



ELSEVIER  
MASSON



Disponible en ligne sur  
**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE  
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie 56 (2016) 10–19

Article original

# Effet inflammatoire des extraits de *Cupressus sempervirens* planté dans l'Est de l'Algérie : du modèle murin à la stimulation des cellules BEAS-2B par l'allergène majeur Cup s 1

*Inflammatory effect of extracts from Cupressus sempervirens, cypress trees found in Algeria: From a mouse model to stimulation of BEAS-2B cells by the major cypress allergen Cup s 1*

I. Bouguenoun<sup>a,\*</sup>, M.-C. De Pauw-Gillet<sup>b</sup>, Z. Bensakhri<sup>a</sup>, D. Baiwir<sup>c</sup>, G. Mazzucchelli<sup>d</sup>,  
E. De Pauw<sup>e</sup>, D. Bendjeddou<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de biologie, eau et environnement, université 8-Mai-1945, BP 401, 24000 Guelma, Algérie

<sup>b</sup> Laboratoire de la culture des cellules des mammifères, institut de chimie B6C, université de Liège, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>c</sup> GIGA protéomique, institut de chimie B6C, université de Liège, allée du Six-Août-11, 4000 Liège, Belgique

<sup>d</sup> Laboratoire de spectrométrie de masse, institut de chimie B6C, université de Liège, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>e</sup> Université de Liège, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>f</sup> Département de biologie, université 8-Mai-1945, BP 401, 24000 Guelma, Algérie

Reçu le 22 juin 2015 ; accepté le 17 septembre 2015

Disponible sur Internet le 11 novembre 2015

## Résumé

*Cupressus sempervirens* est l'une des espèces les plus répandues en Algérie ayant une capacité allergénique très élevée. Nous avons étudié, d'abord, comment l'instillation nasale des différentes fractions de l'extrait pollinique de cette espèce peut moduler la réponse immunitaire chez les souris, et, ensuite, la stimulation des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B) par l'allergène majeur, identifié par spectrométrie de masse et purifié par chromatographie échangeuse d'ions. La sensibilisation des souris a révélé, d'une part, une diminution du nombre de neutrophiles et une augmentation des éosinophiles, et, d'autre part, une augmentation significative du total cellulaire dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire. L'étude histologique des poumons a montré une présence d'infiltrat inflammatoire et d'œdème péri-bronchique. La spectrométrie de masse nous a permis de mettre en évidence la présence de l'allergène majeur Cup s 1 dans toutes les fractions avec une présence spécifique du Cup s 3 et Cup a 1 dans la fraction 4. Cet allergène avait le potentiel pour stimuler la libération de l'IL-8 et l'IL-6 par la ligné cellulaire, BEAS-2B, in vitro d'une manière dose-dépendante.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés** : Allergie ; Cyprès ; Allergène majeur ; Lavage bronchoalvéolaire ; BEAS-2B

## Abstract

*Cupressus sempervirens* (Mediterranean cypress) is one of the most widespread tree species in Algeria; it has a very high allergenic capacity. First, we investigated how nasal instillation of different fractions of an extract of this tree's pollen modulates the immune response in mice. Then we studied the stimulation of human bronchial BEAS-2B cells by its major allergen Cup s 1, which we had identified by mass spectrometry and purified by ion exchange chromatography. We sensitized mice using a *C. sempervirens* pollen extract and when we then examined the cells in their bronchoalveolar fluid, we observed, on the one hand, a decrease in the number of neutrophils and an increase in the number of eosinophils and, on the other hand, a significant increase in the total cell population in this fluid. Histological study of the mouse lungs showed the presence of an inflammatory infiltrate and peri-bronchial edema. Liquid chromatography-mass spectrometric analysis revealed the presence of the major allergen

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [imeneb87@yahoo.com](mailto:imeneb87@yahoo.com) (I. Bouguenoun).

Cup s 1 in all fractions of the pollen extract and the specific presence of Cup s 3 and Cup a 1 in fraction 4. Cup s 1 had the potential to stimulate the release of IL-8 and IL-6 by BEAS-2B bronchial cells in vitro in a dose-dependent manner.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Keywords:** Allergy; Cypress; Allergens; Mouse model; Bronchoalveolar lavage; BEAS-2B cells

## 1. Introduction

Le pollen est considéré comme source d'allergène et de substances immuno-modulatrices, pouvant jouer un rôle crucial dans la sensibilisation et/ou l'exacerbation des allergies [1]. De point de vue allergologique, l'importance particulière des grains de pollen dépend du potentiel allergénique du pollen et de son abondance dans l'atmosphère. Douze types polliniques, y compris le genre *Cupressus*, ont un intérêt allergologique [2]. Ce genre est composé de plusieurs espèces qui sont largement réparties sur la Méditerranée dont l'une des espèces les plus communes autour du bassin méditerranéen est le *Cupressus sempervirens* [3]. L'allergie à son pollen a augmenté dans ces dernières décennies dans ce bassin [4], où il représente la source majeure des allergies respiratoires hivernales (fin de l'hiver/début du printemps) [5]. En Algérie, cette espèce est plus abondante vers le Nord du pays car elle a été introduite dans le cadre de la construction des barrages verts.

Différentes études ont été réalisées sur la caractérisation et la standardisation des extraits de pollen de cyprès, menant ainsi à l'identification de quelques allergènes dont le Cup s 1, l'allergène majeur, et la Cup s 3. Cependant, cette pathologie saisonnière est encore sous-estimée, car beaucoup de gens souffrent pendant l'hiver sans savoir qu'ils sont sensibilisés au pollen de cyprès, où la pollinisation coïncide avec le rhume et la grippe [6], de plus, les extraits allergiques actuels utilisés dans le diagnostic et les soins des allergies au pollen de cyprès ont une efficacité douteuse [7].

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'allergie au cyprès qui est peu connue et étudiée en Algérie, ce qui peut provoquer l'évolution d'une allergie saisonnière simple à un asthme. Dans ce contexte, l'objectif était d'étudier le potentiel allergisant de l'allergène majeur de cette espèce, en réalisant différentes expérimentations explorant ainsi l'effet des différentes fractions produites à partir de l'extrait brut préparé à partir de cyprès commun planté à l'Est algérien, sur un modèle murin, d'une part, et, d'autre part, une approche protéomique a été utilisée pour déterminer la composition de ces fractions et la présence de l'allergène majeur afin de démontrer son potentiel pro-inflammatoire sur les cellules épithéliales bronchiques humaines BEAS-2B, qui représentent notre modèle cellulaire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Préparation de l'extrait et fractionnement

#### 2.1.1. Extrait brut du cyprès (EBC)

Les grains de pollen du *C. sempervirens* ont été collectés directement à partir des cônes mâles matures du cyprès planté à

la région d'Oued Zenati, une commune de la Wilaya de Guelma en Algérie (36° 18' 55" N 7° 09' 50" E), au cours de la saison de pollinisation.

Le pollen est obtenu suite à l'ouverture des cônes mâles. L'extrait pollinique a été obtenu en utilisant le tampon phosphate salin (PBS) 0,01 M, pH 7,2 à 4 °C pendant 14 heures. Le surnageant est recueilli par centrifugation à 14 000 g pendant 1 h à 4 °C [8], ensuite dialysé contre l'eau distillée puis filtré à l'aide de Millipores « 0,45 µm ». La solution filtrée est congelée et lyophilisée pour enfin obtenir l'EBC [9].

#### 2.1.2. Précipitation sur sulfate d'ammonium

L'EBC a été re-suspendu dans le PBS et les différentes fractions protéiques ont été obtenues par précipitation sur sulfate d'ammonium comme suit : l'extrait a été incubé, pendant 24 h avec le sulfate d'ammonium (concentration de 20 %), ensuite centrifugé à 10 000 g pendant 15 min afin de précipiter les protéines. Les concentrations du sulfate d'ammonium ont été augmentées par étape (40, 60 et 80 %), et les protéines précipitées ont été récupérées à chaque étape par incubation et centrifugation pour avoir à la fin quatre fractions, Fr1 (51 mg), Fr2 (20 mg), Fr3 (3 mg) et Fr4 (2 mg). Ces dernières ont été dissoutes dans du PBS stérile.

### 2.2. Étude in vivo des fractions Fr1–Fr4 sur les souris

Cette étude a été réalisée sur des *Mus Musculus* (BALB/C) femelles de huit semaines fournies par l'institut de pharmacie de Constantine, avec un poids corporel entre 25 et 40 g. Les manipulations pratiquées sur ces souris sont effectuées en respectant leur bien-être, excluant tout état de stress susceptible d'interférer avec les résultats.

### 2.3. Sensibilisation nasale

Trente souris femelles ont été réparties aléatoirement en 5 lots dont 6 souris témoins et 6 souris traitées par fraction (Fig. 1). Les souris ont été sensibilisées par voie nasale en administrant 100 µg d'une fraction spécifique dans un volume total de 10 µL de la solution de PBS à raison de 5 µL dans chaque narine les jours 0 et 7. Le traitement a été répété avec une double dose les jours 15 et 16, soit 200 µg dans un volume total de 20 µL de la solution de PBS à raison de 10 µL par narine avec un intervalle de 4 minutes. Le même traitement a été opté pour le lot des souris témoins en utilisant le PBS seulement [10].

### 2.4. La formule numérique sanguine

Suite à une légère décapitation partielle, le sang a été collecté dans des tubes à EDTA (*acidethylene diamine tetra-acetic* ;

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3385839>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3385839>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)