

LISTE DES ABREVIATIONS

AG	Acides gras
AGMI	Acides gras monoinsaturés
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AGPI n-3	Acides gras polyinsaturés de la série n-3
AGPI n-6	Acides gras polyinsaturés de la série n-6
AGPI-LC	Acides gras polyinsaturés à longue chaîne
AGS	Acides gras saturés
AL	Acide linoléique
Al(OH)₃	Hydroxyde d'aluminium
ALA	Acide α -linolénique
APLV	Allergie aux protéines du lait de vache
ARA	Acide arachidonique
COX	Cyclooxygénases
CT	Cholestérol Total
DDP	Différence de potentiel
DGLA	Acides dihomom- γ -linolénique
DHA	Acide docosahexaénoïque
DPA	Acide docosapentaénoïque
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPA	Acides eicosapentaénoïque
G	Conductance
HDL	High Density lipoprotein
IFN-γ	Interféron gamma
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
I.P	Intrapéritonéale
Isc	Courant de court circuit
LDL	Low Density lipoprotein
LOX	lipooxygénases
LPL	Lipoprotéine Lipase
LT	Leucotriènes
LTC	Leucotriènes cystéiniques
LX	Lipoxines
MaR	Marésine
PD	Protectine
Pds/V	Rapport Poids/Volume
PGD2	Prostaglandine D2
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptors
Rv	Résolvines
SAB	Sérum albumine bovine
TG	Triglycérides
Th	Lymphocytes T helper
THA	Acide tétracosahexaénoïque
TNF	Tumor Necrosis Factor
Tregs	Cellules T régulatrices
TX	Thromboxanes
α-Lac	alpha-lactalbumine
β-Lg	bêta-lactoglobuline

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Revue Bibliographique	
1. Allergie alimentaire : un problème de santé publique.....	3
1.1. Allergie aux protéines du lait de vache : première allergie chez le nourrisson.....	3
1.2. Symptomatologie de l'allergie alimentaire.....	4
1.2.1. Urticaire et œdème de Quincke.....	4
1.2.2. Rhino-conjonctivite et bronchospasme.....	6
1.2.3. Symptômes gastro-intestinaux.....	6
1.2.4. Anaphylaxie	6
1.3. Peut-on prévenir l'allergie alimentaire ?.....	7
2. Acides gras.....	9
2.1. Acide gras polyinsaturés.....	9
2.1.1. Acides gras polyinsaturés de la série n-3	9
2.1.2. Acides gras polyinsaturés de la série n-6	9
2.2. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés.....	11
2.3. Conversion des AGPI en médiateurs oxygénés actifs.....	13
2.4. Médiateurs lipidiques pro-résolvants	13
2.4.1. Dérivés d'AGPI n-6.....	15
2.4.2. Dérivés d'AGPI n-3.....	15
2.5. Rôles physiologiques des AGPI.....	17
2.5.1. Rôle structural.....	17
2.5.2. Rôle modulateur de la transcription génique.....	17
2.6. Effets des AGPI.....	17
2.6.1. Effet immunomodulateur	17
2.6.1.1. Effet sur les cellules dendritiques.....	18
2.6.1.2. Effet sur la prolifération et la polarisation des cellules T.....	18
2.6.1.3. Effet sur les mastocytes.....	20
2.6.1.4. Effet sur la production des IgE par les cellules B.....	21
2.6.2. Effet anti-inflammatoire.....	21
2.6.3. Autres effets.....	22
2.7. Mécanismes d'action des AGPI sur le système immunitaire.....	22

2.7.1. Changement de la structure membranaire.....	22
2.7.2. Production des eicosanoïdes.....	25
2.7.2.1. Eicosanoïdes issus des AGPI n-6.....	25
2.7.2.2. Eicosanoïdes issus des AGPI n-3.....	26
2.7.3. Production de médiateurs lipidiques pro-résolvants.....	26
2.7.4. Transcription génique.....	29
Matériels et Méthodes	
1. Produits chimiques, réactifs et matériels utilisés.....	30
2. Animaux.....	30
2.1. Répartition des groupes.....	30
2.2. Protocole d'immunisation.....	31
2.3. Mesure de la croissance pondérale.....	31
2.4. Sacrifice.....	33
3. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse allergique.....	33
3.1. Test de provocation <i>in vivo</i> et obtention des sérums.....	33
3.2. Dosage des anticorps sériques IgG, IgE.....	33
3.2.1. Principe général de la méthode ELISA indirecte.....	35
3.2.1.1. Mode opératoire.....	35
3.2.2. Principe général de la méthode ELISA sandwich.....	36
3.2.2.1. Mode opératoire.....	36
4. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse anaphylactique systémique.....	37
4.1. Evaluation des scores cliniques.....	39
4.2. Mesure de la température corporelle.....	39
4.3. Mesure des taux de l'histamine plasmatique.....	39
4.3.1. Principe du dosage.....	39
4.4. Etude de la perméabilité vasculaire.....	41
4.5. Comptage des mastocytes intestinaux.....	41
4.5.1. Mode opératoire.....	41
4.5.1.1. Déshydratation et clarification.....	41
4.5.1.2. Inclusion.....	42
4.5.1.3. Traitement des lames.....	42
4.5.1.4. Etalement sur lames.....	42
4.5.1.5. Déparaffinage.....	42

4.5.1.6. Coloration.....	42
4.5.2. Expression des résultats.....	43
5. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse anaphylactique intestinale.....	43
5.1. Expérimentation sur l'intestin isolé en chambre de Ussing: test de provocation <i>ex vivo</i>	43
5.1.1. Principe de la chambre de Ussing.....	43
5.1.2. Montage de fragments d'intestin de souris en chambre de Ussing.....	44
5.2. Etude histologique.....	46
5.2.1. Traitement des échantillons.....	46
5.2.1.1. Coloration.....	46
5.2.2. Mesure de la hauteur des villosités.....	48
5.2.2.1. Principe.....	48
6. Etude des effets des AGPI sur le métabolisme lipidique et l'architecture structurale hépatique.....	48
6.1. Etude du profil lipidique sérique.....	48
6.1.1. Dosage du cholestérol total.....	48
6.1.2. Dosage des triglycérides.....	49
6.1.3. Dosage du cholestérol-LDL.....	50
6.1.4. Dosage du cholestérol-HDL.....	51
6.2. Etude histologique du foie.....	51
7. Etude statistique.....	51
Résultats	
1. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la croissance pondérale.....	52
2. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse antigénique et allergénique.....	52
2.1. Titres sériques en IgG spécifiques.....	52
2.2. Taux des IgE sériques totales et spécifiques.....	55
3. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse anaphylactique systémique.....	55
3.1. Évaluation des signes cliniques.....	55
3.2. Mesure de la température corporelle.....	60
3.3. Mesure de l'histamine plasmatique.....	60
3.4. Perméabilité vasculaire.....	60

3.5. Comptage des mastocytes.....	69
4. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse anaphylactique intestinale.....	69
4.1. Test de provocation <i>ex-vivo</i> en chambre de Ussing.....	69
4.1.1. Effet de la sensibilisation à la β -Lg : Témoins positifs et négatifs.....	69
4.1.1.1. Spécificité de la réponse.....	69
4.1.1.2. Viabilité du tissu.....	76
4.1.2. Effet de l'huile de poisson.....	76
4.1.3. Effet de l'huile de maïs.....	80
4.1.4. Mesure de la DDP.....	80
4.2. Etude histologique.....	80
4.2.1. Hauteur villositaire.....	87
4.2.1.1. Effet de l'huile de poisson.....	87
4.2.1.2. Effet de l'huile de maïs.....	87
5. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur le métabolisme lipidique et l'architecture structurale hépatique.....	87
5.1. Profil lipidique sérique.....	87
5.1.1. Effet de l'huile de poisson.....	91
5.1.2. Effet de l'huile de maïs.....	91
5.2. Architecture structurale hépatique.....	91
5.2.1. Poids relatif du foie.....	91
5.2.2. Structure histologique du foie.....	95
Discussion.....	99
Conclusions et perspectives.....	114
Références Bibliographiques.....	116

Rapport-Gratuit.com

Introduction

Au cours des dernières décennies, les données épidémiologiques ont fourni des preuves solides sur l'augmentation de l'incidence et la prévalence de nombreuses maladies allergiques et inflammatoires telles que les allergies alimentaires (Platts-Mills, 2015). Cette augmentation ne peut être expliquée uniquement par le facteur génétique et a été associée aux facteurs environnementaux incluant l'urbanisme, le mode de vie sédentaire et la composante diététique contemporaine (Prescott, 2013; Schroder et al., 2015). Il a été suggéré que l'augmentation du ratio lipidique dans les régimes alimentaires contribue à la sensibilisation à l'allergie et/ou à la sévérité des symptômes allergiques (Trak-Fellermeier et al., 2004; Nagel et al., 2010; Ellwood et al., 2013; Barros et al., 2015).

Outre l'augmentation des quantités, la qualité des lipides a également évolué au fil des décennies (Willemsen, 2016). Un apport accru en acides gras saturés (AGS) et monoinsaturés (AGMI) est associé à un risque élevé de sensibilisation allergique, tandis qu'un apport croissant en acides gras polyinsaturés (AGPI) est associé plutôt à un effet protecteur (Trak-Fellermeier et al., 2004). La littérature fait état de propriétés immunomodulatrices des AGPI qui s'illustrent, entre autres, dans leurs actions sur les cellules T (Dunstan et al., 2003a; Field et al., 2010), sur la fonction des cellules dendritiques (Weatherill et al., 2005) et sur les mastocytes (Hagenlocher et Lorentz, 2015). Ces données nous ont amené à étudier l'effet que pourrait avoir les AGPI lors des allergies alimentaires IgE-médiées et plus particulièrement l'allergie aux protéines du lait de vache (APLV), du fait qu'elle est la première à apparaître chez le nourrisson et que le traitement efficace de cette dernière repose sur un régime d'éviction stricte ce qui pourrait avoir des effets néfastes sur la santé.

Cependant, le type des AGPI pourrait lui aussi prévenir ou au contraire favoriser la survenue d'une réponse allergique. De nombreuses études ont associé l'augmentation de la prévalence des maladies atopiques à une réduction de la consommation des AGPI de la série n-3 présents dans les poissons gras et parallèlement à une augmentation de la consommation de la margarine et des huiles végétales contenant des taux élevés d'AGPI de la série n-6 (Black et Sharpe, 1997; Kankaanpää et al., 1999). Toutefois, une étude a démontré, chez des enfants de trois ans, l'existence d'une relation inversement proportionnelle entre l'apport alimentaire en AGPI n-6 et la sensibilisation allergique (Lee-Sarwar et al., 2018).

Les controverses des résultats des nombreuses études menées dans cet axe ne se limitent pas à l'effet des AGPI n-6 considérés généralement comme pro-inflammatoires (West et al., 2011) vis-à-vis des réactions allergiques et s'étendent sur les effets des AGPI n-3 considérés généralement comme anti-inflammatoires.

En effet, l'étude de Johansson et al., (2010) montre des taux plus élevés d'IgE totales et anti-ovalbumine (OVA) chez des souris supplémentées en AGPI n-3 comparés à celles supplémentées en AGPI n-6. Alors que dans d'autres études, l'effet contraire a été observé (De matos et al., 2012; van den Elsen et al., 2013b). Ceci est en partie dû aux différentes approches méthodologiques incluant le sujet de l'étude, les doses utilisées, les voies d'administration, la durée du traitement, les AGPI utilisés...etc.

A cet effet, le but principal de ce travail est d'évaluer l'effet préventif des AGPI de la série n-3 et de la série n-6 dans l'APLV et sa symptomatologie à savoir, l'anaphylaxie systémique et l'anaphylaxie intestinale, tout en standardisant un certain nombre de paramètres et en gardant la dose comme seul paramètre variable. Pour cela nous utilisons la souris BALB/c comme modèle expérimental, l'huile de poisson comme source d'AGPI n-3 et l'huile de maïs comme source d'AGPI n-6. En second lieu nous évaluons l'impact de cette supplémentation en huiles sur le métabolisme lipidique et l'architecture hépatique.

Revue Bibliographique

1. Allergie alimentaire : un problème de santé publique

L'allergie alimentaire est définie comme « un effet néfaste sur la santé résultant d'une réponse immunitaire spécifique se produisant de manière reproductible lors de l'exposition à un aliment donné » (Boyce et al., 2011). Cette définition inclut les réactions d'hypersensibilité immédiate induites par les IgE (Figure 1), les réactions retardées non-IgE médiées et les troubles associés aux voies immunitaires IgE et non IgE médiées (Tordesillas et al., 2017).

Bien que les taux réels de prévalence des allergies alimentaires IgE-médiées sont difficiles à estimer avec précision, comme l'a signalé Sicherer, (2011), une revue systématique de la littérature a conclu qu'une allergie alimentaire 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). La majorité des enfants allergiques au lait ou aux œufs finissent par perdre leurs allergies alimentaires, en revanche, les allergies aux arachides, aux noix, aux poissons et aux fruits de mer durent généralement toute la vie (Berin et Sampson, 2013). Des statistiques montrent une prévalence croissante d'allergies alimentaires recensées dans le monde (Jackson et al., 2013; Sicherer et Sampson, 2014). Bien qu'il existe une composante génétique importante dans l'allergie alimentaire, l'augmentation rapide de la prévalence de cette dernière suggère une contribution importante des facteurs environnementaux (Berin et Sampson, 2013).

En Algérie, peu de données épidémiologiques sur la prévalence et l'incidence des allergies alimentaires sont disponibles. L'étude d'Abdellaziz et al., (2014) montre que la prévalence de l'allergie alimentaire chez l'enfant scolarisé à Alger est de 1,75 %, avec les poissons, fruits de mer (23%) et les légumineuses (22%) comme principaux allergènes responsables des manifestations cliniques. Le lait vient en 3^{ème} position avec 15%.

1.1. Allergie aux protéines du lait de vache : première allergie chez le nourrisson

L'allergie aux protéines du lait de vache (APLV) est une réaction immunitaire qui peut être IgE-médiée, non IgE-médiée (à médiation cellulaire) ou mixte (Burks et al., 2012). L'APLV IgE médiée est le résultat d'une réponse immunitaire d'hypersensibilité de type I (ou immédiate) à une ou plusieurs protéines du lait. Ce dernier comprend au moins 25 protéines différentes, qui peuvent toutes jouer le rôle d'allergènes (Wal, 2002). Les principaux allergènes sont les caséines et les protéines contenues dans le lactosérum (bêta-lactoglobuline « β -Lg », alpha-lactalbumine « α -Lac » et sérum albumine bovine « SAB »).

L'APLV est la première allergie alimentaire à apparaître chez l'enfant. Les manifestations cliniques apparaissent précocement, le plus souvent avant l'âge de 6 mois. L'évolution naturelle se fait le plus souvent vers la guérison, cependant, cette allergie peut persister après l'âge de 3 ans (Rancé et al., 2005; Skripak et al., 2007).

La prévalence estimée de l'APLV au cours de la première année de vie est de 1,6 - 3% et diminue à moins de 1% chez les enfants de 6 ans et plus (Sicherer, 2011). En Algérie, l'étude de Ibsaine et al, (2013) a trouvé une incidence d'APLV globale de 1,8% et une incidence d'APLV IgE-médiée de 1,1% dans une étude prospective réalisée sur une cohorte de 995 nouveau-nés, suivis jusqu'à l'âge d'un an, dans un milieu urbain. L'étude de Boughellout et al., (2015) a indiqué une prévalence de 3,64 %, suite à une enquête transversale descriptive de prévalence par échantillonnage basée sur un questionnaire de 770 enfants âgés de 0 à 3 ans fréquentant trois centres de protection maternelle et infantile de 2 communes de la wilaya de Constantine. Plus récemment, l'étude de Bouchetara, (2018) portée sur une grande cohorte d'enfants APLV recrutés sur 29 années évoque le facteur de l'atopie et montre que les nourrissons allergiques présentent une notion d'atopie familiale dans 57,15 % des cas. Quatre patients sur cinq avaient un ou les deux parent(s) atopique(s).

Malgré ces données qui sont pour la plupart limitées aux régions « urbaines », on ne dispose pas de statistiques réelles de la prévalence de l'APLV IgE-médiée en Algérie. Une étude épidémiologique couvrant le territoire national s'avère primordiale.

1.2. Symptomatologie de l'allergie alimentaire

Les réactions IgE-médiées surviennent généralement dans les deux heures suivant l'ingestion de l'aliment et touchent la peau, le tractus gastro-intestinal, les voies respiratoires et, moins fréquemment, le système cardiovasculaire. Dans le cas le plus grave d'anaphylaxie, plusieurs organes sont impliqués et peuvent induire un collapsus cardiovasculaire (Berin et Sampson, 2013).

1.2.1. Urticaire et œdème de Quincke

Bien que tout allergène alimentaire puisse provoquer une urticaire aiguë et un œdème de Quincke, les aliments les plus courants sont le lait de vache, les œufs, les arachides, les noix, le soja, le blé, le poisson et les fruits de mer. Ces deux symptômes se développent en raison de la réticulation des IgE spécifiques aux allergènes sur les mastocytes cutanés.

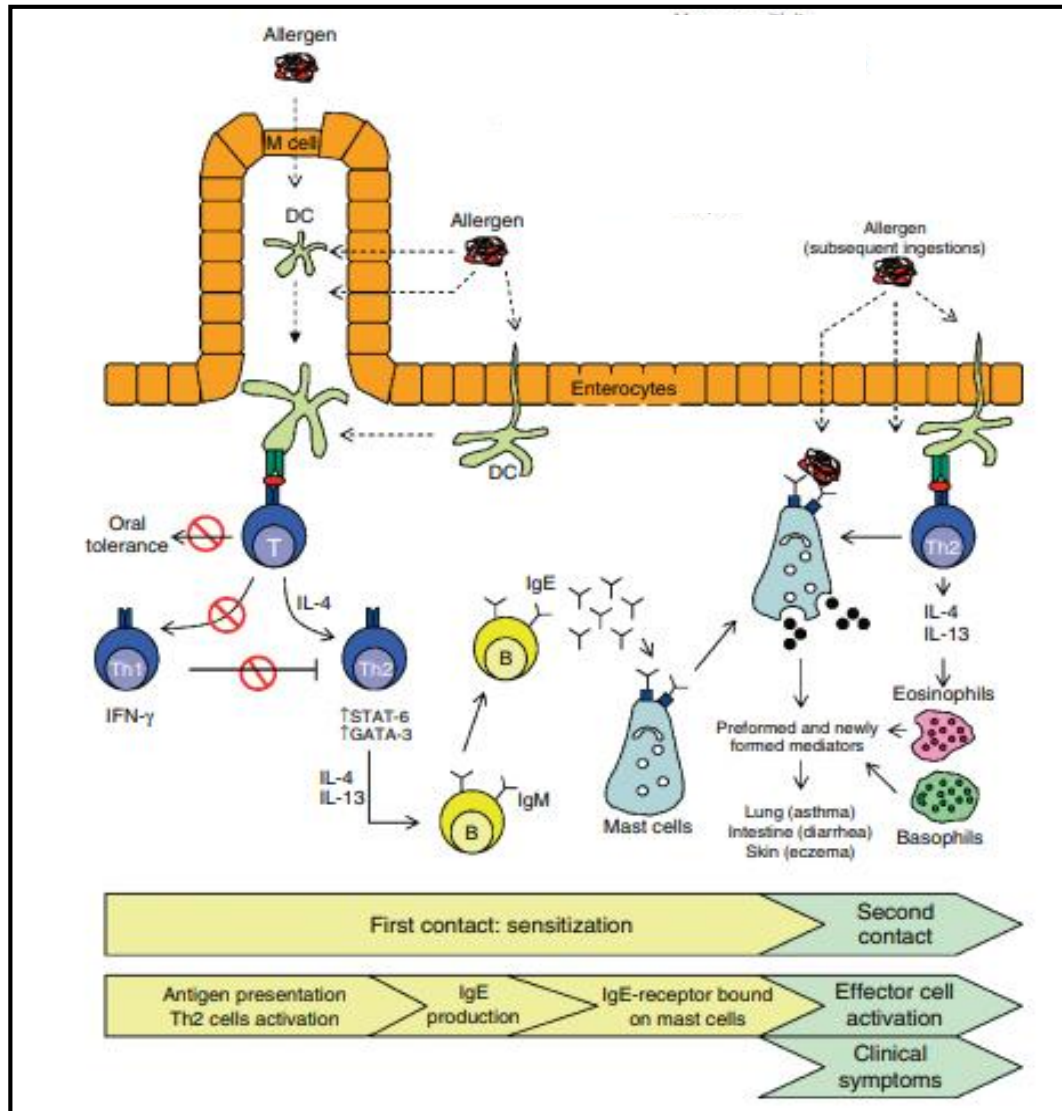


Figure 1. Mécanisme cellulaire de l'allergie alimentaire IgE-médiée (Prioult et Nagler-Anderson, 2005).

Dans l'urticaire, les mastocytes du derme superficiel sont impliqués, alors que dans l'œdème de Quincke, ceux du derme profond et des tissus sous-cutanés sont impliqués (Sharma et al., 2015). On estime qu'au moins 20% des urticaires aiguës sont dues à une allergie alimentaire (Sehgal et Rege, 1973). Il est important de reconnaître que, même si la voie d'exposition alimentaire causant l'urticaire aiguë est souvent l'ingestion, le contact direct peut également causer l'urticaire de contact, dans lequel les urticaires ne sont localisées que dans les zones de contact avec l'aliment (Sharma et al., 2015).

1.2.2. Rhino-conjonctivite et bronchospasme

Les allergies alimentaires IgE médiées peuvent se manifester par des symptômes oculaires et nasaux, tels que le prurit périoculaire, œdème, érythème conjonctival et larmolement, ainsi que des éternuements, des démangeaisons nasales, une congestion et une rhinorrhée. Des lésions des voies respiratoires supérieures (enrouement, stridor, sensation d'oppression de la gorge) et des symptômes des voies respiratoires inférieures (dyspnée, tachypnée, respiration sifflante, toux) peuvent également être observés (Sharma et al., 2015).

1.2.3. Symptômes gastro-intestinaux

Les symptômes gastro-intestinaux peuvent être divisés en ceux survenus suite à l'atteinte du tractus gastro-intestinal supérieur (nausées, vomissements et/ou douleurs abdominales) apparaissant typiquement quelques minutes à 2 heures après l'ingestion ou suite à l'atteinte du tractus gastro-intestinal inférieur (crampes et diarrhée différée de 2 à 6 heures) (Boyce et al., 2011; Sampson et al., 2014). Lorsque les symptômes gastro-intestinaux apparaissent isolément après l'ingestion d'allergènes alimentaires, on parle d'anaphylaxie gastro-intestinale (Sharma et al., 2015).

1.2.4. Anaphylaxie

L'anaphylaxie : réaction allergique systémique qui se manifeste rapidement pouvant entraîner la mort (Sampson et al., 2006), est l'implication clinique la plus grave des allergies alimentaires IgE médiées. L'anaphylaxie touche jusqu'à 2% de la population (Lieberman et al., 2006; Lieberman, 2008), les allergies alimentaires sont responsables de 50% des cas (Boyce et al., 2011). Bien que tout aliment puisse provoquer une anaphylaxie, les aliments les plus impliqués dans l'anaphylaxie mortelle sont l'arachide, les noix et le lait de vache (Bock et al., 2007; Pumphrey et Gowland, 2007).

La libération rapide et massive de médiateurs et de cytokines allergiques, notamment l'histamine, la tryptase, la chymase, le facteur d'activation des plaquettes, la prostaglandine D2

(PGD2), les leucotriènes cystéiniques (LTC), l'interleukine 6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), contribue au compromis multi-organique observé dans l'anaphylaxie. (Ono et al., 2009). En tant que réaction systémique, l'anaphylaxie peut présenter un large éventail de symptômes et de signes potentiels (Lieberman et al., 2010; Simons, 2010). Jusqu'à 90% des patients présentant une anaphylaxie ont une urticaire/angioœdème et/ou rhino-conjonctivite (Webb et Lieberman, 2006). Les autres systèmes organiques les plus couramment impliqués et ceux qui contribuent aux aspects de l'anaphylaxie menaçant le pronostic vital incluent les systèmes: respiratoire, gastro-intestinal et cardiovasculaire.

Chez les nourrissons et les très jeunes enfants, les symptômes cutanés, gastro-intestinaux et respiratoires sont les plus fréquents. La mortalité est principalement due à une atteinte respiratoire chez les enfants par rapport à un collapsus cardio-vasculaire chez les adultes. L'œdème laryngé et le bronchospasme, sont la principale cause de décès (Cianferoni et Muraro, 2012).

Les symptômes gastro-intestinaux peuvent entraîner une déshydratation et des perturbations électrolytiques. L'hypovolémie provoquée par les manifestations gastro-intestinales est encore exacerbée par les déplacements massifs de liquide qui se produisent rapidement lors de l'anaphylaxie en raison de l'augmentation de la perméabilité vasculaire et du déplacement du liquide intravasculaire vers l'espace extravasculaire.

Les signes et les symptômes cardiovasculaires sont également fréquents dans l'anaphylaxie et touchent jusqu'à 45% des épisodes (Cianferoni et Muraro, 2012). Ces symptômes comprennent l'hypotension, les vertiges, la tachycardie, la syncope et l'incontinence urinaire. Les augmentations de la perméabilité vasculaire induites par l'histamine provoquent de grands et rapides changements de liquide au cours des épisodes anaphylactiques; Jusqu'à 35% du volume intravasculaire peut migrer vers l'espace extravasculaire dans les 10 minutes suivant le début de l'anaphylaxie. L'hypotension qui en résulte peut entraîner un choc et un arrêt cardiaque (Sharma et al., 2015).

1.3. Peut-on prévenir l'allergie alimentaire ?

Étant donné qu'il n'existe actuellement aucun remède, la recherche s'est davantage concentrée sur les interventions visant à prévenir l'allergie alimentaire. Ces interventions sont généralement appliquées tôt dans la vie et incluent la prévention primaire, qui vise à prévenir l'apparition de la sensibilisation et la prévention secondaire, qui vise à interrompre le développement de l'allergie alimentaire chez les enfants déjà sensibilisés (Du toit et al., 2018).

Certaines observations écologiques font apparaître des différences géographiques dans la prévalence de l'allergie; ces changements ont été liés aux pratiques alimentaires régionales et/ou aux facteurs environnementaux. Ces dernières années, l'accent a été mis sur le rôle des vitamines, des antioxydants et des végétaux, ainsi que sur l'apport en acides gras, dans la prévention ou le traitement des allergies (Ram et al., 2004; Martindale et al., 2005).

Les propriétés immunomodulatrices des acides gras polyinsaturés (AGPI) peuvent favoriser les conditions tolérogènes dans l'intestin, de par leurs effets sur les cellules T (Dunstan et al., 2003a; Field et al., 2010) et sur la fonction des cellules dendritiques (CD) (Weatherill et al., 2005).

Les études menées dans ce domaine indiquent un effet positif sur la prévention des maladies allergiques: sensibilisation (Calvani et al., 2006), eczéma (Sausenthaler et al., 2007), et l'asthme (Salam et al., 2005). Dans le cadre d'un essai randomisé contrôlé sur l'administration prénatale des AGPI de la série n-3 à forte dose aux femmes atopiques; Dunstan et al., (2003b) ont signalé une réduction à la fois de la sensibilisation aux œufs de poule et de l'eczéma sévère chez la progéniture à l'âge d'un an. Kull et al., (2006) ont montré que la consommation de poisson (riche source d'AGPI n-3) au cours de la première année de vie était associée à un risque réduit de sensibilisation aux aliments (à l'âge de 4 ans). En outre, il a été démontré qu'une consommation accrue d'huile de poisson par les femmes enceintes peut réduire de plus de 60% l'incidence de l'allergie alimentaire et de l'eczéma associé aux IgE chez les enfants à risque (Furuhjelm et al., 2009).

Dans un essai clinique sur la consommation maternelle en huile de poisson, les taux des IgA étaient associés positivement avec ceux des AGPI n-3 suggérant une relation entre les acides gras et la fonction immunitaire mucosale (Dunstan et al., 2004). De plus la comparaison entre la composition du lait maternel des femmes atopiques et non atopiques (à 1 mois de lactation) a montré des taux d'AGPI n-3 plus élevés chez ces dernières (Yu et al., 1998).

De nos jours, de nombreuses préparations pour nourrissons sont complétées par des AGPI (tels que l'acide arachidonique et l'acide docosahexaénoïque). La capacité de ces acides gras à exercer des effets immunologiques a été démontrée (Field et al., 2008); Cependant, les avantages cliniques liés aux effets contre l'allergie nécessitent des recherches plus approfondies.

2. Acides gras

Les acides gras (AG) sont des molécules hydrophobes. Acides carboxyliques aliphatiques, ils sont composés d'une chaîne linéaire carbonée allant de 4 à 32 carbones portant une extrémité méthyle ($-\text{CH}_3$) et une extrémité carboxyle ($-\text{COOH}$). On distingue 3 types d'acides gras en fonction de leur degré d'insaturation: les acides gras saturés (AGS) dont tous les atomes de carbone sont saturés en hydrogène, les mono-insaturés (AGMI) comportant une seule double liaison et les polyinsaturés (AGPI) possédant au moins 2 doubles liaisons (Guesnet et al., 2005) (Figure 2).

2.1. Acide gras polyinsaturés

La nomenclature biochimique les répertorie en fonction de leur nombre de carbones, degré d'insaturation et position de leurs doubles liaisons. Ainsi, ils sont notés **C x : y n-Z** (ou ωZ), où **x** correspond au nombre de carbones, **y** à celui de doubles liaisons et **Z** à la position de la première double liaison à partir de l'extrémité méthyle de la chaîne carbonée (Hennebelle, 2012) (Figure 2). Les doubles liaisons sont séparées systématiquement par 3 atomes de carbone. On distingue 2 principales séries d'AGPI : les AGPI n-6 et les AGPI n-3.

2.1.1. Acides gras polyinsaturés de la série n-3

La première double liaison à partir de l'extrémité méthyle terminale des AGPI de la série n-3 se situe entre le 3^{ème} et le 4^{ème} carbone. Ces AG dérivent du précurseur métabolique exclusivement d'origine végétale; l'acide α -linoléique (ALA; 18:3n-3) et doivent être obligatoirement apportés par l'alimentation du fait que les vertébrés sont incapables de les synthétiser (Figure 3). En effet, contrairement aux végétaux les vertébrés ne possèdent pas les enzymes qui permettent d'introduire les doubles liaisons en position n-3 pour produire l'ALA (Lavialle et Layé, 2010).

2.1.2. Acides gras polyinsaturés de la série n-6

Pour les AGPI de la série n-6, la première double liaison est située en 6^{ème} position en comptant à partir de l'extrémité méthyle terminal. Dans cette famille, seul l'acide linoléique (AL; 18:2n-6) est dit « essentiel » (Figure 3). En effet, les autres acides gras n-6 peuvent être synthétisés par le corps à partir de l'AL.

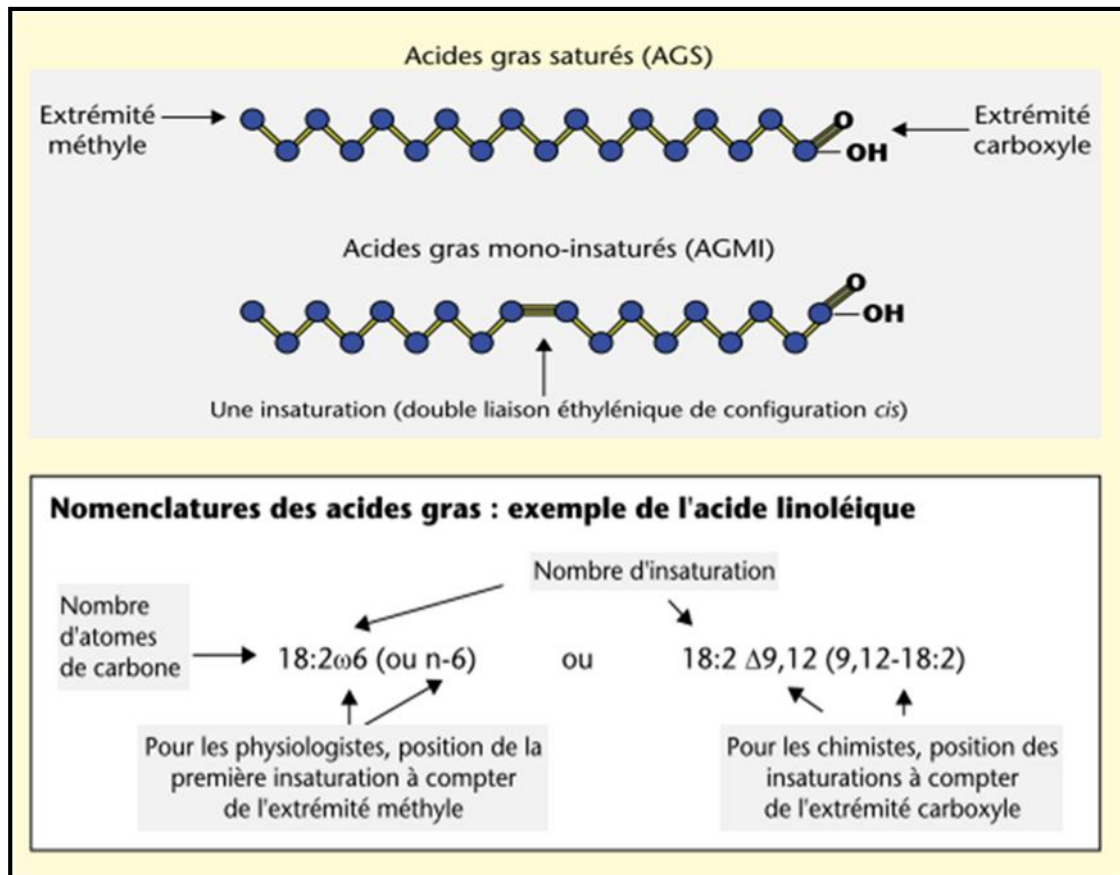


Figure 2. Structure et nomenclature des principales familles d'acides gras (Guesnet et al., 2005). La chaîne carbonée est symbolisée par une succession de sphères (atomes de carbone) reliée entre elles par des liaisons covalentes

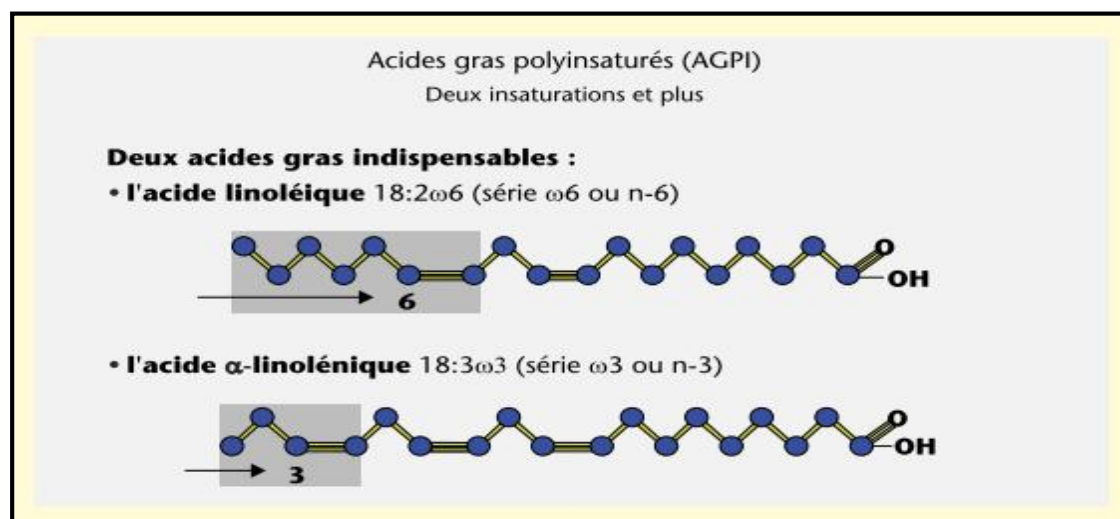


Figure 3. Structure des deux familles d'acides gras polyinsaturés (Guesnet et al., 2005).

2.2. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés

Les précurseurs métaboliques respectifs des deux familles d'AGPI, l'acide linoléique (18:2n-6) pour la famille oméga 6 et l'acide α -linolénique (18:3n-3) pour la famille oméga 3, sont les acides gras dits indispensables ou « essentiels ». En effet, les cellules de mammifères sont dans l'incapacité métabolique de les synthétiser car elles ne possèdent pas, contrairement aux cellules végétales, les désaturases permettant d'introduire des doubles liaisons à l'extrémité méthyle, à savoir les Δ 12- et Δ 15-désaturases qui génèrent successivement le 18:2n-6 et le 18:3n-3 à partir de l'acide oléique (18:1n-9). Ces deux acides gras conduisent, après leur absorption, à la synthèse de dérivés à longue chaîne par une succession de désaturations et d'élongations. Les doubles liaisons et atomes de carbone supplémentaires sont rajoutés vers l'extrémité carboxyle conservant ainsi la structure oméga 6 ou oméga 3 du précurseur d'origine. Les principaux AGPI dérivés à longue chaîne ainsi formés dans les organismes animaux sont les acides dihomog γ -linolénique (DGLA; 20:3n-6) et arachidonique (ARA; 20:4n-6) pour la famille oméga 6, et les acides eicosapentaénoïque (EPA; 20:5n-3) et docosahexaénoïque (DHA; 22:6n-3) pour la famille oméga 3 (Figure 4).

En situation d'apport alimentaire équilibré, la voie de biosynthèse des oméga 6 s'arrête à l'ARA. Elle se poursuit au-delà lorsque cet apport est déficient en oméga 3, conduisant à la synthèse d'acide docosapentaénoïque (DPA; 22:5n-6) en compensation de la diminution de la synthèse du DHA. La voie de bioconversion conduisant à la synthèse des ARA et des EPA est localisée dans le réticulum endoplasmique et met en jeu l'action séquentielle de désaturases (Δ 6 et Δ 5) et d'une élongase. La synthèse du DHA et du DPA nécessite une étape terminale de β -oxydation dans les peroxysomes, raccourcissant de deux atomes de carbone leurs précurseurs respectifs à 24 atomes de carbone; l'acide tétracosahexaénoïque (THA; 24:6n-3) et l'acid tétracosapentaénoïque (TPA; 24:5n-6) (Sprecher, 2000) (Figure 4).

L'ALA a un effet inhibiteur sur la conversion du LA, et vice versa (Lemarchal, 1989). Cependant, signalons que la Δ 6 désaturase possède une plus forte affinité pour l'ALA, qui est ainsi préférentiellement désaturé en dérivés à longue chaîne (Bézar et al., 1994). Si la voie de conversion des AGPI précurseurs en dérivés à longue chaîne est primordiale sur le plan physiologique, elle reste cependant mineure sur le plan quantitatif, les études métaboliques montrent un taux de conversion très bas chez l'Homme (< 1 %) (Burdge, 2004).

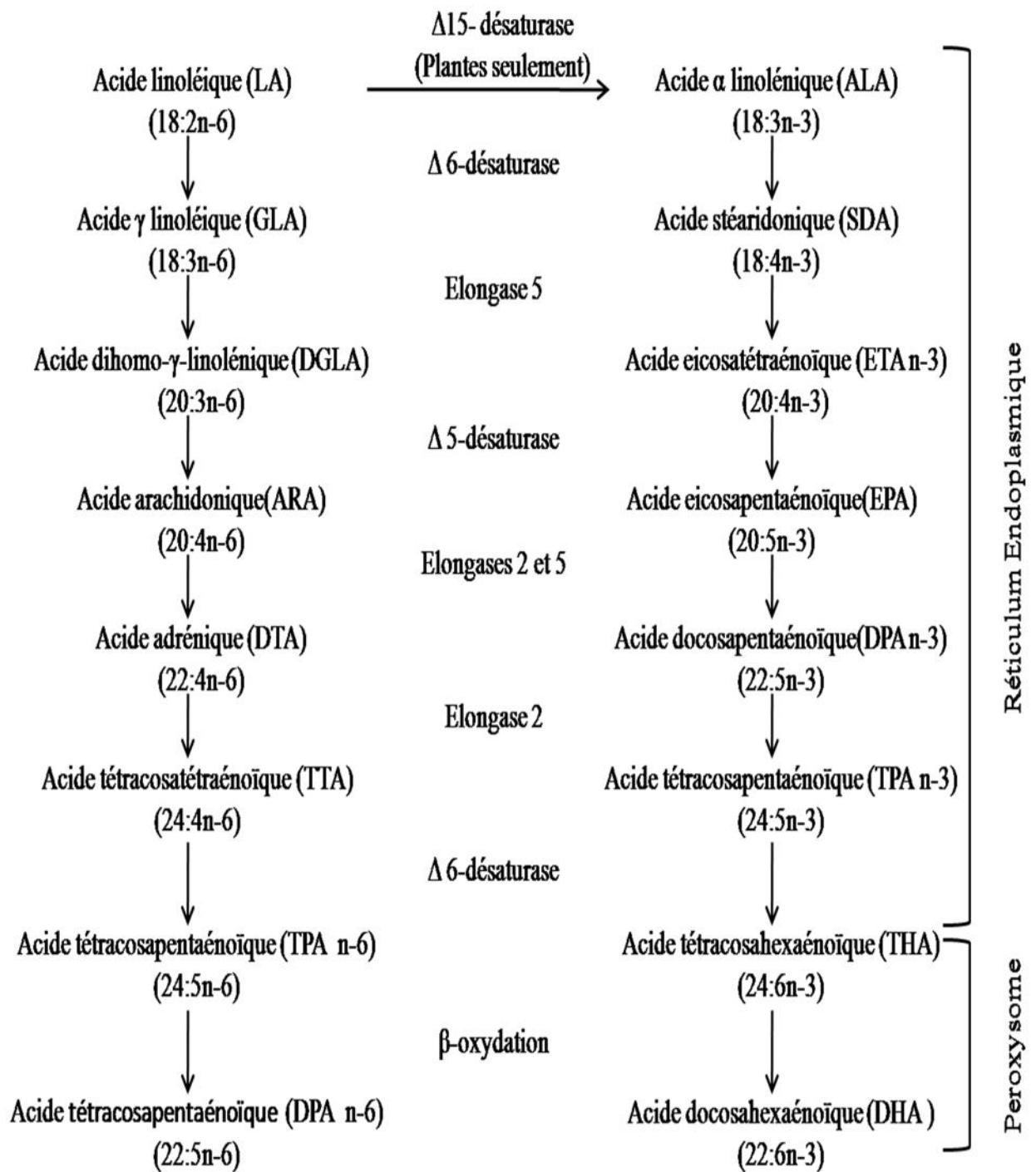


Figure 4. Voies de biosynthèse des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) à partir des AGPI précurseurs indispensables (Calder, 2015a).

2.3. Conversion des AGPI en médiateurs oxygénés actifs

Trois des AGPI à 20 atomes de carbone formés par la voie de désaturation-élongation peuvent entrer dans les voies enzymatiques d'oxygénation, d'hydroxylation et de peroxydation conduisant à la formation de puissants médiateurs dénommés eicosanoïdes. Il s'agit du DGLA et de l'ARA pour la famille des oméga 6, et de l'EPA pour la famille des oméga 3. Ainsi, l'ARA et l'EPA sont les principaux précurseurs d'eicosanoïdes dans la plupart des tissus (Simopoulos, 2002).

L'action de la phospholipase A2 (PLA2) au niveau des phospholipides membranaires libère ces AGPI dans le cytoplasme, qui peuvent alors entrer dans deux voies métaboliques distinctes : (1) la voie des cyclooxygénases (COX) générant les prostanoïdes, c'est à dire les prostaglandines (PG), les prostacyclines (PGI) et les thromboxanes (TX), (2) la voie des lipooxygénases (LOX) produisant les leucotriènes (LT) et les acides gras hydroperoxydés et hydroxylés (Figure 5). Les prostanoïdes sont des AGPI cyclisés et hydroxylés, renfermant un cycle constitué de 5 ou 6 atomes de carbone sur lequel sont fixés des groupes carbonyle ou époxyde. Ces AGPI sont synthétisés dans la plupart des tissus tels que le cœur, les poumons, le rein, l'endothélium vasculaire, les plaquettes, le cerveau, le tissu adipeux...etc.

Les leucotriènes sont des molécules portant toujours 3 doubles liaisons conjuguées « triènes », 1 ou 2 groupes hydroxyles (LTA et LTC) ou 1 groupement époxyde (LTB) et pour les plus complexes, un groupement sulfure sur lequel est fixé un acide aminé (LTC, LTD et LTE). Les leucotriènes sont principalement synthétisés par les cellules participant au processus inflammatoire : monocytes, macrophages, basophiles, mastocytes, neutrophiles.

Pour chaque famille de molécules, on distingue trois séries selon la nature de l'AGPI qui en est la source. Ainsi, les prostanoïdes des séries 1, 2 et 3 et les leucotriènes des séries 3, 4 et 5 dérivent respectivement du DGLA, de l'ARA et de l'EPA (Simopoulos, 2002).

Signalons également que le DHA n'est pas un substrat des cyclooxygénases, mais un inhibiteur puissant de ces enzymes. Par contre, il peut être métabolisé par les lipooxygénases conduisant ainsi à la production de docosanoïdes. Ces dérivés oxygénés à partir du DHA comprennent les docosatriènes, résolvines et protectines (Serhan, 2005).

2.4. Médiateurs lipidiques pro-résolvants

Outre les eicosanoïdes, des données plus récentes font état de l'existence de nouveaux dérivés bioactifs endogènes issus des AGPI: les médiateurs lipidiques pro-résolvants.

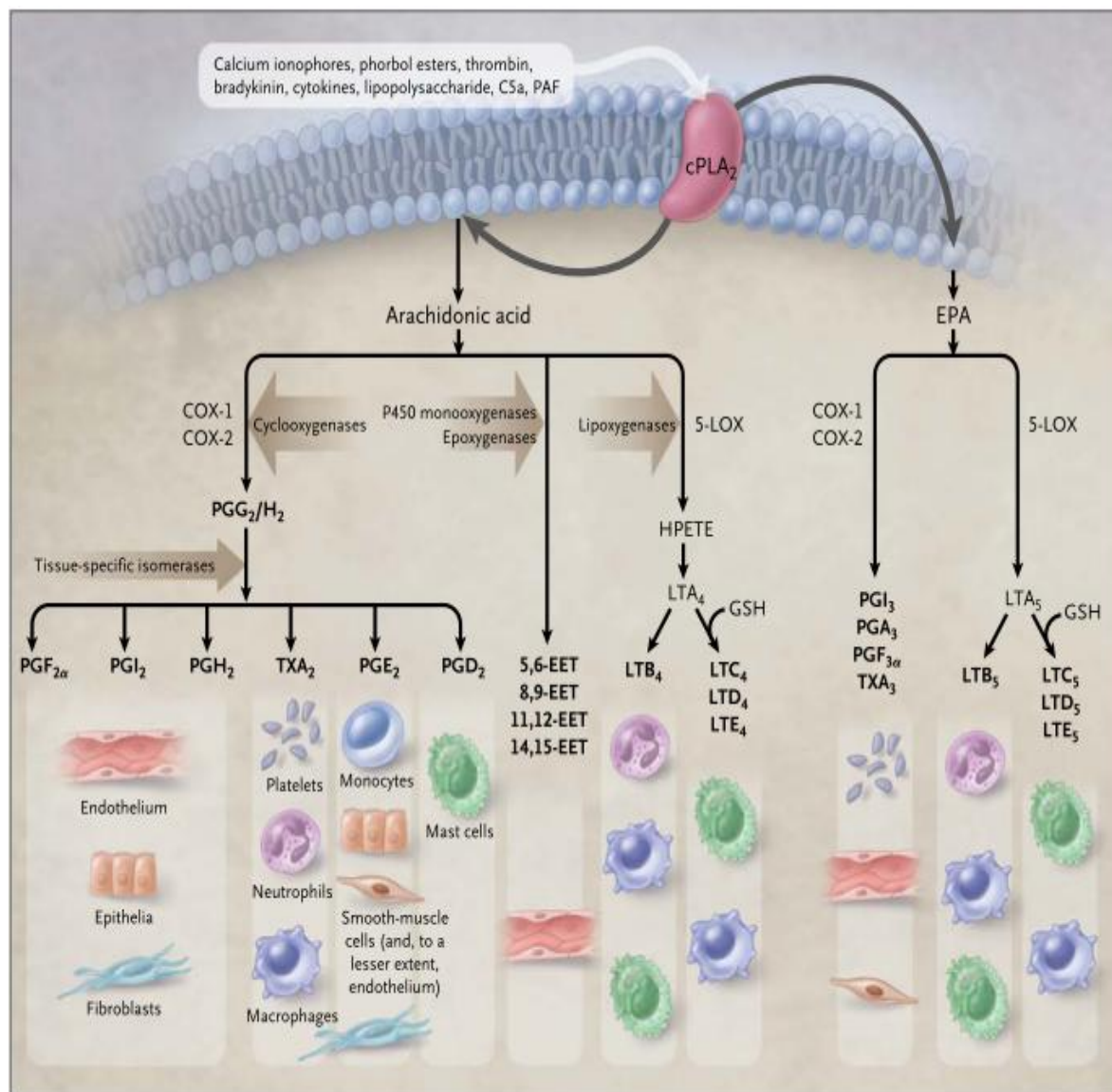


Figure 5. Synthèse des eicosanoïdes à partir de l'acide arachidonique et de l'acide eicosapentaénoïque (De Caterina, 2011).

Les produits finaux sont en gras et les cellules indiquées représentent les principaux sites de production. EET: acide epoxyeicosatriénoïque, GSH: glutathion, HPETE: acide hydroperoxy-eicosatétraénoïque, LTA₄: leukotriène A₄, LTA₅: leukotriène A₅, LTB₅: leukotriène B₅, LTC₅: leukotriène C₅, LTD₅: leukotriène D₅, LTE₅: leukotriène E₅, PAF: platelet- activating factor, PGA₃: prostaglandine A₃, PGD₂: prostaglandine D₂, PGE₂: prostaglandine E₂, PGF_{2α}: prostaglandine F_{2α}, PGF_{3α}: prostaglandine F_{3α}, PGG₂: prostaglandine G₂ et PGH₂: prostaglandine H₂.

Cette famille de médiateurs est générée localement au niveau d'un site d'inflammation peu de temps après l'initiation d'une réponse inflammatoire (Serhan, 2007) (Figure 6).

2.4.1. Dérivés d'AGPI n-6

Les lipoxines (LX), notamment la LXA4, ont été les premiers médiateurs lipidiques identifiés comme possédant des propriétés pro-résolvantes (Serhan et al., 1984). Dérivées de l'ARA, elles sont générées par voie transcellulaire en impliquant plusieurs lipoxygénases, notamment la 12/15-LOX et la 5-LOX et sont exprimées par différents types de cellules (monocytes, macrophages, cellules épithéliales, plaquettes) (Fiore et Serhan, 1990). Les lipoxines se lient à un récepteur couplé à une protéine G, appelé ALX ou FPR2 et qui est exprimé sur les leucocytes et les cellules épithéliales (Chiang et al., 2006).

2.4.2. Dérivés d'AGPI n-3

Parmi les médiateurs lipidiques dits « pré-résolvants » et ayant comme précurseurs les AGPI de la série n-3 on trouve: les résolvines, les protectines et les marésines.

- **Les résolvines**

Produites par la voie dépendante de la cyclooxygénase (COX-2) en présence d'aspirine, on distingue des résolvines de la série E (RvE) dérivées de l'EPA et de la série D (RvD) dérivées du DHA (Serhan et al., 2002).

- **Les protectines**

Les protectines ayant le DHA comme précurseur, se distinguent par la présence d'un triène conjugué dans leur structure (Serhan et al., 2002; Hong et al., 2003). Elles sont biosynthétisées via une enzyme « lipoxygénase-like ». Autrefois appelée 10,17-di HDHA ou 10,17S-docosatriène (Hong et al., 2003), la protectine D1 (PD1) doit son nom actuel à son activité protectrice efficace dans l'inflammation (Marcheselli et al., 2003; Mukherjee et al., 2004; Lukiw et al., 2005; Serhan et al., 2006).

- **Les marésines**

Une nouvelle voie de biosynthèse de médiateurs issus du DHA a été mise en évidence en 2009 dans les macrophages. Le produit principal est la marésine 1 (MaR1). Ce produit est nommé marésine pour « macrophage mediator in resolving inflammation ». Ce nouveau médiateur lipidique possède une activité anti-inflammatoire et des propriétés protectrices « proresolving » similaires à celle de la RvE1 et de la PD1 (Serhan et al., 2009).

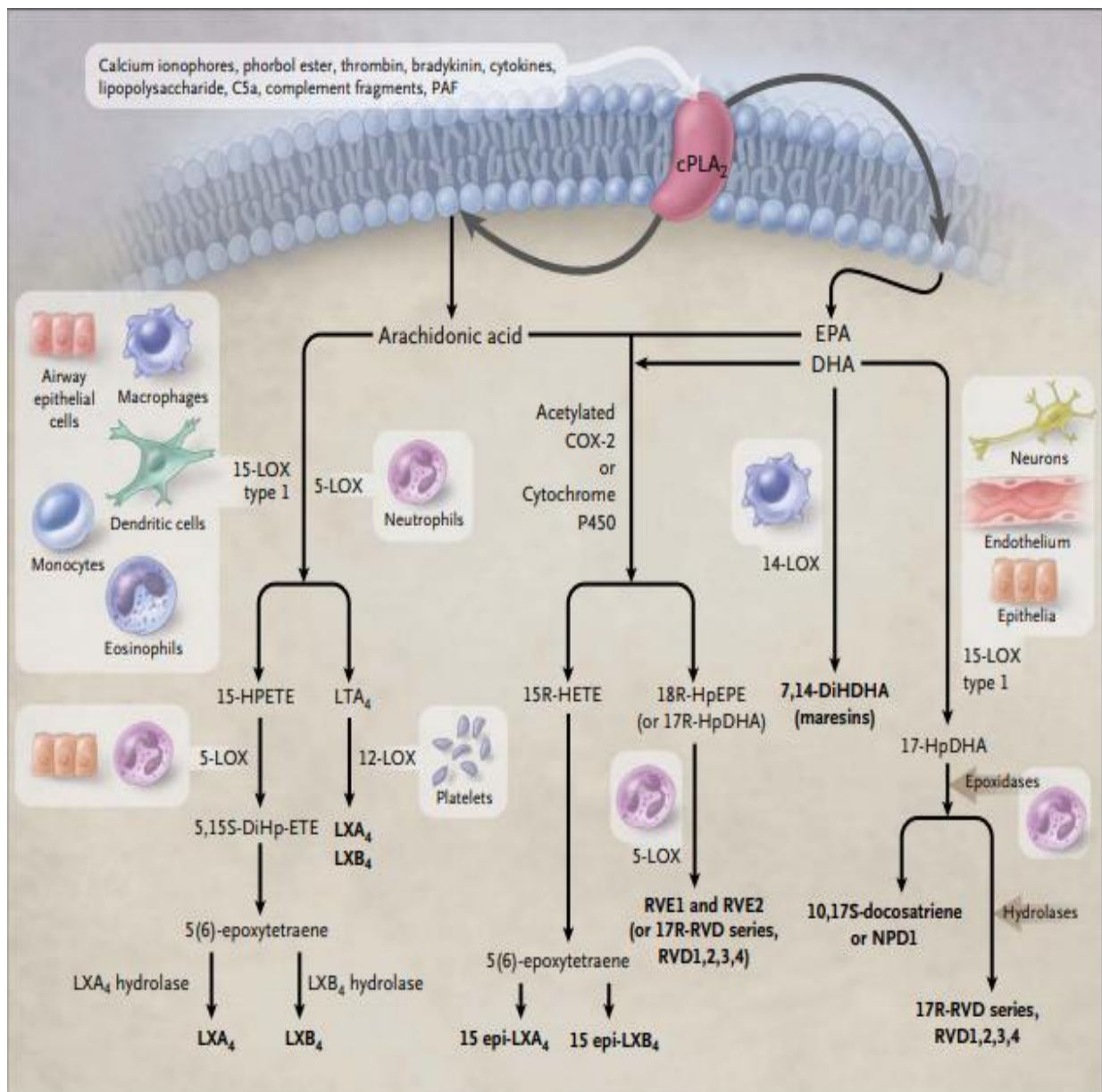


Figure 6. Biosynthèse des médiateurs lipidiques pro-résolvants à partir d'AGPI n-3 et n-6 (De Caterina, 2011).

Les produits finaux sont en gras et les cellules indiquées représentent les principaux sites de production. DiHDHA: acide dihydroxy-docosahexaénoïque, DiHp-ETE: acide dihydroperoxy-eicosatétraénoïque, HETE: acide hydroxy-eicosatétraénoïque, HpDHA: acide hydroperoxy-docosahexaénoïque, HpEPE: acide hydroperoxy-eicosapentaénoïque, HPETE: acide hydroperoxy-eicosatétraénoïque, NPD1: neuroprotectine D1.

2.5. Rôles physiologiques des AGPI

Les effets physiologiques des AGPI précurseurs et de leurs dérivés à longue chaîne mettent en jeu des mécanismes principalement impliqués dans la modulation des propriétés physicochimiques et dynamiques des membranes cellulaires, de la synthèse de médiateurs oxygénés bioactifs et de la transcription de gènes via l'activation de facteurs de transcription comme par exemple les récepteurs nucléaires sensibles aux AGPI (Guesnet et al., 2005).

2.5.1. Rôle structural

L'AL, l'ARA et le DHA sont des constituants fondamentaux des phospholipides membranaires. Ils modulent au sein des membranes cellulaires l'activité d'un grand nombre d'enzymes, de transporteurs, de récepteurs et de canaux ioniques impliqués dans la signalisation inter et intracellulaire. Cet effet peut être direct, par la constitution d'un microenvironnement peu ordonné et flexible, facilitant les changements de conformation nécessaires à l'activité de protéines intrinsèques, ou indirect en induisant la ségrégation de domaines membranaires plus ordonnés enrichis en AGS, glycosphingolipides et en cholestérol; les « rafts » auxquels sont associés des complexes protéiques actifs impliqués dans la signalisation transmembranaire (Guesnet et al., 2005).

2.5.2. Rôle modulateur de la transcription génique

Les AG et leurs métabolites régulent l'expression d'un grand nombre de gènes par l'intermédiaire de multiples facteurs de transcription, parmi lesquels les plus importants sont la protéine de liaison à l'élément de régulation des stérols (SREBP-1c: sterol regulatory element binding protein-1c), les facteurs nucléaires hépatiques (HNF4: hepatic nuclear factor 4), le récepteur des rétinoïdes (RXR α : retinoid X receptor alpha), le récepteur hépatique X (LXR α : liver X receptor alpha) et les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR: peroxisome proliferator-activated receptors) qui jouent un rôle clé dans la régulation du métabolisme énergétique et sont également impliqués dans le contrôle du processus inflammatoire (Staels et Fruchart, 2005).

2.6. Effets des AGPI

2.6.1. Effet immunomodulateur

Le régime alimentaire est considéré comme ayant un impact majeur sur la santé humaine. Les lipides alimentaires, y compris les AGPI-LC, possèdent de puissantes activités immunomodulatrices. Au cours des dernières décennies, l'incidence des maladies

inflammatoires et allergiques a augmenté. Ce phénomène est associé à des carences en AGPI n-3 et à une augmentation des AGPI n-6. Les AGPI n-3 peuvent réduire le développement de maladies allergiques en affectant le système immunitaire inné et adaptatif impliqué dans le déclenchement et la persistance de la maladie allergique. L'huile de poisson s'est révélée efficace dans la prévention primaire de la maladie allergique chez les nourrissons à risque supplémentés pendant la grossesse et l'allaitement (van den Elsen et al., 2012). Un résumé des effets des AGPI n-3 sur la fonction des cellules immunitaires est illustré dans la figure 7.

2.6.1.1. Effet sur les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont le lien entre le système immunitaire inné et adaptatif. Les AGPI n-3 et n-6 sont capables d'inhiber l'expression des signaux de co-stimulation des CD40, CD80 et/ou CD86 induits par les lipopolysaccharides (LPS), ainsi que de supprimer la prolifération des cellules T et la production de cytokines lorsque les CD sont ajoutées aux cellules T naïves, aboutissant ainsi à un phénotype tolérogène des CD (Zeyda et al., 2005; Wang et al., 2007). Des études ont montré que les AGPI n-3 ont la capacité de supprimer l'expression des récepteurs du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II induite par les LPS sur les CD, et à réduire aussi la capacité de ces cellules à présenter l'antigène aux lymphocytes T (Wang et al., 2007; Zapata-Gonzalez et al., 2008). Les AGPI n-3 pourraient aussi diminuer la production du TNF- α qui est important dans la migration et la maturation des CD (van den Elsen et al., 2012). Les eicosanoïdes dérivés de l'ARA, tels que PGE2 et PGD2, ainsi que d'autres médiateurs, tels que l'histamine, influent aussi l'activité des CD. L'histamine et la PGD2 diminuent la sécrétion d'IL-12 par les CD et favorisent une réponse Th2 (Caron et al., 2001; Gosset et al., 2005; Theiner et al., 2006).

2.6.1.2. Effet sur la prolifération et la polarisation des cellules T

La polarisation des réponses Th1/Th2 peut être affectée par la composition des régimes alimentaires en acides gras. Il a été démontré que la PGE2 dérivée de l'ARA inhibait *in vitro* l'activation et la prolifération des cellules T ainsi que la production de l'IL-2 et de l'IFN- γ , en polarisant la réponse des cellules T vers une réponse Th2 (Chouaib et al., 1985; Tilley et al., 2001; Miles et al., 2003). Les AGPI n-3 diminuent la production de PGE2, ce qui est bénéfique pour l'équilibre Th1/Th2 chez les individus allergiques (van den Elsen et al., 2012). Par contre, Trebble et al., (2003) ont rapporté une augmentation de la sécrétion de PGE2 chez les humains supplémentés en huile de poisson.

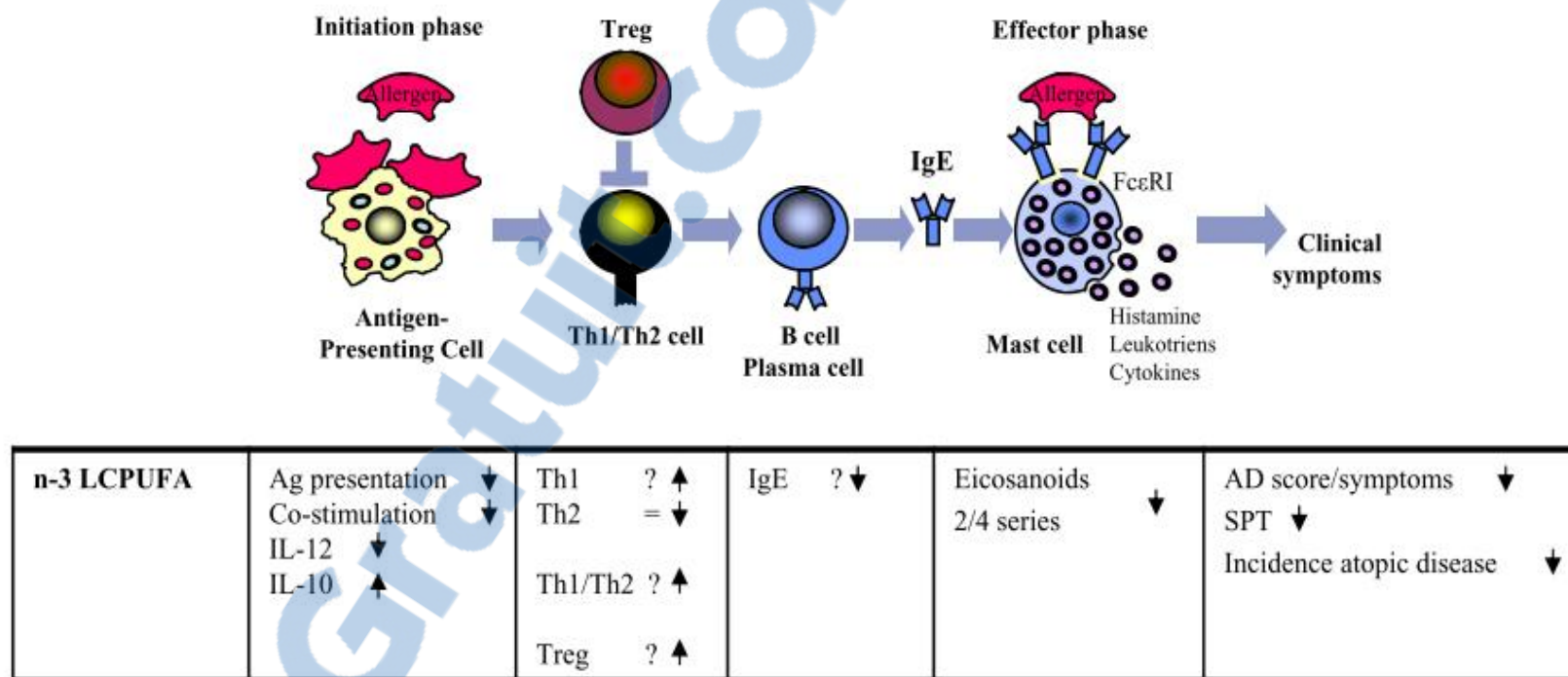


Figure 7. Effets des AGPI n-3 sur la fonction des cellules immunitaires (van den Elsen et al., 2012).

AD: dermatite atopique, SPT: test cutané (skin prick test).

Jusqu'à présent, il n'est pas été clairement montré comment les AGPI n-3 peuvent supprimer sélectivement une réponse Th; il a été suggéré que ces AG favorisent la fonction des cellules T régulatrices (Tregs) (Calder et al., 2006). Les réponses des cellules T peuvent être modulées soit directement par l'incorporation de ces AGPI dans leurs membranes ou indirectement via une interaction avec des cellules B ou des CD présentant l'antigène (Calder et al., 2002; Stulnig et Zeyda, 2004; Galli et al., 2005; Stelekati et al., 2007).

2.6.1.3. Effet sur les mastocytes

La dégranulation des mastocytes peut être influencée par les AGPI, cependant, les effets rapportés varient considérablement et ne sont pas concluants.

Dans des cellules C2 incubées avec de l'ARA et de l'EPA, une augmentation de l'histamine a été observée, cette augmentation est d'autant plus significative avec l'ARA qu'avec l'EPA (Gueck et al., 2004). Il est possible que la dégranulation des mastocytes se fait plus facilement lorsque la membrane est plus fluide; une conséquence de l'incorporation des AGPI dans cette dernière (van den Elsen et al., 2012). Cependant, d'autres études rapportent que les AGPI n'ont pas d'effet sur la dégranulation des mastocytes. L'incubation *in vitro* des mastocytes murins (cellules PT-18) avec l'ARA ou l'EPA n'a pas affecté la libération de l'histamine (Triggiani et al., 1990). De même, l'incubation de mastocytes humains en culture provenant de cellules mononucléées du cordon ombilical avec l'EPA n'avait aucun effet sur la libération de l'histamine (Obata et al., 1999). En outre, il a été démontré que plusieurs AGPI-LC réduisaient la dégranulation des mastocytes. Dans la lignée cellulaire de mastocytes de souris (MC/9), l'ARA a augmenté la concentration en histamine alors que les AGPI n-3 (EPA, DHA et THA) ont réduit cette concentration, seule la libération d'histamine stimulée par des ionophores était affectée par les AGPI contrairement à la dégranulation spontanée et/ou médiée par l'antigène (Ishihara et al., 1998).

Hormis l'histamine, les AGPI pourraient avoir un effet sur la suppression des PGD2 et PGE2. La PGD2 est le principal prostanoïde sécrété par les mastocytes activés et est associé à des maladies allergiques en raison de ses fonctions dans la vasodilatation et l'activation des cellules immunitaires (Obata et al., 1999). De plus, la PGD2 est un facteur (chimiocinétique) stimulant la migration aléatoire des neutrophiles et des éosinophiles (Lewis, 1985). Les médiateurs dérivés d'ARA, tels que le PGD2, sont très importants pour l'initiation de la réponse allergique. Les AGPI n-3 se sont révélés être de puissants inhibiteurs des médiateurs lipidiques pro-inflammatoires, y compris la PGD2. La supplémentation de rats avec un régime riche en huile de poisson a augmenté le taux des AGPI n-3 et a réduit celui de l'ARA dans les

phospholipides des mastocytes péritonéaux. En conséquence de la stimulation de ces mastocytes, la sécrétion de PGD2 et de PGE2 est réduite par rapport à un régime alimentaire contenant principalement des acides gras saturés (van Haaster et al., 1993).

2.6.1.4. Effet sur la production des IgE par les cellules B

Selon les études d'intervention alimentaire menées pendant la grossesse, les AGPI n-3 ont une forte tendance à réduire les taux d'anticorps IgE. Weise et al., (2011) ont montré que dans les cellules B du sang périphérique humain, le DHA inhibait la production d'IgE. Cependant, les études sur les modèles animaux ne sont pas concluantes, probablement en raison des différentes espèces animales utilisées (Calder, 1997). Jusqu'à présent, le mécanisme sous-jacent est inconnu. Les effets sur les CD, le ratio Th1/Th2 ainsi que les effets directs sur les cellules B peuvent être impliqués. Par exemple, la PGE2 favorise la production d'IgE par les cellules B, qui est réduite après la substitution de l'ARA par les AGPI n-3 (Roper et Phipps, 1994; Kaur et al., 1999; Tilley et al., 2001). Cependant, Pène et al., (1988) ont rapporté des résultats contradictoires, à savoir que la PGE2 inhibait la production d'IgE par les lymphocytes du sang périphérique. De plus, les cytokines telles que l'IL-4 et l'IL-13 induisent une commutation des isotypes des IgE dans les plasmocytes. Il est possible que la production de ces cytokines par les cellules T et les mastocytes soit supprimée par les AGPI n-3 (Dunstan et al., 2003b). Il a été découvert que le DHA peut réduire la production d'IgE par les cellules B humaines via la voie de l'IL-4 ou via un effet sur le CD40 (Weise et al., 2011).

2.6.2. Effet anti-inflammatoire

Les maladies inflammatoires chroniques sont caractérisées par une réponse de type Th1 et par une production accrue de cytokines inflammatoires et d'eicosanoïdes dérivés de l'ARA. Plusieurs études suggèrent que les AGPI n-3 pourraient jouer un rôle dans la prévention et le traitement des maladies inflammatoires chroniques (Calder et Grimble, 2002). A l'appui de cette idée, il a été démontré que l'huile de poisson diététique exerce des effets thérapeutiques dans les maladies auto-immunes telles que le psoriasis (Bittiner et al., 1988), la dermatite atopique (Bjorneboe et al., 1987) et la sclérose en plaques (Bates et al., 1989) ainsi que l'arthrite rhumatoïde (Kremer, 1991; Geusens et al., 1994).

Dans l'étude de Sierra et al., (2006), chez des souris nourries pendant 3 semaines par un régime enrichi soit en AGPI n-6 ou en AGPI n-3, ces derniers ont réduit l'œdème, l'infiltration des leucocytes, et ont augmenté les défenses antioxydantes et la production d'IL-10 dans les oreilles enflammées des souris. Zhang et al., (2005) ont suggéré que les effets

anti-inflammatoires des AGPI n-3 expliqués par un changement de la balance Th1/Th2, pourraient être dus à la suppression directe du développement d'une réponse Th1 et non à une polarisation accrue des lymphocytes T dirigés vers un phénotype Th2, du moins *ex vivo*.

2.6.3. Autres effets

Les AGPI particulièrement ceux de la série n-3 présentent des effets bénéfiques sur la santé tels que des effets chimio-préventifs (Larsson et al., 2004), anti-arythmiques (Charnock, 1991), anti-thrombotiques (Barcelli et al., 1985), anti-athéromateux (Davis et al., 1987), anti-oxydants (Casós et al., 2010) et hypolipémians (Sanders et Hochland, 1983).

2.7. Mécanismes d'action des AGPI sur le système immunitaire

De nombreuses études ont été réalisées au cours de ces dernières années pour démontrer le rôle des AGPI sur la modulation du système immunitaire, cette dernière dépend du type de cellule, du modèle animal et de l'état étudié; les effets de cette modulation peuvent être considérés comme bénéfiques (par exemple, anti-inflammatoires) ou néfastes (par exemple, la perte d'immunité antimicrobienne) (McMurray et al., 2011).

Les mécanismes d'action moléculaires des AGPI sont encore mal connus. Ils pourraient avoir soit des effets directs, soit des effets indirects. Les AGPI pourraient exercer leurs effets par :

- Le changement de la composition des phospholipides membranaires en acides gras.
- La modification de l'expression de certains gènes.
- La production de certains eicosanoïdes.
- La génération de certains médiateurs lipidiques alternatifs.

2.7.1. Changement de la structure membranaire

On considère généralement que l'influence des AG sur les réponses cellulaires inflammatoires, et donc les processus inflammatoires, implique leur incorporation dans les phospholipides de la membrane cellulaire (Calder, 2008). Des cellules telles que les lymphocytes, les macrophages ou les neutrophiles prélevées de rongeurs de laboratoire nourris avec des régimes alimentaires faibles en matières grasses dans lesquels la majeure partie des graisses proviennent d'huile végétale contiennent de grandes quantités d'ARA (souvent ~ 20% des AG totaux) dans leurs phospholipides membranaires et de très faibles quantités d'EPA et de DHA (Calder et al., 1990; Peterson et al., 1998).

L'inclusion d'EPA ou de DHA, ou des deux, dans les régimes alimentaires de ces rongeurs entraîne une augmentation des quantités de ces AG dans les phospholipides de ces cellules (Chapkin et al., 1991; Peterson et al., 1998). Les mêmes observations ont été enregistrées chez l'homme (Lee et al., 1985; Browning et al., 2012). Tant chez l'animal que chez l'humain, l'incorporation des AGPI n-3 dans les phospholipides membranaires des cellules impliquées dans l'inflammation se produit en fonction de la durée (Yaqoob et al., 2000; Browning et al., 2012) et de la dose (Healy et al., 2000; Rees et al., 2006; Browning et al., 2012) et se fait largement aux dépens de l'ARA.

Ces modifications de la composition en AG semblent jouer un rôle important dans la régulation de la formation des radeaux lipidiques dans les membranes en réponse à un stimulus inflammatoire et dans la production de médiateurs lipidiques générés par ces phospholipides membranaires (Calder, 2015b).

Des études ont identifié l'EPA et le DHA comme des perturbateurs de l'organisation biophysique et biochimique de la membrane plasmique, modulant finalement l'architecture de la membrane et les résultats fonctionnels potentiels (par exemple, une signalisation modifiée par la membrane modifiée) (Katagiri et al., 2001; Yaqoob, 2009).

La perturbation de domaines lipidiques avec les AGPI-LC n-3 est un mécanisme amont qui permet d'observer les nombreux effets immunomodulateurs des activités cellulaires en aval (génération de lipides bioactifs, activation de gènes, trafic de protéines, sécrétion de cytokines,.....etc) (Fenton et al., 2013).

L'incorporation des AGPI-LC n-3 altère les réponses immunitaires innées et adaptatives, notamment la maturation des cellules dendritiques, la fonction des macrophages et la polarisation/l'activation des cellules B et T (Shaikh et Edidin, 2006, 2008; McMurray et al., 2011). Une équipe de recherche a mis la lumière sur l'immunomodulation induite par les AGPI-LC n-3 en démontrant que le DHA affecte le regroupement et la taille des radeaux lipidiques dans les cellules B *in vivo* et *ex vivo* en altérant l'organisation latérale et l'expression des molécules de surface; CMH de classe I Rockett et al., (2011), ainsi que la perturbation de l'organisation du CMH de classe II (Rockett et al., 2013).

Un modèle proposé par Fenton et al., (2013) des mécanismes par lesquels les AGPI incorporés dans la membrane plasmique pourraient exercer leurs effets immunomodulateurs est illustré dans la figure 8.

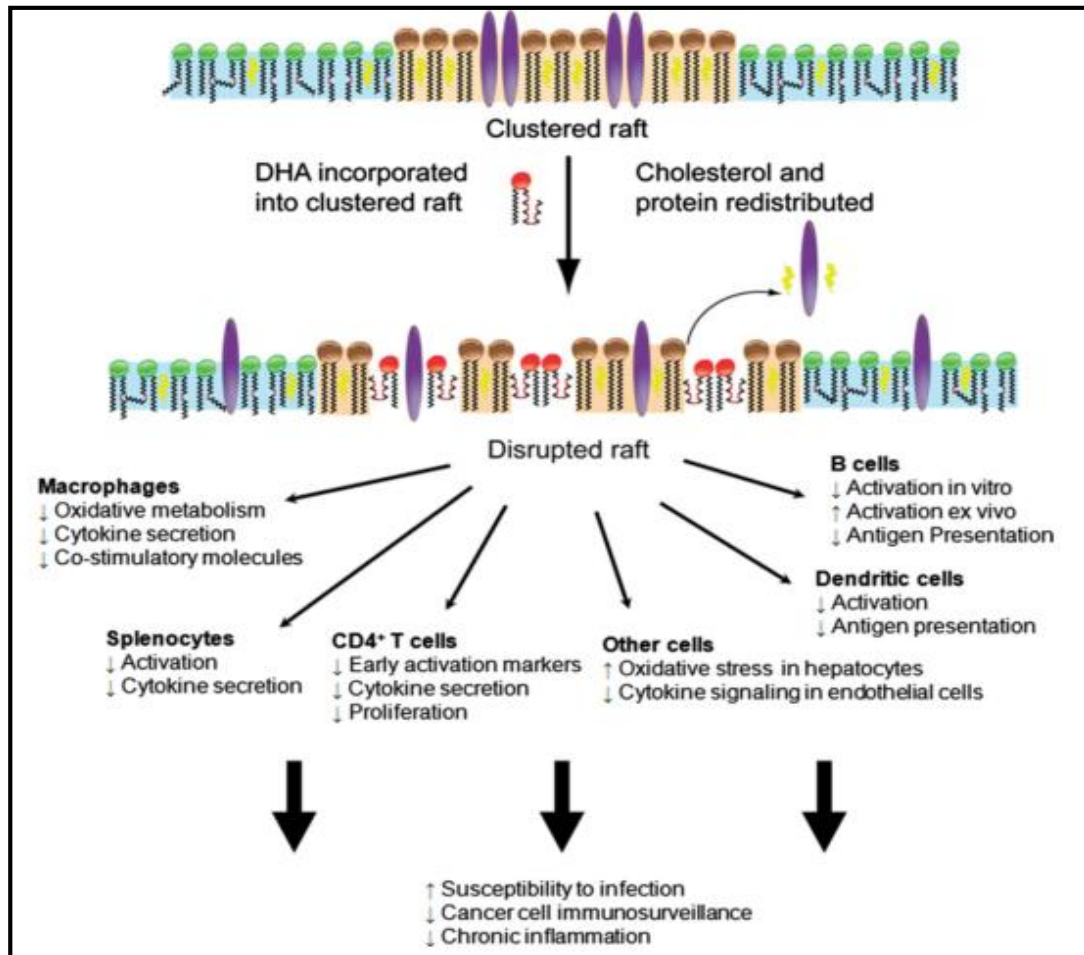


Figure 8. Effets de l'incorporation du DHA dans les phospholipides membranaires (Fenton et al., 2013).

Le modèle montre un mécanisme proposé par lequel les chaînes acyle du DHA perturbent le regroupement physique des radeaux lipidiques et des protéines associées.

DHA : Acide docosahexaénoïque.

2.7.2. Production des eicosanoïdes

Les eicosanoïdes jouent un rôle dans la modulation de l'intensité et de la durée des réponses inflammatoires (Lewis et al., 1990; Tilley et al., 2001). Ainsi, le résultat physiologique (ou physiopathologique) global dépendra des cellules présentes, de la nature du stimulus, du moment de la génération des eicosanoïdes, des concentrations de différents eicosanoïdes générés et de la sensibilité des cellules et des tissus cibles vis-à-vis de ces derniers (Calder, 2006).

2.7.2.1. Eicosanoïdes issus des AGPI n-6

Des études chez l'animal ont montré une forte relation positive entre la quantité d'ARA dans les cellules inflammatoires et la capacité de ces cellules à produire des eicosanoïdes tels que les PGE₂ (Peterson et al., 1998). A son tour, la quantité d'ARA dans les cellules inflammatoires peut être augmentée en incluant ce dernier dans l'alimentation des rats (Peterson et al., 1998) ou des humains (Thies et al., 2001b). Elle peut également être influencée par l'apport alimentaire de son précurseur; l'AL (Sijben et Calder, 2007).

La supplémentation du régime alimentaire de jeunes hommes en bonne santé avec 1,5 g d'ARA/ jour pendant 7 semaines a entraîné une augmentation de la production de PGE₂ et de LTB₄ par les cellules mononucléées stimulées par des endotoxines (Kelley et al., 1998). Cependant, la production de TNF- α , IL-1 β et IL-6 par ces cellules n'était pas significativement modifiée (Kelley et al., 1998). De même, il a été constaté que l'ARA n'avait aucun effet sur la prolifération des cellules T stimulées par les mitogènes, l'activité des cellules Natural Killers (NK) (Kelley et al., 1997) ou la production d'IL-2 par des lymphocytes T stimulés par un mitogène (Kelley et al., 1998).

De la même manière, la supplémentation du régime alimentaire de sujets âgés en bonne santé avec de l'ARA à 0,7 g/jour, en plus d'un apport habituel d'environ 0,15 g/jour pendant 12 semaines n'a pas modifié la production de TNF- α , IL-1 β ou IL-6 par des cellules mononucléées stimulées par des endotoxines n'a pas changé la production des espèces oxygénées réactives (superoxydes) par des neutrophiles ou des monocytes et n'a pas modifié les concentrations de VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) ou des sélectines-E. Ces études suggèrent qu'une consommation légèrement accrue d'ARA entraîne l'incorporation de ce dernier dans les cellules impliquées dans les réponses inflammatoires, mais cela n'affecte pas la production de cytokines inflammatoires, superoxydes ou la perte de molécules d'adhésion, bien que la production d'eicosanoïdes inflammatoires soit accrue (Thies et al., 2001 a,b,c).

2.7.2.2. Eicosanoïdes issus des AGPI n-3

Etant donné qu'une consommation accrue des AGPI n-3 diminue la quantité d'ARA dans les phospholipides membranaires des cellules impliquées dans l'inflammation, on pourrait s'attendre à une diminution de la production de médiateurs dérivés de l'ARA simplement en raison d'une quantité réduite de substrat disponible (Calder, 2015b) (Figure 9). Il a été prouvé que la supplémentation en huile de poisson de l'alimentation humaine induisait une diminution de la production de PGE2 (Endres et al., 1989; Meydani et al., 1991; Caughey et al., 1996; Trebble et al., 2003), de thromboxane B2 (Caughey et al., 1996), de LTB4, du 5-HETE (Lee et al., 1985; Sperling et al., 1993) et de LTE4 (von Schacky et al., 1993) par les cellules inflammatoires. De plus Kelley et al., (1999) ont montré que 6 g de DHA/jour entraînaient une diminution de la production de PGE2 de 60% et de LTB4 de 75% par les cellules mononucléées stimulées par des endotoxines.

L'EPA peut également servir de substrat à la fois pour la COX-2 et la 5-LOX, donnant des eicosanoïdes de structure légèrement différente de ceux formés à partir de l'ARA. Ainsi, il a été démontré que la supplémentation en huile de poisson de l'alimentation humaine entraînait une augmentation de la production de LTB5, LTE5 et du 5-HEPE par des cellules inflammatoires (Lee et al., 1985; Sperling et al., 1993; von Schacky et al., 1993).

L'importance fonctionnelle de ceci réside dans le fait que les médiateurs formés à partir de l'EPA sont moins puissants que ceux formés à partir de l'ARA. Par exemple, LTB5 est 10 à 100 fois moins puissant comme agent chimioattractant des leucocytes que LTB4 (Goldman et al., 1983; Lee et al., 1984). Une des raisons de cette réduction est que les récepteurs aux eicosanoïdes ont généralement une plus faible affinité pour les médiateurs dérivés de l'EPA que pour ceux dérivés de l'ARA. Il a été démontré aussi que les PGE3 ont une affinité inférieure de 50 à 80% à celle des PGE2 vis-à-vis des récepteurs EP1, EP2, EP3 et EP4 Wada et al., (2007).

7.2.3. Production de médiateurs lipidiques pro-résolvants

Il a été démontré que les médiateurs lipidiques spécifiques de la résolution sont synthétisés lors de la réponse allergique respiratoire et ont exaspéré des effets bénéfiques. Cependant, à l'heure actuelle et à notre connaissance, il n'existe pas d'études mettant en évidence l'effet de ces médiateurs lors des allergies alimentaires. Le tableau 1 établit par Barnig, (2016) résume les résultats des études faites sur effets de ces médiateurs pro-résolvants sur l'asthme allergique chez des modèles animaux.

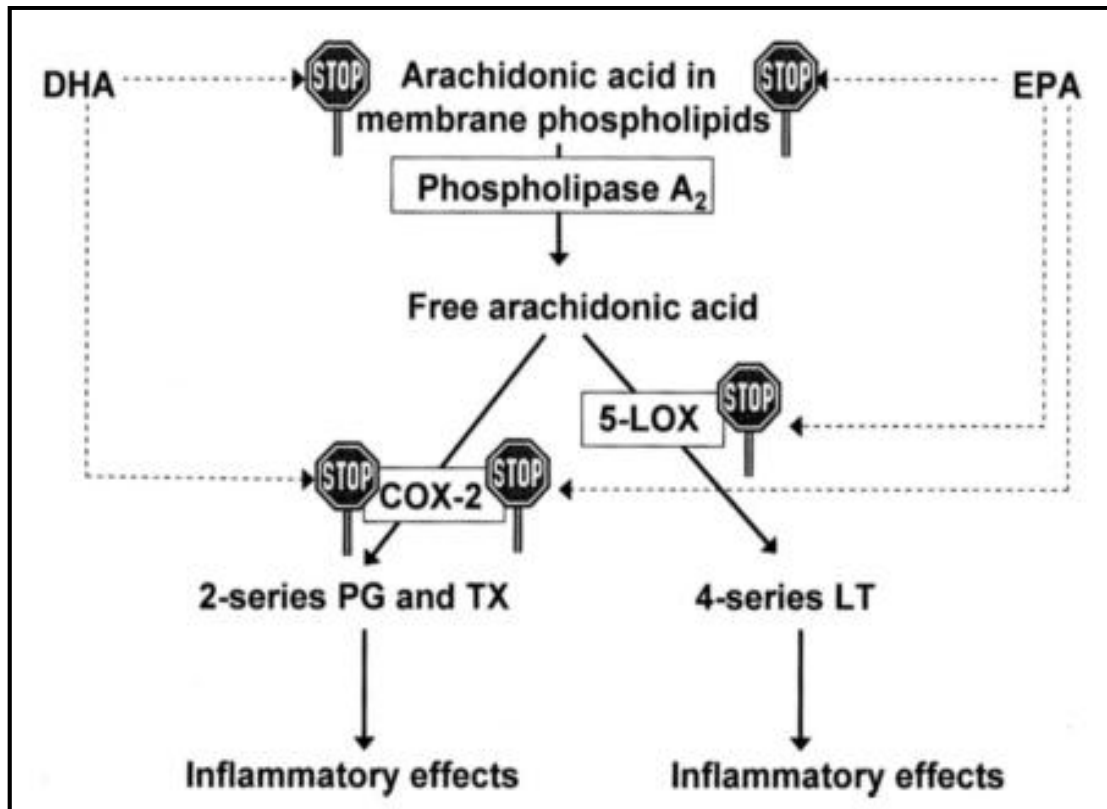


Figure 9. Mécanisme classique de l'action anti-inflammatoire des acides gras n-3 à longue chaîne (Calder, 2006).

L'EPA et le DHA diminuent les quantités de l'acide arachidonique disponibles comme substrat pour la synthèse des eicosanoïdes et inhibent également son métabolisme.

DHA : Acide docosahexaénoïque.

EPA : Acides eicosapentaénoïque.

Tableau 1. Activités biologiques *in vivo* des différents médiateurs lipidiques spécifiques de la résolution démontrées dans des modèles expérimentaux d'asthme allergique (Barnig, 2016).

Médiateurs	Actions	Références
Lipoxine A4	Inhibe le développement de l'hyperréactivité bronchique, réduit le recrutement d'éosinophiles et de lymphocytes et bloque la synthèse d'IL-5, d'IL-13, de PGE2 et de leukotriènes cystéinés	Levy et al., 2002; Bonnan et al., 2006.
Lipoxine B4	Réduit l'inflammation allergique au niveau des voies respiratoires, inhibe la dégranulation des mastocytes, atténue l'hyperréactivité bronchique	Karra et al., 2015
Résolvine E1	Diminue le recrutement d'éosinophiles et de lymphocytes bronchiques, inhibe la production d'IL-13, stimule la production de LXA4, réduit le niveau d'hyperréactivité bronchique et la quantité de mucus produite par les cellules caliciformes.	Aoki et al., 2008; Haworth et al., 2008; Aoki et al., 2010; Haworth et al., 2011; Flesher et al., 2014
Résolvine D1	Inhibe le développement de l'hyperréactivité bronchique et de l'inflammation allergique au niveau des voies respiratoires.	Rogerio et al., 2012.
Protectine D1	Diminue le recrutement d'éosinophiles et de lymphocytes respiratoires, inhibe la production d'IL-13, d'IL-13, de la PGD2 et des leukotriènes cystéinés, inhibe l'hyperréactivité bronchique.	Levy et al., 2007
Marésine 1	Diminue la production d'IL-5 et d'IL-13 par les ILC2, augmente la génération de Ly Treg.	Krishnamoorthy et al., 2015

2.7.4. Transcription génique

Les AGPI peuvent perturber directement la transcription génique en interagissant avec les récepteurs nucléaires. Les PPARs constituent une famille de protéines cytosoliques qui, une fois liées au bon ligand, diffusent dans le noyau et renforcent ou inhibent la transcription génique. Les PPARs sont présents sur les macrophages, les cellules T et B, les cellules dendritiques, les cellules endothéliales et d'autres types cellulaires (Glass et Ogawa, 2006).

L'EPA et le DHA sont tous les deux des ligands pour le PPAR- α , le PPAR- δ et le PPAR- γ (Kliewer et al., 1997). Les agonistes du PPAR- α inhibent la production de TNF- α , IL-6 et IL-1 (Kostadinova et al., 2005). Dans les lymphocytes T, les agonistes du PPAR- α inhibent la production d'IL-2 diminuant ainsi la prolifération lymphocytaire (Glass et Ogawa, 2006).

Matériels et Méthodes

1. Produits chimiques, réactifs et matériels utilisés

Les huiles utilisées comme sources d'AGPI, l'huile de poisson (F8020) riche en AGPI n-3 et l'huile de maïs (C8267) riche en AGPI n-6 avec une faible proportion d'AGPI n-3 sont fournies par Sigma-Aldrich (USA). La fraction pure de la β -Lactoglobuline bovine (β -Lg) est fournie par Sigma (France). Les kits utilisés pour les dosages biochimiques du cholestérol total et des triglycérides proviennent de chez SPINREACT (Espagne) et de chez BIOLABO (France) pour le dosage du cholestérol-LDL et du cholestérol-HDL. Sauf indications contraires, tous les produits chimiques et réactifs utilisés proviennent de chez Sigma et Merck (France). Le matériel utilisé pour la technique ELISA provient de chez Labsystem. La chambre de Ussing est obtenue auprès de Physiology Instruments (San Diego, CA, USA).

2. Animaux

Dans ce travail, les expérimentations sont menées sur des souris de souche BALB/c, une souche congénique particulièrement appréciée dans les recherches immunologiques (Zhou et al., 2016). Ces souris sont fournies par l'Institut Pasteur d'Alger et sont mises en reproduction et hébergées conformément à la réglementation dans l'animalerie du laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire de l'Université Oran1. Dès l'âge de trois semaines, les nouveaux nés sont sevrés et triés selon le sexe ; les femelles serviront ainsi à la formation des différents groupes. Les animaux ont un accès *ad libitum* à un régime standard pour rongeur (ONAB) et à de l'eau de robinet. Les expériences sont effectuées en respectant le bien-être de l'animal, évitant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats.

2.1. Répartition des groupes

Un total de 144 souris femelles est utilisé au cours de cette expérimentation; ces souris âgées de 4 à 5 semaines et pesant en moyenne 20 ± 2 g sont réparties en 8 groupes de 18 souris chacun comme suit (Figure 1).

- **Un groupe témoin négatif (T-)** : souris ne recevant aucun traitement.
- **Un groupe témoin positif (T+)**: souris recevant par gavage une solution de PBS 1/10 pH 7,4 à une dose de 0,6% Volume/Poids (V/Pds) pendant 15 jours puis sont immunisées à la β -Lg.

Les souris des groupes expérimentaux sont gavées à l'huile de poisson (HP) ou à l'huile de maïs (HM) aux doses de 0,6%, 1%, et 1,5% Volume/Poids (V/Pds) pendant 15 jours consécutifs avant leur immunisation avec la β -Lg. Ils sont répertoriés comme suit :

- **Groupe (HP 0,6%)** : souris recevant de l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.
- **Groupe (HP 1%)** : souris recevant de l'huile de poisson à la dose de 1% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.
- **Groupe (HP 1,5%)** : souris recevant de l'huile de poisson à la dose de 1,5% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.
- **Groupe (HM 0,6%)** : souris recevant de l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.
- **Groupe (HM 1%)** : souris recevant de l'huile de maïs à la dose de 1% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.
- **Groupe (HM 1,5%)** : souris recevant de l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds pendant 15 jours puis immunisées à la β -Lg.

2.2. Protocole d'immunisation

Les souris reçoivent par voie intrapéritonéale (i.p) un volume de 100 μ l d'une solution de PBS 1/10 pH 7,4 contenant 10 μ g de β -Lg mélangés à 2 mg d'hydroxyde d'aluminium ($\text{Al}(\text{OH})_3$), ce dernier étant un adjuvant orientant la réponse immunitaire vers une réponse Th2 (Lindblad, 2004). La première injection a lieu juste après la fin du gavage (15 jours) suivie d'un premier rappel après 2 semaines et de deux autres rappels à une semaine d'intervalle chacun (Negaoui et al., 2009) (Figure 10).

2.3. Mesure de la croissance pondérale

Le poids des souris est mesuré régulièrement chaque semaine, du début de l'expérimentation (J0) jusqu'au jour du sacrifice (J50). Une cinétique est établie pour évaluer l'impact de la supplémentation à l'huile de poisson et à l'huile de maïs sur l'évolution pondérale des animaux.

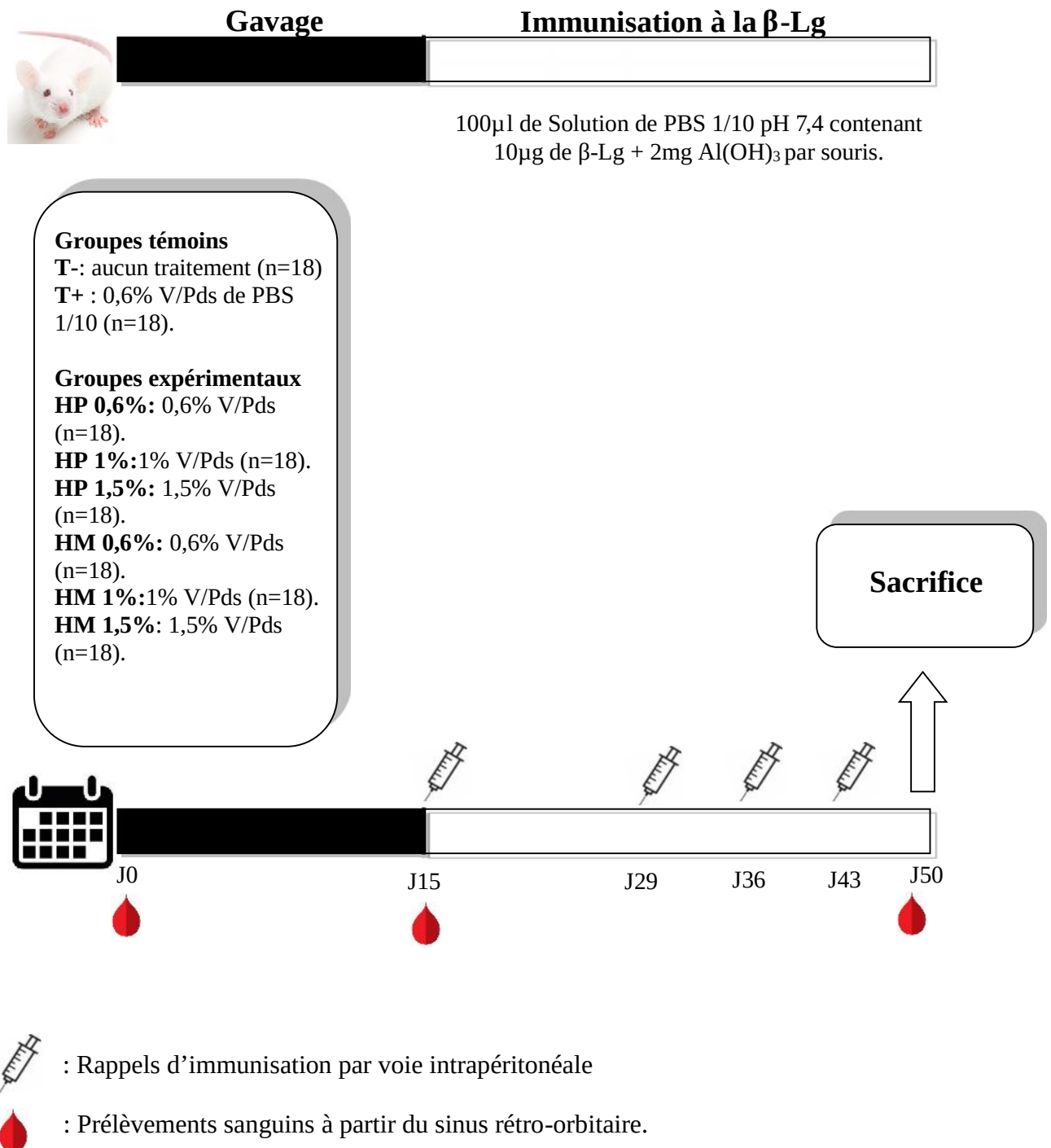


Figure 10. Diagramme représentatif du protocole de gavage et d'immunisation.

2.4. Sacrifice

A la fin de l'expérimentation, à J50, c'est à dire une semaine après le dernier rappel, les souris sont sacrifiées. Le jour du sacrifice, les souris de chaque groupe sont réparties en deux sous-groupes comprenant chacun 09 souris; un sous groupe est soumis à une provocation *in vivo* par la β -Lg, tandis que l'autre sous-groupe subit une provocation *ex-vivo* à la β -Lg. Les sérums et plasmas obtenus ainsi que les intestins et foies prélevés sont ensuite conservés jusqu'à analyses. Les détails des prélèvements et conservations sont discutés ultérieurement.

Un diagramme représentatif de la démarche suivie le jour du sacrifice est illustré dans la figure 11.

3. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse allergique

Dans cette partie du travail nous étudions le pouvoir immunomodulateur des AGPI sur la réponse allergique induite par la sensibilisation à la β -Lg en mesurant les taux des anticorps sériques (IgG et IgE). Pour cela nous effectuons des prélèvements sanguins précédés par un test de provocation *in vivo* à la β -Lg.

3.1. Test de provocation *in vivo* et obtention des sérums

Le jour du sacrifice les souris reçoivent par une injection unique par voie intrapéritonéale un volume de 100 μ l d'une solution de PBS 1/10 contenant 1 mg de β -Lg, sans adjuvant (Li et al., 1999). Au bout de 30 minutes (min) un prélèvement sanguin sur l'animal vigil est effectué à partir du sinus rétro orbitaire à l'aide d'une pipette Pasteur. Le sang est prélevé dans des tubes secs et centrifugé à 3500 tours/min à 4°C pendant 15 min. Le surnageant correspondant au sérum est récupéré, mis en aliquotes puis congelé à -20 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

3.2. Dosage des anticorps sériques IgG, IgE

Les immunoglobulines IgG et IgE anti β -Lg, sont dosés selon un procédé non compétitif par la technique immuno-enzymatique ELISA indirecte. Les IgE totales sont par ailleurs dosées par ELISA sandwich.

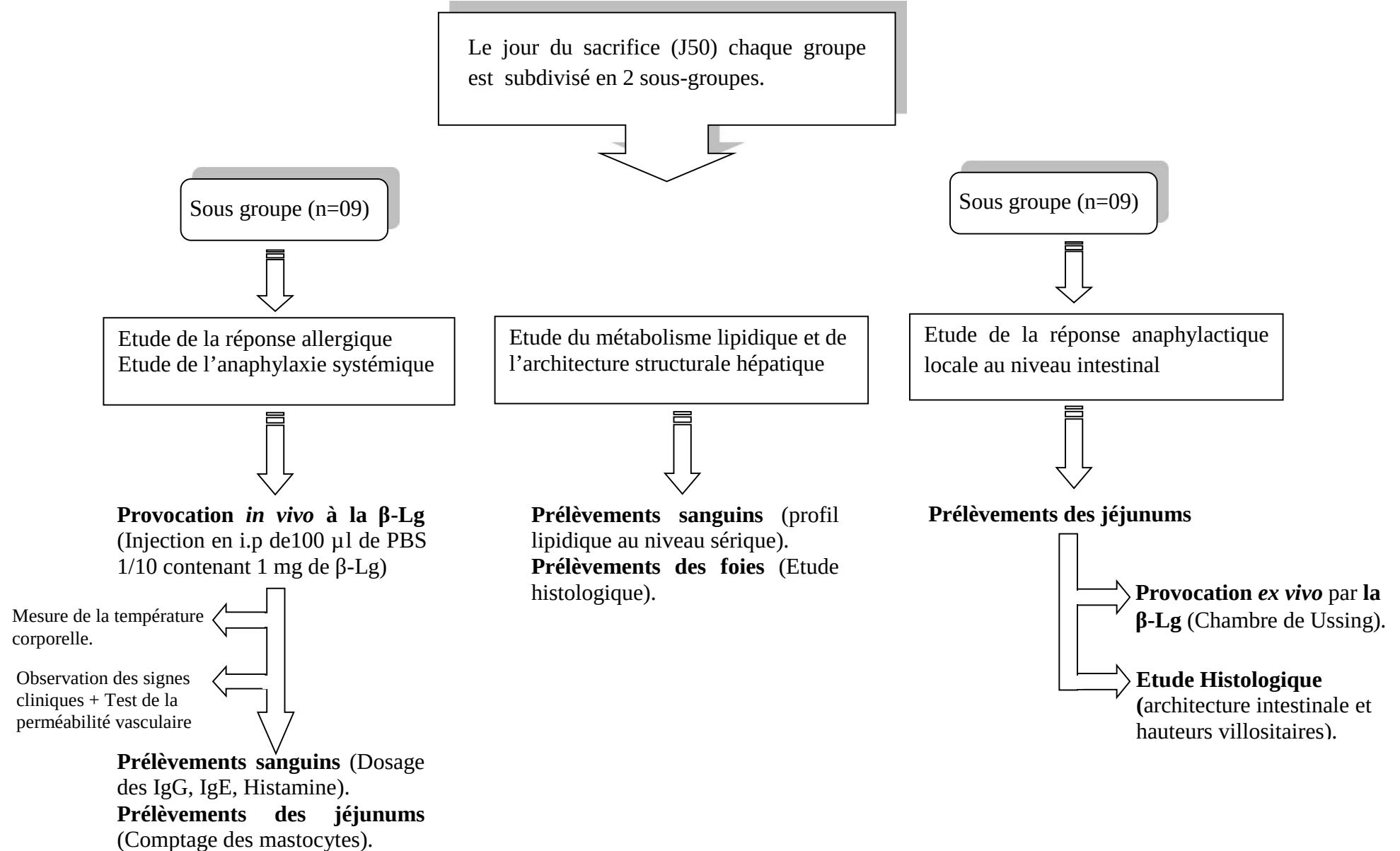


Figure 11. Diagramme représentatif de la démarche du sacrifice.

3.2.1. Principe général de la méthode ELISA indirecte

Le principe de cette technique est basé sur un procédé dans lequel les anticorps à doser réagissent dans un premier temps avec l'antigène immobilisé par adsorption sur une phase solide. Dans un deuxième temps, la quantité d'anticorps fixés par l'antigène est mesurée à l'aide d'un deuxième anticorps (anti-immunoglobuline).

Dans le cadre de notre travail, nous utilisons des plaques de microtitration en polystyrène (NUNC Maxisorb, puits à fond plat), qui permettent d'adsorber la plupart des antigènes. Après dépôt de l'immun sérum contenant les anticorps spécifiques, la phase solide est lavée et la présence de ces anticorps est révélée par l'addition d'un conjugué qui correspond à des anticorps couplés ou non à une enzyme (peroxydase). La dernière étape correspond au dosage de l'enzyme marqueur. Cette phase est essentielle, car du plus petit nombre de molécules d'enzymes détectées, dépendra le seuil de sensibilité. Le substrat de la peroxydase que nous utilisons est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Au cours de la réaction enzymatique, un radical O se forme. Pour le détecter nous ajoutons à la solution un chromogène, l'orthophénylène diamine (OPD).

3.2.1.1. Mode opératoire

Le dosage immuno-enzymatique des IgG et IgE spécifiques anti β -Lg est réalisé par la technique ELISA indirecte à l'aide de plaques de 96 puits à fond plat (NUNC Maxisorb), selon les étapes suivantes :

- Tous les puits de la microplaque reçoivent 100 μ l de β -Lg à la concentration de 10 μ g/ml, dissous dans du PBS pH 7,4 (Tableau 2) dilué au 1/10. La plaque est alors incubée pendant au moins une nuit à 4 °C.
- L'excès d'antigène non fixé est éliminé par 3 lavages successifs de la plaque avec un tampon de lavage à l'aide d'un laveur automatique (Elx50).
- Les sites non spécifiques sont saturés par le dépôt dans tous les puits de 300 μ l de tampon de saturation.
- La plaque est ensuite incubée pendant 1 heure à 37 °C puis rincée 3 fois de suite par le tampon de lavage.
- L'opération suivante consiste à diluer les échantillons de sérum à tester dans un tampon de dilution. Une série de dilution est alors effectuée allant de 10^{-1} à 10^{-7} . Un volume de 100 μ l est ensuite déposé dans les puits appropriés.

- La plaque est alors incubée à 37 °C pendant 2 heures, puis lavée 3 fois de suite au tampon de lavage.
- Ensuite, chaque puits de la plaque reçoit, selon les anticorps recherchés, 100 µl d'anti anticorps de souris dilué dans du tampon de dilution. L'anti anticorps déposé est soit un anti IgG dilué au 1/20000^{ème}, soit un anti IgE (BD Pharmingen) dilué au 1/1000^{ème}.
- La plaque est alors incubée pendant 1 heure 30 min à 37 °C, suivie d'un lavage 3 fois de suite au tampon de lavage.
- 100 µl d'extravidine peroxydase diluée à 1/5000 dans le tampon de dilution sont déposés dans tous les puits. La plaque est ensuite incubée pendant 30 min à 37 °C.
- Après lavage, 200 µl d'une solution contenant un chromogène; l'orthophénylène diamine (OPD) sont déposés dans chaque puits de la plaque. Une réaction colorée se développe en 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'ajout de 50µl d'acide sulfurique (H₂SO₄2N) permet de stopper la réaction.
- L'intensité de la réaction colorimétrique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un lecteur (ELx800).
- Des témoins positifs et négatifs sont inclus dans chaque plaque afin de contrôler la spécificité et la sensibilité de chaque mesure.

Les compositions des différentes solutions utilisées pour cette technique sont données dans le tableau 3.

3.2.2. Principe général de la méthode ELISA sandwich

Un dosage ELISA sandwich consiste à piéger les IgE totales des échantillons entre un anticorps de capture adsorbé sur une microplaque de 96 puits et un anticorps de détection. L'anticorps de détection est dans la plupart des cas biotinylé. Cette caractéristique lui permet de se fixer à un complexe enzymatique (une peroxydase telle la streptavidine-HRP). La révélation des résultats est effectuée à l'aide d'un substrat chromogène, le 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) (BD OptEIA).

3.2.2.1. Mode opératoire

Le dosage des anticorps IgE totaux est réalisé par la technique ELISA sandwich à l'aide de plaques de 96 puits à fond plat (NUNC MaxiSorb), selon les étapes suivantes :

- Tous les puits de la microplaque reçoivent 100µl d'anticorps de capture (BD Pharmingen) dilués au 1/1000^{ème} dans du PBS 1/10 pH 7,4. La plaque est ensuite agitée pour

s'assurer que tous les puits sont couverts par la solution d'anticorps de capture. La plaque est alors incubée pendant une nuit à 4°C.

- L'excès d'anticorps non fixé est éliminé par 3 lavages successifs de la plaque avec du tampon de lavage (PBS-Tween 20 0,05%) à l'aide d'un laveur automatique (Elx50).
- Les sites non spécifiques sont saturés par le dépôt dans tous les puits de 200 µl de tampon de saturation (SAB à 1% dans du PBS 1/10 pH 7,4).
- La plaque est incubée à température ambiante pendant 30 min puis lavée 3 fois de suite avec le tampon de lavage.
- L'opération suivante consiste à diluer les échantillons de sérum à tester au 1/10^{ème} dans le tampon de saturation. Puis, un volume de 100 µl de ces dilutions est déposé dans les puits appropriés. La plaque est alors incubée toute la nuit à 4°C, puis lavée 3 fois de suite au tampon de lavage.
- L'anticorps de détection, anti-IgE de souris (BD Pharmingen) est dilué au 1/1000^{ème} dans le tampon de saturation, 100 µl sont ensuite déposés dans chaque puits. La plaque est alors incubée pendant 1 heure à température ambiante et est ensuite lavée 6 fois au tampon de lavage.
- 100 µl de streptavidine de Raifort (HRP) diluée à 1/1000 dans le tampon de saturation sont déposés dans chaque puits. La plaque est ensuite incubée pendant 30 min à température ambiante, suivie de 6 lavages successifs au tampon de lavage.
- 100 µl d'une solution contenant du TMB sont déposés dans chaque puits de la plaque.
- Une réaction colorée se développe en 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'ajout de 50µl de H₂SO₄2N permet de stopper la réaction.
- L'intensité de la réaction colorimétrique est mesurée à 450 nm à l'aide d'un lecteur (ELx800).

4. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse anaphylactique systémique

L'anaphylaxie systémique est généralement associée à des hypothermies et des signes cliniques pouvant se manifester par une simple urticaire, des difficultés respiratoires, une baisse de l'activité physique et dans les cas les plus sévères; la mort. Ces manifestations sont généralement la conséquence d'une libération de médiateurs inflammatoires tels que l'histamine par les mastocytes menant à une augmentation de la perméabilité vasculaire. L'étude de ces différents paramètres permet d'évaluer l'effet qu'exercent les AGPI n-3 et n-6 sur la réponse anaphylactique systémique chez les souris sensibilisées à la β-Lg.

Tableau 2. Composition du tampon phosphate salin PBS 1M, pH 7,4

Composants	Quantités
NaCl	80 g
Na ₂ HPO ₄	11,6 g
KH ₂ PO ₄	2 g
KCl	2 g
H ₂ O ultra pure	1000 mL

Tableau 3. Composition des solutions tampons de l'ELISA indirecte.

Solutions	Compositions
Tampon de lavage	PBS 0,1M pH 7,4 Tween 0,05 %.
Tampon de saturation	PBS 0,1M pH 7,4 Polyvinyl alcohol (PVA) 1 %.
Tampon de dilution	PBS 0,1M pH 7,4 PVA 0,33% Tween 20 0,1 %.
Solution de révélation	09 mg OPD+ 30 mL de tampon de citrate de sodium 0.05M à pH 5,1+45 µL de H ₂ O ₂ (substrat de la peroxydase).

4.1. Evaluation des scores cliniques

Ce test biologique permet de mesurer la capacité des deux huiles utilisées à réduire les signes de manifestations allergiques provoquées par la sensibilisation à la β -Lg. Les souris ayant subi un challenge *in vivo* comme décrit précédemment sont observées pendant 30 min et les signes cliniques sont relevés selon une échelle de score établie par Li et al., (1999). Les différents stades sont représentés dans le tableau 4.

4.2. Mesure de la température corporelle

La mesure de la température corporelle se fait par voie rectale en utilisant un thermomètre adapté pour souris, les prises sont effectuées après le challenge *in vivo* à la β -Lg sur une durée 30 min à intervalle régulier de 10 min (T0, T10, T20 et T30).

4.3. Mesure des taux de l'histamine plasmatique

L'histamine est une amine naturelle présente dans de nombreux tissus animaux et humains, elle est considérée comme le médiateur de l'allergie immédiate. Dans le cadre de notre étude, l'histamine est mesurée dans le plasma à l'aide d'un kit immuno-enzymatique (A05890-96 Puits, SPI-BIO, Bertin Pharma, Montigny-le-Bretonneux, France). Trente minutes après le challenge *in vivo* à la β -Lg, le sang est prélevé dans des tubes contenant de l'EDTA et centrifugé à 1600×g pendant 20 min, le plasma est ensuite recueilli et conservé à -20 °C jusqu'à analyse.

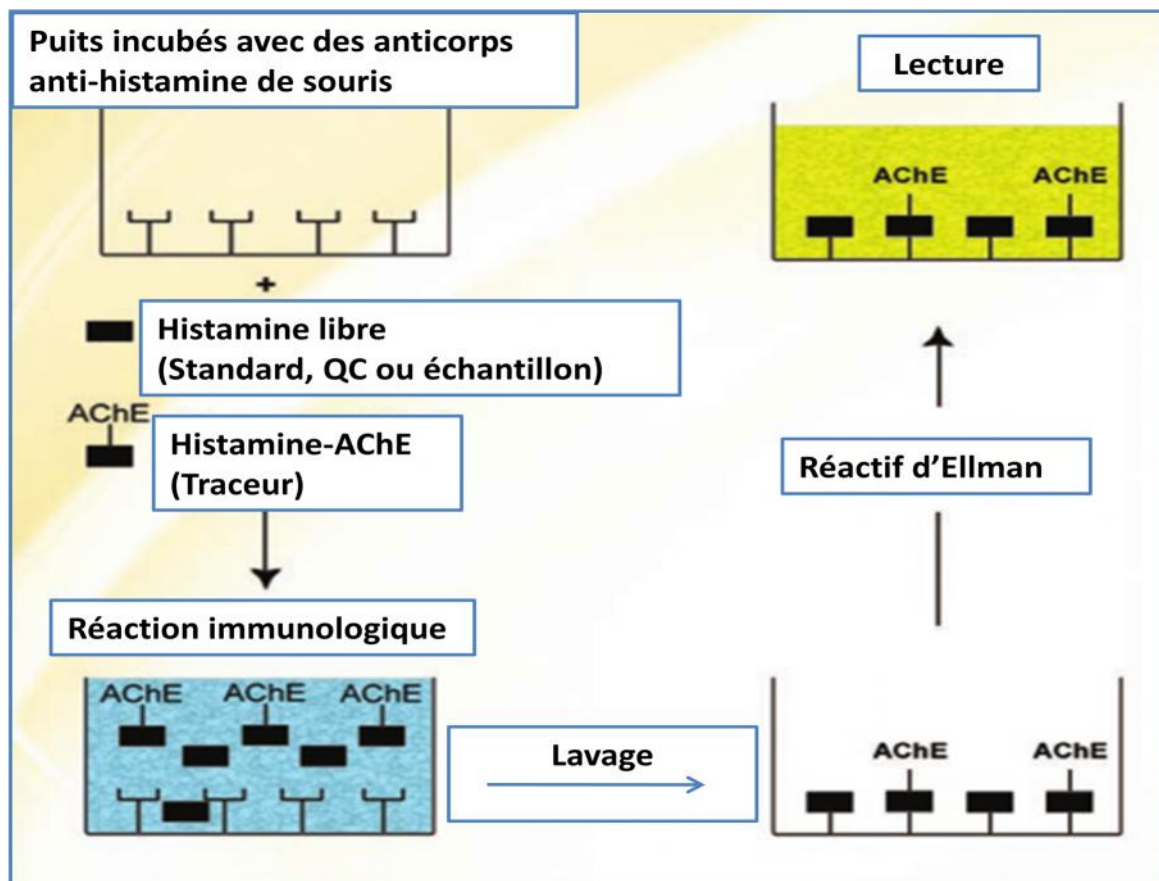
4.3.1. Principe du dosage

Ce dosage immuno-enzymatique (EIA) est basé sur la compétition entre l'histamine des échantillons et l'acétylcholinestérase (AChE) non marquée liée à l'histamine (traceur) pour des sites spécifiques d'anticorps anti-histamine de souris.

Le traceur et l'histamine libre sont incubés dans des puits préalablement recouverts d'un anticorps anti-histamine de souris. La plaque est lavée pour éliminer tout réactif non lié, puis le réactif d'Ellman (substrat enzymatique pour l'AChE et le chromogène) est ajouté aux puits. Le traceur AChE agit sur le réactif d'Ellman pour former un composé jaune qui absorbe fortement à 414 nm.

Tableau 4. Classification admise pour mesurer les manifestations allergiques (Li et al., 1999).

Stades	Signes
0	Pas de symptômes
1	Grattement et frottement du nez et de la tête.
2	Gonflement autour des yeux, poils hérissés, baisse de l'activité physique avec augmentation des mouvements respiratoires.
3	Cyanose autour de la bouche et de la queue, difficultés respiratoires.
4	Absence d'activité physique, convulsions
5	Mort

**Figure 12.** Schéma représentant le principe du dosage de l'histamine selon un procédé compétitif.

L'intensité de la couleur, déterminée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la quantité de traceur lié au puits et est inversement proportionnelle à la quantité d'histamine libre présente dans le puits pendant l'incubation immunologique. La concentration d'histamine dans les échantillons est obtenue par comparaison avec une courbe standard telle que décrite par le fabricant. Un schéma résumant le principe de la technique est représenté dans la figure 12.

4.4. Etude de la perméabilité vasculaire

L'augmentation de la perméabilité vasculaire est responsable de plusieurs caractéristiques des réactions allergiques aiguës, y compris l'œdème, l'urticaire et le choc anaphylactique dans les cas graves. Les souris challengées *in vivo* à la β -Lg sont injectées par voie intraveineuse au niveau caudal avec 100 μ l d'une solution de bleu d'Evans à 0,5% (Li et al., 1999). L'apparition d'une couleur bleue dans les 30 min qui suivent l'injection est considérée comme un test cutané positif.

4.5. Comptage des mastocytes intestinaux

Les mastocytes sont des cellules effectrices clés dans les réactions allergiques de type I ainsi que dans d'autres processus inflammatoires, certaines études telle que celle de Ahrens et al., (2012) ont montré l'existence d'une corrélation positive entre le nombre de mastocytes intestinaux et le développement de symptômes systémiques de l'anaphylaxie.

Pour cette partie du travail, le nombre de mastocytes est compté au niveau jéjunal, pour ce faire, 30 min après le challenge *in vivo* des souris à la β -Lg, ces dernières sont sacrifiées par dislocation cervicale, les jéjunums sont ensuite soigneusement prélevés des cavités abdominales, rincés à l'eau physiologique NaCl 0,9%, découpés en petits fragments puis fixés dans une solution de formol tamponnée à 10% ; les solutions de formaldéhyde sont les fixateurs les plus répandus.

4.5.1. Mode opératoire

Après fixation des échantillons, ces derniers sont soumis aux étapes suivantes selon le protocole décrit par Hould, (1984).

4.5.1.1. Déshydratation et clarification

Les tissus sont déshydratés dans 3 bains successifs d'acétone, chaque bain dure 45 minutes. Ils sont ensuite clarifiés dans 2 bains de xylène qui dure 45 minutes chacun.

4.5.1.2. Inclusion

L'inclusion est effectuée avec de la paraffine; substance caractérisée par son indifférence aux agents chimiques. Les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure chacun à une température de 56°C puis coulés dans des moules métalliques. Ensuite, des cassettes en plastique sont fixées dessus et le volume est complété avec de la paraffine, l'ensemble est mis au congélateur pendant 15 minutes pour une meilleure solidification.

4.5.1.3. Traitement des lames

Après l'inclusion à la paraffine, les blocs contenant les fragments des échantillons sont coupés à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 5 µm.

4.5.1.4. Etalement sur lames

Une fois les coupes réalisées, 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. A 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, égoutté puis séché au papier Joseph.

4.5.1.5. Déparaffinage

Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 10 minutes.

4.5.1.6. Coloration

Nos lames sont colorées au bleu de toluidine ; un colorant basique qui présente une grande affinité pour les molécules chargées négativement comme les acides nucléiques, les mucopolysaccharides du cartilage ou des mucines, les granulations d'héparine et d'histamine des mastocytes. Après déparaffinage, la coloration des lames est effectuée comme suit selon le protocole décrit par Hould, (1984).

Les lames sont :

- Lavées à l'eau de robinet pendant 5 minutes.
- Immergées dans du tampon phosphate à 0,02 mol/l, pH 4 pendant une minute (Tableau 5).

- Colorées au bleu de toluidine à 0,1% pendant 3 minutes (Tableau 5).
- Rincées quelques instants dans le tampon phosphate à 0,02mol/l, pH 4.

En dernier, une goutte d'Eukitt est déposée entre lame et lamelle, après un temps de séchage, la préparation est observée au microscope optique.

4.5.2. Expression des résultats

Pour le comptage des mastocytes, nous utilisons la méthode préconisée par Huang et al., (2016). Le nombre de mastocytes totaux est compté manuellement dans six champs par tissu de chaque souris. Après la coloration au bleu de toluidine, les noyaux des mastocytes sont colorés en bleu et les granulations métachromiques du cytoplasme apparaissent en rouge pourpre ou violet.

5. Etude de l'effet des AGPI sur la réponse anaphylactique intestinale

5.1. Expérimentation sur l'intestin isolé en chambre de Ussing: test de provocation *ex vivo*

Dans cette partie du travail, nous évaluons l'effet des AGPI sur l'inhibition de la réponse anaphylactique locale induite par la β -Lg. Cette étude est menée grâce au dispositif de la chambre de Ussing. Ce système permet de réaliser un test de provocation par la mise en contact des épithéliums intestinaux de souris des différents groupes avec l'allergène sensibilisant (la β -Lg).

5.1.1. Principe de la chambre de Ussing

La chambre de Ussing est une méthode fondamentale pour l'étude et la compréhension des mécanismes du transport intestinal. Ce dispositif expérimental a été conçu par Ussing et Zerahn en 1951 pour la mesure des flux ioniques au travers d'un épithélium puis, elle a été adaptée à l'intestin par Schultz et Zalusky, (1964). Depuis, cette méthode a été appliquée à de nombreux modèles animaux de laboratoire et est utilisée pour des fragments d'intestin humain (Heyman et al., 1982; Kheroua, 1987; Marcon-Genty et al., 1989; Saidi et al., 1995).

Un fragment de muqueuse intestinale est monté à plat entre deux demi-chambres de Lucite dont l'ouverture, déterminant la surface exposée, est adaptée à la taille du fragment à étudier (0,2 cm²). Les deux faces du tissu, déterminant un compartiment muqueux (représentant la lumière intestinale) et un compartiment séreux (représentant la circulation sanguine) sont baignées par des solutions identiques (Ringer) maintenues à 37 °C, brassées et oxygénées continuellement par un courant de carbogène (O₂: 95 %, CO₂: 5 %).

Le principe même de la chambre de Ussing est qu'il ne doit exister aucun gradient électrochimique permettant à une solution donnée de traverser le tissu. Cette condition est remplie lorsque les deux faces du tissu sont baignées par des solutions ayant la même composition chimique, la même température, le même pH et la même osmolarité.

Un couple d'électrodes au calomel, reliées par des ponts d'agar (4 g/100 ml de KCl 3M) aux deux faces du tissu permettant de mesurer la différence de potentiel (DDP) spontanée du tissu (sérieuse positive). Il est possible de supprimer cette DDP, de l'amener à 0mV, grâce à un système d'électrode Ag/AgCl relié à un générateur permettant de passer un courant à travers le tissu. Ce courant est appelé courant de court circuit I_{sc} : il représente la somme des flux nets ioniques, principalement de Na^+ et de Cl^- et un flux résiduel d'ions HCO_3^- .

$$I_{sc} = J^{Na^+}_{net} + J^{Cl^-}_{net} + J_r$$

L'application de la loi d'Ohm ($U = RI$) permet de mesurer la résistance du fluide (RF) en absence du tissu et la résistance du tissu (RT) une fois celui-ci monté dans la chambre, ou son inverse: la conductance G ($G = 1/R = I/U$).

5.1.2. Montage de fragments d'intestin de souris en chambre de Ussing

Les souris sont maintenues à jeun depuis la veille au soir, le jour du sacrifice, elles sont anesthésiées avec une solution d'hydrate de chloral à 10% (3 ml/Kg). Après laparotomie, le segment jéjunale est prélevé délicatement de la cavité abdominale, vidé de son contenu par deux ou trois rinçages au Ringer froid (Tableau 6). Le segment jéjunale est incisé selon le bord mésentérique puis découpé en fragments qui sont maintenus dans du Ringer froid et oxygénés par un courant de carbogène. À chaque fois, un fragment est monté entre deux chambres de Lucite.

Le volume de Ringer déposé dans chaque compartiment de la chambre est de 5 ml, le système est maintenu à 37 °C. Après montage du tissu, environ 10 à 15 minutes sont nécessaires pour stabiliser les paramètres électrophysiologiques de base. Au terme de cette période, on dépose la β -Lg (60 μ g/ml) dans le compartiment séreux de la chambre.

Les différents paramètres électrophysiologiques sont mesurés chaque minute durant toute l'expérience à l'aide d'un logiciel (Acquire and analyse 2.3) (Figure 13).

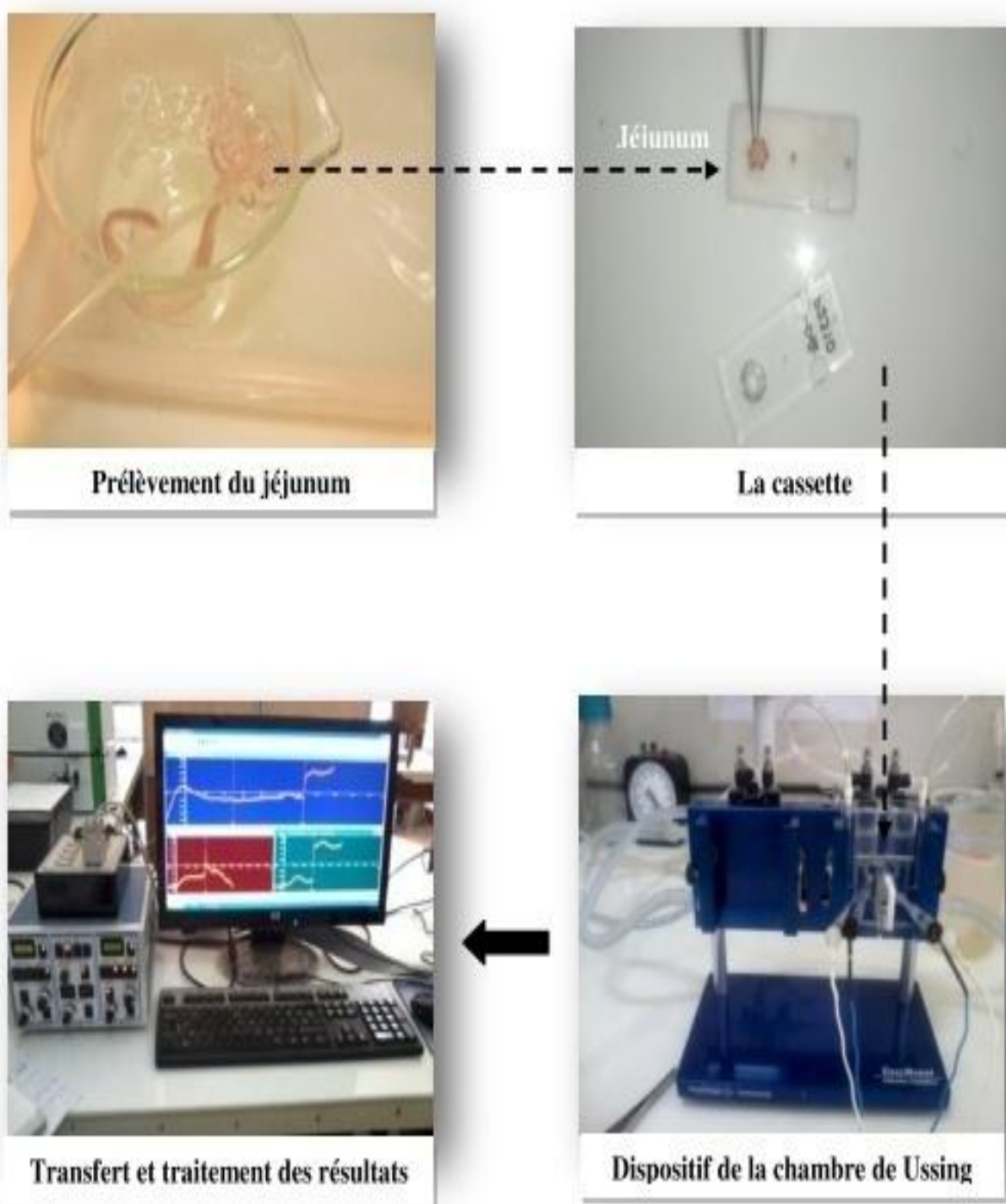


Figure 13. Dispositif de la chambre de Ussing (Photographies originales par Grar, (2015)).

5.2. Etude histologique

Cette étude a pour but d'évaluer l'effet des AGPI de la série n-3 et n-6 contenus dans l'huile de poisson et l'huile de maïs respectivement sur l'architecture de l'épithélium intestinal des souris immunisées à la β -Lg.

5.2.1. Traitement des échantillons

Des segments de jéjunums adjacents à ceux montés en chambre de Ussing sont prélevés pour analyse histologique. De la fixation jusqu'au déparaffinage, ces échantillons sont traités de la même manière que ceux réservés au comptage des mastocytes suivant le protocole décrit précédemment.

Avant la coloration, les échantillons sont réhydratés dans 3 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 90°, 70°). Chaque bain dure 2 minutes; le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante.

5.2.1.1. Coloration

Nos lames sont colorées à l'hémalum-éosine qui représente la plus simple des colorations combinées. On 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 préparation du colorant hématéine de Harris est indiquée dans le tableau 7 (Hould, 1984).

La coloration des lames est effectuée comme suit :

- Les lames sont immergées dans l'hématéine de Harris durant 2 à 3 minutes puis lavées à l'eau de robinet pendant 5 minutes.

En cas de surcoloration, 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%).

- Les lames sont ensuite bleuies dans une solution aqueuse saturée de carbonate de lithium (rinçage) puis lavées à l'eau du robinet.

- Elles sont mises dans un bain d'alcool éthylique 1 à 2 minutes puis colorées à l'éosine alcoolisée (2 g d'éosine dans 100 ml d'alcool éthylique) pendant 5 minutes.

- Les lames sont rincées dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70° puis à 95° puis dans du toluène pendant 1 minute.

En dernier, une goutte d'Eukitt est déposée entre lame et lamelle, après un temps de séchage, la préparation est observée au microscope optique.

Tableau 5. Composition des solutions utilisées pour le comptage des mastocytes

Solutions	Compositions
Tampon phosphate 0,02 M pH 4	2,75 g de NaH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée
Colorant	0,1 g de bleu de toluidine dans 100 ml de tampon phosphate 0,02M

Tableau 6. Composition de la solution de Ringer

Na^+	140 mM	Cl^-	120 mM
K^+	5,2 mM	HCO_3^-	25 mM
Ca^{++}	1,2 mM	HPO_4	2,4 mM
Mg^{++}	1,2 mM	H_2PO_4	0,4 mM

Tableau 7. Composition du colorant à l'hématéine de Harris (Hould, 1984).

Composants	Quantités
Hématoxyline	5 g
Ethanol	50 ml
Alun de potassium	100 g
Eau distillée	1000 ml
<i>Faire bouillir le mélange</i>	
Oxyde mercurique	2,5 g
<i>Chauffer la solution et filtrer avant usage</i>	

5.2.2. Mesure de la hauteur des villosités

Les mesures de la hauteur villositaire au niveau jéjunal permettent d'étudier l'effet de la supplémentation à l'huile de poisson et à l'huile de maïs sur une éventuelle atrophie villositaire secondaire à l'immunisation intrapéritonéale des souris.

5.2.2.1. Principe

Les mensurations des hauteurs villositaires sont effectuées sous un microscope optique muni d'un micromètre oculaire. Ces mesures s'effectuent après un étalonnage des divisions de l'échelle. Pour ce faire :

- Choisir l'objectif approprié pour l'observation et la mesure.
- Effectuer la mise au point sur l'objet à mesurer en déplaçant la lame à l'aide du chariot guide-objet.
- Orienter l'oculaire de sorte que le bord de l'objet à mesurer coïncide avec la graduation 0 unité arbitraire (UA) et mesurer l'objet en UA.
- Convertir la taille mesurée en UA en taille réelle (μm). Pour l'objectif (x10) chaque UA correspond à 12,8 μm .

6. Etude des effets des AGPI sur le métabolisme lipidique et l'architecture structurale hépatique

6.1. Etude du profil lipidique sérique

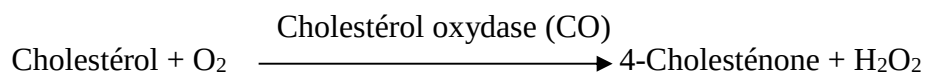
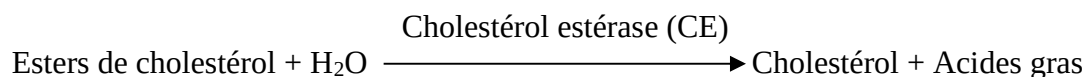
Pour étudier le profil lipidique au niveau sérique, des prélèvements sanguins sont effectués chez les souris de tous les groupes (témoins et expérimentaux) à J0, J15 et J50 suivant le protocole décrit précédemment, les sérums sont collectés et conservés à -20°C jusqu'à analyse.

6.1.1. Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total (CT) est réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne).

- **Principe**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant les réactions suivantes:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé.

- **Calcul de la concentration**

La concentration du cholestérol est calculée par l'équation suivante :

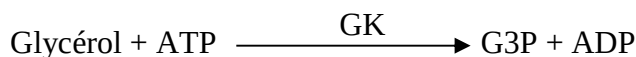
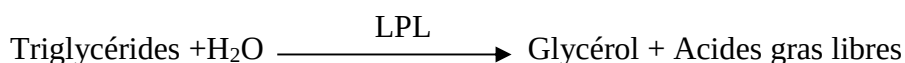
$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibre)}$$

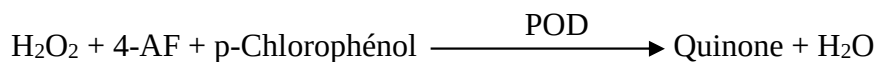
6.1.2. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides (TG) est réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne).

- **Principe**

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par le GPO. Au final, le H_2O_2 réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge.





L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé.

- **Calcul de la concentration**

La concentration des triglycérides est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Triglycérides (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon} - (\text{A}) \text{ Blanc}}{(\text{A}) \text{ Etalon} - (\text{A}) \text{ Blanc}} \times 200 \text{ (Concentration de l'étalon).}$$

6.1.3. Dosage du cholestérol-LDL

Le dosage des lipoprotéines de faible densité (LDL) est réalisé par méthode directe avec détergents sélectifs, sans prétraitement du spécimen selon la fiche technique du Kit BIOLABO (France).

- **Principe**

Au cours de la première phase, seules les lipoprotéines non-LDL sont solubilisées par le détergent 1. Le cholestérol ainsi généré, soumis à l'action de la cholestérol oxydase et de la cholestérol estérase, produit un composé incolore. Au cours de la seconde phase, le détergent 2 solubilise le cholestérol-LDL. Le couple chromogénique développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-LDL. La lecture s'effectue à 546 nm.

- **Calcul de la concentration**

En méthode manuelle, calculer $\Delta \text{Abs} = (\text{A2} - 0,75 \text{ A1})$ pour le dosage et le calibre.

A1: Première lecture

A2: Deuxième lecture

$$\text{LDL-C (g/l)} = \frac{\Delta \text{Abs. Dosage}}{\Delta \text{Abs. Calibrant}} \times \text{concentration du calibre}$$

6.1.4. Dosage du cholestérol-HDL

Le dosage des lipoprotéines de haute densité (HDL) est réalisé par méthode directe avec détergents sélectifs, sans prétraitement du spécimen selon la fiche technique du Kit BIOLABO (France).

- **Principe**

Au cours de la première phase, les particules LDL, VLDL, et chylomicrons libèrent du cholestérol libre qui, soumis à une réaction enzymatique, produit du peroxyde d'hydrogène, lequel est dégradé sous l'effet de la réaction avec la POD et le DSBmT (N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium). Aucun dérivé coloré n'est formé. Au cours de la seconde phase, un détergent spécifique solubilise le cholestérol-HDL. Sous l'action combinée de la CO et CE, le couple POD + 4-AAP (4-Aminoantipyrine) développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-HDL. La lecture s'effectue à 600 nm.

- **Calcul de la concentration**

En méthode manuelle, calculer $\Delta \text{Abs} = (\text{A2} - 0,75 \text{ A1})$ pour le dosage et le calibreur.

A1: Première lecture

A2: Deuxième lecture

$$\text{HDL-C (g/l)} = \frac{\Delta \text{ Abs. Dosage}}{\Delta \text{ Abs. Calibrant}} \times \text{concentration du calibreur}$$

6.2. Etude histologique du foie

Le jour du sacrifice, les foies des souris de tous les groupes sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9% et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés ; leurs poids absolus et relatifs sont ensuite mesurés et calculés. Un fragment de chaque foie est fixé séparément dans du formol tamponné à 10% afin de réaliser des coupes histologiques selon le protocole décrit par Hould, (1984).

7. Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes $\pm$ erreurs standards ($X \pm Es$). Les comparaisons de deux moyennes sont réalisées au moyen d'un test t de Student. Les comparaisons de plusieurs moyennes sont réalisées par l'analyse de variance (ANOVA) avec le test post-hoc de Tukey utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5. Le seuil de signification retenu est celui qui est habituellement considéré, soit 5 %.

Résultats

1. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la croissance pondérale

Le tableau 8 représente l'impact d'une supplémentation à l'huile de poisson (HP) et à l'huile de maïs (HM) à différentes doses sur l'évolution des poids corporels chez les souris en comparaison avec les souris n'ayant reçu aucun traitement (T-) ou ayant reçu une solution de PBS 1/10 (T+).

Nos résultats montrent que le poids corporel moyen de toutes les souris a augmenté de façon graduelle tout au long de l'expérimentation et qu'aucune différence significative du gain pondéral (à J15 et à J50) n'est observée chez les groupes expérimentaux comparés aux groupes témoins. Cependant le gain pondéral à J15 chez le groupe HP 1,5% est significativement augmenté comparé au groupe HP 0,6% avec les valeurs respectives de $3,93 \pm 0,52$ et $2,30 \pm 0,28$ g ($p < 0,05$).

Par ailleurs, une diminution très significative du gain pondéral est enregistrée chez le groupe HM 1,5% comparé au groupe HM 1% à J15 ($1,70 \pm 0,29$ vs $4,67 \pm 0,71$ g) ($p < 0,01$) et à J50 ($5,71 \pm 0,78$ vs $10,61 \pm 0,78$ g ($p < 0,001$), de même, une diminution significative à J50 est observée chez le groupe HM 0,6% comparé au groupe HM 1% avec les valeurs respectives de $6,67 \pm 0,93$ et de $10,61 \pm 0,78$ g ($p < 0,01$).

2. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse antigénique et allergénique

Les titres en anticorps sériques IgG anti β -Lg, et les taux des IgE totales et IgE anti β -Lg sont mesurés par la technique immunoenzymatique ELISA.

2.1. Titres sériques en IgG spécifiques

La figure 14 représente les titres sériques en IgG anti β -Lg chez les souris témoins négatifs et les souris témoins positifs. Ces dernières présentent des titres significativement plus élevés atteignant $1/300000^{\text{ème}}$ ($p < 0,001$). Les titres en IgG spécifiques des groupes expérimentaux sont comparés aux titres du groupe témoin positif et sont illustrés dans la figure 15. A et B.

Hormis le groupe de souris ayant reçu l'huile de poisson à 1,5% V/Pds (HP 1,5%), une diminution significative des titres sériques des IgG anti β -Lg est enregistrée chez les groupes expérimentaux (HP 0,6%, HP 1%, HM 0,6%, HM 1% et HM 1,5%) comparée aux témoins positifs avec les titres respectifs de : $1/3800^{\text{ème}}$ ($p < 0,001$), $1/128000^{\text{ème}}$ ($p < 0,05$), $1/14000^{\text{ème}}$ ($p < 0,001$), $1/27000^{\text{ème}}$ ($p < 0,01$) et $1/37000^{\text{ème}}$ ($p < 0,05$).

Tableau 8. Effet de la supplémentation en huile de poisson et en huile de maïs sur le gain pondéral des souris à J15 et à J50.

Groupes	Poids initial (g) à J0	Poids (g) à J15	Gain pondéral (g) à J15	Poids Final (g) à J50	Gain pondéral (g) à J 50
Témoins					
T-	20,98 ± 0,52	23,48 ± 0,78	2,49 ± 0,56	29,38 ± 0,36	8,41 ± 0,23
T+	21,66 ± 0,19	24,48 ± 0,24	2,82 ± 0,27	29,75 ± 0,74	8,08 ± 0,72
Huile de poisson					
0,6%	21,98 ± 0,74	24,29 ± 0,88	2,30 ± 0,28 [£]	30,09 ± 0,97	8,11 ± 0,62
1%	20,22 ± 0,78	23,23 ± 0,84	3,00 ± 0,22	28,07 ± 0,75	7,84 ± 0,60
1,5%	20,90 ± 0,65	24,84 ± 0,71	3,93 ± 0,52	30,82 ± 0,60	9,91 ± 0,80
Huile de maïs					
0,6%	20,69 ± 0,39	23,67 ± 0,68	2,97 ± 0,50	27,36 ± 1,03	6,67 ± 0,93 [#]
1%	19,34 ± 0,39	24,01 ± 0,69	4,67 ± 0,71 [€]	29,96 ± 1,02	10,61 ± 0,78 [€]
1,5%	20,67 ± 0,63	22,38 ± 0,38	1,70 ± 0,29	26,38 ± 0,74	5,71 ± 0,78

Les valeurs reportées représentent les moyennes et leurs erreurs standards ($X \pm Es$) à J0 (le début de l'expérimentation), J15 (la fin de la durée du gavage) et à J50 (la fin de l'immunisation). Les moyennes portant les symboles (#, £, €) présentent une signification statistique (Test ANOVA).

$p < 0,05$ (0,6% vs 1%).

£ $p < 0,05$ (0,6% vs 1,5%).

€ $p < 0,05$ (1% vs 1,5%).

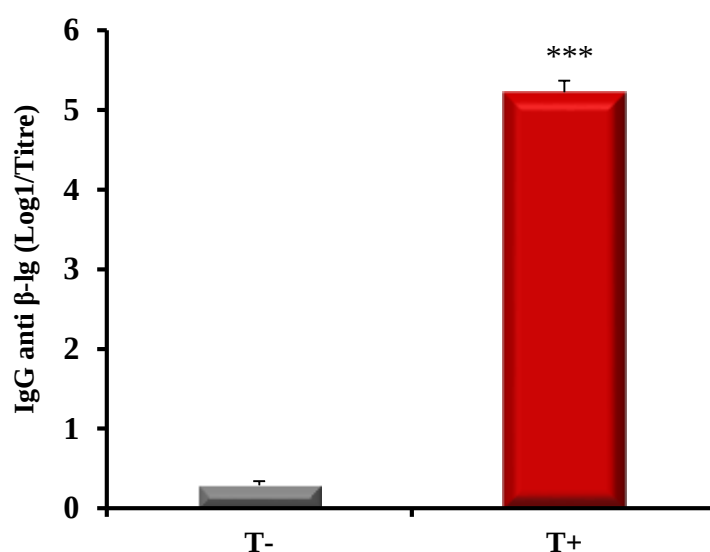


Figure 14. Titres en IgG sériques spécifiques anti β -Lg mesurés par la méthode ELISA indirecte chez les groupes de souris témoins négatifs et positifs (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001.

2.2. Taux des IgE sériques totales et spécifiques

Les taux en IgE sériques totales et spécifiques anti β -Lg sont mesurés respectivement par l'ELISA sandwich et l'ELISA indirecte et sont exprimés en absorbance.

Nos résultats indiquent une forte production d'anticorps sériques IgE totales et IgE anti β -Lg chez les souris témoins positifs (T+) comparée aux souris naïves (T-) $p < 0,001$ (Figure 16. A et B). Cette production est significativement diminuée chez les souris gavées à l'huile de poisson à 0,6% V/Pds ($p < 0,001$ pour les IgE totales et $p < 0,01$ pour les IgE spécifiques) (Figure 17. A et B). Une diminution significative des IgE spécifiques anti β -Lg est aussi enregistrée chez les souris ayant reçu de l'huile de maïs à 1,5% V/Pds (HM 1,5%) $p < 0,05$ (Figure 18. B). Tous les autres groupes expérimentaux présentent des taux d'IgE totales et spécifiques inférieurs à ceux du témoin positif mais qui restent statistiquement insignifiants.

3. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse anaphylactique systémique

Dans cette partie du travail nous nous sommes intéressés à l'étude des symptômes qui apparaissent généralement lors d'une seconde exposition à une dose importante de l'allergène et à la capacité des AGPI n-3 et n-6 à réduire l'intensité de ces symptômes. Pour cela une provocation *in vivo* à la β -Lg des souris est réalisée par l'injection en i.p de ces dernières avec une solution de β -Lg à la concentration de 1 mg/ml.

3.1. Évaluation des signes cliniques

Après une provocation *in vivo* à la β -Lg, les souris sont observées pendant 30 min, et les scores cliniques sont relevés selon une échelle de scores établie par Li et al.,(1999). La figure 19 montre que les souris témoins négatifs ne manifestent aucun signe clinique contrairement aux souris témoins positifs qui présentent des signes variant majoritairement entre le stade 3 et le stade 4; un cas de mortalité est enregistré (stade 5).

L'intensité de ces réactions est diminuée de façon très significative chez tous les groupes expérimentaux à l'exception du groupe de souris ayant reçu de l'huile de maïs à 0,6% V/Pds (HM 0,6%) dont la diminution est statistiquement insignifiante (Figure 21. A et B).

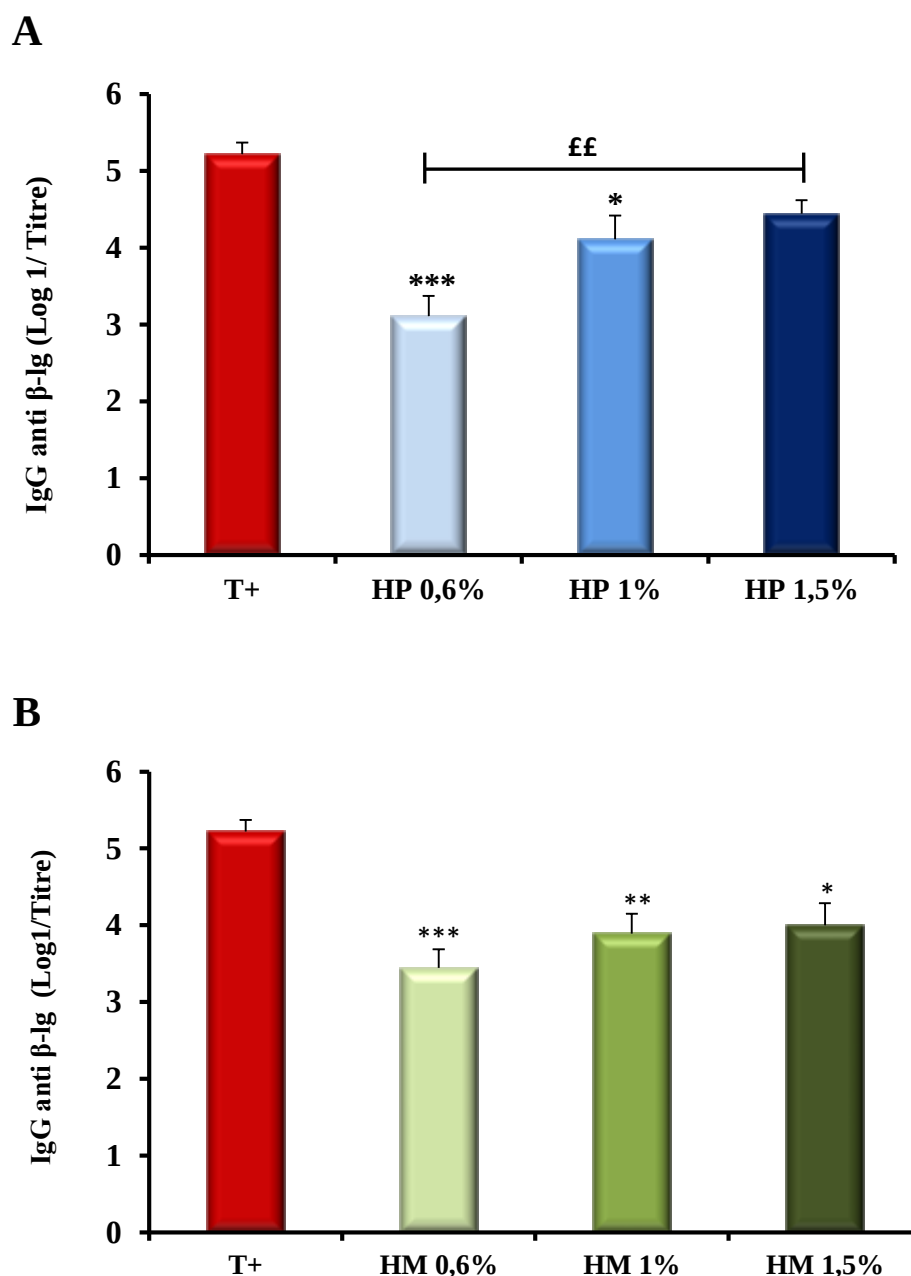


Figure 15. Effet de l'huile de poisson (A) et de l'huile de maïs (B) sur les titres en IgG sériques spécifiques anti β -Lg mesurés par la méthode ELISA indirecte (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

* : Groupes expérimentaux vs témoin positif (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

£ : Comparaison entre les groupes expérimentaux (£ $p < 0,01$: HP 0,6% vs HP 1,5%).

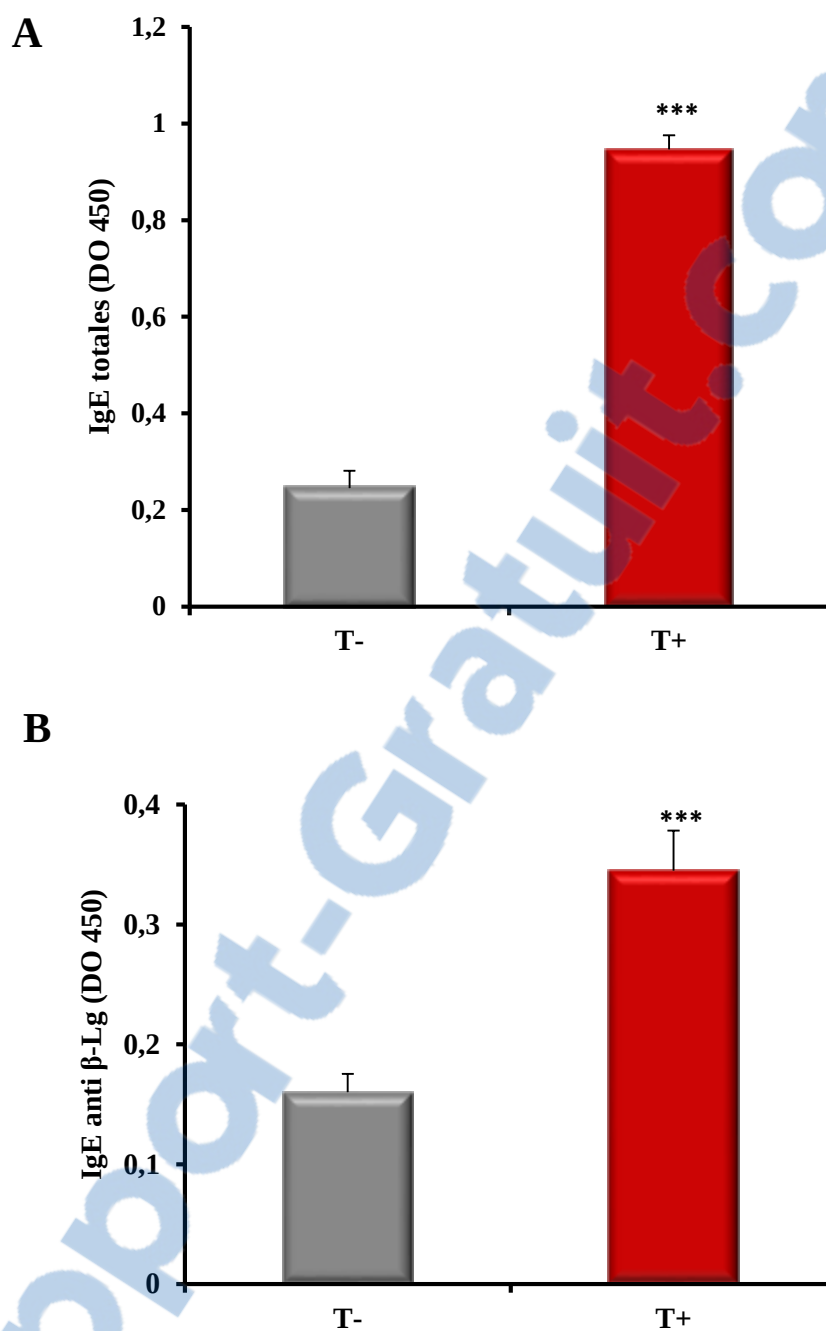


Figure 16. Taux en IgE totales mesurés par ELISA sandwich (A) et en IgE spécifiques anti β -Lg mesurés par ELISA indirecte (B) chez les groupes de souris témoins négatifs et positifs (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001

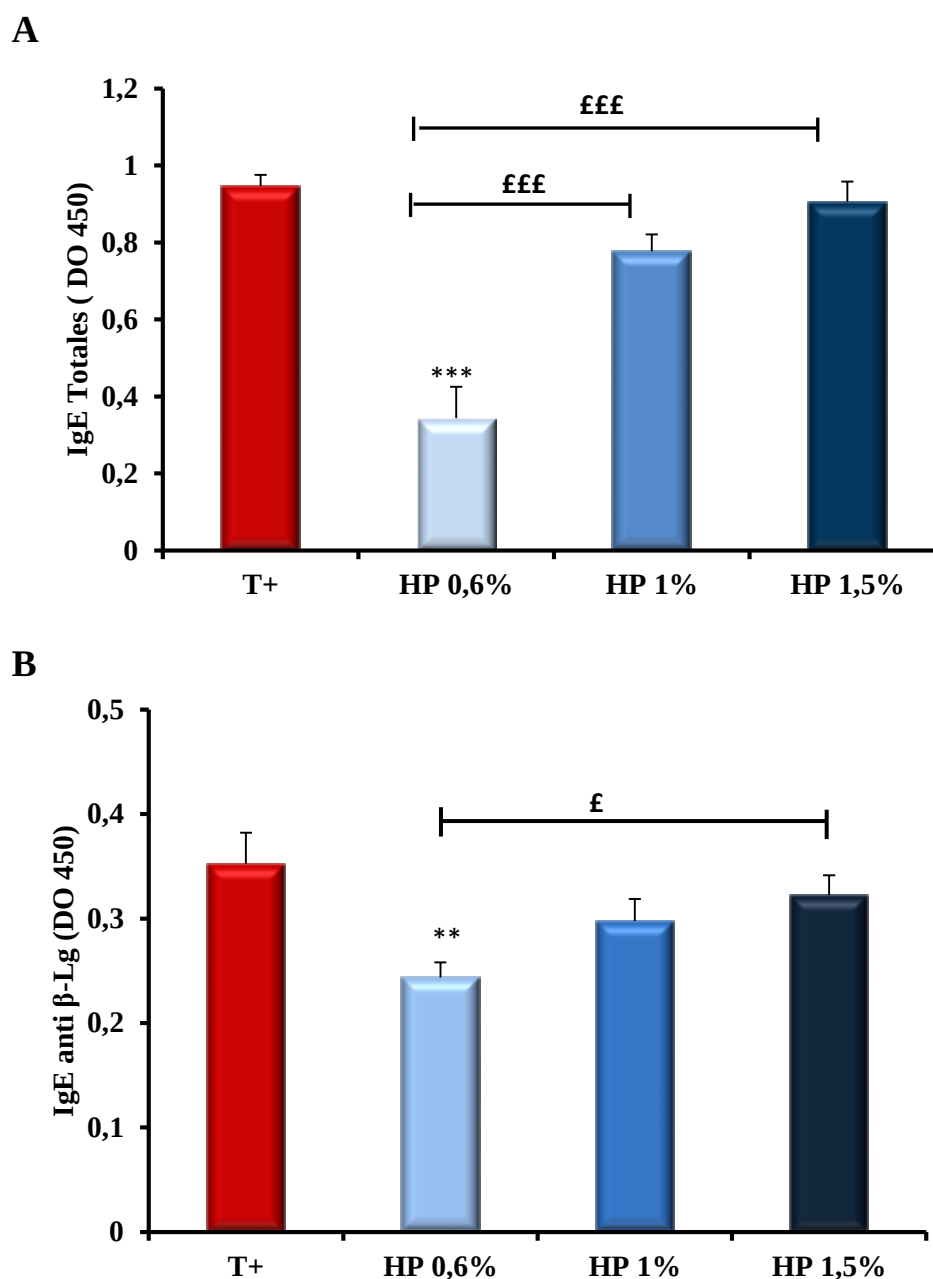


Figure 17. Effet de l'huile de poisson sur les taux en IgE totales (A) mesurés par ELISA sandwich et sur les taux en IgE spécifiques anti β -Lg mesurés par ELISA indirecte (B) (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

***** : Groupes expérimentaux vs témoin positif (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

£ : Comparaison entre les groupes expérimentaux (£ $p < 0,05$: HP 0,6% vs HP 1,5%

£££ $p < 0,001$: HP 0,6% vs HP 1% et HP 1,5%).

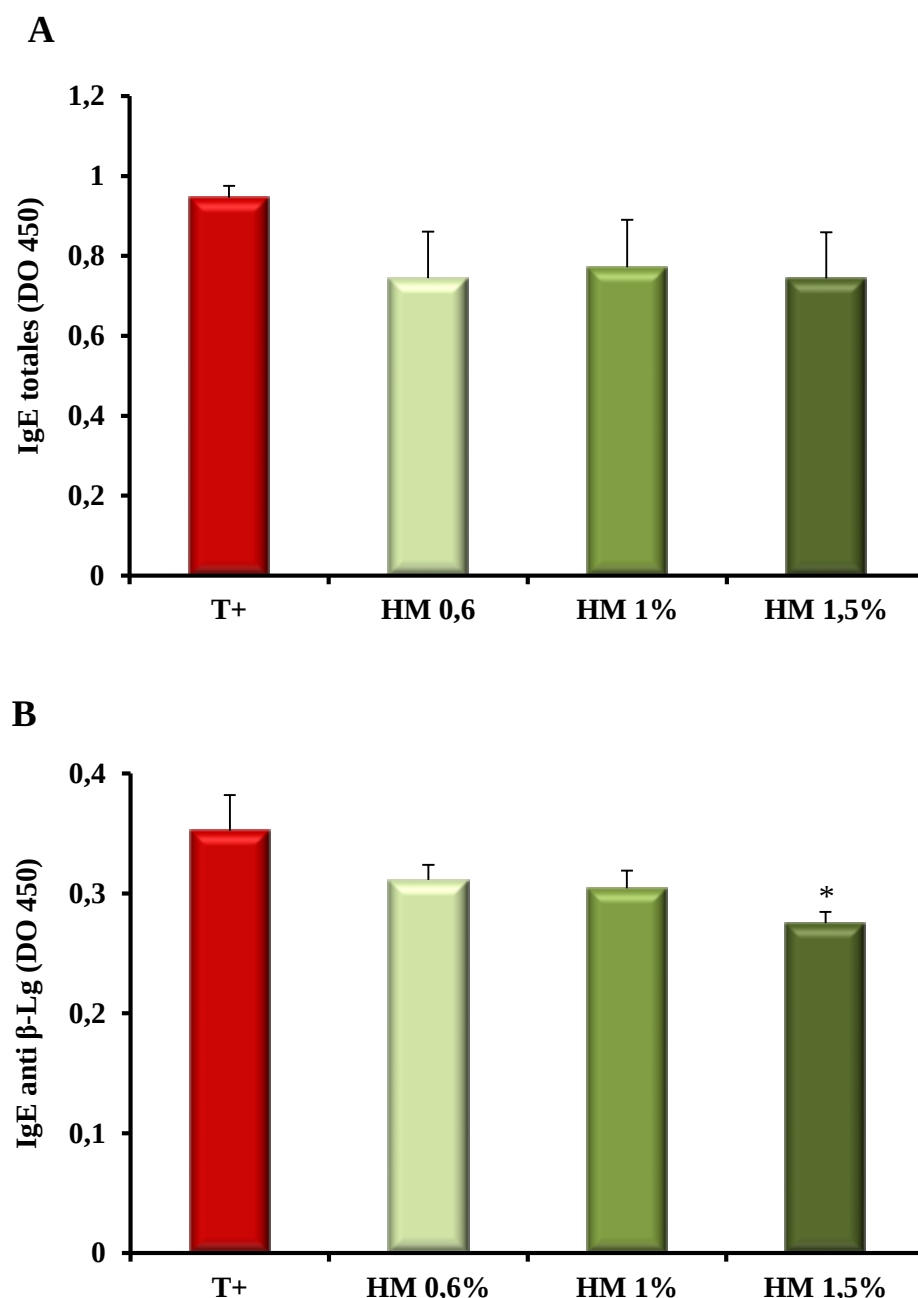


Figure 18. Effet de l'huile de maïs sur les taux en IgE totales mesurés par ELISA sandwich (A) et sur les taux en IgE spécifiques anti β -Lg mesurés par ELISA indirecte (B) (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

***** : Groupes expérimentaux vs témoin positif (* $p < 0,05$)



3.2. Mesure de la température corporelle

A la différence des souris du groupe T- dont la température corporelle est restée stable après le test de provocation *in vivo*, les souris du groupe T+ ont subi une baisse importante de température avec une moyenne de 4°C passant de $38,33 \pm 0,05$ °C jusqu'à $34,32 \pm 0,26$ °C (Figure 20).

Dans notre étude, la capacité des huiles de poisson et de maïs à diminuer l'intensité des signes cliniques secondaires à la provocation à la β -Lg est corroborée par leur capacité à maintenir des températures corporelles plus ou moins stables avec des baisses significativement moins importantes comparées aux témoins positifs, néanmoins il est important de noter que le gavage des souris à l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds n'est pas de la même efficacité (Figure 22. A et B).

3.3. Mesure de l'histamine plasmatique

L'histamine plasmatique est dosée par EIA selon un procédé compétitif et est exprimée en nM. Comme l'illustre la figure 23, une augmentation hautement significative des taux d'histamine est enregistrée chez les souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg (T+) comparée aux souris non traitées (T-).

Cette augmentation est significativement diminuée chez les souris ayant reçu l'huile de poisson aux doses de 0,6% et 1% V/Pds ($p < 0,05$) (Figure 24. A), et chez les souris ayant reçu l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds ($p < 0,05$) (Figure 24. B).

3.4. Perméabilité vasculaire

Les images présentées dans la figure 25 montrent des souris témoins négatifs (a) et témoins positifs (b) provoquées *in vivo* à la β -Lg puis injectées avec une solution de bleu d'Evans. Une couleur bleue apparaît chez les souris T+, cette couleur est propagée dans tout le corps de la souris mais elle est manifestement plus visible sur les pattes et autour des yeux et de la bouche, tandis qu'aucun changement de couleur n'est apparu chez les souris T-.

La figure 26 montre qu'après injection de la solution du bleu d'Evans, aucun changement de couleur n'est apparu chez les souris gavées à l'huile de poisson à différentes doses (HP 0,6%, HP 1% et HP 1,5%). Ce même résultat est observé chez les souris gavées à l'huile de maïs à différentes doses (HM 0,6%, HM 1% et HM 1,5%) (Figure 27).

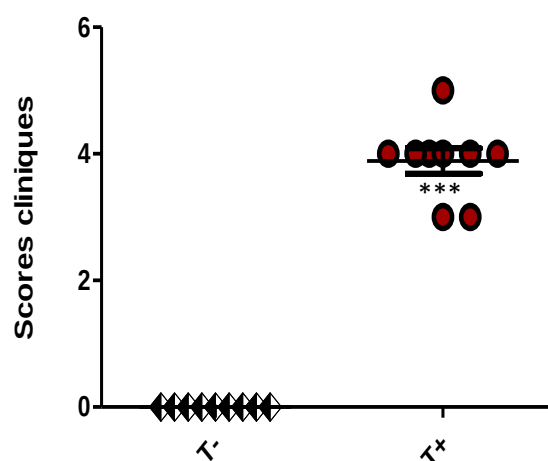


Figure 19. Scores cliniques observés chez les souris témoins négatifs et témoins positifs après une provocation *in vivo* à la β -Lg (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001.

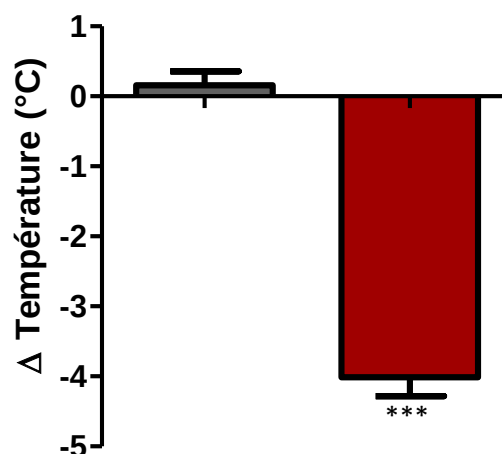


Figure 20. Variance de la température corporelle chez les souris témoins négatifs et témoins positifs après une provocation *in vivo* à la β -Lg (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001

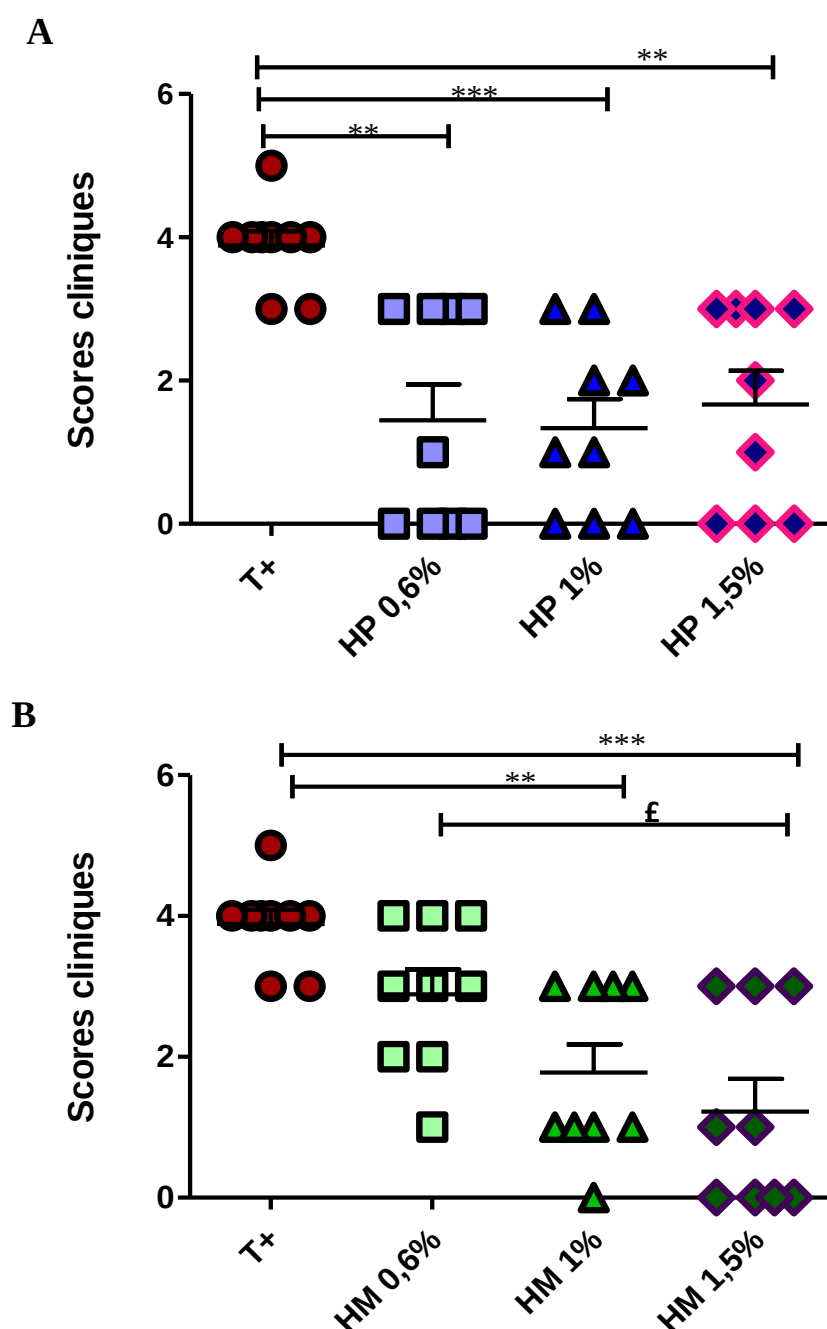


Figure 21. Scores cliniques observés chez les souris ayant reçu de l'huile de poisson (A) et de l'huile de maïs (B) après une provocation *in vivo* à la β -Lg (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

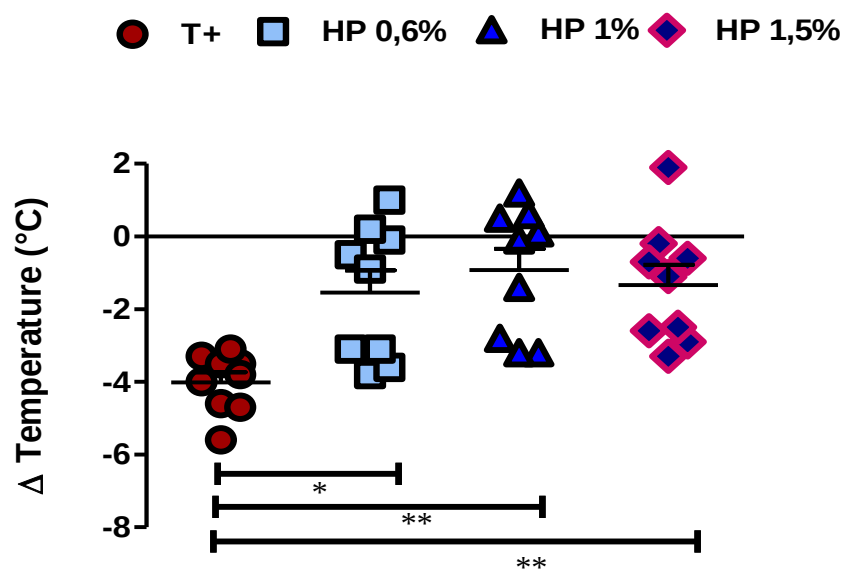
HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

***** : Groupes expérimentaux vs témoin positif (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

£ : Comparaison entre les groupes expérimentaux (£ $p < 0,05$: HM 0,6% vs HM 1,5%).

A



B

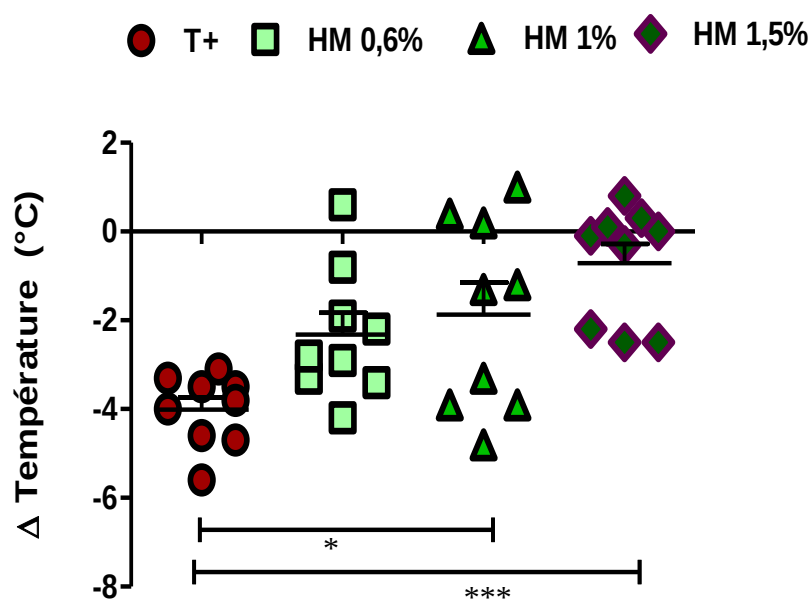


Figure 22. Variance de la température mesurée chez les souris ayant reçu de l'huile de poisson (A) et de l'huile de maïs (B) après une provocation *in vivo* à la β -Lg (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

* : Groupes expérimentaux vs témoin positif (*P<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001).

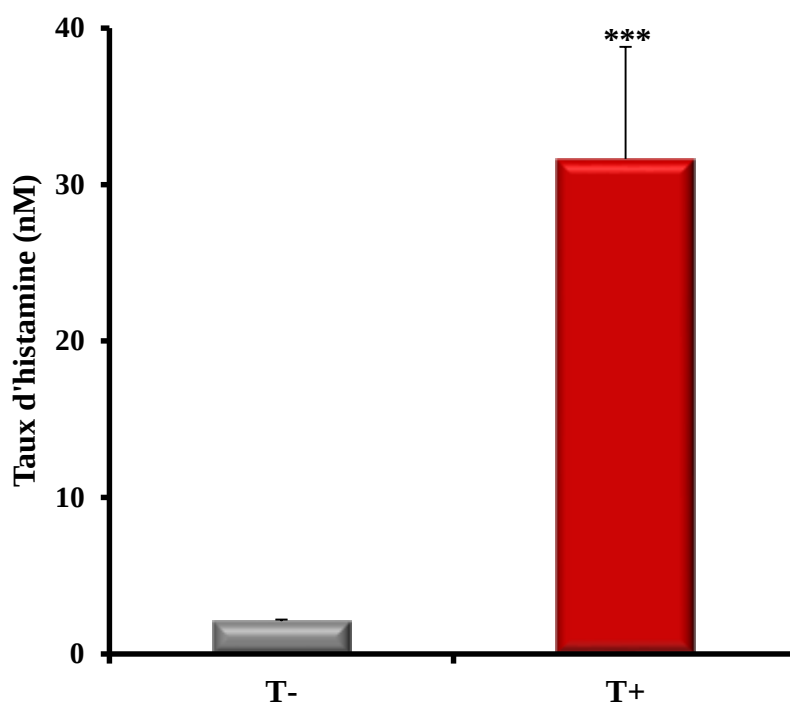


Figure 23. Taux d'histamine plasmatique mesurés par la méthode EIA chez les groupes de souris témoins négatifs et témoins positifs (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001

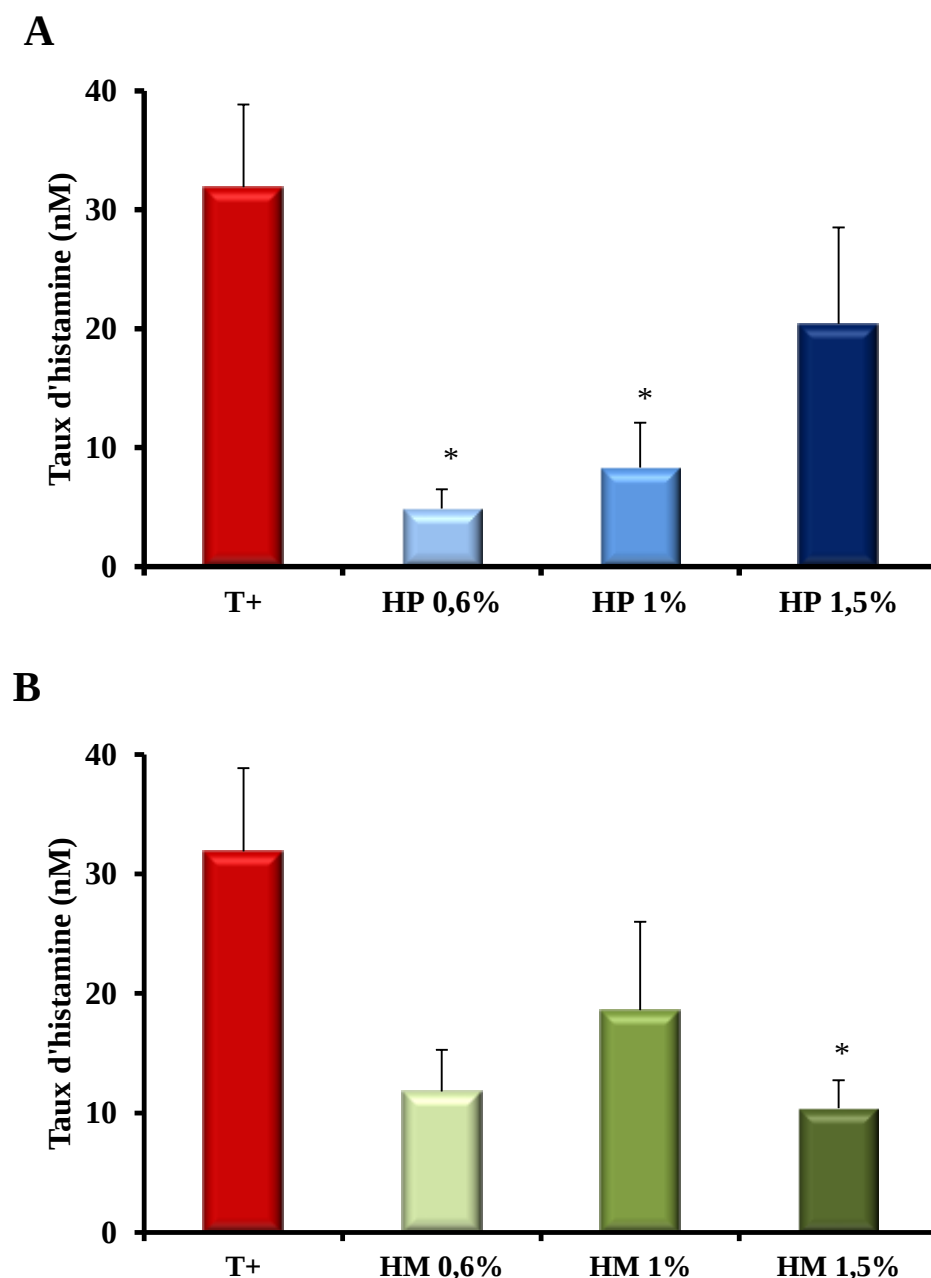


Figure 24. Effet de l'huile de poisson (A) et de l'huile de maïs (B) sur les taux d'histamine plasmatique mesurés par la méthode EIA (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

***** : Groupes expérimentaux vs témoin positif (* $p < 0,05$).

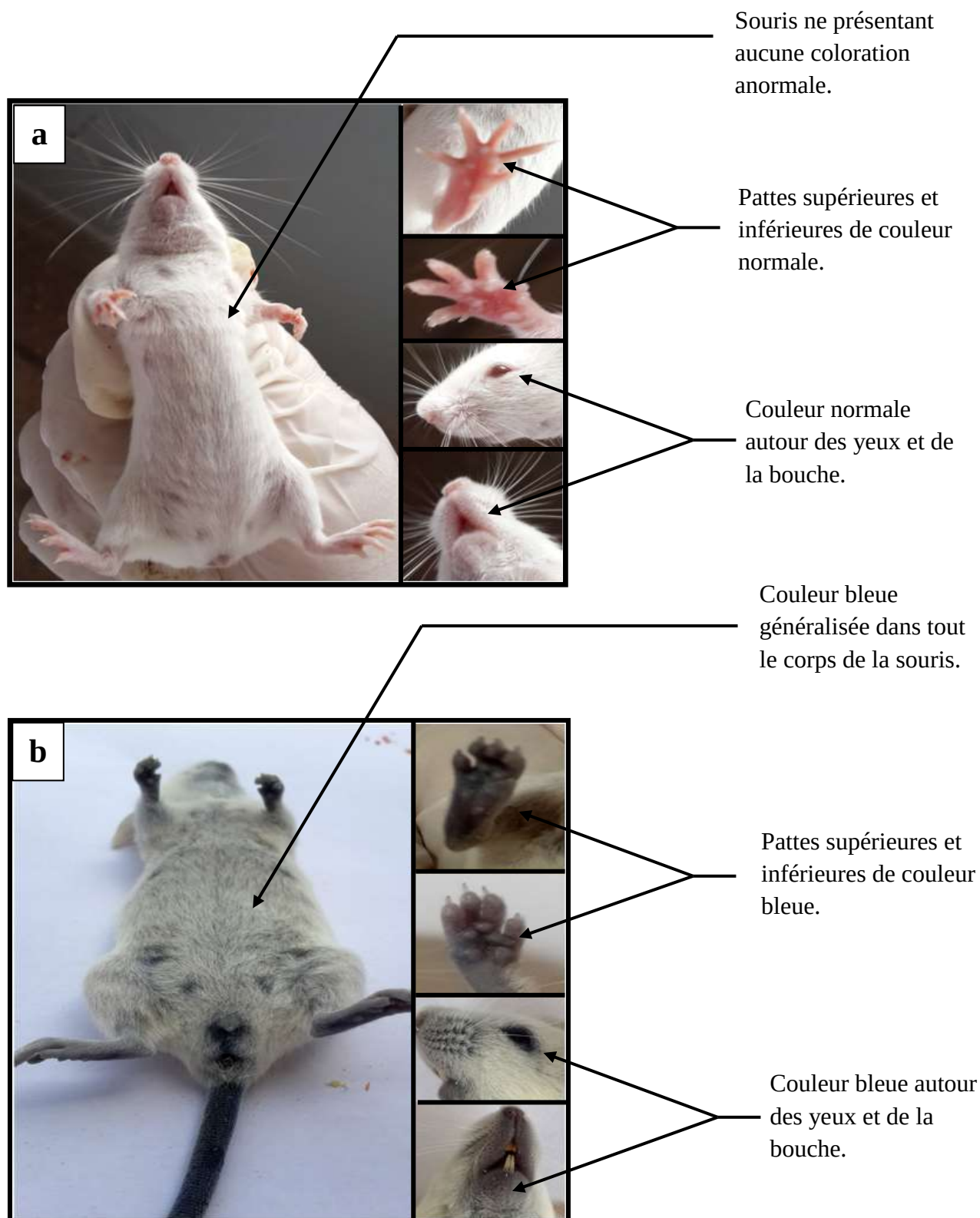


Figure 25. Test de la perméabilité vasculaire au bleu d'Evans chez les souris non traitées (T-) (a) et les souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg (T+) (b) (n=05).



Figure 26. Test de la perméabilité vasculaire au bleu d'Evans chez les souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg (n=05).

c: HP 0,6% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

d: HP 1% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

e: HP 1,5% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1,5% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

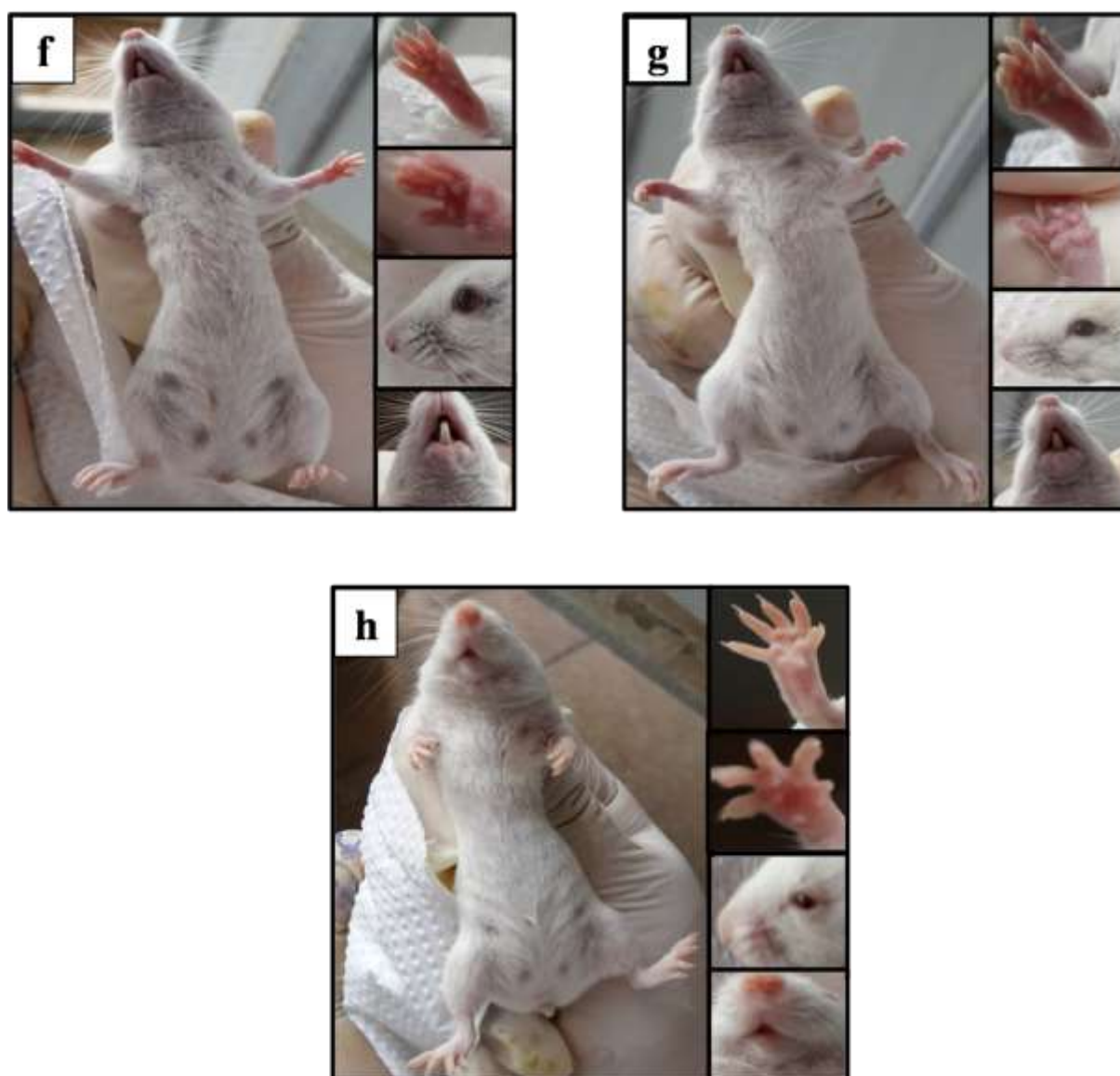


Figure 27. Test de la perméabilité vasculaire au bleu d'Evans chez des souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg (n=05).

f: HM 0,6% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

g: HM 1% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

h: HM 1,5% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

3.5. Comptage des mastocytes

Nos résultats montrent que le nombre des mastocytes au niveau jéjunal est significativement élevé chez les souris témoins positifs (T+) comparé aux souris non traitées (T-) $p < 0,001$ (Figure 28), et que comparé au T+, il est significativement diminué chez les groupes suivants : HP 0,6%, HP 1% ($p < 0,001$), HP 1,5% ($p < 0,01$) (Figure 29. A) et HM 1,5% ($p < 0,01$) (Figure 29. B).

Les mastocytes apparaissent avec des noyaux colorés en bleu et des dégranulations en pourpre violet (Figures 30, 31, 32).

4. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur la réponse anaphylactique intestinale

4.1. Test de provocation *ex-vivo* en chambre de Ussing

4.1.1. Effet de la sensibilisation à la β -Lg : Témoins positifs et négatifs

Après montage en chambre de Ussing des fragments jéjunaux de souris témoins positifs et leurs stimulations à la β -Lg à une concentration de $60 \mu\text{g/ml}$, on note une augmentation significative de l'Isc dès la deuxième minute suivant le dépôt de l'allergène; les valeurs de base passent de $47,6 \pm 6,79 \mu\text{A/cm}^2$ à $65,26 \pm 7,40 \mu\text{A/cm}^2$ ($p < 0,001$) à la fin de l'expérimentation (T10) (Figure 33. A) avec un Δ Isc de $17,40 \pm 2,39 \mu\text{A/cm}^2$ (Figure 33. B).

De même pour la conductance G, les valeurs augmentent de façon significative dès la première minute après le dépôt de la β -Lg, les valeurs de bases passent de $27,06 \pm 1,84$ à $33,58 \pm 5,66$ ($p < 0,001$) (Figure 33. C), un Δ G de $6,41 \pm 1,67 \text{ mS/cm}^2$ est enregistré (Figure 33.D). En revanche la stimulation par la β -Lg des fragments jéjunaux des souris témoins négatifs n'entraîne aucun changement significatif des valeurs de l'Isc ($\mu\text{A/cm}^2$) et de la conductance G (mS/cm^2) (Figure 33).

4.1.1.1. Spécificité de la réponse

Les résultats ci-dessus suggèrent l'existence d'une réaction anaphylactique locale produite par l'interaction directe de la β -Lg avec des effecteurs du système immunitaire associé à l'épithélium intestinal. La spécificité de cette réponse vis-à-vis de la protéine sensibilisante est vérifiée par la stimulation des fragments jéjunaux des souris témoins positifs à l'ovalbumine, une protéine connue pour son fort pouvoir allergénique.

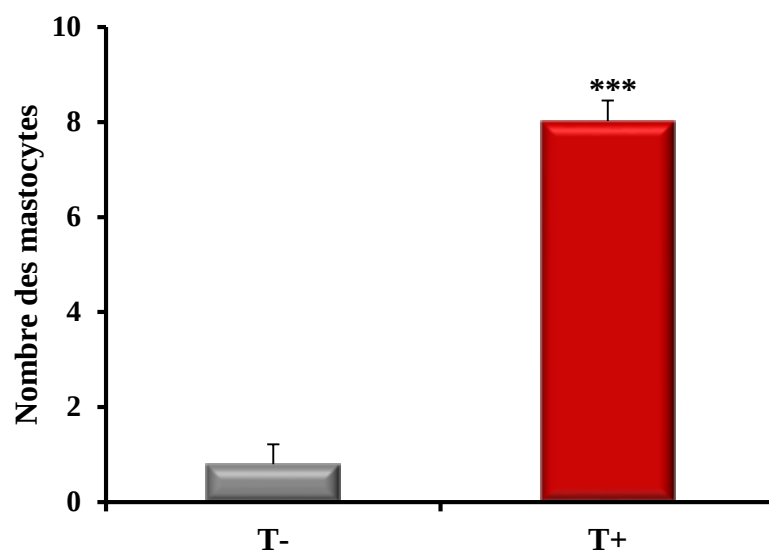


Figure 28. Nombre des mastocytes au niveau jéjunal des souris du groupe témoin positif comparé aux souris du groupe témoin négatif (n=06).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

***p<0,001

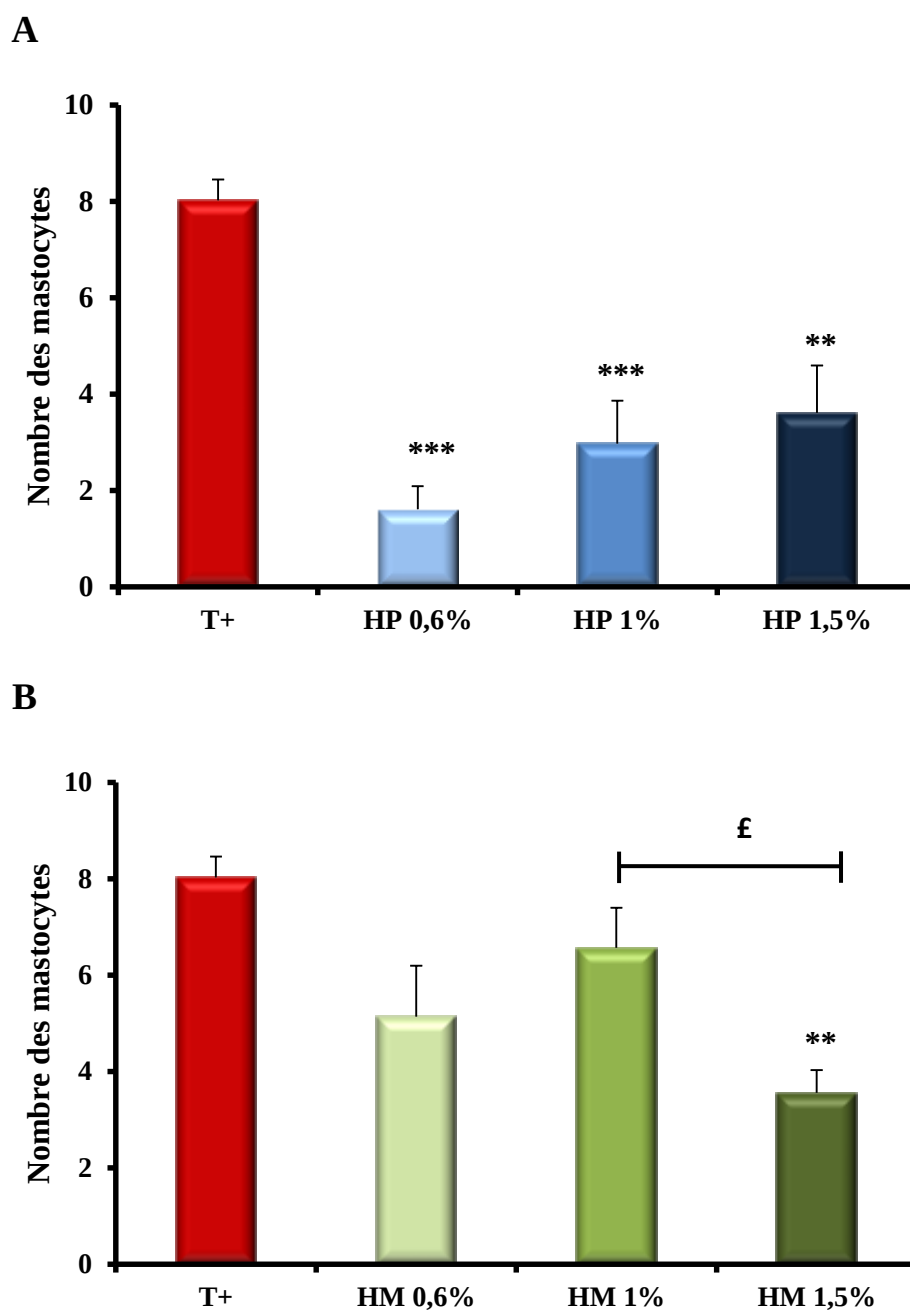


Figure 29. Effet de l'huile de poisson (A) et de l'huile de maïs (B) sur le nombre des mastocytes au niveau des jéjunums (n=06).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

***** : Groupes expérimentaux vs témoin positif (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

£ : Comparaison entre les groupes expérimentaux (£ $p < 0,05$: HM 1% vs HM 1,5%).

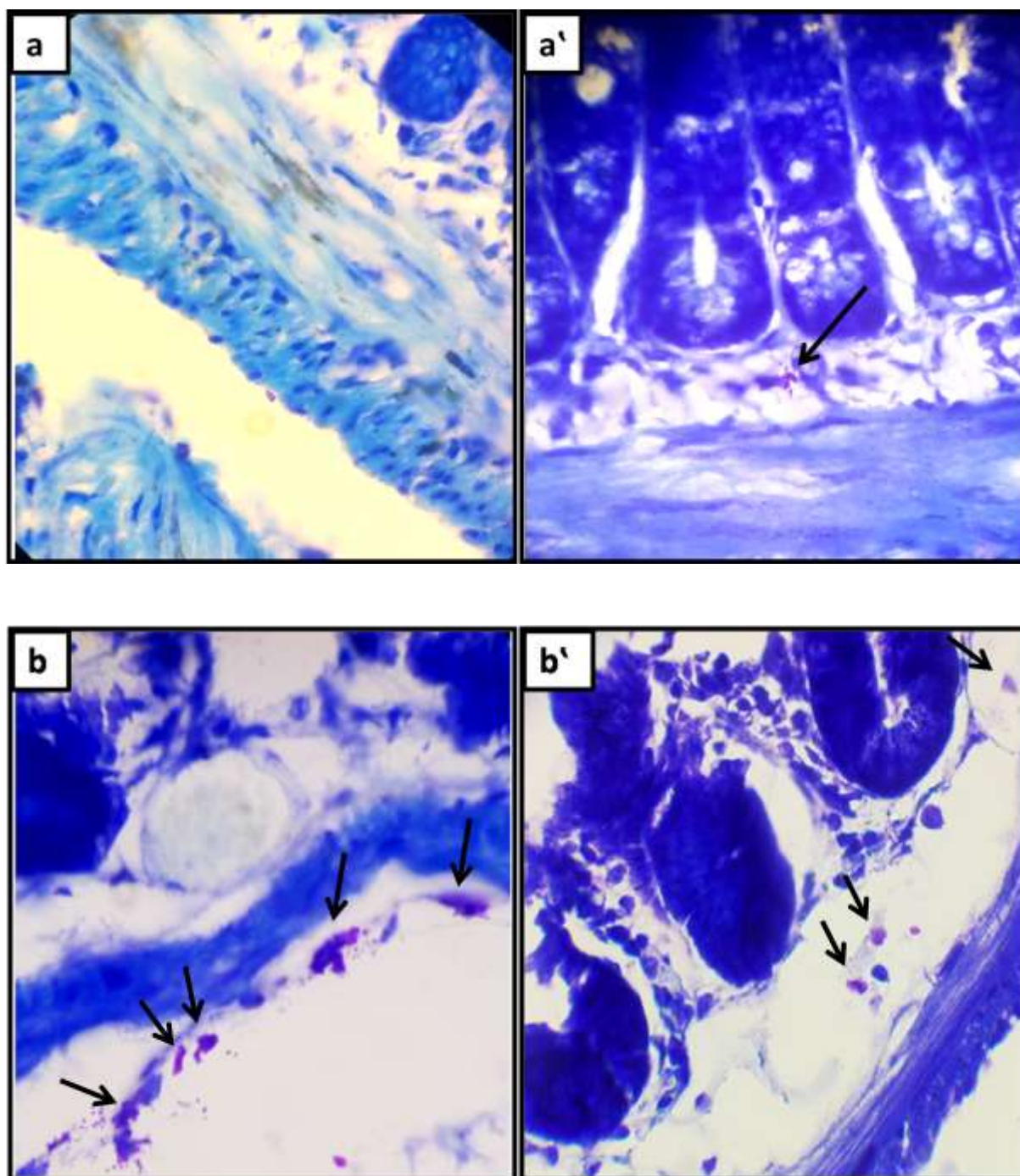


Figure 30. Observations au microscope optique montrant des mastocytes avec une couleur violacée et des noyaux bleus (a, a') témoins négatifs, (b, b') témoins positifs. Coloration au bleu de toluidine ($G \times 1000$).

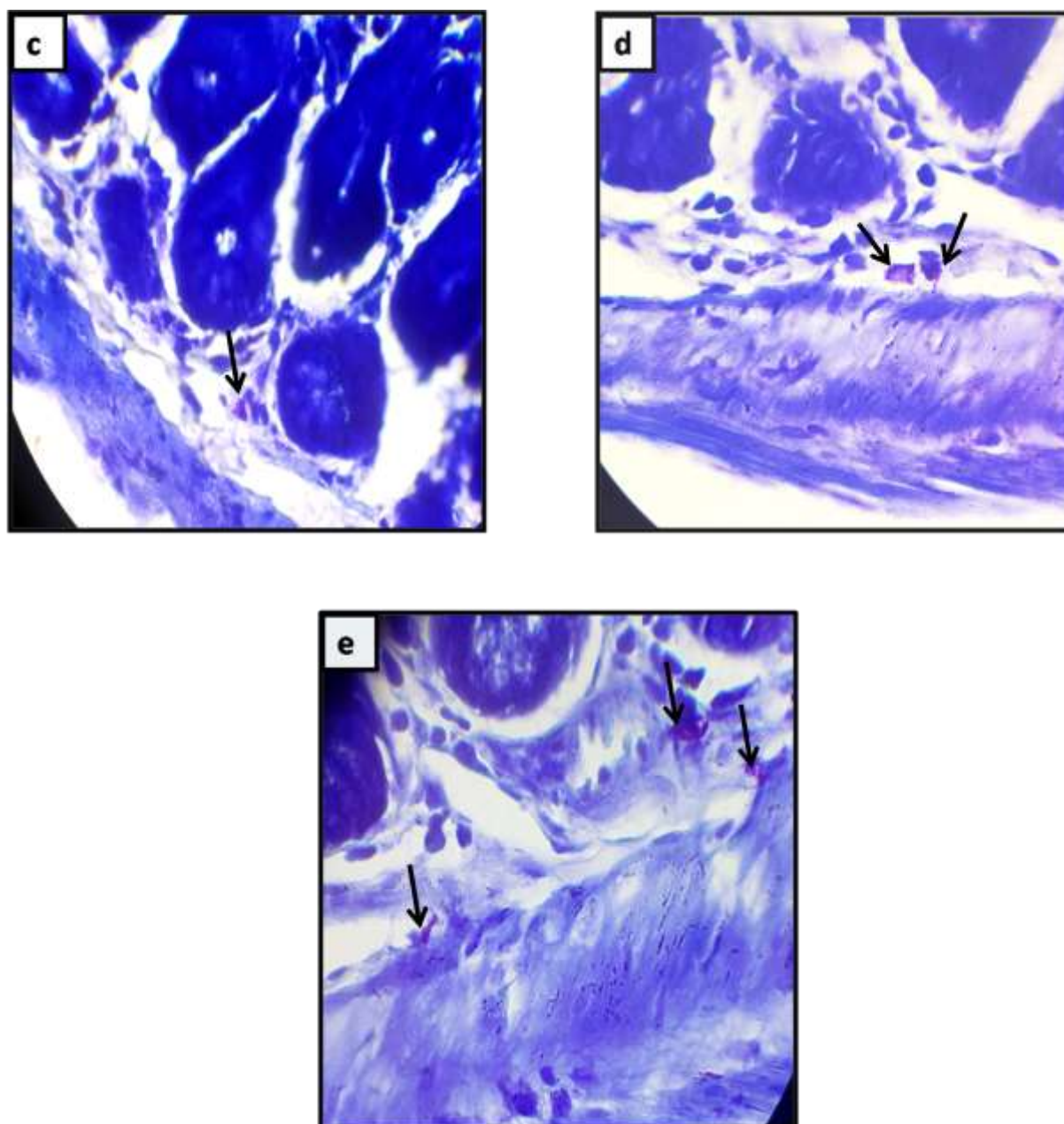


Figure 31. Observations au microscope optique montrant des mastocytes avec une couleur violacée et des noyaux bleus. Coloration au bleu de toluidine ($G \times 1000$).

c: HP 0,6% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

d: HP 1% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

e: HP 1,5% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1,5% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

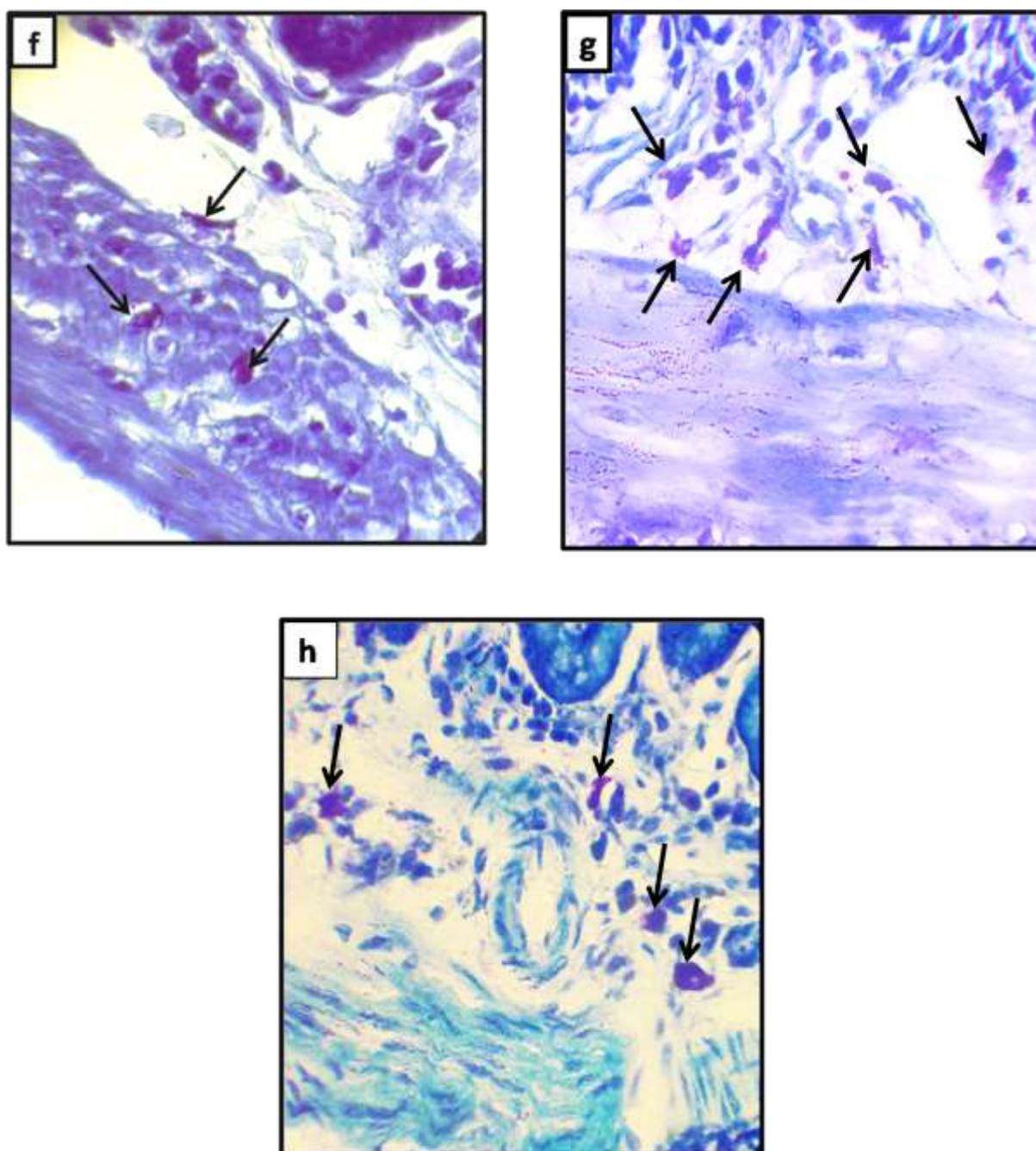


Figure 32. Observations au microscope optique montrant des mastocytes avec une couleur violacée et des noyaux bleus. Coloration au bleu de toluidine ($G \times 1000$).

f: HM 0,6% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

g: HM 1% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

h: HM 1,5% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

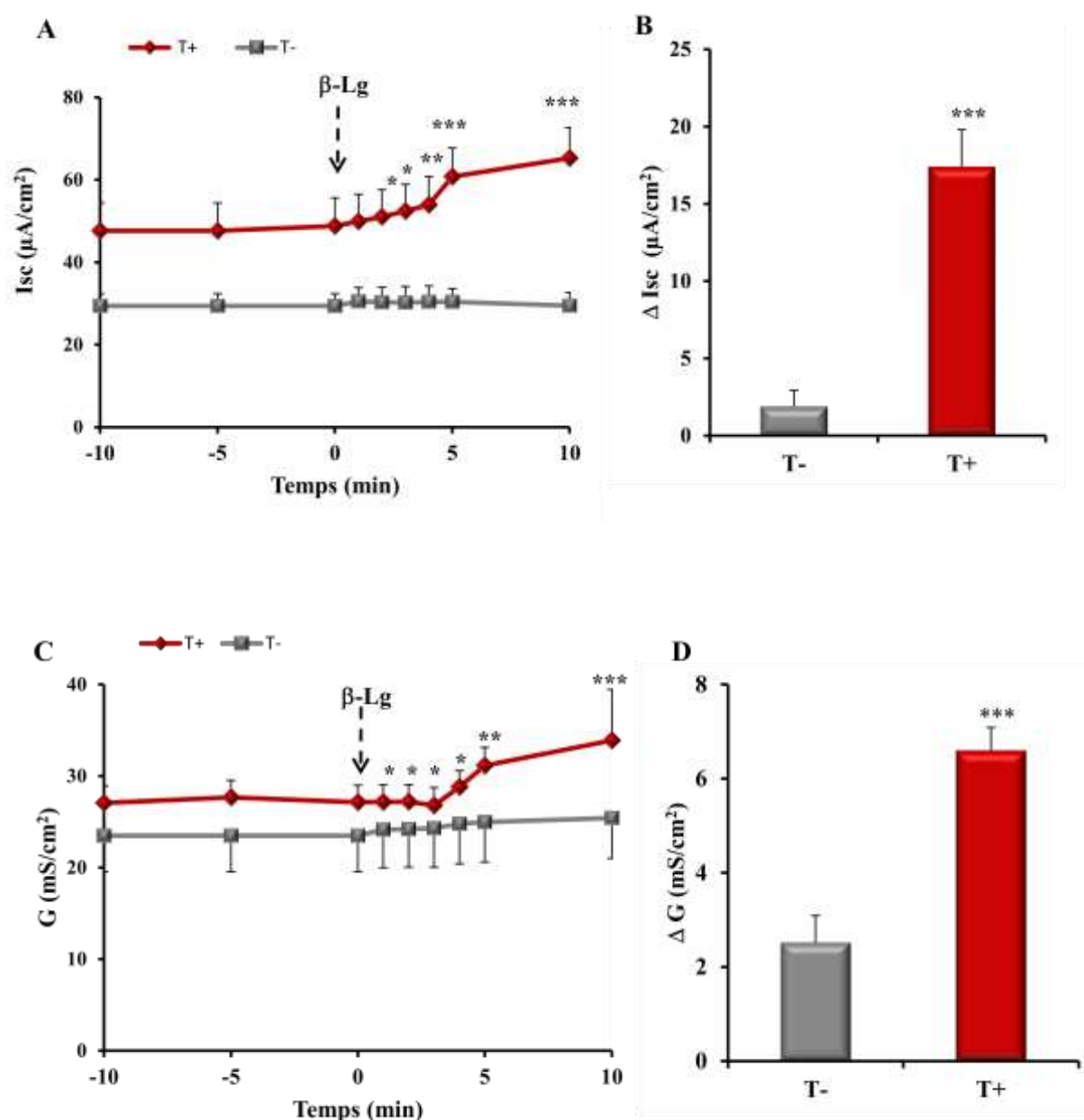


Figure 33. Effet de la $\beta\text{-Lg}$ sur le courant de court-circuit l'Isc (A et B) et sur la conductance G (C et D) mesurés en chambre de Ussing sur des fragments jéjunaux de souris témoins négatifs et positifs.

Les valeurs reportées sont des moyennes et leurs erreurs standards ($X \pm \text{Es}$).

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la $\beta\text{-Lg}$.

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

Dans les mêmes conditions expérimentales, l'ovalbumine ne provoque pas de changement significatif sur l'évolution de l'Isc (Figure 34).

4.1.1.2. Viabilité du tissu

Il est indispensable de s'assurer de la bonne conservation du tissu monté en chambre de Ussing lors des études de perméabilité par un contrôle de la viabilité en fin d'expérience, ceci se fait par une stimulation des récepteurs et canaux situés de part et d'autre des tissus épithéliaux.

Dans notre expérimentation, nous utilisons le glucose à une concentration de 10mM pour stimuler le cotransporteur Na^+ /glucose localisé à la face apicale des entérocytes et donc du côté muqueux de la membrane épithéliale, on induit une entrée d'ions sodium couplée à un transport de glucose, tous deux orientés du côté muqueux vers le côté séreux. Il en résulte une augmentation de l'intensité de l'Isc correspondant à une augmentation du flux de Na^+ entrant (Figure 35). Lorsque le flux du sodium devient constant, on observe une stabilisation de l'Isc à une valeur supérieure à la valeur basale.

4.1.2. Effet de l'huile de poisson

En comparaison avec les témoins positifs, nos résultats montrent que l'intubation gastrique des souris à l'huile de poisson à différentes doses diminue les valeurs de ΔIsc après stimulation à la $\beta\text{-Lg}$, cependant cette diminution n'est significative qu'à la dose de 0,6% V/Pds ($17,40 \pm 2,39$ vs $7,94 \pm 2,57 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($p < 0,05$)) (Figure 36. A).

Il convient tout de même de noter que même en absence d'une différence significative des valeurs de ΔIsc entre les souris du groupe T+ et celles du groupe HP 1%, la réponse anaphylactique intestinale de ces dernières est plus ou moins retardée puisque son augmentation n'est significative qu'après 10 min du dépôt de la $\beta\text{-Lg}$ (Figure 36. B).

Comparées au groupe T+, les valeurs de la ΔG diminuent significativement chez les groupes HP 0,6%, HP 1%, et HP 1,5% avec les valeurs respectives de $1,81 \pm 0,62 \text{ mS}/\text{cm}^2$ ($P < 0,01$), $3,73 \pm 0,97 \text{ mS}/\text{cm}^2$ ($p < 0,05$) et $2,23 \pm 0,65 \text{ mS}/\text{cm}^2$ ($p < 0,01$) (Figure 37. A). L'évolution dans le temps des valeurs de la conductance semble être particulièrement retardée chez le groupe HP 1%, en effet l'augmentation des valeurs de base de la conductance G n'est significative qu'au bout de 10 min (Figure 37. B).

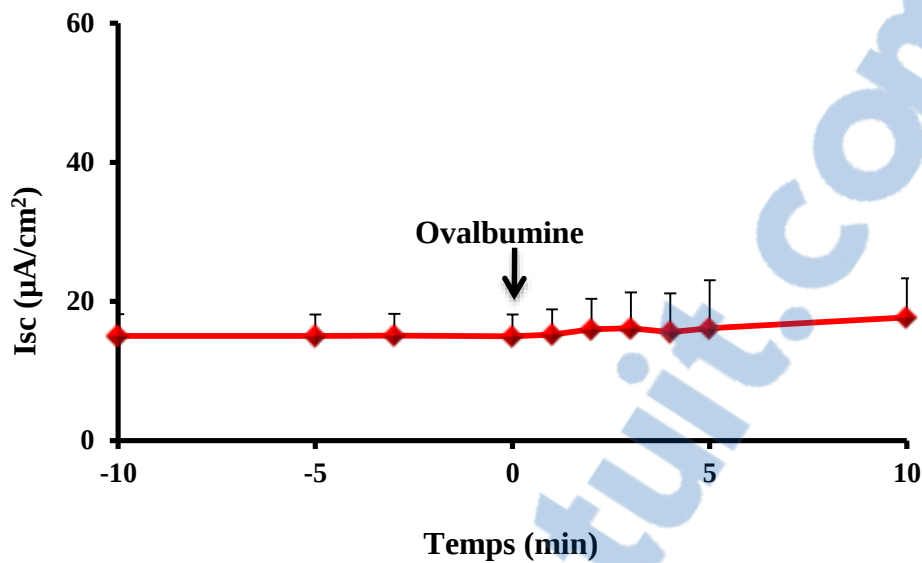


Figure 34. Effet de l'ovalbumine sur le courant de court circuit (Isc) mesuré en chambre de Ussing sur des fragments jéjunaux de souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg (T+).

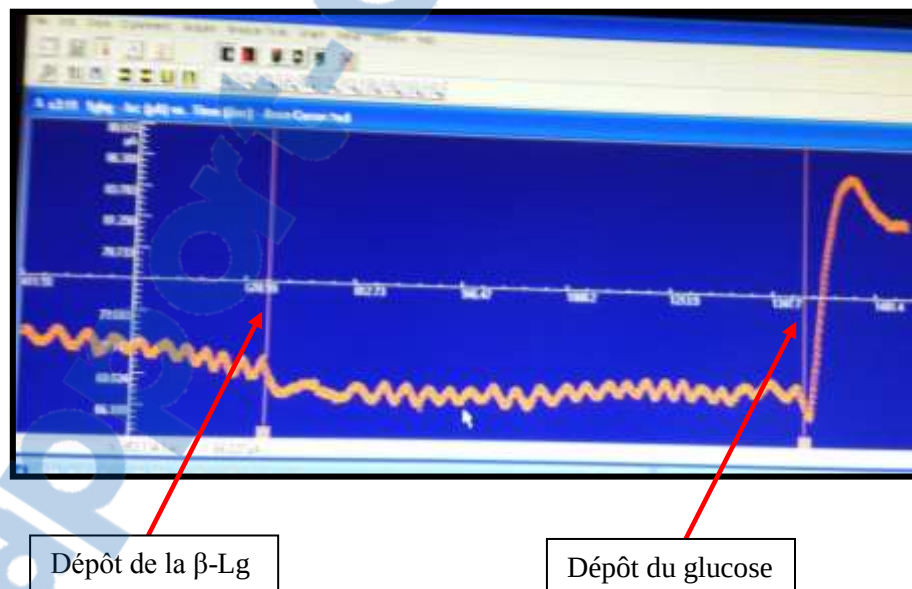


Figure 35. Effet du glucose sur le courant de court circuit (Isc) mesuré en chambre de Ussing sur un fragment jéjunale de souris témoin négatif.

Le dépôt de la β -Lg n'entraîne aucune modification des valeurs de l'Isc, alors que le glucose déposé dans le compartiment muqueux à la concentration de 10 mM entraîne une augmentation importante des valeurs de l'Isc.

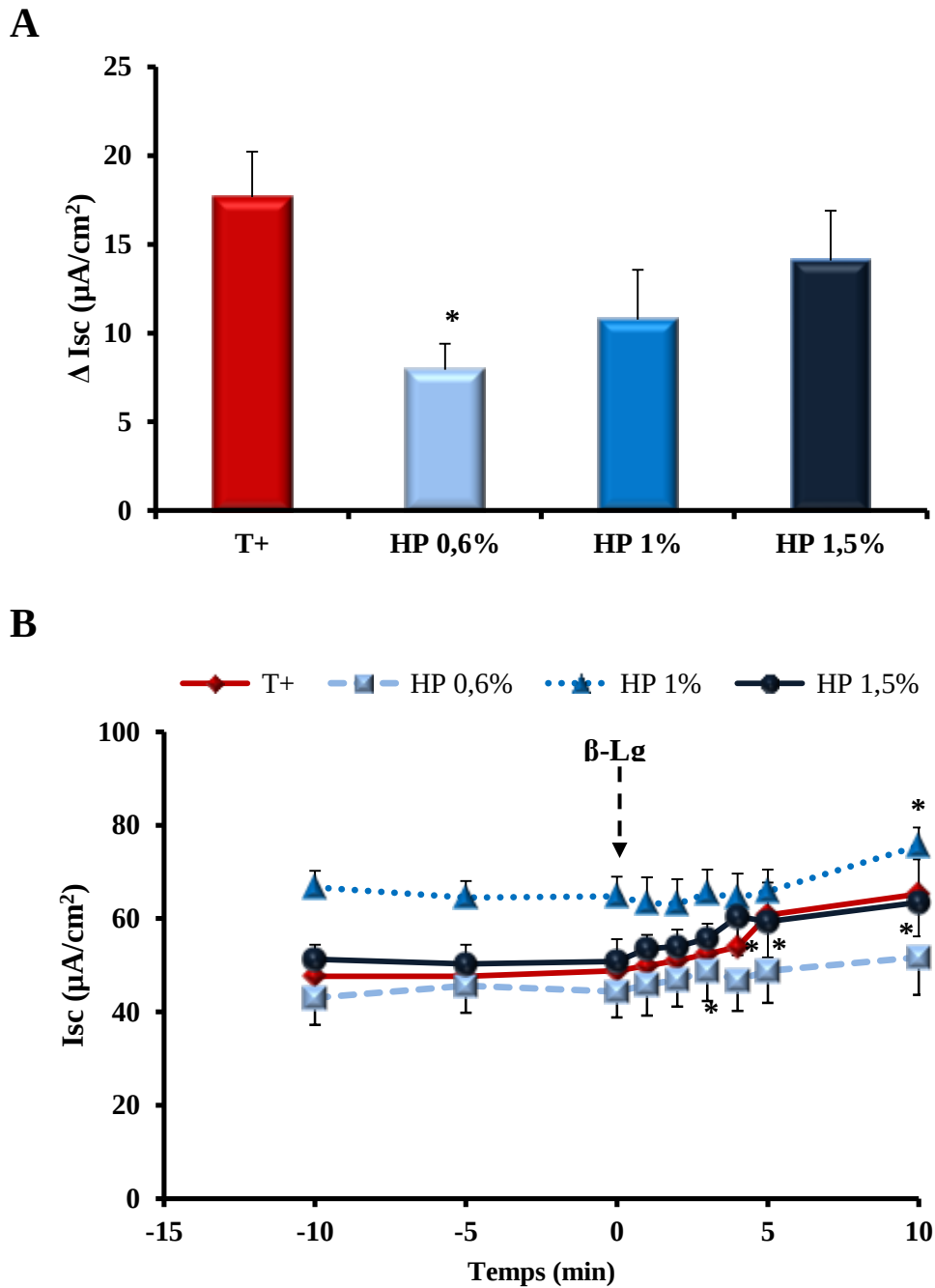


Figure 36. Effet du gavage à l'huile de poisson à différentes doses sur la différence du courant de court circuit (ΔI_{sc}) (A) et sur son évolution au cours du temps (B) mesurées en chambre de Ussing (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

* $p < 0,05$.

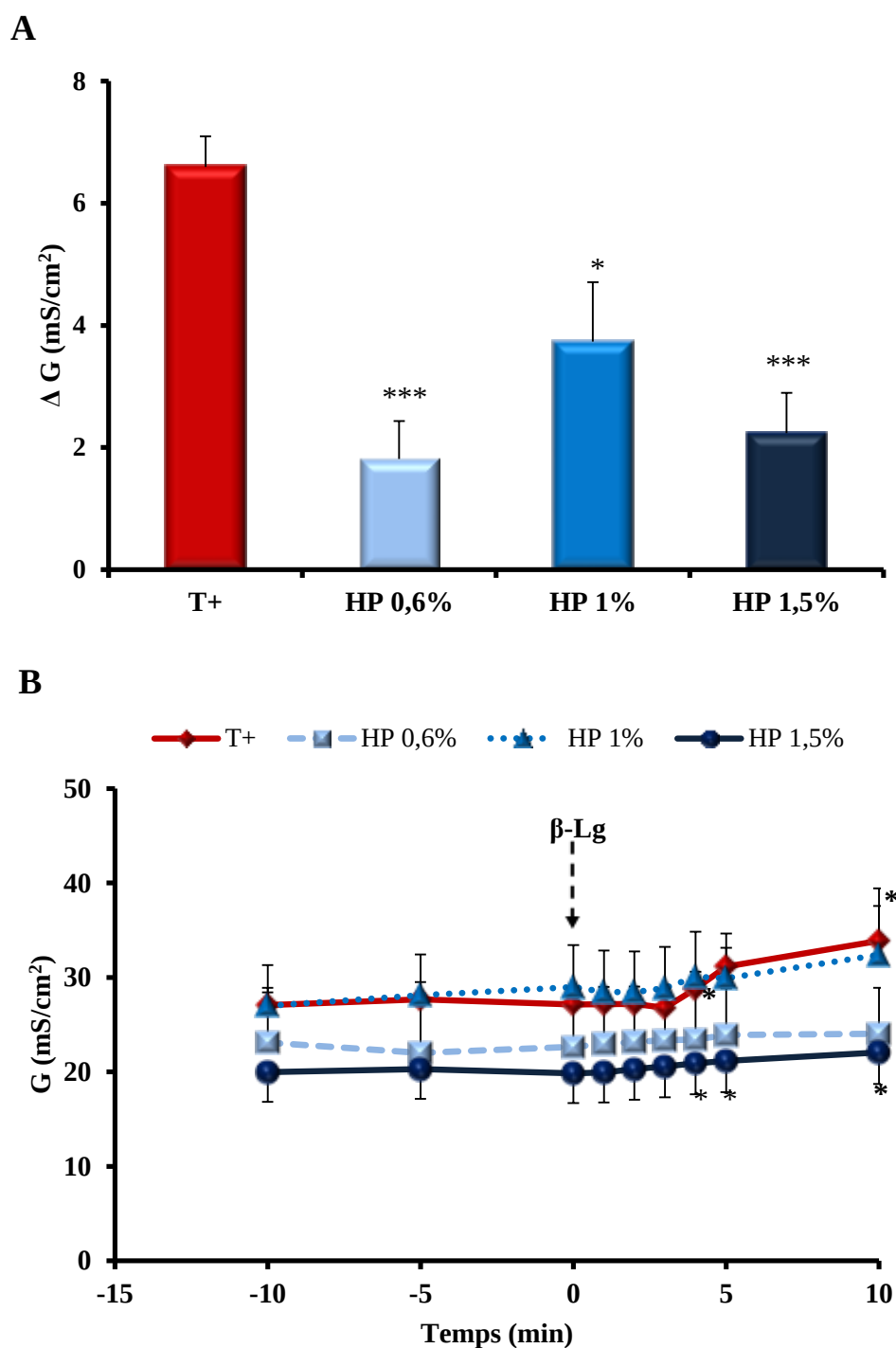


Figure 37. Effet du gavage à l'huile de poisson à différentes doses sur la différence de la conductance (ΔG) (A) et sur son évolution au cours du temps (B) mesurées en chambre de Ussing (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

4.1.3. Effet de l'huile de maïs

Le traitement des souris à l'huile de maïs à différentes doses ne semble pas limiter l'augmentation de l'Isc induite par la stimulation à la β -Lg, en effet les valeurs de Δ Isc de ces groupes bien que diminuées comparées au T+ restent statistiquement insignifiantes (HM 0,6%: $10,79 \pm 1,54 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, HM 1%: $11,61 \pm 3,28 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, HM 1,5%: $11,47 \pm 2,67 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) (Figure 38. A). De même pour la conductance, les souris ayant reçu de l'huile de maïs aux doses de 0,6%, 1% et 1,5% V/Pds présentent des valeurs respectives de Δ G de $3,63 \pm 1,32 \text{ mS}/\text{cm}^2$, $3,34 \pm 1,65 \text{ mS}/\text{cm}^2$ et $2,55 \pm 1,46 \text{ mS}/\text{cm}^2$ ($p > 0,05$), les valeurs de base de la conductance de ces trois groupes sont presque identiques à celle du T+ (Figure 39. A et B).

4.1.4. Mesure de la DDP

La nature de l'épithélium intestinal impose une répartition inégale des ions de part et d'autre de cette membrane ce qui crée une différence de potentiel (DDP), les variations de cette dernière sont reportées dans le tableau 9. Après stimulation à la β -Lg en chambre de Ussing des tissus jéjunaux des souris des différents groupes, aucune modification des valeurs de base de la DDP n'est enregistrée, ces valeurs restent stables durant toute la durée de l'expérience.

4.2. Etude histologique

L'étude de l'intégrité intestinale par la mesure de la conductance en chambre de Ussing est appuyée par une étude histologique des jéjunums qui a pour but d'évaluer un éventuel effet protecteur des AGPI n-3 et n-6 contre les altérations intestinales secondaires à la sensibilisation par la β -Lg.

En effet comme le montre la figure 40 (a et a') les souris ayant reçu une solution de PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg (T+) présentent des villosités jéjunales élargies et atrophiées ainsi qu'une hyperplasie des cryptes. Par ailleurs les souris n'ayant reçu aucun traitement (T-) présentent des villosités plus longues et plus fines (Figure 40 b).

Quant aux groupes expérimentaux, l'analyse histologique révèle une architecture intestinale nettement améliorée comparée au T+, les villosités sont longues et fines et l'hyperplasie des cryptes est moins prononcée (Figure 41 et Figure 42). Néanmoins il est d'une grande importance de noter que cette amélioration n'est pas intégrale, de ce fait certaines altérations morphologiques persistent.

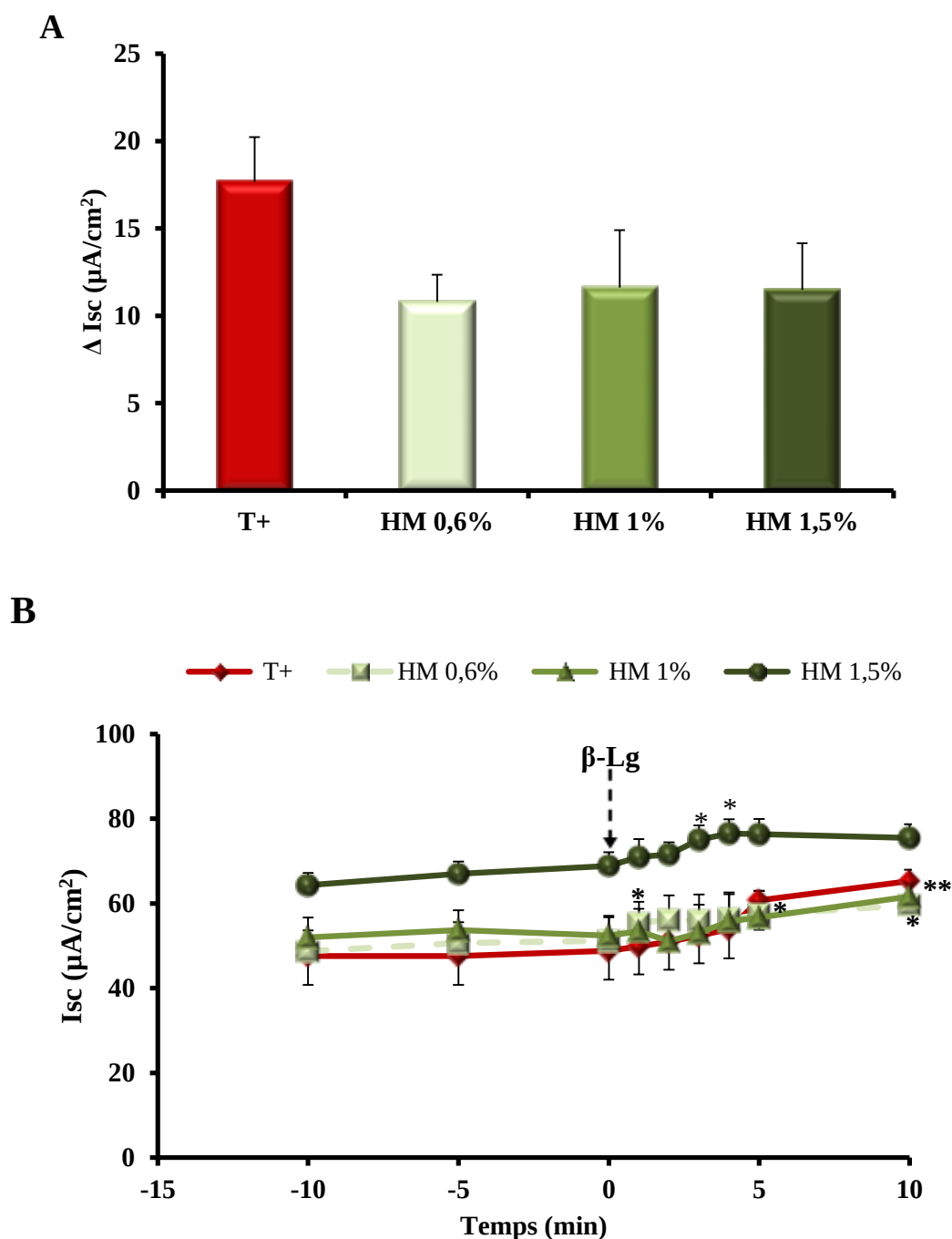


Figure 38. Effet du gavage à l'huile de maïs à différentes doses sur la différence du courant de court-circuit (ΔI_{sc}) (A) et sur son évolution au cours du temps (B) mesurées en chambre de Ussing (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

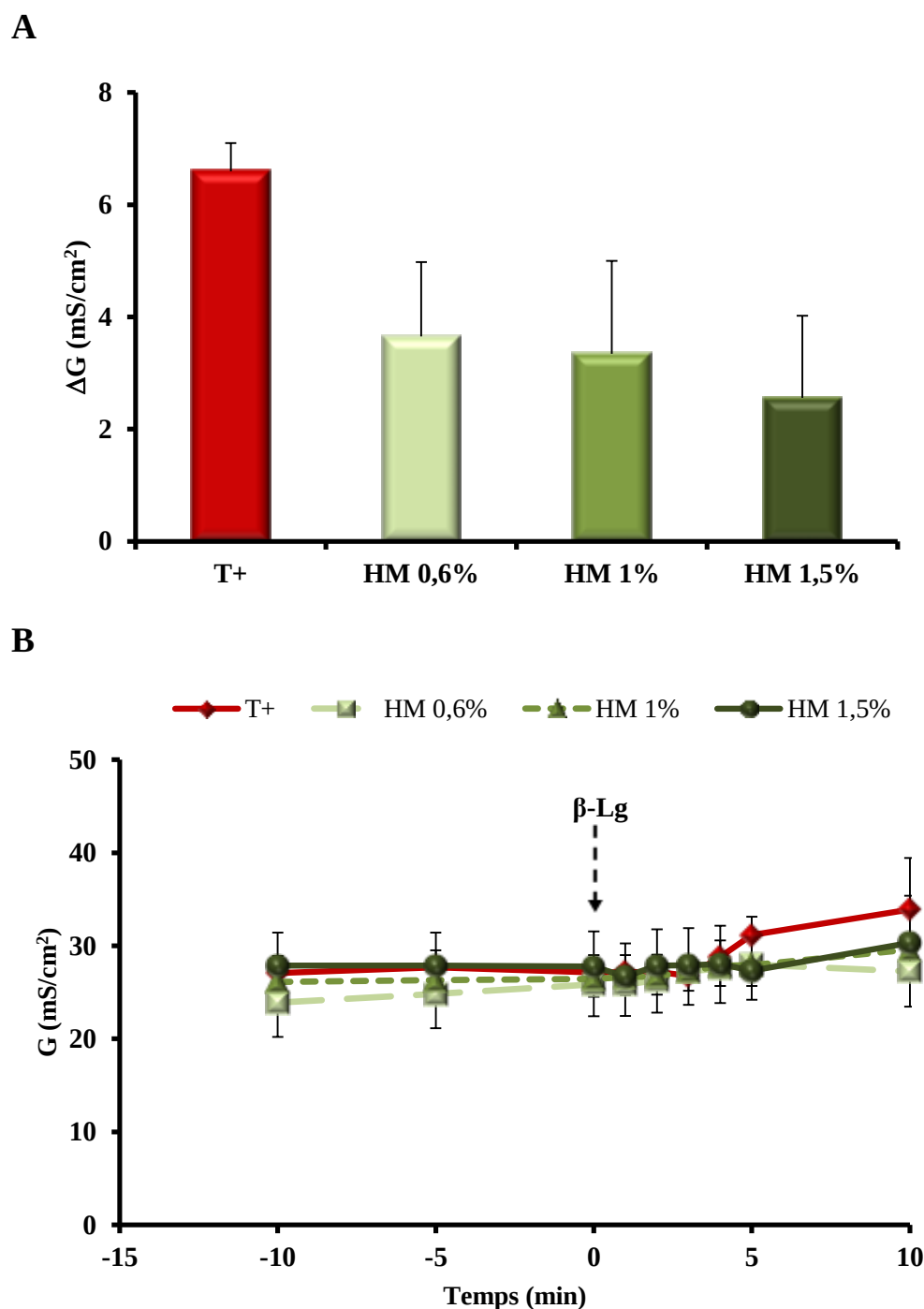


Figure 39. Effet du gavage à l'huile de maïs à différentes doses sur la différence de la conductance (ΔG) (A) et sur son évolution au cours du temps (B) mesurées en chambre de Ussing (n=09).

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

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

Tableau 9. Tableau représentatif des valeurs des différences de potentiel (DDP) des segments jéjunaux des souris des différents groupes.

Groupes	DDP (mV) T0	DDP (mV) T10	P
Témoins			
T-	2,78±0,51	2,29±0,50	NS
T+	2,08±0,26	2,21±0,21	NS
Huile de poisson			
0,6%	2,40±0,28	2,65±0,24	NS
1%	2,83±0,52	2,95±0,58	NS
1,5%	2,32±0,28	2,61±0,30	NS
Huile de maïs			
0,6%	2,23±0,32	2,53±0,29	NS
1%	3,03±0,33	2,99±0,33	NS
1,5%	3,03±0,59	3,21±0,66	NS

Les valeurs sont recueillies au temps T0, c'est à dire au moment de la stimulation du tissu par la β -Lg puis après 10 minutes (T10), c'est-à dire à la fin de l'expérience.

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

NS: Non significatif.

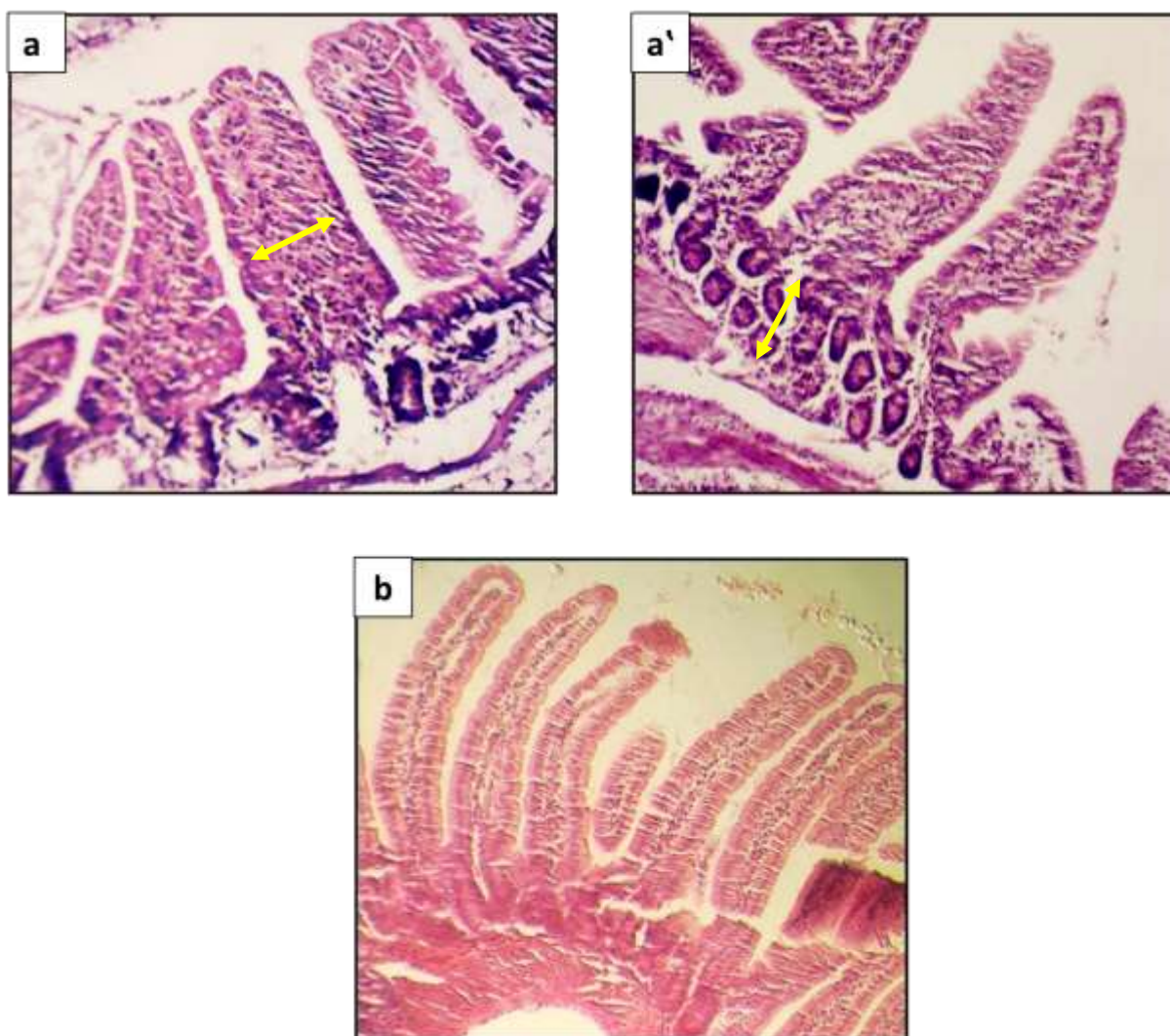


Figure 40. Observations au microscope optique montrant des coupes histologiques de tissus jéjunaux de souris témoins positifs (a, a') et de souris témoins négatifs (b) colorés à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E) ($G \times 100$).

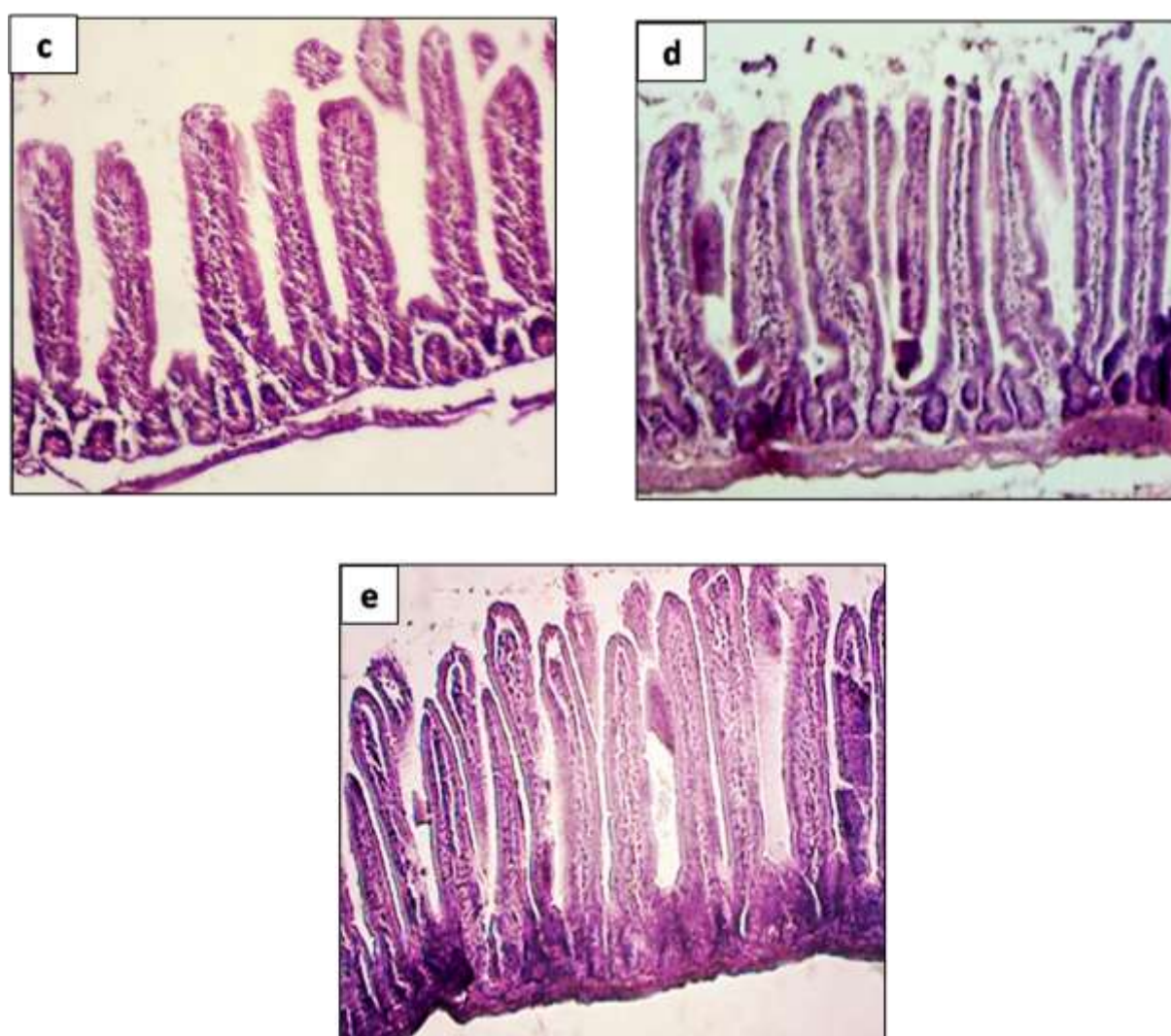


Figure 41. Observations au microscope optique de villosités jéjunales de souris gavées à l'huile de poisson à différentes doses puis sensibilisées à la β -Lg. Coloration à l'H & E ($G \times 100$).

c: HP 0,6% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

d: HP 1% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

e: HP 1,5% : Souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 1,5% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

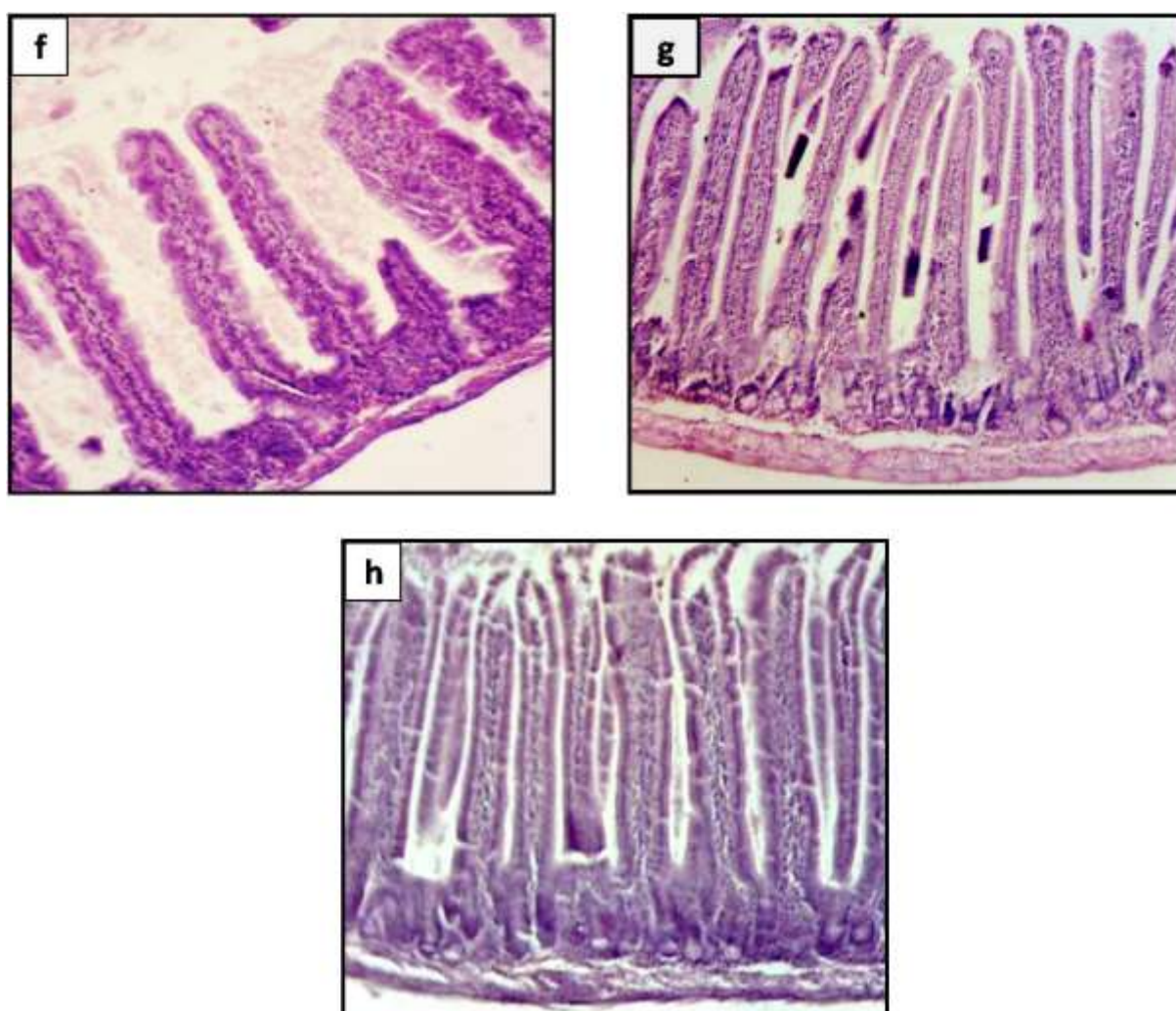


Figure 42. Observations au microscope optique de villosités jéjunales de souris gavées à l'huile de maïs à différentes doses puis sensibilisées à la β -Lg. Coloration à l'H & E ($G \times 100$).

f: HM 0,6% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

g: HM 1% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1 % V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

h: HM 1,5% : Souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 1,5 % V/Pds puis sensibilisées à la β -Lg.

4.2.1. 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 T+ est significativement diminuée par rapport aux souris T- avec les valeurs respectives de $30,29 \pm 1,89 \mu\text{m}$ vs $54,82 \pm 0,84 \mu\text{m}$ ($p < 0,001$) (Figure 43).

4.2.1.1. Effet de l'huile de poisson

L'amélioration de la morphologie intestinale observée chez les souris ayant reçu de l'huile de poisson à différentes doses est prouvée par une augmentation hautement significative de la hauteur villositaire comparée à celle des souris T+, les valeurs enregistrées sont de $46,27 \pm 2,74 \mu\text{m}$ pour le groupe HP 0,6% V/Pds, $47,04 \pm 1,31 \mu\text{m}$ pour le groupe HP 1% V/Pds et $44,62 \pm 2,4 \mu\text{m}$ pour le groupe HP 1,5% V/Pds ($p < 0,001$) (Figure 44. A).

4.2.1.2. Effet de l'huile de maïs

Chez les groupes traités à l'huile de maïs les hauteurs villositaires sont nettement augmentées comparées au groupe T+, comme l'indique la figure 44. B, les villosités atteignent des hauteurs de $48,72 \pm 2,85 \mu\text{m}$ pour le groupe HM 0,6% V/Pds ($p < 0,001$), $43,41 \pm 1,98 \mu\text{m}$ pour le groupe HM 1% V/Pds ($p < 0,01$) et $43,58 \pm 2,37 \mu\text{m}$ pour le groupe HM 1,5% V/Pds ($p < 0,01$).

5. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur le métabolisme lipidique et l'architecture structurale hépatique

5.1. Profil lipidique sérique

Dans cette partie du travail nous étudions l'effet d'une intubation gastrique des souris à huile de poisson et à l'huile de maïs sur le profil lipidique en dosant : le cholestérol total (CT), les triglycérides (TG), les LDL-cholestérol (LDL-C) et les HDL-cholestérol (HDL-C) au niveau sérique. Ces dosages sont effectués suite à des prélèvements sanguins à différents temps ; J0, J15 et J50. Les valeurs de ces paramètres chez les souris des témoins négatifs et positifs restent pratiquement inchangées tout au long de l'expérimentation (Figure 45).

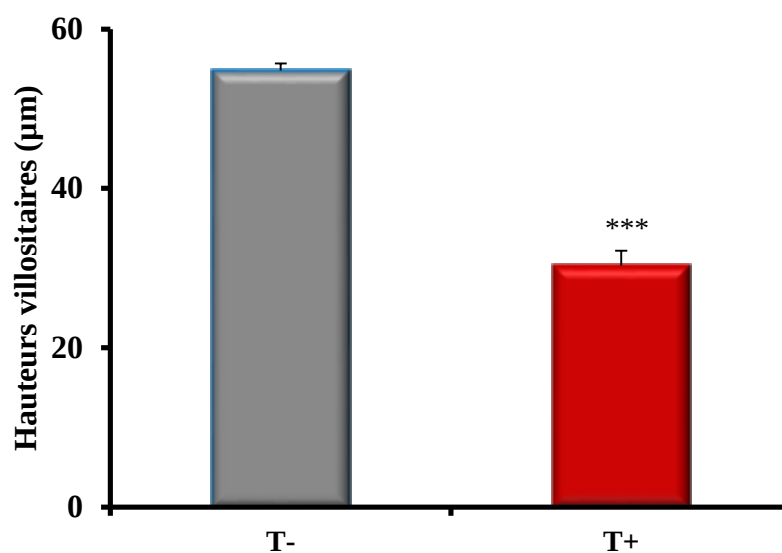


Figure 43. Effet de la sensibilisation à la β -Lg sur les hauteurs villositaires des fragments jéjunaux de souris (n=09).

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

T-: Souris naïves non sensibilisées.

T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

*** $p < 0,001$.

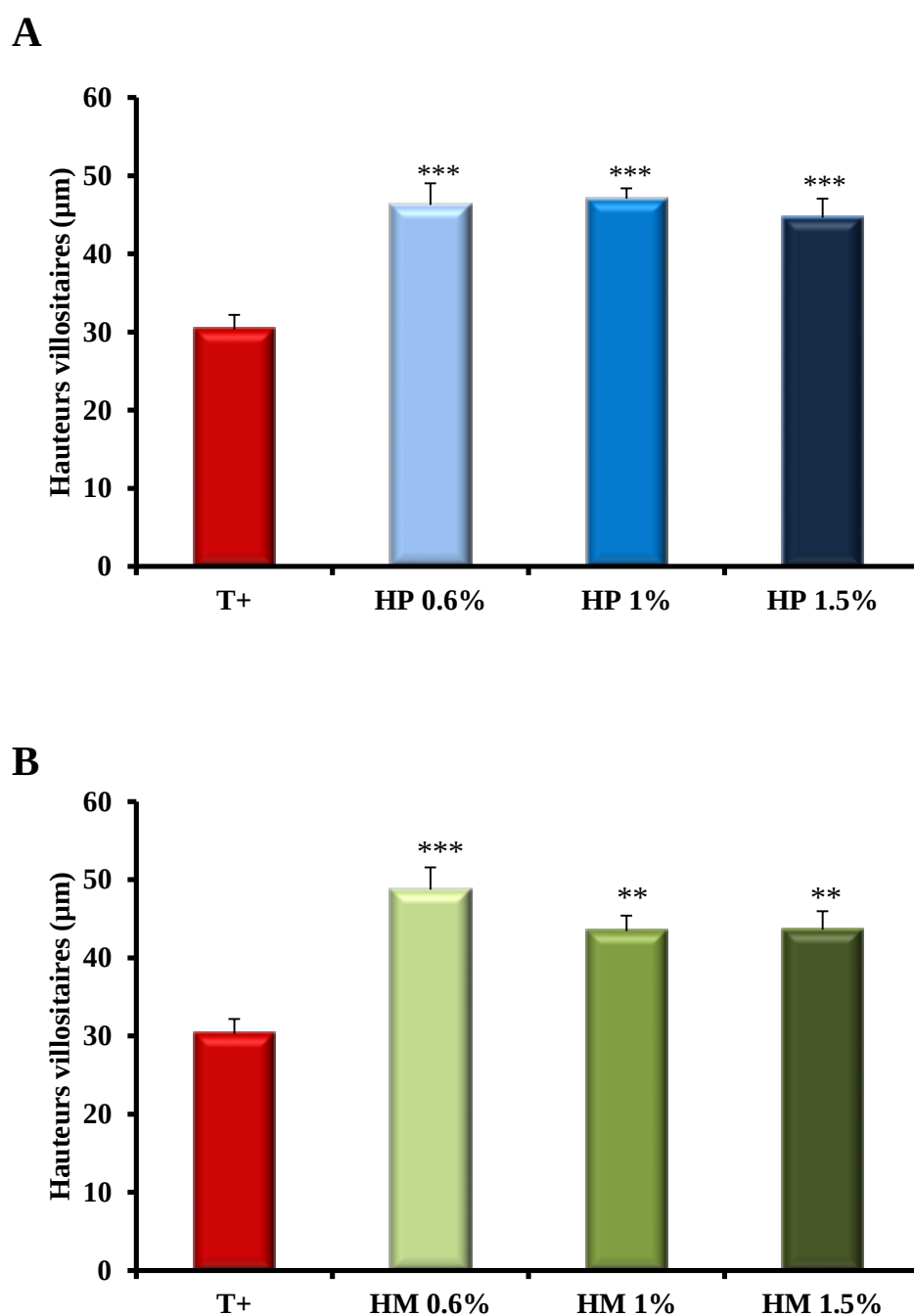


Figure 44. Effet du gavage à l'huile de poisson (A) et l'huile de maïs (B) à différentes doses sur les hauteurs villositaires des fragments de jéjunums de souris sensibilisées à la β -Lg (n=09).

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

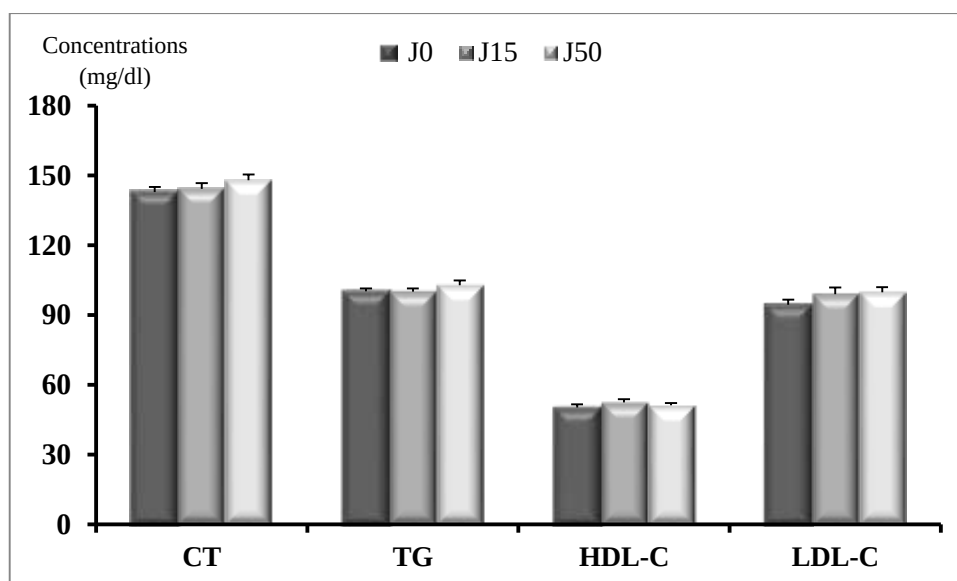
T+: Souris gavées au PBS 1/10 puis sensibilisées à la β -Lg.

HP: Souris gavées à l'huile de poisson puis sensibilisées à la β -Lg.

HM: Souris gavées à l'huile de maïs puis sensibilisées à la β -Lg.

* : Groupes expérimentaux vs témoin positif (**p<0,01, ***p<0,001).

A



B

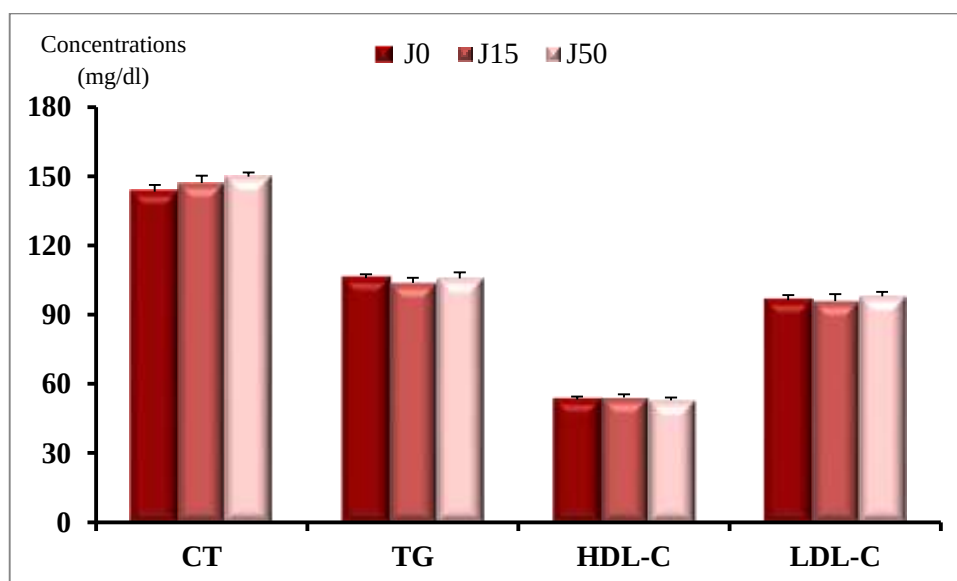


Figure 45. Teneurs à différents temps (J0, J15 et J50) en cholestérol total (CT), triglycérides, HDL-cholestérol (HDL-C) et LDL-cholestérol (LDL-C) exprimées en mg/dl chez les souris témoins négatifs (A) et témoins positifs (B) (n=18).

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

5.1.1. Effet de l'huile de poisson

A J0, aucune différence significative des valeurs du CT, TG, HDL-C et LDL-C n'est observée en comparaison avec les groupes témoins (T+ et T-), cependant à J15, c'est-à-dire après 15 jours de gavage à l'huile de poisson à différentes doses, ces valeurs tendent à diminuer de façon très significative. Les pourcentages respectifs des baisses du CT, TG, HDL-C et LDL-C sont les suivants :

Le groupe HP 0,6% : 36,38%, 46,42%, 39,64% et 30,05%.

Le groupe HP 1% : 43,3%, 45,81%, 52,49% et 28,7%.

Le groupe HP 1,5% : 48,69%, 31,62%, 47,64% et 26,83%.

35 jours après l'arrêt du gavage (J50), les valeurs de ces différents paramètres augmentent mais restent majoritairement diminuées en comparaison avec le J0 (Figure 46).

5.1.2. Effet de l'huile de maïs

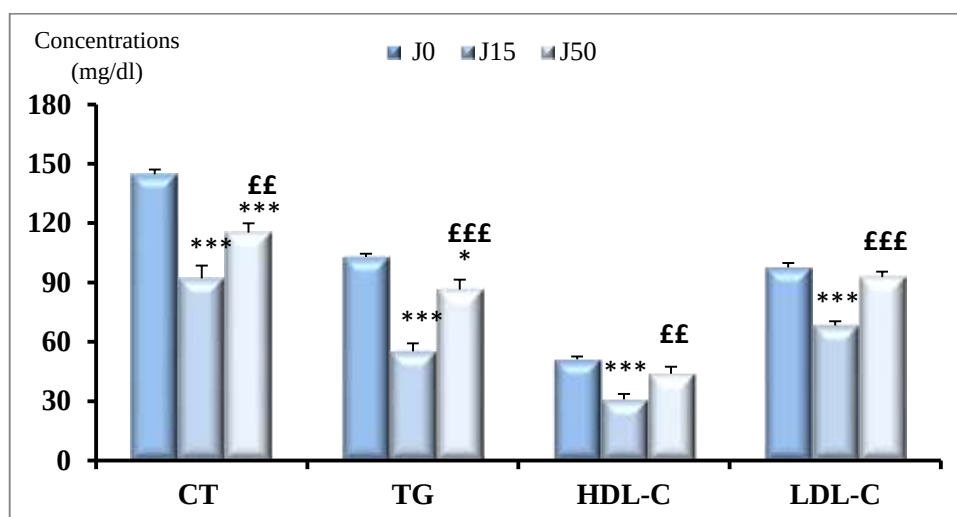
De même que pour les souris gavées à l'huile de poisson, le profil lipidique sérique des souris gavées à l'huile de maïs à J0 est similaire à celui des souris témoins négatifs et positifs. A J15 et hormis le CT chez les souris gavées à la dose de 1% et 1,5% V/Pds, l'ensemble des valeurs des paramètres lipidiques est diminué. A J50 ces valeurs restent pour la plupart inchangées en comparaison avec le J15, fait intéressant, certains paramètres tels que le CT chez les souris gavées aux doses de 1 % et 1,5% V/Pds et les TG chez les souris gavées à la dose de 1,5% V/Pds tendent à diminuer de façon significative comparés au J15 (Figure 47).

5.2. Architecture structurale hépatique

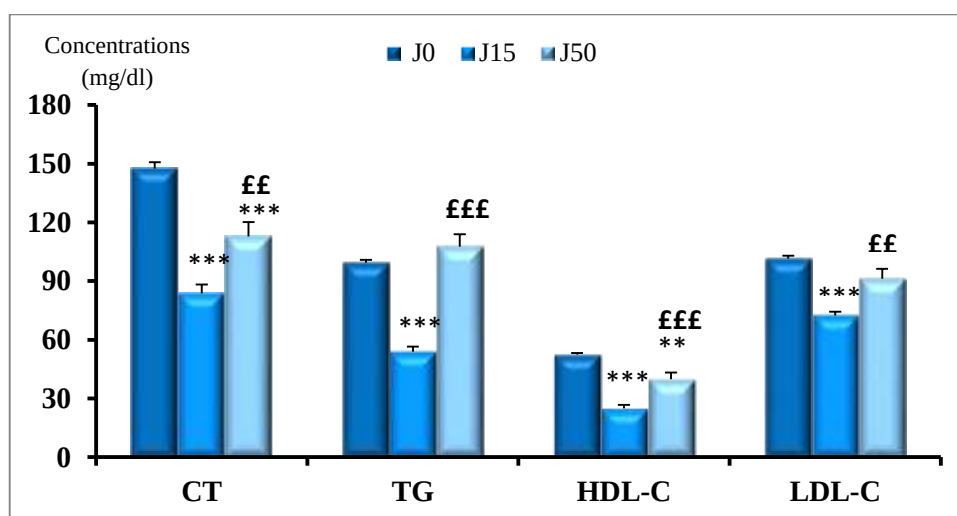
5.2.1. Poids relatif du foie

Le poids relatif d'un organe $[(\text{Poids de l'organe}/\text{Poids de la souris}) \times 100]$ est un indicateur de son évolution par rapport à celle de l'organisme entier. Le tableau 10 montre que chez les souris témoins négatifs et témoins positifs, les poids relatifs des foies sont similaires. Cependant, chez tous les groupes expérimentaux qu'ils soient traités à l'huile de poisson ou à l'huile de maïs à différentes doses, les poids relatifs des foies sont significativement diminués comparés aux témoins positifs et aux témoins négatifs.

A



B



C

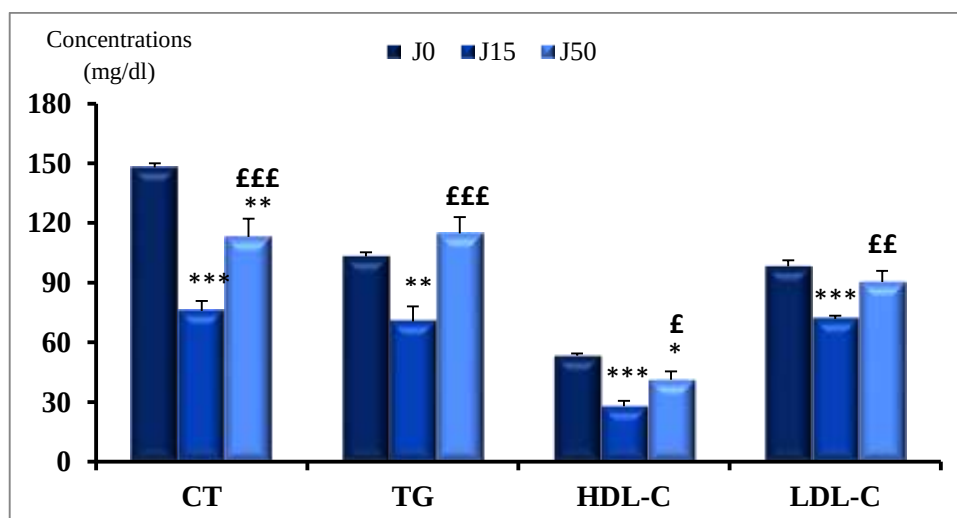


Figure 46. Teneurs à différents temps (J0, J15 et J50) en cholestérol total (CT), triglycérides (TG), HDL-cholestérol (HDL-C) et LDL-cholestérol (LDL-C) exprimées en mg/dl chez les souris gavées à l'huile de poisson aux doses de 0,6% V/Pds (A), 1% V/Pds (B) et 1,5% V/Pds (C) (n=18). Les valeurs reportées sont des moyennes et leurs erreurs standards ($X \pm Es$). * : J15 et J50 vs J0, £ : J50 vs J15.

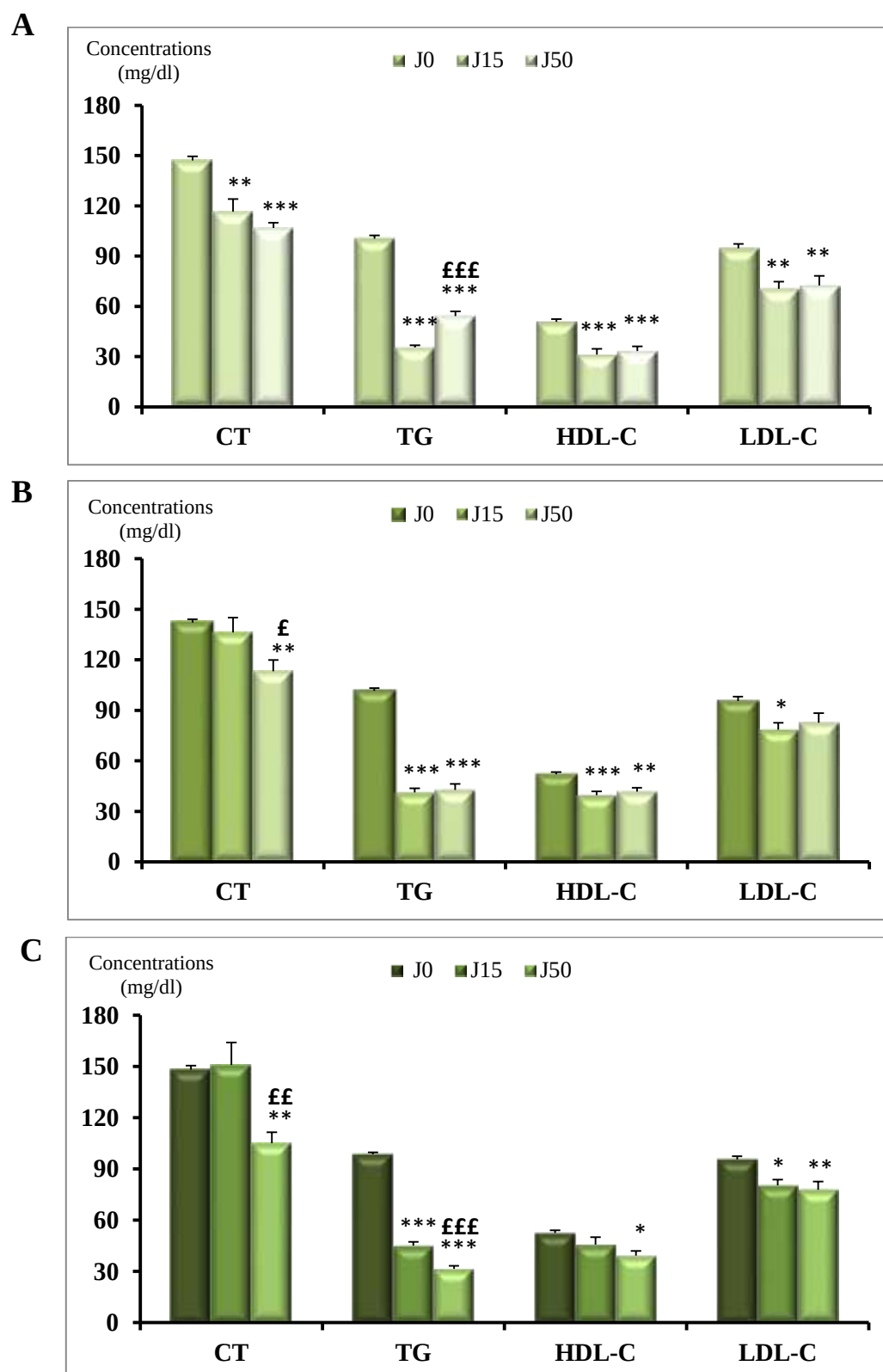


Figure 47. Teneurs à différents temps (J0, J15 et J50) en cholestérol total (CT), triglycérides (TG), HDL-cholestérol (HDL-C) et LDL-cholestérol (LDL-C) exprimées en mg/dl chez les souris gavées à l'huile de maïs aux doses de 0,6% V/Pds (A), 1% V/Pds (B) et 1,5% V/Pds (C) (n=18). Les valeurs reportées sont des moyennes et leurs erreurs standards ($X \pm Es$).
* : J15 et J50 vs J0, £ : J50 vs J 15.

Tableau 10. Effet de l'huile de poisson et de l'huile de maïs sur le poids absolu et le poids relatif des foies des souris des différents groupes.

Groupes	Poids absolus (g)	Poids relatifs (g/100g pc)
Témoins		
T-	1,84±0,12	6,24±0,32
T+	1,83±0,08	6,15±0,24
Huile de poisson		
0,6%	1,28±0,09***	4,23±0,20***
1%	1,08±0,05***	3,86±0,19***
1,5%	1,18±0,02***	3,85±0,03***
Huile de maïs		
0,6%	1,25±0,09***	4,55±0,29***
1%	1,27± 0,05***	4.25±0,09***
1,5%	1,09±0,09***	4,15±0,05***

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

*: Groupes expérimentaux vs groupes témoins positif et négatif (*** $p < 0,001$).

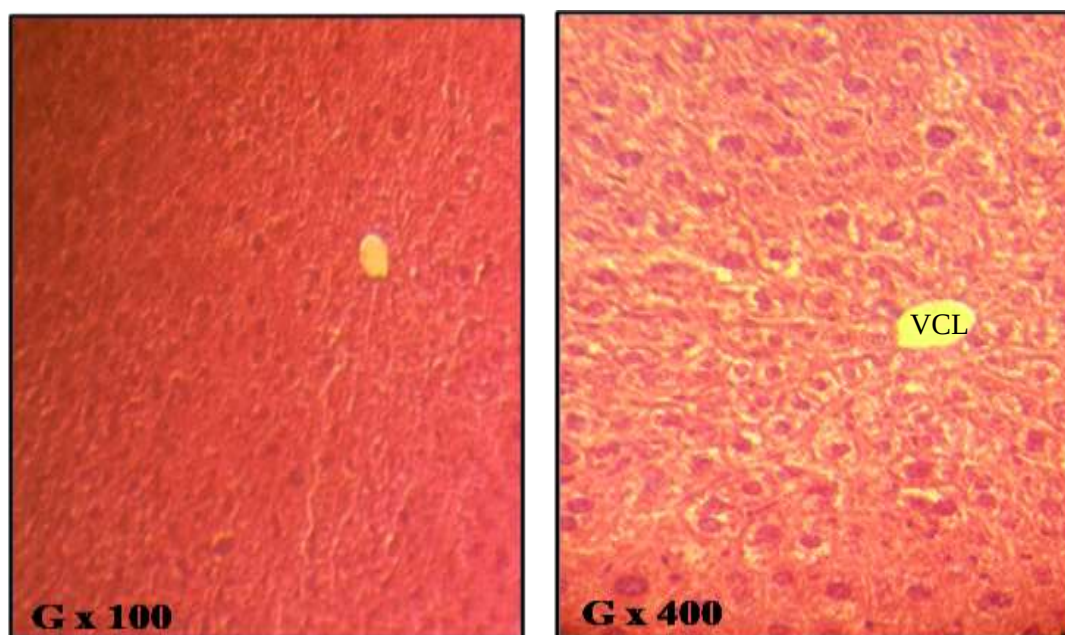
5.2.2. Structure histologique du foie

Les souris témoins négatifs et positifs présentent une architecture structurale hépatique normale avec des veines centrolobulaires (VCL) de tailles normales, des hépatocytes étroitement serrés avec un ou deux noyaux ronds et des sinusoides apparents (Figure 48). Quant aux groupes expérimentaux, les anomalies observées se résument principalement en une dégénérescence hydropique et grasseuse qui apparaît dose dépendante chez les souris gavées à l'huile de poisson aux doses de 0,6% et 1% V/Pds (Figure 49. C et D), les souris du groupe HP 1,5% présentent une importante présence de noyaux hyperchromatiques due à une condensation chromatinienne (Figure 49. E).

A l'encontre de nos attentes, les souris gavées à l'huile de maïs à la plus faible dose soit 0,6% V/Pds présentent une importante dégénérescence cellulaire, principalement hydropique puisque les hépatocytes sont gonflées (ballonisation) suite à une imbibition diffuse du cytoplasme, une compression de la VCL et des infiltrats lymphocytaires sont aussi observés (Figure 50. F). Par ailleurs les souris gavées aux doses plus élevées (1% et 1,5% V/Pds) ne présentent qu'une très faible ballonisation des hépatocytes et très peu de noyaux hyperchromatiques (Figure 50. G et H).

Les anomalies citées ci-dessus ne sont pas généralisées chez toutes les souris mais restent importantes à citer.

A



B

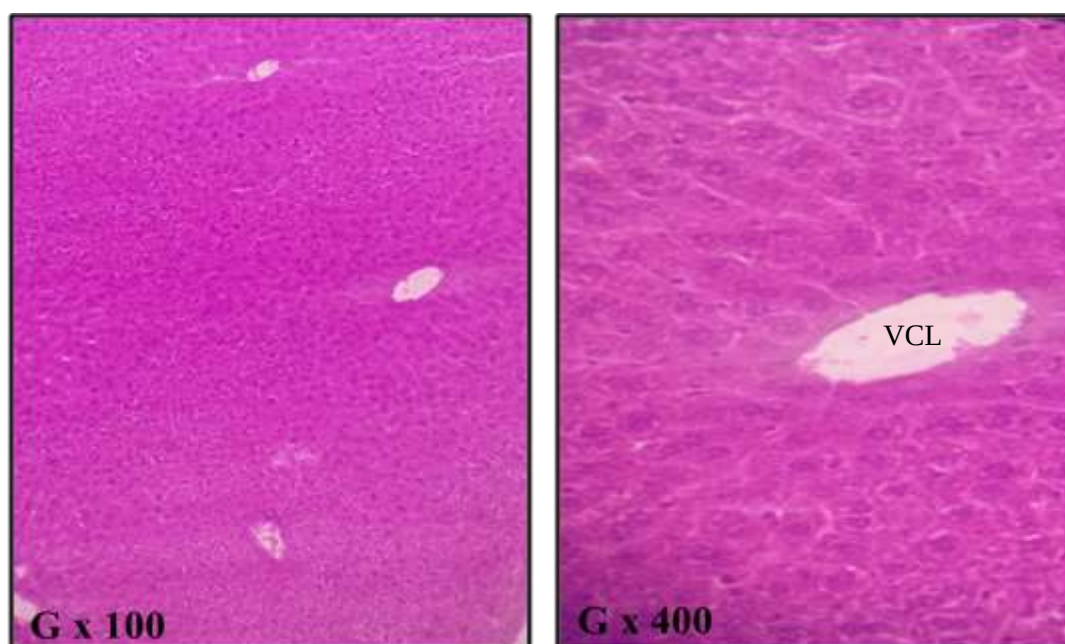


Figure 48. Observations au microscope optique de coupes histologiques de foies de souris témoins négatifs (A) et témoins positifs (B). Coloration à l'H & E. les souris de ces deux groupes présentent des foies avec des veines centrolobulaires (VCL) de tailles normales et des sinusoides apparents.

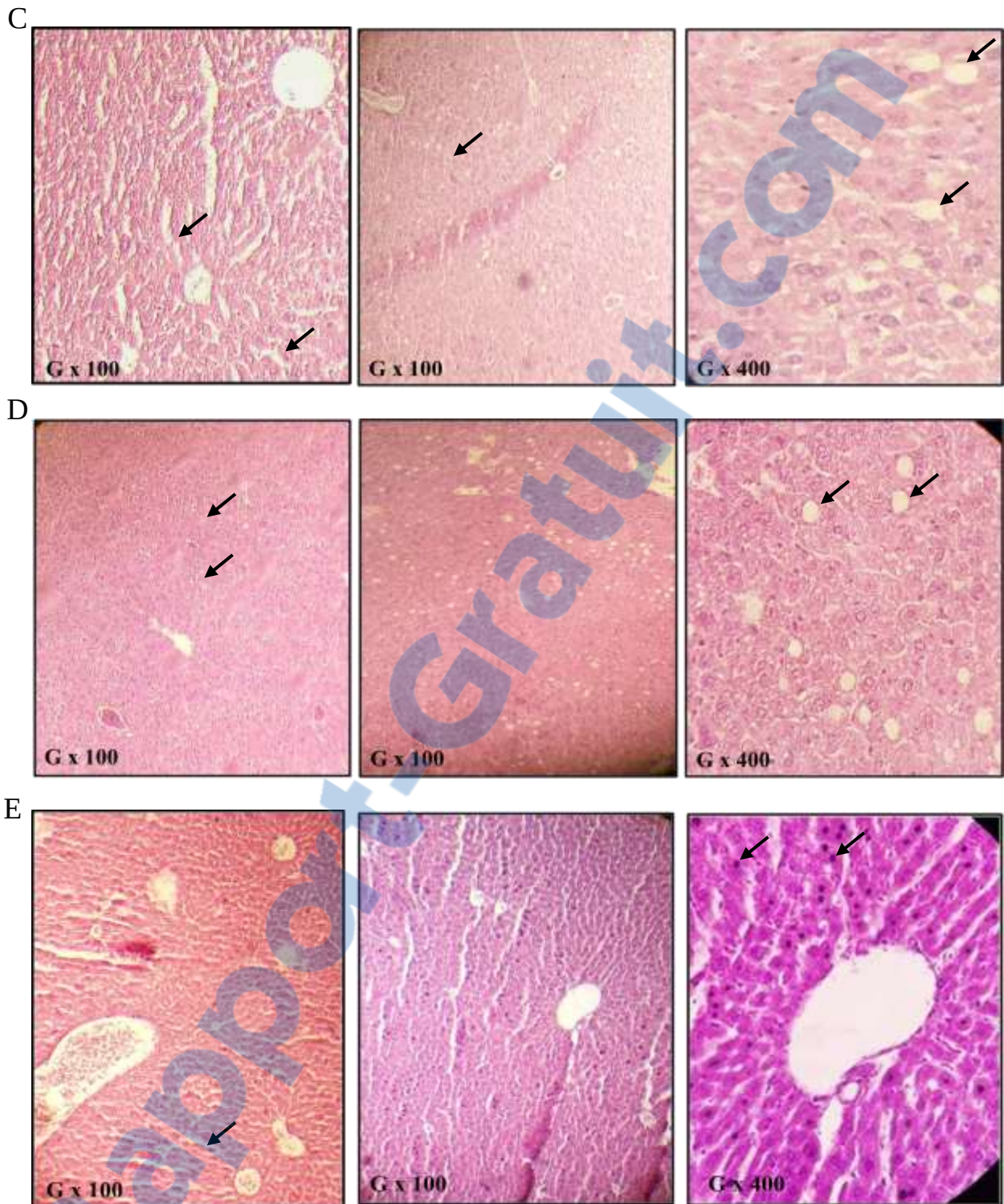


Figure 49. Observations au microscope optique de coupes histologiques de foies de souris gavées à l'huile de poisson (HP) à différentes doses. Coloration à l'H & E. **C.** HP 0,6%, dilatation des sinusoides, dégénérescence hydropique faible et une stéatose hépatique modérée. **D.** HP 1%, dégénérescence hydropique et grasseuse prononcées. **E.** HP 1,5%, dilatation sinusoidales et noyaux hyperchromatiques.

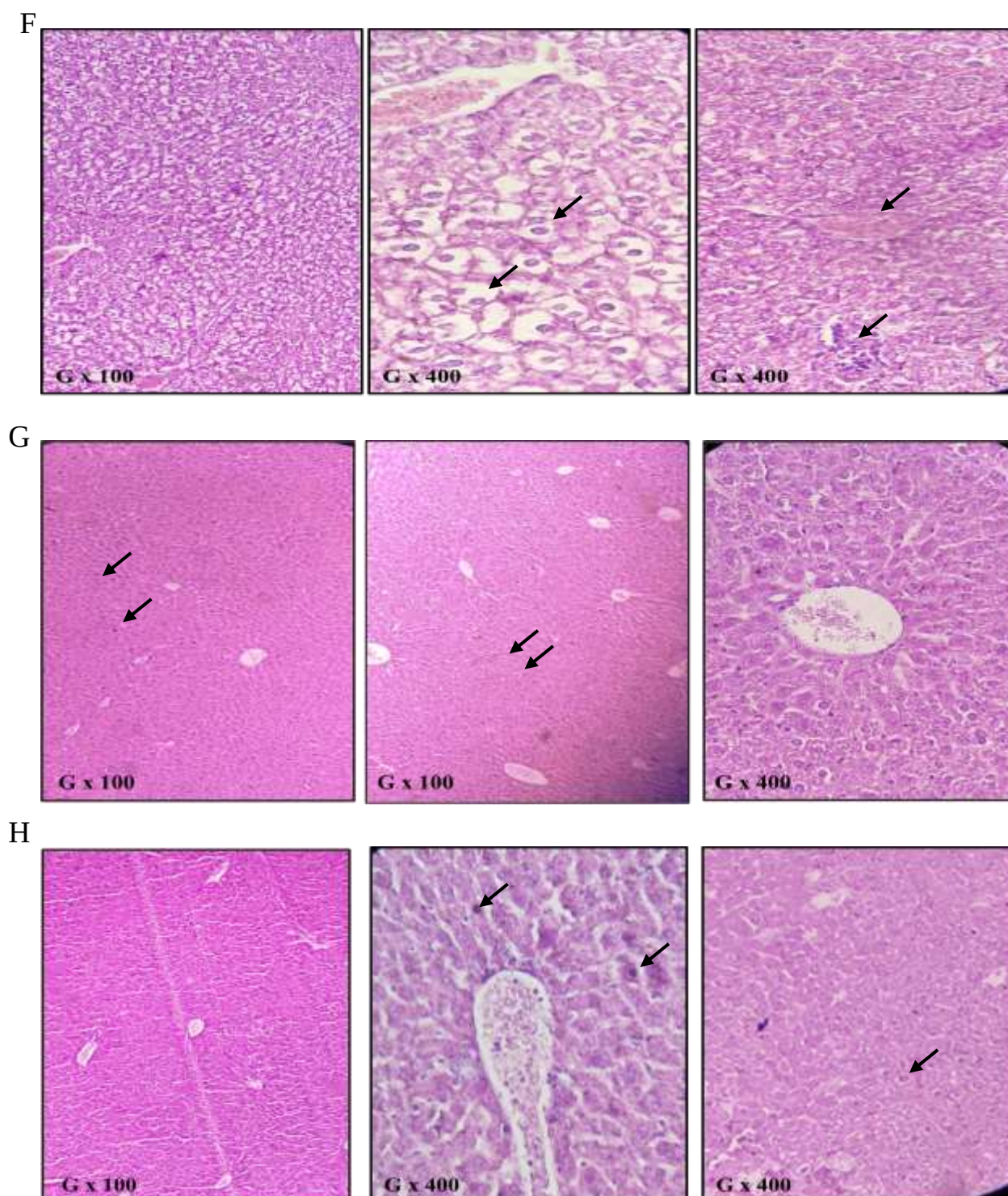


Figure 50. Observations au microscope optique de coupes histologiques de foies de souris gavées à l'huile de maïs (HM) à différentes doses. Coloration à l'H & E. **F.** HM 0,6%, importante ballonnisation des hépatocytes, compression de la VCL et présence d'infiltrat lymphocytaire. **G.** HM 1%, faible dégénérescence hydropique et présence de quelques noyaux hyperchromatiques. **H.** HM 1,5%, faible dégénérescence hydropique et faible présence de noyaux hyperchromatiques.

Discussion

Lors des allergies alimentaires telles que l'allergie aux protéines du lait de vache (APLV), l'éviction de l'allergène est reconnue comme une forme de gestion efficace de la maladie, cependant l'éviter ne revient pas à un véritable traitement vu les conséquences que cela peut avoir sur la santé. Pour faire face à ce problème, l'immunothérapie spécifique à l'antigène qui consiste à administrer une quantité croissante d'allergène sur une période prolongée (Tordesillas et al., 2017) et les thérapies préventives qui se basent sur l'administration de nutriments à propriétés immunomodulatrices (West et al., 2011) sont prometteuses.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés particulièrement aux thérapies préventives, notre choix s'est porté sur les acides gras polyinsaturés (AGPI); nutriments dont les propriétés immunomodulatrices sont largement étudiées et dans certains cas, controversées. En effet, différentes études se sont penchées sur l'effet immunomodulateur des AGPI sur les maladies dites atopiques impliquant des réponses immunitaires Th1 et Th2, cependant les résultats ne sont pas toujours en concordance (Peat et al., 2004; Johansson et al., 2010; Palmer et al., 2012; van den Elsen et al., 2013b), ceci peut être dû selon certains auteurs aux innombrables paramètres variables pouvant y interférer tels que: le sujet de l'étude (humains ou animaux), les doses utilisées, les voies d'administration, la durée du traitement.....etc., d'où l'importance d'une étude standardisant ces différents paramètres.

A cet effet, le but de ce travail est d'évaluer l'effet préventif des AGPI de la série n-3 et de la série n-6 contenus respectivement dans l'huile de poisson et l'huile de maïs contre l'APLV chez la souris BALB/c avec la dose comme seul paramètre variable.

L'effet immunomodulateur que peuvent avoir les AGPI est étudié en évaluant, chez des souris sensibilisées à une protéine allergisante du lait de vache, leurs effets sur : la réponse allergique, la réponse anaphylactique systémique et la réponse anaphylactique locale au niveau intestinal.

Le modèle animal choisi pour cette étude est la souris femelle BALB/c sensibilisée par voie intrapéritonéale (i.p) à la β -lactoglobuline (β -Lg), allergène majeur du lactosérum bovin.

La souris BALB/c est une souche forte productrice d'IgE, mimant ainsi le phénotype atopique humain, et s'avère donc très intéressante pour étudier la phase de sensibilisation aux allergènes (Dearman et kimber, 2001). Elle serait particulièrement plus appropriée pour les injections intrapéritonéales pour déterminer l'allergénicité intrinsèque des protéines. Dearman et al., (2002) ont comparé les effets de deux voies de sensibilisation chez des souris BALB/c femelles; intrapéritonéale et gastrointestinale, sur la production des anticorps spécifiques IgG et IgE anti ovalbumine (OVA) et ont constaté que l'administration de l'allergène par les deux

voies entraînait une production des IgG anti-OVA mais que seule l'injection intrapéritonéale entraînait une forte production d'IgE anti-OVA.

Avant la phase de sensibilisation à la β -Lg, les souris reçoivent par gavage soit de l'huile de poisson (AGPI n-3) ou de l'huile de maïs (AGPI n-6), cette voie d'administration a été privilégiée dans notre étude pour éviter tout risque de réactions croisées avec la protéine sensibilisante puisque les régimes alimentaires habituellement utilisés dans ce genre d'études contiennent des caséines, et le fait de remplacer ces protéines par des protéines d'origines végétales telles que les protéines du soja comme l'ont fait van den Elsen et al., (2013b), ne garantit pas l'élimination de ce risque du fait de l'existence de réactions croisées entre les protéines du soja et les protéines du lait de vache comme le font remarquer Candreva et al., (2015) et Addou et al., (2016).

La durée du gavage de 15 jours semble être suffisante pour que les AGPI n-3 s'incorporent dans les membranes cellulaires. Dans une étude randomisée, contrôlée et en double aveugle chez les patients cancéreux recevant une radiothérapie, une incorporation rapide d'EPA et de DHA dans les phospholipides des globules blancs et des globules rouges a été observée après une semaine d'intervention avec les aliments enrichis en huile de poisson (Faber et al., 2013).

De nombreuses études ont établi que la sensibilisation par voie intrapéritonéale des souris BALB/c par la β -Lg provoque chez ces dernières des réponses antigénique et allergénique traduites par une forte production d'anticorps IgG et IgE anti- β -Lg (Negaoui et al., 2009; Zellal et al., 2011), ceci est en parfaite concordance avec nos résultats puisque nos souris gavées au PBS et sensibilisées à la β -Lg (T+) présentent des taux d'anticorps IgG anti- β -Lg et IgE totales et spécifiques anti- β -Lg élevés comparés aux souris non sensibilisées, traduisant ainsi une bonne sensibilisation des souris avec une réponse Th2. Le mécanisme connu impliqué dans les allergies alimentaires IgE-médiées est attribué à la génération de cellules de type Th2 produisant des cytokines telles que l'IL-4 avec génération supplémentaire d'anticorps IgE et IgG1 (Sicherer et Sampson, 2010).

Les souris ayant reçu de l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds présentent des taux en IgE totales et anti- β -Lg significativement inférieurs aux taux des souris témoins positifs. Nos résultats concordent avec les travaux de van den Elsen et al., (2013b), qui ont démontré que la supplémentation en huile de poisson d'un modèle animal de l'APLV (souris C3H/HeOuj femelles) a réduit la production de la réponse humorale spécifique par les cellules B contre les protéines du lactosérum, ce qui a permis d'atténuer la production d'immunoglobulines de type Th2. Dans le même contexte, De Matos et al., (2012) ont montré

qu'une sensibilisation à l'OVA induit une augmentation significative des taux sériques d'IgE et d'IgG1 anti-OVA, alors que les souris supplémentées en AGPI n-3 présentaient des taux en IgE spécifique anti-OVA significativement plus bas.

Plusieurs hypothèses postulent pour expliquer nos résultats, la première est que les AGPI n-3 ont la capacité de réduire la réponse allergique en induisant une réponse immunitaire à profil Th1. Thang et al., (2013) ont observé que l'administration d'un régime alimentaire avec un ratio n-6/n-3 de 1:4 à des souris BALB/c sensibilisées et challengées à la β -Lg induit une orientation de la réponse immunitaire vers une réponse Th1 avec production élevée de cytokines de type Th1; l'INF- γ et IL-12p40, la chimiokine MCP-1 et la cytokine anti-inflammatoire IL-10.

La deuxième hypothèse serait que les AGPI n-3 supprimeraient l'expression des gènes des cytokines Th2. Park et al., (2013) ont montré que l'acide α -linoléique (ALA) et ses métabolites, l'EPA et le DHA entraînaient une diminution spectaculaire de la production d'interleukines ; IL-4, IL-5 et IL-13 de manière dose-dépendante, ainsi que l'expression des ARNm de leurs gènes, dans des cultures cellulaires de mastocytes MC/9 et de mastocytes dérivés de la moelle osseuse, les effets étaient comparables à ceux de la cyclosporine A; un agent immunosuppresseur bien connu. Cependant l'utilisation d'une autre lignée de cellules T (EL-4) n'a pas abouti aux mêmes résultats, ce qui suggère que les AGPI n-3 ont un important effet inhibiteur des cytokines Th2 dans les mastocytes plutôt que dans les cellules T.

Afin de comprendre par quels mécanismes cellulaire et moléculaire les AGPI n-3 exercent ces effets, l'intérêt de ces auteurs s'est porté sur les facteurs de transcription GATA 1 et GATA 2 du fait qu'ils sont présents dans les mastocytes mais pas dans les cellules T (Henkel et Brown, 1994; Weiss et Brown, 2001) et aussi du fait que les sites de liaisons GATA sont présents dans les promoteurs proximaux des IL-4, IL-5 et IL-13 (Kwan et al., 2005; Masuda et al., 2007). L'expression nucléaire des GATA-1 et GATA-2, a également été fortement supprimée par les AGPI n-3 cependant, leurs expressions d'ARNm n'ont pas été affectées. Dans les mastocytes P815, qui n'expriment pas de GATA-1, les effets suppresseurs des AGPI n-3 sur les cytokines ont été abolis. Pris ensemble, ces résultats indiquent que les AGPI n-3 pourraient cibler davantage les mastocytes que les lymphocytes T pour supprimer l'expression des cytokines Th2 en inhibant les GATA (Park et al., 2013).

La troisième hypothèse est que les AGPI n-3 auraient la capacité de faciliter l'induction d'une tolérance orale. Il a été démontré que l'apport alimentaire en AGPI a une influence sur l'induction de la tolérance chez la souris SJL/J (Cinader et al., 1983) et sur le développement d'une tolérance immunologique à l'antigène alimentaire chez la progéniture du

rat (Korotkova et al., 2004). De plus, différents effets des AG alimentaires de la série n-6 et n-3 sur les réponses de type Th1 et Th2 et l'induction d'une tolérance orale à l'ovalbumine ont été démontrés chez les souris BALB/c mâles (Harbige et Fisher, 2001).

Willemsen, (2016) explique dans sa synthèse «Dietary n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in allergy prevention and asthma treatment » l'effet des AGPI n-3 sur l'interaction entre les cellules T et les cellules dendritiques (CD), ces dernières étant tolérogènes peuvent contrôler l'anergie des cellules T ou les cellules T régulatrices (Treg_s), tandis qu'activées, elles peuvent induire des réponses des cellules T effectrices. Les médiateurs inflammatoires tels que les lipopolysaccharides (LPS) activent les CD qui induisent leur maturation, ce qui entraîne une expression accrue du complexe majeur d'histocompatibilité II (CMH II) et la libération de cytokines polarisant les lymphocytes T. Draper et al., (2011) ont étudié les effets de l'EPA et du DHA sur la maturation des cellules souches dérivées de la moelle osseuse murine induite par le LPS et ont montré que l'EPA et le DHA (25 M ajoutés lors de la différenciation et de la maturation) inhibaient l'expression du CMH II et la libération de l'IL-12p70 tout en augmentant la sécrétion d'IL-10 (cytokine immunosuppressive) par les CD.

Outre ces hypothèses, il est important de rappeler que l'incorporation des EPA et DHA dans les phospholipides membranaires des cellules immunitaires se fait au dépend de l'ARA (Yaqoob et al., 2000; Healy et al., 2000; Rees et al., 2006; Walker et al., 2015), ce qui non seulement diminue la production des eicosanoïdes dérivés de l'ARA (PGs-2, TXs et LTs-4) mais aboutit aussi à la production de moins puissants eicosanoïdes dérivés de l'EPA (LTB5 est 10 à 100 fois moins puissante que LTB4) (Calder, 2006; Wada et al., 2007; Calder, 2015b).

En général, la différence structurelle entre les eicosanoïdes dérivés d'ARA et d'EPA rend ces derniers moins puissants biologiquement. Ceci a été clairement démontré pour l'action de LTB5 contre celle de LTB4 en tant que chimioattractant leucocytaire (Goldman et al., 1983; Lee et al., 1984; Bagga et al., 2003). Une des raisons de cette puissance biologique réduite est que les récepteurs aux eicosanoïdes ont généralement une plus faible affinité pour les médiateurs dérivés de l'EPA que pour ceux dérivés de l'ARA. Ceci a été exploré en détail par Wada et al., (2007) qui ont identifié, par exemple, une affinité de PGE3 inférieure de 50 à 80% à celle de PGE2 vis-à-vis des récepteurs EP1, EP2, EP3 et EP4.

S'ajoute à cela la génération d'eicosanoïdes alternatifs; une autre famille de médiateurs lipidiques produits à partir des EPA et DHA. Dans cette famille appelée médiateurs pro-résolvants, on trouve les résolvines de la série D et E produites à partir du DHA et EPA respectivement, ainsi que les marésines et les protectines à partir du DHA

(Miles et Calder, 2017). Tous ces composés possèdent de puissantes propriétés anti-inflammatoires (Serhan et al., 2008; Bannenberg et Serhan, 2010; Serhan et Chiang, 2013).

Plusieurs auteurs suggèrent que les EPA et DHA doivent leurs effets préventifs contre les maladies allergiques probablement grâce à l'action des médiateurs pro-résolvants. En effet, l'étude de Bilal et al., (2011) a montré que chez des souris transgéniques fat-1 (souris capables de synthétiser des AGPI n-3 à partir des n-6) sensibilisées à l'OVA, une augmentation des résolvines E1 et D1 dans les tissus pulmonaires est accompagnée par une diminution des concentrations des cytokines pro-allergéniques telles que l'IL-5 et l'IL-13. De même, une autre étude a montré que les résolvines E1 diminuent l'infiltration des éosinophiles et des lymphocytes dans les voies respiratoires, la cytokine Th2 (IL-13) ainsi que les concentrations sériques des IgE anti-OVA et ce chez des souris BALB/c sensibilisées à l'OVA (Aoki et al., 2008).

Toutefois, nos données ne concordent pas avec ceux de Johansson et al., (2010) qui ont conclu que leurs résultats ne sont pas compatibles avec un effet protecteur de la supplémentation en huile de poisson contre les réponses de type Th2. En effet, cette équipe a trouvé qu'une supplémentation en huile de poisson chez un modèle animal d'hypersensitivité respiratoire sensibilisé à l'OVA (souris BALB/c mâles) tend à augmenter les taux d'anticorps IgE totales et anti-OVA.

Chang et al., (2009) ont montré qu'une supplémentation en huile de périlla (source d'AGPI n-3) de souris femelles BALB/c sensibilisées et challengées à l'OVA, a induit une augmentation des taux d'IgE totales, cependant cette même supplémentation a induit une diminution significative des taux d'IgG1 spécifiques anti-OVA (anticorps de type Th2). Dans l'ensemble, ces auteurs ont conclu que les effets globaux de l'huile de périlla sur l'asthme allergique sont bénéfiques.

L'amplification des réactions de type Th2 suite à une supplémentation aux AGPI n-3 s'explique selon de nombreux auteurs par le fait que les oméga-3 étant des anti-inflammatoires (Moinard, 2006; Huang et al., 2015), peuvent supprimer une réponse à profil Th1 et l'orienter vers une réponse Th2. Chez des souris C57BL/6 femelles, un régime enrichi en AGPI n-3 induisait une baisse de l'activation des CD4 et CD8 induite par l'IL-2 et une hausse des sous-populations des cellules T Th2 (Arrington et al., 2001). Dans une autre étude, l'huile de poisson augmentait de manière significative le pourcentage de cellules polarisées Th2 et supprimait le nombre de cellules Th1 chez des souris femelles C57BL/6 (Zhang et al., 2005). Kleemann et al., (1998) qui ont nourri des rats BB (Biobreeding) avec une alimentation

riche en huile de poisson, ont observé une orientation des cytokines Th1/Th2 vers Th2 en raison d'une augmentation de l'expression de l'ARNm de IL-10 dans les plaques de Peyer.

En dépit des controverses citées ci-dessus, nous pouvons suggérer que l'huile de poisson (AGPI n-3) administrée à la dose de 0,6% V/Pds pourrait avoir un effet préventif contre l'APLV en diminuant les taux des IgE.

Par ailleurs, les souris ayant reçu de l'huile de maïs à différentes doses (0,6%, 1% et 1,5% V/Pds) présentent des taux en IgG anti β -lg significativement diminués comparés aux témoins positifs mais seul un prétraitement de ces souris à l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds semble diminuer les taux des IgE anti β -Lg alors que les souris gavées aux deux autres doses (0,6% et 1% V/pds) présentaient des taux en IgE totales et spécifiques similaires à ceux des témoins positifs.

Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les AGPI n-6 sont les précurseurs métaboliques de l'ARA, ce dernier par la voie des cyclo-oxygénases produit les prostaglandines de la série 2 (PGE2). Les PGE2 jouent un rôle important dans l'étiologie de l'inflammation allergique en régulant la différenciation et les fonctions des lymphocytes. Les PGE2 diminuent la production de cytokines de type Th1 (IFN- γ et IL-2) et augmentent la production de cytokines de type Th2 (IL-4 et IL-5), ce qui entraîne une diminution du rapport IFN- γ /IL-4 et la promotion de la synthèse d'IgE par les cellules B (Black et Sharpe, 1997; Calder, 2002)

L'étude de Johansson et al., (2010) concorde avec une partie de nos résultats; chez des BALB/c mâles, la supplémentation en huile de tournesol (source d'AGPI n-6) n'entraîne aucune différence significative dans la production des taux en IgE totales et spécifiques anti-OVA, par rapport à des témoins (souris ayant reçu un régime standard).

Malgré les données citées précédemment, l'huile de maïs administrée à la dose de 1,5% V/Pds a pu diminuer les taux des IgE anti- β -Lg. L'étude récente de Lee-Sarwar et al., (2018) vient appuyer ce résultat. Ces auteurs ont démontré chez des enfants de trois ans, l'existence d'une relation inversement proportionnelle entre l'apport alimentaire en AGPI de la série n-6, le taux plasmatique de ces derniers et l'asthme et/ou la respiration sifflante récurrente ainsi que la sensibilisation allergique.

Certains auteurs expliquent que selon sa concentration, la PGE2 peut atténuer ou au contraire accroître la réponse allergique. Säfholm et al., (2015) ont trouvé qu'un prétraitement avec la PGE2 (0,1-10 mmol/l) pendant 15 minutes, réduisait la contraction des petites voies aériennes induite par un anti-IgE, cette réduction était proportionnelle à la concentration; la réponse aux anti-IgE a été presque supprimée pour la dose de PGE2 la plus élevée. De plus,

en augmentant le temps de la pré-incubation avec la concentration la plus faible de PGE2 (0,1 mmol/l), une augmentation d'efficacité en fonction du temps a été enregistrée; 120 minutes d'exposition à 0,1 mmol/l de PGE2 ont inhibé la réponse aux anti-IgE au même degré que 15 minutes d'exposition à 10 mmol/l de PGE2.

A ce stade de notre étude, nous ne pouvons expliquer le mécanisme par lequel les AGPI n-6 exercent leurs effets, cependant, nous pouvons dire qu'à dose élevée, ces derniers exercent un effet bénéfique dans la prévention de l'APLV par la diminution des taux des IgE anti- β -Lg.

Au cours des allergies alimentaires IgE-médiées, une augmentation des taux des IgE sériques engendre une série de réactions aboutissant à la libération de nombreux médiateurs chimiques et par conséquent la manifestation d'un ou plusieurs symptômes qui peuvent varier d'une simple urticaire à une anaphylaxie systémique généralisée affectant plusieurs organes et dans les cas les plus graves : la mort. En effet l'agrégation des IgE sur un mastocyte par un allergène active de nombreuses voies de signalisation à partir des chaînes de signalisation du récepteur Fc de l'IgE (Fc ϵ RI), ces dernières stimulent la libération du contenu des granules des mastocytes (des amines telles que l'histamine), la formation des médiateurs lipidiques (prostaglandines et leucotriènes) et la synthèse de diverses cytokines. Ces médiateurs stimulent les réactions de l'hypersensibilité immédiate (Sharma et al., 2015).

Dans cette partie du travail nous avons évalué l'effet potentiellement préventif des AGPI contre la survenue d'une anaphylaxie systémique provoquée par un challenge *in vivo* à l'allergène sensibilisant. L'anaphylaxie systémique peut être évaluée expérimentalement par la mesure de la température corporelle et l'observation des signes cliniques; dans notre étude, ces évaluations sont appuyées par la mesure des taux de l'histamine plasmatique, un test de la perméabilité vasculaire et le comptage du nombre des mastocytes intestinaux.

Après une provocation *in vivo* à la β -Lg par voie intrapéritonéale, les souris témoins positifs ont manifesté des signes cliniques assez sévères avec un cas de mortalité enregistré, ces signes s'accompagnent avec des baisses de température corporelle. Nos résultats sont concordants avec de nombreuses études; Pablos-Tanarro et al., (2016) ont montré qu'après un challenge par voie orale à l'OVA, les souris de souche C3H/HeOuJ et de souche BALB/c présentaient des signes d'anaphylaxie importants, principalement des difficultés respiratoires, une baisse de l'activité physique et une difficulté à marcher normalement; ils ont aussi constaté que la baisse de température corporelle chez la souche BALB/c n'était significative que si l'allergène est administré par voie intrapéritonéale.

L'anaphylaxie a été associée à une augmentation des taux d'anticorps IgE sériques totales et spécifiques de l'OVA et à une expansion des mastocytes dans les tissus de l'intestin grêle chez des souris BALB/c sensibilisées puis challengées à l'OVA (Noval rivas et al., 2013). Ces auteurs ont réussi à démontrer que le développement des symptômes de l'anaphylaxie systémique est en corrélation positive avec le nombre des mastocytes intestinaux. Dans notre étude, ce nombre a significativement augmenté chez les souris témoins positifs.

Dans un modèle animal de l'allergie alimentaire, des augmentations parallèles du nombre de mastocytes et du taux d'apparition de diarrhée aiguë après exposition à l'antigène suggèrent fortement l'importance de l'augmentation du nombre de mastocytes dans les tissus intestinaux pour l'induction de l'anaphylaxie induite par voie orale (Brandt et al., 2003). Le rôle des mastocytes dans l'inflammation allergique a été largement étudié (Galli et al., 2008a; Galli et al., 2008b). L'activation des mastocytes et la libération ultérieure des médiateurs pré-stockés jouent un rôle important dans la phase immédiate de la réaction allergique entraînant une vasodilatation, la formation d'un œdème et/ou une bronchoconstriction ce qui explique les difficultés respiratoires chez nos souris.

L'un des médiateurs libérés par les mastocytes est l'histamine; une amine qui augmente fortement la perméabilité vasculaire (Ashina et al., 2015). Nos résultats montrent une augmentation du taux de l'histamine plasmatique chez les souris témoins positifs. Ce résultat corrobore avec les travaux précédents de notre laboratoire (Guendouz et al., 2016).

Dans notre expérimentation, le test de la perméabilité vasculaire au bleu d'Evans s'est avéré positif chez les souris témoins positifs, l'anaphylaxie systémique chez la souris est principalement une conséquence d'une fuite vasculaire, qui provoque une hypotension hypovolémique menant à une hypothermie (Strait et al., 2002; Strait et al., 2003).

En résumé, nos souris sensibilisées à la β -Lg ont manifesté des signes cliniques sévères et une hypothermie après un challenge par cet allergène; ces signes sont la résultante d'une augmentation des taux des IgE totales et spécifiques ainsi que du nombre des mastocytes jéjunaux, ces derniers activés, sécrètent de l'histamine qui à son tour induit une augmentation de la perméabilité vasculaire responsable d'une hypotension hypovolumique et l'hypothermie.

Les symptômes de l'anaphylaxie systémique à savoir les signes cliniques et température corporelle ainsi que l'ensemble des paramètres impliqués sont diminués chez les souris ayant reçu de l'huile de poisson à différentes doses; cette diminution est le plus constatable chez les souris ayant reçu la dose de 0,6% V/Pds.

L'hypothèse la plus simple à proposer pour expliquer l'effet bénéfique des AGPI n-3 est leur capacité à réduire les taux des IgE totales et anti β -Lg et ainsi la diminution de la sévérité de tous les symptômes qui s'en suivent.

Toutefois, d'autres explications viennent s'ajouter. Du fait que les AGPI n-3 sont des composants des lipides membranaires et ont la capacité d'activer des voies spécifiques de signalisation dans certaines cellules (Salehi et al., 2005; Kimura et al., 2013), et qu'une supplémentation par les AGPI n-3 augmentent ces derniers dans les régions des radeaux lipidiques ainsi que dans le reste des membranes cellulaires; une hypothèse suggère que les AGPI pourraient modifier la signalisation des Fc ϵ RI dans les mastocytes. Wang et al., (2015) ont émis l'hypothèse que les AGPI n-3 pourraient modifier la localisation des récepteurs Fc ϵ RI et des protéines de signalisation associées dans les radeaux lipidiques ce qui induit une inhibition de l'activation des mastocytes via les Fc ϵ RI, entraînant ainsi une diminution mesurable de la fonction cellulaire.

Il a été aussi démontré, qu'en utilisant des cultures de mastocytes MC/9, l'EPA et le DHA non seulement diminuaient les taux de LTB₄, LTC₄ et l'histamine dans les cellules inactivées mais inhibaient également la libération de l'histamine dans les cellules activées par l'antigène (Ishihara et al., 1998). D'après l'étude de Wang et al., (2015); L'EPA a une meilleure capacité d'inhiber la libération de médiateurs ne nécessitant pas de transcription génique (médiateurs préformés et dérivés de lipides), tandis que le DHA est plus efficace pour supprimer la production de cytokines et de chimiokines dépendant de la transcription. Cela suggère que l'EPA pourrait agir en modifiant la fonction de la membrane cellulaire et la localisation des protéines, tandis que le DHA pourrait également influencer les facteurs de transcription et en définitive modifier le transcriptome.

Chez les souris gavées à l'huile de maïs notamment à la dose de 1% et 1,5% V/Pds, les symptômes de l'anaphylaxie systémique sont atténués, de même pour le nombre des mastocytes et les taux de l'histamine plasmatique. Le test de la perméabilité vasculaire s'est avéré négatif. Ces résultats paraissent être contradictoires avec les taux des IgE totales et anti β -Lg relativement proches de ceux des souris témoins positifs; cependant certains auteurs indiquent que l'anaphylaxie systémique chez la souris peut être médiée soit par une voie IgE dépendante qui implique des mastocytes (la voie classique) ou par une voie qui implique les IgG, FcRIII, les macrophages, les basophiles, et le facteur d'activation plaquettaire (la voie alternative) (Finkelman, 2007; Tsujimura et al., 2008).

Bien que les caractéristiques cliniques des deux voies de l'anaphylaxie murine se ressemblent étroitement et que l'anaphylaxie induite par une voie désensibilise l'induction du choc par l'autre voie pendant quelques heures (Strait et al., 2002), il existe des différences importantes. Les voies classiques et alternatives diffèrent par les concentrations en anticorps et en antigènes nécessaires pour induire une anaphylaxie. L'induction de l'hypothermie par la voie alternative nécessite environ 100 fois plus d'antigène que pour induire une réponse similaire par la voie classique (Strait et al., 2006). L'anaphylaxie induite par la voie alternative semble également nécessiter beaucoup plus d'anticorps que celle induite par la voie classique. On peut observer une anaphylaxie induite par les IgE lorsque les taux d'IgE sont si bas que celles-ci, bien que présentes sur les mastocytes, sont indétectables dans le sérum (Fish et al., 2005).

En revanche, des taux relativement élevés d'anticorps IgG sériques sont nécessaires pour induire une anaphylaxie par l'antigène par la voie IgG / FcγRIII / macrophages (Strait et al., 2006). Ces différences sont en accord avec l'affinité beaucoup plus grande de FcεRI pour l'IgE par rapport à FcγRIII pour l'IgG (Kinet et al., 1999; Nimmerjahn et Ravetch, 2005) et avec la liaison directe de l'antigène à l'IgE associée aux mastocytes, alors que les complexes antigènes/IgG se forment probablement dans le sang et la lymphe avant de se lier à FcγRIII.

Ces différences de concentrations requises en antigènes et en anticorps et la tendance à générer des réponses IgG beaucoup plus importantes que les réponses IgE ont des conséquences importantes sur l'induction et la prévention de l'anaphylaxie systémique. Dans une situation où les IgE et les IgG spécifiques de l'antigène sont tous deux présents et qu'il y a plus d'IgG que d'IgE, il est probable que l'antigène rencontre des IgG dans le sang ou la lymphe avant de pouvoir se lier aux IgE associées aux mastocytes (Finkelman, 2007).

En conséquence, les IgG spécifiques de l'antigène peuvent bloquer l'anaphylaxie à médiation IgE. Lorsque les niveaux d'antigène ne suffisent pas pour induire une anaphylaxie à médiation IgG, des taux élevés d'anticorps IgG peuvent empêcher le développement d'une réponse anaphylactique (Strait et al., 2006).

Dans notre étude et en s'appuyant sur cette synthèse et sur le fait que les taux des IgG, bien que diminués comparés aux témoins positifs, restent importants par rapport aux taux des IgE, nous pouvons suggérer que les IgG ont pu bloquer la survenue d'une anaphylaxie systémique chez les souris ayant reçu de l'huile de maïs.

Concernant l'effet sur la réponse anaphylactique locale dans les études *in vitro*, il est bien établi que la provocation allergénique des tissus des animaux sensibilisés provoque une augmentation rapide du courant à travers les tissus en raison de la sécrétion active de chlorure

par les cellules épithéliales intestinales (Perdue et Gall, 1986) et une diminution de la fonction de la barrière épithéliale associée à la perméation des macromolécules à travers les jonctions serrées épithéliales (Berin et al., 1997). En effet, de nombreuses études ont montré que la perméabilité intestinale augmente après une allergie alimentaire (Bischoff et Crowe, 2005) et qu'une défaillance lors de la prise en charge des antigènes par l'intestin n'est pas la cause principale du développement d'une allergie alimentaire, mais plutôt un phénomène secondaire (Heyman, 2001). Dans l'étude de Saidi et al., (1995) la mise en contact de la β -Lg bovine (l'antigène sensibilisant) avec la surface luminale des biopsies jéjunales de nourrissons atteints d'APLV induit une augmentation de la sécrétion de Cl^- et une augmentation de la conductance; un indice de l'intégrité épithéliale.

Dans notre étude, la mise en contact des fragments jéjunaux des souris gavées au PBS puis sensibilisées à la β -Lg avec cet allergène, induit une sécrétion active de Cl^- et une perte de l'intégrité épithéliale, traduisant ainsi une réponse anaphylactique locale. Cette réponse a été inhibée par le gavage préalable des souris avec l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds.

L'effet bénéfique des AGPI n-3 à la dose 0,6% V/Pds démontré dans cette expérience pourrait s'expliquer par leur capacité à réduire la réponse allergique en général et donc ses symptômes et ceci par la diminution des taux des IgE totales et anti- β -Lg.

Ahrens et al., (2012) ont montré qu'une augmentation du nombre de mastocytes intestinaux est associée avec une augmentation de la sévérité de la réponse anaphylactique intestinale. Il a été démontré aussi que les AGPI n-3 provenant de l'huile de poisson ciblent directement les mastocytes, ce qui peut affecter leurs phénotypes ou leurs dégranulations (van den Elsen et al., 2013a). Une fois activés, les mastocytes libèrent de l'histamine parmi d'autres médiateurs, via une cascade de réactions intracellulaires, l'histamine favorise la sécrétion de Cl^- et inhibe l'absorption du NaCl (Kato et Romero, 2011).

Ceci est en concordance avec nos résultats, puisque le gavage à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds a diminué significativement le nombre des mastocytes jéjunaux et les taux d'histamine plasmatique.

La diminution non significative des valeurs de l'Isc observée chez les souris traitées avec des doses plus élevées d'AGPI n-3 (1%, 1,5% V/Pds) par rapport au groupe témoin positif suggère que l'augmentation de la dose d'AGPI n-3 ne correspond pas nécessairement à une réponse anaphylactique intestinale diminuée, ce résultat est en corrélation avec une diminution qui reste aussi statistiquement insignifiante des taux des IgE anti β -Lg, du nombre des mastocytes jéjunaux et des taux d'histamine plasmatique, en effet plus la dose est augmentée, plus les valeurs de ces paramètres se rapprochaient de ceux des témoins positifs.

Un tel résultat peut s'expliquer par la variabilité des réponses physiologiques observées chez les souris du même groupe. Broughton et al., (1997) ont comparé les effets de l'huile de poisson à «faible» dose et à «forte» dose chez des adultes asthmatiques; une ingestion élevée d'AGPI n-3 a amélioré la fonction pulmonaire chez plus de 40% des sujets, mais certains patients n'ont pas répondu à l'apport élevé en AGPI n-3 qui, dans certains cas, a aggravé la fonction respiratoire. Cette étude suggère qu'il existe des sujets qui répondent positivement à l'intervention d'huile de poisson et des sujets dont la réponse peut être aggravée par une telle intervention.

Les souris gavées aux trois doses d'huile de poisson ont montré une amélioration de l'intégrité épithéliale représentée par une diminution significative des valeurs de la conductance comparée au groupe témoin positif. Cet effet peut être attribué aux propriétés anti inflammatoires des AGPI n-3. L'étude de Shin et al., (2017) a montré que la réduction du rapport alimentaire en AGPI n-6 en faveur d'AGPI n-3 atténuait les indices inflammatoires et maintenait l'intégrité des jonctions serrées épithéliale chez les porcs sevrés et logés dans de mauvaises conditions sanitaires.

Les propriétés anti-inflammatoires des AGPI n-3 ont été bien établies et leur capacité à réduire les dommages aux muqueuses a été démontrée dans plusieurs études (Koppelman et al., 2013; Yates et al., 2014). En outre, les AGPI n-3, EPA et DHA modifient l'environnement lipidique dans les microdomaines des jonctions serrées et empêchent la redistribution des occludines et ZO-1(Zonula occludens-1) (Li et al., 2008) qui sont des protéines importantes dans la régulation de la fonction de la barrière intestinale (Mitic et al., 2000). Des résultats similaires ont été démontrés par Beguin et al., (2013), qui en utilisant un modèle de cellules intestinales cultivées *in vitro* avec des AGPI n-3 et exposées à des stimuli inflammatoires, ont montré que le DHA empêchait la redistribution de l'occludine et de ZO-1. Ces effets ont également été observés par Li et al., (2014).

Chez les souris gavées avec différentes doses d'huile de maïs (0,6%, 1% et 1,5% V/Pds), et de même que pour les réponses systémiques, nous avons anticipé chez ces souris la présence d'une réponse anaphylactique locale similaire à celle observée chez les souris témoins positifs du fait que les AGPI n-6 sont les précurseurs de l'ARA lui-même précurseur de prostaglandine PGE2 au profil pro-inflammatoire et qui joue un rôle essentiel dans l'inflammation allergique (De Matos et al., 2012).

Cependant, nous avons enregistré des valeurs d'Isc et de conductance diminuées traduisant ainsi une réponse anaphylactique intestinale relativement atténuée comparée aux témoins positifs. Toutefois cette diminution reste statistiquement non significative. Nos

résultats sont soutenus par l'étude de Willemsen et al., (2008) qui ont démontré que les AGPI n-6 (l'acide γ -linolénique; GLA, l'acide dihomog- γ -linolénique; DGLA et l'ARA) peuvent soutenir la résistance tissulaire en améliorant l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale *in vitro*, ces acides gras ont amélioré la perméabilité paracellulaire après stimulation de l'épithélium avec la cytokine IL-4 associée à l'allergie, Les AGPI à longues chaînes (AGPI-LC), en particulier, se sont avérés plus efficaces. Ces données confirment le rôle bénéfique des AGPI-LC dans l'amélioration de l'intégrité de l'intestin, contribuant ainsi à la protection contre les infections et les maladies allergiques.

De plus, l'huile de maïs est riche en vitamine E; un puissant antioxydant (St-Onge et Travers, 2016), l'étude de Grar et al., (2015) a mis en évidence que le β -carotène (BC) et la vitamine E (Vit E) régulent tous deux le transport ionique épithélial, mais que seules les souris supplémentées par la Vit E ont présenté une conductance (ΔG) tissulaire diminuée, indiquant une protection contre l'augmentation de la perméabilité épithéliale induite par la β -Lg.

En addition à ces données, le nombre de mastocytes intestinaux et les taux d'histamine relativement diminués pourraient expliquer en partie l'atténuation de la réponse anaphylactique locale.

L'analyse histologique des jéjunums a permis d'évaluer l'effet protecteur des AGPI contre les altérations tissulaires provoquées par l'agent sensibilisant. Ces altérations se résument principalement chez les souris témoins positifs par une atrophie villositaire et une hyperplasie des cryptes. Ce résultat concorde avec ceux de Addou et al., (2004); Mehedi et al., (2007); Negaoui et al., (2009); Dib et al., (2014); Guendouz et al., (2017).

L'amélioration de l'architecture intestinale soutenue par l'augmentation des hauteurs villositaires observée chez tous les groupes expérimentaux concorde avec plusieurs études. Dans l'étude de Generoso et al., (2015), des souris BALB/c mâles présentaient une rupture de la muqueuse iléale avec une infiltration cellulaire accrue dans la lamina propria et une réduction du rapport villosités/cryptes, 72 h après une injection intrapéritonéale du 5-fluorouracile (5-FU: médicament pouvant induire une mucite). Cependant, les souris injectées avec du 5-FU et nourries avec un régime riche en AGPI n-3 ont montré une diminution de l'inflammation des muqueuses et un maintien de la longueur des villosités et des cryptes.

Basé sur l'étude de Willemsen et al., (2008), l'effet de l'huile de maïs pourrait être dû en partie à l'effet des AGPI-LC de la série n-6. De plus, une étude chez les rats a montré que les huiles végétales, y compris l'huile de maïs, préviennent les dommages oxydatifs au niveau

gastrique et renforcent les effets anti-inflammatoires de l'administration d'indométacine (Odabasoglu et al., 2008).

Dans la dernière partie de notre travail, nous avons évalué les effets des AGPI n-3 et n-6 sur la croissance pondérale, le profil lipidique sérique et la structure histologique du foie. Nous avons constaté que le gavage des souris par les huiles contenant ces AGPI affectait ces deux derniers paramètres sans pour autant affecter la croissance pondérale en comparaison avec les souris gavées au PBS.

Après 15 jours de gavage à l'huile de poisson à différentes doses, nous avons enregistré des taux significativement bas du cholestérol total, des triglycérides, des LDL-cholestérol et des HDL-cholestérol, ce qui confirme l'effet hypolipidémiant des AGPI n-3.

De la même manière, Chang et al., (2009) ont constaté une hypolipidémie après une supplémentation de souris femelles BALB/c par un régime contenant 5% de l'huile de périlla riche en AGPI n-3 et ceci par la réduction des taux des TG, CT, HDL-C et des LDL-C, d'après l'étude de Kim et Choi, (2001), cette huile exerçait un effet similaire à celui de l'huile de poisson en réduisant le taux des TG plasmatique postprandial et le taux de CT chez les rats Sprague-Dawley mâles.

La capacité des AGPI n-3 à diminuer les taux des TG a été démontrée dans plusieurs méta-analyses (British Nutrition Foundation, 1992; Hartweg et al., 2009), cependant leurs effets sur les autres paramètres restent inconsistants. Dans une méta-analyse menée entre 1966 et 2008 sur 1533 participants, la supplémentation avec 2,4 g/jour d'AGPI n-3 pendant 24 semaines réduisait de 7% le taux des TG, augmentait de 3% le taux des LDL-C et n'affectait pas le taux des HDL-C. l'étude JELIS (Japan EPA Lipid Intervention Study) et l'étude GISSI-Prevenzione (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico) ont montré que 1 à 2 g par jour d'acides gras oméga-3 a baissé les taux de TG de 3 à 9%, cependant, il n'y avait pas de changement significatif sur les taux de CT, de LDL-C ou de HDL-C.

En concordance avec nos résultats, Hegsted et al., (1965) et Keys et al., (1957) ont montré qu'un régime riche AGPI réduit le taux du cholestérol sérique. Les AGPI particulièrement le DHA, régulent l'expression des gènes de SREBP (sterol regulatory element-binding protein) (Jump, 2008; Xu et al., 1999); une famille de protéines de liaison aux éléments régulateurs des stérols qui lorsque les taux de cholestérol intracellulaires sont bas, elle favorise l'expression des gènes pour la synthèse des récepteurs du cholestérol et des LDL ce qui élimine le cholestérol de la circulation.

Le gavage à l'huile de maïs a induit lui aussi une hypolipidémie. Maki et al., 2015 ont comparé une consommation de produits contenant de l'huile de maïs avec des produits contenant de l'huile d'olive extra vierge, l'huile de maïs a entraîné des réductions beaucoup plus importantes du LDL-C (27,4%) et du cholestérol total (26,4%) mais a augmenté les taux des TG, une augmentation qui reste inférieure à celle induite par l'huile d'olive, par ailleurs les taux des HDL-C n'ont pas été affectés.

Il est bien admis que les AGPI n-6, et en particulier l'acide linoléique, ont un effet hypocholestérolémiant (St-Onge et Travers, 2016). Des études ont montré que remplacer les glucides et les acides gras saturés (AGS) par des AGPI réduisait les taux des LDL-C et que l'acide linoléique était décrit comme le nutriment le plus puissant pour réduire le cholestérol (Sacks et Campos, 2006). Une méta-analyse de 60 essais a montré que la substitution des glucides par des AGPI n-6 était un facteur prédictif de la plus grande réduction du cholestérol total par rapport au HDL-C et au LDL-C comparés aux autres acides gras (Mensink et al., 2003). Une autre méta-analyse de 72 essais a montré que la substitution des AGS par des AGPI réduisait considérablement le CT et les LDL-C (Hodson et al., 2001).

Le poids relatif du foie dans notre étude a été significativement diminué chez tous les groupes expérimentaux comparés aux témoins, ceci est en accord avec l'étude de Chang et al., (2009) qui ont trouvé que l'huile de périlla riche en AGPI n-3, qu'elle soit administrée seule ou avec de l'huile de maïs a significativement réduit le poids relatif du foie de 11,2% chez des souris BALB/c. Chez des rats nourris par un régime riche en AGPI n-3 (huile de poisson), les taux des triglycérides et du cholestérol ont été remarquablement diminués cependant le poids relatif du foie ne semble pas être affecté par cette supplémentation (Haimeur et al., 2019).

Quant à la structure histologique du foie, chez la majorité des souris expérimentales cette structure ne présentait pas d'anomalies, cependant il est de notre devoir de mentionner quelques anomalies observées chez certaines souris telles que la présence d'une stéatose hépatique chez les souris gavées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% et 1% V/Pds et une dégénérescence cellulaire hydropique chez les souris gavées à l'huile de maïs à la dose de 0,6% V/Pds.

Ces anomalies peuvent très bien être des réponses physiologiques individuelles qui ne reflètent pas vraiment un effet néfaste des AGPI sur la structure histologique du foie. Dans notre étude, seul le profil lipidique sérique a été exploré. A cet égard, nous ne pouvons expliquer ces résultats vu que la stéatose hépatique semble étroitement liée à la résistance à l'insuline et au syndrome métabolique.

Conclusions et Perspectives

Les acides gras polyinsaturés sont susceptibles de moduler la réponse immunitaire ce qui a suscité un intérêt particulier quant à leurs effets sur les allergies alimentaires IgE-médiée. Cette étude a été menée dans le but d'évaluer l'effet d'une supplémentation en AGPI de la série n-3 et de la série n-6 dans la prévention de l'allergie aux protéines du lait de vache chez un modèle animal.

Dans une première partie de l'étude, nous avons démontré l'effet de différentes doses d'AGPI n-3 et n-6 contenus respectivement dans l'huile de poisson et l'huile de maïs sur la réponse antigénique et allergénique vis-à-vis de la β -lactoglobuline ainsi que sur les réponses anaphylactiques systémique et intestinale secondaires à la sensibilisation à cette protéine allergisante. La production diminuée des anticorps sériques IgG anti β -Lg chez toutes les souris ayant reçu des AGPI traduit une réponse antigénique réduite, cependant la réponse allergénique n'a été diminuée que chez les souris prétraitées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds avec des taux d'IgE totales et anti β -Lg significativement réduits et celles prétraitées à l'huile de maïs à la dose de 1,5% V/Pds avec une faible production d'IgE totales.

Ces mêmes constatations ont été observées pour la réponse anaphylactique systémique après un test de provocation *in vivo*. En effet, le prétraitement à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds et à l'huile de maïs à 1,5% V/Pds a atténué considérablement les signes cliniques, a maintenu une température corporelle plus ou moins constante et a diminué les taux d'histamine plasmatique et le nombre des mastocytes jéjunaux.

Le test de provocation *ex vivo* en chambre de Ussing, a montré des valeurs stables de l'Isc chez les souris prétraitées à l'huile de poisson à la dose de 0,6% V/Pds traduisant ainsi l'absence d'une réponse anaphylactique intestinale. Par ailleurs, les valeurs inchangées de la conductance chez toutes les souris traitées à l'huile de poisson révèlent une amélioration de l'intégrité intestinale. Les résultats de la conductance sont corroborés par une étude histologique montrant une amélioration de l'architecture intestinale. Étonnamment, le prétraitement à l'huile de maïs a lui aussi amélioré les lésions tissulaires au niveau intestinal observées après une sensibilisation à la β -Lg.

Dans une deuxième partie de cette étude, nous avons évalué les effets de cette supplémentation sur le profil lipidique sérique et l'architecture hépatique. Les AGPI n-3 ont permis de diminuer les lipides sériques à savoir les triglycérides, le cholestérol total, le cholestérol-LDL et le cholestérol-HDL ce qui confirme leur effet hypolipémiant. Quelques cas isolés de lésions tissulaires au niveau hépatique, qui ne reflètent pas vraiment un effet néfaste des AGPI, ont été enregistrés.

Nos résultats confirment dans un premier temps, le rôle bénéfique des AGPI n-3 dans la diminution des réponses allergénique vis-à-vis un allergène alimentaire et dans la prévention de l'inflammation des muqueuses intestinales et apportent de nouvelles preuves de leurs effets sur l'inhibition des réponses anaphylactiques locales. Nous avons démontré dans un second temps que les effets des AGPI sont dose dépendants, l'intérêt préventif contre l'APLV étant proportionnel à la dose des AGPI de la série n-6 et inversement proportionnel à la dose des AGPI de la série n-3.

Notre perspective majeure serait de comprendre le mécanisme exact par lequel ces AGPI exercent leurs effets. Cependant il serait d'abord utile de compléter ce travail par un dosage des cytokines Th1/Th2 et l'analyse de l'expression de leurs ARNm ainsi qu'un dosage des AGPI-LC (ARA, EPA et DHA) au niveau sérique et hépatique. Une étude d'une éventuelle prévention *in-utéro* en utilisant la dose qui s'est avérée la plus efficace serait aussi intéressante.

Références Bibliographiques

- **Abdellaziz R, Malki G, Douagui H.** Prévalence des allergies alimentaires chez les enfants et adolescents scolarisés dans la région ouest de la Wilaya d'Alger. *Rev Fr Allergol*, 2014; 54:227–232.
- **Addou S, Brahim AC, Mouhali K, Elgebaly HA, Mosa NM, Kheroua O, Saidi D.** Soy Proteins and Cross-Reactivity. *IJSRK*, 2016; 4:1–8.
- **Addou S, Tomé D, Kheroua O, Saidi D.** Parenteral immunization to β -lactoglobulin modifies the intestinal structure and mucosal electrical parameters in rabbit. *Int Immunopharmacol*, 2004; 4:1559–1563.
- **Ahrens R, Osterfeld H, Wu D, Chen C, Arumugam M, Groschwitz K, Strait R, Wang Y, Finkelman FD, Hogan SP.** Intestinal Mast Cell Levels Control Severity of Oral Antigen-Induced Anaphylaxis in Mice. *Am J Pathol*, 2012; 180:1535–1546.
- **Aoki H, Hisada T, Ishizuka T, Utsugi M, Kawata T, Shimizu Y, Okajima F, Dobashi K, Mori M.** Resolvin E1 dampens airway inflammation and hyper responsiveness in a murine model of asthma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008; 367:509–515.
- **Aoki H, Hisada T, Ishizuka T, Utsugi M, Ono A, Koga Y, Sunaga N, Nakakura T, Okajima F, Dobashi K, Mori M.** Protective effect of resolvin E1 on the development of asthmatic airway inflammation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010; 400:128–33.
- **Arrington JL, Chapkin RS, Switzer KC, Morris JS, McMurray DN.** Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids modulate purified murine T-cell subset activation. *Clin Exp Immunol*, 2001; 125:499–507.
- **Ashina K, Tsubosaka Y, Nakamura T, Omori K, Kobayashi K, Hori M, Ozaki H, Murata T.** Histamine Induces Vascular Hyperpermeability by Increasing Blood Flow and Endothelial Barrier Disruption In Vivo. *PLoS ONE*, 2015; 10:1-16.
- **Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST.** Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100:1751–1756.
- **Bannenberg G, Serhan CN.** Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: An update. *Biochim Biophys Acta*, 2010; 1801:1260–1273.
- **Barcelli U, Glas-Greenwalt P, Pollak VE.** Enhancing effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids on plasma fibrinolysis in normal subjects. *Thromb Res*, 1985; 39:307–12.
- **Barnig C.** Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique Pro-resolving. *Rev Fr Allergol*, 2016; 56:38–42.

- **Barros R, Moreira A, Padrao P, Teixeira VH, Carvalho P, Delgado L, Lopes C, Severo M, Moreira P.** Dietary patterns and asthma prevalence, incidence and control. *Clin Exp Allergy*, 2015; 45:1673–80.
- **Bates D, Cartlidge NEF, French JM, Jackson MJ, Nightingale S, Shaw DA, Smith S, Woo E, Hawkins SA, Millar JHD, Belin J, Conroy DM, Gill SK, Sidey M, Smith AD, Thompson RHS, Zilkha K, Gale M, Sinclair HM.** A double-blind controlled trial of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychia*, 1989; 52:18–22.
- **Beguin P, Errachid A, Larondelle Y, Schneider YJ.** Effect of polyunsaturated fatty acids on tight junctions in a model of the human intestinal epithelium under normal and inflammatory conditions. *Food Funct*, 2013; 4:923–31.
- **Berin MC, Kiliaan AJ, Yang PC, Groot JA, Taminiau JA, Perdue MH.** Rapid transepithelial antigen transport in rat jejunum: impact of sensitization and the hypersensitivity reaction. *Gastroenterology*, 1997; 113:856–64.
- **Berin MC, Sampson HA.** Mucosal Immunology of Food Allergy. *Curr Biol*, 2013; 23:389–400.
- **Bézar J, Blond JP, Bernard A, Clouet P.** The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod Nutr Dev*, 1994; 34:539–68.
- **Bilal S, Haworth O, Wu L, Weylandt KH, Levy BD, Kang JX.** Fat-1 transgenic mice with elevated omega-3 fatty acids are protected from allergic airway responses. *Biochim Biophys Acta*, 2011; 1812:1164–1169.
- **Bischoff S, Crowe SE.** Gastrointestinal food allergy: new insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology*, 2005; 128:1089–113.
- **Bittiner SB, Tucker WFG, Cartwright I, Bleehen SS.** A double-blind, randomised, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis. *Lancet*, 1988; 1:378–380.
- **Bjorneboe A, Soyland E, Bjorneboe GEA, Rajka G, Drevon CA.** Effect of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid in the treatment of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 1987; 117:463–469.
- **Black PN, Sharpe S.** Dietary fat and asthma: is there a connection? *Eur Respir J*, 1997; 10:6–12.
- **Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA.** Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *J Allergy Clin Immunol*, 2007; 119:1016–8.

- **Bonnans C, Fukunaga K, Levy MA, Levy BD.** Lipoxin A(4) regulates bronchial epithelial cell responses to acid injury. *Am J Pathol*, 2006; 168:1064–72.
- **Bouchetara A.** L'allergie aux protéines du lait de vache chez le nourrisson. Epidémiologie clinique et prise en charge. Etude du recrutement de l'Ouest algérien. Thèse de doctorat en sciences médicales. Université Oran 1 Ahmed Benbella, 2018. 289 p.
- **Boughellout H, Benatallah L, Zidoune MN.** Prévalence de l'allergie aux protéines du lait de vache chez des enfants âgés de moins de 3 ans de la ville de Constantine (Algérie). *Rev Fr Allergo*, 2015; 182:1–5.
- **Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, Plaut M, Cooper SF, Fenton MJ, Arshad SH, Bahna SL, Beck LA, Byrd-Bredbenner C, Camargo CA Jr, Eichenfield L, Furuta GT, Hanifin JM, Jones C, Kraft M, Levy BD, Lieberman P, Luccioli S, McCall KM, Schneider LC, Simon RA, Simons FE, Teach SJ, Yawn BP, Schwaninger JM.** Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the NIAID-sponsored expert panel report. *Nutr Res*, 2011; 31:61–75.
- **Brandt EB, Strait RT, Hershko D, Wang Q, Muntel EE, Scribner TA, Zimmermann N, Finkelman FD, Rothenberg ME.** Mast cells are required for experimental oral allergen-induced diarrhea. *J Clin Invest*, 2003; 112:1666–1677.
- **British Nutrition Foundation.** Unsaturated Fatty Acids: Nutritional and Physiological Significance: The Report of the British Nutrition Foundation's Task Force, Chapman & Hall, London, United Kingdom, 1992.
- **Broughton KS, Johnson CS, Pace BK, Liebman M, Kleppinger KM.** Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. *Am J Clin Nutr*, 1997; 65:1011–7.
- **Browning LM, Walker CG, Mander AP, West AL, Madden J, Gambell JM, Young S, Wang L, Jebb SA, Calder PC.** Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids into lipid pools when given as supplements providing doses equivalent to typical intakes of oily fish. *Am J Clin Nutr*, 2012; 96:748–758.
- **Burdge G.** α -Linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004; 7:137–44.

- **Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, Fiocchi A, Chiang W, Beyer K, Wood R, Hourihane J, Jones SM, Lack G, Sampson HA.** ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2012; 129:906–20.
- **Calder PC, Bond JA, Harvey DJ, Gordon S, Newsholme EA.** Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis. *Biochem J*, 1990; 269:807–814.
- **Calder PC, Krauss-Etschmann S, de Jong EC, Dupont C, Frick JS, Frokiaer H, Heinrich J, Garn H, Koletzko S, Lack G, Mattelio G, Renz H, Sangild PT, Schrezenmeir J, Stulnig TM, Thymann T, Wold AE, Koletzko B.** Early nutrition and immunity - progress and perspectives. *Br J Nutr*, 2006; 96:774–90.
- **Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA.** Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr*, 2002; 87:31–48.
- **Calder PC, Grimble RF.** Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur J Clin Nutr*, 2002; 56:14–19.
- **Calder PC.** Dietary modification of inflammation with lipids. *Proc Nutr Soc*, 2002; 61:345–58.
- **Calder PC.** Fatty Acids: Metabolism. *Encyclopedia of Food and Health*. 2015a; 276:632–644.
- **Calder PC.** Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta*, 2015b; 1851:469–484.
- **Calder PC.** N-3 polyunsaturated fatty acids and immune cell function. *Adv Enzyme Regul*, 1997; 37:197–237.
- **Calder PC.** N-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*, 2006; 83:1505–1519.
- **Calder PC.** The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*, 2008; 79:101–108.
- **Calvani M, Alessandri C, Sopo SM, Panetta V, Pingitore G, Tripodi S, Zappalà D, Zicari AM; Lazio Association of Pediatric Allergology (APAL) Study Group.** Consumption of fish, butter and margarine during pregnancy and development of allergic sensitizations in the offspring: role of maternal atopy. *Pediatr Allergy Immunol*, 2006; 17:94–102.

- **Candrea AM, Smaldini PL, Curciarello R, Cauerhff A, Fossati CA, Docena GH, Petruccelli S.** Cross-Reactivity Between the Soybean Protein P34 and Bovine Caseins. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2015; 7:60–68.
- **Caron G, Delneste Y, Roelandts E, Duez C, Bonnefoy JY, Pestel J, Jeannin P.** Histamine polarizes human dendritic cells into Th2 cell-promoting effector dendritic cells. *J Immunol*, 2001; 167:3682–6.
- **Casós K, Zaragoza MC, Zarkovic N, Zarkovic K, Andrisic L, Portero-Otín M, Cacabelos D, Mitjavila MT.** A fish-oil-rich diet reduces vascular oxidative stress in apoE(-/-) mice. *Free Radic Res*, 2010; 44:821–829.
- **Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ.** The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*, 1996; 63:116–22.
- **Chafen JJ, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ, Sundaram V, Paige NM, Towfigh A, Hulley BJ, Shekelle PG.** Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. *JAMA*, 2010; 303:1848–1856.
- **Chang HH, Chen CS, Lin JY.** Dietary perilla oil lowers serum lipids and ovalbumin-specific IgG1, but increases total IgE levels in ovalbumin-challenged mice. *Food Chem Toxicol*, 2009; 47:848–854.
- **Chapkin RS, Akoh CC, Miller CC.** Influence of dietary n–3 fatty acids on macrophage glycerophospholipid molecular species and peptidoleukotriene synthesis. *J Lipid Res*, 1991; 32:1205–1213.
- **Charnock JS.** Antiarrhythmic effects of fish oils. *World Rev Nutr Diet*, 1991; 66:278–291.
- **Chiang N, Serhan CN, Dahlén SE, Drazen JM, Hay DW, Rovati GE, Shimizu T, Yokomizo T, Brink C.** The lipoxin receptor ALX: potent ligand-specific and stereoselective actions in vivo. *Pharmacol Rev*, 2006; 58:463–87.
- **Chouaib S, Welte K, Mertelsmann R, Dupont B.** Prostaglandin E2 acts at two distinct pathways of T lymphocyte activation: inhibition of interleukin 2 production and down-regulation of transferrin receptor expression. *J Immunol*, 1985; 135:1172–9.
- **Cianferoni A, Muraro A.** Food-induced anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2012; 32:165–95.

- **Cinader B, Clandinin MT, Hosokawa T, Robblee NM.** Dietary fat alters the fatty acid composition of lymphocyte membranes and the rate at which suppressor capacity is lost. *Immunol Lett*, 1983; 6:331–7.
- **Davis HR, Bridenstine RT, Vesselinovitch D, Wissler RW.** Fish oil inhibits development of atherosclerosis in rhesus monkeys. *Arteriosclerosis*, 1987; 7:441–9.
- **De Caterina R.** n–3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*, 2011; 364:2439–50.
- **De Matos OG, Amaral SS, Pereira Da Silva PEM, Perez DA, Alvarenga DM, Ferreira AVM, Alvarez-Leite J, Menezes GB, Cara DC.** Dietary supplementation with omega-3-PUFA-rich fish oil reduces signs of food allergy in ovalbumin-sensitized mice. *Clin Dev Immunol*, 2012; 2012 [Article ID 236564, 9 pages].
- **Dearman RJ, Caddick H, Stone S, Kenna JG, Basketter DA, Kimber I.** Immunogenic properties of rapidly digested food proteins following gavage exposure of mice: a comparison of ovalbumin with a potato acid phosphatase preparation. *Food Food Chem Toxicol*, 2002; 40:625–633.
- **Dearman RJ, Kimber I.** Determination of protein allergenicity: studies in mice. *Toxicol Lett*, 2001; 120:181–6.
- **Dib W, Chekroun A, El Ghaish S, Choiset Y, Chobert JM, Haertlé T, Saïdi D, Kheroua O.** Protecting effect of *Enterococcus faecium* on intestinal epithelial structure in Balb/c mice immunized via intraperitoneal way by β -lactoglobulin. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2014; 6:587–590.
- **Draper E, Reynolds CM, Canavan M, Mills KH, Loscher CE, Roche HM.** Omega-3 fatty acids attenuate dendritic cell function via NF- κ B independent of PPAR γ . *J Nutr Biochem*, 2011; 22:784–90.
- **Du Toit G, Sampson HA, Plaut M, Burks AW, Akdis CA, Lack G.** Food allergy: Update on prevention and tolerance. *J Allergy Clin Immunol*, 2018; 141:30–40.
- **Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, Prescott SL.** Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2003a; 112:1178–84.
- **Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, Prescott SL.** Maternal fish oil supplementation in pregnancy reduces interleukin-13 levels in cord blood of infants at high risk of atopy. *Clin Exp Allergy*, 2003b; 33:442–8.

- **Dunstan JA, Roper J, Mitoulas L, Hartmann PE, Simmer K, Prescott SL.** The effect of supplementation with fish oil during pregnancy on breast milk immunoglobulin A, soluble CD14, cytokine levels and fatty acid composition. *Clin Exp Allergy*, 2004; 34:1237–42.
- **Ellwood P, Asher MI, Garcia-Marcos L, Williams H, Keil U, Robertson C, Nagel G, Isaac Phase III Study Group.** Do fast foods cause asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Global findings from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three. *Thorax*, 2013; 68:351–60.
- **Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PC, EJ Schaefer, SM Wolff, CA Dinarello.** The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med*, 1989; 320:265–71.
- **Faber J, Berkhout M, Fiedler U, Avlar M, Witterman BJ, Vos AP, Henke M, Garssen J, van Helvoort A, Otten MH, Arends J.** Rapid EPA and DHA incorporation and reduced PGE2 levels after one week intervention with a medical food in cancer patients receiving radiotherapy, a randomized trial. *Clin Nutr*, 2013; 32:338–345.
- **Fenton J I, Hord N G, Ghosh S, Gursell EA.** Immunomodulation by dietary long chain omega-3 fatty acids and the potential for adverse health outcomes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2013; 89:379–390.
- **Field CJ, van Aerde JE, Goruk S, Clandinin MT.** Effect of feeding a formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids for 14 weeks improves the ex vivo response to a mitogen and reduces the response to a soy protein in infants at low risk for allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2010; 50:661–9.
- **Field CJ, van Aerde JE, Robinson LE, Clandinin MT.** Effect of providing a formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids on immunity in full-term neonates. *Br J Nutr*, 2008; 99:91–9.
- **Finkelman FD.** Anaphylaxis: lessons from mouse models. *J Allergy Clin Immunol*, 2007; 120:506–515.
- **Fiore S, Serhan CN.** Formation of lipoxins and leukotrienes during receptor-mediated interactions of human platelets and recombinant human granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-primed neutrophils. *J Exp Med*, 1990; 172:1451–7.

- **Fish SC, Donaldson DD, Goldman SJ, Williams CM, Kasaian MT.** IgE generation and mast cell effector function in mice deficient in IL-4 and IL-13. *J Immunol*, 2005; 174:7716–24.
- **Flesher RP, Herbert C, Kumar RK.** Resolvin E1 promotes resolution of inflammation in a mouse model of an acute exacerbation of allergic asthma. *Clin Sci (Lond)*, 2014; 126:805–14.
- **Furuhjelm C, Warstedt K, Larsson J, Fredriksson M, Böttcher MF, Fälth-Magnusson K, Duchén K.** Fish oil supplementation in pregnancy and lactation may decrease the risk of infant allergy. *Acta Paediatr*, 2009; 98:1461–7.
- **Galli SJ, Grimbaldston M, Tsai M.** Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nat Rev Immunol*, 2008a; 8:478–486.
- **Galli SJ, Nakae S, Tsai M.** Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol*, 2005; 6:135–42.
- **Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM.** The development of allergic inflammation. *Nature*, 2008b; 454:445–454.
- **Generoso S, Rodrigues N, Trindade L, Paiva N, Cardoso V, Carneiro C, Ferreira AV, Faria AM, Maioli TU.** Dietary supplementation with omega-3 fatty acid attenuates 5-fluorouracil-induced mucositis in mice. *Lipids Health Dis*, 2015; 14:54–64.
- **Geusens P, Wouters C, Nijs J, Jiang Y, Dequeker J.** Long-term effect of omega-3 fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A 12-month, double-blind, controlled study. *Arthritis Rheum*, 1994; 37:824–829.
- **Glass CK, Ogawa S.** Combinatorial roles of nuclear receptors in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*, 2006; 6:44–55.
- **Goldman DW, Pickett WC, Goetzl EJ.** Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B₅ (LTB₅) derived from eicosapentaenoic acid. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983; 117:282–288.
- **Gosset P, Pichavant M, Faveeuw C, Bureau F, Tonnel AB, Trottein F.** Prostaglandin D₂ affects the differentiation and functions of human dendritic cells: impact on the T cell response. *Eur J Immunol*, 2005; 35:1491–500.
- **Grar H, Dib W, El Mecherfi, KE, Negaoui H, Gourine H, Benattia Bekkaddour S, Amier L, Kaddouri H, Kheroua O, Saidi D.** Supplementation with β -carotene or vitamin E protects against increase in anaphylactic response in β -lactoglobulin-sensitized Balb/c mice: ex vivo study. *Eur Food Res Technol*, 2015; 241:393–398.

- **Grar H.** Etude des propriétés immunomodulatrices et antioxydantes du β -carotène et de la vitamine E chez la souris Balb/c rendue allergique à la β -Lactoglobuline. Thèse de doctorat en sciences. Université Oran 1 Ahmed Benbella, 2017; 114p.
- **Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico.** Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet*, 1999; 354:447–55. [Erratum in *Lancet*, 2001; 357:642, 2007; 369:106].
- **Gueck T, Seidel A, Fuhrmann H.** Consequences of eicosapentaenoic acid (N-3) and arachidonic acid (N-6) supplementation on mast cell mediators. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2004; 88:259–65.
- **Guendouz M, Haddi A, Grar H, Kheroua O, Saidi D, Kaddouri H.** Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. *Pharm Biol*, 2017; 55:2145–52.
- **Guesnet P, Alessandri JM, Astorg P, Pifferi F, Lavialle M.** Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *OCL*, 2005; 12:333–43.
- **Hagenlocher Y, Lorentz A.** Immunomodulation of mast cells by nutrients. *Mol. Immunol.*, 2015; 63:25–31.
- **Haimeur A, Meskini N, Mimouni V, Ulmann L, Messaouri H, Pineau-Vincent F, Abouakil N, Tremblin G.** A comparative study on the effect of argan oil versus fish oil on risk factors for cardio-vascular disease in high-fat-fed rats. *Nutrition*, 2019; 57:32–39.
- **Harbige LS, Fisher BA.** Dietary fatty acid modulation of mucosally-induced tolerogenic immune responses. *Proc Nutr Soc*, 2001; 60:449–56.
- **Hartweg J, Farmer AJ, Holman RR, Neil A.** Potential impact of omega-3 treatment on cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Curr Opin Lipidol*, 2009; 20:30–38.
- **Haworth O, Cernadas M, Levy BD.** NK cells are effectors for resolvin E1 in the timely resolution of allergic airway inflammation. *J Immunol*, 2011; 186:6129–35.
- **Haworth O, Cernadas M, Yang R, Serhan CN, Levy BD.** Resolvin E1 regulates interleukin 23, interferon-gamma and lipoxin A4 to promote the resolution of allergic airway inflammation. *Nat Immunol*, 2008; 9:873–9.
- **Healy DA, Wallace FA, Miles EA, Calder PC, Newsholme P.** Effect of low to moderate amounts of dietary fish oil on neutrophil lipid composition and function. *Lipids*, 2000; 35:763–768.

- **Healy DA, Wallace FA, Miles EA, Calder PC, Newsholme P.** The effect of low to moderate amounts of dietary fish oil on neutrophil lipid composition and function. *Lipids*, 2000; 35:763–768.
- **Hegsted DM, Mc Gandy RB, Myers ML, Stare FJ.** Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr*, 1965; 17:281–95.
- **Henkel G, Brown MA.** PU.1 and GATA: components of a mast cell-specific interleukin 4 intronic enhancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91:7737–41.
- **Hennebelle M.** Acides gras polyinsaturés n-3 (AGPI n-3) et prévention des dommages cérébraux induits par un stress chronique. Approche in vivo chez le rat et in vitro sur la lignée de neuroblastomes humains SH_SY5Y et sur culture primaire d'astrocytes. Thèse de doctorat. Université Paris Sud - Paris XI, 2012, 383p.
- **Heyman M, Ducroc R, Desjeux JF, Morgat JL.** Horseradish peroxidase transport across adult rabbit jejunum in vitro. *The Am J Physiol Cell Physiol*, 1982; 242:558–564.
- **Heyman M.** Symposium on 'Dietary influences on mucosal immunity'. How dietary antigens access the mucosal immune system. *Proc Nutr Soc*, 2001; 60:419–26.
- **Hodson L, Skeaff CM, Chisholm WA.** The Effect of Replacing Dietary Saturated Fat with Polyunsaturated or Monounsaturated Fat on Plasma Lipids in Free-Living Young Adults. *Eur J Clin Nutr*, 2001; 55:908–915.
- **Hong S, Gronert K, Devchand P, Moussignac RL, Serhan CN.** Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood and glial cells: autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem*, 2003; 278:14677–14687.
- **Hould R.** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Paris Montréal, Maloine-Dècarie, 1984; 339p.
- **Huang CH, Hou YC, Yeh CL, Yeh SL.** A soybean and fish oil mixture with different n-6/n-3 PUFA ratios modulates the inflammatory reaction in mice with dextran sulfate sodium-induced acute colitis. *Clin Nutr*, 2015; 34:1018–1024.
- **Huang CH, Shen CC, Liang YC, Jan TR.** The probiotic activity of *Lactobacillus murinus* against food allergy. *J Funct Foods*, 2016; 25:231–241.
- **Ibsaine O, Djenouhat K, Lemdjadani N, Berrah H.** Incidence de l'allergie aux protéines du lait de vache au cours de la première année de vie. *Nutr Santé*, 2013 ; 2:9–16.
- **Ishihara K, Murata M, Kaneniwa M, Saito H, Shinohara K, Maeda-Yamamoto M, Kawasaki K, Ooizumi T.** Effect of tetracosahexaenoic acid on the content and release of

histamine, and eicosanoid production in MC/9 mouse mast cell. *Lipids*, 1998; 33:1107–14.

- **Jackson KD, Howie LD, Akinbami LJ.** Trends in allergic conditions among children: United States, 1997-2011. *NCHS Data Brief*, 2013; 121:1–8.
- **Johansson S, Lönnqvist A, Östman S, Sandberg AS, Wold AE.** Long-chain polyunsaturated fatty acids are consumed during allergic inflammation and affect T helper type 1 (Th1)-and Th2-mediated hypersensitivity differently. *Clin Exp Immunol*, 2010; 160:411–9.
- **Jump DB.** N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol*, 2008; 19:242–7.
- **Kankaanpää P, Sutas Y, Salminen S, Lichtenstein A, Isolauri E.** Dietary fatty acids and allergy. *Ann Med*, 1999; 31:282–7.
- **Karra L, Haworth O, Priluck R, Levy BD, Levi-Schaffer F.** Lipoxin B4 promotes the resolution of allergic inflammation in the upper and lower airways of mice. *Mucosal Immunol*, 2015; 8:852–62.
- **Katagiri YU, Kiyokawa N, Fujimoto J.** A role for lipid rafts in immune cell signaling. *Microbiol Immunol*, 2001; 45:1–8.
- **Kato A, Romero MF.** Regulation of electroneutral NaCl absorption by the small intestine. *Annu Rev Physiol*, 2011; 73:261–81.
- **Kaur K, Harris SG, Padilla J, Graf BA, Phipps RP.** Prostaglandin E2 as a modulator of lymphocyte mediated inflammatory and humoral responses. *Adv Exp Med Biol*, 1999; 469:409–12.
- **Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Mackey BE.** Arachidonic acid supplementation enhances synthesis of eicosanoids without suppressing immune functions in young healthy men. *Lipids*, 1998; 33:125–130.
- **Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Schmidt PC, Mackey BE, Kyle D.** Effects of dietary arachidonic acid on human immune response. *Lipids*, 1997; 32:449–456.
- **Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Schmidt PC, Ferretti A, Erickson KL, Yu R, Chandra RK, Mackey BE.** Docosahexaenoic acid ingestion inhibits natural killer cell activity and production of inflammatory mediators in young healthy men. *Lipids*, 1999; 34:317–24.
- **Keys A, Anderson JT, Grande F.** Prediction of serum-cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet*, 1957; 273:959–66.

- **Kheroua O, Tomé D, Marcon-Genty D, Ben Mansour A, Desjeux JF.** Anticholeraic effect and intestinal transepithelial passage of native and soluble formaldehyde-modified caseins. *ESPR*, 1987; 22: 234.
- **Kim HK, Choi H.** Dietary α -linolenic acid lowers postprandial lipid levels with increase of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid contents in rat hepatic membrane. *Lipids*, 2001; 36:1331–1336.
- **Kimura R, Takahashi N, Lin S, Goto T, Murota K, Nakata R, Inoue H, Kawada T.** DHA attenuates postprandial hyperlipidemia via activating PPAR α in intestinal epithelial cells. *J Lipid Res*, 2013; 54:3258–68.
- **Kinet JP.** The high-affinity IgE receptor (Fc ϵ RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol*, 1999; 17:931–72.
- **Kleemann R, Scott FW, Worz-Pagenstert U, Nimal Ratnayake WM, Kolb H.** Impact of dietary fat on Th1/Th2 cytokine gene expression in the pancreas and gut of diabetes-prone BB rats. *J Autoimmun*, 1998; 11:97–103.
- **Kliwer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM.** Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors α and γ . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94:4318–23.
- **Koppelman T, Pollak Y, Mogilner J, Bejar J, Coran AG, Sukhotnik I.** Reversal of severe methotrexate-induced intestinal damage using enteric-3 fatty acids. *Br J Nutr*, 2013; 109:89–98.
- **Korotkova M, Telemo E, Hanson LÅ, Strandvik B.** Modulation of neonatal immunological tolerance to ovalbumin by maternal essential fatty acid intake. *Pediatr Allergy Immunol*, 2004; 15:112–22.
- **Kostadinova R1, Wahli W, Michalik L.** PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation. *Curr Med Chem*, 2005; 12:2995–3009.
- **Kremer JM.** Clinical studies of omega-3 fatty acid supplementation in patients who have rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 1991; 17:391–402.
- **Krishnamoorthy N, Burkett PR, Dalli J, Abdulnour RE, Colas R, Ramon S, Phipps RP, Petasis NA, Kuchroo VK, Serhan CN, Levy BD.** Cutting edge: maresin-1 engages regulatory T cells to limit type 2 innate lymphoid cell activation and promote resolution of lung inflammation. *J Immunol*, 2015; 194:863–7.

- **Kull I, Bergström A, Lilja G, Pershagen G, Wickman M.** Fish consumption during the first year of life and development of allergic diseases during childhood. *Allergy*, 2006; 61:1009–15.
- **Kwan M, Powell DR, Nachman TY, Brown MA.** An intron GATA-binding site regulates chromatin accessibility and is essential for IL-4 gene expression in mast cells. *Eur J Immunol*, 2005; 35:1267–74.
- **Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A.** Dietary long-chain n- 3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79:935–45.
- **Lavialle M, Layé S.** Acides gras polyinsaturés (omega 3, omega 6) et fonctionnement du système nerveux central. *Innov Agron*, 2010; 10:25–42.
- **Lee TH, Menica-Huerta JM, Shih C, Corey EJ, Lewis RA, Austen KF.** Characterization and biologic properties of 5,12-dihydroxy derivatives of eicosapentaenoic acid, including leukotriene B5 and the double lipooxygenase product. *J Biol Chem*, 1984; 259:2383–2389.
- **Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Ravalese J 3rd, Spur BW, Robinson DR, Corey EJ, Lewis RA, Austen KF.** Effects of dietary enrichment with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med*, 1985; 312:1217–1224.
- **Lee-Sarwar K, Kelly RS, Lasky-Su J, Kachroo P, Zeiger RS, O'Connor GT, Sandel MT, Bacharier LB, Beigelman A, Laranjo N, Gold DR, Weiss ST, Litonjua AA.** Dietary and Plasma Polyunsaturated Fatty Acids Are Inversely Associated with Asthma and Atopy in Early Childhood. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2018; 7:529–538.
- **Lemarchal P.** La régulation hormonale et nutritionnelle des désaturases. *Cah Nutr Diet*, 1989; 2:99–106.
- **Levy BD, De Sanctis GT, Devchand PR, Kim E, Ackerman K, Schmidt BA, Szczeklik W, Drazen JM, Serhan CN.** Multi-pronged inhibition of airway hyper-responsiveness and inflammation by lipoxin A(4). *Nat Med*, 2002; 8:1018–23.
- **Levy BD, Kohli P, Gotlinger K, Haworth O, Hong S, Kazani S, Israel E, Haley KJ, Serhan CN.** Protectin D1 is generated in asthma and dampens air- way inflammation and hyper responsiveness. *J Immunol*, 2007; 178: 496–502.

- **Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ.** Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway: biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med*, 1990; 323:645–55.
- **Lewis RA.** Leukotrienes and other lipid mediators of asthma. *Chest*, 1985; 87:5–10.
- **Li Q, Zhang Q, Wang M, Zhao S, Xu G, Li J.** n-3 Polyunsaturated fatty acids prevent disruption of epithelial barrier function induced by pro-inflammatory cytokines. *Mol Immunol*, 2008; 45:1356–65.
- **Li XM, Schofield BH, Huang CK, Kleiner GI, Sampson HA.** A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*, 1999; 103:206–14.
- **Li Y, Wang X, Li N, Li J.** The study of n-3 PUFAs protecting the intestinal barrier in rat HS/R model. *Lipids Health Dis*, 2014; 13:146–155.
- **Lieberman P, Camargo CA Jr, Bohlke K, Jick H, Miller RL, Sheikh A, Simons FE.** Epidemiology of anaphylaxis: findings of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Epidemiology of Anaphylaxis Working Group. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006; 97: 596–602.
- **Lieberman P, Nicklas RA, Oppenheimer J, Kemp SF, Lang DM, Bernstein DI, Bernstein JA, Burks AW, Feldweg AM, Fink JN, Greenberger PA, Golden DB, James JM, Kemp SF, Ledford DK, Lieberman P, Sheffer AL, Bernstein DI, Blessing-Moore J, Cox L, Khan DA, Lang D, Nicklas RA, Oppenheimer J, Portnoy JM, Randolph C, Schuller DE, Spector SL, Tilles S, Wallace D.** The diagnosis and management of anaphylaxis practice parameter: 2010 update. *J Allergy Clin Immunol*, 2010; 126:477–80.
- **Lieberman P.** Epidemiology of anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2008; 8:316–20.
- **Lindblad EB.** Aluminium adjuvants - In retrospect and prospect. *Vaccine*, 2004; 22: 3658–3668.
- **Lukiw WJ, Cui JG, Marcheselli VL, Dodker M, Botkjaer A, Gotlinger K, Serhan CN, Bazan NG.** A role for docosahexaenoic acid acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest*, 2005; 115:2774–2783.
- **Maki KC, Lawless AL, Kelley KM, Kaden VN, Geiger CJ, Dicklin MR.** Corn oil improves the plasma lipoprotein lipid profile compared with extra-virgin olive oil consumption in men and women with elevated cholesterol: Results from a randomized controlled feeding trial. *J Clin Lipidol*, 2015; 9:49–57.

- **Marcheselli VL, Hong S, Lukiw WJ, Tian XH, Gronert K, Musto A, Hardy M, Gimenez JM, Chiang N, Serhan CN, Bazan NG.** Novel docosanoids inhibit brain ischemia- reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J Biol Chem*, 2003; 278:43807–43817.
- **Marcon-Genty D, Tomé D, Dumontier AM, Kheroua O, Desjeux JF.** Permeability of milk protein antigens across the intestinal epithelium in vitro. *Reprod Nutr Dev*, 1989; 29:717–723.
- **Martindale S, McNeill G, Devereux G, Campbell D, Russell G, Seaton A.** Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005; 171:121–8.
- **Masuda A, Hashimoto K, Yokoi T, Doi T, Kodama T, Kume H, Ohno K, Matsuguchi T.** Essential role of GATA transcriptional factors in the activation of mast cells. *J Immunol*, 2007; 178:360–8.
- **McMurray DN, Bonilla DL, Chapkin RS.** n-3 Fatty acids uniquely affect anti-microbial resistance and immune cell plasma membrane organization. *Chem Phys Lipids*, 2011; 164:626–35.
- **Mehedi N, Kaddouri H, Saidi D, Kheroua O.** Effect of oral and parenteral sensitization to bovine β -lactoglobulin on intestinal structure in rats. *Dirasat Med Biol Sci*, 2007; 34:58–66.
- **Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB.** Effects of Dietary Fatty Acids and Carbohydrates on the Ratio of Serum Total to HDL Cholesterol and on Serum Lipids and Apolipoproteins: A Meta-Analysis of 60 Controlled Trials. *Am J Clin Nutr*, 2003; 77:1146–1155.
- **Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, Dinarello CA, Gorbach SL.** Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J Nutr*, 1991; 121:547–55.
- **Miles EA, Aston L, Calder PC.** In vitro effects of eicosanoids derived from different 20-carbon fatty acids on T helper type 1 and T helper type 2 cytokine production in human whole-blood cultures. *Clin Exp Allergy*, 2003; 33:624–32.
- **Miles EA, Calder PC.** Can Early Omega-3 Fatty Acid Exposure Reduce Risk of Childhood Allergic Disease? *Nutrients*, 2017; 9:1–16.

- **Mitic LL, van Itallie CM, Anderson JM.** Molecular physiology and patho-physiology of tight junctions I. Tight junction structure and function: lessons from mutant animals and proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000; 279:250–254.
- **Moinard C.** Immunomodulation par les nutriments. *Nutr Clin Metab*, 2006; 20:79–84.
- **Mukherjee PK, Marcheselli VL, Serhan CN, Bazan NG.** Neuroprotectin D1: a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101:8491–8496.
- **Nagel G, Weinmayr G, Kleiner A, Garcia-Marcos L, Strachan DP, Isaac Phase Two Study Group.** Effect of diet on asthma and allergic sensitisation in the International Study on Allergies and Asthma in Childhood (ISAAC) Phase Two. *Thorax*, 2010; 65:516–22.
- **Negaoui H, Kaddouri H, Kheroua O, Saidi D.** A Model of Intestinal Anaphylaxis in Whey Sensitized Balb/c Mice. *Am J Immunol*, 2009; 5:56–60.
- **Nimmerjahn F, Ravetch JV.** Divergent Immunoglobulin G subclass activity through selective Fc receptor binding. *Science*, 2005; 310:1510–2.
- **Noval Rivas M, Burton OT, Wise P, Zhang YQ, Hobson SA, Garcia Lloret M, Chehoud C, Kuczynski J, DeSantis T, Warrington J, Hyde ER, Petrosino JF, Gerber GK, Bry L, Oettgen HC, Mazmanian SK, Chatila TA.** A microbiota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*, 2013; 131:201–212.
- **Obata T, Nagakura T, Masaki T, Maekawa K, Yamashita K.** Eicosapentaenoic acid inhibits prostaglandin D2 generation by inhibiting cyclo-oxygenase-2 in cultured human mast cells. *Clin Exp Allergy*, 1999; 29:1129–35.
- **Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Halici M, Aygun H, Suleyman H, Cadirci E, Atalay F.** Beneficial Effects of Vegetable Oils (Corn, Olive and Sunflower Oils) and Alpha-Tocopherol on Anti-Inflammatory and Gastrointestinal Profiles of Indomethacin in Rats. *Eur J Pharmacol*, 2008; 591:300–306.
- **Ono E, Taniguchi M, Mita H, Fukutomi Y, Higashi N, Miyazaki E, Kumamoto T, Akiyama K.** Increased production of cysteinyl leukotrienes and prostaglandin D2 during human anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*, 2009; 39:72–80.
- **Pablos-Tanarro A, López-Expósito I, Lozano-Ojalvo D, López-Fandiño R, Molina E.** Antibody Production, Anaphylactic Signs, and T-Cell Responses Induced by Oral

- Sensitization With Ovalbumin in BALB/c and C3H/HeOuJ Mice. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2016; 8:239–245.
- **Palmer DJ, Sullivan T, Gold MS, Prescott SL, Heddle R, Gibson RA, Makrides M.** Effect of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on infants' allergies in first year of life: randomised controlled trial. *BMJ*, 2012; 344: e184.
 - **Park BK, Park S, Park JB, Park MC, Min TS, Jin M.** Omega-3 fatty acids suppress Th2-associated cytokine gene expressions and GATA transcription factors in mast cells. *J Nutr Biochem*, 2013; 24: 868–876.
 - **Peat JK, Mihalshahi S, Kemp AS, Marks GB, Tovey ER, Webb K, Mellis CM, Leeder SR.** Three-year outcomes of dietary fatty acid modification and house dust mite reduction in the Childhood Asthma Prevention Study. *J Allergy Clin Immunol*, 2004; 114:807–13.
 - **Pène J, Rousset F, Brière F, Chrétien I, Bonnefoy JY, Spits H, Yokota T, Arai N, Arai K, Banchereau J, De Vries JE.** IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons γ and α and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85:6880–4.
 - **Perdue MH, Gall DG.** Intestinal anaphylaxis in the rat: jejunal response to in vitro antigen exposure. *Am J Physiol*, 1986; 250:427–31.
 - **Peterson LD, Jeffery NM, Thies F, Sanderson P, Newsholme EA, Calder PC.** Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandin E2 production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity. *Lipids*, 1998; 33:171–180.
 - **Platts-Mills TA.** The allergy epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol*, 2015; 136:3–13.
 - **Prescott SL.** Early-life environmental determinants of allergic diseases and the wider pandemic of inflammatory non communicable diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 2013; 131:23–30.
 - **Priault G, Nagler-Anderson C.** Mucosal immunity and allergic responses: lack of regulation and/or lack of microbial stimulation? *Immunological Reviews*. 2005; 206: 204–218.
 - **Pumphrey RS, Gowland MH.** Further fatal allergic reactions to food in the United Kingdom, 1999-2006. *J Allergy Clin Immunol*, 2007; 119:1018–9.

- **Ram FS, Rowe BH, Kaur B.** Vitamin C supplementation for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004; (3):CD000993.
- **Rancé F, Grandmottet X, Grandjean H.** Prevalence and main characteristics of school children diagnosed with food allergies in France. *Clin Exp Allergy*, 2005; 35:167–72.
- **Rees D, Miles EA, Banerjee T, Wells SJ, Roynette CE, Wahle KWJW, Calder PC.** Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *Am J Clin Nutr*, 2006; 83:331–342.
- **Rockett BD, Franklin A, Harris M, Teague H, Rockett A, Shaikh SR.** Membrane raft organization is more sensitive to disruption by (n-3) PUFA than nonraft organization in EL4 and B cells. *J Nutr*, 2011; 141:1041–1048.
- **Rockett BD, Melton M, Harris M, Bridges LC, Shaikh SR.** Fish oil disrupts MHC class II lateral organization on the B-cell side of the immunological synapse independent of B-T cell adhesion. *J Nutr Biochem*, 2013; 24:1810–1816.
- **Rogério AP, Haworth O, Croze R, Oh SF, Uddin M, Carlo T, Pfeffer MA, Priluck R, Serhan CN, Levy BD.** Resolvin D1 and aspirin-triggered resolvin D1 promote resolution of allergic airways responses. *J Immunol*, 2012; 189: 1983–91.
- **Roper RL, Phipps RP.** Prostaglandin E2 regulation of the immune response. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*, 1994; 22:101-11.
- **Sacks FM, Campos H.** Polyunsaturated Fatty Acids, Inflammation, and Cardiovascular Disease: Time to Widen Our View of the Mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006; 91:398–400.
- **Säfholm J, Manson ML, Bood J, Delin I, Orre AC, Bergman P, Al-Ameri M, Dahlén SE, Adner M.** Prostaglandin E2 inhibits mast cell-dependent bronchoconstriction in human small airways through the E prostanoid subtype 2 receptor. *J Allergy Clin Immunol*, 2015; 136:1232–1239.
- **Saidi D, Heyman M, Khérouta O, Boudraa G, Byslma P, Kerroucha R, Chekroun A, Maragi JA, Touhami M, Desjeux JF.** Jejunal response to β -lactoglobulin in infants with cow's milk allergy. *C R Acad Sci III*, 1995; 318:683–689.
- **Salam MT, Li YF, Langholz B, Gilliland FD.** Maternal fish consumption during pregnancy and risk of early childhood asthma. *J Asthma*, 2005; 42:513–8.
- **Salehi A, Flodgren E, Nilsson NE, Jimenez-Feltstrom J, Miyazaki J, Owman C, Olde B.** Free fatty acid receptor 1 (FFA(1)R/GPR40) and its involvement in fatty-acid-stimulated insulin secretion. *Cell Tissue Res*, 2005; 322:207–15.

- **Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF Jr, Bock SA, Branum A, Brown SG, Camargo CA Jr, Cydulka R, Galli SJ, Gidudu J, Gruchalla RS, Harlor AD Jr, Hepner DL, Lewis LM, Lieberman PL, Metcalfe DD, O'Connor R, Muraro A, Rudman A, Schmitt C, Scherrer D, Simons FE, Thomas S, Wood JP, Decker WW.** Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report—second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *Ann Emerg Med*, 2006; 47:373–80.
- **Sampson HA, Aceves S, Bock SA, James J, Jones S, Lang D, Nadeau K, Nowak-Wegrzyn A, Oppenheimer J, Perry TT, Randolph C, Sicherer SH, Simon RA, Vickery BP, Wood R.** Food allergy: a practice parameter update - 2014. *J Allergy Clin Immunol*, 2014; 134:1016–25.
- **Sampson HA.** Food allergy: past, present and future. *Allergol Int*, 2016; 65:363–369.
- **Sanders TA, Hochland MC.** A comparison of the influence on plasma lipids and platelet function of supplements of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr*, 1983; 50:521–9.
- **Sausenthaler S, Koletzko S, Schaaf B, Lehmann I, Borte M, Herbarth O, von Berg A, Wichmann HE, Heinrich J; LISA Study Group.** Maternal diet during pregnancy in relation to eczema and allergic sensitization in the offspring at 2 y of age. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85:530–7.
- **Schroder PC, Li J, Wong GW, Schaub B.** The rural-urban enigma of allergy: what can we learn from studies around the world? *Pediatr Allergy Immunol*, 2015; 26:95–102.
- **Schultz SG, Zalusky R.** Ion transport in isolated rabbit ileum. I. Short-circuit current and Na fluxes. *J Gen Physiol*, 1964; 47:567–84.
- **Sehgal VN, Rege VL.** An interrogative study of 158 urticaria patients. *Ann Allergy*, 1973; 31:279–83.
- **Serhan CN, Chiang N, van Dyke TE.** Resolving inflammation: Dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol*, 2008; 8:349–361.
- **Serhan CN, Chiang N.** Resolution phase lipid mediators of inflammation: Agonists of resolution. *Curr Opin Pharmacol*, 2013; 13:632–640.
- **Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, Lu Y, Siegelman J, Baer T, Yang R, Colgan SP, Petasis NA.** Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J Immunol*, 2006; 176:1848–1859.

- **Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B.** Lipoxins: novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984; 81:5335–9.
- **Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, Moussignac RL.** Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter pro-inflammation signals. *J Exp Med*, 2002; 196:1025–1037.
- **Serhan CN, Yang R, Martinod K, Kasuga K, Pillai PS, Porter TF, Oh SF, Spite M.** Maresins: novel macrophage mediators with potents anti-inflammatory and pro-resolving actions. *J Exp Med*, 2009; 206:15–23.
- **Serhan CN.** Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2005; 8:115–21.
- **Serhan CN.** Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti- inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*; 2007; 25:101–37.
- **Shaikh SR, Edidin M.** Polyunsaturated fatty acids and membrane organization: elucidating mechanisms to balance immunotherapy and susceptibility to infection. *Chem Phys Lipids*, 2008; 153:24–33.
- **Shaikh SR, Edidin M.** Polyunsaturated fatty acids, membrane organization, T cells, and antigen presentation. *Am J Clin Nutr*, 2006; 84:1277–1289.
- **Sharma H, Bansil S, Uygungil B.** Signs and Symptoms of Food Allergy and Food-Induced Anaphylaxis. *Pediatr Clin North Am*, 2015; 62:1377–1392.
- **Shin TK, Yi YJ, Kim JC, Pluske JR, Cho HM, Wickramasuriya SS, Kima E, Lee SM, Heo JM.** Reducing the dietary omega-6 to omega-polyunsaturated fatty acid ratio attenuated inflammatory indices and sustained epithelial tight junction integrity in weaner pigs housed in a poor sanitation condition. *Anim Feed Sci Technol*, 2017; 234:312–20.
- **Sicherer SH, Sampson HA.** Food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2010; 125:116– 125.
- **Sicherer SH, Sampson HA.** Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 2014; 133:291–307.
- **Sicherer SH.** Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2011; 127:594–602.
- **Sierra S, Lara-Villoslada F, Comalada M, Olivares M, Xaus J.** Dietary fish oil N-3 fatty acids increase regulatory cytokine production and exert anti-inflammatory effects in two murine models of inflammation. *Lipids*, 2006; 41:1115–25.

- **Sijben JWC, Calder PC.** Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proc Nutr Soc*, 2007; 66:237–259.
- **Simons FE.** Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*, 2010; 125:161–81.
- **Simopoulos AP.** The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 2002; 56:365–79.
- **Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, Wood RA.** The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2007; 120:1172–7.
- **Sperling RI, Benincaso AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR.** Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J Clin Invest*, 1993; 9:651–60.
- **Sprecher H.** Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. *Biochim Biophys Acta*, 2000; 1486:219–31.
- **Staels B, Fruchart J.** Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Diabetes*, 2005; 54:2460–70.
- **Stelekti E, Orinska Z, Bulfone-Paus S.** Mast cells in allergy: innate instructors of adaptive responses. *Immunobiology*, 2007; 212:505–19.
- **St-Onge MP, Travers A.** Fatty Acids in Corn Oil: Role in Heart Disease Prevention. *Handbook of Lipids in Human Function: Fatty acids*, 2016; 6:131-140.
- **Strait RT, Morris SC, Finkelman FD.** IgG Blocking antibodies inhibit IgE-mediated anaphylaxis in vivo through both antigen interception and FcγRIIb cross-linking. *J Clin Invest*, 2006; 116:833–41.
- **Strait RT, Morris SC, Smiley K, Urban JF Jr, Finkelman FD.** IL-4 exacerbates anaphylaxis. *J Immunol*, 2003; 170:3835–3842.
- **Strait RT, Morris SC, Yang M, Qu XW, Finkelman FD.** Pathways of anaphylaxis in the mouse. *J Allergy Clin Immunol*, 2002; 109:658–668.
- **Stulnig TM, Zeyda M.** Immunomodulation by polyunsaturated fatty acids: impact on T-cell signaling. *Lipids*, 2004; 39:1171–5.
- **Thang CL, Boye J, Shi H, Zhao X.** Effects of supplementing different ratios of omega-3 and omega-6 fatty acids in western-style diets on cow's milk protein allergy in a mouse model. *Mol Nutr Food Res*, 2013; 57:2029–2038.
- **Theiner G, Gessner A, Lutz MB.** The mast cell mediator PGD₂ suppresses IL-12 release by dendritic cells leading to Th2 polarized immune responses in vivo. *Immunobiology*, 2006; 211:463–72.

- **Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, Calder PC.** Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids*, 2001a; 36:1183–1193.
- **Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC.** Dietary supplementation with gamma-linolenic acid or fish oil decreases T lymphocyte proliferation in healthy older humans. *J Nutr*, 2001b; 131:1918–1927.
- **Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC.** Dietary supplementation with eicosapentaenoic acid, but not with other long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids, decreases natural killer cell activity in healthy subjects aged >55 y. *Am J Clin Nutr*, 2001c; 73:539–548.
- **Tilley SL, Coffman TM, Koller BH.** Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest*, 2001; 108: 15–23.
- **Tordesillas L, Berin MC, Sampson HA.** Immunology of Food Allergy. *Immunity*, 2017; 47:23–50.
- **Trak-Fellermeier MA, Brasche S, Winkler G, Koletzko B, Heinrich J.** Food and fatty acid intake and atopic disease in adults. *Eur Respir J*, 2004; 23:575–82.
- **Trebbles TM, Wootton SA, Miles EA, Mullee M, Arden NK, Ballinger AB, Stroud MA, Burdge GC, Calder PC.** Prostaglandin E2 production and T cell function after fish-oil supplementation: response to antioxidant cosupplementation. *Am J Clin Nutr*, 2003; 78:376–82.
- **Triggiani M, Connell TR, Chilton FH.** Evidence that increasing the cellular content of eicosapentaenoic acid does not reduce the biosynthesis of platelet-activating factor. *J Immunol*, 1990; 145:2241–8.
- **Tsujimura Y, Obata K, Mukai K, Shindou H, Yoshida M, Nishikado H, Kawano Y, Minegishi Y, Shimizu T, Karasuyama H.** Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-G-mediated but not immunoglobulin-E-mediated systemic anaphylaxis. *Immunity*, 2008; 28:581–589.
- **Ussing HH, Zerahn K.** Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuit isolated frog skin. *Acta Physiol Scand*, 1951; 25:110–127.
- **van den Elsen L, Garssen J, Willemsen L.** Long Chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in the Prevention of Allergic and Cardiovascular Disease. *Curr Pharm Des*, 2012; 18:2375–2392.

- **van den Elsen LWJ, Nusse Y, Balvers M, Redegeld FA, Knol EF, Garssen J, Willemsen LEM.** n-3 Long-chain PUFA reduce allergy-related mediator release by human mast cells in vitro via inhibition of reactive oxygen species. *Br J Nutr*, 2013a; 109:1821–31.
- **van den Elsen LWJ, van Esch BCAM, Hofman GA, Kant J, van de Heijning BJM, Garssen J, Willemsen LEM.** Dietary long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids prevent allergic sensitization to cow's milk protein in mice. *Clin Exp Allergy*, 2013b; 43:798–810.
- **van Haaster CM, Engels W, Lemmens PJ, Hornstra G, van der Vusse GJ.** Formation of prostanoids and hydroxy fatty acids by stimulated peritoneal mast cells: role of the dietary fat type in rat. *Biochim Biophys Acta*, 1993; 1167:147–54.
- **von Schacky C, Kiefl R, Jendraschak E, Kaminski WE.** N-3 fatty acids and cysteinyl-leukotriene formation in humans in vitro, ex vivo and in vivo. *J Lab Clin Med*, 1993; 121:302–9.
- **Wada M, DeLong CJ, Hong YH, Rieke CJ, Song I, Sidhu RS, Yuan C, Warnock M, Schmaier AH, Yokoyama C, Smyth EM, Wilson SJ, FitzGerald GA, Garavito RM, Sui de X, Regan JW, Smith WL.** Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived versus eicosapentaenoic acid-derived substrates and products. *J Biol Chem*, 2007; 282:22254–22266.
- **Wal JM.** Cow's milk proteins/allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2002; 89:3–10.
- **Walker CG, West AL, Browning LM, Madden J, Gambell JM, Jebb SA, Calder PC.** The pattern of fatty acids displaced by EPA and DHA following 12 Months supplementation varies between blood cell and plasma fractions. *Nutrients*, 2015; 7:6281–6293.
- **Wang H, Hao Q, Li QR, Yan XW, Ye S, Li YS, Li N, Li JS.** Omega-3 polyunsaturated fatty acids affect lipopolysaccharide-induced maturation of dendritic cells through mitogen-activated protein kinases p38. *Nutrition*, 2007; 23:474–82.
- **Wang X, Ma DWL, Kang JX, Kulka M.** n-3 Polyunsaturated fatty acids inhibit Fc ϵ receptor I-mediated mast cell activation. *J Nutr Biochem*. 2015; 26:1580–1588.
- **Weatherill AR, Lee JY, Zhao L, Lemay DG, Youn HS, Hwang DH.** Saturated and polyunsaturated fatty acids reciprocally modulate dendritic cell functions mediated through TLR4. *J Immunol*, 2005; 174:5390–7.

- **Webb LM, Lieberman P.** Anaphylaxis: a review of 601 cases. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006; 97:39–43.
- **Weise C, Hilt K, Milovanovic M, Ernst D, Ruhl R, Worm M.** Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by direct interference with STAT6 and NFκB pathway in human B cells. *J Nutr Biochem*, 2011; 22:269–75.
- **Weiss DL, Brown MA.** Regulation of IL-4 production in mast cells: a paradigm for cell-type-specific gene expression. *Immunol Rev*, 2001; 179:35–47.
- **West CE, D’Vaz N, Prescott SL.** Dietary immunomodulatory factors in the development of immune tolerance. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2011; 11:325–333.
- **Willemsen LEM, Koetsier MA, Balvers M, Beermann C, Stahl B, van Tol EAF.** Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. *Eur J Nutr*, 2008; 47:183–91.
- **Willemsen LEM.** Dietary n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in allergy prevention and asthma treatment. *Eur. J. Pharmacol*, 2016; 785:174–186.
- **Xu J, Nakamura MT, Cho HP, Clarke SD.** Sterol regulatory element binding protein-1 expression is suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. *J Biol Chem*, 1999; 274:23577–83.
- **Yaqoob P, Pala HS, Cortina-Borja M, Newsholme EA, Calder PC.** Encapsulated fish oil enriched in α-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. *Eur J Clin Invest*, 2000; 30:260–274.
- **Yaqoob P.** The nutritional significance of lipid rafts. *Annu Rev Nutr*, 2009; 29:257–282.
- **Yates CM, Calder PC, Rainger EdG.** Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. *Pharmacol Ther*, 2014; 141:272–82.
- **Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, Oikawa S, Sasaki J, Hishida H, Itakura H, Kita T, Kitabatake A, Nakaya N, Sakata T, Shimada K, Shirato K; Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators.** Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet* 2007; 369:1090–8.

- **Yu G, Duchen K, Bjorksten B.** Fatty acid composition in colostrum and mature milk from non-atopic and atopic mothers during the first 6 months of lactation. *Acta Paediatr*, 1998; 87:729–36.
- **Zapata-Gonzalez F, Rueda F, Petriz J, Domingo P, Villarroya F, Diaz-Delfin J, de Madariaga MA, Domingo JC.** Human dendritic cell activities are modulated by the omega-3 fatty acid, docosahexaenoic acid, mainly through PPAR (γ): RXR heterodimers: comparison with other polyunsaturated fatty acids. *J Leukoc Biol*, 2008; 84:1172–82.
- **Zellal D, Kaddouri H, Grar H, Belarbi H, Kheroua O, Saidi D.** Allergenic changes in β -lactoglobulin induced by microwave irradiation under different pH conditions. *Food Agric Immunol*, 2011; 22:1–9.
- **Zeyda M, Säemann MD, Stuhlmeier KM, Mascher DG, Nowotny PN, Zlabinger GJ, Waldhäusl W, Stulnig TM.** Polyunsaturated fatty acids block dendritic cell activation and function independently of NF- κ B activation. *J Biol Chem*, 2005; 280: 14293–301.
- **Zhang P, Smith R, Chapkin RS, McMurray DN.** Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids modulate murine Th1/Th2 balance toward the Th2 pole by suppression of Th1 development. *J Nutr*, 2005; 135:1745–51.
- **Zhou C, Ludmila T, Sun N, Wang C, Pu Q, Huang K, Che H.** BALB/c mice can be used to evaluate allergenicity of different food protein extracts. *Food Agric Immunol*, 2016; 27:589–603.

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier le rôle des AGPI dans l'allergie aux protéines du lait de vache (APLV). Des souris BALB/c sont réparties en 6 groupes expérimentaux, un groupe témoin positif et un groupe témoin négatif. Les souris des groupes expérimentaux sont gavées pendant 15 jours soit à l'huile de poisson (riche en AGPI n-3) soit à l'huile de maïs (riche en AGPI n-6) doses de 0,6%, 1% et 1,5% Volume/Poids (V/Pds). Les souris du groupe témoin positif sont gavées au PBS 1/10. Ces souris sont ensuite sensibilisées à la β -lactoglobuline. Les souris du groupe témoin négatif ne reçoivent aucun traitement. L'effet des AGPI est évalué par l'étude des réponses antigénique et allergénique, de la réponse anaphylactique systémique et de la réponse anaphylactique locale. Nos résultats montrent que c'est la plus faible dose des AGPI n-3 qui a l'effet le plus probant sur l'ensemble des paramètres étudiés. Quant aux AGPI n-6, la dose de gavage la plus élevée s'est avérée particulièrement efficace pour la prévention contre une anaphylaxie systémique. Ces résultats nous permettent d'affirmer l'effet bénéfique des AGPI n-3 lors des allergies alimentaires IgE médiées et d'apporter de nouvelles données sur leur capacité à inhiber les réponses anaphylactiques locales.

Mots clés:

AGPI n-3; AGPI n-6; Allergies alimentaires IgE médiées ; APLV; Anaphylaxie systémique; Anaphylaxie locale; Immunomodulation; Huile de poisson; Huile de maïs; Souris BALB/c.