

Impact de l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *Garcinia kola* Haeckel (Clusiaceae) sur l'immunité et le potentiel antioxydant sanguin chez le rat Wistar thermo-stressé

Morabandza C.J.^{1*}, Gombe Assoungou H.¹, Agbonon A.², Abena A.A.¹

¹ Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la Santé Université Marien Ngouabi B.P.69, Brazzaville-Congo

² Département de Physiologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515, Lomé-TOGO

E-mail : cymoras@yahoo.fr; 00 242 05 557 29 49

Mots Clé : *Garcinia kola*, stress, leucocyte, potentiel antioxydant sanguin

Keywords: *Garcinia kola*, stress, leucocyt, blood antioxydant potential

Publication date 28/02/2021, <http://m.elewa.org/Journals/about-japs/>

1 RESUME

Le mésocarpe du fruit de *G. kola* Heckel est très consommé par les populations congolaises pour sa saveur, sa jutosité et ses vertus supposées résoudre les problèmes de fatigue persistantes. Le présent travail a évalué l'effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de ce fruit sur l'immunité chez le rat Wistar. L'impact de l'extrait sur les taux sanguin des lymphocytes, des polynucléaires neutrophiles et des monocytes a été réalisé par numération formule sanguine après frottis sanguin et, celui des TCD4 par immunofluorescence FACS Count. Le potentiel antioxydant sanguin a été évalué par la méthode FRAP. Il ressort qu'aux doses de 400 et 800 mg/kg, l'extrait induit une augmentation significative ($p < 0,001$) des lymphocytes, polynucléaires neutrophiles, des monocytes et ($p < 0,05$) des TCD₄. Aux doses étudiées, l'extrait entraîne une augmentation significative ($p < 0,001$) du potentiel antioxydant sanguin chez le rat. Ces résultats montrent un effet immunostimulateur et antioxydant.

Impact of the aqueous extract of the mesocarp of *Garcinia kola* Heackel (Clusiaceae) fruit on immunity and the blood antioxidant potential at the thermo-stressed Wistar rat

SUMMARY

The mesocarp of *G. kola* fruit is abundantly consumed by the Congolese population for its flavor, juiciness and virtues supposed to solve the problems of persistent fatigue. The present work values the effect of the aqueous extract of the mesocarp of this fruit on immunity of the Wistar rat. The impact of the extract on blood levels of lymphocytes, neutrophils polynuclear and monocytes was achieved by a blood smear count and TCD4 by FACS Count immunofluorescence. The blood antioxidant potential was valued by the FRAP method. It appears that at the doses of 400 and 800 mg/kg, the extract induces a significant increase ($p < 0.001$) in the lymphocytes, the P.N, the monocytes and ($p < 0.05$) of the TCD₄. At the studied doses, the extract causes a significant increase ($p < 0.001$) of P.A.S in rats. These results show an immunostimulant and antioxidant effect.

2 INTRODUCTION

Le stress est un processus psychobiologique qui conduit à diverses pathologies dégénératives, se traduisant biochimiquement par une baisse du potentiel antioxydant du plasma avec surproduction des radicaux libres ayant un effet destructeur irréversible sur les cellules immunitaires (O'Leary et al., 2004 ; Durackova et al., 2008). Ces effets, affectent négativement la réponse immunitaire et, sont à l'origine des immunodéficiences. Cliniquement, ces pathologies possèdent peu de remèdes spécifiques et, le traitement ou la prise en charge des patients avec les traitements anti-cancéreux ou les immunostimulants posent un réel problème de santé publique, non seulement en raison de leur inaccessibilité, mais aussi de leurs effets indésirables sur l'organisme (Blétry et al., 2006). D'où, la nécessité de la recherche des palliatifs accessibles à tous. Une étude récente a montré que les extraits aqueux de *Maprounea africana* Müll (Euphorbiaceae) et *Mitragyna stipulosa* O. Kze (Rubiaceae) deux espèces abondamment utilisées en médecine traditionnelle congolaise présentaient respectivement des effets immunomodulateur et immunostimulant chez la souris (Morabandza et al., 2017) ; une autre étude avec l'extrait aqueux des feuilles de *Lippia multijflora* Moldeke chez le rat a montré des potentialités antioxydatif (Etou

et al., 2016). Avec *Echinacea purpurea* Magnus, il a été révélé une stimulation de la production des leucocytes et de l'interféron gamma dans le sang (Hudson, 2012 ; Storage, 2013). Aussi, d'autres travaux semblent indiquer que, les extraits végétaux stimuleraient la production des monocytes et, moduleraient le fonctionnement du système immunitaire (Middleton, 1996). Ces résultats laissent croire que l'immunité pourrait connaître une amélioration à partir d'extraits végétaux. *G. kola* Heckel est une espèce végétale bien connu pour ses vertus pharmacologiques (Olaleye, 2000 ; Adegbehingbe, 2008). Une étude phytochimique du mésocarpe du fruit de cette espèce a révélé la présence de plusieurs facteurs stimulants des leucocytes notamment les polyphénols, les acides aminés essentiels, les acides gras (oméga 3 et oméga 6) et, les éléments minéraux comme le Zn, Mg, Cu, Se et le Ca (Morabandza et al., 2013). Une autre étude de cet extrait a montré des effets anti-inflammatoire, antimicrobien et antioxydant intéressants (Morabandza et al., 2014) qui laisseraient penser à un éventuel effet stimulant de l'immunité. C'est pourquoi ce travail a été initié dans l'optique d'évaluer l'impact de l'extrait aqueux sur la lignée leucocytaire et le potentiel antioxydant sanguin chez le rat wistar thermo-stressé.

3 MATERIELS ET METHODES

3.1 Matériels

3.1.1 Matériel végétal : Le matériel végétal était constitué du mésocarpe du fruit de *G. kola* Heckel récolté à maturité au village Boya (sous-préfecture de Makoua au Congo-Brazzaville), à environ 672 km de Brazzaville au mois de Septembre 2013.

3.1.2 Matériel animal : Les rats Wistar mâles et femelles de poids compris entre 150 à 180 g élevés à l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Santé (FSSA) ont été utilisés comme matériel animal.

3.2 Méthodes

3.2.2 Préparation de l'extrait : Après récolte, le fruit a été débarrassé de son épicarpe. Puis le mésocarpe découpé en petits fragments à l'aide

d'un couteau, séché pendant 10 jours, sous climatisation à 25°C et réduit en poudre à l'aide d'un mortier en bois. Ensuite 25 g de poudre ont été macérés dans 250 ml d'eau distillée pendant 48 heures. Le macéré obtenu a été filtré trois (3) fois au coton hydrophile et concentré au bain marie thermostat à 55°C.

3.2.3 Impact de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le taux des leucocytes après exposition à l'hypothermie : Trois (3) lots de 5 rats chacun ont constitués et acclimatés pendant 07 jours avec accès à l'eau et à la nourriture. Un premier prélèvement sanguin par voie retro-orbitaire est réalisé à l'aide des micropipettes à hémocrite dans des tubes EDTA et, immédiatement transmis au

Laboratoire Nationale de Santé Publique pour analyse. Après un repos de 3 jours avec accès à l'eau et à la nourriture, les animaux sont laissés à jeun pendant 18 h puis, placés dans un dispositif étroit où, ils sont privés de tous mouvements et, soumis au froid pendant six (6) heures avec intermittence de 1h à 4°C. 18 h après, un second prélèvement est réalisé pour analyse. Cette période est immédiatement suivie d'une période d'administration orale des animaux comme suit : le lot 1 (témoin) administré à 0,5ml/100g d'eau distillée ; les lots 2 et 3 administrés à 400 et 800 mg/kg d'extrait aqueux de *G. kola* pendant 21 jours. Au 15^{ème} et, au 22^{ème} jour, des prélèvements sanguins sont réalisés et analysés. Les taux sanguins de leucocytes, lymphocytes, P.N et monocytes sont évalués par comptage au microscope par la méthode du frottis sanguin.

3.2.4 Impact de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le taux des leucocytes après exposition à l'hyperthermie : Trois (3) lots de 5 rats chacun ont été constitués. Un prélèvement sanguin sans administration orale préalable, est effectué sur chaque lot par voie retro-orbitaire dans des tubes héparinés après anesthésie à l'éther, pour le comptage des leucocytes. Une semaine après, ces lots sont placés quotidiennement dans un four dont la température est maintenue à 42°C pendant 1h (Medina-Ramon *et al.*, 2006). Après 30 mn, s'ensuit l'administration orale de l'extrait comme suit : lot 1 administré à 0,5ml/100g d'eau distillée ; les lots 2 et 3 administrés à 400 et 800 mg/kg d'extrait. Durant le séjour dans le four, les animaux ont accès à l'eau. A la fin de l'exposition à l'hyperthermie, un dernier prélèvement sanguin est réalisé dans les mêmes conditions dans des tubes héparinés pour le comptage des leucocytes.

3.2.5 Impact de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le taux des lymphocytes TCD4 : L'impact de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le taux sanguin de TCD4 a été évalué par la méthode décrite dans le manuel BD FACSCoat System utilisée dans les dosages lymphocytaires des personnes vivant avec le VIH/SIDA. Cette méthode consiste à réaliser la numération des lymphocytes TCD4 par tricolore révélé par

immunofluorescence FACS Count (« Fluorescence activated cell sorting »).

3.2.6 Effet de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le potentiel antioxydant du plasma sanguin : La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a été utilisée pour évaluer l'effet de l'extrait aqueux de *G. kola* Heckel sur le potentiel antioxydant du plasma sanguin (P.A.S). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés des substances (Nair *et al.*, 2007) et, est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). La mesure du potentiel d'oxydation du sérum se fait par celle de la densité optique du sérum sanguin, laquelle densité optique sera traduite en concentration de Fer sérique. La coloration bleue du Fe^{2+} -tripiryridyl-s-triazine (Fe^{2+} -TPTZ) est formée à partir du fer oxydé Fe^{3+} .

3.2.7 Préparation du réactif FRAP et du tampon acétate : Le réactif de FRAP est préparé en mélangeant 25 ml de tampon d'acétate à 300 ml/L et 2,5 ml de la solution TPTZ (10 mmol/l de Fe^{3+} -TPTZ dans 40 mmol/l d'acide chlorhydrique) avec 2,5 ml de Chlorure de Fer ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) à 20 mmol/l ; de sorte que le volume total de la solution de FRAP obtenue soit de 30 ml. Le tampon d'acétate est préparé en mélangeant 3,1g de $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ dans 16 ml de $C_2H_2O_4$. Ce mélange est porté à 1L avec de l'eau distillée.

3.2.8 Préparation du sérum : Un premier prélèvement sanguin par voie retro-orbitaire est réalisé chez les rats des 3 lots avant soumission à l'hyperthermie et, le sérum est recueilli pour la mesure de la densité optique. Deux jours après, ces rats sont placés dans un four dont la température maintenue à 42°C pendant 1h (Medina-Ramon *et al.*, 2006 ; Sharma, 2005) suivie d'un gavage 30 mn après avec 0,5ml/100g d'eau distillée pour le lot 1 ; 400 et 800 mg/kg d'extrait respectivement pour les lots 2 et 3. Pendant une semaine quotidiennement, dans les conditions expérimentales, les animaux ont accès à l'eau. A la fin de l'exposition à l'hyperthermie, un second prélèvement sanguin est réalisé, dans les mêmes conditions 5 minutes après la sortie du four. Le sérum est ensuite

recueilli pour les mesures des densités optiques comme précédemment.

3.2.9 Mesure de l'absorbance du sérum sanguin au spectrophotomètre : Dans une cuve, on introduit 900 μ l du réactif FRAP (préparée ex-temporairement), 30 μ l de sérum et 90 μ l de solution d'eau distillée. Après 10 minutes d'incubation, la densité optique est lue à 593nm. Des différentes concentrations de la solution de

sulfate de Fer ($\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) dans du méthanol ont été utilisées comme standard.

4 Analyse statistique des résultats : L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant le logiciel Statistica7.1. Les résultats exprimés en moyenne affectés de l'erreur standard (Moyenne \pm E.S.M) sont soumis à une analyse de variance à un facteur suivi d'un test de Student-Fischer. La limite de significativité est fixée à $p < 0,05$.

5 RESULTATS

5.1 Effet de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le taux des leucocytes après hypothermie : La figure 1 présente l'effet de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le taux des leucocytes totaux avant et après exposition à l'hypothermie. Le taux de leucocytes est de 4990 cellules/ μ L avant soumission des animaux à l'hypothermie. Après stress (hypothermie), on

observe une diminution significative de ce taux qui passe de 4990 à 2000 cellules/ μ L de sang. Après traitement des animaux à l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* aux doses de 400 et 800 mg/kg, le taux de leucocytes augmente très significativement ($p < 0,001$) par rapport au témoin jusqu'au 22^{ème} jour, passant de 2000 à plus de 6000 cellules/ μ L de sang.

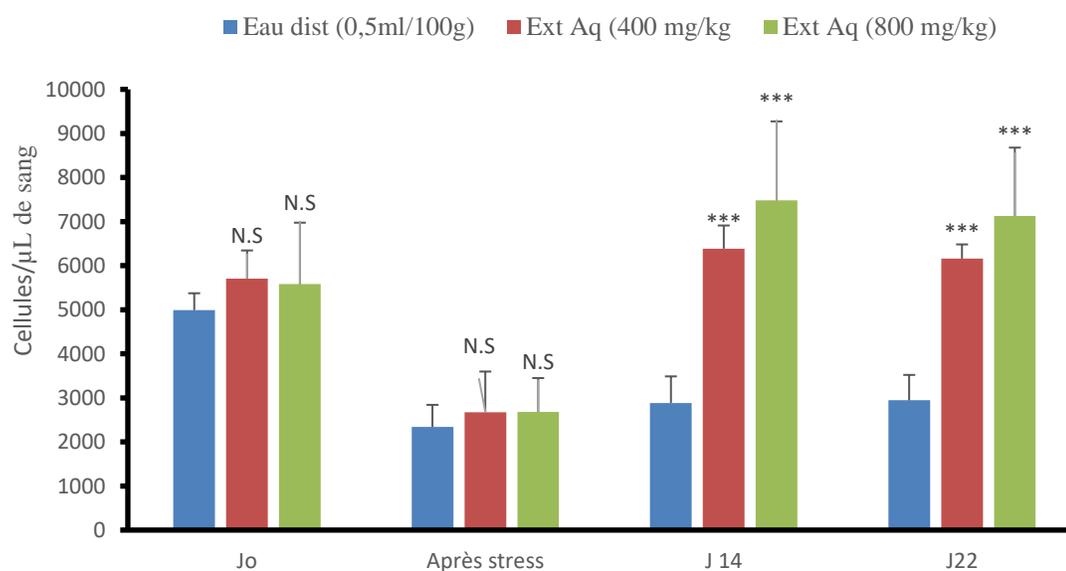


Figure 1 : effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* H (400 et 800 mg/kg) sur le taux de leucocytes Moyenne \pm ESM (***) $p < 0,001$; $n=5$) avant et après induction du stress au froid sur le taux de leucocytes

5.2 Effet de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le taux des lymphocytes totaux : La figure 2 montre l'effet de l'extrait sur le taux des lymphocytes totaux. Cette figure révèle que le taux des lymphocytes totaux est de 3500 cellules/ μ L avant soumission des animaux à l'hypothermie. Cependant, après exposition au froid (hypothermie), ce taux diminue

significativement passant de 3500 à 1500 cellules/ μ L de sang. Après administration de l'extrait aux doses de 400 et 800 mg/kg aux animaux, ce taux augmente très significativement ($p < 0,001$) par rapport au témoin, passant de 1500 à plus de 4000 cellules/ μ L de sang jusqu'au vingt deuxième jour (J22).

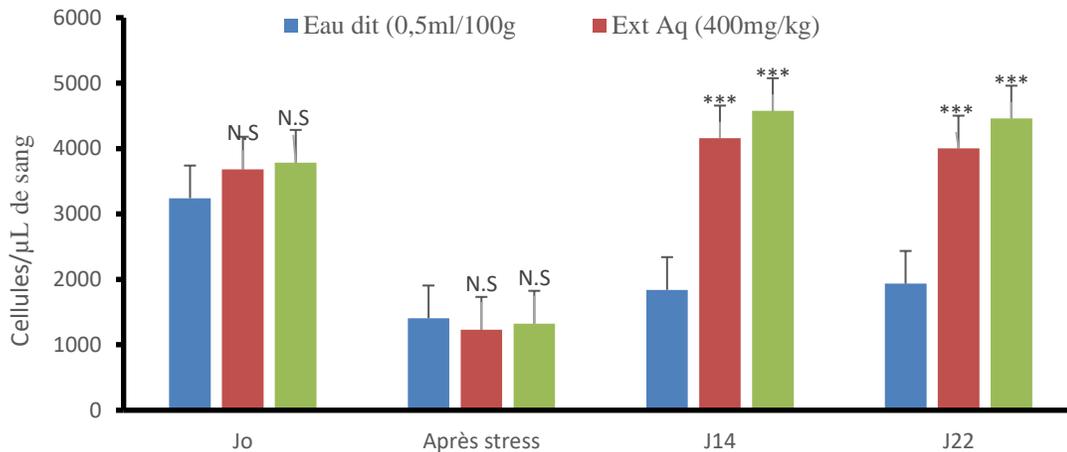


Figure 2 : effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* (400 et 800 mg/kg) sur le taux de lymphocytes. Moyenne \pm ESM (***) $p < 0,001$; $n=5$) avant et après induction du stress au froid

5.3 Effet de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le taux de polynucléaires neutrophiles : Les résultats de l'effet de l'extrait aqueux sur le taux des polynucléaires neutrophiles (P.N) sont présentés dans la figure 3. Avant exposition à l'hypothermie, le taux des P.N est de plus de 1000 cellules/ μ L; après exposition au froid (hypothermie) passe de 1000 à 500 cellules/ μ L

environ après stress. Lorsqu'on traite les animaux avec l'extrait aqueux de *G. kola* aux doses de 400 et 800 mg/kg après induction du stress au froid, on observe une augmentation très significativement ($p < 0,001$) du taux des polynucléaires neutrophiles par rapport au témoin. Ce taux passe de 500 à 1500 cellules/ μ L de sang environ.

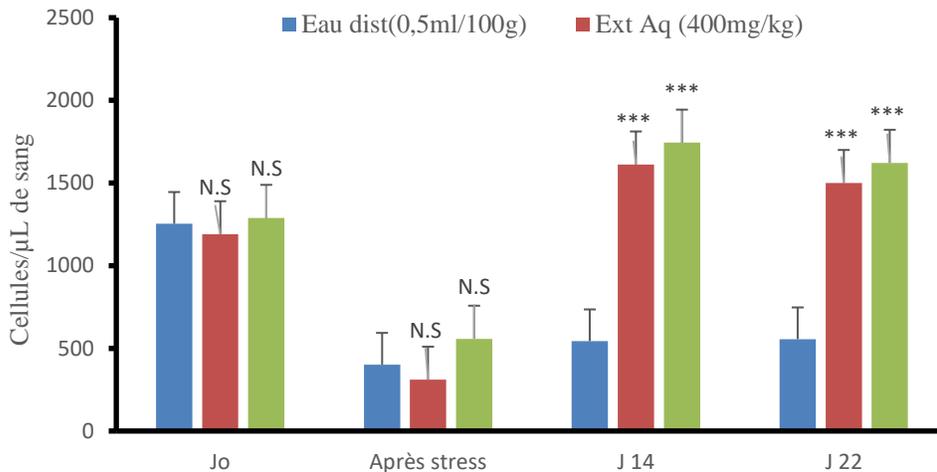


Figure 3 : effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* (400 et 800 mg/kg) sur le taux de P.N. Moyenne \pm ESM (***) $p < 0,001$; $n=5$) avant et après induction du stress au froid

5.4 Effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* sur le taux des monocytes : La figure 4 présente l'effet de l'extrait sur le taux des monocytes aux doses de 400 et 800 mg/kg. La figure suit la même allure que celles avec les leucocytes et les lymphocytes. Le taux de cellules qui avant exposition à

l'hypothermie était de 625 cellules/ μ L passe à 200 cellules/ μ L après induction du stress. Après traitement des animaux, à l'extrait (400 et 800 mg/kg) le taux augmente très significativement ($p < 0,001$) passant de 200 à environ 800 cellules/ μ L par rapport au témoin.

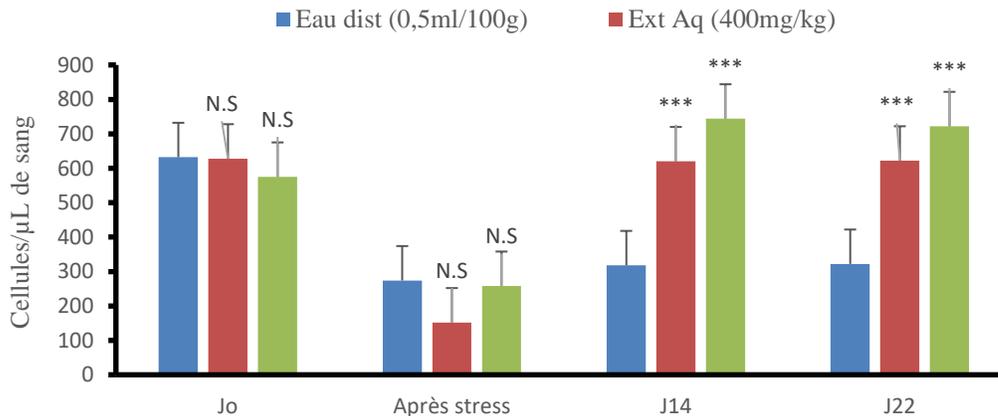


Figure 4 : effet de l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *G. kola* (400 et 800 mg/kg) sur le taux de Monocytes. Moyenne \pm ESM (***) $p < 0,001$; $n=5$) avant et après induction du stress au froid

5.5 Effet de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le taux des leucocytes après hyperthermie : La figure 5 montre l'effet de l'extrait aqueux sur le taux des leucocytes totaux après exposition à l'hyperthermie. Avant hyperthermie, le taux des leucocytes totaux est de 7500 cellules/ μ L de sang. Lorsqu'on soumet les animaux à l'hyperthermie, on observe une diminution du taux de leucocytes qui passe de

7500 à 5000 cellules/ μ L de sang. Cependant lorsqu'on traite les animaux à 400 et 800 mg/kg d'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* Heckel, le taux de leucocytes augmente significativement ($p < 0,01$) passant de 5000 à 8000 cellules/ μ L de sang par rapport au lot témoin ayant reçu 0,5 ml d'eau distillée par 100g de poids corporel.

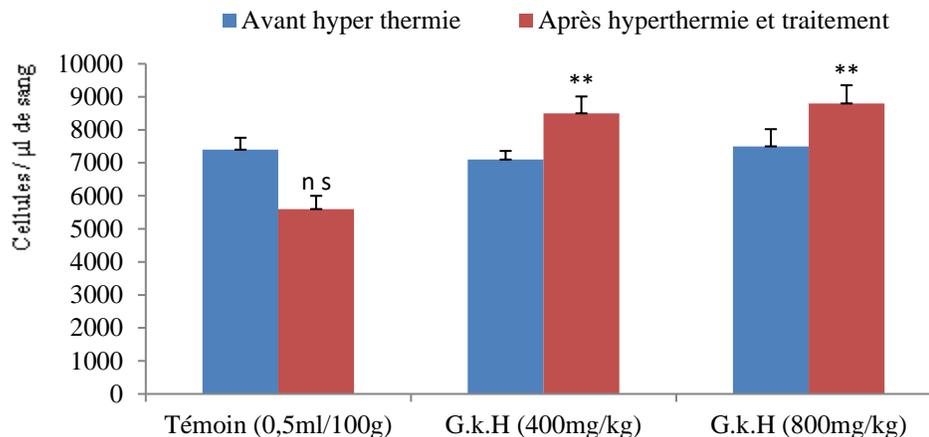


Figure 5: Effet de l'extrait aqueux de *G.kola* H. sur le taux de leucocytes avant et après hyperthermie chez le rat Wistar. Moyenne \pm ESM (** $p < 0,01$; $n=5$)

5.6 Effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* sur le taux des lymphocytes TCD 4 : La figure 6 présente l'effet de l'extrait aqueux de *Garcinia kola* Heckel sur le taux des lymphocytes T CD4. On observe, après 21 jours de traitement des animaux à

l'extrait (400 et 800 mg/kg), une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux des lymphocytes T CD4 dans les lots ayant reçu l'extrait aux doses de 400 et 800 mg/kg respectivement par rapport au témoin ayant reçu 0,5 ml d'eau distillée par 100g de poids corporel.

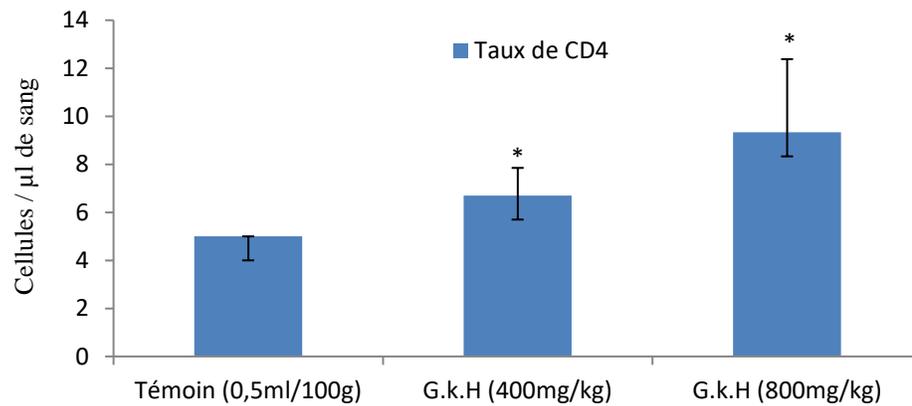


Figure 6 : Effet de l'extrait aqueux de *G.kola* H. sur le taux de lymphocytes T CD4 chez le rat Wistar, Moyenne \pm ESM ($*p < 0,05$; $n=5$)

5.7 Effet de l'extrait du mésocarpe de *G. kola* sur potentiel antioxydant du plasma sanguin : La figure 7 ci-dessous présente l'effet de l'extrait aqueux du mésocarpe de *G. kola* H. sur le potentiel antioxydant sanguin chez le rat Wistar. La figure montre une diminution du potentiel antioxydant chez les animaux du lot 1, traité à 0,5 ml/100g d'eau distillée ; alors qu'une

augmentation très significative ($p < 0,001$) du P.A.S est observée chez les animaux des lots 2 et 3 ayant reçu l'extrait aux doses de 400 et 800 mg/kg respectivement, dans les mêmes conditions expérimentales et après une semaine d'exposition quotidienne à la chaleur, pendant une heure (1h).

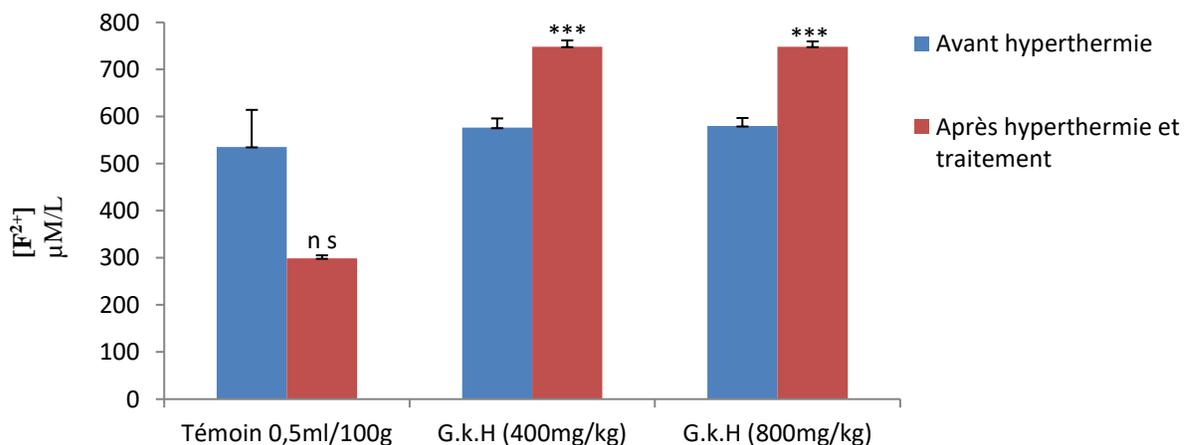


Figure 7 : Impact de l'extrait aqueux de *G. kola* sur le potentiel antioxydant chez le rat Wistar après hyperthermie. Moyenne \pm ESM ($*p < 0,05$; $n=5$)

6 DISCUSSION

Le présent travail recherchait l'impact de l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *G. kola* sur les cellules immunitaires. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *G. kola* aux doses étudiées, augmente significativement ($p < 0,01$) le taux des leucocytes après exposition des animaux à l'hypothermie et à l'hyperthermie par rapport au témoin. On remarque cependant que chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *G. kola*, après hypothermie, l'augmentation est très significative ($p < 0,001$) alors que chez ceux soumis à l'hyperthermie, elle est significative ($p < 0,01$) pendant que le taux des leucocytes diminue chez les animaux traités à l'eau distillée. Cette différence s'explique par rapport au temps de traitement puisque dans l'expérimentation à l'hyperthermie, l'extrait a été administré pendant 7 jours alors qu'il a été de 21 jours avec l'hypothermie. Physiologiquement, lorsque les animaux sont exposés à l'hyperthermie ou à l'hypothermie (stress), on s'attendrait à une diminution du taux de leucocytes puisque les deux facteurs entraînent un dysfonctionnement généralisé des organes (O'Leary *et al.*, 2004 ; Smoyer *et al.*, 2001). Dans cette étude, cependant, les effets du stress sont plus prononcés chez les animaux ayant reçu exclusivement de l'eau distillée (témoins). Leur taux de leucocytes n'augmente pas mais diminue, prouvant que les animaux étaient stressés et, l'observation des animaux des lots témoins révèle un état critique d'agonie. Santoro, (2000) a montré que l'exposition d'un organisme à la chaleur entraîne une déshydratation et génère un stress. Suite aux réactions physiologiques, ce stress, génère dans l'organisme la présence des radicaux libres qui, diminuent le niveau du glutathion sanguin entraînant le dysfonctionnement de la prolifération, de la croissance et la différenciation des cellules immunitaires (Anonyme, 2013). En comparant l'état physique des animaux du lot témoin et ceux des lots traités à l'extrait, on peut penser à un effet à la fois protecteur face aux facteurs stressants et stimulateurs des cellules immunitaires. L'extrait contiendrait des principes actifs qui non seulement protégeraient

les cellules des effets nocifs des radicaux libres produits lors des stress mais aussi activeraient la prolifération des cellules immunitaires. Ces résultats viennent confirmer la présence des différents composés révélés dans l'étude phytochimique de ce mésocarpe (Morabandza *et al.*, 2013). Des résultats similaires avaient été observés avec l'extrait de *Echinacea purpurea* qui augmenterait les taux de leucocytes (Storage, 2013 ; Hudson, 2012) et sur les polyphénols des extraits végétaux qui augmenteraient le taux de monocytes (Sakagami *et al.*, 1995). Afin de révéler un éventuel effet stimulateur, l'effet de l'extrait sur le taux des lymphocytes TCD4 qui, jouent un rôle très important dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire et humorale a été évalué. Les résultats précédents ayant montré une augmentation du taux des lymphocytes totaux, un effet stimulateur devraient augmenter le taux des lymphocytes TCD4. Après 21 jours d'expérimentation, on note une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de lymphocytes TCD4 par rapport au témoin ; confortant ainsi les résultats sur l'augmentation très significative des lymphocytes totaux. Cependant, les valeurs obtenues restent très faibles puisque, les TCD4 devraient représenter environ 60 % du taux de lymphocytes totaux. Ce fait pourrait s'expliquer par la technique utilisée. En effet, la technique d'utilisation des anticorps monoclonaux est spécifique aux échantillons humains alors que ce travail s'est effectué sur des échantillons de rats de type Wistar. Ce qui explique aussi la difficulté de comparaison à d'autres résultats existants. Cependant, par rapport au taux TCD4 obtenus avec les témoins, ces résultats laissent penser à un effet stimulant des lymphocytes TCD4 par conséquent sur le système immunitaire. Cet effet pourrait être dû d'une part aux effets synergiques des composés chimiques précédemment évalués puisque nombre d'entre eux ont des effets sur la prolifération des cellules de la lignée lymphocytaire, d'autre part, à la présence remarquée de nombreux éléments minéraux, en particulier le Magnésium et le Calcium (Morabandza *et al.*, 2013). En effet, une étude a identifié récemment un nouveau maillon de la

voie d'activation des lymphocytes : le Magnesium Transporter protein1 (MAGT1) qui code pour un transporteur membranaire du magnésium (Li *et al.*, 2011). D'après cette étude, l'activation des lymphocytes T serait déclenchée par l'interaction entre le récepteur des lymphocytes T (TCR) et une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) chargée d'un peptide antigénique, exprimée à la surface d'une cellule présentatrice d'antigène (CPA). Cet engagement du TCR entraînerait l'activation des enzymes qui après phosphorylation entraîne une augmentation de la concentration intracellulaire en ion calcium et l'activation de plusieurs facteurs clés d'activation (Casanova *et al.*, 2007). Cette activation du TCR induirait une entrée massive du magnésium et une sortie du calcium dans les lymphocytes T (Abdoud *et al.*, 1985). Le transporteur MAGT1 relayerait à son tour le flux transitoire de magnésium déclenchée par l'activation du récepteur. Cet influx joue un rôle de second messenger dans les lymphocytes T activés via l'activation de l'influx du calcium. Ainsi, l'augmentation de la fonction du transporteur du flux de magnésium entraînerait une augmentation du flux de magnésium dans les lymphocytes T et par conséquent une prolifération des lymphocytes T (Wu *et al.*, 2011). Ce qui semble être le cas dans notre expérimentation puisque les résultats montrent non seulement la présence du calcium et du magnésium à des teneurs acceptables mais aussi une augmentation très significative du taux des lymphocytes totaux et une nette augmentation significative du taux de T CD4 manifestant le récepteur TCR à leur surface membranaire. L'évaluation du potentiel antioxydant sanguin confortent nos investigations. L'observation comportementale des animaux au sortir du four, après exposition à l'hyperthermie expérimentale, révèle qu'ils sont stressés. Cet état devrait se traduire normalement par une diminution du potentiel antioxydant du plasma sanguin des animaux. Cependant, dans notre cas, la diminution est constatée uniquement avec les animaux du lot témoin ayant reçu 0,5 ml/100g d'eau distillée et non avec les animaux des lots

traités à l'extrait de *G. kola* aux doses de 400 et 800 mg/kg. On observe plutôt une augmentation très significative par rapport au témoin. Cela laisse présager un effet antioxydant important dans l'extrait qui augmenterait le potentiel antioxydant des cellules sanguines. Le principal antioxydant des cellules sanguines à même de stimuler les cellules immunitaires étant le glutathion, ce qui suggère que les substances à effet antioxydant présentes dans l'extrait agissent par l'intermédiaire du glutathion. Elles augmenteraient le pouvoir antioxydant du glutathion qui à son tour stimulerait la prolifération des lymphocytes d'où l'augmentation très significative des cellules immunitaires observée. Ces résultats s'accordent avec l'hypothèse selon laquelle les plantes à effet antioxydant auraient aussi des effets immunostimulants (Koudouvo *et al.*, 2006). La présence dans l'extrait non seulement des éléments minéraux tels que le Magnésium, le Zinc, le Manganèse, le Cuivre et le Sélénium réputés avoir des effets antioxydants ; mais aussi des composés phénoliques (flavonoïdes, tanins, anthocyanes), de la vitamine C et, des acides aminés (acide glutamique, glycine) capables d'augmenter le pouvoir antioxydant du glutathion (Gardan, 2010 ; Morabandza *et al.*, 2013). Plusieurs auteurs approuvent aussi que les extraits aqueux, hydro-alcoolique et alcoolique sont le siège des composés phénoliques capteurs des radicaux libres (Vijaya *et al.*, 2001 ; Hennebelle, 2006) et nombres d'entre eux, présentent des effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et immunostimulants (Esimone *et al.*, 2007). Cependant, une analyse critique de ces résultats révèle quelques imperfections ; ils auraient pu être plus intéressants en présence des témoins positifs c'est-à-dire des animaux traités avec des produits de référence. Dans la présente étude, l'effet des extraits n'a été comparé qu'aux témoins négatifs (témoin traité à l'eau distillée), n'ayant pas pu obtenir certains produits de référence afin de mieux apprécier les effets des extraits sur les taux de cellules leucocytaires (lymphocytes T CD4 y compris) et sur le potentiel antioxydant sanguin notamment.

7 CONCLUSION

Ce travail a évalué l'impact immunitaire de l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *G. kola* chez le rat Wistar thermos-stressé. Il ressort que l'extrait aux doses étudiées induit une augmentation significative des taux sanguins des lymphocytes, P.N, des monocytes et, celui des TCD₄. Cet extrait provoque une augmentation

significative du potentiel antioxydant sanguin chez le rat. Ces résultats suggèrent un effet immunostimulateur et antioxydant qui expliquerait la consommation régulière de ce fruit en milieu rural. Ils ouvrent une perspective dans la prise en charge des personnes immunodéprimés.

8 REFERENCES

- Abboud CN, Scully SP, Lichtman AH: 1985. The requirements for ionized calcium and magnesium in lymphocyte proliferation. *J Cell Physiol* 122: 64-72.
- Adegbhingbe OO, Adesanya SA, Idowu TO: 2008. Clinical effect of *Garcinia kola* in knee osteoarthritis. *J. Orthop Surg.* 3 : 34 p
- Blétry O, Kahn JE, Somogyi A : 2006. Immunologie Réaction inflammatoire. *Masson 2^{im} édition* 8: 225.
- Casanova JL, Abel L: 2007. Primary immunodeficiency: a field in its infancy. *Sciences* 317: 617-9.
- Durackova Z, Djrolo F, Houngebe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M: 2008. Oxidants, antioxydants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine. Gvozđjakova A ed:* 19-40.
- Esimone OC, Adikwu MU, Nworu CS, Okoye FBC and Odimegwu DC: 2007. Adaptogenic potentials of *Camellia sinensis* leaves *Garcinia kola* and *Kola nitida* seeds. *Scientific Research and Essay. Academic Journals* 2 (7): 232-237
- Etou Ossibi AW, Morabandza CJ, Nsonde Ntandou GF, Tsala D, Elion Itou RDG, Ouamba JM and Abena AA: 2016. Anti-oxidative stress potentiality of aqueous extract of the leaves of *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae) *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5(6): 254-258.
- Gardan J: 2010. Comment renforcer les défenses immunitaires par la nutrithérapie. *Ebipharm*, Lausane 133 p
- Hennebelle T: 2006. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de *Lamiales* productrices d'antioxydants. Université de sciences et technologiques. Thèse de doctorat de Lille 1 304 p
- Hudson JB: 2012. Applications of the phytomedicine *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in infectious diseases. *Journal Biomed Biotechnol.* 769-896.
- Koudouvo K, Kavengue A, Agbonon A, Kodjo M, Aklikokou K, Kokou K, Essien K, Gbeassor M: 2006. Enquête ethnobotanique sur les plantes à activité antiplasmodiale, antioxydant et immunostimulant dans la region maritime du Togo. *Revue Togolaise des sciences* 1(2) : 145-155.
- Li F, Chaigne-Delalande B, Kanellopoulou C : 2011. Second messenger role for Mg²⁺ revealed by human T-cell immunodeficiency. *Nature* 475: 471-6.
- Medina-Ramon M, Zanobetti A, Cavanagh DP and Schwartz J: 2006. Extreme temperature and mortality: assessing effect modification by personal characteristics and specific cause of death in a multi-city case-only analysis. *Environ Health perspect* 114(9): 1331-1336.
- Middleton EJ: 1996. Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 34(5): 344-348
- Morabandza CJ, Nkounkou LC, Etou Ossibi AW, Ongoka PR, Ouamba JM, Abena AA: 2017. In vitro immunitary impact and antioxydant activity of aqueous extracts of *Maprounea africana* Müll (Euphorbiaceae) and *Mitragyna stipulosa* O.Kze (Rubiaceae) *The Journal of Phytopharmacology* 6 (5) : 260-263.

- Morabandza CJ, Okémy AN, Ongoka RP, Okiemy-Akeli MG, Attibayeba, Abena AA: 2014. Effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants du mésocarpe de *Garcinia kola* Heckel (Clusiaceae). *Phytothérapie* 12(3) :164-169.
- Morabandza CJ, Ongoka R.P, Matini L, Epa C, Nkounkou LC and Abena A.A : 2013. Chemical composition of the mesocarp of *Garcinia kola* Heckel (Clusiaceae) fruit *Research Journal of Recent Sciences* 2(1): 1-8
- Nair VDP, Dairam A, Agbonon A, Arnason JT, Foster BC and Kanfer I: 2007. Investigation of antioxidant activity of African potato. *Journal of Agricultural and food chemistry* 55: 1707-1711.
- Olaleye SB, Farombi EO, Adewoye EA, Owoyele BV, Onasanwo SA, Elegbe A: 2000. Analgesic and anti-inflammatory effects of kolaviron (*Garcinia kola* seed extract). *Afr. J. Biomed. Res* 3: 171-174
- O'Leary KA, De Pascual-Tereasa S, Needs PW: 2004. Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutat Res.* 551(1,2): 245-254.
- Sakagami H, Sakagami T et Takeda M: 1995. Antiviral properties of polyphenols. *Polyphenols Actualities* 12: 30-32.
- Santoro MG: 2000. Heat shock factors and the control of the stress response. *Biochemistry. Pharmacology* 59: 55-63
- Smoyer-Tomic KE, Rainham DGC: 2001. Beating the Heat. Development and Evaluation of a Canadian Hot Weather Health-Response Plan. *Environ Health Perspect* 109: 1241-8.
- Storage Ugal. Com/5351/ *Echinacea*.Pdf. *Echinacea purpurea*, Moenc *Echinacea angustifolia*, De Candolle *Echinacea pallida*, Natull *Astéracées* consulté le 21/10/2013 13h 57mn
- Vijaya M, Cass I, Judy G, Nadeem A, Talpur, Bobby W, Echard DB and Harry PG: 2001. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and cellular Biochemistry* 228: 111-117.
- Wu N, Veillette A: 2011. Immunology: magnesium in a signalling role. *Nature* 475: 462-3