aide d'un photo-microscope (OPTECH®) et nous avons pris des photos avec un appareil photo (Canon®). Les photos suivant sont obtenus:

A. Colon

1. Colon ascendant

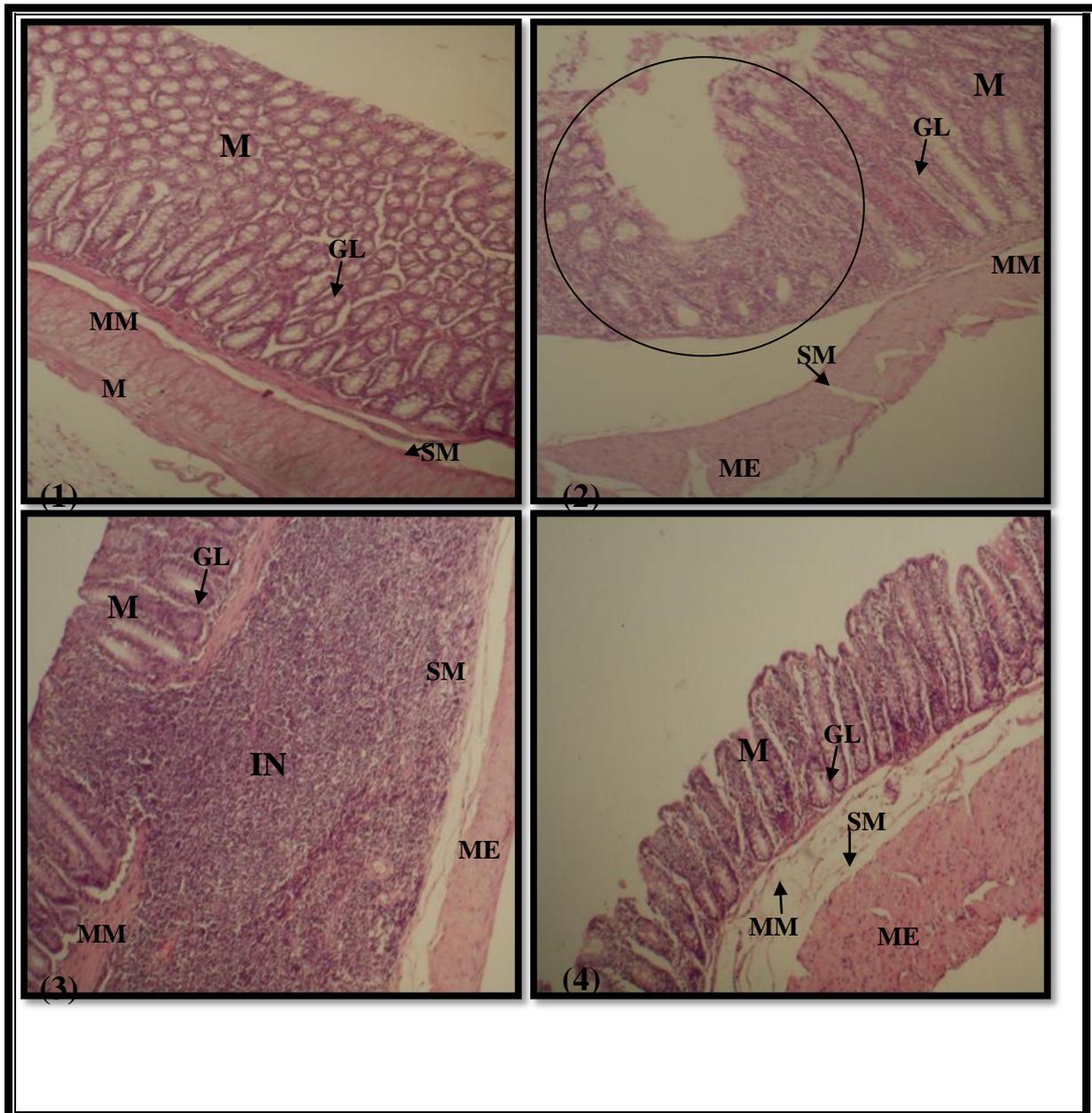




Fig 82 : Coupes Histologiques du colon ascendant des rats .Gx100

- (1) Lot C.
- (2) Lot ACT.
- (3) Lot ASA+ACT.
- (4) Lot Homo.
- (5) Lot Homo + ACT.

M: Muqueuse. **ME:** Musculaire Externe. **SM:** Sous Muqueuse. **MM:** Musculaire Muqueuse.
VS: Vaisseau sanguine. **GL :** Glandes de lieberkehn. **IN :** Infiltration

2. Colon transverse

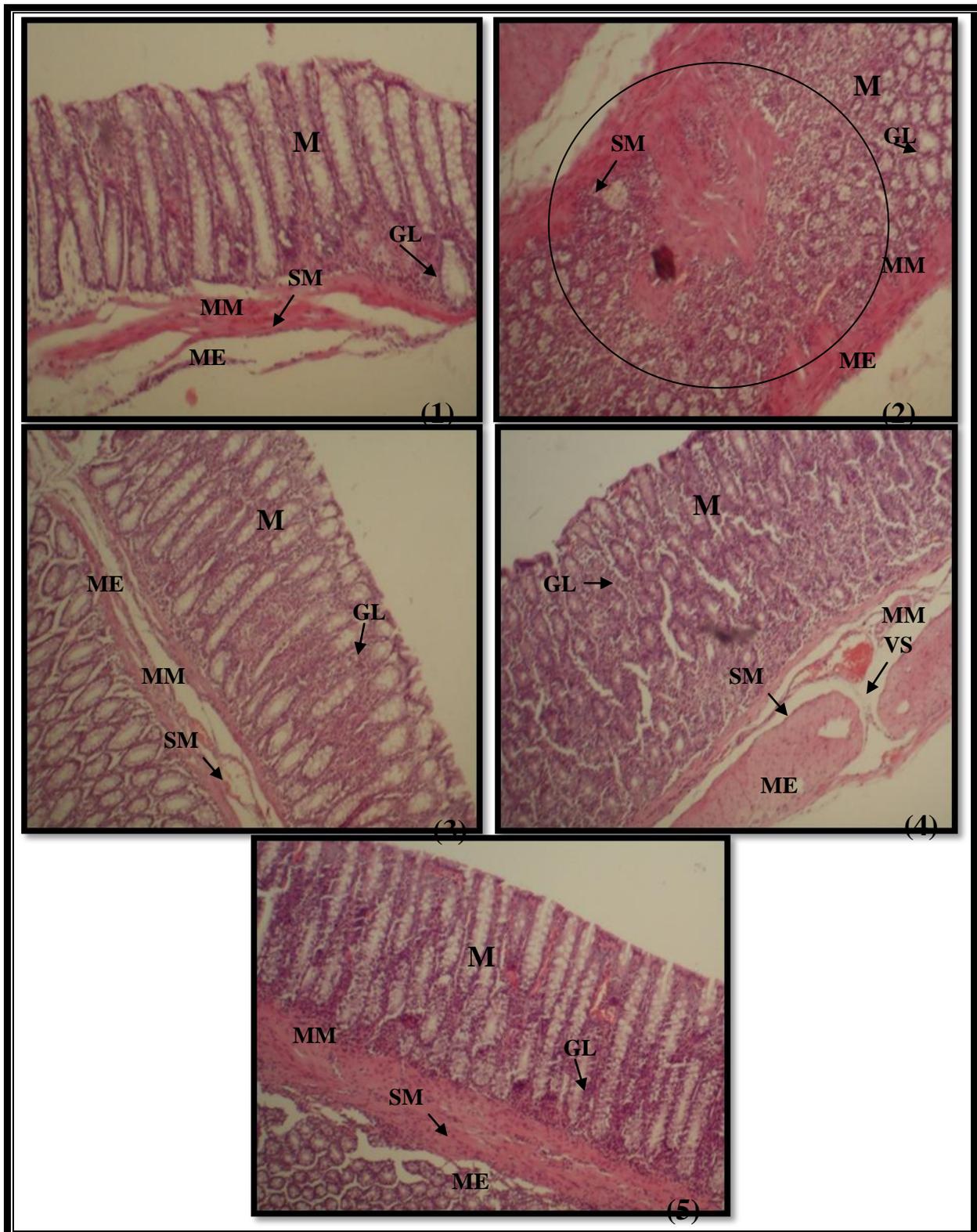


Fig 83 : Coupes histologiques du colon transverse des rats .G x 40

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo+ACT.
M: Muqueuse. **ME:** Musculaire Externe. **SM:** Sous Muqueuse. **MM:** Musculaire Muqueuse.
VS: Vaisseau sanguine. **GL :** Glandes de lieberkehnn.

3. Colon descendant

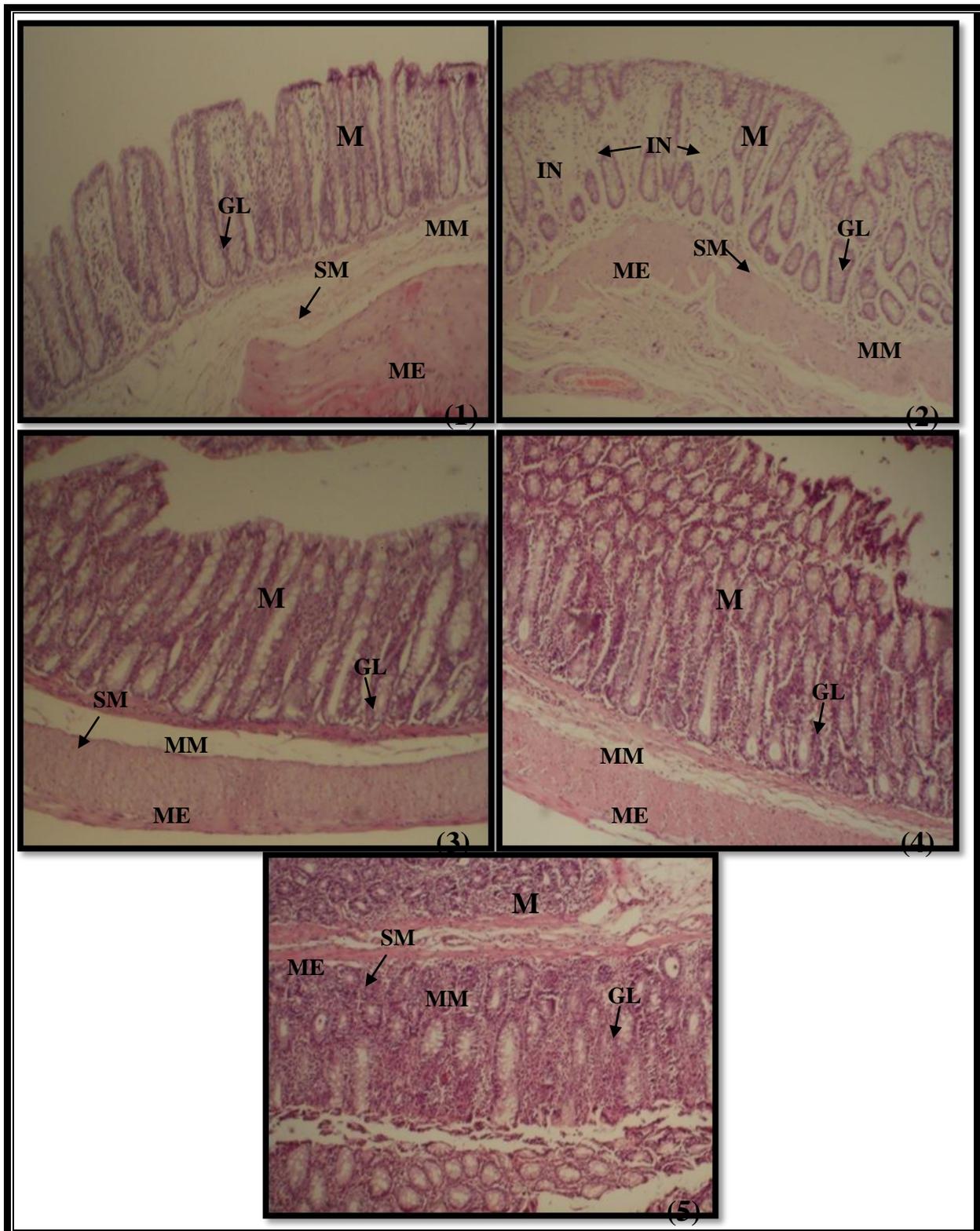


Fig 84 : Coupes histologiques du colon descendant des rats. G x 40

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

M: Muqueuse. ME: Musculaire Externe. SM: Sous Muqueuse. MM: Musculaire Muqueuse.

. GL : Glandes de Lieberkühn.

a) Les Organes Lymphoïdes

1. Thymus

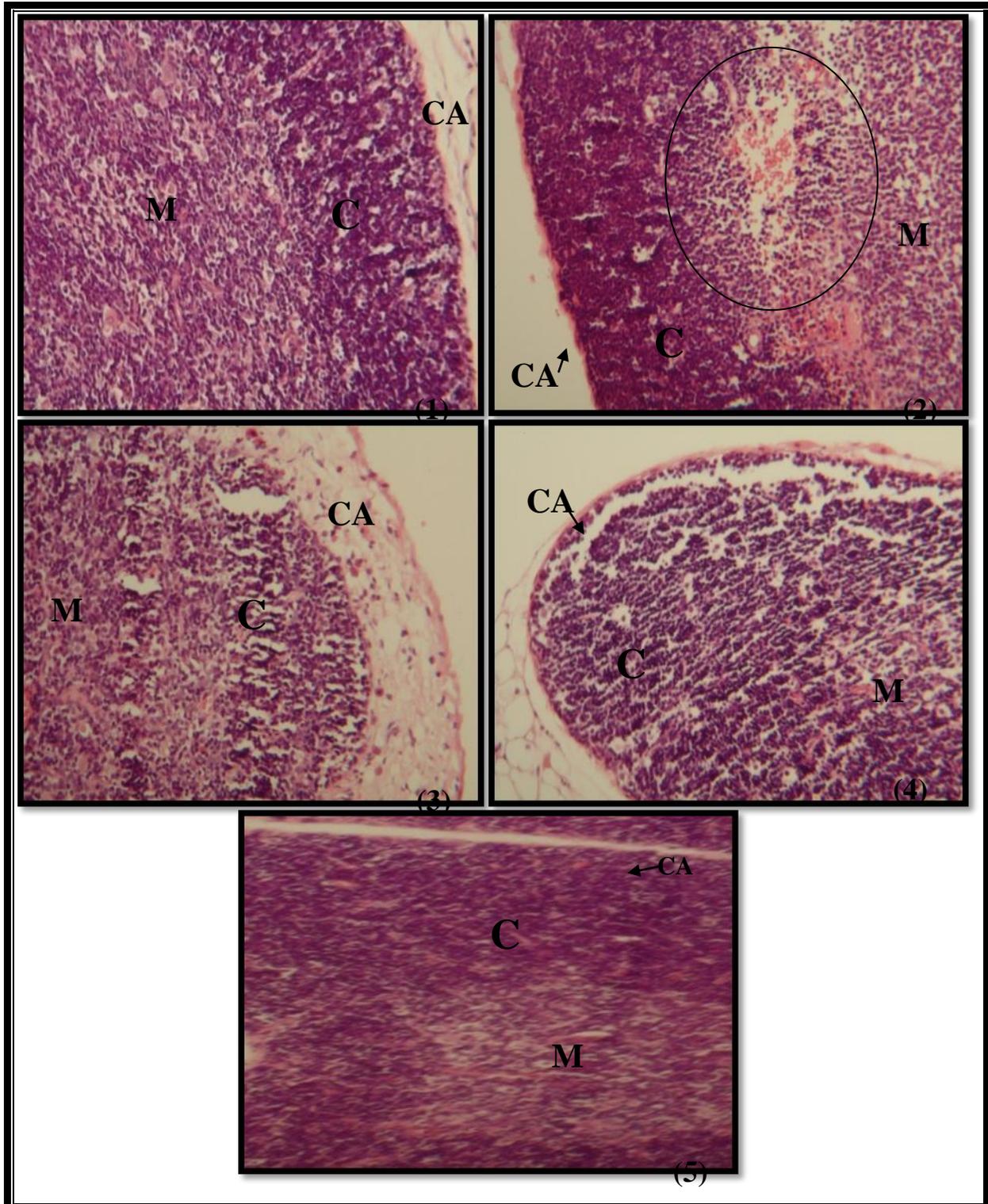


Fig 84 : Coupes histologiques du thymus des rats. G x 40

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.

C : Cortex. CA : Capsule . M : Medulla

2. Rate

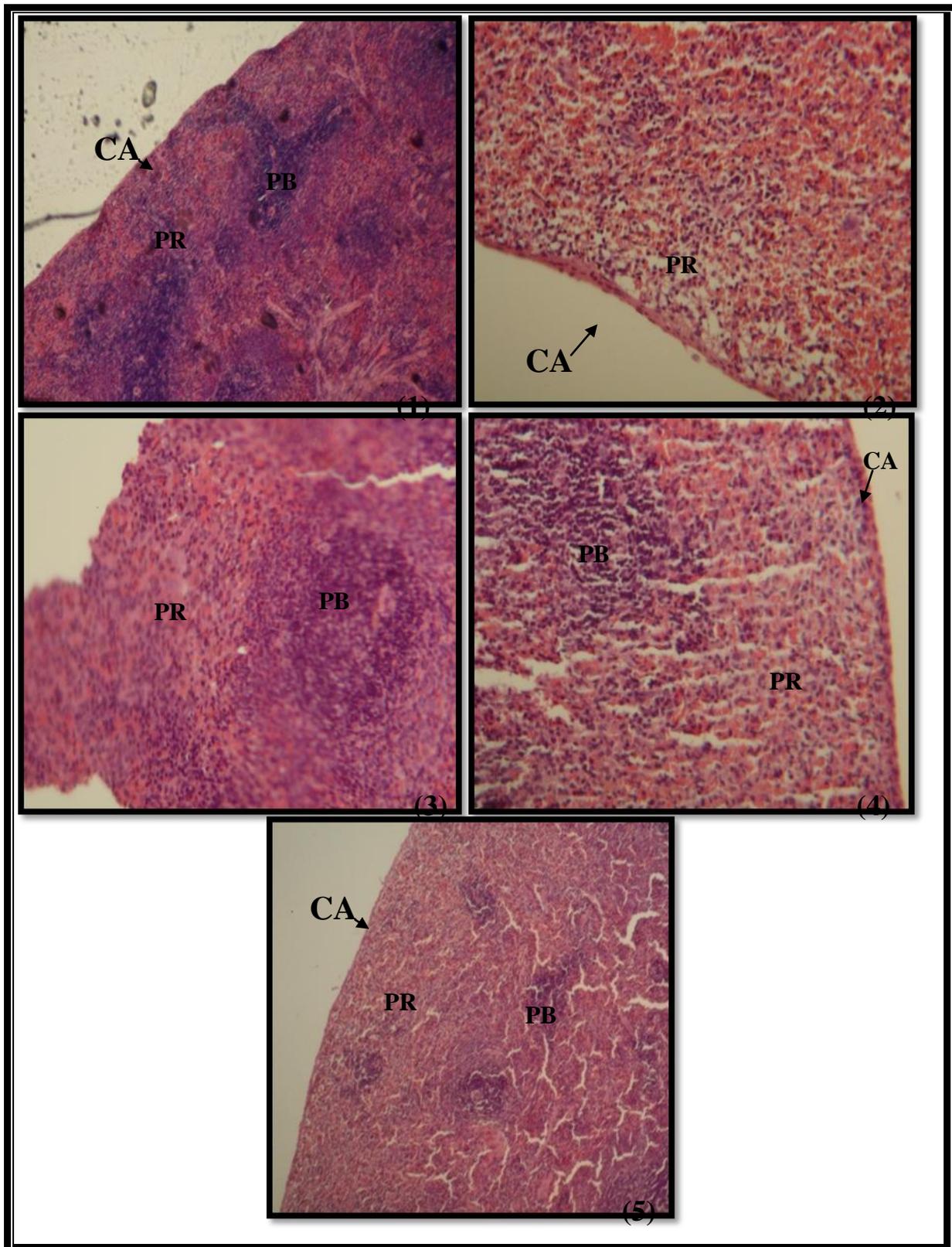


Fig 85 : Coupes histologique de la rate des rats. G x 40

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo+ACT.

CA: Capsule. PR: Pulpe Rouge. PB: Pulpe Blanche.

3. Foie

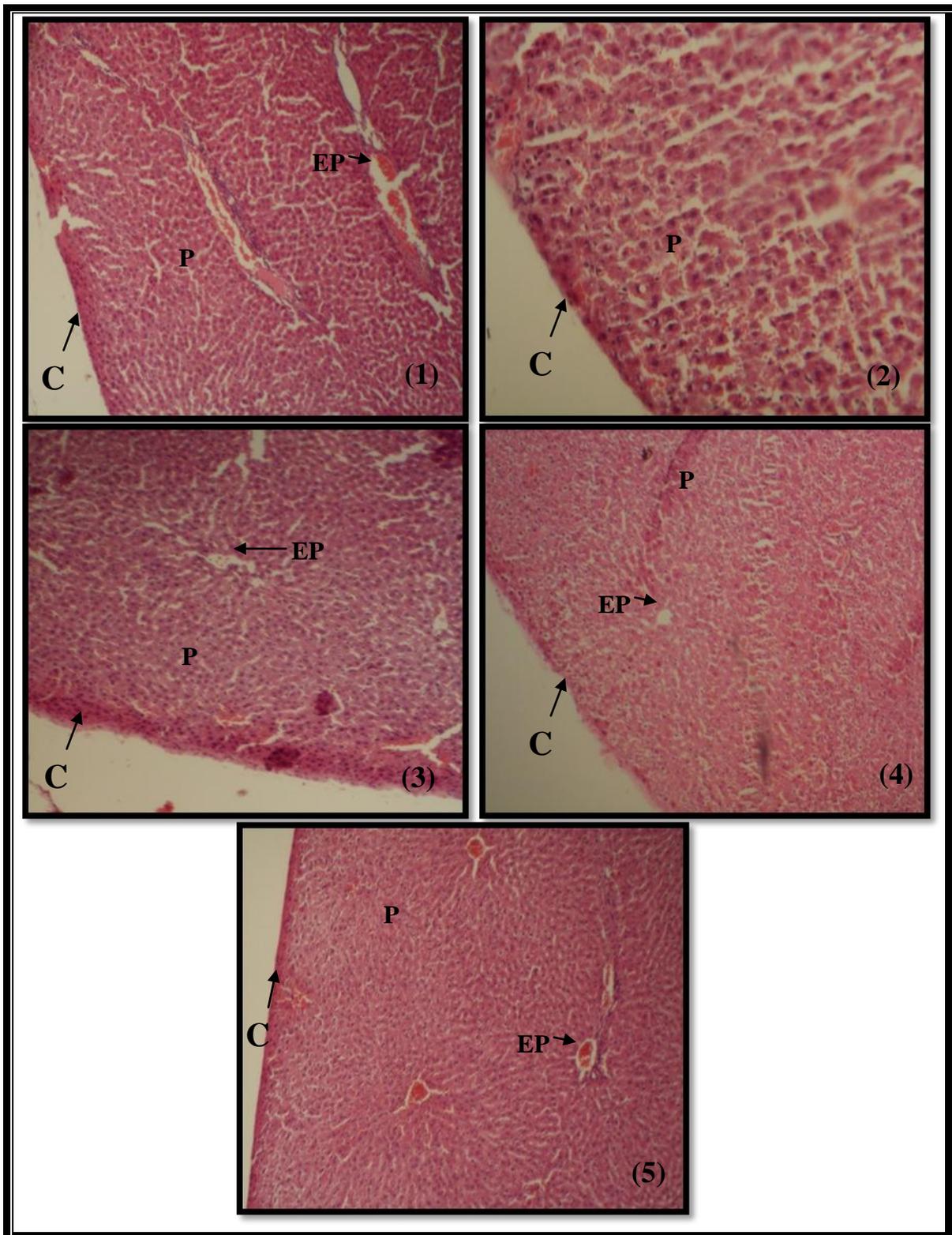


Fig 86 : Coupes histologique du foie des rats. G x 40

(1) Lot C. (2) Lot ACT. (3) Lot ASA+ACT. (4) Lot Homo. (5) Lot Homo + ACT.
C: Capsule. **P:** Parenchyme. **EP:** Espace Porte .

II. Discussions :

A la fin des expériences, le lot Homo a enregistré un gain de 327,9 % par rapport au poids des rats du lot contrôle. Contrairement au poids des rats du lot ASA+ACT qui a enregistré une perte de poids estimée à 41,9% par rapport au poids des rats du lot contrôle (**fig.49**). On considère que l'homogénat joue un rôle sur l'état physiologique des rats (poids) par ce que l'analyse de la composition des pieds et des viscères d'*H. aspersa* (pieds / viscères) montre qu'il est composé de 8.1 / 18.6 (g/100g) de Protéines et 0.8g / 3.6g de Lipides (**tableau : 03**).

L'augmentation sérique du taux des TGO (**fig. 50**) et TGP (**fig. 51**) dans le lot ACT par rapport au lot C informe d'une cytolysé hépatique. Ces enzymes augmentent donc dans le sang lors de la destruction des cellules du foie, et ceci dans toutes les pathologies hépatiques. L'élévation du TGP pourrait indiquer une nécrose hépatique. La diminution du taux de ces deux enzymes dans les lot Homo et Homo +ACT par rapport au lot C pourrait indiquer une protection des cellules du foie par l'homogénat contre une lyse induite par l'ACT. Probablement l'homogénat d'escargot *H. aspersa* contiendrait des molécules anti inflammatoires naturelles puissantes qui demanderaient d'être recherchées et étudiées.

L'augmentation sérique du taux de γ GT dans les lots ACT ($6,66 \pm 0,66$) U/L et Homo + ACT ($7,66 \pm 0,88$) U/L qui est particulièrement présente dans le foie et dont le dosage sanguin permet d'évaluer la fonction hépatique pourrait être traduite par une cholestase. La diminution du taux de cette enzyme dans le lot Homo ($4,5 \pm 0,44$) U/L par rapport au lot contrôle pourrait indiquer une protection du foie par l'homogénat contre l'inflammation induite par l'ACT. (**Tableau 10,fig. 52**).

L'augmentation du MDA hépatique dans le lot ACT ($2,48 \pm 0,56$) μ M/g de tissu par rapport au lot C ($1,60 \pm 0,67$) μ M/g de tissu, indique une oxydation des lipides et donc une lésion hépatique. La diminution du taux de MDA hépatique dans les lots Homo ($1,7 \pm 0,34$) μ M/g de tissu et lot Homo+ACT ($2,02 \pm 0,29$) μ M/g de tissu, par rapport au lot ACT pourrait indiquer une protection du foie induite par l'homogénat contre une toxicité induite par l'ACT. Donc l'homogénat pourrait contenir des molécules anti oxydantes naturelles (**Tableau 10, fig. 53**)

L'augmentation très importante du taux de CRP dans le lot ACT ($6,68 \pm 0,74$) Mg/L par rapport au lot C ($1,4 \pm 0,18$) Mg/L, confirme que l'ACT a été un bon inducteur d'inflammation et que nos animaux sont un bon modèle expérimental répondant à une inflammation chimio-induite. La diminution du taux de CRP dans les lots Homo ($1,82 \pm 0,33$) Mg/L, et lot Homo+ACT ($3,58 \pm 0,42$) Mg/L, par rapport au lot ACT suggère que l'homogénat a exercé un effet anti inflammatoire. (**Tableau 10, fig. 54**)

Le taux des protéines plasmatiques et tissulaire est aussi considéré comme facteur impliqué dans l'inflammation ; dans notre travail nous avons relevé une augmentation de ce taux chez les lots soumis à l'ACT et l'homogénat a manifesté un effet protecteur.

On ce qui concerne la FNS, nous avons noté une augmentation non significative des lymphocytes et des monocytes dans le lot ACT ceci expliquerait l'effet inflammatoire potentiel de l'ACT. Par contre nous avons noté une diminution des globules rouges et granulocytes et ces résultats sont confirmés par les frottis périphériques et médullaires.

Cette induction d'inflammation induirait une anémie chez les animaux ce qui est montré par les crénaissions des globules rouges dans les frottis sanguin (**Tableau 11, fig. 67 et fig. 72**)

Nous avons noté une diminution non significative des lymphocytes et des monocytes et des granulocytes dans les lots Homo et Homo + ACT et ces résultats sont confirmés par les frottis périphériques et médullaires, Probablement l'homogénat d'escargot *H. aspersa* contiendrait des molécules anti inflammatoires. Et nous avons observé aussi une augmentation des globules rouges et de l'hémoglobine dans ces lots pourrait indiquer une protection des animaux par l'homogénat contre l'anémie qui est induite par l'ACT. (**Tableau 11, fig. 69, fig. 70, fig. 74 et fig. 75**)

Sur les coupes histologiques du colon ascendant, dans le lot ACT, une lyse cellulaire épithéliale a été observée ainsi que des cellules désorganisées et on observe quelques glandes avec des cryptes désorganisées (**fig 82.2**). Dans le lot ASA+ACT, on note une grande infiltration leucocytaire probablement causée par l'ACT (**fig 82.3**). Dans le lot Homo, on observe un épithélium organisé et des cryptes bien structurées ce indiquerait une protection par l'homogénat (**fig 82.4**). Et dan le lot Homo + ACT, nous avons noté une altération moindre au niveau des cryptes ce qui suggère que notre homogénat a exercé un effet protecteur (**fig 82.5**).

Sur les coupes histologiques du colon transverse. Le lot contrôle montre un épithélium bien structuré (**fig 83.1**) contrairement au lot ACT où on note une inflammation dans la musculaire muqueuse dans l'étage glandulaire on observe également des glandes plus rétrécies (**fig 83.2**). Dans le lot ASA+ACT, aucune structure anormale n'a été relevée (**fig 83.3**). Par contre, le lot homogénat a donné un épithélium assez structuré (**fig 83.4**). Une légère infiltration probablement lymphocytaire a été relevée dans le lot homogénat + ACT, ce qui suggère une stimulation de l'immunité au niveau des GALT, aussi l'homogénat pourrait être un bon immuno-stimulant du GALT et ainsi protégerait la muqueuse colique contre l'évolution des adénomes en foyer des cryptes aberrantes et donc pourrait prévenir la survenue des adénocarcinomes au niveau colique (**fig 83.5**).

Sur les coupes histologiques du colon descendant, un appauvrissement en glandes a été observé dans le lot ACT et une infiltration leucocytaire a été relevée et une augmentation de la taille des glandes probablement causé par l'ACT (**fig 84.2**). Le lot ASA+ACT a donné une structure mieux organisée (**fig 84.3**). Le lot Homo a montré des glandes plus structurées essentiellement au niveau des cryptes et les cryptes mieux juxtaposées les unes aux autres (**fig 84.4**).

Sur les coupes histologique au niveau des thymus, on observe une lyse cortico-médullaire dans le lot ACT probablement causé par l'ACT, on observe une capsule plus fine par rapport au lot C (**fig 84.2**), alors que dans le lot Homo+ ACT on note une structure tissulaire intacte ce qui nous ramène à dire que l'homogénat a exercé un effet protection (**fig 84.5**).

Sur les coupes histologiques de la rate, on note une lyse tissulaire dans le lot ACT par rapport au lot C (**fig 85.1 et fig 85.2**). Le lot ASA+ACT est quelque peu comparable au lot contrôle (**fig 85.3**) mais l'homogénat a protégé la structure de la rate (**fig 85.4**).

Sur les coupes histologique du foie, des altérations au niveau du foie ont été observées mais restent plus discrètes et ne confirment pas les résultats biochimiques enzymatiques.

Nous retenons que notre extrait possède des effets protecteurs notoires essentiellement sur la muqueuse colique qui reste la plus vulnérable aux évolutions cancéreuses des FCA.

Beaucoup d'éléments restent à confirmer par une étude plus minutieuse car notre travail est une initiation à la recherche et nous a donné l'opportunité de collaborer dans un travail expérimental faisant partie d'un projet de recherche.

Conclusion
et
Perspectives

Compte tenu des résultats obtenus, l'homogénéat d'*Helix aspersa* pourrait contenir des molécules bioactives à effets anti-inflammatoire, antioxydant immunostimulant et anti-tumoral.

Il reste à identifier ces molécules et étudier leur structure chimique pour mieux comprendre les interactions avec les composantes cellulaires dans la prévention vis-à-vis de différentes pathologies.

Annexes

Annexe 1 : préparation des colorants :

1. Préparation du May –Grunwald -Giemsa:

a) Préparation du May-Grunwald (solution mère):

- Dans un bécher, écraser 0,6g de May-Grunwald en poudre dans un mortier.
- Faire dissoudre la poudre dans 200ml d'éthanol.
- Mettre le bécher dans l'étuve à 50° pendant 15min.
- Agiter à l'aide de l'agitateur magnétique pendant 1heure.
- Laisser décanter 48h
- Filtrer on utilisant papier wattman.
- Stocker à l'abri de la lumière.

b) Préparation du Giemsa (solution mère):

- Dissoudre 0,75 g de Giemsa en poudre dans 65 ml de méthanol
- Laisser décanter au fond du bécher.
- Agiter d'une façon circulaire pendant 3min.
- Ajouter 65ml de Glycérol.
- Remuer d'une façon circulatoire dans le même sens 3 fois par jours et pendant 4 jours
- Filtrer avec du papier wattman.
- Stocker à l'abri de la lumière.

Dilutions des colorants : Le fixateur: May-Grunwald doit être utilisé sans dilution. Le Giemsa est dilué à 1/10ème :

- 10ml de Giemsa
- 10ml de méthanol
- 80ml d'eau distillée

Préparation du Formol à 10% :

Formaldéhyde pur10ml

Eau distillée.....90ml

Préparation de la solution 5-ASA :

5-ASA.....500mg

NaCl (09%).....10 ml

Références

Bibliographique :

A.Favier, 2003, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique

A.Neuville, 2010, carcinogenèse colique sous typage moléculaire des étapes précoces du cancer du colon de phénotype mon-Min, thèse de doctorat, université de Strasbourg

Amiard, 2011 and monitoring of hepatic injury I. Performance characteristics of laboratory tests. Clin Chem.annécienne de mars à octobre 2010. Médecine. Grenoble : Université Joseph Fourier, 162.

Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M. Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos. *Environnement, Risques*

CRL- Baseline haematology and clinical chemistry values for Charles River Wistar ratsCRL:(WI) BR as a function of sex and age -CRL Technical Bulletin[online] Vol 1 d'un individu: une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumons, Vol 4 _ N°5.

Danielle MARTEL. Coloration au May Grünwald Giemsa, 2007. Fiche technique Hern-image. des pratiques et étude prospective descriptive des principales étiologies dans la région didactique. Vaisseaux, Coeur, Poumon; 3: 133–8.

Dufour D.R., Lott J.A., Nolte F.S., Gretch D.R., Koff R.S., Seeff L.B., 2000. Diagnosis **Eric et al**, carraghenanes et cancer du colon : étude expérimentale chez des rats a flore humaine mécanismes d'action

F. Pellestor, histologie de l'appareil digestif, faculté de médecine, université de Montpellier

Gomot A., 1998. Biochemical composition OF *Helix aspersa*: influence of genetic

Gopal D.V., Rosen H.R., 2000. Abnormal findings on liver function tests. Interpreting results

Herrera J.L., 1993. Abnormal liver enzyme levels. the spectrum of causes. *Postgrad Med.* 93: 113-116.

I.Hininger-Favier, Laboratoire de Biologie du stress Oxydant. Faculté de Pharmacie. Grenoble

L.LENOIR, 2011, effet protecteur des polyphenols de la verveine odorante dans un model d'inflammation colique chez le rat, thèse de doctorat, université d'Auvergne

L.Prin. et al, structure et organisation générale du système immunitaire

M.MARK, organes du système immunitaire, institut d'embryologie, faculté de médecine et hôpital universitaire de Strasbourg

Olivier Gireaud, Espèces Européennes, 2007. GIREAUD : HELICULTURE A St JORY . physiological factors. *Journal of Molluscan Studies*, 64 (2), 173-181.

Pincemail J., et al., 1998. Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O., 1999. L'évaluation du stress oxydatif

Reynier C., 2011. Faibles perturbations des transaminases en médecine générale :Analyse des pratiques et étude prospective descriptive des principales étiologies dans la région annécienne de mars à octobre 2010. Médecine. Grenoble : Université Joseph Fourier, 162.

Reynier C., 2011. *Faibles perturbations des transaminases en médecine générale*

Sandrine et al, 2003, contribution a l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit gris (*Helix aspersa*) reproduction Expérimentale, thèse de doctorat, université Paul-Sabatier de Toulouse

Shalaby, A. and Shatta, A. Potential antioxidant and anti-inflammatory effects of *Hyphaena thebaica* in experimentally induced inflammatory bowel disease.2013
to narrow the diagnosis and establish a prognosis. *Postgrad Med*, 107(2):100-2, 105-9, 113-4.

Vanquerp Sylvain 2009 Distribution de l'Uranium au niveau protéique chez *Corbicula fluminea*: approche de la spéciati Université de Provence Aix-Marseille Master Sciences et Technologies 2 année Chimie Analytique, Réactionnelle et Modélisation en Environnement Année universitaire 2008
46(12):2027-49.

Yüce A., Ateşşahin A., Ceribaşı A.O., 2008. Amelioration of cyclosporine A-induced renal, hepatic and cardiac damages by ellagic acid in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008 Aug;103(2):186-91.

Webographie

- 1) www.gretia.org/dossiers_liens/.../pdf/.../Gasteropodes%20terrestres.pdf
- 2) www.ordre.pharmacien.fr Documents de référence – Histoire et art pharmaceutique)
- 3) **ITIS Report. 2011.** Integrated Taxonomic Information System.
Disponible sur <[http:// www.itis.gov/index.html](http://www.itis.gov/index.html)>.
- 4) **GUYARD A. L'escargot (1) : Morphologie externe, 2009.** Balades naturalistes.
Disponible sur : <<http://baladesnaturalistes.hautetfort.com/archive/2009/10/10/lescargot-de-bourgogne.html>>.
- 5) Agro service, 2004, l'élevage des escargots, Tunisie infu
- 6) **Anonyme. Histologie du système immunitaire.**
Disponible sur <http://www.eopathologies.com/acad/h_cd/imm.pdf>.
- 7) http://www.probiox.com/fr/html/body_stressoxydant.htm#introduction

Thème

Effets potentiels antioxydant et anti inflammatoire de l'homogénat d'*Helix aspersa* dans un modèle expérimental de colite chimio-induite.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du Diplôme de Master en Immuno-oncologie

Résumé :

Notre travail consiste à explorer les effets anti-inflammatoires et antioxydants de l'homogénat de l'escargot *Helix aspersa* chez des rats soumis à une inflammation colorectale aigüe chimio-induite.

Les rats ont reçu un traitement de l'homogénat par gavage avant et après induction, L'effet de l'homogénat a été évalué sur différents paramètres et marqueurs de l'inflammation (TGO, TGP, γ GT, CRP, protéines totales plasmatiques et tissulaire, FNS, Histologie et le stress oxydant «MDA»)

Les résultats enzymatiques, biochimiques et cytologiques révèlent que l'homogénat a un effet anti-inflammatoire sur l'inflammation aigüe du colon, confirmés par les résultats histologiques qui révèlent une protection de l'épithélium du colon et des tissus des organes lymphoïdes.

On conclut que l'homogénat de l'escargot *Helix aspersa* possède un effet anti-inflammatoire et antioxydant sur l'inflammation intestinale aigüe chimio-induite.

Mots clés : *Helix aspersa*, homogénat, inflammation, histologie, colon, organes lymphoïdes, stress oxydant, chimio-induite.

Structure de recherche : Laboratoire de biologie Physiologie Cellulaire et Moléculaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine I. Laboratoire d'analyses médicales KENZI. Laboratoire d'analyses médicales Dr BELLIL. Laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Constantine. Laboratoire de biologie Moléculaire à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine I.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr AN. BOUDDAH
Directrice du mémoire : Mme D. NAIMI
Membre du jury : Mme I. ELOUAR

Date de soutenance : 10/07/2014