

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Immunologie approfondie

Thème : *Caractérisation immunitaire de l'extrait pollinique du Cyprès*

Préparée par :

DIALLO Ramatoulaye

ESSI Paule Anasthasie

Devant le jury composé de :

Président : Mme ZERGUINE K. (M.C)

Examineur : Mme KAIDI S. (M.A.A)

Encadreur : Mme BENDJEDOU D. (Pr.)

Mlle BOUGUENOUN I. (Doctorante)

ANNÉE UNIVERSITAIRE

2012-2013

Résumé

L'allergie est une exacerbation de la réponse immunitaire vis-à-vis des substances inoffensives que l'on appelle alors « allergènes » parmi lesquelles, très largement impliquées, figurent des protéines et glycoprotéines contenues dans les grains de pollen.

L'allergie au pollen, ou pollinose, est une affection liée à la présence dans l'air, au fil des saisons, d'une plus ou moins grande quantité de grains de pollen issus de plantes très diverses.

Dans notre approche nous avons essayé de comprendre et d'apporter une explication aux effets du pollen en choisissant le modèle murin compte tenu de leur nombreux avantages par rapport aux autres modèles et l'instillation nasale de l'extrait pollinique suspendu dans du PBS comme moyen de sensibilisation.

Cette expérimentation nous a permis de mettre en évidence les modifications immunitaires apparaissant dans le cas d'une sensibilisation par l'extrait pollinique telles que : une augmentation significative de la population cellulaire des liquides nasaux et broncho-alvéolaires ; une diminution du taux des globules blancs et des neutrophiles ainsi qu'une augmentation du nombre lymphocytaire et plaquettaire et aussi des éosinophiles ; résultats démontrés par les frottis qui se sont révélés riches en population cellulaires notamment en lymphocytes et avec la présence de rares éosinophiles chez les traités. Le nombre des monocytes en revanche n'a montré aucune différence chez les témoins et les traités.

Les dommages causés à l'organisme sont traduits par une augmentation du poids des organes (rate et poumons). Une inflammation des poumons caractérisée par une rougeur des tissus a été remarquée et confirmée par des modifications majeures de la structure histologique des poumons.

Tous ces résultats témoignent de l'effet néfaste des allergies sur l'organisme et le système immunitaire. L'étude des différentes espèces allergisantes et leur pollen ainsi qu'une meilleure prise en charge des patients s'avèrent donc utile.

Mots clés : allergie, pollen; extrait pollinique, lavage nasal, lavage broncho-alvéolaire.

ملخص

الحساسية هو تفاعل الاستجابة المناعية ضد مواد غير ضارة يمكن أن تعرف "بمسببات الحساسية" منها البروتينات والبروتينات السكرية الموجودة بحبوب الطلع. فالحساسية ضد حبوب الطلع هي عدوى مرتبطة بوجود كمية معتبرة من حبوب الطلع المنبعثة من مجموعة واسعة من النباتات، في الهواء وخلال الفصول المتتالية.

وقد حاولنا من خلال عملنا هذا، فهم و تفسير تأثيرات حبوب الطلع باختيارنا للفئران كنموذج للدراسة وذلك بمعاملتها عن طريق الأنف بمستخلص حبوب الطلع المذاب في محلول PBS .

سمحت هذه التجربة بتسليط الضوء على التغييرات المناعية الناجمة عن التحسس لمستخلص حبوب الطلع، كالزيادة المعنوية في عدد خلايا السوائل الأنفية والقصبية، انخفاض في خلايا الدم البيضاء والخلايا المتعادلة، زيادة في عدد الخلايا للمفاوية والصفائح الدموية وأيضاً الخلايا الحامضية.

وهذا ما تبعه غنى مسحات السوائل الأنفية والقصبية بالخلايا للمفاوية وندرة وجود الخلايا الحامضية عند الحيوانات المعاملة ، في المقابل لم يتغير عدد وحيدات النوى عند الحيوانات المعاملة مقارنة بالشواهد.

وقد ترجمت الأضرار التي لحقت بالعضوية بالزيادة في وزن كل من الطحال والرتنين، كما لوحظ التهاب على مستوى الرئة الذي تميز باحمرار في الأنسجة وهذا ما أكدته التغييرات النسيجية للرئة.

كل هذه النتائج تظهر مدى التأثير الضار الذي يمس العضوية والجهاز المناعي، ولذا فدراسة الأنواع المختلفة من النباتات المسببة للحساسية وكذا حبوب الطلع الخاصة بها من جهة، والتكفل الجيد بالمرضى من جهة أخرى يكون بلا شك ذا فائدة كبرى.

الكلمات المفتاحية : الحساسية ، حبوب الطلع، مستخلص حبوب الطلع، الغسيل الأنفي، الغسيل القصي الرئوي.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à mon père "Essi Koffi Félix" grand homme plein de valeur, pilier de ma vie, ma principale source de motivation, merci pour tous les sacrifices que tu as pu faire pour me voir heureuse,

A mon refuge, mon soutien, ma conseillère, mon appui, celle qui donne un sens à mon combat pour être une personne meilleure dans cette vie, ma mère "Amani Adjoua Rosalie",

A "mes frères et sœurs", pour tout le réconfort et l'amour que vous avez pu m'apporter et toute la force que j'ai pu tirer de vous pour pouvoir continuer et arriver jusqu'au bout,

A ma famille, en particulier mes tantes "Amani Reine" et "Amani Germaine" pour leur gentillesse à mon égard,

A mon oncle "Amani Léon", arraché trop tôt à nos cœurs,

A mon beau-frère "Kamagaté Aboubacar sidik" pour toute l'attention et le soutien que tu as su m'apporter,

A mes amies, en particulier à "Coulibaly Aicha Carine" reçois ma profonde gratitude pour avoir veillé sur moi ; pour nos nuits spéciales délires et névroses !! Et surtout merci de nous avoir donné "Nessa" notre bout de cœur dont les grimaces donnent envie de lui faire des câlins à n'en point finir !!

A "Bagna Nadine", pour avoir été là et ce malgré la distance,

A "Diallo Ramatoulaye" ma partenaire dans le travail et amie,

Enfin à ceux qui de près ou de loin m'ont soutenu durant ce travail et pendant ces cinq années...

Anasthasie

Remerciement

Il n'est pas très facile de trouver les mots justes pour rédiger un mémoire, mais il est encore plus délicat de formuler les remerciements qui tentent d'exprimer notre reconnaissance. Sachez que ceux qui suivent viennent du cœur.

On remercie tout d'abord DIEU TOUT PUISSANT, qui nous a permis de réaliser ce travail.

A Madame ZERGUINE K., Maitre de conférences au département de biologie à l'université de Guelma.

Vous nous avez fait l'honneur de présider notre jury.

Nous vous sommes reconnaissantes pour l'intérêt que vous portez pour notre sujet.

Nous vous remercions pour votre disponibilité. Veuillez trouver dans ce travail, le témoignage de notre profond respect et de toute notre gratitude.

A Mme KAIDI S., Maitre assistant au département de biologie à l'université de Guelma.

Nous apprécions l'honneur que vous nous faites en participant à notre jury.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Madame BENDJEDDOU D., professeur au département de biologie

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la direction de notre travail, nous vous en sommes très reconnaissantes.

Nous avons su apprécier vos enseignements, votre disponibilité, votre gentillesse et vos précieux conseils tout au long de nos études.

Nous avons su apprécier la qualité de votre enseignement, qui fut pour nous des plus enrichissants, durant toutes nos années d'études.

Veuillez trouver ici le témoignage de nos vifs remerciements et de notre profond respect.

A Mlle BOUGUENOUN I., doctorante au département d'écologie et de génie de l'environnement.

Vous nous avez fait le très grand honneur d'accepter la direction de ce mémoire. Nous vous sommes reconnaissants pour votre écoute et votre disponibilité. Qu'il vous soit témoigné notre profonde reconnaissance pour votre savoir et pour toutes les connaissances que vous nous avez enseignées. Trouvez ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et de toute notre estime.

Nous associons à nos remerciements, le personnel du laboratoire de recherche de Chimie appliquée « Université 08 Mai 1945 de Guelma », le personnel du laboratoire de biologie de Guelma, Ghania et Ratiba, au laboratoire d'analyse Kaci d'Annaba et à la doctorante Zinette qui nous a fourni de l'aide au cours de notre partie expérimentale,

Enfin, que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude en particulier les enseignants et les étudiants du département de biologie.

Liste des abréviations

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADCC	Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity
Ag	Antigène
ARN	Acide ribonucléique
C	Cyprès
Cell	Cellule
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
EDTA	Acide Ethylène Diamino Tétraacétique
IgA	Immunoglobuline A
IgE	Immunoglobuline E
IgG	Immunoglobuline G
EAACI	l'Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique
Eos	Eosinophile
HS	Hypersensibilité
G	Gramme
GB	Globule rouge
FNS	Formule numérique sanguine
FCϵRI	High-affinity IgE receptor/ Fc epsilon RI
HLA	Human leucocyte antigen
IL-4	Interleukine 4
IL-5	Interleukine 5
IL-6	Interleukine 6
IL-13	Interleukine 13

IFN-γ	Interféron- γ
J.-C	Jesus-Christ
l	Litre
LBA	Lavage broncho alvéolaire
LB	Lymphocyte B
LN	Lavage nasal
LT	Lymphocyte T
Lymp	Lymphocyte
m³	Metre cube
MGG	May-Grünwald–Giemsa
Mono	Monocyte
Neut	Neutrophile
NK	Cellules tueuses naturelles (Natural Killer)
NKT	Lymphocyte T NK
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAF	Facteurs Activateurs de Plaquettes
PP	Pôle polaire
PE	Pôle équatorial
PBS	Phosphate buffer salin
PGD	Prostaglandines
RAST	Radio Allergo-Sorbent Test
RNSA	Réseau national de surveillance aérobiologique
T	Témoin
T CD4 ou T4	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire)
T CD8 ou T8	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique)

Th	Lymphocyte T auxiliaires ou T helper
Th1 / Th2	Lymphocyte T auxiliaires de type 1 ou 2, produisant des cytokines de type 1(IL-2, TNF, IFN-g) ou de type 2 (IL-4, IL-6, IL-10)

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classification de l'hypersensibilité, d'après Gell et Coombs	05
02	Les types d'allergènes	10
03	Arbres aux principaux pollens allergisants	11
04	Récapitulatifs des acteurs de l'hypersensibilité	18

Figure	Titre	Page
1	Algorithme détaillé des mécanismes des manifestations cliniques d'hypersensibilité	06
2	Section transversale d'une anthère mûre	12
3	Orientation des grains de pollen dans la tétrade	13
4	Formes générales des grains	13
5	Les grains de pollen et de leurs apertures	14
6	Lame de référence du pollen de cyprès prise par Bouguenoun Imene 2013	16
7	Le pontage, par l'antigène et l'IgE, des récepteurs FcεRI à la surface du mastocyte active la cellule et déclenche sa dégranulation	20
8	schéma récapitulatif de l'hypersensibilité type I	21
9	Matériel biologique (souris blanche)	25
10	La cage des souris	26
11	Les conditions d'élevage	27
12	arbre du cyprès, cône femelle du cyprès, cône mal du cyprès	27
13	Schéma représentatif du protocole expérimental	28
14	sensibilisation nasale	29

15	Lavage nasal	30
16	Sacrifice de la souris	30
17	Dissection, Rate, Poumon	31
18	Lavage broncho-alvéolaire	31
19	Frottis	32
20	Suspension cellulaire des splénocytes	33
21	Cellule de malassez	34
22	Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles	36
23	Variation du nombre des monocytes et des éosinophiles	37
24	Variation du nombre des plaquettes	38
25	Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire	39
26	Frottis du liquide nasal et broncho-alvéolaire	40
27	Variation du nombre de splénocytes	41
28	Variation du poids des poumons et de la rate des souris	41
29	Inflammation des poumons chez les souris traitées.	42
30	Coupe histologique des poumons des souris témoins et traitées	43

Introduction

L'allergie est une réaction anormale du système immunitaire contre des éléments étrangers à l'organisme tels que les acariens, les pollens, les aliments et les médicaments. Ces substances, normalement inoffensives et bien tolérées par la plupart de la population, sont appelées allergènes et déclenchent une réaction inadaptée, excessive et pathologique chez des sujets dits « allergiques » pouvant se manifester dans différentes régions du corps : sur la peau, les yeux, dans le système digestif ou encore dans les voies respiratoires : c'est l'allergie, qui est l'une des formes de l'hypersensibilité .

Depuis plus de trente ans, les allergies respiratoires sont en pleine expansion et sont causées par des allergènes particuliers de faibles poids moléculaire ; en suspension dans l'air et qui seront inhalés. Parmi ces allergènes on peut citer les spores de moisissures, les fèces d'acariens et le pollen qui constitue aujourd'hui l'un des facteurs d'allergies le plus fréquent.

Le pollen représente une multitude de corpuscules microscopiques contenus dans les sacs polliniques de l'anthere de la fleur. Ces grains minuscules constituent les éléments fécondants mâles de celle-ci. Les pollens sont libérés par les plantes dans l'atmosphère pour permettre la fécondation. La pollinisation correspond au transport du grain de pollen sur le stigmate de la fleur femelle.

L'allergénicité des grains de pollen (ou potentiel allergisant) est principalement déterminée par le nombre et la nature des allergènes (essentiellement des protéines) du pollen d'une espèce et par le nombre de grains de pollen présents dans l'atmosphère.

L'allergie aux pollens touche de plus en plus des patients de tous âges. Mais on note une prédominance chez l'adolescent et le jeune adulte. Ainsi, on se propose de présenter dans notre travail l'exemple des allergies déclenchées par le pollen de cyprès. Décrites pour la première fois en 1929 aux Etats-Unis, puis en 1945 en Afrique australe et en 1962 en France, encore considérées comme rares en 1970, elles ont littéralement " explosé " à partir de 1974 sur tout le pourtour de la Méditerranée, au point de constituer aujourd'hui en bien des endroits un réel problème de santé publique.

Le pollen de cyprès occupe une des premières places parmi tous les pollens d'arbres susceptibles ou jugés capables de provoquer des réactions allergiques.

En se déposant sur les voies respiratoires, le pollen de cyprès est responsable d'allergies dont les manifestations cliniques appelées pollinoses et qui sont caractérisées par des maux de tête, des crises d'asthme, des rhumes et rhinites.

Pour la réalisation de notre travail nous nous sommes penchés sur l'étude de l'effet de l'extrait brut du pollen de cyprès sur le système immunitaire et avons essayé de comparer les résultats obtenus avec ceux d'études préalablement effectuées.

Le travail ici présenté est scindé en deux parties :

Une partie théorique visant à expliquer la notion d'hypersensibilité et ses principaux mécanismes; décrire les pollens en général et celui du cyprès en particulier ainsi que ses caractéristiques et aborder l'impact ou l'effet de l'extrait pollinique du cyprès sur des sujets dits « allergiques ».

Une partie expérimentale décrivant en premier lieu le matériel utilisé, ensuite les méthodes suivies pour la réalisation de notre travail de recherche et se terminant enfin par la présentation et la discussion des résultats obtenus.

I. L'hypersensibilité

I.1. Historique

L'allergie constitue un problème de santé à l'échelle mondiale. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) elle occupe le quatrième rang parmi les maladies mondiales. La découverte de l'allergie remonte avant Jésus-Christ quand Hippocrate et Galen ont découvert que la consommation du lait de vache ou de chèvre peut provoquer des troubles digestifs et de l'urticaire. En 1483, Richard III avait des boutons rouges après quelques heures de l'ingestion de fraises, c'était une urticaire. En 1586, Marcello Donati décrivit le cas d'un jeune comte qui développait un angioœdème chaque fois qu'il consommait les œufs (**Dutau et Rancé, 2005**).

En 1902, les français Charles Richet et Paul Portier décrivaient l'induction expérimentale d'une allergie fatale chez le chien. Ils ont injecté à un chien des doses successives non toxiques de venin d'anémones de mer. Quelques semaines après, ils ont réinjecté les mêmes doses de poison au chien qui réagit violemment et meurt. Pour ce phénomène reproductible, ils ont proposé le terme d'anaphylaxie, dérivé des mot grecs « ana » : contraire, « phylaxie » : protection (**Mondoulet, 2005**).

Quelques années après, en 1905, le premier cas d'anaphylaxie au lait de vache est rapporté (**Bodinier, 2007**). En 1906, le terme d'allergie a été utilisé pour la première fois. C'est Clément Von Pirquet (médecin autrichien) et Bela Schik (médecin hongroise) qui l'utilisèrent afin de différencier les réactions utiles des réactions nocives au sein des différentes réponses immunes, ils ont donc utilisé ce terme pour qualifier une « autre façon de réagir » du système immunitaire (**Argibaia, 2012**).

Enfin, en 1921, Prausnitz et Küstner firent une expérience restée célèbre : Prausnitz, non allergique au poisson, s'est injecté dans la peau le sérum de Küstner, allergique au poisson. Ils ont alors montré qu'une injection d'extrait de poisson au même site provoquait l'apparition d'une réaction allergique cutanée, une papule érythémateuse, appelée réaction de Prausnitz-Küstner. Cette expérience leur permit de démontrer que trois paramètres sont importants dans l'allergie : la spécificité envers l'allergène, l'existence de facteurs présents dans le sérum du patient allergique préexposé à l'allergène (les réagines) et des acteurs tissulaires présents chez tous les individus (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Ce n'est qu'à la fin des années soixante qu'Ishizaka et ses collaborateurs aux Etats-Unis et Johansson et Bennich en Suède démontrent que les réagines appartiennent à une cinquième classe d'immunoglobuline : les immunoglobulines de type E (IgE) (**Bennich et al., 1968**).

I.2. Définition

Une infection est suivie par la mise en place d'une réponse immunitaire faisant intervenir de manière coordonnée les différents acteurs de l'immunité. Une immunité protectrice se met en place et assure l'élimination des agents pathogènes. Cependant, dans certains cas, la réponse immunitaire conduit à des dégradations tissulaires ou à des conséquences néfastes sur une ou plusieurs fonctions physiologiques : il s'agit de réactions d'hypersensibilité (**Espinosa et Chillet, 2006**).

On peut définir l'hypersensibilité comme une réponse immunitaire spécifique inappropriée, contre des molécules ou particules non infectieuses, ou exacerbée face à un antigène donné et occasionnant souvent des dommages tissulaires (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Le terme « allergie » est composé de deux mots d'origine grecque « allos » pour « autre » et « ergon » pour « réaction » (**Eppe, 2006**).

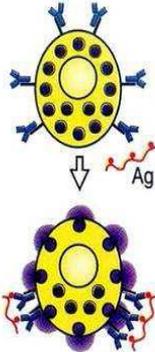
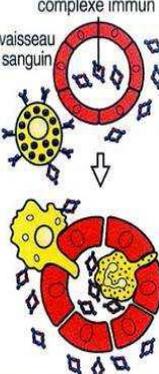
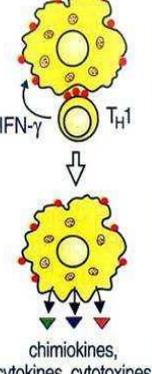
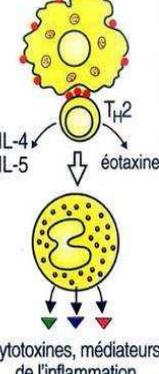
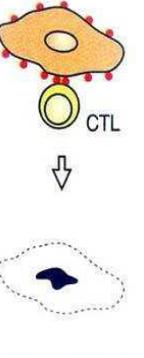
Au sens large, le terme allergie se confond avec une hypersensibilité induite par un antigène de l'environnement « l'allergène ». Il existe des allergies impliquant tous les types d'hypersensibilité. Dans un sens plus restrictif et le plus souvent utilisé, une allergie est une hypersensibilité impliquant les IgE (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Elle intervient chez des individus prédisposés génétiquement à produire ce genre de réponse dans des conditions d'exposition particulières. Ces conditions mettent en jeu l'allergène lui-même, sa structure, sa dose, son mode d'entrée, sa voie d'entrée, sa fréquence d'administration, son moment d'entrée et l'individu par son statut immunologique au moment de la sensibilisation (**Poitevin, 2008**).

I.3. Classification des réactions allergiques

I.3.1. Classification de Gell et Coombs : En 1963, Gell et Coombs ont distingué quatre types d'hypersensibilités en fonction des mécanismes immunitaires incriminés et de la cinétique de la réponse, ils les ont classés en se basant sur les symptômes de ces manifestations et les quelques mécanismes immunitaires connus à l'époque (**Tableau 1**) : hypersensibilité de types I, II et III liées aux anticorps et hypersensibilité de type IV liée aux lymphocytes. Ces mécanismes étaient ainsi présentés selon les dommages tissulaires provoqués (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Tableau 1 : Classification de l'hypersensibilité, d'après Gell et Coombs
(Janeway *et al.*, 2003).

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
Facteur immunitaire en cause	IgE	IgG	IgG	Cellules T _H 1	Cellules T _H 2	CTL
Antigène	Antigène soluble	Antigène associé à la cellule ou à la matrice	Antigène soluble	Antigène soluble	Antigène soluble	Antigène cellulaire
Mécanisme effecteur	Activation des mastocytes	Cellules FcR ⁺ (phagocytes, cellules NK)	Cellules FcR ⁺ Complément	Activation des macrophages	Activation des éosinophiles	Cytotoxicité
						
Exemple de réaction d'hypersensibilité	Rhinite allergique, asthme, anaphylaxie systémique	Allergie à certains médicaments (e.g. pénicilline)	Maladie sérique, réaction d'Arthus	Dermatite de contact, réaction tuberculique	Asthme chronique, rhinite allergique chronique	Dermatite de contact

Cette vue est aujourd'hui largement dépassée car on sait que ces manifestations ne sont que des mécanismes de l'immunité développés face à certains types d'antigènes, mis en jeu de manière incontrôlée ou à mauvais escient (Espinosa et Chillet, 2006).

I.3.2. Classification de Johansson : Cette nomenclature classique a été redéfinie au vu des nouvelles connaissances immunologiques. Au cours de l'année 2001, l'Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique (EAACI) a publié une nomenclature révisée des termes utilisés en allergologie qui distingue au sein des réactions adverses aux aliments, « les réactions toxiques et les réactions non toxiques » (Meyer *et al.*, 2008).

Les réactions toxiques sont liées à des contaminants, par exemple une toxine bactérienne (intoxication et intoxication alimentaires) (Figure 1). Les réactions non toxiques peuvent quant à elles être immunologiques ou non immunologiques (Johansson *et al.*, 2001).

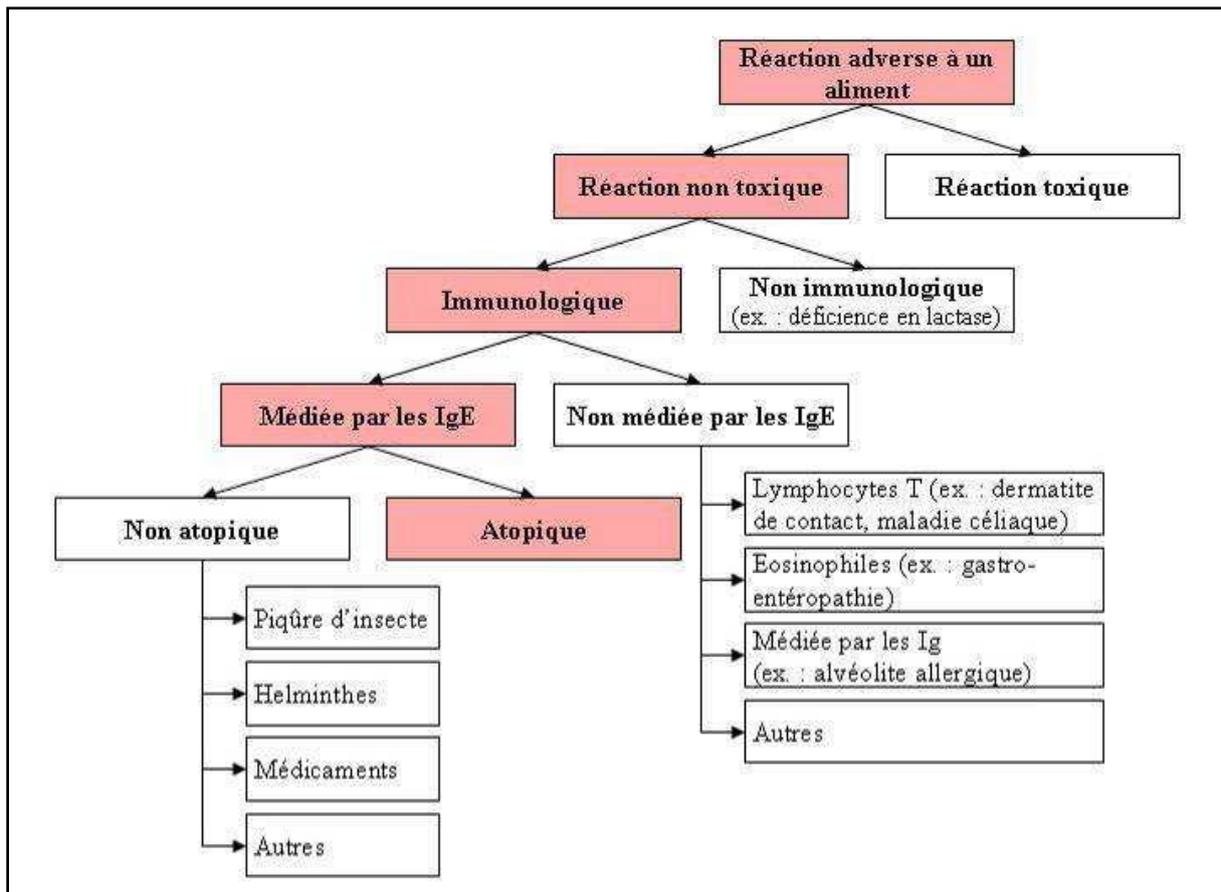


Figure 1 : Algorithme détaillé des mécanismes des manifestations cliniques d'hypersensibilité (Johansson *et al.*, 2001).

I.4. Les facteurs étiologiques

Les maladies allergiques sont fréquentes et constituent un réel problème de santé publique et sont occasionnées par plusieurs facteurs :

I.4.1. Les facteurs génétiques (prédisposants) : Les maladies de types allergiques sont souvent familiales. Le terme atopie désigne une tendance héritée à l'hyperproduction d'anticorps de type IgE contre des allergènes communs de l'environnement. Environ 80% des individus atopiques ont des antécédents familiaux d'allergie contre 20% de la population normale. On n'observe cependant que 50% de concordance entre jumeaux monozygotes (Chapel *et al.*, 2004).

Le taux global des IgE sériques, la production des IgE spécifiques et la réactivité bronchique dépendent tous trois d'un contrôle génétique : des gènes situés sur le chromosome 5 (le groupe dit du gène de l'IL-4) sont impliqués dans la régulation de la production d'IgE, et des gènes situés sur le bras long du chromosome 11 contrôlent le phénotype atopique.

L'haplotype HLA-DR3 est lié à la survenue d'une allergie au ray Grass commun (ivraie vivace) (**Chapel et al., 2004**).

Bien que la susceptibilité génétique soit un facteur important dans l'allergie, l'environnement joue aussi un rôle déterminant (**Chapel et al., 2004**).

I.4.2. Les facteurs environnementaux : Plusieurs facteurs de l'environnement influent sur la prédisposition immunitaire d'un sujet vis-à-vis des allergies. Parmi ces facteurs on a :

L'exposition précoce : Les nourrissons exposés à une plus grande variété d'allergènes montrent une augmentation de la prévalence des allergies alimentaires (**Kanny et al., 1996**).

La pollution et le tabagisme passif : Sont des facteurs aggravant le phénomène allergique. Ils agissent comme des adjuvants de la réponse allergique (**De Swert, 1999**).

La pollution a des effets directs sur les cellules B via les hydrocarbures aromatiques, conduisant à une augmentation de la réponse IgE. Le tabagisme passif quant à lui augmente la prévalence d'une respiration asthmatique chez l'enfant (**Halken, 1992**) et conduit à une augmentation des concentrations d'IgE totales chez l'adulte (**De Swert, 1999**).

L'Infection : Au sujet de laquelle plusieurs études, tant chez l'homme que chez les modèles animaux semblent montrer que la réduction des infections bactériennes peut contribuer à l'augmentation de la sévérité et de la prévalence des atopies chez l'homme, en modifiant l'équilibre de la balance Th1/Th2 (**Shirakawa, 1997**).

Le sexe : Il semble que les garçons montrent un risque d'atopie plus élevé envers les acariens, le pollen de graminées, l'allergène de l'épithélium du chat, ainsi que pour le développement de l'asthme (**Macdougall et al., 2002**).

L'Age : En générale, les taux d'IgE sont très élevés dans l'enfance et diminuent rapidement entre 10 et 30 ans (**De Swert, 1999**).

1.4.3. Les facteurs liés à l'extrait pollinique : Les pollens responsables de réactions allergiques présentent certaines caractéristiques communes et une quinzaine de familles au maximum, sont impliquées à des degrés divers, dans les pollinoses. Un premier trait commun aux grains de pollen allergisants est leur petite taille. L'allergénicité des grains de pollen

dépend aussi de leur nombre (**Laaidi et al., 1997**), ils doivent également contenir un principe actif (**Dowding, 1988**).

D'autre part, les facteurs météorologiques agissent sur la concentration des pollens dans l'atmosphère. Les facteurs primaires (température ; ensoleillement ; précipitation) sont ceux qui interviennent directement sur la biologie des espèces végétales considérées, au moment de la croissance des plantes et du développement floral, donc ceux qui conditionnent la production du pollen, les facteurs secondaires (humidité ; pression atmosphérique, température) gouvernent ensuite la libération des grains dans l'air, lorsque les anthères (parties fertiles des étamines) sont parvenues à maturité. Enfin, les facteurs tertiaires (le vent et la forme des grains) régissent la dispersion ultérieure de ces grains (**Laaidi et al., 1997**).

I.5. Les différents types d'allergènes

On peut aussi définir l'allergène comme une substance extérieure à l'organisme, d'origine protéique provoquant la réaction du système immunitaire d'un sujet lorsqu'il entre en contact avec l'organisme, le plus souvent par un contact avec la peau, par inhalation ou par ingestion [1].

Les allergènes sont des composants naturels de l'environnement. L'identification des sources d'allergènes responsables de la symptomatologie est indispensable pour initier des conseils et des traitements spécifiques. Les allergènes, qui sont pour la plupart des protéines, sont des antigènes qui réagissent avec des IgE spécifiques (**Gell et Coombs, 1968**).

Les allergènes sont classés d'abord selon les voies de pénétration dans l'organisme car celles-ci déterminent le mode de présentation de l'antigène au système immunitaire (**Gell et Coombs, 1968**) (**Tableau 2**).

Ainsi on distingue :

- Les allergènes pouvant pénétrer par ingestion : les trophallergènes ;
- Les allergènes pouvant pénétrer par inspiration ou inhalation de l'air : les pneumallergènes ;
- Les allergènes injectés ;
- Les allergènes d'objets ou de produits touchés (**Gell et Coombs, 1968**).

I.5.1. Les trophallergènes : Sont apportés par voie digestive. Ils sont surtout impliqués chez l'enfant et sont particulièrement difficiles à identifier car ils sont souvent masqués dans l'alimentation (**Thérond, 1981**).

Selon les origines, les allergènes les plus fréquemment ingérés sont :

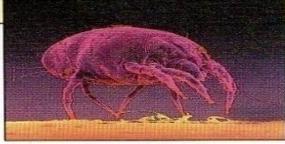
- Origine animale : protéines de lait de vache, les œufs et les crustacées ;
- Origine végétale : arachides (+++), ombellifères (céleri, carotte...), les fruits (pomme, pêche, kiwi, banane...) (**Théron, 1981**).

I.5.2. Les pneumallergènes : Contenus dans l'air, ils déclenchent une réaction allergique au niveau de l'arbre respiratoire lorsqu'ils sont inhalés. Invisibles à l'oeil nu, ils sont plus difficiles, voire impossibles à écarter totalement de l'environnement du patient. Leur diffusion dans l'environnement dépend de la taille, de la pluviosité et du vent (**Chakra, 2009**).

I.5.3. Les allergènes injectés : Ce sont les allergènes pénétrants dans l'organisme par piqûres d'insectes tels que les allergènes contenus dans les venins d'hyménoptères (guêpes, abeilles, frelon...) et pouvant être à l'origine de chocs anaphylactiques mortels [2].

I.5.4. Les allergènes d'objets ou de produits touchés : Ils provoquent une réaction quand ils sont en contact avec la peau à titre d'exemple : parfum, les produits cosmétiques, les métaux des bijoux, certains produits chimiques (colle, vernis), latex et les feuilles des plantes [2].

Tableau 2 : Les types d'allergènes (Parham, 2003).

Sources communes d'allergènes		
Particules inhalées Pollens de plantes Squames des téguments d'animaux domestiques Spores de moisissures Excréments d'animaux microscopiques (e.g. acariens de poussière de maison)	 Pollen	 Acarien de poussière de maison
Produits injectés Venins d'insecte Vaccins Médicaments Protéines à usage thérapeutique	 Guêpe	 Médicaments
Produits ingérés Aliments Médicaments administrés oralement	 Cacahuètes	 Fruits de mer
Objets ou produits touchés Feuilles végétales Produits végétaux industriels Produits chimiques de synthèse industrielle Métaux	 Sumac vénéneux	 Pièce de nickel

II. Contribution à l'étude du pollen

L'existence du pollen et son rôle dans la fécondation des plantes étaient déjà pressentis par Hérodote quatre siècles avant J-C. Mais il a fallu attendre le XVIIe siècle et l'invention du microscope pour que l'existence de cette « poussière végétale » soit avérée. Sphériques ou ovoïdes, les grains de pollen sont généralement jaunes, parfois rouges, noirs ou bleuâtres. Leur taille varie de 5 micromètres pour le myosotis à 250 micromètres pour le sapin ou l'épicéa. Ces éléments reproducteurs microscopiques sont délivrés dans l'atmosphère en grande quantité par les organes mâles des plantes (anthère des étamines). Un pin peut produire 6 à 7 milliards de grains par an, un pied d'ambrosie 2,5 milliards de grains sur une saison [3].

C'est seulement dans les années 1870 que la responsabilité de ces micro-grains dans le rhume des foins et l'asthme a commencé à être suspectée : capables de pénétrer dans les voies respiratoires, ils provoquent chez certains une réaction du système immunitaire. Il suffit de 10 grains de pollen par m³ pour provoquer rhinite, conjonctivite, toux persistante, crises d'asthme... [3].

II.1. Arbres au pollen allergisant

Le pollen peut s'avérer très allergisant et responsable de diverses pathologies dont les allergies notamment de l'appareil respiratoire [4].

A l'initiative du Réseau national de surveillance aérobiologique (RNSA), un classement des espèces selon un potentiel allergisant allant de 0 à 5 (0 étant un potentiel nul et 5 un potentiel très fort) a été mis en place en France (**Tableau 3**). Les principaux groupes de pollens allergisants observés en France sont ceux des graminées fourragères et céréalières, des plantes herbacées et diverses familles d'arbres [4].

Leur pollinisation s'étend sur une longue période, elle commence entre décembre et février selon la zone géographique avec les cyprès, genévriers et cades dans le sud de la France pour finir fin juin début juillet avec les châtaigniers [4].

Tableau 3 : Arbres aux principaux pollens allergisants [5].

Arbres	potentiel
Pin	0
Orme	1
Peuplier	2
Mûrier	2
Hêtre	2
Châtaignier	2
Noisetier	3
Saule	3
Charme	3
Platane	3
Olivier	3
Tilleul	3
Aulne	4
Chêne	4
Frêne	4
Bouleau	5
Cyprès	5

II.2. Le pollen

Le mot « pollen » du latin *pollen*, fleur de farine, désigne normalement une substance et ne devrait être employé qu'au singulier. Dans le langage courant et par assimilation, on utilise ce terme pour « grain de pollen » au singulier comme au pluriel. Le grain de pollen est l'élément reproducteur microscopique produit par les organes mâles des plantes (anthères des étamines) (**Figure 2**). Il intervient dans la fécondation de l'organe femelle des plantes après avoir été déplacé et déposé sur les stigmates des fleurs (**Chakra, 2009**).

Le pollen peut être aussi défini comme un gamétophyte mâle ou micro gamétophyte en référence à sa taille microscopique de durée de vie variant de quelques heures à une centaine de jours. Contenu dans la paroi sporale, il est endosporé et se développe soit dans des sacs polliniques appelés microsporangies qui contiennent des microspores non disséminées qui vont se différencier après deux mitoses pour donner des grains de pollen (cas des gymnospermes tel que le pin sylvestre); soit dans l'anthere divisée en quatre sacs polliniques qui à maturité fusionneront deux à deux formant deux loges polliniques. Dans ceux derniers, les cellules mères diploïdes des microspores subissent la méiose à l'origine des microspores haploïdes qui se différencieront sur place en grain de pollen (cas des angiospermes tel que le lis) (Meyer *et al.*, 2008).

Lors de la fécondation, le pollen sera libéré vers l'extérieur sous forme d'une poussière de couleur jaune (Meyer *et al.*, 2008).

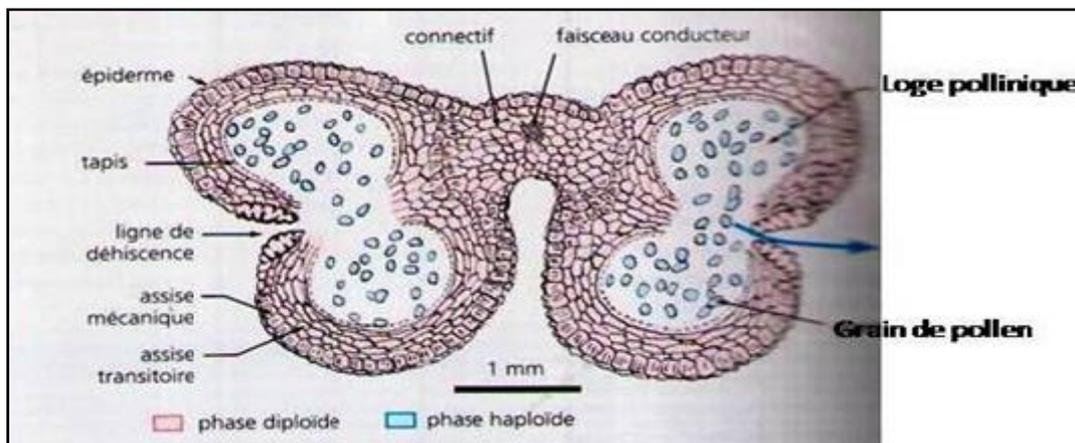


Figure2 : Section transversale d'une anthere mûre (Meyer *et al.*, 2008).

II.2.1. Structure du pollen : Un grain de pollen est caractérisé et identifié par sa taille, sa forme générale, le nombre et la forme des ouvertures (pores et sillons) et l'architecture extrêmement variée de la membrane externe (exine) (Guerin, 1993).

- **La taille** : Ils mesurent de 2,5 à 220 μ m selon les espèces, avec une taille moyenne de 20 à 60 μ m (Chakra, 2009). Un grand nombre de pollen anémophile mesure entre 20 et 60 μ m (Guerin, 1993).

- **La forme** : La plupart sont simples. Certains après leur maturation dans l'anthere restent agglomérés en tétrade, la cohérence peut persister entre les grains pour former des pollinies ou des poliades [6].

Leur forme ellipsoïde se définit en fonction de son orientation dans la tétrade originale qui permet de reconnaître un pôle proximal, proche du centre et un pôle distal diamétralement opposé qui permet de construire un axe polaire « pp' », et un axe équatorial « E » (**Figure 3**). Les axes sont repérés sur les grains isolés pour la disposition des apertures. La forme du grain de pollen est donc définie par le rapport qui existe entre les dimensions deux axes (**Figure 4**) (**Besancenot, 1989**).

- Le grain est dit sphéroïdal (equiaxes) quand les deux axes sont égaux : $p' = E$
- Le grain est dit prolé (longiaxe) quand $p' > E$
- Le grain est dit oblé (bréviaxe) quand $p' < E$

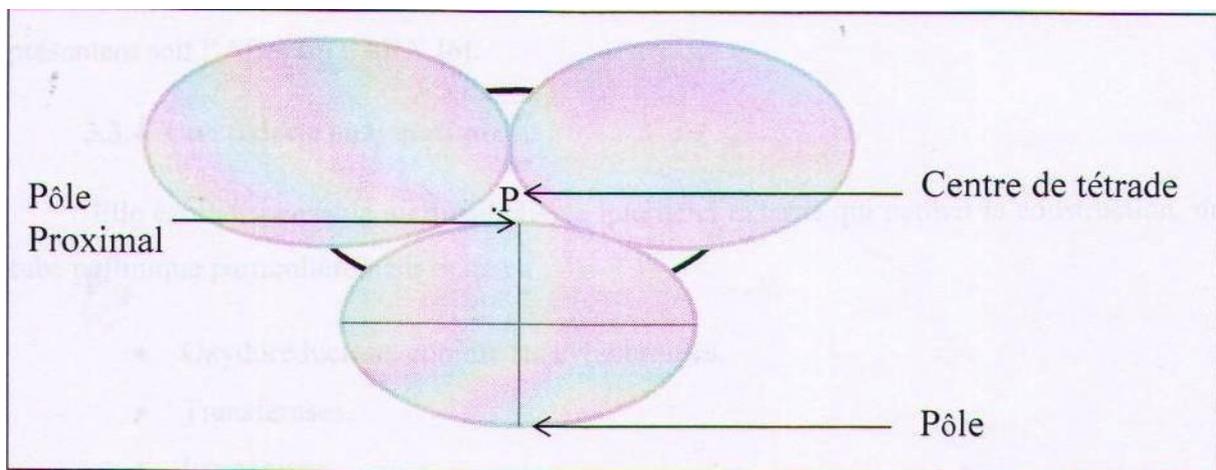


Figure 3 : Orientation des grains de pollen dans la tétrade (**Besancenot, 1989**).

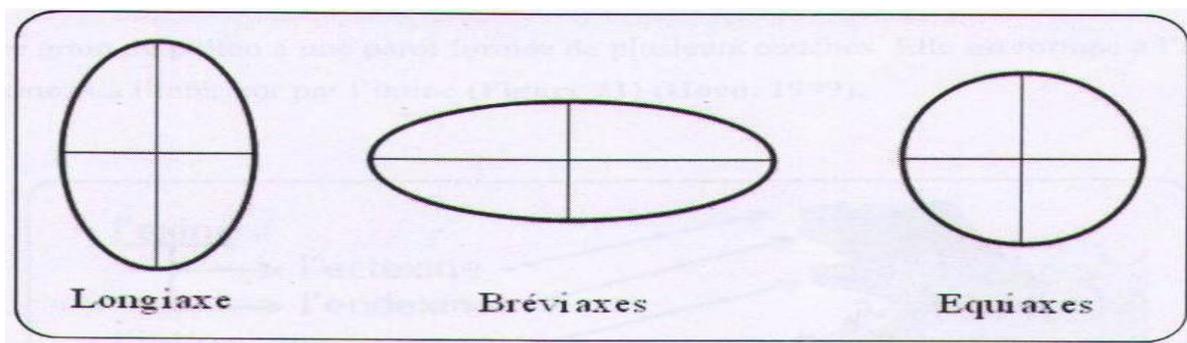


Figure 4 : Formes générales des grains (**Besancenot, 1989**).

• **Les apertures** : C'est un pore germinatif par lequel sort le tube pollinique au moment de la germination du grain de pollen sur le stigmate de la fleur compatible (**Meyer et al., 2008**).

Elles permettent la libération de substances solubles dès que le grain de pollen rencontre une surface humide (**Chakra, 2009**) et aussi la régulation du volume de grain en fonction de l'humidité ambiante (**Figure 5**) [7].

Il existe deux types d'ouvertures :

- Les pores : lorsque les ouvertures sont arrondies ;
- Les sillons : lorsque les ouvertures sont allongées ;
- Un grain de pollen peut être pourvu ou non d'ouvertures [7].

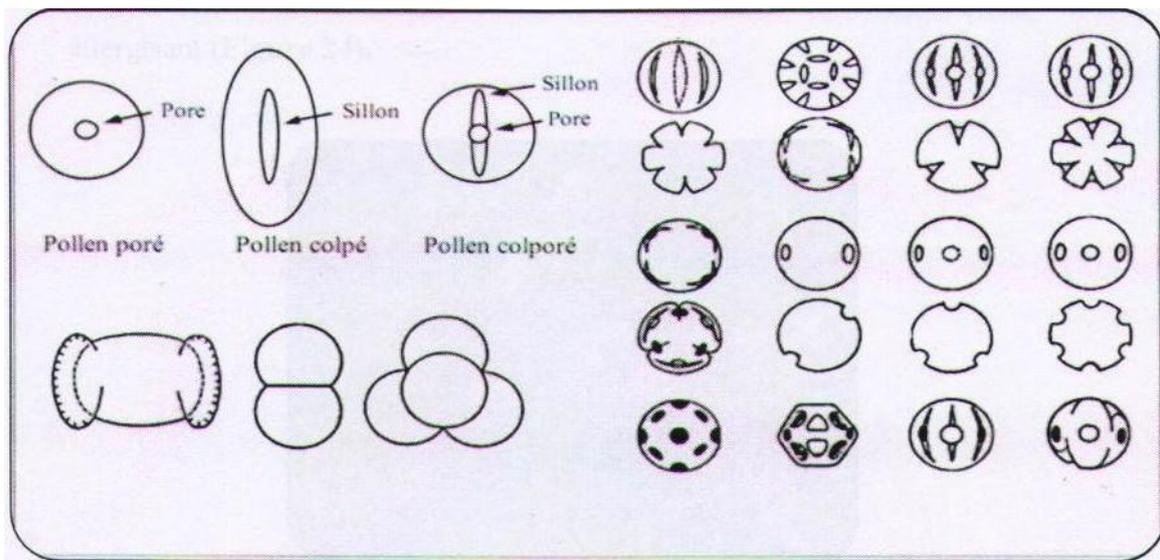


Figure 5 : Les grains de pollen et de leurs ouvertures [7].

• **L'exine** : Constitue la paroi de la cellule végétative et est elle-même composée de sporopollénine substance sécrétée par le tapis de l'anthère et qui imprègne l'exine non seulement des grains de pollen mais aussi des spores (**Figure 7**). La sporopollénine serait un dérivé des caroténoïdes, hydrophobe et surtout imputrescible, elle est résistante à l'hydrolyse enzymatique comme aux acides concentrés (**Meyer et al., 2008**).

Grâce à la sporopollénine, les pollens sont protégés pendant leur dissémination en milieu aérien. Leur exine reste intacte même après la mort du pollen ou du spore et se conserve au cours des temps géologiques (**Meyer et al., 2008**).

II.2.2. Composition analytique du pollen : Le grain de pollen à une composition biochimique complexe. Il comporte des glucides (cellulose 3 à 10 %, hémicellulose, callose et divers polysaccharides), des composés lipidiques (acides gras, caroténoïdes et sporollénine ; entre 3 et 25 %), des protéines et des éléments minéraux (**Chakra, 2009**).

• **Lipides** : Le taux en poids de substances extractives par l'éther varie suivant les espèces entre 1% et 20% du poids sec avec une moyenne d'environ 5% [8].

• **Acides aminés libres** : La composition qualitative et quantitative en acides aminés varie considérablement suivant les familles et les espèces [8].

• **Les protéines** : Elles sont présentes dans la paroi du grain mûr et dans le cytoplasme. Leur taux global varie de 6% à 30%, le taux cytoplasmique est plus représentatif, les protéines allergiques constitueraient seulement en moyenne 0.5 à 1% des protéines extractives. Les grains de pollen possèdent soit l'ADN, soit l'ARN [8].

• **Une palette enzymatique** : Elle est indispensable au métabolisme interne et externe qui permet la construction du tube pollinique particulièrement riche en :

- Oxydoréductase, comme les cytochromes;
- Transférases ;
- Isomérases ;
- Ligases et hydrolases [8].

II.3. Présentation de l'espèce allergisante utilisée : Le pollen du cyprès

Le grain de pollen du *Cupressus sempervirens* est constitué par une monade apolaire, inaperturée/monopore, de forme sphéroïdale ou allongée. Le contour peut être circulaire ou ovale. Les dimensions sont petites ou moyennes, 25– 30 micromillimètres (**Figure 6**). L'exine est mince, à la surface psyllée avec des granulations irrégulières. L'intine n'est pas mesurable dans les pollens intégraux, dans les grains fendus elle regonfle et sort de l'exine. L'intérieur assume une forme à étoile. Les grains ont la tendance à se casser. Au microscope optique, les grains des différentes espèces de Cupressacées ne sont pas distinguables entre eux (**Ariano et al., 2006**).

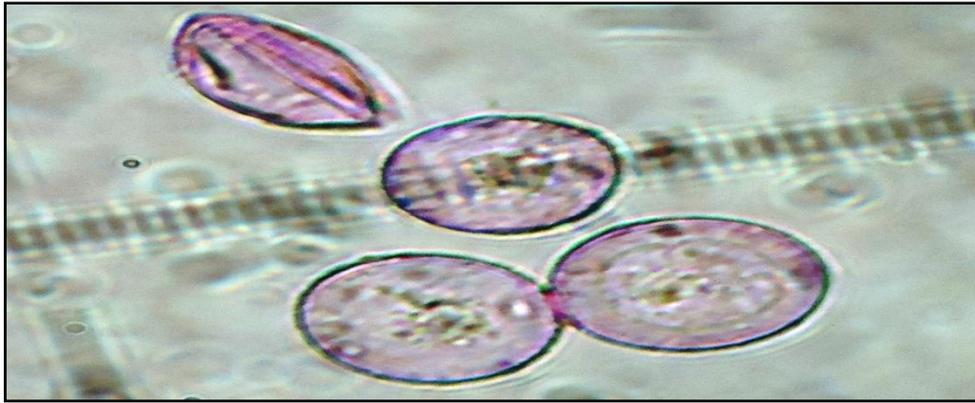


Figure 6 : Lame de référence du pollen de cyprès prise par Bouguenoun Imene 2013.

Les grains de pollen des Cupressacées sont anémophiles. On a aussi observé que l'activité allergénique du pollen de Cyprès se prolonge pendant de longues périodes, même des années, après élimination de la plante. Il a été souligné, par prick test et par RAST inhibition qu'un pollen de Cyprès « vieux » de six ans, même en perdant ses caractéristiques de vitalité et de capacité germinative, maintenait presque inaltérée dans le temps sa puissance allergisante, par rapport à un extrait « frais » (Ariano *et al.*, 2006).

II.4. Pollen et pollinose

Certains pollens présents dans l'air, peuvent provoquer lorsqu'ils entrent en contact avec les muqueuses des réactions allergiques chez les personnes prédisposées, voire parfois des personnes non prédisposées (pollen de cyprès par exemple). Ces réactions varient notamment en fonction du type de pollen et de la quantité émise dans l'atmosphère et semblent en augmentation depuis plusieurs années [9].

L'ensemble des manifestations cliniques induites par ces réactions allergiques au pollen est appelé pollinose [3].

Les pollinoses sont des pathologies à part entière. Et l'ampleur du problème est tel, en 30 ans ces irritants petits grains ont doublé le nombre de leurs victimes dans les pays industrialisés, que l'OMS est partie en guerre contre cette "pollution verte" [3].

Le point suivant sera donc porté sur les pollinoses et les allergies respiratoires dues au pollen notamment celles causées par le pollen du cyprès.

III. Allergies dues aux extraits polliniques

C'est seulement dans les années 1870 que la responsabilité des « corpuscules organisés disséminés dans l'atmosphère » commença à être suspectée en tant qu'origine de manifestations pathologiques que l'on n'appelait pas encore des allergies.

L'anglais Blackley fut ainsi le premier à apporter la preuve du rôle joué par le pollen dans le rhume et l'asthme des foins (**Laaidi et al., 1997**). Puis, dans les années vingt, le médecin Cooke suscita une avancée décisive des connaissances, avec ses recherches sur le rôle de l'hérédité chez les allergiques et sur la sensibilisation au pollen de graminées, à l'origine de la rhinite saisonnière. À sa suite, Noon prépara les premiers extraits allergéniques, auxquels il put réaliser des « vaccinations » ou désensibilisations (**Laaidi et al., 1997**).

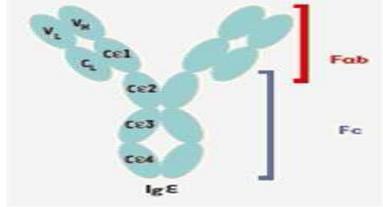
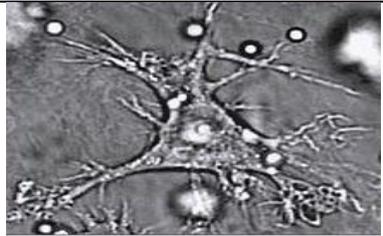
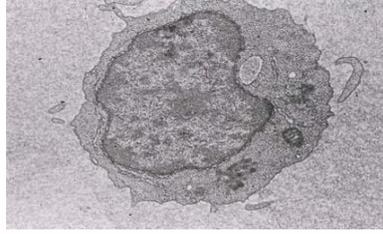
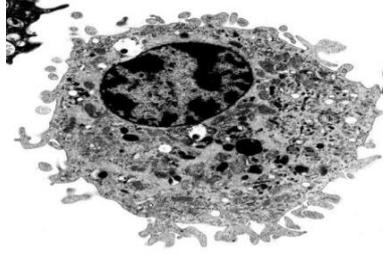
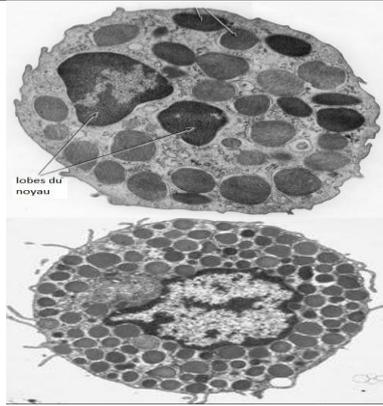
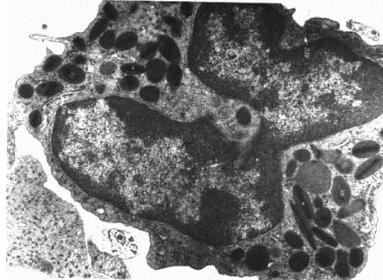
Aujourd'hui les allergies respiratoires constituent les allergies les plus fréquentes en Europe et partout dans le monde. Elles sont au premier rang des maladies chroniques chez l'enfant et sont la 3^{ème} cause de décès derrière les maladies cardio-vasculaires et les cancers [10].

III.1. Mécanismes allergiques causés par le pollen

Le mécanisme d'allergie au cyprès est celui de l'hypersensibilité de type I. Elle se déroule classiquement en deux étapes. La première étape est la phase de sensibilisation. Au cours de cette étape, les principaux événements sont la production des IgE spécifiques d'un antigène et la liaison de ces IgE à leur récepteur notamment sur les mastocytes et les basophiles. Cette étape est muette cliniquement et ce n'est qu'après un contact ultérieur avec l'allergène, lors de la phase de déclenchement, que surviennent les manifestations cliniques allergiques : l'agrégation des IgE spécifiques liées à leur récepteur par l'allergène entraîne la libération, par les cellules effectrices, des médiateurs de la réaction allergique (**Blanc, 2008**).

Nous décrirons en premier lieu les acteurs et les cellules effectrices qui produisent la réponse de type I (**Tableau4**). Les propriétés caractéristiques des allergènes et les mécanismes de la sensibilisation seront présentés par la suite.

Tableau4 : Récapitulatifs des acteurs de l'hypersensibilité (Chakra, 2009).

Cellules actrices	Rôle dans le mécanisme allergique	Schéma
IgE	Se fixe sur les mastocytes pour le pontage de l'allergène et déclencher ainsi la phase effectrice	
Cellules dendritiques	Cellules présentatrices d'antigènes, sont les seules à initier une réponse immunitaire adaptative aux antigènes qu'elles présentent	
Lymphocytes T (Th ₂)	Sécrétion interleukine4, intervient dans la communication isotypique des cellules B	
Lymphocytes B	Cellules présentatrices d'antigènes, synthèse d'IgE	
Basophiles Mastocytes	Contiennent les médiateurs chimiques tels que l'histamine, la sérotonine, l'héparine ; expriment fortement les récepteurs pour les FCεRI	
Eosinophiles	Contiennent les médiateurs inflammatoires. Sources de cytokines amplifiant les réponses Th ₂	

III.1.1. Les acteurs : Plusieurs cellules interviennent dans le déroulement du mécanisme de l'hypersensibilité de type I et ceci à plusieurs niveaux.

III.1.2. Le mécanisme immunitaire : Résulte de la fixation de l'antigène à des anticorps IgE spécifiques.

• ***Production d'IgE ou phase de sensibilisation*** : Tout commence par la pénétration de l'antigène à travers la peau et les muqueuses. Cette pénétration est facilitée par les propriétés irritatives ou enzymatiques de l'antigène responsable d'une diminution de l'étanchéité tissulaire. Une fois arrivé, il est phagocyté et apprêté par les cellules présentatrices d'antigène (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Les fragments allergènes ainsi préparés sont alors présentés aux lymphocytes Th qui vont se différencier en Th₂ sous l'action de l'interleukine IL-4. Les Th₂ ainsi activés vont alors induire la différenciation des lymphocytes B et la production d'immunoglobulines IgE en produisant des interleukines (surtout IL-4 et IL-5), mais aussi en ayant un contact direct via des récepteurs membranaires (**Espinosa et Chillet, 2006**).

Un renforcement de la production d'anticorps est obtenu grâce à la libération d'IgE ; puisque ces derniers vont se coupler aux récepteurs membranaires des basophiles et des mastocytes, qui vont ainsi libérer de l'IL-4 augmentant par la même occasion la production d'IgE. On a donc une boucle de production d'anticorps qui s'accompagne, lors de la réintroduction de l'antigène, d'une libération de médiateurs de l'inflammation par ces mêmes cellules (**Espinosa et Chillet, 2006**).

• ***Dégranulation des mastocytes ou phase effectrice immédiate*** : Ainsi le couplage de l'IgE sur les récepteurs membranaires des basophiles et mastocytes induit une production d'interleukines, mais elle engendre également la libération des substances contenus dans les vacuoles comme l'histamine, ainsi que la synthèse de médiateurs lipidiques comme les prostaglandines (tel que PGD₂) ou les leucotriènes (tel que LTC₄) (**Figure 7 et 8**). Tout ceci va alors conduire à des réactions corporelles typiques (**Male, 2007**) :

- Au niveau de la peau : On va observer une vasodilatation avec passage de liquide, formant ainsi des papules ou même un œdème de Quincke. Il pourra aussi y avoir un érythème induit par l'histamine (**Male, 2007**).

- Au niveau systémique : Des symptômes de chute de tension peuvent apparaître ainsi qu'un choc anaphylactique dans les cas extrêmes (**Male, 2007**).

- Au niveau du nez : Les médiateurs vont induire une obstruction nasale provoquant des éternuements et un écoulement (Male, 2007).

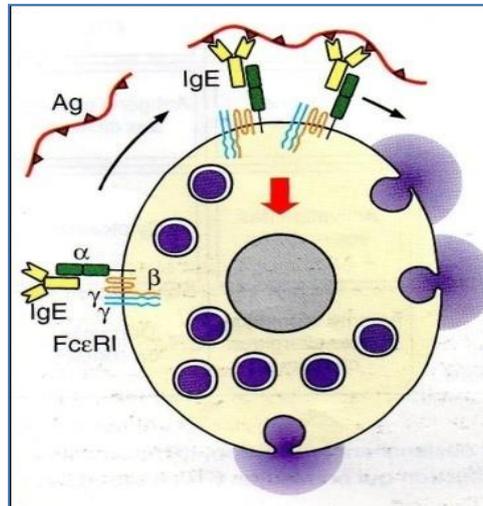


Figure 7 : Le pontage, par l'antigène et l'IgE, des récepteurs FcεRI à la surface du mastocyte active la cellule et déclenche sa dégranulation (Parham, 2003).

• *Phase effectrice tardive* : L'activation des basophiles et des mastocytes peut aboutir à des intensités différentes des mécanismes de l'inflammation allergique prolongée. C'est-à-dire que l'expression des molécules d'adhésion vasculaires est renforcée par l'action de l'histamine, des leucotriènes et des interleukines. Ceci permettra la constitution d'un infiltrat inflammatoire à cause de l'attraction de phagocytes qui en résulte (Genetet et Male, 2005).

Plus tard, l'activation des éosinophiles aboutit à une augmentation de cette réaction, par la libération de médiateurs renforçant la production d'IgE et donc en renforçant la réaction inflammatoire (Genetet et Male, 2005).

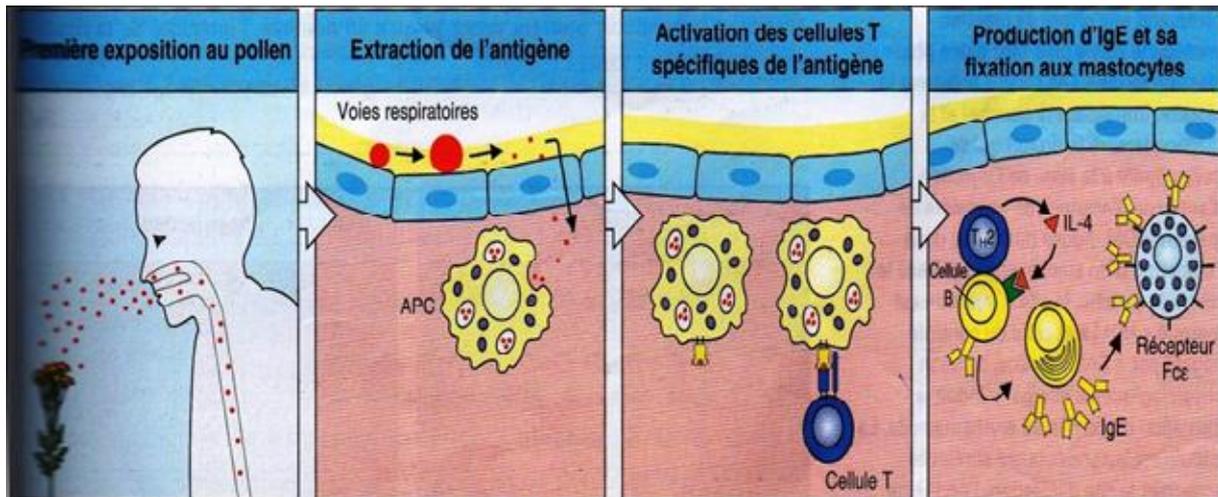


Figure 8 : schéma récapitulatif de l'hypersensibilité type I (Parham, 2003).

III.2. Les maladies causées par le pollen

Les allergies respiratoires sont essentiellement dominées par la maladie asthmatique et la rhinite (Devouassoux, 2003).

Les mécanismes physiopathologiques à leurs origines ne sont pas univoques, mais le déterminisme IgE est prédominant. Ce sont des pathologies extrêmement fréquentes, qui constituent de vrais problèmes de santé publique (Devouassoux, 2003).

III.2.1. Les maladies respiratoires

• **L'asthme** : Est une maladie inflammatoire chronique des petites bronches qui peut s'accompagner ou non d'exacerbations prenant alors la forme de crises plus ou moins aiguës (dyspnée, toux, sifflement respiratoire) (Chakra, 2009).

Un rapport d'expertise de l'OMS définit l'asthme ainsi : « état inflammatoire chronique des bronches dans lequel de nombreuses cellules jouent un rôle, en particulier les mastocytes, les éosinophiles et les lymphocytes T » (Chakra, 2009).

L'asthme allergique est une allergie respiratoire, caractérisé par une hyperréactivité des voies aériennes aggravées spécifiquement par l'inhalation de certains allergènes [11].

Il se distingue de la maladie asthmatique, non spécifique, qui peut survenir en réaction à d'autres facteurs comme les infections virales, l'effort, l'inhalation de substances polluantes, la prise de certains médicaments non spécifiques ou encore le stress.... L'asthme est d'origine allergique dans la majorité des cas [11].

Les composantes spécifiques et non spécifiques sont souvent associées et doivent être prises en compte dans la prise en charge globale de l'asthme [11].

• **La rhinite** : Est définie comme une maladie inflammatoire nasale : «*rhino*» signifie nez et la terminaison «*ite* » fait simplement référence à une inflammation. Il s'agit d'une maladie très fréquente puisqu'elle touche 10 à 40 % de la population générale (Devouassoux, 2003).

Cette pathologie est rare avant l'âge de 5 ans, débute le plus souvent à la puberté pour les rhinites allergiques polliniques et plus tard, entre 15 et 30 ans, pour les rhinites perannuelles. Les intrications avec les autres maladies allergiques sont importantes, notamment avec la pathologie asthmatique (Devouassoux, 2003).

Dans l'allergie saisonnière, en relation avec les pollens, la rhinite est souvent associée à une conjonctivite : c'est le classique « rhume des foins » (Devouassoux, 2003).

La rhinite allergique s'inscrit dans le cadre général de la maladie allergique atopique. La démarche pour établir le diagnostic repose avant tout sur un interrogatoire bien conduit et un examen clinique soigneux. Le bilan complémentaire est centré sur la réalisation des tests cutanés. Son intérêt repose essentiellement sur l'identification d'un ou plusieurs antigènes et de leur responsabilité dans l'apparition de la symptomatologie. Elle permet parfois d'engager une éviction antigénique ou une immunothérapie spécifique (Devouassoux, 2003).

III.2.2. Les maladies cutanées

• **Urticaire** : L'urticaire n'est pas une maladie en soi, mais un signe physique. On appelle urticaire des épisodes répétés de lésions bien délimitées, œdémateuses, érythémateuses et prurigineuses. Le bord des lésions est surélevé. Son aspect est tellement caractéristique que le diagnostic est généralement très facile contrairement à l'identification de la cause vu que les examens de laboratoires sont peu utiles. En effet, l'urticaire provient d'une accumulation soudaine et localisée de liquide dans le derme due à une augmentation brutale et localisée de la perméabilité vasculaire du derme. De nombreux mécanismes pourraient être mis en cause, certains sont de nature immunitaire, d'autres ne le sont pas. Les mastocytes du derme sont une source importante de médiateurs vaso-actifs (Chapel *et al.*, 2004).

On distingue plusieurs types d'urticaires dont l'urticaire aiguë qui est de courte durée ; sa cause est identifiée dans seulement 50% des cas. Le diagnostic d'une poussée d'urticaire

provoquée par une réaction de type IgE à des antigènes extrinsèques est en général très facile à poser à partir de l'anamnèse (**Chapel et al., 2004**).

• **L'eczéma atopique** : L'eczéma atopique est une maladie cutanée, chronique, fréquente et fortement prurigineuse. Elle survient généralement chez des individus qui ont une prédisposition héréditaire aux maladies atopiques. Il consiste en lésions chroniques extrêmement prurigineuses et eczémateuses. Les patients ont souvent un taux élevé d'IgE sérique (**Chapel et al., 2004**).

L'anomalie immunologique la plus évidente est le taux élevé de l'IgE sériques chez environ 90% des patients. Ceux qui sont atteints à la fois d'eczéma et d'asthme ont les taux les plus élevés. Puisque les lymphocytes T contrôlent la production d'IgE, la production excessive d'IgE pourrait refléter d'un dysfonctionnement des lymphocytes T. Il semble que l'activation des lymphocytes T de type Th₂ conduise à la libération de cytokines qui jouent un rôle clé dans la pathogénie de l'eczéma atopique. Ils produisent l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6 et l'IL-13. L'IL-4 et l'IL-13 facilitent la commutation isotypique vers l'IgE et induisent l'expression de VCAM-1 une molécule d'adhérence qui facilite la migration des cellules mononuclées vers les tissus qui sont le siège de l'inflammation allergique (**Chapel et al., 2004**).

Par ailleurs, les lymphocytes T qui migrent vers la peau contiennent une proportion élevée de Th₂ mémoires exprimant l'antigène de migration cutanée ce qui implique une migration sélective de ces cellules. Lorsque le cycle « prurit- grattage » est enclenché, la stimulation mécanique des kératynocytes libère davantage de cytokines qui entretiennent la réaction (**Chapel et al., 2004**).

III.2.3. Les maladies oculaires

• **La conjonctivite saisonnière (rhume des foins)** : C'est une affection courante qui atteint principalement les enfants et les jeunes adultes. Elle est bilatérale et bénigne. Habituellement associée au rhume des foins et suivant la même variation saisonnière, elle se manifeste par des démangeaisons, de la rougeur et du larmoiement. L'implication des IgE spécifiques a été démontré par le transfert passif de l'hypersensibilité spécifique à un volontaire par le sérum. L'IgE est fixé aux mastocytes mais le site de production est incertain vu que l'IgE libre n'est pas trouvé nécessairement en excès dans les larmes. Alors que l'IgE spécifique du pollen est responsable de la conjonctivite associée au rhume des foins, les individus atteints sont souvent sensibles à d'autres antigènes.

Le traitement de la conjonctivite saisonnière consiste entre autres à éviter le contact avec le pollen (**Chapel et al., 2004**).

• **La conjonctivite vernale** : C'est une forme plus grave de conjonctivite. Elle persiste toute l'année avec des exacerbations printanières. Elle touche principalement les jeunes et se caractérise par une rougeur oculaire, de la photophobie, des démangeaisons et des sécrétions muqueuses. La présence de papules conjonctivales géantes à hauteur du tarse de la paupière supérieure est typique, elles sont causées par l'œdème et l'hypertrophie des tissus sous-jacents contenant des mastocytes, des éosinophiles et des plasmocytes sécréteurs d'IgA et IgE. Cette affection est souvent associée à des maladies de nature atopique comme l'asthme et l'eczéma et la plupart des patients ont un taux élevé d'IgE sérique avec de l'IgE détectable dans les larmes.

La conjonctivite vernale est probablement l'expression des deux types de réactions : l'immédiate et la tardive (**Chapel et al., 2004**).

III.2.4. L'anaphylaxie

L'anaphylaxie est l'exemple le plus grave de réaction d'hypersensibilité immédiate. En clinique, ce terme désigne un collapsus ou un bronchospasme survenant brutalement chez un patient exposé à une substance à laquelle il est particulièrement sensible. Une dégranulation des mastocytes ou des basophiles portants des IgE spécifiques survient au contact de l'antigène, une sensibilisation préalable est donc nécessaire. Le phénomène d'anaphylaxie est rare, mais il peut être extrêmement dangereux ; car tout à fait inattendu, il peut être fatal (**Chapel et al., 2004**).

La réaction anaphylactique est dépendante du site d'injection ou de pénétration de l'antigène. Par exemple lorsque l'antigène est absorbé à travers la peau ou les muqueuses comme dans le cas du pollen absorbé par les muqueuses respiratoires la réaction est plus lente (**Chapel et al., 2004**).

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie « Département de biologie » de l'université 08 Mai 1945 de Guelma.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique animal

Notre travail a été réalisé sur des souris femelles blanches provenant de l'animalerie de l'institut de pharmacie de Constantine, âgées de huit semaines avec un système immunitaire mature et de poids corporel compris entre 25 et 40 grammes (**Figure 9**). Acclimatées deux semaines avant tout début de protocole expérimental (animalerie de la faculté). Les manipulations pratiquées sur ces souris sont effectuées en respectant leur bien-être, excluant tout état de stress susceptible d'interférer avec les résultats.

Les souris offrent une meilleure caractérisation des mécanismes de la sensibilisation et de la réaction allergique. Leur faible coût et la connaissance de leur code génétique ont permis le développement d'une panoplie d'outils principalement en génétique (**Epstein, 2006**).

La souris présente certaines caractéristiques similaires à celles de l'homme, telles que la production des anticorps IgE, une inflammation éosinophilique et une hyperréactivité bronchique (**Torres et al., 2005**).



Figure 9 : Matériel biologique (souris blanche)

1.2. Enceinte d'élevage

Les souris sont élevées dans des cages en polypropylène assez transparentes pour permettre la surveillance sans déranger l'animal. Les cages sont nettoyées régulièrement pour éviter toute contamination susceptible de compromettre les résultats, la litière est composée de copeaux de bois renouvelée tous les jours (**Figure 10**).



Figure 10 : La cage des souris

Les souris sont réparties en deux lots :

- Lot témoin (T)
- Lot traité par le pollen du cyprès (C)

1.3. Conditions d'élevage

Les souris sont nourries à base d'aliments riches en graine (blé, maïs,...) et aussi du pain. Elles sont abreuvées avec de l'eau. Les aliments et l'eau sont maintenus à l'abri de toutes contaminations bactériologiques et accessibles en permanence (**Figure 11**).



Figure 11: Les conditions d'élevage

1.4. Matériel biologique végétal

Pour notre travail nous avons choisi le pollen de cyprès comme matériel biologique afin d'étudier l'effet allergisant de son extrait. Le cyprès appartient à la famille des Cupressacées qui est représentée par les genres *Cupressus* (cyprès), *Juniperus* (genévrier) et Thuja (thuya) (**Figure 12**). Dans cette étude, nous avons travaillé sur le premier genre : *Cupressus* (cyprès), qui est, en zone méditerranéenne, l'un des arbres les plus allergisants (Zhou, 2012).



Figure 12 : Arbre du cyprès

Cône femelle du cyprès

Cône mâle du cyprès

2. Méthodes

2.1. Protocole expérimental

Afin de réaliser la partie expérimentale de notre travail, nous avons établi un protocole qu'on peut résumer dans la **figure 13**.

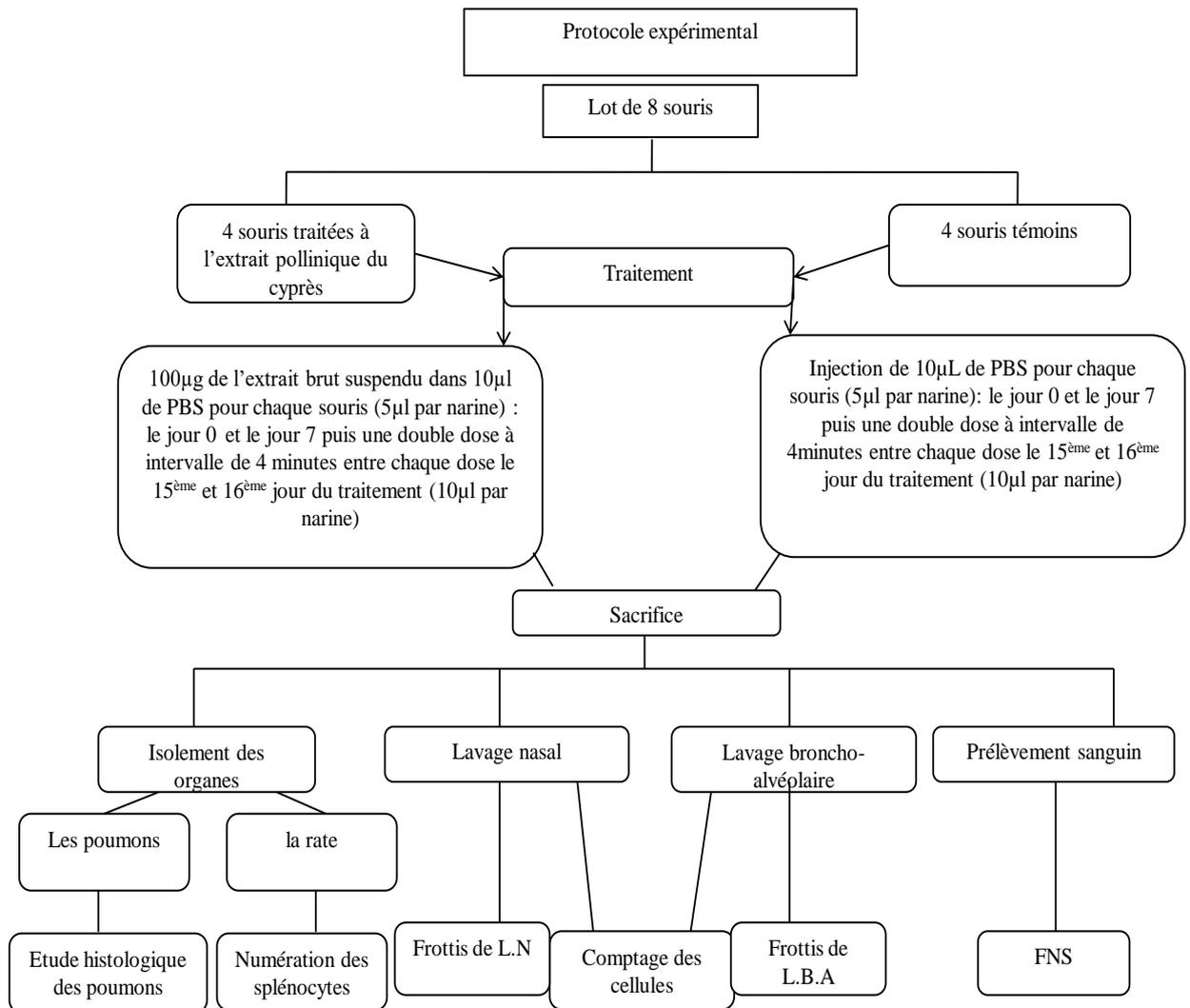


Figure 13 : Schéma représentatif du protocole expérimental

2.2. Obtention de l'extrait brut du pollen de cyprès (Méthode d'extraction)

Les cônes males du cyprès récoltés sont broyés pour obtenir une poudre. La poudre obtenue est ensuite mise dans l'éther éthylique (renouvelé 3 fois) pendant 24 heures. Au

bout de 24 heures la poudre est séchée pendant 48 heures et extraite par PBS pendant 14 heures.

On effectue par la suite une centrifugation 10000g pendant 45 minutes à 4°C suivie d'une filtration à l'aide de millipores "0,45µm". La solution filtrée est congelée et lyophilisée pour enfin obtenir l'extrait brut.

2.3. Le traitement

2.3.1. Sensibilisation nasale : Le traitement consiste à sensibiliser les souris avec l'extrait brut du pollen de cyprès (**Figure 14**). Pour cela les animaux du lot traité ont été sensibilisés par voie nasale en administrant 100µg de l'extrait brut du pollen de cyprès dans un volume total de 10µl de la solution de PBS (voir annexe) en raison de 5µl dans chaque narine. Le traitement est effectué le jour 0 et le jour 7 avec une double dose le 15^{ème} et 16^{ème} jour soit 200µg de l'extrait brut du pollen dans un volume total de 20µl de la solution de PBS en raison de 10µl par narine avec un intervalle de 4 minutes. Le 17^{ème} jour du traitement les différentes analyses (lavage nasal, lavage broncho-alvéolaire coupes histologiques et le prélèvement sanguins) sont réalisées. Les souris du lot témoin ont suivi le même traitement mais uniquement avec le PBS (**Fischer, 2005**).

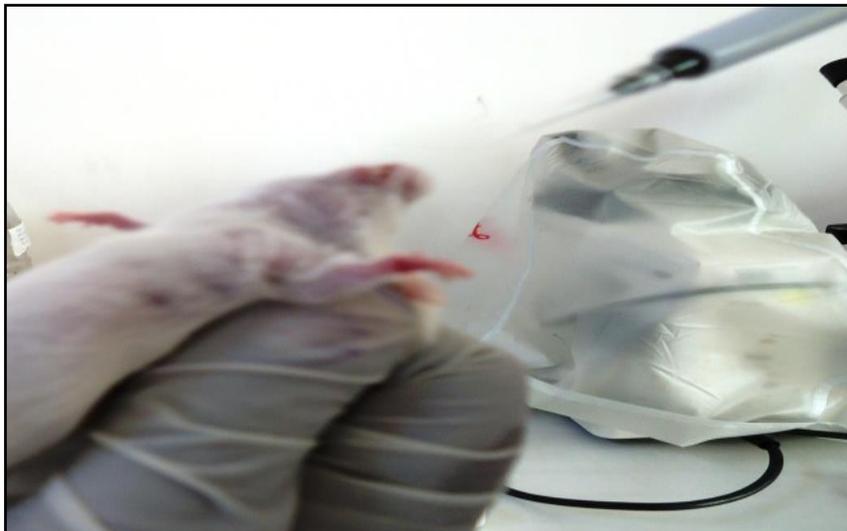


Figure 14 : Sensibilisation nasale

2.3.2. Lavage nasal : Le lavage nasal a été réalisé sur des souris anesthésiées en instillant dans chaque narine 1,5 ml de tampon phosphate (PBS) à 37°C à l'aide d'une seringue (Urbain *et al.*, 1994) (Figure 15).

Le liquide récolté dans les deux cavités nasales a été centrifugé (800 g à 4°C pendant 15 minutes). Chaque culot a été suspendu dans 0,9 ml de PBS ensuite, les cellules ont été colorées avec 0,1 ml de bleu de trypan (voir annexe) à 0,2 % pour mieux visualiser les cellules et leur viabilité et enfin un comptage a été effectué sur une cellule de malassez. Les résultats ont été exprimés en cellule par μl de liquide récolté.



Figure 15 : Lavage nasal

2.3.3. Prélèvement sanguin : Le prélèvement s'effectue après avoir égorgé l'animal (Figure 16). Le sang est recueilli dans des tubes à EDTA destiné pour la réalisation de la FNS (formule numérique sanguine).

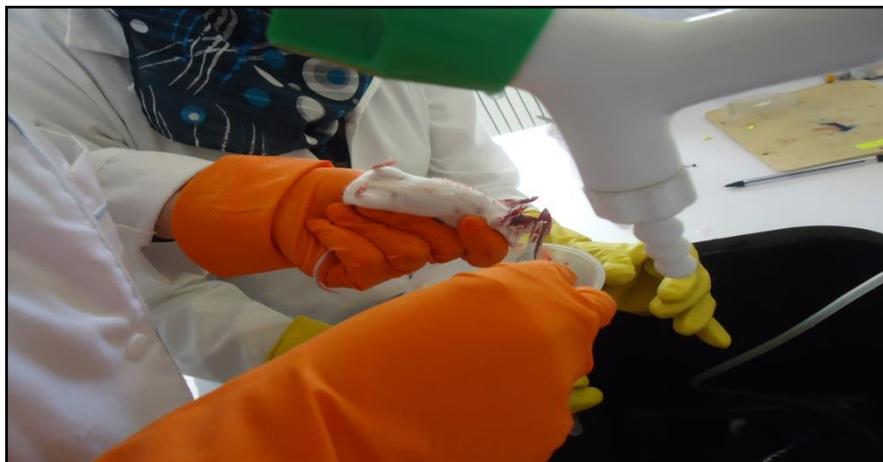


Figure 16 : Sacrifice de la souris.

2.3.4. Lavage broncho-alvéolaire : Un cathéter est introduit dans le tube trachéal. On réalise un double lavage avec 0,5ml de PBS à 4°C afin de récolter le liquide broncho-alvéolaire qui sera centrifugé 1500 rpm pendant 6min. Le surnagent est éliminé et le culot obtenu est suspendu dans 0,5ml de PBS (Li *et al.*, 2010) (Figure 17).



Figure 17 : Lavage broncho-alvéolaire

2.3.5. Prélèvement des organes : Après le sacrifice et la dissection des animaux, la rate et les poumons sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius). Les poumons sont conservés dans du formol 1% pour l'étude histologique (Figure 18).



Figure 18 : Dissection

Rate

Poumon

2.3.6. Les frottis du liquide broncho-alvéolaire et nasal : Des frottis des différents liquides nasaux et broncho-alvéolaires issus des différentes souris (traitées et témoins) ont été réalisés puis colorés au **May-Grünwald–Giemsa**.

Une goutte du liquide (nasal ou broncho-alvéolaire) de taille moyenne est déposée de 1.5 cm du bord droit d'une lame. La goutte a été étalée par capillarité en la mettant au contact de l'arête de la lamelle rodée tenue à 45 degrés, puis la lamelle est poussée rapidement vers la gauche de la première lame en entraînant le liquide qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis) (**Figure 19**).

Le frottis est passé à la coloration au MGG en déposant 10 à 15 gouttes de May-Grünwald (voir annexe) et laissé se fixer pendant 3 mn. Puis 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée (voir annexe) sont déposées et mélangées par rotation de la lame 1 mn.

Le frottis a été recouvert de Giemsa dilué (voir annexe) pendant 15 mn puis lavé à l'eau neutre.

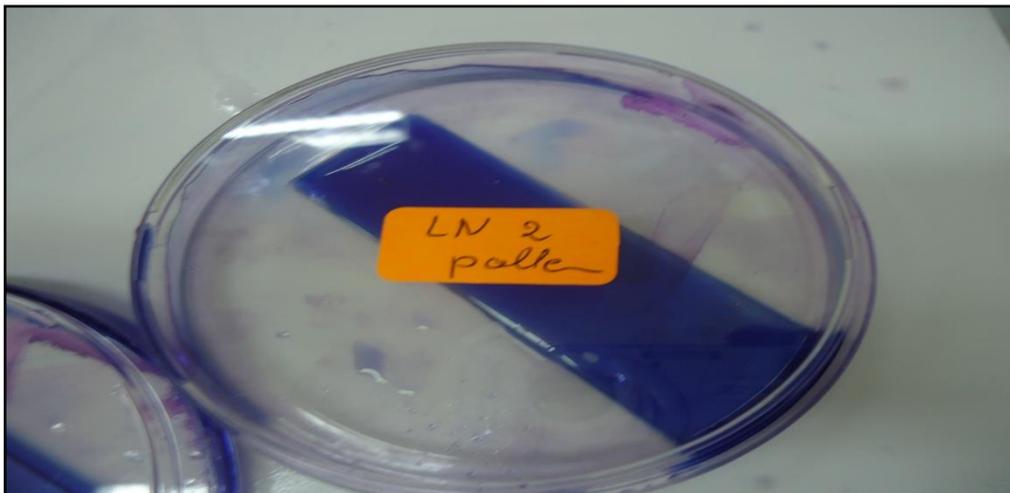


Figure 19 : Frottis

2.3.7. Isolement des splénocytes: Après avoir pesé la rate, cette dernière est déposée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et est débarrassée de la graisse. A l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (**Figure 20**).

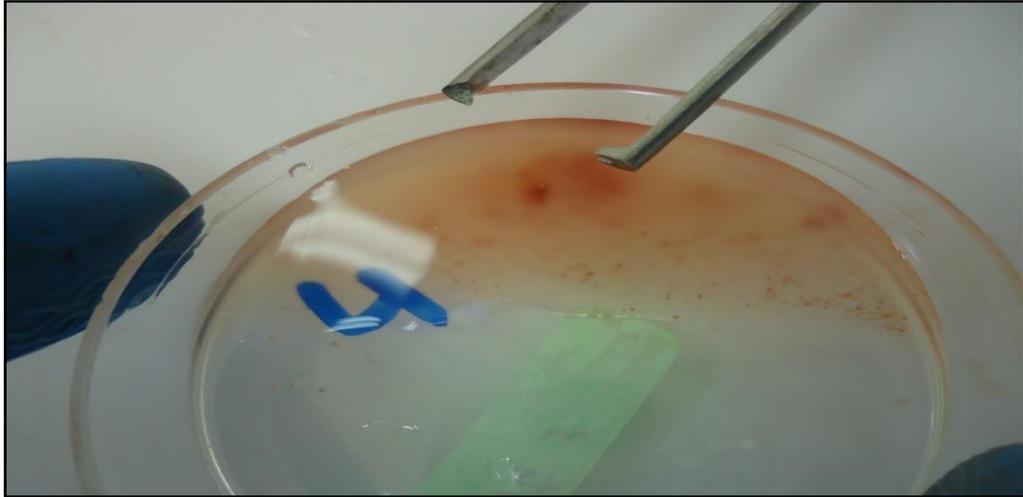


Figure 20 : Suspension cellulaire des splénocytes

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

On remet le culot en suspension dans 0.5ml de PBS, puis on lui ajoute 4.5ml de solution de lyse des globules rouges (**voir annexe**) (**Daun *et al.*, 1995 ; Ducan et Lawrence, 1995**). Après une incubation de 10 min, la suspension est centrifugée 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugé 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois.

A la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS et puis on passe au comptage des splénocytes après avoir dilué 100 μ l de la suspension dans 900 μ l de bleu de trypan, ainsi le pourcentage de viabilité de ce type cellulaire est calculé.

2.3.8. La numération cellulaire : La suspension cellulaire de chaque liquide de lavage est mise dans des tubes séparés en raison de 100 μ l, puis 900 μ l de la solution 2 % de bleu de trypan sont ajoutés. Un comptage est effectué sur une cellule de malassez et les résultats sont exprimés en cellules par μ l de liquide récolté (**Figure 21**).

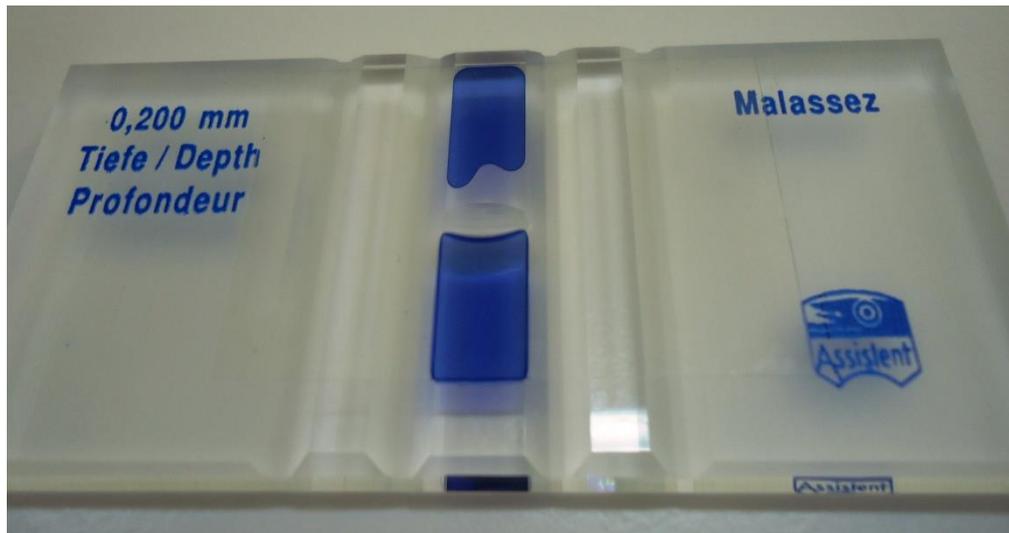


Figure 21 : Cellule de malassez

- Le nombre des leucocytes par litre est calculé selon l'équation suivante:

$$N=(n/v)f$$

Avec : N: Nombre de cellules par litre.

n : nombre de cellules comptées.

V: volume de comptage en litre.

f : facteur de dilution.

2.3.9. Préparation des coupes histologiques : Afin de réaliser des coupes histologiques pour une analyse structurale, les poumons de souris témoins et traitées ont été prélevés et conservés dans du formol à une concentration de 1%, orientés au laboratoire d'anatomie-pathologique de l'hôpital « Ibn Zohr de Guelma ». Les échantillons ont été enrobés en paraffine et colorés par l'HES (Hemaleine-Eosine-Saffran).

Conclusion et perspectives

Dans notre travail nous nous sommes intéressées à l'étude des allergies causées par le pollen en se penchant en particulier sur l'effet de l'extrait du pollen des cupressacées sur le système immunitaire notamment au niveau respiratoire.

A cet effet, nous nous sommes basées sur l'analyse des liquides nasaux et broncho-alvéolaires ainsi que sur la formule leucocytaire. Les résultats obtenus ont révélé une diminution des globules blancs et des neutrophiles chez les souris traitées à l'extrait pollinique par rapport aux souris témoins.

Concernant les monocytes, on a remarqué une constance de leur nombre chez les traitées; en revanche une hausse du nombre d'éosinophiles, de lymphocytes et de plaquettes a été notée.

Au sujet du nombre des cellules contenues dans les liquides nasaux et broncho-alvéolaires on a souligné une augmentation à la suite du traitement à l'extrait pollinique. Cette augmentation vient en compensation du fait que le nombre de globules blancs et de neutrophiles ait diminué en raison de l'augmentation de la perméabilité vasculaire entraînant leur migration vers les sites inflammatoires et les muqueuses.

La réalisation des différents frottis vient appuyer et consolider ces résultats par le fait que la visualisation microscopique a révélé une population cellulaire riche avec un aspect mononuclée chez les traités vis-à-vis des témoins et aussi la présence de rares éosinophiles surtout dans le liquide broncho-alvéolaire des souris sensibilisées.

Concernant les poids des différents organes, une augmentation du poids de la rate causée par l'augmentation de la concentration des cellules spléniques dans les tissus de cet organe et une augmentation du poids des poumons due aux inflammations ont été remarquées.

A la fin de notre travail nous souhaitons souligner d'un point de vue plus personnel que l'étude des allergies causées par l'extrait pollinique du cyprès nous été bénéfique et enrichissant au niveau intellectuel tant sur le plan immunologique que médical et nous a permis par ailleurs, de développer un esprit de synthèse. Ainsi au vu des nombreux axes sous lesquels peut être abordé l'étude des allergies, nous plaçons un grand espoir dans le fait que ce travail présente un intérêt pour une continuité et sommes persuadées qu'il mérite d'être poursuivi en se penchant par exemple et entre autres sur :

- L'étude des protéines allergènes contenues dans le pollen des cupressacées.
- L'étude des différentes espèces allergisantes précisément dans la région de Guelma.
- L'étude des différents types de pollens susceptible d'interagir avec le pollen des cupressacées.
- L'étude des mécanismes de réactivité croisée entre le pollen de cyprès et la pêche.

Solutions utilisées

Solution de PBS 10mM

Na Cl	9 g
Na ₂ HPO ₄	1.09 g
Na H ₂ PO ₄	0.32 g
Eau distillée	1000 ml

Solution de lyse

NH ₄ Cl	0.83 g
Eau distillée	100 ml

H Cl 0.1 Normalité

H Cl	0.93 ml
Eau distillée	90.7 ml

Na OH 0.1 Normalité

Na OH	0.4 g
Eau distillé	100 ml

Bleu de trypan

Bleu de trypan	0.2 g
Eau distillé	100 ml

May-Grunwaldpur

Giemsadilué

Giemsa-R	84 ml
Eau tamponnée	516 ml

Tampon phosphaté Ph 7 (AV)

Phosphate monopotassique	1 g
Phosphate disodique	5 g
Eau distillée	5000 ml

Eau tamponnée

Tampon phosphaté	30 ml
Eau distillée	570 ml

1. Effets de la sensibilisation par l'extrait pollinique sur la formule leucocytaire

1.1. Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles

Les résultats représentés dans la **figure 22**, ont montré une diminution du taux des globules blancs chez les souris ayant subi une sensibilisation par l'extrait pollinique par rapport aux témoins ($5,57 \pm 2,71 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$ et $4,17 \pm 0,68 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$) respectivement pour les souris témoins (T) et souris traitées par l'extrait pollinique du cyprès (C).

Par ailleurs, une diminution du nombre des neutrophiles (C : $2,3 \pm 1,4 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$ et T : $0,27 \pm 0,007 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$) et une augmentation du taux des lymphocytes (C : $3,75 \pm 0,57 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$ et T : $3,15 \pm 1,24 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$) ont été enregistrées chez les souris traitées par rapport aux témoins (**Figure 22**).

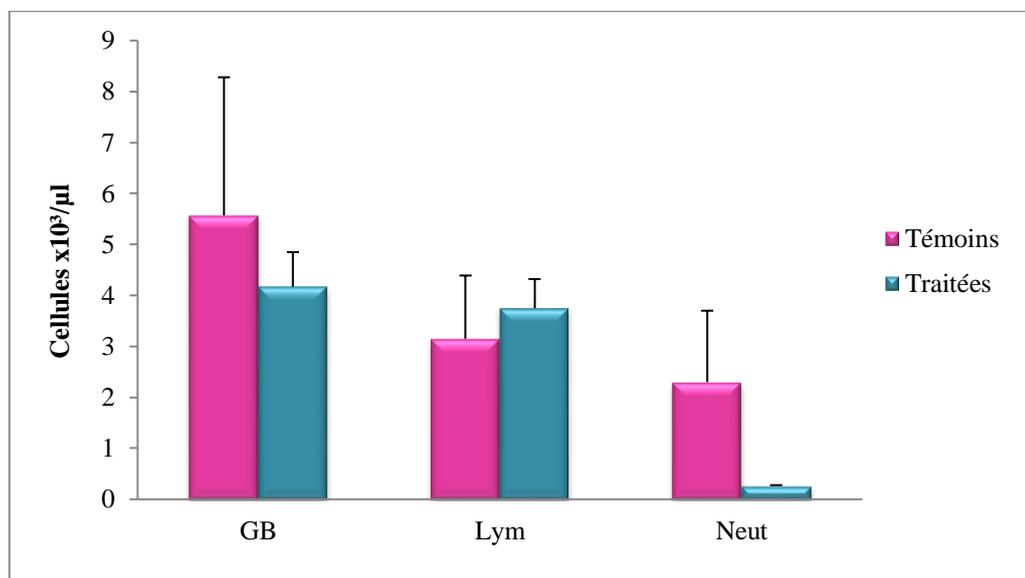


Figure 22 : Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles.

Nos résultats concordent avec l'étude faite par **Anceriz 2008** et qui confirme la diminution dans les vaisseaux sanguins des globules blancs et des neutrophiles due à une augmentation de la perméabilité vasculaire, ce qui conduit à la fuite du liquide des vaisseaux et entraîne la diffusion des protéines du plasma vers les tissus et les muqueuses bronchiques.

D'autre part l'augmentation des lymphocytes serait en accord avec les résultats d'une étude réalisée sur l'implication des lymphocytes dans la pathogénie de l'asthme et qui souligne la présence d'un excès de production d'IL-4, d'IL-5, d'IL-13 sécrétée par les lymphocytes T (Th₂) et qui induirait la prolifération et la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps de type IgE (**Magnan et al., 2005**).

1.2. Variation du taux des monocytes et des éosinophiles

Les résultats de la **figure 23**, illustrent une augmentation du taux des éosinophiles (C : $0,1 \pm 0,05 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$ et T : $0,07 \pm 0,02 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$) tandis que le taux de monocytes n'a montré aucune différence entre les deux lots ($0,05 \pm 0,03 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$).

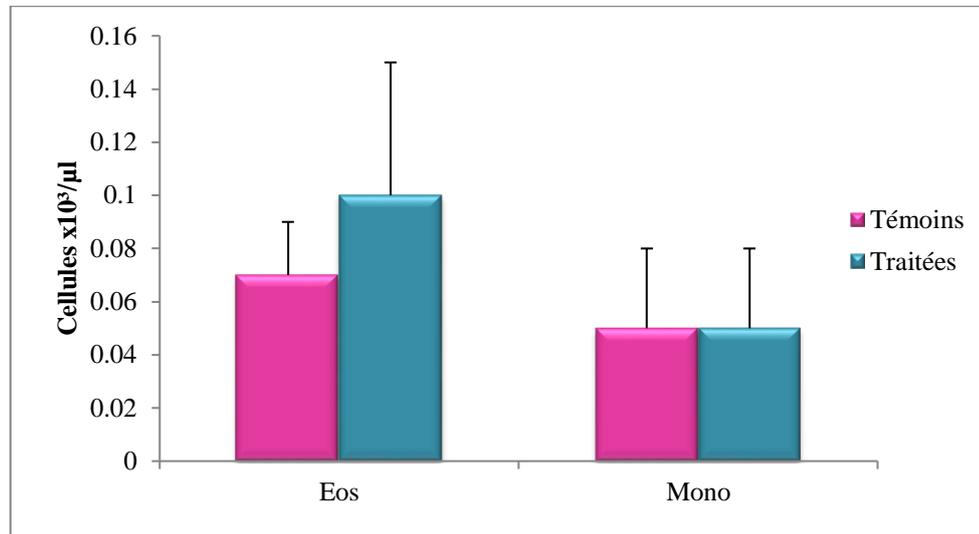


Figure 23 : Variation du nombre des monocytes et des éosinophiles.

La hausse des éosinophiles observée dans les résultats sont en accord avec **Borges 2008** qui dans son travail a souligné qu'une augmentation des éosinophiles est retrouvée dans l'atopie, les rhinites allergiques, la dermatite atopique et l'asthme.

Il a également noté que ces cellules à localisation essentiellement tissulaire prolifèrent sous l'effet de l'IL-5 sécrétée par les lymphocytes Th₂ activés et migrent sous l'effet de cette même cytokine vers les sites inflammatoires et les muqueuses (**Borges 2008**).

De plus la prévalence d'une rhinite allergique est légèrement plus élevée chez les personnes présentant une hyper éosinophilie (**El Kettani et al., 2009**).

1.3. Variation du taux des plaquettes

Les résultats mentionnés dans la **figure 24**, révèlent une augmentation notoire du nombre des plaquettes sanguines chez les souris traitées par rapport aux témoins (C : $627,75 \pm 54 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$ et T : $386 \pm 147 \times 10^3 \text{cell}/\mu\text{l}$). Une différence significative a été trouvée chez les souris traitées en comparaison avec celle des témoins à $P= 0,038$.

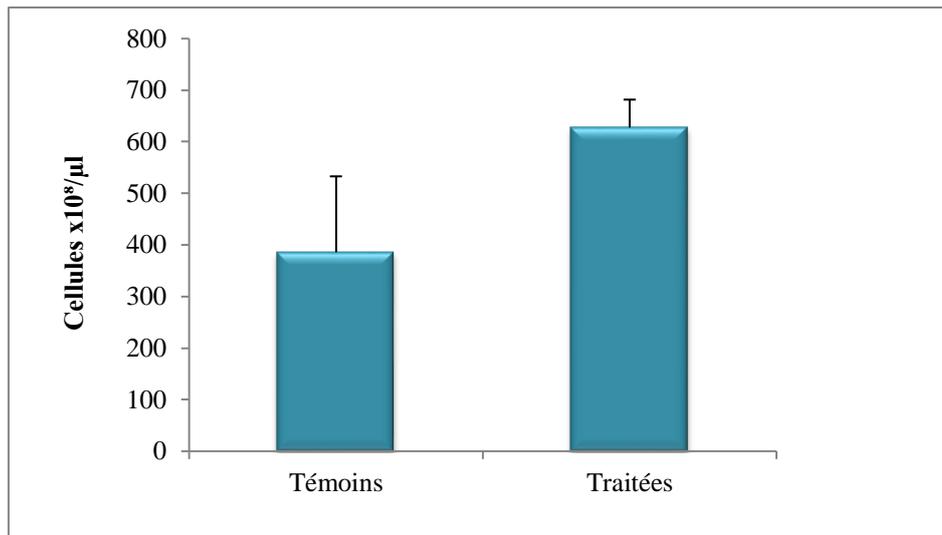


Figure 24 : Variation du nombre des plaquettes

La différence est significative à $P=0,038$ en utilisant Student *t* Test

Le nombre élevé de plaquettes chez les traités par rapport aux témoins est en concordance avec l'étude réalisée par **Borges 2008** et qui explique que lors de la phase effectrice de l'hypersensibilité type I il y a production de médiateurs lipidiques nouvellement formés qui sont des broncho constricteurs très puissants augmentant aussi la perméabilité vasculaire. Ils jouent également un rôle chimiotactique pour les cellules inflammatoires. Parmi ces médiateurs on peut citer les Facteurs Activateurs de Plaquettes (PAF) qui entraînent la prolifération et l'activation des plaquettes d'où leur augmentation chez les souris sensibilisées.

2. Effet de la sensibilisation par l'extrait pollinique sur le nombre des cellules totales du liquide nasal et broncho-alvéolaire

2.1. Numération cellulaire

Le nombre de cellules observées dans le liquide du lavage nasal chez les souris traitées a connu une augmentation remarquable par rapport à celui des souris témoins (C : $517,5 \pm 100 \times 10^8$ cell/μl et T : $196,25 \pm 25,15 \times 10^8$ cell/μl). La même observation a été constatée avec le nombre des cellules du liquide broncho-alvéolaire (C : $333 \pm 108,23 \times 10^8$ cell/μl et T : $241,9 \pm 58,37 \times 10^8$ cell/μl) (**Figure 25**).

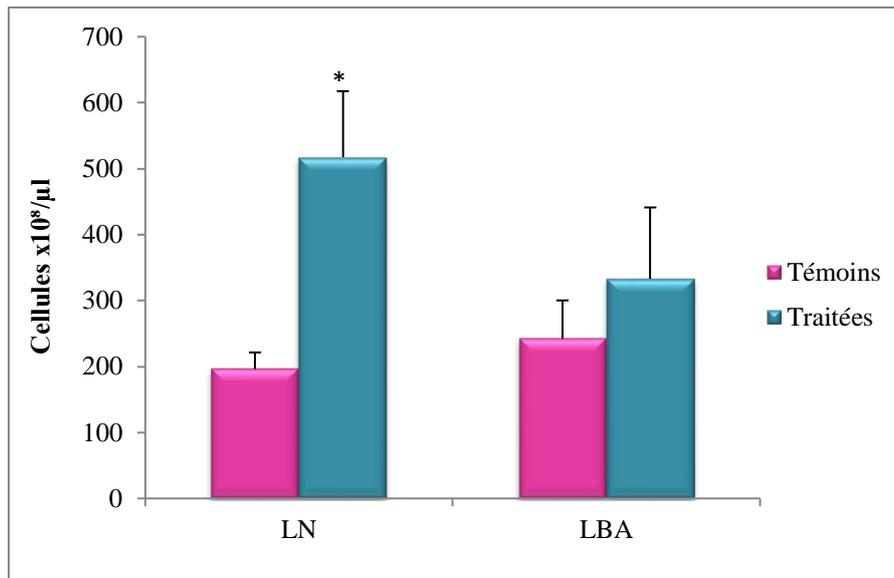


Figure 25 : Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire

* $P=0,002$

Une différence significative a été enregistrée pour le nombre des cellules dans le liquide nasal à $P=0,002$. Ce résultat concorde avec ceux des travaux effectués par **Kamijo et ses collaborateurs** qui ont affirmés qu'une augmentation des cellules leucocytaires du liquide nasal est observée après une sensibilisation par l'extrait pollinique [12].

Les résultats obtenus à propos du lavage broncho-alvéolaire correspondent à ceux de **Chakra 2009** qui a démontré que chez les souris, l'instillation intra trachéale hebdomadaire avec des particules de pollen sur une longue période induit des augmentations des taux des cellules alvéolaires dans le LBA et une hypersécrétion de mucus.

Par ailleurs, au niveau de l'arbre bronchique ; les médiateurs induisent une broncho constriction, un œdème de la paroi des voies respiratoires et une augmentation de la sécrétion des muqueuses (**Male, 2007**).

2.2. Frottis du liquide nasal et broncho-alvéolaire

La figure 26(a, b) et 26(c, d), obtenue à partir des frottis du lavage nasal et broncho-alvéolaire illustre la richesse de ces liquides chez les souris traitées par rapport aux témoins. Ces résultats révèlent la présence d'un taux élevé de cellules mononuclées entre autres les lymphocytes et de rares éosinophiles présents notamment dans le liquide broncho-alvéolaire.

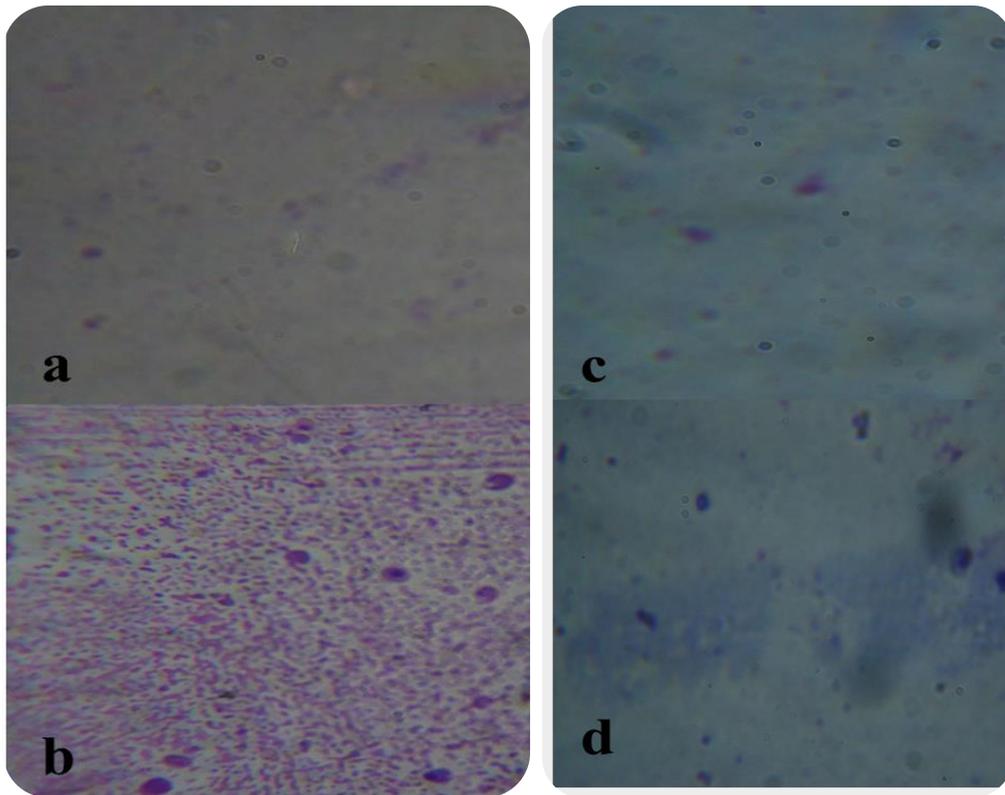


Figure 26 : Frottis du liquide nasal et broncho-alvéolaire (x400)

- | | | | |
|----|---------------------------|----|--|
| a) | Lavage nasal des témoins | c) | Lavage broncho-alvéolaire des témoins |
| b) | Lavage nasal des traitées | d) | Lavage broncho-alvéolaire des traitées |

3. Effet de la sensibilisation par l'extrait pollinique sur les cellules spléniques

Au sujet des cellules spléniques on a observé une augmentation de leur nombre chez les souris traitées par rapport aux témoins (C : $304,37 \pm 89,02 \times 10^8 \text{ cell}/\mu\text{l}$ et T : $152,5 \pm 25 \times 10^8 \text{ cell}/\mu\text{l}$) (**Figure 27**). En comparant les valeurs enregistrées chez les témoins et les traités par une analyse statistique en utilisant le *t*-student, une différence significative est trouvée entre les deux lots à $P= 0,029$.

L'accroissement du nombre de splénocytes serait causé par le fait que la rate est un organe lymphoïde secondaire dans lequel les cellules spléniques notamment les lymphocytes T et B stockés se différencieront au contact de l'antigène [13].

Ainsi suite à la sensibilisation par l'extrait pollinique les cellules T et B stockés dans la rate vont proliférer et se différencier d'où le nombre accru de splénocytes.

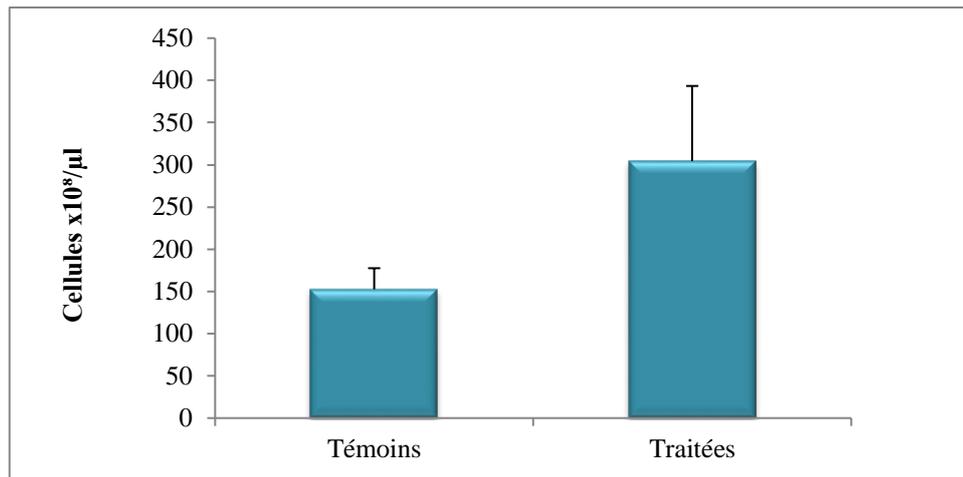


Figure 27 : Variation du nombre de splénocytes.

$P=0,029$

4. Effet de la sensibilisation par l'extrait pollinique sur le poids des poumons et de la rate

A propos du poids des organes, une augmentation dans le poids de la rate et les poumons a été observée chez les souris sensibilisées par rapport aux témoins (Rate : C : $0,12\pm0,07g$ et T : $0,09\pm0,02g$; Poumons : C : $0,4\pm0,07g$ et T : $0,37\pm0,02g$) (Figure 28).

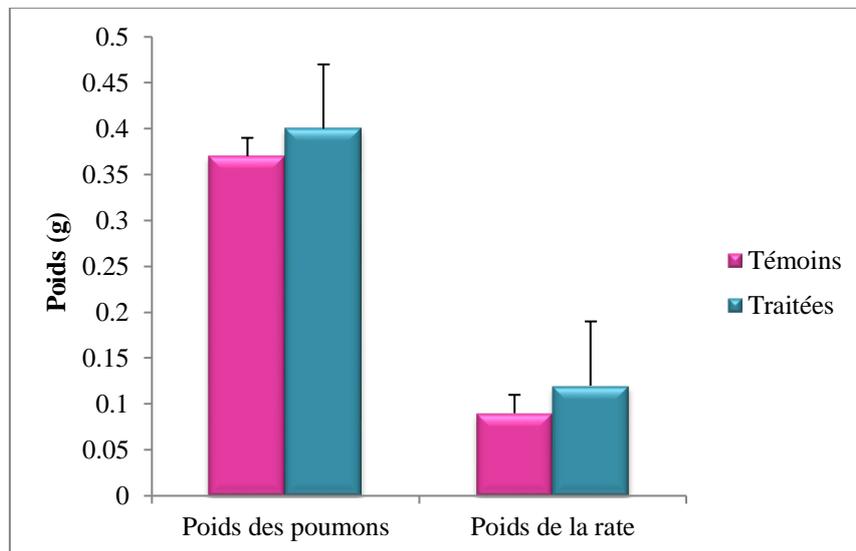


Figure 28 : Variation du poids des poumons et de la rate des souris

L'augmentation du poids de la rate serait due à l'augmentation du taux de cellules spléniques et à leur concentration dans les tissus de cet organe.

Concernant les poumons des souris traitées, certaines inflammations caractérisées par une rougeur au niveau des tissus ont été remarquées, et on suppose qu'elles sont à l'origine de l'augmentation de cet organe chez cette catégorie de souris par rapport aux souris témoins (**Figure 29**).

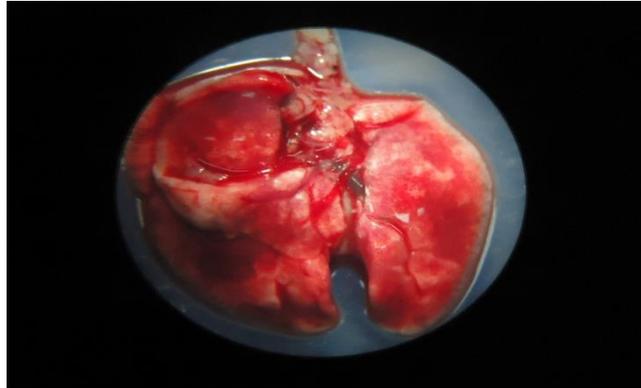


Figure 29 : Inflammation des poumons chez les souris traitées.

5. Effet de la sensibilisation par l'extrait pollinique sur la structure du poumon

Pour plus de confirmation des résultats déduits à partir de la numération cellulaire des lavages broncho-alvéolaire et l'état visualisé des poumons des souris traitées, des coupes histologiques de cet organe ont été réalisés. Cette étude a donné les résultats démontrés dans **la figure 30**.

L'examen microscopique a montré chez les témoins, un poumon normal avec une simple congestion vasculaire, des alvéoles avec des cloisons inter-alvéolaires. La structure histologique semble normale. En effet, les cloisons ou parois alvéolaires sont formées par un ensemble de cellules dont des pneumocytes et des cellules endothéliales. (**Figure 30a**).

Pour les souris soumises à des instillations nasales avec l'extrait pollinique, un infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire chronique mononucléé a été bien remarqué avec présence de lymphocytes (**Figure 30b**). Le traitement a aussi entraîné une diminution du diamètre alvéolaire. Ceci pourrait être dû à un épaissement de la paroi alvéolaire par prolifération des fibres conjonctives.

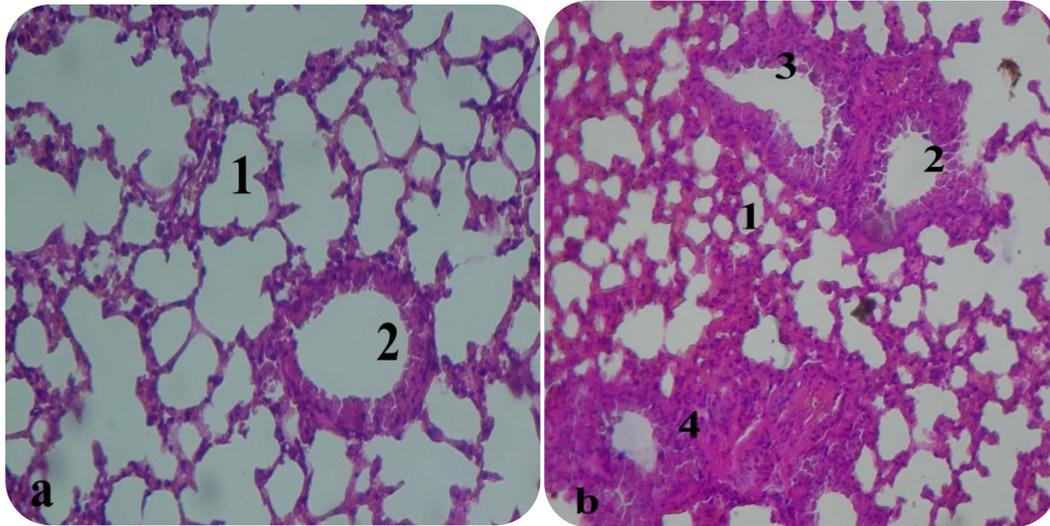


Figure 30 : Coupe histologique des poumons des souris témoins et traitées (x100).

a) Poumon normal du témoin

b) Poumon du traitée avec l'extrait pollinique

1-Alvéole, 2- Bronchiole, 3- Vaisseaux sanguin, 4-Infiltrat cellulaire

Références bibliographiques

Anceriz N. (2008): Rôle des protéines S100 dans la migration des neutrophiles au site inflammatoire. Thèse doctoral. Université Laval .Canada.148p.

Argibaia C. (2012): Mise au point sur l'allergie au titane en odontologie. Thèse doctoral. Université Henri Poincare. Nancy -1. 134p.

Ariano R., Mistrello G., Mincigrucci G., Bricchi E., Lannotti O et Frenguelli G (2006): In vitro and in vivo biological activities of old and fresh Cupressus arizonica pollen. J Investig Allergol Clin Immunol., 16(3):177–82.

Bennich HH., Ishizaka K., Johansson SG., Rowe DS., Stanworth DR. et Terry W. (1968): Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology*, 15:323-324

Besancenot JP. (1989): Aéropalynologie et approche bioclimatique des pollinoses. Climat et santé, 1 : 129-142.

Blanc F. (2008): développement d'un modèle cellulaire de déclenchement de la réaction allergique. Applications à l'étude des allergènes du lait et de l'arachide, et évaluation de l'effet de traitements thermiques sur l'allergenicite de ara h 1. Thèse doctoral. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech). 267p.

Bodinier M. (2007): Les allergies alimentaires. Thèse doctoral. Institut national de la recherche agronomique. France. 37p.

Borges JP (2008): Caractérisation structurale et immunologique d'allergènes alimentaires: les protéines de transfert de lipides de fruits. Thèse doctoral. Université Toulouse III – Paul Sabatier. U.F.R des sciences de la vie.208p.

Chakra OA. (2009): Allergénicité des granules cytoplasmiques du pollen. Thèse doctoral. Université Paris Diderot. France. 196p.

Chapel H., Haeney M., Misbah S. et Snowden N. (2004): Immunologie Clinique. Ed. De Boeck. Paris. 358p.

Devouassoux G. (2003): Allergies respiratoires chez l'enfant et chez l'adulte. Corpus médical. Université Joseph Fourier Sciences Technologies Médecine faculté de Médecine Grenoble. France 19p.

De Swert LF. (1999): Risk factors for allergy. Eur J Pediatr., 158: 89-94.

Dowding P. (1988): Wind pollination mechanism and aerobiology. Int. Rev. Cytol., 107:421-437.

Ducan DD. et Lawrence DA. (1995): T cells and cloned and transformed T-cell lines to assess in immune function, Vol.1. In: Burleson GR, Dean JH, Munson AE. (eds). Wileys-liss-Inc., New-York, Chichester, Toronto, Singapore,483-505.

Dutau G. et Rancé F. (2005): Histoire de l'allergie alimentaire : Des précurseurs à l'histoire contemporaine. Rev.fr.Allerg.Immunol.Clin., 46 :312-323.

Daun JR., Shepherd DM. et Randolph JN. (1995): Physical interactions and early signaling between Helper T lymphocytes and B lymphocytes, In: Burleson GR, Dean JH, Munson AE (eds). Vol.1. Wileys-liss-Inc., New-York, Chichester, Toronto, Singapore, 469-481.

El Kettani S., Lotfi B et Aichane A (2009): Prévalence de la rhinite allergique en milieu rural à Settat (Maroc). Eastern Mediterranean Health Journal., 15(1) : 167-177.

Eppe P. (2006): Allergies et intolérances en implantologie. Mémoire de fin d'étude en implantologie et biomatériaux. Université de Bordeaux II. France. 72p.

Epstein A. (2006): Are mouse models of allergic asthma useful for testing novel therapeutics. Experimental and Toxicologic Pathology. 57: 41-44.

Espinosa E. et Chillet P. (2006): Immunologie. Ed. Ellipses. Paris 432p.

Fischer R. (2005): Contribution of oral and nasal sensitization to allergic reactions to peanut and cross-reactivity with food and environmental antigens. Thèse doctoral. Institut National Agronomique Paris-Grignon. 176p.

Gell P. et Coombs R. (1968): Clinical aspects of immunology. Blackwell: Oxford. 105p.

Genetet N. et Male D. (2005): Immunologie aide memoire illustré. Ed. De Boeck. Bruxelles. 141p.

Guerin B. (1993): Pollen et allergie. Ed. Allerbio. Paris. 279p.

Halken S. (1992): Effect of an allergy prevention programme on incidence of atopic symptoms in infancy. A prospective study of 159 "high-risk" infants. *Allergy*, 47: 545-53.

Janeway CA., Travers P., Walport M. et Shlomchik MJ. (2003): Allergie et hypersensibilité. Ed .De Boeck. Paris. 472p.

Johansson SG., Hourihane JO., Bousquet J., Brujnzeel-Koomen C., Dreborg S., Haahntela T., Kowalski ML., Mygind N., Ring J., van CP., van Hage-Hamsten M. et Wuthrich B. (2001): A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.*, 56:813-824.

Kanny G., Sergeant P. et Hatahet R. (1996): Diversification de l'alimentation de l'enfant. Applications au cas de l'enfant de famille atopique. *Médecine et Nutrition*, 32: 127-131.

Laaidi k., Laaidi M. et Besancenot JP. (1997): Pollens, pollinoses et météorologie. Centre national de la recherche scientifique. Dijon. 56p.

Li Y., Zhang L., Liu Y., Yang X. et Sun X. (2010): Establishment of a mouse model of Humulus pollen allergen-induced allergic asthma. *Journal of Xi'an Jiaotong University*, 05: 52-59.

Macdougall CF., Cant AJ. et Colver AF. (2002): How dangerous is food allergy in childhood. The incidence of severe and fatal allergic reactions across the UK and Ireland. *Arch Dis Child*. 86: 236-239.

Magnan A., Vervolet D., Botturi K et Mamessier E (2005): Lymphocytes T régulateurs, atopie et asthme : un nouveau concept en trois dimensions. *Rev Mal Respir.*, 22 : 305-11

Male D. (2007): Immunologie. Ed. Elsevier. Paris. 250p.

Meyer S., Reeb C. et Bosdeveix R. (2008): Botanique Biologie et Physiologie végétales 2ème édition. Ed. Maloine. Paris. 490p.

Mondoulet L. (2005): Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide, caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements et des processus digestifs. Thèse doctoral. Institut national des sciences appliquées de Toulouse. France. 249p.

Parham P. (2003): Le système immunitaire .Ed. De Boeck. Paris. 407p.

Poitevin M. (2008): Contribution au développement d'un microsystème pour la séparation bidimensionnelle de protéines par électrophorèse. Thèse doctorale. Université Paris VI-Pierre et Marie Curie. France. 225p.

Shirakawa T. (1997): The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science*, 275: 77-79.

Thérond C. (1981): 101 Réponses à propos de l'allergie. Ed. Hachette. France. 67p.

Torres H., Picado P. et De Mora. (2005): Use of the mouse to unravel allergic asthma: a review of the pathogenesis of allergic asthma in mouse models and its similarity to the condition in humans]. *Arch Broncopneumol.*, 41: 141-152.

Urbain B., Mast J., Goddeeris B., Ansay M. et Gustin P. (1997): Influence d'une exposition aux poussières sur la composition cellulaire des liquides de lavage nasal et broncho-alvéolaire chez le porc. *Journées Rech. Porcine en France*, 29 : 17-22.

Zhou M. (2012): Contribution à l'identification des Cyprès dans les régions Languedoc Roussillon et PACA par analyse d'image à très haute résolution spatiale. Mémoire de fin d'étude. Université de Renne 2. 50p.

Webographie

[1] Anonyme, (2012). Les allergènes.

<http://www.allergies.comprendrechoisir.com/comprendre/allergie-allergene>

(Consultation 02/01/2013).

[2] Lemerdry, (2011). Les allergènes.

<http://www.vularis-medicale.com/encyclopedie/allergene-337/classification.html>

(Consultation le 28/12/2012).

[3] Dufrien A. (2008). Attention pollen! L'allergie est une maladie, des solutions existent.

<http://www.asthme-allergies.org/pdf/medias/dp-jfa-2008.pdf>

(Consultation le 05/01/2013).

[4] Anonyme, (2005). Les pollens et les spores.

http://www.infovisual/pollen-spore.info/01/023_fr.html

(Consultation le 04/02/2013).

[5] Anonyme, (2013). Risques allergiques.

http://www.airpl.org/pollens/risques_allergiques

(Consultation le 07/02/2013).

[6] Anonyme, (2005). Les pollens et les spores

http://www.infovisual/pollen-spore.info/01/023_fr.html

(Consultation 04/01/2013).

[7] Anonyme, (2009). La membrane pollinique.

www.allerg.qc.ca/asthmemdque.hot.mai

(Consultation 30/03/2013).

[8] Anonyme, (2010). La composition des pollens.

<http://www.catoire-fantasque.be/animaux/abeille/pollen/composition.html>

(Consultation 10/03/2013).

[9] Anonyme, (2004). Les pollens, les pollinoses et autres maladies respiratoires.

http://www.sistepaca.org/pdf/tbse/maquette_fiche_V.pdf

(Consultation le 10/03/2013).

[10] Anonyme, (2011). Asthme ; allergies et maladies respiratoires.

<http://www.ars.haute-normandie.sante.fr/fileadmin/HAUTE->

[NORMANDIE/rubriques/Votre_Sante/Votre_environnement/Tableau_de_bord_SE/axe3.5.](http://www.ars.haute-normandie.sante.fr/fileadmin/HAUTE-NORMANDIE/rubriques/Votre_Sante/Votre_environnement/Tableau_de_bord_SE/axe3.5)

(Consultation le 08/02/2013).

[11] Haquin L. et Lafay M-C. (2011). Allergies respiratoires : ne subissez plus

<http://blog.santelog.com/2011/03/18/5eme-journee-francaise-de-lallergie-le-22-mars->

[interrogez-en-direct-des-allergologues-association-asthme-allergies/](http://blog.santelog.com/2011/03/18/5eme-journee-francaise-de-lallergie-le-22-mars-interrogez-en-direct-des-allergologues-association-asthme-allergies/)

(Consultation le 10/03/2013).

[12]. Kamijo S., Takai T., Kuhara T., Tokura T., Ushio H., Ota M., Harada N., Ogawa H et Okumura K. (2009). Cupressaceae Pollen Grains Modulate Dendritic Cell Response and Exhibit IgE-Inducing Adjuvant Activity In Vivo.

http://www.efanet.org/wp-content/uploads/2012/09/EFABookonRespiratoryAllergies_FR.pdf

(Consultation le 10/03/2013).

[13]. Simon M. (2009). Les cellules immunitaires et les organes lymphoïdes.

<http://www.respir.com/doc/abonne/pathologie/allergie/Allergene>

(Consultation le 14/05/2013).