

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Bourahla Kheira**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOCHIMIE**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

THÈME

**Évaluation des altérations histologiques intestinales  
et hépatiques associées aux allergies alimentaires  
chez les souris Balb/c.**

DEVANT LE JURY

Président : Mr BENAKRICHE B.	Professeur	Université de Mostaganem
Encadreur : Mme GRAR H.	Maître de Conférences B	Université de Mostaganem
Examinatrice : Mme DIB W.	Maître de Conférences B	Université d'USTO

*Thème réalisé au laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire*

Année Universitaire 2019/2020

# *Dédicace*

*Louange au Dieu le tout puissant qui m'a accordé la foi, le courage et la patience pour mener ce travail que je dédie :*

*À mes chers parents pour leur soutien, leur sacrifice, leur patience et leur encouragement Durant toute ma vie et qui sans eux rien n'aurait été possible.*

*À mes chers frères.*

*À ma sœur.*

*À tous mes proches, loin des yeux mais si près du cœur !*

# REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire (Université Oran 1).*

*Je tiens à remercier infiniment mon encadreur **GRAR Hadria**, Maître de Conférences B à l'Université de Mostaganem. Merci de m'avoir guidée avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour ce travail. Merci pour vos conseils pertinents votre écoute, amabilité et patience c'est ce qui a permis à mon travail d'aboutir et de voir le jour.*

*Je remercie également **Mr BENAKRICHE Benmhel**, Professeur à l'Université de Mostaganem qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. Je lui suis reconnaissante d'avoir accepté ce rôle.*

*J'exprime toute ma gratitude à **Madame DIB Wafaa**, Maître de Conférences B à l'Université d'USTO qui a bien voulu agir en tant qu'examinatrice. Qu'elle trouve ici l'expression de ma vive reconnaissance.*

*Merci à tous et toutes...*

## Résumé

L'œuf et le lait de vache sont des aliments fréquemment responsables d'allergies alimentaires chez l'enfant et entrent dans la composition de nombreux produits alimentaires.

L'objectif de notre travail est de vérifier l'existence d'altérations histologiques intestinales et/ou hépatiques suite à l'immunisation à la  $\beta$ -lactoglobuline ou à l'ovalbumine. Pour cela, 48 souris femelles de souche Balb/c âgées de 6 semaines sont réparties en 4 lots de 12 souris chacun. Le premier et le deuxième lot sont sensibilisés par voie intrapéritonéale respectivement à la  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -Lg) et à l'ovalbumine (OVA) alors que, le troisième et le quatrième lot constituent des lots témoins (ne recevant que l'adjuvant).

La caractérisation de l'atteinte tissulaire (intestinale et/ou hépatique), induite par les deux allergènes alimentaires utilisés, est effectuée par analyse histologique en microscopie optique après coloration des tissus à l'hémalum-éosine.

### Les résultats obtenus montrent que :

- L'immunisation par voie intrapéritonéale à la  $\beta$ -Lg ou à l'OVA provoque une altération de la muqueuse qui se traduit par une modification de la structure de l'épithélium intestinal.
- La hauteur des villosités des souris immunisées à la  $\beta$ -Lg ou à l'OVA est significativement diminuée par rapport aux souris contrôles ( $p < 0.05$  et  $p < 0.01$  respectivement).
- La sensibilisation aux deux allergènes alimentaires (la  $\beta$ -Lg ou l'OVA) entraîne des modifications histologiques du foie caractérisées par la présence de noyaux pycnotiques et d'un infiltrat inflammatoire ainsi qu'une ballonnisation des hépatocytes.

L'ensemble de ces résultats montre que l'immunisation par voie intrapéritonéale à la  $\beta$ -Lg ou à l'OVA induit une modification structurale au niveau intestinal et hépatique.

- 
- **Mots-clés** : Allergie alimentaire / Altération hépatique / Atrophie villositaire / Ovalbumine /  $\beta$ -Lactoglobuline.

## Abstract

Most food allergies are caused by eggs and cow's milk. These foods are used in children's diets and are usually used in the composition of many food products.

The objective of our work is to verify the existence of intestinal and/or hepatic histological alterations following immunization with  $\beta$ -lactoglobulin or ovalbumin.

For this purpose, 48 female Balb/c mice aged 6-week-old are divided into 4 groups of 12 mice each. The first and second groups are sensitized intraperitoneally with  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) and ovalbumin (OVA) respectively, while the third and fourth groups constitute the control groups (adjuvant-only).

Characterization of tissue damage (intestine and/or liver), induced by the allergens is carried out by histological analysis under light microscopy after staining the tissues with haemalun-eosin.

### Our results showed that:

- Intraperitoneal immunization with  $\beta$ -Lg or OVA caused an alteration of the mucous membrane resulting in a change in the structure of the intestinal epithelium.
- The villi height of mice immunized with  $\beta$ -Lg or OVA was significantly decreased compared to control mice ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively).
- Sensitization with food allergens ( $\beta$ -Lg or OVA) led to histological changes of the liver characterized by the presence of pycnotic nuclei and an inflammatory infiltrate as well as ballooning of the hepatocytes.

All of these results showed that intraperitoneal immunization with  $\beta$ -Lg or OVA induced a structural modification at the intestinal and hepatic levels.

- 
- **Keywords:** Food Allergy/ Liver damage / Ovalbumin / Villous atrophy /  $\beta$ -Lactoglobulin.

## ملخص

البيض وحليب البقر من الأطعمة المسؤولة في كثير من الأحيان عن الحساسية الغذائية عند الأطفال ويستخدم في العديد من المنتجات الغذائية.

الهدف من عملنا هو التحقق من وجود تغييرات نسيجية معوية و / أو كبدية بعد التحصين باستخدام بيتا-لاكتوغلوبولين أو ألبومين ببيضوي. لهذا الغرض، تم تقسيم 48 أنثى من سلالة ( Balb / c ) بعمر 6 أسابيع إلى 4 مجموعات من 12 فأراً لكل منها. يتم تحسس الدفعة الأولى والثانية داخل الصفاق إلى بيتا-لاكتوغلوبولين (  $\beta$ -Lg ) والألبومين البيضواوي (OVA) على التوالي ، بينما تشكل الدفعة الثالثة والرابعة دفعتين شاهدة ( تلقي المادة المساعدة فقط).

يتم توصيف تلف الأنسجة (المعوي و / أو الكبدي)، الناجم عن مسببات الحساسية الغذائية المستخدمة، عن طريق التحليل النسيجي في الفحص المجهرى البصري بعد تلوين الأنسجة باستخدام hemalun-eosin.

### تظهر النتائج المحصل عليها ما يلي:

- يتسبب التحصين داخل الصفاق باستخدام  $\beta$ -Lg أو OVA في حدوث تغير في الغشاء المخاطي ينتج عنه تغيير في بنية الظهارة المعوية.
- تم تقليل ارتفاع الزغبات في الفئران المحصنة بـ  $\beta$ -Lg أو OVA بشكل ملحوظ مقارنة بالفئران الشاهدة ( $P > 0.05$  و  $p > 0.01$  على التوالي).
- يتسبب التحسس تجاه اثنين من مسببات الحساسية الغذائية ( $\beta$ -Lg) أو (OVA) في حدوث تغييرات نسيجية في الكبد تتميز بوجود نوى داكنة وارتشاح التهابي بالإضافة إلى تضخم خلايا الكبد.

تُظهر هذه النتائج أن التحصين داخل الصفاق باستخدام  $\beta$ -Lg أو OVA يؤدي إلى تغيير بنيوي في الأمعاء والكبد.

---

الكلمات المفتاحية: حساسية الطعام/ ضعف كبدي / ضمور زغيي / ألبومين ببيضوي / بيتا-لاكتوغلوبولين.

## Liste des abréviations

- **Bos d** : Les allergènes du lait de vache nommés Bos domesticus.
- **CI** : Cellules Immunitaires.
- **CICBAA** : Cercle d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire.
- **CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.
- **CPA** : Cellules Présentatrices d'Antigènes.
- **DAMPs**: Damage-Associated Molecular Pattern.
- **DC** : Cellules dendritiques.
- **FcεRI** : Récepteur de haute affinité pour les IgE.
- **GALT**: Gut Associated Lymphoid Tissue.
- **GM-CSF**: Granulocyte Monocytes-Colony Stimulating Factor.
- **HSC** : Cellules Souches Hématopoïétiques.
- **Ig** : Immunoglobuline.
- **IL** : Interleukine.
- **KC** : Cellules de Küpffer.
- **kDa**: Kilo Dalton.
- **Kg** : Kilo gramme.
- **LB** : Lymphocyte B.
- **LIE** : Lymphocytes intra-épithéliaux.
- **LT** : Lymphocyte T.
- **MLN** : Ganglions mésentériques (Mesenteric Lymph Nodes).
- **NKT** : Natural Killer Cells.
- **OVA** : Ovalbumine.
- **PAMPs** : Pathogen associated molecular pattern.
- **PP** : plaques de Peyer.

- **SOC** : Syndrome Oral Croisé.
- **TC** : Télyocytes.
- **Th** : Helper T cells.
- **TNF** : Tumor Necrosis Factor.
- **$\alpha$ -Lac** : L'alpha-lactalbumine.
- **$\beta$ -Lg** : Béta-Lactoglobuline.
- **$\mu$ m** : Micron mètre.

## Liste des figures et des tableaux

---

### Liste des figures :

**Figure 1 :** Mécanismes cellulaires de l'allergie alimentaire.

**Figure 2 :** Villosité intestinale.

**Figure 3 :** Le système immunitaire intestinal (GALT).

**Figure 4 :** Morphologie externe et fonction du foie.

**Figure 5 :** Répartition des lots expérimentaux et protocole d'immunisation.

**Figure 6 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités jéjunales de souris témoin.

**Figure 7 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris immunisée à la  $\beta$ -lg.

**Figure 8 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris témoin.

**Figure 9 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris immunisées à l'ovalbumine.

**Figure 10 :** Effet de la sensibilisation à la  $\beta$ -Lg sur la hauteur villositaire.

**Figure 11 :** Effet de la sensibilisation à l'ovalbumine sur la hauteur villositaire.

**Figure 12 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris témoins.

**Figure 13 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris immunisées à la  $\beta$ -Lg.

**Figure 14 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris témoins.

**Figure 15 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris immunisées à l'OVA.

**Liste des tableaux :**

**Tableau 1 :** Principales caractéristiques des protéines et des allergènes (Bos d 4 à 8) du lait de vache.

**Tableau 2 :** Composition du colorant à l'hématoxyline de Harris.

## Sommaire

- Dédicace
- Remerciements
- Résumé
- Liste des figures et des tableaux
- Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### Partie bibliographique

#### Première partie : l'allergie alimentaire.

1.	L'allergie alimentaire .....	2
1.1.	Mécanisme de l'allergie alimentaire .....	2
1.1.1.	Exposition à l'allergène .....	2
1.1.2.	Première étape : la phase de sensibilisation .....	3
1.1.3.	Deuxième étape : la phase de déclenchement .....	3
1.2.	L'allergie aux protéines de lait de vache (APLV) .....	5
1.2.1.	Caractéristiques des protéines du lait de vache .....	5
1.2.1.1.	La $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -Lg) .....	6
1.3.	L'allergie alimentaire à l'œuf .....	7
1.3.1.	L'ovalbumine (OVA) .....	7

#### Deuxième partie : l'intestin grêle.

2.	L'intestin grêle.....	9
2.1.	La muqueuse intestinale .....	9
2.1.1.	Activité de l'axe villosité-cryptes.....	9
2.1.1.1.	Les villosités .....	9
2.1.1.2.	Les cryptes.....	9
2.1.2.	L'altération de l'intégrité de la muqueuse intestinale .....	10

2.1.3. Le système immunitaire associé à l'intestin (GALT).....	10
--	----

### **Troisième partie : Le foie.**

3. Le foie.....	12
3.1. L'histologie du foie .....	12
3.2. Foie et système immunitaire : quelle relation ?.....	14
3.3. Les cellules immunitaires habitent le foie et surveillent l'axe foie-intestin .....	15

## **Partie expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

1. Origine des différents échantillons.....	16
2. Rappel sur le protocole expérimental .....	16
2.1. Protocole d'immunisation .....	16
3. Étude histologique .....	16
3.1. Traitements histologiques des fragments .....	16
3.1.1. Fixation.....	16
3.1.2. La déshydratation .....	18
3.1.3. La clarification.....	18
3.1.4. L'inclusion.....	18
3.1.5. Traitement des lames .....	18
3.1.6. Étalement sur lames.....	18
3.1.7. Déparaffinage .....	18
3.1.8. Réhydratation .....	18
3.1.9. Coloration.....	19
3.2. Mesure de la hauteur des villosités.....	19
3.2.1. Le principe.....	19

4.	Analyse statistique.....	20
----	--------------------------	----

## **Résultats**

1.	Étude histologique.....	21
1.1.	Au niveau intestinal.....	21
1.1.1.	Effet de l'immunisation à la $\beta$ -Lg sur la structure intestinale.....	21
1.1.2.	Effet de l'immunisation à l'ovalbumine sur la structure intestinale.....	21
1.1.3.	Effet de l'immunisation à la $\beta$ -Lg sur la hauteur villositaire.....	21
1.1.4.	Effet de l'immunisation à l'ovalbumine sur la hauteur villositaire.....	26
1.2.	Au niveau hépatique.....	26

## **Discussion**

1.	Au niveau intestinal.....	32
2.	Au niveau hépatique.....	33
	Conclusion.....	34
	Références bibliographiques.....	35

# *Introduction*

---

## *INTRODUCTION*

---

Les muqueuses du tractus gastro-intestinal représentent en moyenne une surface comprise entre 200 et 300 m<sup>2</sup> (Hao et Lee, 2004), ce qui représente une importante zone de contact entre les cellules de l'organisme et le milieu extérieur notamment les aliments ingérés (DunnGalvin et *al.*, 2015 ; Greenhawt et *al.*, 2016).

Chez les enfants, et dans certaines conditions, certains aliments peuvent être une source de peptides biologiquement immunogènes. Les données du Cercle d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire (CICBAA), indiquent que parmi les aliments les plus fréquemment mis en cause chez l'enfant, on retrouve l'œuf (34 % des cas), l'arachide (25 % des cas), le lait (8 % des cas) et le poisson (5 % des cas) (Morin, 2012).

L'allergie alimentaire est définie comme une réponse immunitaire indésirable aux protéines alimentaires (Giovanna et *al.*, 2018) avec des symptômes allant de légers symptômes gastro-intestinaux à un choc anaphylactique sévère (Rancé, 2004 ; Rancé et Dutau, 2009). Elle affecte plus de 2% et moins de 10% de la population en général (Chafen et *al.*, 2010) et environ 8% de la population pédiatrique (Sampson, 2016).

Récemment, le rôle du foie dans la pathogénèse de différentes maladies est de plus en plus décrit. En effet, l'axe foie-intestin influence non seulement l'absorption et le stockage des nutriments, mais peut également induire l'activation de nombreux types de cellules immunitaires et de récepteurs des cellules hépatiques (Franceschi et *al.*, 2018).

À cet effet, nous nous sommes intéressés à l'effet que pourrait exercer la sensibilisation à deux allergènes alimentaires (la  $\beta$ -lactoglobuline ou l'ovalbumine) sur l'architecture intestinale et hépatique chez la souris Balb/c utilisé comme modèle animal.

La première partie de ce mémoire définit l'allergie alimentaire. Alors que, la notion de l'intestin grêle est développée dans la deuxième partie. Et enfin, la troisième partie s'intéresse à la relation entre le foie et le système immunitaire. Après une présentation du matériel et des méthodes utilisées, les résultats obtenus sont présentés puis discutés.

# *Partie bibliographique*

---

*Première partie :*

---

*L'allergie alimentaire*

### **1. L'allergie alimentaire :**

---

L'allergie alimentaire est une pathologie en constante évolution, avec notamment une nette augmentation de son incidence ces 20 dernières années dans les pays fortement industrialisés (Prescott et Allen, 2011). Cette pathologie a un lourd impact sur la qualité de vie des enfants et de leur entourage, notamment sur les facteurs sociaux, alimentaires et psychologiques (DunnGalvin et *al.*, 2015 ; Greenhawt et *al.*, 2016).

L'allergie alimentaire est une réponse adverse, reproductible, se produisant suite à l'ingestion d'un aliment. Elle résulte d'une réponse immunitaire excessive induite contre certaines protéines contenues dans cet aliment, protéines normalement inoffensives pour l'organisme et dénommées des allergènes. Cette réponse immunitaire inappropriée est la conséquence de la rupture ou du manque d'induction de la tolérance orale, mécanisme immunitaire suppressif permettant de tolérer ces protéines alimentaires (Adel-Patient,2016).

Les aliments ayant la capacité de provoquer des réactions allergiques sont très nombreux. Cependant quelques aliments sont à l'origine de la majorité des allergies. Parmi les aliments les plus fréquemment mis en cause chez l'enfant, on retrouve l'œuf (34% des cas), l'arachide (25% des cas), le lait (8% des cas) et le poisson (5% des cas) (Morin,2012).

#### **1.1. Mécanisme de l'allergie alimentaire :**

Chez la majorité des individus, les protéines alimentaires induisent une tolérance immunitaire. Les mécanismes mis en œuvre permettent ainsi d'éteindre toute réponse immunologique spécifique contre ces protéines, assurant finalement le maintien de l'intégrité de l'organisme, tout en permettant l'absorption des nutriments nécessaires à sa survie. La rupture ou le manque d'induction de cette tolérance entraîne une sensibilisation chez le sujet atopique (Morin ,2012).

Le mécanisme fondamental de la réaction allergique immédiate dépendante des IgE, s'effectue en deux phases : la sensibilisation et le déclenchement.

##### **1.1.1. Exposition à l'allergène :**

Il existe différentes voies de sensibilisation à des allergènes alimentaires. Dans le cas des allergies alimentaires dites de classe 1, la sensibilisation se produit au niveau du tractus gastro-intestinal (Han et *al.*, 2012). Ce type d'allergie alimentaire affecte particulièrement les enfants. La voie respiratoire est impliquée dans le développement des allergies alimentaires de

classe 2. Ce type d'allergie alimentaire est responsable du Syndrome Oral Croisé (SOC ou OAS : Oral Allergy Syndrom) retrouvé majoritairement chez des adultes sensibilisés à des aliments dont les protéines présentent des similitudes avec celles d'aéro-allergènes notamment l'allergène majeur du pollen de bouleau (Breiteneder et Ebner, 2000). La sensibilisation par voie cutanée a également été suggérée. Selon les données publiées par Lack, (2008), de façon générale l'exposition cutanée conduirait au développement de l'allergie alimentaire tandis que l'exposition orale induirait le plus souvent la tolérance à l'allergène (Lack, 2008). Ces différentes voies de sensibilisation mènent toutes au développement de l'allergie alimentaire.

### **1.1.2. Première étape : la phase de sensibilisation :**

Lors de la sensibilisation allergique, les Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA) du GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) captent l'antigène alimentaire, et après la lyse intracellulaire, associent les peptides dérivés de l'antigène aux molécules du CMH II à leur surface. Les CPA ainsi activées migrent ensuite vers les ganglions lymphatiques « locaux » (plaques de Peyer « PP » ou Ganglions mésentériques « MLN »), où elles interagissent avec les cellules T CD4<sup>+</sup> naïves. Cette interaction cellulaire va induire la différenciation des cellules naïves en cellules Th2, sécrétant des cytokines dont l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et l'IL-13 (Morin, 2012). Ces cytokines vont notamment induire la transformation des lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'IgE spécifiques. Les IgE spécifiques de l'allergène se répartissent ensuite dans l'ensemble de l'organisme, via la circulation sanguine, et se fixent sur des « cellules cibles » de la peau et des muqueuses (mastocytes) ainsi que sur des « cellules cibles » circulantes (basophiles) exprimant le récepteur pour la partie constante des IgE. Cette première étape, muette cliniquement, prépare l'organisme à réagir de façon immédiate lors d'un second contact avec l'allergène (Lignon et Chiny, 2013) (**Figure 1**).

### **1.1.3. Deuxième étape : la phase de déclenchement :**

Lors du second contact entre l'allergène et l'organisme, celui-ci est reconnu par les IgE spécifiques liées aux cellules effectrices via leurs récepteurs. Le pontage des IgE va entraîner l'agrégation du FcεRI qui va induire la phosphorylation des résidus tyrosines présents sur le récepteur. Cela va permettre le recrutement d'autres effecteurs et la mise en place de multiples cascades de signalisation aboutissant finalement à la dégranulation des cellules. Lors du déclenchement de la réaction allergique, on distingue deux phases.

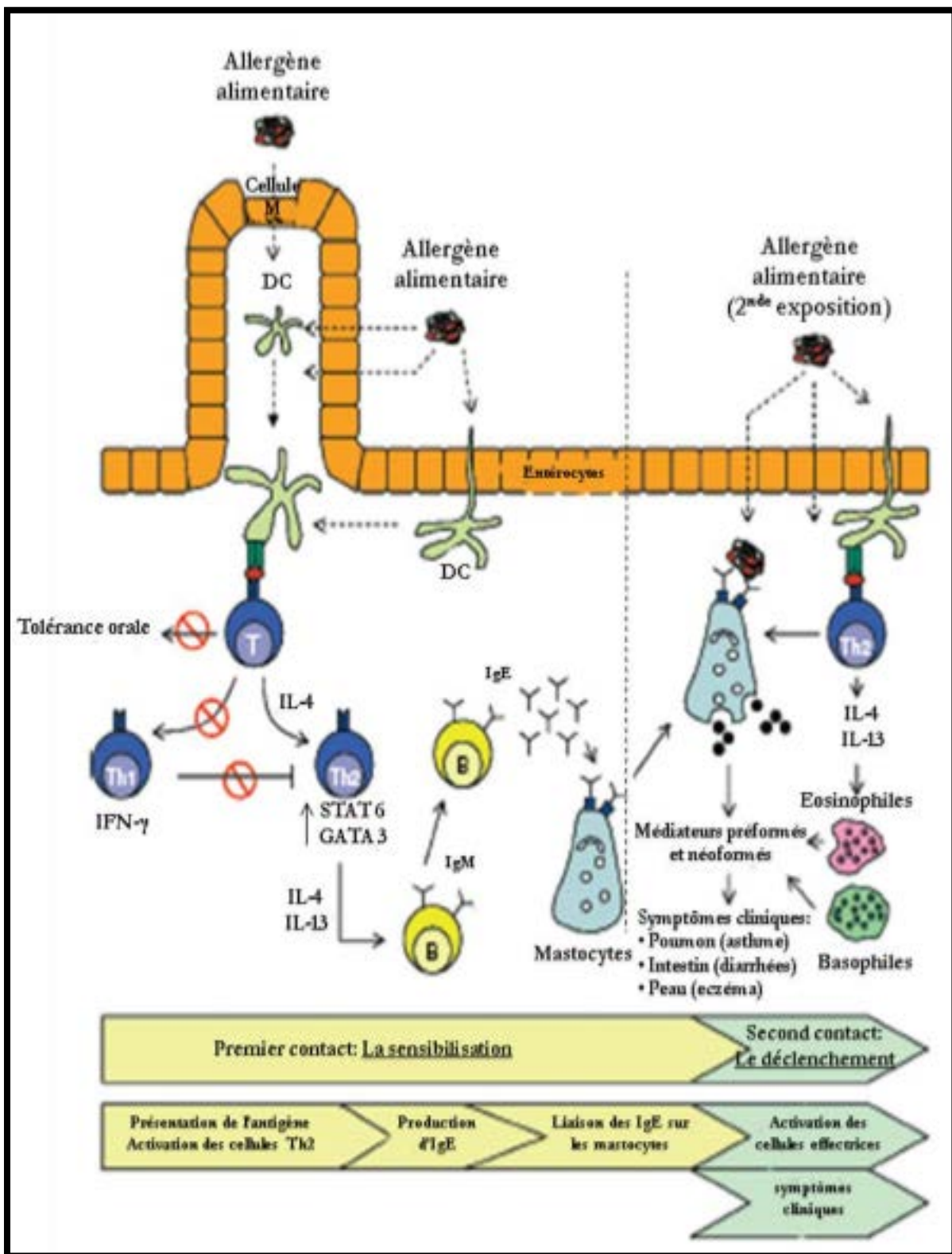


Figure 1 : Mécanismes cellulaires de l'allergie alimentaire (Prioult et Nagler-Anderson, 2005).

La phase précoce est très rapide et est principalement due aux effets immédiats de l'histamine libérée qui agit au niveau des récepteurs H1 des vaisseaux et des bronches. Les effets regroupent la dilatation des petits vaisseaux sanguins, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la stimulation de la contraction transitoire des muscles lisses. La phase tardive se met en place dans les deux à huit heures suivant la dégranulation, et persiste pendant au moins un à deux jours. Elle correspond à une réponse inflammatoire déclenchée par les médiateurs libérés par les mastocytes et les basophiles tels que le TNF- $\alpha$ , l'IL-4, l'IL-3, le GM-CSF, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-8 et l'IL-16 ou encore CCL3 (Lorentz et *al.*, 2000). Les symptômes cliniques apparaissent au cours de la phase de déclenchement.

### **1.2. L'allergie aux protéines de lait de vache (APLV) :**

L'APLV est la première allergie alimentaire rencontrée au cours de la vie, le lait étant le premier aliment consommé. Par conséquent, cette allergie touche surtout les nourrissons et les enfants. Cependant, des cas de développement d'allergie au lait de vache ont été décrits à tous âges (Benhamou et *al.*, 2009 ; Spergel, 2013). L'allergie au lait de vache médiée par les IgE prédispose au développement de l'asthme et d'autres allergies alimentaires chez l'adulte (Schäfer et *al.*, 2001 ; Høst, 2002). Les manifestations cliniques de l'allergie au lait de vache sont principalement cutanées ou gastro-intestinales. Selon une étude, les manifestations cutanées (urticaire) apparaissent dans 85% des cas, le système gastro-intestinal est touché dans 46% des cas (vomissements, diarrhée, constipation), le système respiratoire inférieur dans 14% des cas, et supérieur dans 6% des cas (Skripak et *al.*, 2007 ; Salvatore et Vandenplas, 2016). Les symptômes cutanés restent les plus fréquents, cependant le choc anaphylactique peut apparaître dans 20% des cas sans impliquer la peau, surtout chez les enfants (Benhamou et *al.*, 2009).

#### **1.2.1. Caractéristiques des protéines du lait de vache :**

Le lait de vache contient environ 35g/L de protéines pouvant être réparties dans deux groupes en fonction de leurs propriétés. Le lait coagulé est constitué de caséines qui représentent 80% des protéines totales. Les 20% restants correspondent aux protéines contenues dans la fraction soluble, le lactosérum ou petit lait (5g/L). Cette fraction contient essentiellement des protéines globulaires solubles dans l'eau. La  $\beta$ -lactoglobuline bovine ( $\beta$ -Lg) et l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -Lac) sont les protéines majeures du lactosérum (**Tableau 1**).

**1.2.1.1. La  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -Lg) :**

La  $\beta$ -Lg est la principale protéine du lactosérum bovin (Kontopidis et *al.*,2004). Elle est l'une des principaux allergènes (Hazebrouck et *al.*,2009 ; Poza-Guedes et *al.*, 2016) et est trouvée dans le lait de nombreux mammifères (Rytönen et *al.*,2002 ; El-Zahar et *al.*, 2004), mais elle est absente dans le lait humain (Sawyer et Kontopidis, 2000). La  $\beta$ -Lg est caractérisée par une certaine résistance à la digestion par la pepsine (Chobert et *al.*,1995 ; Wal,2004 ; Moreno et *al.*,2007). Elle est absorbée au niveau intestinal à l'état natif ou légèrement hydrolysée. Cependant, les travaux de Selo et *al.*, (1999), ont montré que l'allergénicité de la  $\beta$ -Lg n'est pas directement liée à sa résistance à la digestion ni associée à l'intégrité de la molécule au contraire, la protéolyse de la  $\beta$ -Lg peut augmenter son allergénicité en révélant des épitopes masqués au sein la structure tertiaire de la protéine de façon similaire (Lucas et *al.*,2008).

**Tableau 1 : Principales caractéristiques des protéines et des allergènes (Bos d 4 à 8) du lait de vache D'après (Wal 1998, Wal 2002).**

<u>Protéines</u> (Concentration des protéines du lait de vache(%))		<u>Concentration</u> (g/l)	<u>Masse molaire</u> (KDa)
Lactosérum (20%) (Environ 5g/l)	$\beta$ -lactoglobuline (10%) <b>Bos d 5</b>	3 à 4	18,3
	$\alpha$ -Lactalbumine (5%) <b>Bos d 4</b>	1 à 1,5	14,2
	Immunoglobulines (3%) <b>Bos d 7</b>	0,6 à 1	150
	Sérum Albumine bovine (1%) <b>Bos d 6</b>	0,1 à 0,4	66,3
	Lactoferrine (traces)	0,09	80
Caséine <b>(Bos d8)</b> (80%) (Environ 30g/l)	Caséine $\alpha$ -S1 (32%)	12 à 15	23,6
	Caséine $\alpha$ -S2 (10%)	3 à 4	25,2
	Caséine $\beta$ (28%)	9 à 11	24
	Caséine $\kappa$ (10%)	3 à 4	19

### **1.3. L'allergie alimentaire à l'œuf :**

L'allergie alimentaire à l'œuf est l'une des allergies les plus fréquentes dans le monde (Yakhlef, 2018). L'œuf est l'allergène principal chez l'enfant (35% des cas d'allergie, contre 1,3% chez l'adulte) et peut causer des réactions sévères.

Les principales protéines allergènes sont présentes dans le blanc d'œuf : ovalbumine (58% du blanc d'œuf), ovomucoïde (11%), conalbumine (14%), lysozyme (3,4%) (Schwartz, 1992). L'ovalbumine et l'ovomucoïde sont considérées comme les deux allergènes majeurs du blanc d'œuf (Yakhlef, 2018).

Plus que n'importe quel autre allergène, l'œuf est très représenté dans les produits alimentaires industriels en tant qu'ingrédient ou additif (conservateur, liant, émulsifiant, coagulant). Ainsi, de nombreuses protéines de l'œuf sont utilisées et étiquetées sous une dénomination scientifique, ce qui ne facilite pas la tâche des malades dans l'éviction de ces aliments. Par ailleurs, les protéines de l'œuf peuvent être utilisées dans des produits cosmétiques, des shampoings, voire des médicaments. Les manifestations allergiques à l'œuf peuvent être cutanées (urticaire, eczéma), respiratoires (asthme), voire systémiques (anaphylaxie) (Schwartz, 1992).

L'allergie au blanc d'œuf apparaît généralement pendant la première année de vie. Une étude européenne a montré que l'âge moyen d'apparition des symptômes est de 12 mois avec des variations en fonction des pays qui s'expliquent par des différences dans l'âge d'introduction de l'œuf dans l'alimentation (Xepapadaki et *al.*, 2016).

Cette allergie évolue naturellement avec l'âge vers une rémission. Une étude réalisée sur 213 enfants allergiques à l'œuf aux États-Unis a montré un taux de résolution de 50% à l'âge de 6 ans (Sicherer et *al.*, 2014). Il semble cependant que de plus en plus, l'allergie à l'œuf persiste jusqu'à l'adolescence (Savage et *al.*, 2007).

#### **1.3.1. L'ovalbumine (OVA) :**

L'OVA, appartient à la superfamille des serpins, identifiée comme une famille d'allergènes d'origines animale et végétale. Cette protéine globulaire est un allergène dominant dans l'allergie à l'œuf. Cette phosphoglycoprotéine constituée de 385 acides aminés possède un poids moléculaire d'environ 45 kDa (Nisbet et *al.*, 1981). Son point isoélectrique est de 4,5. L'OVA contient six résidus cystéine, dont deux forment un pont disulfure. Elle

## *PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE*

---

présente donc quatre groupements SH libres permettant la formation de ponts disulfures intermoléculaires lors des traitements thermiques.

*Deuxième partie :*

---

*L'intestin grêle*

### **2. L'intestin grêle :**

---

L'intestin, lieu majeur de l'absorption des aliments, est l'organe d'où proviennent certaines allergies et intolérances alimentaires. Il se décompose en trois parties : le duodénum, le jéjunum et l'iléon

#### **2.1. La muqueuse intestinale :**

L'étude d'une biopsie intestinale de la muqueuse montre un épithélium unistratifié, constitué essentiellement par des entérocytes et des cellules caliciformes dont la proportion augmente du duodénum vers l'iléon, des cryptes ou glandes de Lieberkühn qui sont situées en profondeur dans le chorion (Michel,1999). Des lymphocytes présentent dans l'épithélium (LIE) ont un rôle important dans l'immunité digestive. L'interaction de la muqueuse avec des éléments étrangers (bactéries, antigènes, toxines, virus) induit une réponse immunitaire innée et/ou adaptative (Cebra,1999 ; Pascual et *al.*, 2001).

##### **2.1.1. Activité de l'axe villosité-cryptes :**

L'épithélium intestinal est caractérisé par un constant renouvellement et une différenciation des entérocytes (Gool et *al.*, 2008). La prolifération des cellules épithéliales débute au niveau des cryptes où elles sont indifférenciées, puis elles migrent vers la base des villosités où elles se différencient en entérocytes d'absorption et en cellules à mucus qui vont subir la desquamation cellulaire (apoptose).

###### **2.1.1.1. Les villosités :**

La surface efficace de l'absorption des nutriments par la muqueuse intestinale est incrémentée par la présence d'un nombre important de villosités intestinales. Cette absorption se déroule au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (Haton, 2005).

###### **2.1.1.2. Les cryptes :**

Les glandes (ou cryptes) de Lieberkühn sont invaginées en forme de doigts vers la paroi musculaire. On trouve plusieurs types cellulaires : des cellules caliciformes, des entérocytes, des cellules neuroendocrines et des cellules de Paneth. Les cellules caliciformes et les entérocytes sont du même type que celles des villosités bien que leur taille soit légèrement moins importante (Haton, 2005).

Les cellules neuroendocrines intestinales sont rencontrées en plus grand nombre dans les cryptes qu'au niveau des villosités ; elles sont responsables de plusieurs types de sécrétion de médiateurs locaux (sérotonine, sécrétine, neurotensine, substance P ...) (Lucini et coll, 2002).

Les cellules de Paneth sont situées au fond des cryptes : ce sont des cellules sécrétrices à action antimicrobienne. Elles exercent donc un rôle de défense (Haton, 2005).

### **2.1.2. L'altération de l'intégrité de la muqueuse intestinale :**

L'inflammation est la première réaction qui perturbe les fonctions de l'axe villosités cryptes, elle se manifeste par une atrophie des villosités et une hyperplasie des cryptes. L'augmentation de la perméabilité intestinale induite par une atrophie des villosités est accompagnée par une augmentation des lymphocytes intra-épithéliaux, et l'augmentation d'apoptose cellulaire qui diminue l'absorption des nutriments. La réduction des villosités, réduit la surface de digestion (Gool et *al.*, 2008) (**Figure 2**).

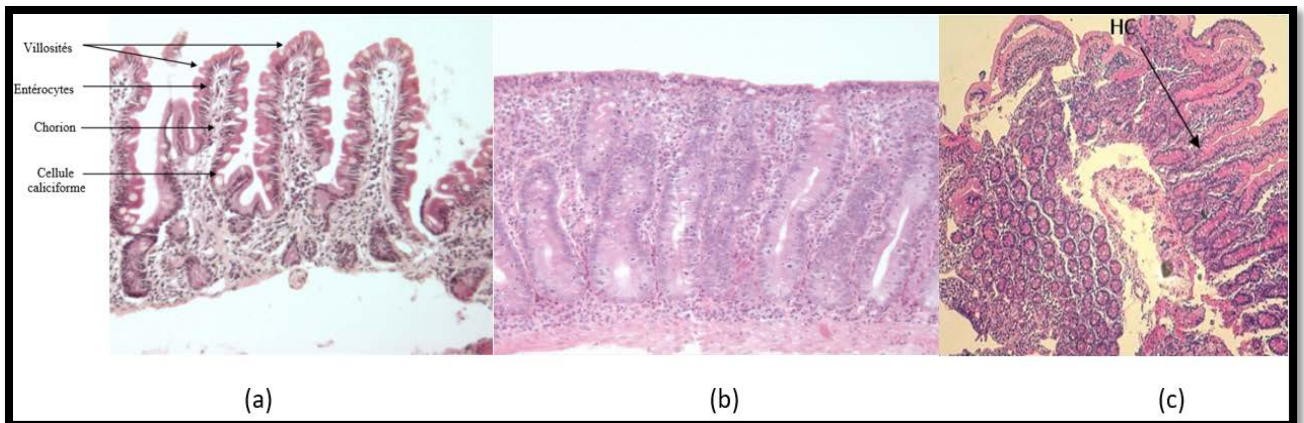
### **2.1.3. Le système immunitaire associé à l'intestin (GALT) :**

On considère que l'intestin est le premier organe immunitaire de l'organisme humain car 60 à 70% des cellules immunes sont présentes dans la muqueuse intestinale. Les sites inducteurs et effecteurs d'une réponse immunitaire spécifique sont composés par les structures lymphoïdes décrites comme étant des tissus ayant différents niveaux d'organisation (Hao et Lee, 2004).

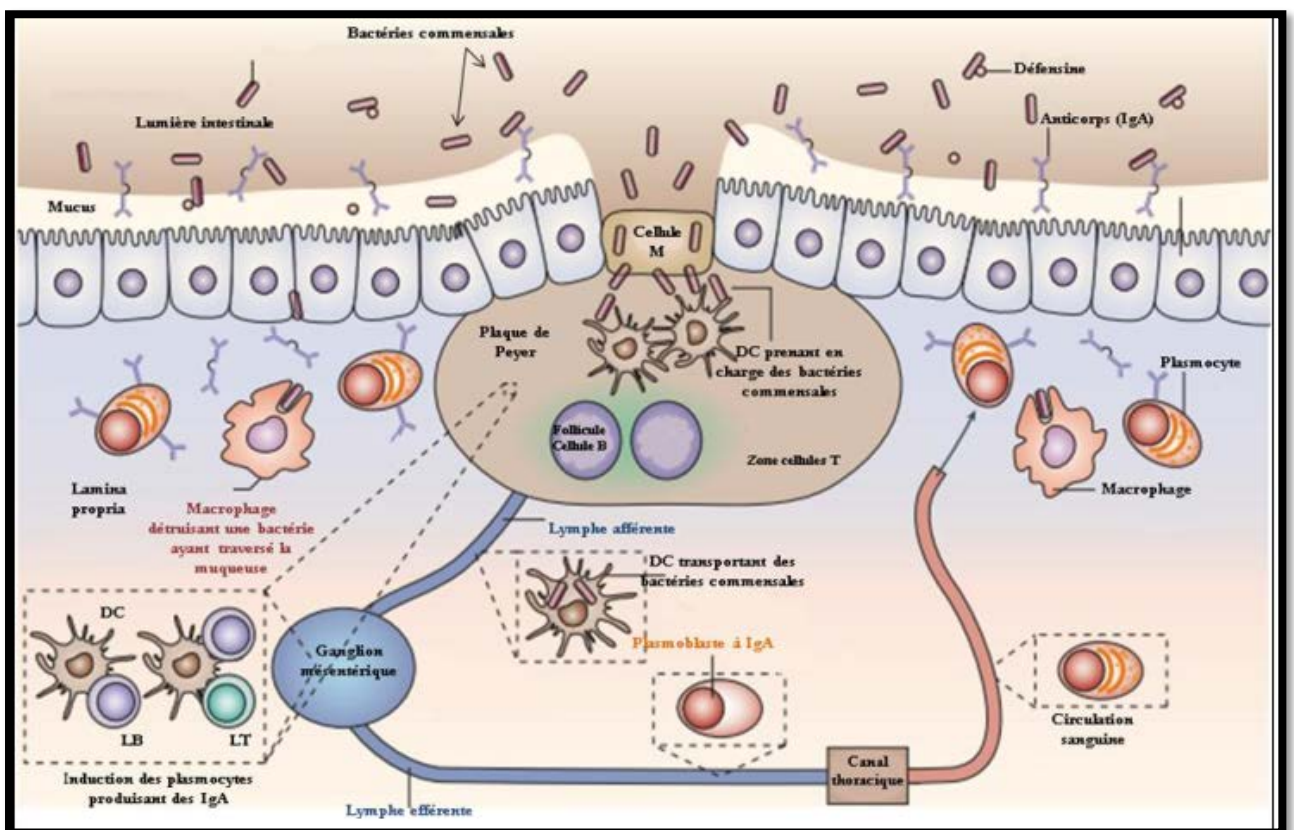
Les plaques de Peyer (PP) et les ganglions mésentériques (MLN : Mesenteric Lymph Nodes) sont des structures organisées en follicules alors que la *lamina propria* est une structure diffuse dans les villosités de l'intestin. Ces différents éléments forment le « Gut-Associated Lymphoid Tissue » (GALT).

Les PP contiennent de nombreux lymphocytes T et B naïfs. Les ganglions mésentériques centralisent la réponse immunitaire intestinale. Un ganglion est irrigué par une lymphe afférente qui draine les PP et la *lamina propria*. Ce type de lymphe transporte différentes cellules dendritiques qui permettent d'initier la réponse immunitaire et la lymphe efférente assure la mise en circulation des cellules activées (LT et LB) dans le compartiment sanguin. (Morine, 2012) (**Figure 3**).

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



**Figure 2 :** Villosité intestinale. (a) : Villosité normale ; (b) : Atrophie villositaire ;  
(c) : Hyperplasie des cryptes (Hadjadj, 2009 ; Yafi, 2017).



**Figure 3 :** Le système immunitaire intestinal (GALT). LB et LT : Lymphocytes B et T ;  
DC : cellules dendritiques (Macpherson et Harris, 2004).

# *Troisième partie :*

---

*Le foie*

### **3. Le foie :**

Le foie est le plus volumineux organe du corps humain, situé dans la cavité abdominale, d'un poids de 2Kg, dont 800g de sang (Alami, 2010 ; Belarbi, 2019). C'est une glande amphicrine homotypique, ayant une fonction exocrine d'une part par la sécrétion de la bile drainée vers la vésicule biliaire et déversée dans le duodénum, et une fonction endocrine d'autre part puisque les produits métabolisés sont pour la plupart déversés dans le sang (Grignon, 1997).

Par sa composition privilégiée sur la circulation sanguine, le foie est un carrefour métabolique vital, représentant le lieu de synthèse ou de catabolisme de nombreux composés (Alami, 2010). Il présente également un pouvoir de régénération important et un rôle dans l'immunité grâce à l'activité macrophagique des cellules de Küpffer (Morsiani et al., 2019).

#### **3.1. L'histologie du foie :**

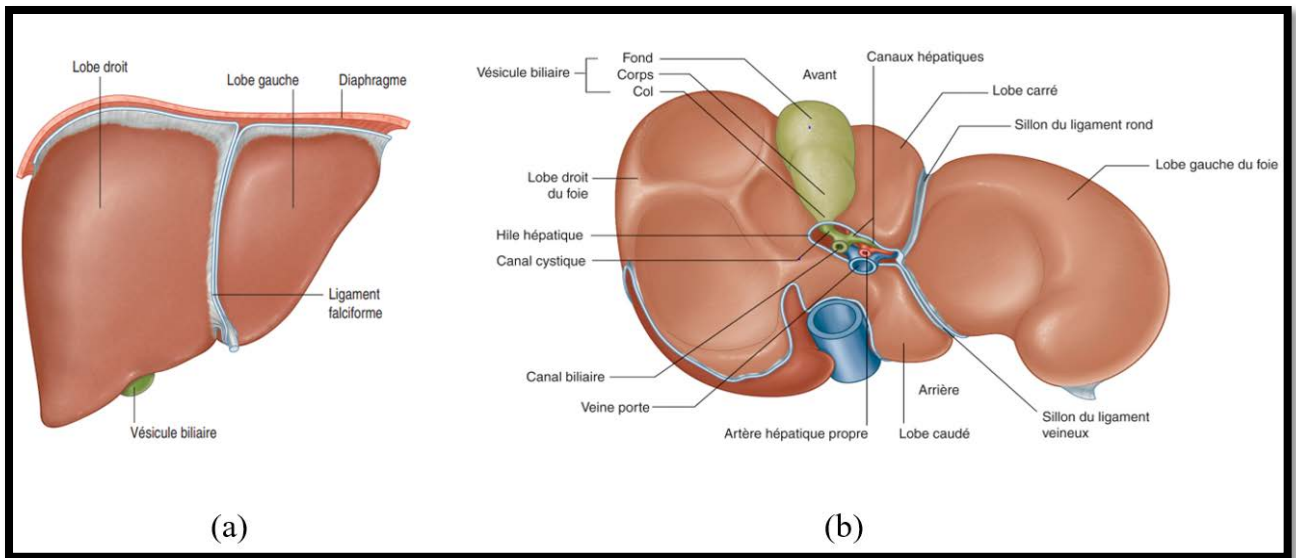
Le parenchyme hépatique est organisé en lobules, schématiquement hexagonaux, avec un espace porte à chaque sommet. Cependant, il n'existe pas de séparation visible entre les lobules : il s'agit plus d'une schématisation de l'organisation du tissu (Deugnier, 2005) (**Figure 4**).

Les lobules sont centrés par une veine centrolobulaire. Entre les espaces portes et la veine centrolobulaire, les travées d'hépatocytes sont séparées par des sinusoides. On peut définir dans le lobule la zone périportale, médiolobulaire et centrolobulaire (Alami, 2010).

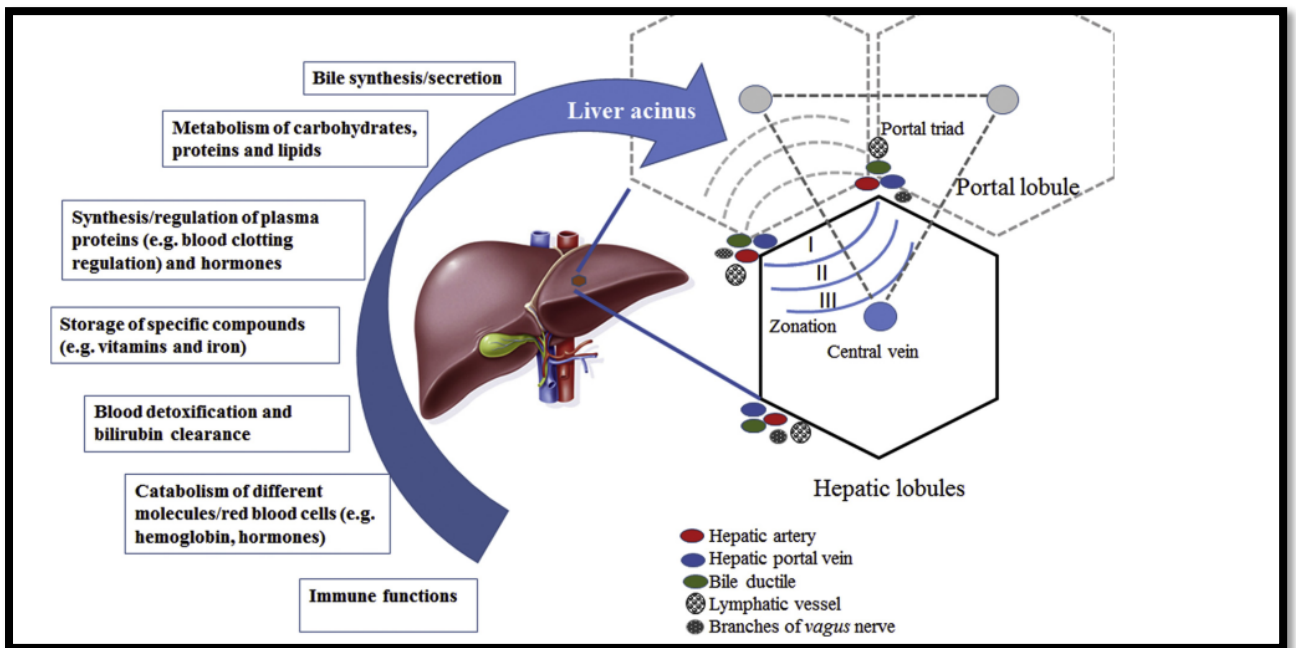
Les hépatocytes sont des cellules polygonales de grande taille organisées en travées de 1 à 2 cellules d'épaisseur. Ce sont des cellules polarisées (pôle basal du côté sinusoidal, pôle apical du côté canaliculaire) (Deugnier, 2005).

Les hépatocytes ont un rôle métabolique majeur (notamment la synthèse de protéines, lipides, glucides, synthèse de la bile, détoxification). Les hépatocytes ont tous le même aspect histologique (Belarbi, 2019).

Les sinusoides séparent les travées hépatocytaires. Ils sont bordés de cellules endothéliales et de cellules de Küpffer (histiocytes tissulaires) (Deugnier, 2005). Entre les cellules endothéliales et les hépatocytes se trouve l'espace de Disse qui contient les cellules étoilées du foie. Ces cellules stockent la vitamine A et ont un rôle important dans les processus de fibrose hépatique. Les sinusoides drainent le sang provenant de l'espace porte



(A)



(B)

**Figure 4 : (A) : Morphologie externe du foie. (a) Face diaphragmatique du foie, (b) Faces viscérales du foie. (B):fonction du foie.** (Encha-Razavi et Escudier,2008 ; Morsiani et *al.*, 2019).

vers les veines centrolobulaires (qui se drainent ensuite vers les veines hépatiques) (Encha-Razavi et Escudier, 2008). Les sinusoides apportent aussi de nombreuses cellules immunitaires (cellules dendritiques, lymphocytes, etc.) qui contribuent aux défenses du foie face aux agressions extérieures.

La bile est produite pour la plupart par les hépatocytes. La bile hépatocytaire circule au sein du lobule dans le réseau des canalicules biliaires. À proximité des espaces portes, la bile va rejoindre un système canalaire à paroi propre, bordé de cellules biliaires (cholangiocytes). (Deugnier, 2005). La bile sort du foie au niveau du hile par le conduit hépatique commun (Encha-Razavi et Escudier, 2008).

### **3.2. Foie et système immunitaire : quelle relation ?**

Le foie est le premier organe qui possède un site anatomique et immunologique unique dans lequel le sang riche en antigènes provenant du tractus gastro-intestinal est forcé par un réseau de sinusoides et écrémé par les cellules présentatrices d'antigènes et les lymphocytes (Racanelli et Rehermann, 2006).

Le foie est le siège non seulement de cellules innées résidentes, telles que les cellules de Küpffer (KC), les mastocytes, les cellules dendritiques, mais aussi de lymphocytes (cellules T et B) et de populations de lymphocytes innés. En particulier, les cellules CD56+T, les cellules NKT (Natural Killer Cells), les cellules  $\gamma\delta$ T et les cellules T invariantes associées aux muqueuses jouent un rôle essentiel dans la défense immunitaire de la première ligne contre les agents pathogènes envahissants, dans la modulation des lésions hépatiques et dans le recrutement des lymphocytes circulants (Freitas-Lopes et *al.*, 2017).

De plus, les lymphocytes circulants peuvent également entrer en contact direct avec les hépatocytes, car l'endothélium sinusoidal est fenêtré et ne possède pas de membrane basale (Morsiani et *al.*, 2019). Cette structure permet un échange rapide de molécules du sang vers les hépatocytes et facilite l'élimination et la dégradation des molécules immunogènes dans le foie (Robinson et *al.*, 2016).

En particulier, les KC présentent une remarquable plasticité étroitement liée aux zones métaboliques locales et à l'environnement immunitaire-cytokine. En outre, les cellules endothéliales sinusoidales du foie et les KC semblent être centrales pour le maintien de la tolérance immunitaire, en favorisant l'anergie/délétion des cellules T et en générant des sous-ensembles de cellules régulatrices (Grant et Liberal, 2017).

Proche des sinusoides, un type particulier de cellules, appelées télocytes (TC), a été récemment découvert. Les TCs du foie, localisés dans l'espace de Disse, sont différents d'autres cellules interstitielles en raison de leur morphologie et de leurs immuno-phénotypes. Les TCs sont des cellules stromales décrites dans tous les organes humains (Morsiani et *al.*, 2019) et caractérisé par un très petit corps cellulaire en forme de fuseau dont sont issus de très longs processus cytoplasmiques convolués, ou télépodes.

### **3.3. Les cellules immunitaires habitent le foie et surveillent l'axe foie-intestin :**

En ce qui concerne l'axe foie-intestin, l'intestin et le foie forment une connexion bidirectionnelle via la veine porte et le canal biliaire. Par conséquent, le foie reçoit des signaux environnementaux du microbiote intestinal, qui transforme les molécules alimentaires en métabolites de signalisation capables de communiquer avec les organes différents et les tissus de l'hôte. En outre, le microbiote intestinal affiche la fluctuation circadien (Liang et FitzGerald, 2017), qui est principalement déterminé par la consommation alimentaire diurne, et conduit à une abondance rythmique des métabolites microbiens, induisant ainsi l'effet oscillatoire dans le métabolisme du foie (Thaiss et *al.*, 2016).

L'axe foie-intestin influence non seulement l'absorption et le stockage des nutriments et la signalisation de l'homéostasie hépatique, mais peut également induire l'activation de nombreux types de cellules immunitaires (CI) et de récepteurs des cellules hépatiques (Franceschi et *al.*, 2018). Cette activation potentielle est due au passage de motifs moléculaires associés à un agent pathogène ou d'autres types de molécules/alarmes auto-déplacées dans le sang portal. Ce rôle physiologique et crucial du foie et des CI préserve le développement d'infections ou de lésions hépatiques (Morsiani et *al.*, 2019).

Ainsi, l'axe foie-intestin représente une ligne de front essentielle pour contrer les infections et pour réparer ou favoriser la détoxification contre des composés ou des médicaments inoffensifs (Corbitt et *al.*, 2013).

# *Partie expérimentale*

---

# *Matériel et Méthodes*

---

### **1. Origine des différents échantillons :**

Les différents échantillons (fragments intestinaux et hépatiques) sur lesquels nous avons travaillé ont été préparés au Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire (Université Oran 1) (Larbi, 2019).

### **2. Rappel sur le protocole expérimental :**

Les animaux utilisés sont des souris femelles de souche Balb/c âgées de 6 semaines et pesant  $22,92 \pm 1,95$  g. Ils sont répartis en 4 lots de 12 souris chacun :

- Lot 1 : constitué de souris immunisées à la  $\beta$ -Lg.
- Lot 2 : constitué de souris contrôles pour la  $\beta$ -Lg.
- Lot 3 : constitué de souris immunisées à l'OVA.
- Lot 4 : constitué de souris contrôles pour l'OVA.

#### **2.1. Protocole d'immunisation :**

Les souris du premier et du troisième groupe sont immunisées par voie intrapéritonéale. Chaque souris reçoit une dose de 100  $\mu$ l d'une solution de PBS, pH 7,4 contenant 10  $\mu$ g de la  $\beta$ -Lg (lot 1) (Negaoui et *al.*, 2009) ou 5  $\mu$ g d'OVA (lot 2) (Park et *al.*, 2017) respectivement mélangés à 2 mg d' $\text{Al}(\text{OH})_3$ . Les injections intrapéritonéales ont lieu à J0 puis, sous forme de rappels et dans les mêmes conditions au 14<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour pour le premier groupe ( $\beta$ -Lg) et au 7<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour pour le troisième groupe (OVA). Dans les mêmes conditions, les souris contrôles de chaque protéine reçoivent une dose de 100  $\mu$ l d'une solution de PBS, pH 7,4 mélangés à 2 mg d' $\text{Al}(\text{OH})_3$  (**Figure 5**).

Le jour de sacrifice, le foie et l'intestin sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de PBS 1/10 et sont fixés dans du formol à 10 %.

### **3. Eude histologique :**

Cette étude a pour but de vérifier l'existence d'altérations histologiques intestinales et/ou hépatiques suite à l'immunisation à la  $\beta$ -Lg et à l'ovalbumine.

#### **3.1. Traitements histologiques des fragments :**

##### **3.1.1. Fixation :**

Les tissus sont fixés dans du formol à 10 % pendant 24 h. les solutions de formaldéhyde sont les fixateurs les plus répandus. On les utilise fréquemment à des concentrations variantes de 10 % à 20 %. Le formaldéhyde a de nombreuses qualités : il pénètre rapidement, conserve bien les structures et n'entraîne pas de durcissement excessif ni de rétrécissement notable des tissus. Par contre, le stockage prolongé des échantillons provoque une rigidité excessive des échantillons ainsi qu'une faible coloration du noyau.

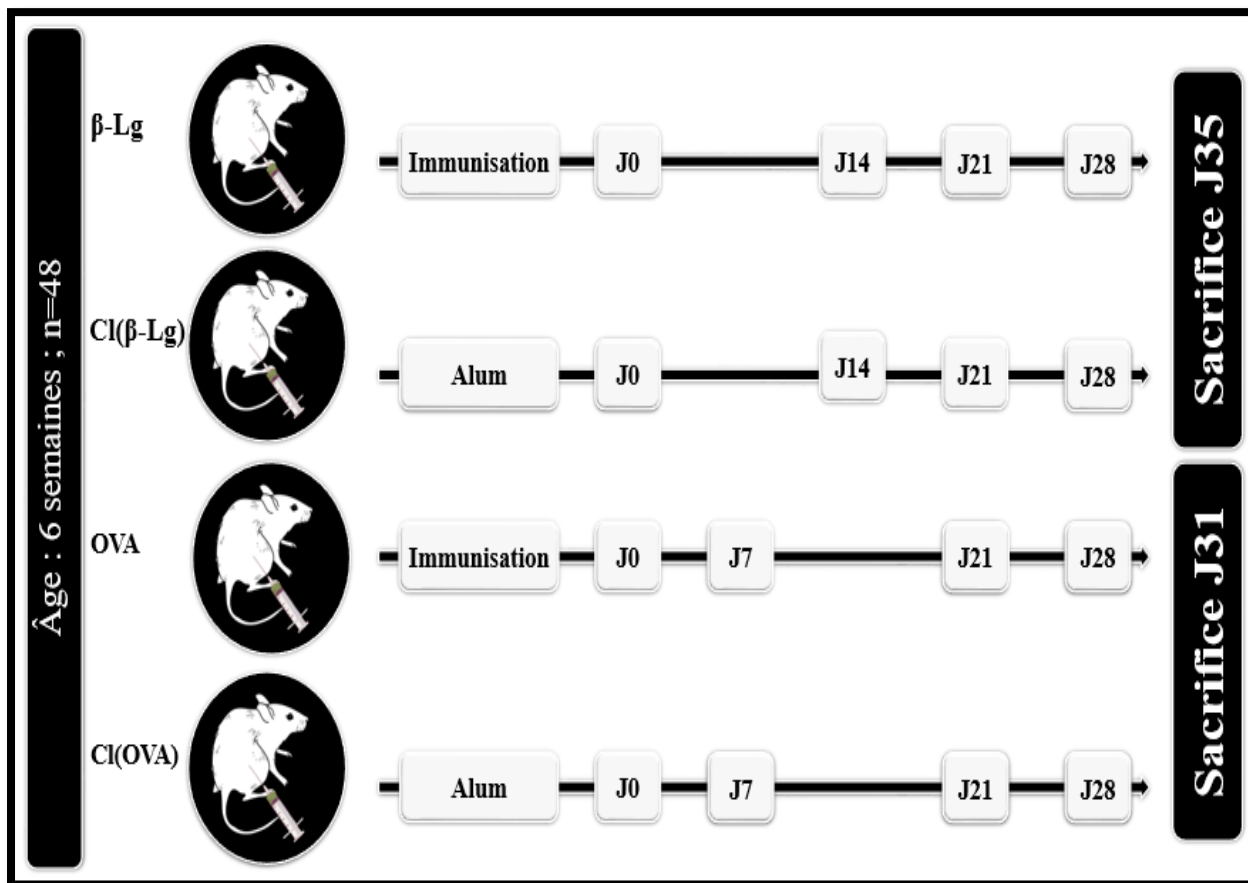


Figure 5 : Répartition des lots expérimentaux et protocole d'immunisation.

### **3.1.2. La déshydratation :**

Après fixation, les tissus ont été déshydratés dans 4 bains successifs d'acétone à l'étuve et à 56 °C. Chaque bain dure 30 minutes.

### **3.1.3. La clarification :**

Cette opération s'effectue après la déshydratation. Les pièces sont placées dans un bain de toluène, pendant 30 min, à l'étuve à 56 °C.

### **3.1.4. L'inclusion :**

L'inclusion s'effectue avec de la paraffine, qui est un mélange d'hydrocarbure solide à poids moléculaire élevé et de faible affinité. Ces substances sont caractérisées par leur indifférence aux agents chimiques. Les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure chacun.

### **3.1.5. Traitement des lames :**

Après inclusion à la paraffine, les blocs contenant le fragment sont coupés à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 4 µm.

### **3.1.6. Étalement sur lames :**

Une fois les coupes terminées, elles sont mises sur une lame de verre recouverte de colle (2 g d'albumine + 50 ml de glycérine dans 1000 ml d'eau distillée) puis placées sur une plaque chauffante réglée à une température convenable, inférieure à celle du point de fusion de la paraffine. À l'aide d'une pince, les plis de la paraffine sont tirés légèrement de chaque côté. Ensuite, l'ensemble coupe-lame est retiré de la plaque et égoutté, essoré au papier Joseph.

### **3.1.7. Déparaffinage :**

Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 2 minutes.

### **3.1.8. Réhydratation :**

L'hydratation se fait dans 3 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100 °, 95 °, 90 °, 70 °). Chaque bain dure 2 minutes. Le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante.

### **3.1.9. Coloration :**

Les lames sont colorées à l'hémalum-éosine, qui représente la plus simple des colorations combinées. On a fait agir successivement un colorant nucléaire « basique » l'hématéine, et un colorant cytoplasmique « acide », l'éosine. La coloration du noyau est bleu noir et le cytoplasme rose à rouge. La coloration des lames est effectuée comme suit (Hould, 1984) (**Tableau 2**).

- Mettre les lames dans l'hématoxyline de Harris durant 2 à 3 minutes.
- Laver les lames à l'eau ordinaire.
- En cas de sur coloration, les lames sont trempées légèrement dans de l'alcool chlorhydrique pendant quelques secondes (100 ml d'alcool à 95 ° + 5 gouttes de HCl à 1 %).
- Bleuir dans une solution aqueuse saturée de carbonate de lithium (rinçage).
- Laver les lames à l'eau ordinaire.
- Mettre les lames dans un bain d'alcool éthylique 1 à 2 minutes.
- Colorer les lames à l'éosine alcoolisée (2 g d'éosine dans 100 ml d'alcool éthylique) pendant 5 minutes.
- Rinçage des lames dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70 ° puis à 95°.
- Mettre les lames dans du toluène pendant 1 minute.
- Mettre entre lame et lamelle une goutte de baume de Canada ou d'eukitt.
- Laisser sécher puis observer au microscope.

### **3.2. Mesure de la hauteur des villosités :**

On a mesuré la hauteur des villosités des souris sensibilisés (à la  $\beta$ -lactoglobuline/l'ovalbumine) et leurs contrôles pour vérifier l'existence d'éventuelle atrophie villositaire.

#### **3.2.1. Le principe :**

Les mensurations des hauteurs villositaire sont effectuées sous un microscope optique muni d'un micromètre oculaire. Pour déterminer le nombre de microns correspondant pour chaque objectif, nous plaçons sous le microscope un micromètre objectif qui est une sorte de

## *MATÉRIELS ET MÉTHODES*

lame présentant 200 divisions, chaque division correspond à 2 mm. Le micromètre oculaire comporte 100 divisions. Ces 100 divisions correspondent à 128 divisions sur le micromètre objectif pour l'objectif (x10). Puisque les 200 divisions sur le micromètre objectif correspondent à 2000  $\mu\text{m}$ , donc les 128 divisions correspondent à 1280  $\mu\text{m}$ . Pour l'objectif (x10) chaque division correspond à 12,8.

### **4. Analyse statistique :**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard ( $X \pm ES$ ). Les comparaisons de deux moyennes sont réalisées en moyen d'un test  $t$  de student. Le seuil de signification retenu est celui qui est habituellement considéré, soit 5 %.

**Tableau 2** : Composition du colorant à l'hématoxyline de Harris (Hould, 1984).

<b>Produits</b>	<b>Quantité</b>
Hématoxyline	5 g
Éthanol	50 ml
Alun de potassium	100 g
Eau distillée	1000 ml
<b>Faire bouillir le mélange</b>	
Oxyde mercurique	2,5 g
<b>Chauffer la solution et filtrer avant usage</b>	

# *Résultats*

---

### 1. Étude histologique :

Notre objectif est de vérifier l'existence d'altérations histologiques intestinales et/ou hépatiques suite à l'immunisation à la  $\beta$ -Lg ou à l'ovalbumine.

#### 1.1. Au niveau intestinal :

##### 1.1.1 Effet de l'immunisation à la $\beta$ -Lg sur la structure intestinale :

Sur le plan structural, les villosités des souris témoins apparaissent longues et fines, bordées par un épithélium unistratifié constitué de cellules hautes à plateau strié pourvues de noyaux réguliers en position basale. Le chorion est d'aspect fibreux et apparaît polymorphe (**Figure 6**). En revanche, chez les souris immunisées à la  $\beta$ -Lg, l'épithélium est pseudostratifié, les villosités sont élargies et raccourcies suggérant la présence d'une atrophie villositaire, et une hyperplasie des cryptes est constatée (**Figure 7**).

Ces résultats indiquent que l'immunisation par voie intrapéritonéale à la  $\beta$ -Lg affecte de manière significative la structure de base de l'épithélium intestinal.

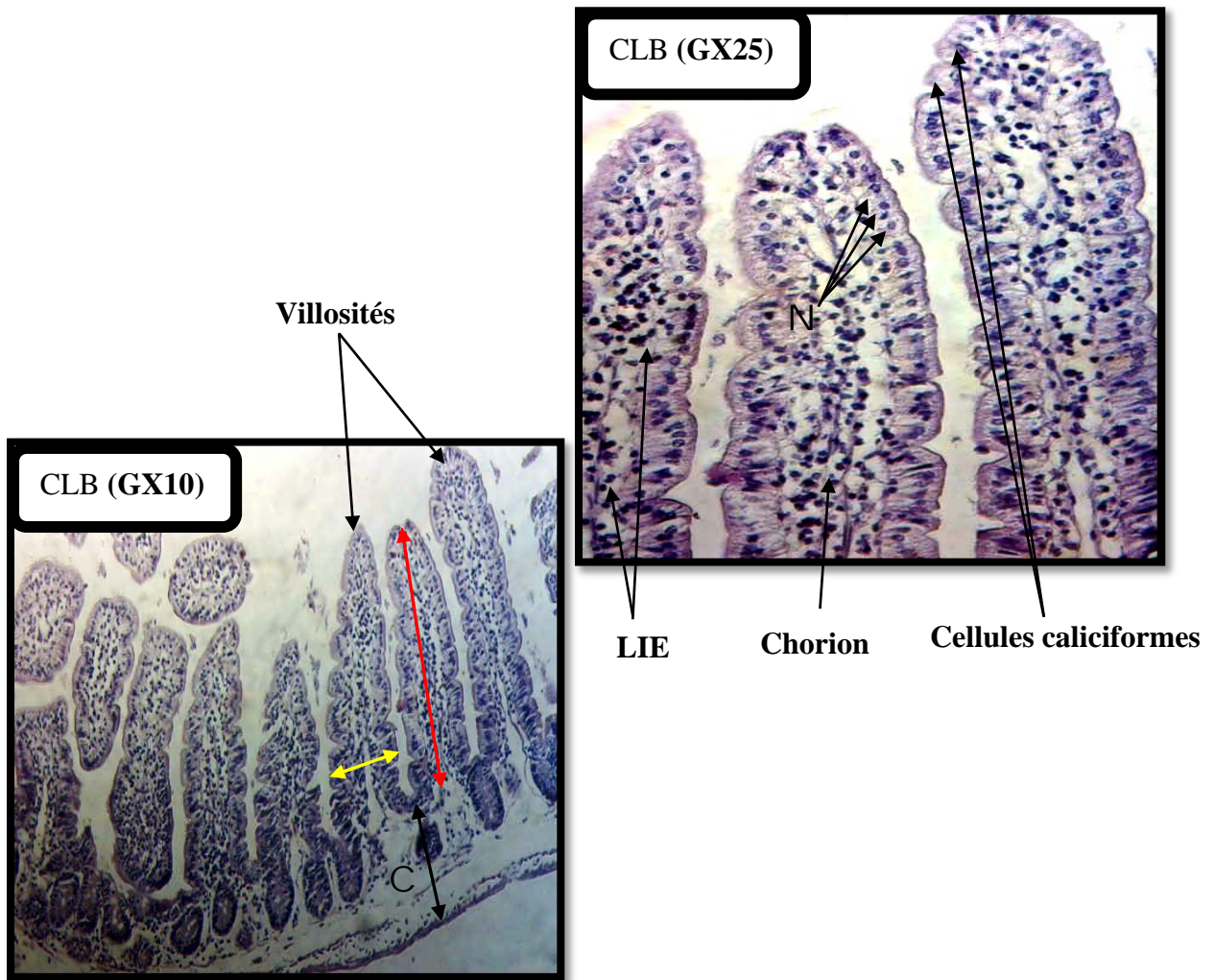
##### 1.1.2. Effet de l'immunisation à l'ovalbumine sur la structure intestinale :

L'étude histologique de fragments de jéjunum de souris témoins montre que la structure des villosités est normale. Les villosités sont longues, fines et dentelées (**Figure 8**). Alors que, l'étude histologique de fragments de jéjunum des souris immunisées à l'ovalbumine montre une atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes avec un élargissement remarquable des villosités (**Figure 9**).

Ces résultats suggèrent que l'ovalbumine dans nos conditions expérimentales provoque une altération de la muqueuse qui se traduit par une modification de la structure de l'épithélium intestinal.

##### 1.1.3. Effet de l'immunisation à la $\beta$ -Lg sur la hauteur villositaire :

La mesure de la hauteur des villosités nous permet d'avoir plus d'exactitude lors de l'évaluation de l'atrophie de ces dernières. Nos résultats montrent que la hauteur des villosités des souris immunisées à la  $\beta$ -Lg est significativement diminuée par rapport aux souris contrôles (CLB) avec les valeurs respectives de  $27,34 \pm 3,26 \mu\text{m}$  vs  $47,28 \pm 1,46 \mu\text{m}$  ( $p < 0.05$ ) (**Figure 10**).



**Figure 6 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités jéjunales de souris témoin.

Les villosités jéjunales sont longues et fines, bordées par un épithélium unistratifié. Le chorion est d'aspect fibreux et apparaît polymorphe.

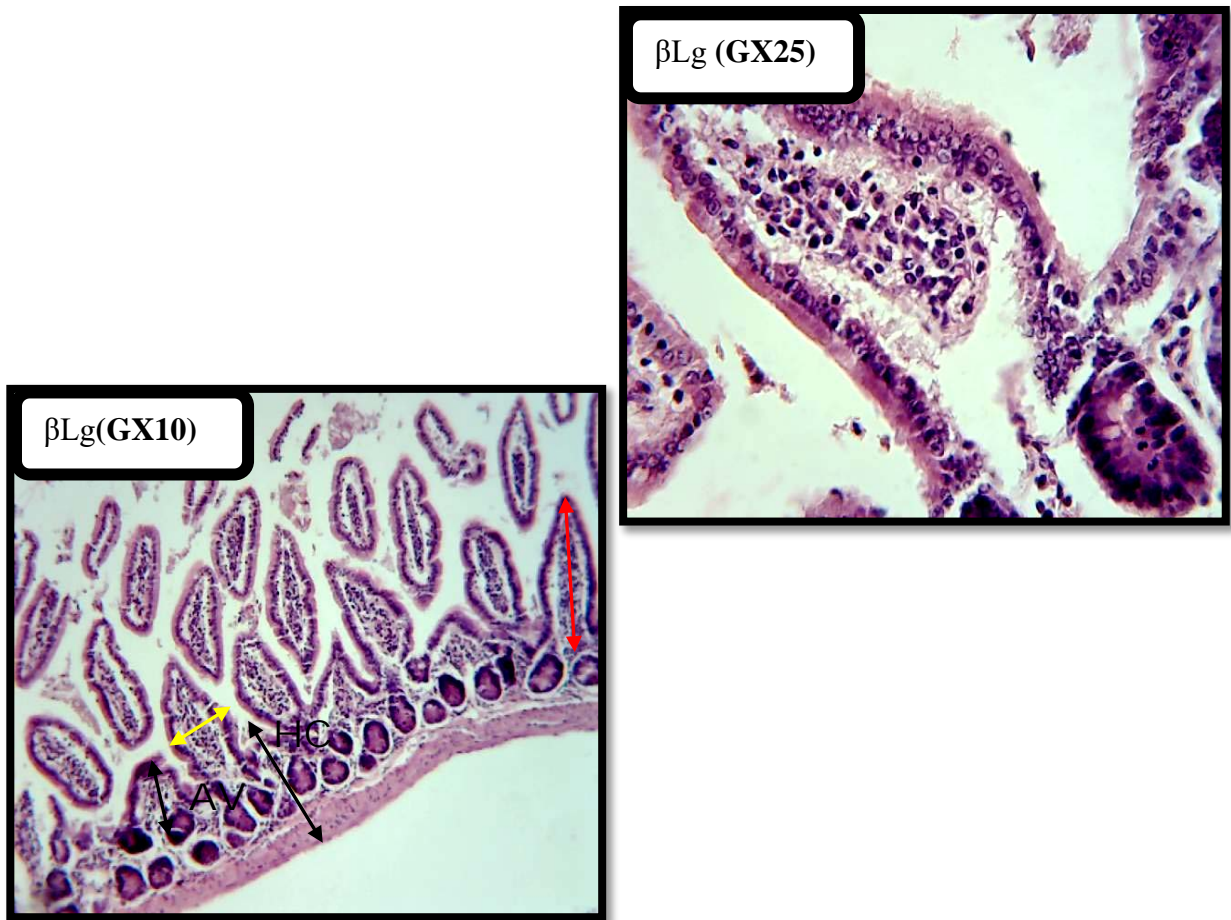
↕ : longueur de la villosité.

↔ : largeur de la villosité.

LIE : lymphocytes intra-épithéliaux.

C : cryptes de taille normale.

N : noyaux.



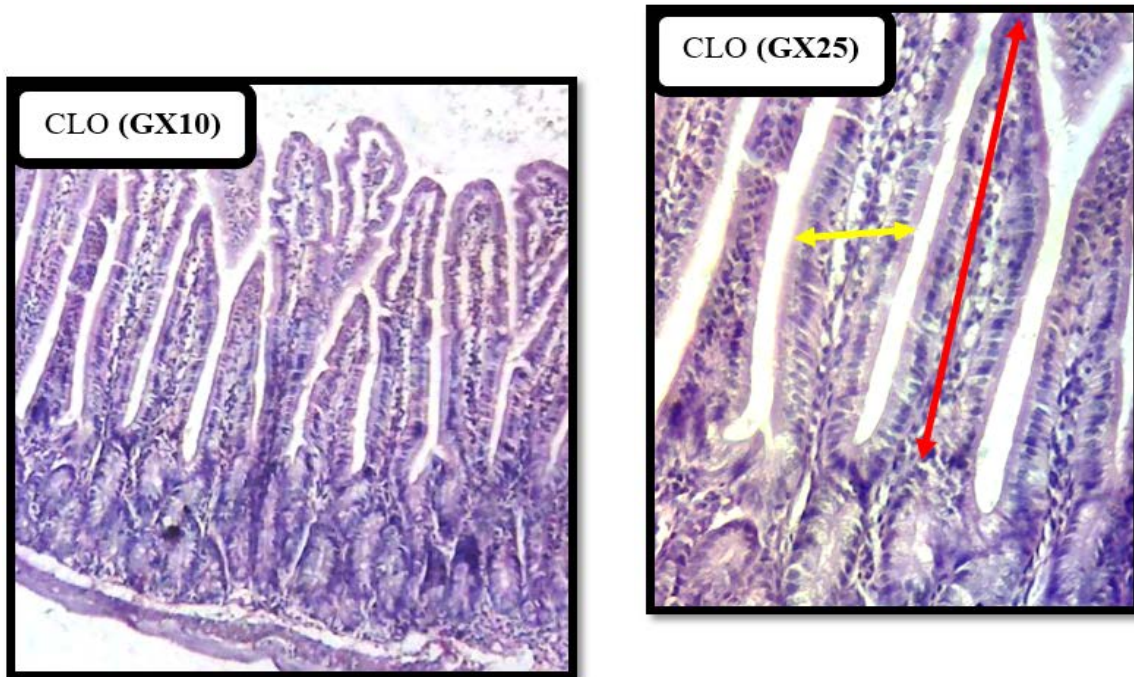
**Figure 7 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris immunisée à la  $\beta$ -lg.

Les villosités jéjunales sont élargies, bordées d'un épithélium pseudostratifié. Une atrophie villositaire est constatée avec une hyperplasie des cryptes.

↕ : longueur de la villosité  
↔ : largeur de la villosité.

HC : hyperplasie des cryptes.

AV : atrophie villositaire.

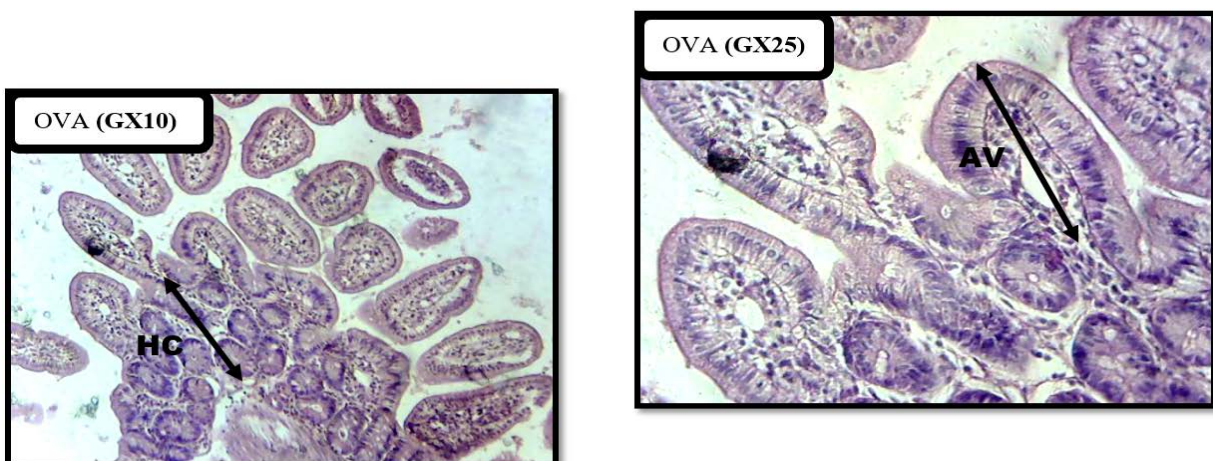


**Figure 8 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris témoin.

Les villosités intestinales apparaissent longues, fines et dentelées, bordées par un épithélium unistratifié.

↕ : longueur de la villosité

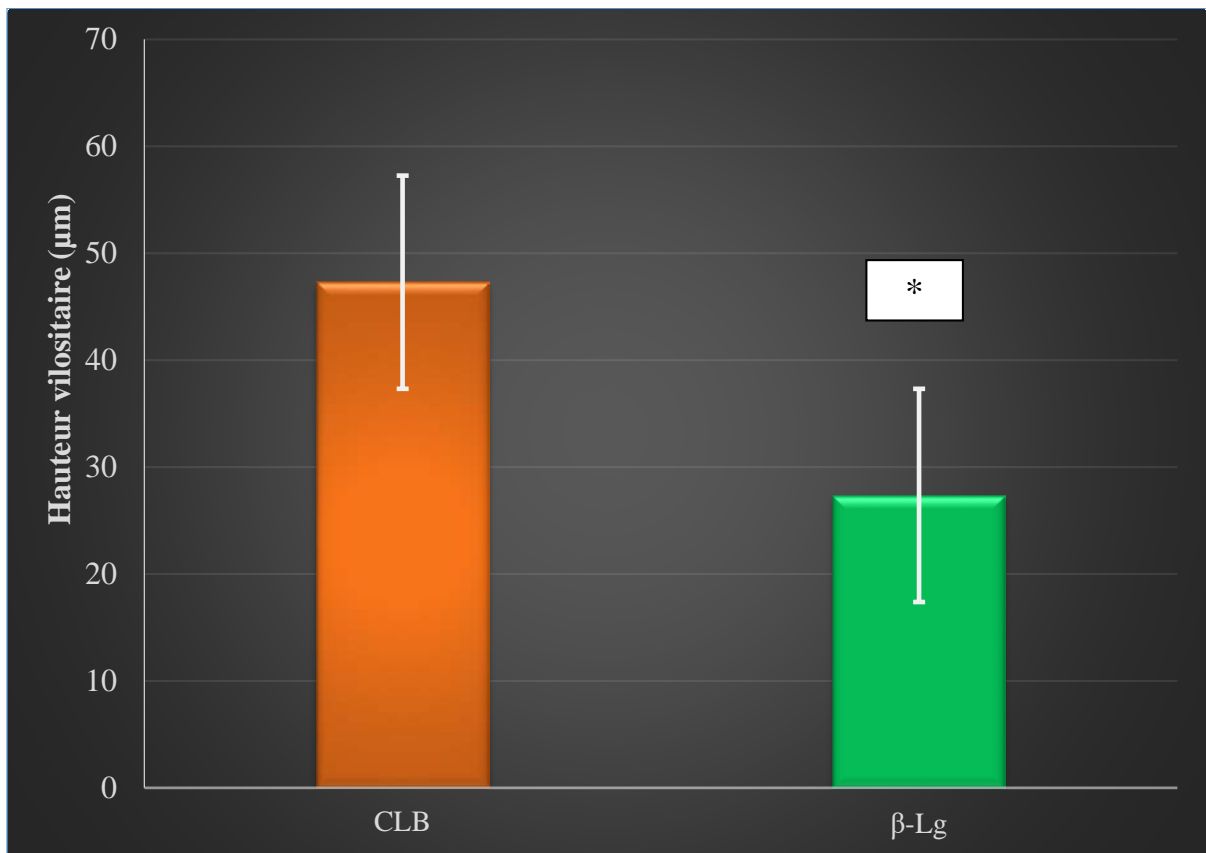
↔ : largeur de la villosité.



**Figure 9 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements de villosités intestinales de souris immunisées à l'ovalbumine.

On remarque une hyperplasie des cryptes avec une atrophie villositaire.

HC : hyperplasie des cryptes. AV : atrophie villositaire.



**Figure 10 :** Effet de la sensibilisation à la  $\beta$ -Lg sur la hauteur villositaire.

- **CLB :** Souris contrôles  $\beta$ -Lg.
- **$\beta$ -Lg :** Souris sensibilisées à la  $\beta$ -Lg.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

On note une diminution significative de la hauteur villositaire des souris immunisées à la  $\beta$ -Lg en comparaison avec les souris contrôles.

**\*p < 0.05.**

### **1.1.4. Effet de l'immunisation à l'ovalbumine sur la hauteur villositaire :**

La hauteur villositaire chez les souris contrôles (CLO) est de  $44,61 \pm 1,07 \mu\text{m}$ . Elle est significativement diminuée chez les souris immunisées à l'ovalbumine (OVA) ( $31,41 \pm 1,33 \mu\text{m}$ ) ( $p < 0.01$ ) (Figure 11).

### **1.2. Au niveau hépatique :**

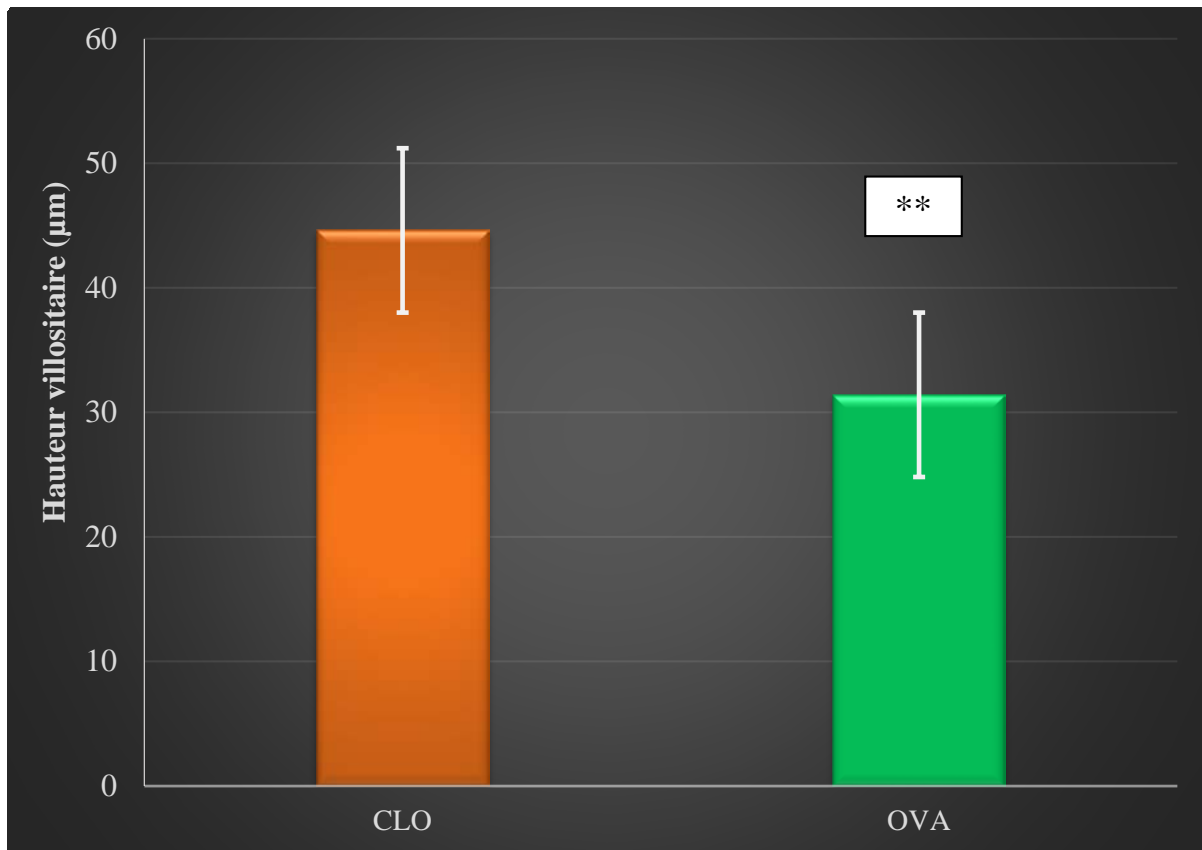
L'observation microscopique réalisée sur coloration topographique des coupes histologiques révèle une dégénérescence cellulaire chez les souris  $\beta$ -Lg et OVA.

Chez les souris traitées à la  $\beta$ Lg, la majorité des hépatocytes présentent une dégénérescence cellulaire. Les cellules hépatocytaires paraissent vacuolées et pâles suite à une imbibition diffuse du cytoplasme (ballonisation des hépatocytes) par hyperhydratation. Les lésions cytoplasmiques sont caractérisées par la dilatation des organites et une accumulation d'eau et d'électrolytes, ce qui contribue à éclaircir le cytoplasme (augmentation de la perméabilité cellulaire). Les noyaux des hépatocytes paraissent hyperchromatiques dus à une condensation chromatinienne et maintiennent la position centrale. Les veines centrolobulaires sont de taille normale et les sinusoides sont comprimés car ils sont invisibles. On note également la présence de quelques infiltrats inflammatoires (Figure 13).

Cependant, chez les souris traitées à l'OVA, la dégénérescence cellulaire est modérée. Les mêmes anomalies sont observées à l'exception des veines centrolobulaires qui sont comprimées chez ces souris (Figure 15).

En effet, chez les souris CLB et CLO, la dégénérescence cellulaire est observée par endroit. Les lésions hépatocytaires sont observées dans quelques hépatocytes. Cependant, Les veines centrolobulaires sont de taille normale et les sinusoides sont bien visibles et absence d'infiltrats inflammatoires (Figure 12 ; Figure 14).

Les lésions cellulaires observées expriment une dégénérescence hydropique caractérisée par une hyperhydratation cellulaire survenant dans la cellule sous l'action d'un agent agresseur. Cependant, ces réactions sont réversibles.



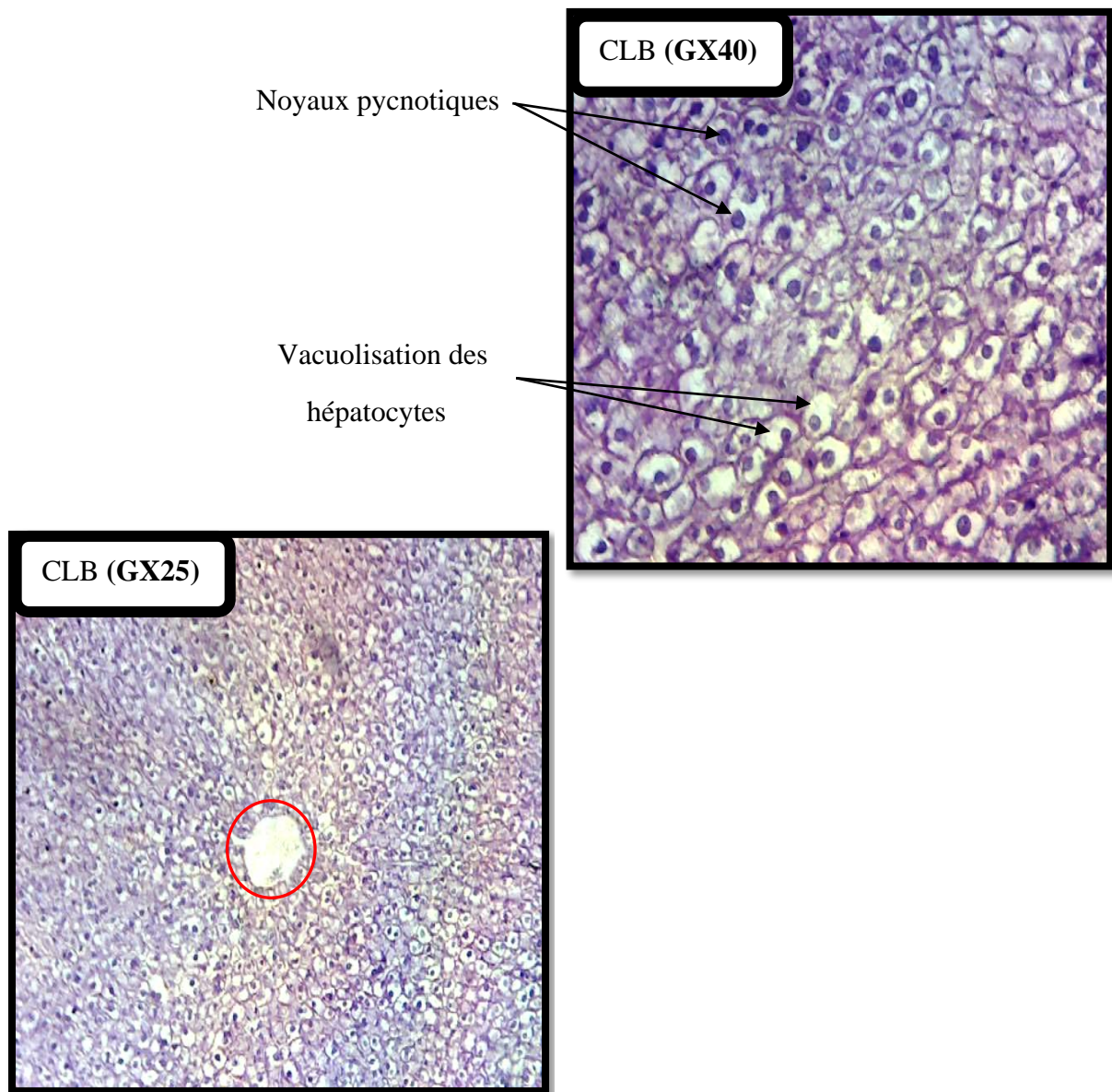
**Figure 11 :** Effet de la sensibilisation à l'ovalbumine sur la hauteur villositaire.

- **CLO :** Souris contrôles ovalbumine.
- **OVA :** Souris sensibilisées à l'ovalbumine.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

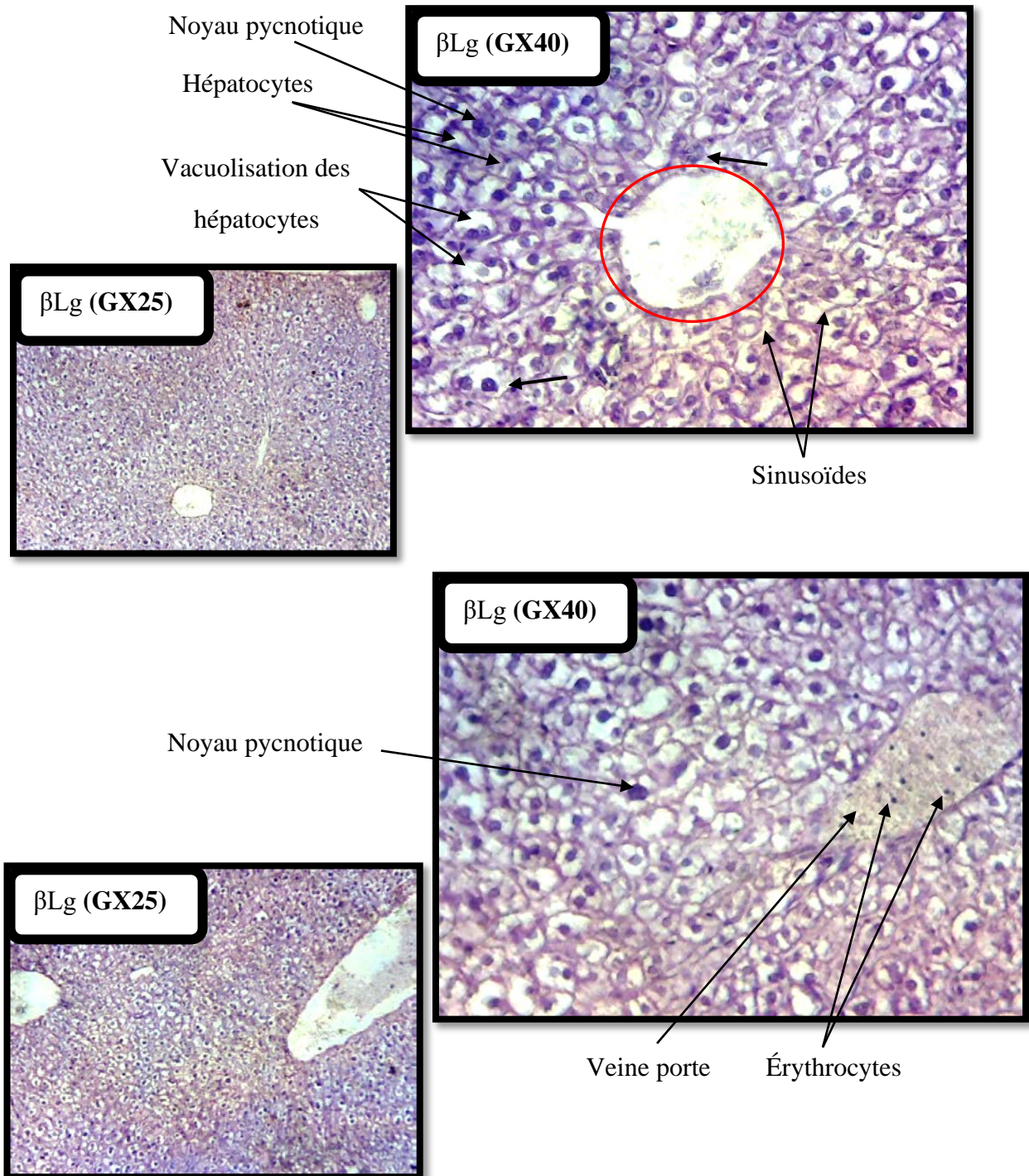
On note une diminution très significative de la hauteur villositaire des souris immunisées à l'ovalbumine en comparaison avec les souris contrôles.

**\*\*p < 0.01**

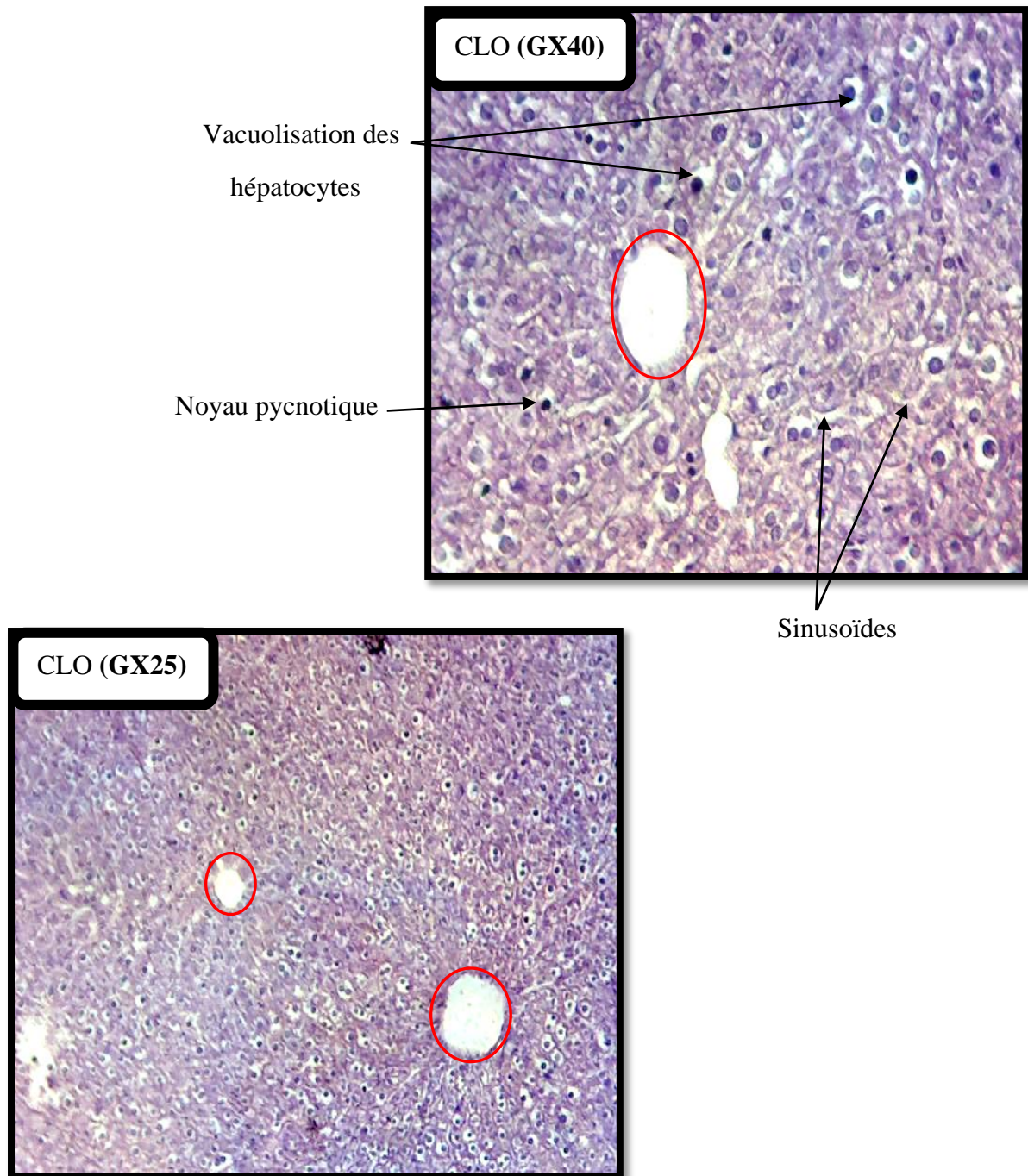


**Figure 12 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris témoins. Coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E). La veine centrolobulaire de taille normale (entourée en rouge) et les sinusoides sont compressés, importante dégénérescence cellulaire caractérisée par la présence de noyaux pycnotiques (condensation de la chromatine) et vacuolisation des hépatocytes.

Une dégénérescence cellulaire par endroit caractérisée par la présence de noyaux pycnotiques et vacuolisation des hépatocytes.

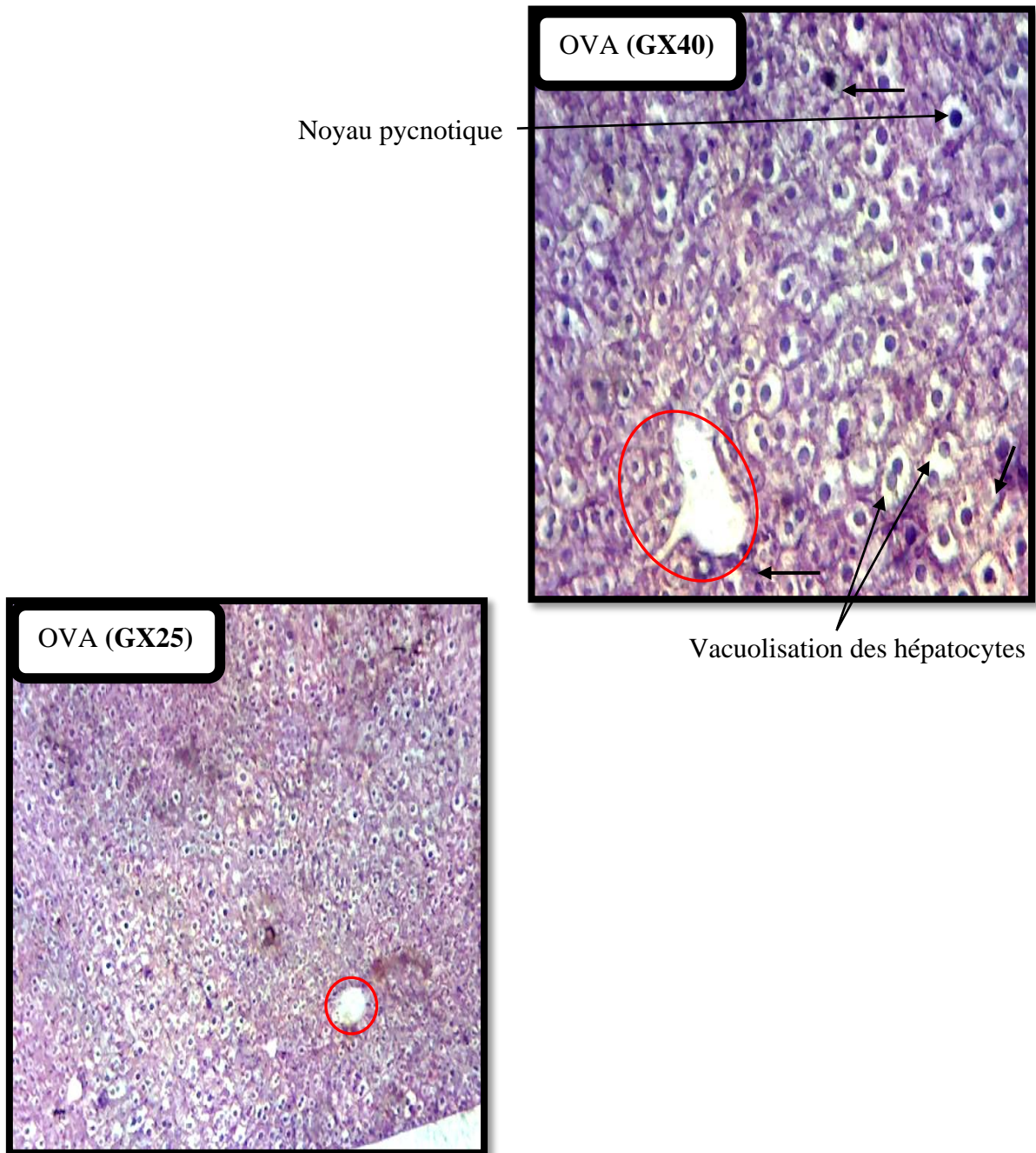


**Figure 13 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris immunisées à la  $\beta$ -Lg. Coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E). La veine centrolobulaire de taille normale (entourée en rouge) et les sinusoides sont compressés, importante dégénérescence cellulaire caractérisée par la présence de noyaux pycnotiques (condensation de la chromatine) et vacuolisation des hépatocytes. La présence de noyaux pycnotiques et d'un infiltrat inflammatoire (indiqué par des flèches) ainsi qu'une ballonnisation des hépatocytes.



**Figure 14 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris témoins. Coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E). La veine centrolobulaire de taille normale (entourée en rouge) et les sinusoides sont visibles, présence de quelques noyaux pycnotiques et ballonnisation de quelques hépatocytes.

Une dégénérescence cellulaire par endroit caractérisée par la présence de noyaux pycnotiques et vacuolisation des hépatocytes,



**Figure 15 :** Observation au microscope optique à deux différents grossissements des coupes histologiques du foie des souris immunisées à l’OVA. Coloration à l’hématoxyline-éosine (H&E). La veine centrolobulaire rétrécit (entourée en rouge) et les sinusoides sont compressés, présence de noyaux pycnotiques et d’un infiltrat inflammatoire (indiqué par des flèches) ainsi qu’une ballonnisation des hépatocytes.

Une dégénérescence cellulaire modérée caractérisée par la présence de noyaux pycnotiques et vacuolisation des hépatocytes.

# *Discussion*

---

## Discussion

Ce travail a été entrepris dans le but de vérifier l'existence d'altérations histologiques intestinales et / ou hépatiques suite à l'immunisation à la  $\beta$ -lactoglobuline ou à l'ovalbumine.

Pour cela, nous avons sensibilisé des souris Balb/c à l'un des deux allergènes alimentaires (la  $\beta$ -lactoglobuline ou l'ovalbumine) par voie intra-péritonéale. Ces deux protéines représentent deux allergènes communs et très répandus (Melissa et *al.*, 2018). Dans notre travail, nous avons utilisé des souris femelles Balb/c, une souche forte productrice d'IgE et mimant ainsi le phénotype atopique humain qui fait d'elle un outil très intéressant pour étudier la phase de sensibilisation aux allergènes (Dearman, 2001).

La voie intra-péritonéale en présence d'hydroxyde d'aluminium a été choisie comme voie de sensibilisation car elle est facile à utiliser et permet d'introduire l'antigène directement au niveau systémique. Elle est efficace et optimise les réponses immunitaires (Dearman et *al.*, 2003 ; Chen et *al.*, 2013).

### **1. Au niveau intestinal :**

L'analyse histologique des fragments jéjunaux permet d'évaluer l'effet des deux allergènes sensibilisants ( $\beta$ -Lg et OVA) sur les altérations tissulaires. Nos résultats montrent chez le groupe des souris sensibilisées une diminution significative de la hauteur villositaire qui se traduit par la présence d'une atrophie villositaire et/ou une hyperplasie des cryptes. Les mêmes observations ont été faites par Dib et *al.*, (2014), Guendouz et *al.*, (2017) et Haddi et *al.*, (2018) chez les souris sensibilisées à la  $\beta$ -Lg et d'autres études effectuées sur des animaux et biopsies d'intestins humains (Phillips et *al.*, 1979 ; Ferguson, 1992 ; Nagata et *al.*, 1995 ; Saïdi et *al.*, 1995 ; Moneret-Vautrin, 2001 ; Butt et *al.*, 2002 ; Eigenmann, 2002 ; Ogawa et *al.*, 2003 ; Addou et *al.*, 2004 ; Mehedi et *al.*, 2007 ; Bourrillon, 2008).

D'après la littérature, les altérations au niveau de la muqueuse intestinale ont un effet profond sur l'activité des enzymes de la bordure en brosse (Chapell et *al.*, 2003) et sur la masse et l'intégrité de la muqueuse (Nunez et *al.*, 1996).

Nos résultats confirment d'une part le pouvoir immunogène élevé de la  $\beta$ -Lg et de l'OVA (Saïdi, 1995 ; El Agamy, 2007 ; Lu et *al.*, 2018), et montrent d'autre part que ces

animaux présentent un degré élevé de sensibilisation à ces deux protéines (Negaoui et *al.*, 2009 ; Zellal et *al.*, 2011).

Il est maintenant établi que les réactions allergiques alimentaires IgE-dépendantes affectent un ou plusieurs organes cibles tels que la peau, les voies respiratoires, le tube digestif et le système cardiovasculaire (Sicherer, 2002). Ebert, (1998) montre que les lymphocytes intra-épithéliaux sont augmentés sous l'action du TNF- $\alpha$  libéré au cours des réactions inflammatoires.

### **2. Au niveau hépatique :**

Nous avons montré que la sensibilisation aux allergènes alimentaires (à la  $\beta$ -Lg ou à l'OVA) entraîne des modifications histologiques du foie. Ces modifications sont présentées principalement par une dégénérescence cellulaire. D'après Morsiani et *al.*, (2019) le premier signe de la dégénérescence du foie est la suraccumulation de triglycérides, qui conduit à la formation de petites/grandes gouttes de graisse dans le foie et progressivement à la stéatose (maladie primaire du foie gras non alcoolique), souvent caractérisée par un processus de vieillissement du foie (Gong et *al.*, 2017). Lorsque de grosses vacuoles se coalisent et produisent des lésions irréversibles (Yu et *al.*, 2018), favorise l'apparition de la stéato-hépatite.

Plusieurs études suggèrent l'importance du foie en tant que « système régulateur » où différentes populations de cellules immunitaires et non immunitaires travaillent ensemble pour prévenir la réponse immunitaire contre les allergènes alimentaires d'origine intestinale (Knolle et Wohlleber, 2016). Ces cellules immunitaires coexistent de manière symbiotique pour renforcer les fonctions métaboliques hépatiques (Thomson et Knolle, 2010).

Récemment, Trinchese et *al.*, (2018) ont montré que la sensibilisation à l'arachide, un puissant allergène alimentaire, entraîne une modification des caractéristiques biochimiques du foie. Selon les auteurs, cette modification est présentée par une augmentation du taux des radicaux libres.

# *Conclusion*

---

### Conclusion

Ce travail de mémoire a été mené dans le but d'évaluer les altérations histologiques intestinales et/ou hépatiques induites par l'immunisation à deux allergènes alimentaires majeurs (la  $\beta$ -Lactoglobuline ou l'ovalbumine). Pour cela, nous avons déterminé les atteintes histologiques tissulaires en utilisant la coloration à l'hémalun-éosine.

L'analyse en microscopie optique révèle, chez les souris immunisées (à la  $\beta$ -Lactoglobuline ou à l'ovalbumine), une modification structurale au niveau intestinal reflétée par une atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes avec un élargissement remarquable des villosités. Chez les souris témoins, la structure villositaire reste intacte.

Ces résultats confirment le pouvoir altérative de ces deux protéines ( $\beta$ -Lg et l'OVA) sur les fragments intestinaux.

De même, l'étude histologique des coupes hépatiques des souris sensibilisées indique des modifications structurales présentées principalement par une dégénérescence cellulaire.

En conclusion, l'immunisation par voie intrapéritonéale à la  $\beta$ -Lg ou à l'OVA induit une modification structurale au niveau intestinal et hépatique.

# *Références bibliographiques*

---

## Références bibliographiques :

---

- **Addou S., Tomé D., Kheroua O., Saidi D.,** 2004 - Parenteral immunization to lactoglobuline modifies the intestinal structure and mucosal electrical parameters in rabbit. *International Immunopharmacology*, (4): 1559-1563.
- **Adel-Patient K.,** 2016 - allergies alimentaires : mécanismes, biomarqueurs et impact de différents facteurs environnementaux, *Innovations Agronomiques*, **14** :1-14.
- **Alami O.,** 2010- Effet de la consommation subchronique de la tartrazine sur la structure histologique des reins, du foie et du cerveau chez la souris Swiss, thèse de doctorat, Université d'Oran Es-Sénia, Oran, 99p.
- **Belarbi-Amar N.,** 2019- Le foie, Université Oran 1 Ahmed Benbella, Faculté de Medecine, Service d'Histologie-Embryologie, 15p.
- **Benhamou A. H., Schäppi Tempia M. G., Belli D. C., Eigenmann P. A.,** 2009- An overview of cow's milk allergy in children. *Swiss Med Wkly*, 139, 300-7.
- **Breiteneder H., Ebner C.,** 2000- Molecular and biochemical classification of plant derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 106, 27-36.
- **Cebra J.J.,** Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin.*
- **Chafen J.J., Newberry S.J., Riedl M.A., Bravata D.M., Maglione M., Suttorp M.J., Sundaram V., Paige N.M., Towfigh A., Hulley B.J., Skekelle P.G.,** 2010- Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. *JAMA*; **303**:1848-1856.
- **Chen C., Sun N., Li Y., Jia X.,** 2013- A BALB/c mouse model for assessing the potential Allergenicity of proteins: Comparison of allergen dose, sensitization frequency, time point and sex. *Food and Chemical Toxicology*, **62**: 41–47.
- **Chobert J.M., Briand L., Grinberg V., Haertlé T.,** 1995- Impact of esterification on the folding and the susceptibility to peptic proteolysis of  $\beta$ -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1248**:170-176.
- **Corbitt N., Kimura S., Isse K., Specht S., Chedwick L., Rosborough B.R., Lunz J.G., Murase N., Yokota S., Demetris A.J.,** 2013- Gut bacteria drive Kupffer cell expansion via MAMP-mediated ICAM-1 induction on sinusoidal endothelium and influence preservation-reperfusion injury after orthotopic liver transplantation. *Am. J. Pathol.* 182, 180–191.

- **Dearman R.J., Kimber I.**, 2001- Determination of protein allergenicity: studies in mice. *Toxicol Lett*, **120**:181–6.
- **Deugnier Y.**, 2005- ANATOMO - PHYSIOLOGIE DU FOIE, Univ-Rennes1 Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires Version Septembre 2005, 7p.
- **Dib W., Chekroun A., El Ghaish S., Choiset Y., Chobert J.M., Haertlé T., Saidi D., Kheroua O.**, 2014- Protecting effect of *Enterococcus faecium* on intestinal epithelial structure in Balb/c mice immunized via intraperitoneal way by  $\beta$ - lactoglobulin. *Int J Pharm Sci*, **6**:587- 590.
- **DunnGalvin A., Dubois A.E., Flokstra-de Blok B.M., Hourihane J.O.**, 2015- The effects of food allergy on quality of life. *Chem Immunol Allergy*, **101**:235-52.
- **Eigenmann P.A.**, 2002- T lymphocyte in food allergy: overview of an intricate network of circulating and organ-resident cells. *Pediatr Allergy Immunol*, **13**: 162-171.
- **Encha-Razavi F., Escudier E.**, 2008- Foie- Voies biliaires, *In : Les Fondamentaux De La Pathologie Digestive*, 4e édition, CDU-HGE/Éditions Elsevier-Masson, 39 p.
- **El-Zahar K., Sitohy M., Dalgalarondo M., Choiset Y., Metro F., Haertle T., Chobert JM.**, 2004- Purification and physicochemical characterization of ovine beta lactoglobulin and alpha-lactalbumin. *Nahrung*, **48**(3): 177-83.
- **Ferguson A., Arranz E., O'Mahony S.**, 1993- Clinical and pathological spectrum of coeliac disease: active, silent, latent, potential. *Gut*, **34**: 150-1.
- **Franceschi C., Garagnani P., Morsiani C., Conte M., Santoro A., Grignolio A., MontiD., Capri M., Salvioli S.**, 2018- The continuum of aging and age-related diseases: common mechanisms but different rates. *Front. Med.* **5**.
- **Freitas-Lopes M., Mafra K., David B., Carvalho-Gontijo R., Menezes G.**, 2017- Differential location and distribution of hepatic immune cells. *Cells*, **6**, 48.
- **Gell P.G.H., Coombs R.R.A.**, 1963- The classification of allergic.
- **Giovanna T., Lorella P., Rosita A., Carmela F., MichelaV., Rita N., Maria P.M., Roberto B. C.**, 2018- Hepatic Mitochondrial Dysfunction and Immune Response in a Murine Model of Peanut Allergy, **10** (744):10-3390.
- **Gong Z., Tas E., Yakar S., Muzumdar R.**, 2017- Hepatic lipid metabolism and nonalcoholic fatty liver disease in aging. *Mol CellEndocrinol*, **455**, 115–130.
- **Goole J., Deleuze P.H., Vanderbist F., Amighi K.**, 2008- New levodopa sustained-release floating minitablescoated with insoluble acrylic polymer. *Eur J PharmBiopharm*, **68**: 310- 318.

- **Grant C.R., Liberal R.,** 2017- Liver immunology: how to reconcile tolerance with autoimmunity. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 41, 6–16.
- **Greenhawt M., Schultz F., DunnGalvin A.,** 2016- A validated index to measure health-related quality of life in patients with food protein-induced enterocolitis syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 137(4): 12511253.e5.
- **Grignon G.,** 1997- PCEM d'Histologie. Edition Ellipses 1997.
- **Guendouz M., Haddi A., Grar H., Kheroua O., Saidi D., Kaddouri H.,** 2017- Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. *Pharm Biol*, 55: 2145-52.
- **Hadjadj H.,** 2009- Réponse immunologique sérique et intestinale des souris Balb/c sensibilisées par voie orale au lait entier de dromadaire et de vache, Thèse de doctorat, Université d'Oran Es- Sénia, Oran, 127p.
- **Han Y., Kim J.& Ahn K.,** 2012- Food allergy. *Korean J Pediatr*, 55, 153-8.
- **Hao W. L., & Lee Y. K.,** 2004- Microflora of the gastrointestinal tract: a review. *Methods Mol Biol*, 268, 491-502.
- **Haton C.,** 2005- Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale, Thèse de doctorat, Université Paris VI, Pierre et Marie Curie, 167p.
- **Hazebrouk S., Przybylski- Nicaise L., Ah-Leung S., Adel-Patient K., Corthier G., Wal JM., Rabot S.,** 2009-Allergic Sensitization to Bovine  $\beta$ -Lactoglobulin: Comparison between Germ-Free and Conventional BALB/c Mice. *Int Arch Allergy Immunol*; 148:65-72.
- **Hould R.,** 1984- Technique d'histopathologie et de cytopathologie. Paris, Montréal, Maloine- Décarie, Chap II, 147-156.
- **Høst A.,** 2002- Frequency of cow's milk allergy in childhood. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 89, 33-7.
- **Knolle P.A., Wohlleber D.,** 2016- Immunological functions of liver sinusoidal endothelial cells. *Cell. Mol. Immunol.* 13, 347–353.
- **Kontopidis G., Holt C., Sawyer L.,** 2004- $\beta$ - Lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *J Dairy Sci*, 87(4): 785-796.
- **Lack G.,** 2008- Epidemiologic risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 121, 1331-6.
- **Liang X., Fitz-Gerald G.A.,** 2017- Timing the microbes: the circadian rhythm of the gutmicrobiome. *J. Biol. Rhythms*, 32, 505–515.

- **Lignon L., Chiny P.,** 2013- Les allergies et intolérances alimentaires. Existe -t-il un intérêt des prébiotiques dans la prise en charge thérapeutique ? Thèse de doctorat, Université de Lorraine, Lorraine, 221 p.
- **Lin S., Cicala C., Scharenberg A. M. & Kinet J. P.,** 1996- The Fc (epsilon) RI beta subunit functions as an amplifier of Fc(epsilon) RI gamma-mediated cell activation signals. *Cell*, 85, 985-95.
- **Lorentz A., Schwengberg S., Sellge G., Manns M. P. & Bischoff S. C.,** 2000- Human intestinal mast cells are capable of producing different cytokine profiles: role of IgE receptor cross-linking and IL-4. *J Immunol*, 164, 43-8.
- **Lucas J.S., Cochrane S.A., Warner J.O., Hourihane J.O.,** 2008- The effect of digestion and pH on the allergenicity of kiwifruit proteins. *Pediatr Allergy Immunol*.
- **Lucini C., Maruccio L., Girolamo P., Vega J.A. and Castaldo L.,** 2002- Localisation of neurotrophin - containing cells in higher vertebrate intestine. *Anat Embryol (Berl)*, 205(2): 135-140.
- **Macpherson A. J. & Harris N. L.,** 2004- Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*, 4, 478-85.
- **Melissa L., Robinson F., Bruce J., Lanser M.,** 2018- The Role of Baked Egg and Milk in the Diets of Allergic Children., **38** (1): 65-76.
- **Michel R.,** 1999- Physiologie animale, les grandes fonctions. Tome 2, 2<sup>ème</sup> édition. Masson II Paris, 322p.
- **Moneret-Vautrin D.A., Hatahet R., Kanny G.,** 2001- Hydrolysats de protéines : laits hypoallergéniques et formules extensivement hydrolysées. Bases immunoallergologiques de leur utilisation dans la prévention et le traitement de l'allergie au lait. *Arch Pediatr*, **8** : 1348 57.
- **Moreno S.R., Carvalho J.J., Nascimento A.L., Pereira M., Rocha E.K., Olej B., Caldas L.Q., Bernardo F.L.,** 2007- Experimental model to assess possible medicinal herb interaction with a radiobiocomplex: qualitative and quantitative analysis of kidney, liver and duodenum isolated from treated rats. *Food Chem Toxicol*, **45**(1): 19-23.
- **Morin S.,** 2012 – Influence de la présence et de la composition du microbiote intestinale sur le développement et la prévention des allergies alimentaires, Thèse de doctorat, Université Paris V- Rene Descartes, 212p.

- **Morsiani C., Bacalinib M. G., Santoroa A., Garagnania P., Colluraa S., D'Erricoh A., Eguileori M., Grazij G. L., Cesconk M., Franceschia C., Capria M.,** 2019- The peculiar aging of human liver: A geroscience perspective within transplant context, *Ageing Research Reviews* 51, 24–34.
- **Nagata S., Yamashiro Y., Ohtsuka Y., Shioya T., Oguchi S., Shimizu T., and Maeda M.,** 1995- Quantitative analysis and immunohistochemical studies on small intestinal mucosa of food-sensitive enteropathy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, **20**: 44-48.
- **Negaoui H., Kaddouri H., Kheroua O., Saidi D.,** 2009- A Model of Intestinal Anaphylaxis in Whey Sensitized Balb/c Mice, *Am J Immunol* 2:56-60.
- **Nisbet D., Saundry R.H., Moir J., Fothergill L., and Fothergill J.E.,** 1981- The complete amino-acid sequence of hen ovalbumin. *Eur J Biochem*, 115, 335–345.
- **Pascual S et al.,** 2001-La barrera intestinal : trastornos funcionales en enfermedada des digestivas y extradigestivas. *Gastroenterol Hepatol*, **24** :256-267.
- **Phillips A.D., Rice S.J., France N.E., Walker-Smith J.A.,** 1979- Small intestinal intraepithelial lymphocyte level in cow's milk protein intolerance. *Gut*, **20** (6): 509-512.
- **Poza-Guedes P., Barrios Y., Gonzalez-Perez R., Sanchez-Machin I., Franco A., Matheu V.,** 2016- Role of specific IgE to  $\beta$ -Lactoglobulin in the gastrointestinal phenotype of cow's milk allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol*, **12**:7.
- **Prescott S., Allen K.J.,** 2011- Food allergy: riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol*, **22**(2) :155-60.
- **Prioult G., & Nagler-Anderson C.,**2005- Mucosal immunity and allergic responses: lack of regulation and/or lack of microbial stimulation, *Immunol Rev*, 206, 204-18.
- **Racanelli V., Reherrmann B.,** 2006- The liver as an immunological organ. *Hepatology* 43, S54–S62.
- **Rancé F.,** 2004-Les allergies alimentaires. **Paris : Expansion Scientifique Française.**
- **Robinson M.W., Harmon C., O'Farrelly C.,** 2016- Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol*, 13, 267–276.
- **Rytkonen J., Alatossava T., Nieminen M., Valkonen KH.,** 2002- Isolation and characterization of  $\beta$ -Lactoglobulin from reindeer milk. *Milchwissenschaft*, **57**(5): 259-261.
- **Saidi D., Heyman M., Kheroua O., Boudraa G., Bylsma P., ChekrounA., Maragi J-A., Touhami M., Desjeux J.F.,** 1995- Réponse intestinale à la  $\beta$ - lactoglobuline dans l'allergie aux protéines du lait de vache. *CR Acad Sci. Science de la vie*, **318** : 117-123.

- **Salvatore S., Vandenplas Y.,**2016-Hydrolysed Proteins in Allergy. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, **86**: 11-27.
- **Sampson HA.,**2016-Food allergy: past, present and future. *Allergol Int*, **65**:363-369.
- **Savage J.H., Matsui E.C., Skripak J.M., Wood R.A.,** 2007- The natural history of egg allergy. *J AllergyClinImmunol*,**120**:1413-7.
- **Sawyer L., Kontopidis G.,**2000- The core lipocalin, bovine  $\beta$ -Lactoglobulin. *Biochimica et BiophysicaActa*, **1482**:136-148.
- **Schwartz R.,** 1992- Allergy, intolerance, and over adverse reactions to foods. *Pediatr Ann*,**21**: 654-674.
- **Schäfer T., Böhler E., Ruhdorfer S., Weigl L., Wessner D., Heinrich J., Filipiak B., Wichmann H. E.& Ring J.,** 2001- Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy*, 56, 1172-9.
- **Selo I., Clement G., Bernard H., Chatel J., Creminon C., Peltre G., Wal J.,** 1999- Allergy to bovine beta- lactoglobuline: specificity of human IgE to tryptic peptides. *Clin Exp Allergy*, **29**(8): 1055-1063.
- **Sicherer S.H., Sampson H.A.,** 2014- Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy ClinImmunol*,**133**: 291- 307.
- **Skripak J.M., Matsui E.C., Mudd K., Wood R.A.,** 2007- The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy ClinImmunol*,**120**:1172-7.
- **Spergel JM.,**2013- Natural history of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*, **131**: 813-4.
- **Thaiss C.A., Levy M., Korem T., Dohnalová L., Shapiro H., Jaitin D.A., David E.,Winter D.R., Gury-BenAri M., Tatirovsky E., Tuganbaev T., Federici S., Zmora N.,Zeevi D., Dori-Bachash M., Pevsner-Fischer M., Kartvelishvily E., Brandis A.,Harmelin A., Shibolet O., Halpern Z., Honda K., Amit I., Segal E., Elinav E.,** 2016.Microbiota diurnal rhythmicity programs host transcriptome oscillations. *Cell* 167: 1495–1510.
- **Thomson A.W., Knolle P.A.,** 2010- Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment. *Nat. Rev.Immunol.***10**: 753–766.
- **Trinchese G., Paparo L., Aitoro R., Fierro C., Varchetta M., Nocerino R., Pina-Molika M., and Berni- Canani R.,** 2018- Hepatic mitochondrial dysfunction and immune response in a murine model of peanut allergy, *Nutrients*,**10**: 2-12.
- **Wal J. M.,** 1998- Cow's milk allergens. *Allergy*, 53, 1013-22.

- **Wal J. M.**, 2002- Cow's milk proteins/allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 89, 3 10.
- **Wal J.M.**, 2004- Allergies alimentaires : mécanismes physiopathologiques, identification des allergènes alimentaires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **18** : 15-19.
- **Xepapadaki P., Fiocchi A., Grabenhenrich L., Roberts G., Grimshaw K.E., Fiandor A., Larco J.I., Sigurdardottir S., Clausen M., Papadopoulos N.G., Dahdah L., Mackie A., Sprickelman A.B., Schoemaker A.A., Dubakiene R., Butiene I., Kowalski M.L., Zeman K., Gavrili S., Keil T., Beyer K.**, 2016- Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life-the Euro Prevall birthcohort study. *Allergy*, **71**(3): 350-7.
- **Yakhlef M.**, 2018 -Extraction et caractérisation de deux protéines allergènes de l'œuf de poule, In : Séminaire International des Sciences Alimentaires, Constantine, Algérie, 15- 16 Octobre 2018, 380 p.
- **Yafi I.**, 2017- La corrélation entre l'atrophie villositaire ; la lymphocytose intra épithéliale et le taux des anticorps dans la maladie cœliaque, Thèse de doctorat, Faculté de Médecine et De Pharmacie, Marrakech, 98p.
- **Yu, Y., Liu, Y., An, W., Song, J., Zhang, Y., Zhao, X.**, 2018. STING-mediated inflammation in Kupffer cells contributes to progression of nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Invest*, 129, 546–555.
- **Zweibaum A., Laburthe M., Grasset E. and Louvard D.**,1991- Use of cultured cell lines in studies of intestinal cell differentiation and function. *Handbook of Physiology - The Gastrointestinal System - Intestinal Absorption and Secretion*. Soc AP. vol IV, chapter7: 223-255.