

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene  
Faculté de génie des procédés et génie mécanique



## MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister

En Génie des Procédés

Spécialité : Technologie Pharmaceutique

Par : M<sup>elle</sup>. KAMECHE Karima

### Sujet

**Etude de l'effet de composés phénoliques, la curcumine, l'acide  
caféique et l'acide trans-cinnamique sur le stress oxydatif  
induit dans une colite aiguë à l'acide acétique,  
chez les souris *Swiss*  
- Relation structure-effet scavenger des ROS**

Soutenue publiquement le 20 Mars 2013 devant le jury composé de :

Mr. Daoud Kamel  
Mme. Djerdjouri Bahia  
Mr. Benkaci-Ali Farid  
Mme. Yeddou Nacéra  
Mme. Khelil Malika  
Mme. Belkebir Aicha

Président  
Directrice de Mémoire  
Examinateur  
Examinatrice  
Examinatrice  
Examinatrice

Professeur à l'USTHB  
Professeur à l'USTHB  
Professeur à l'USTHB  
Professeur à l'USTHB  
Maitre de conférence/A à l'USTHB  
Maître de conférence/A à l'USTHB

## RESUME

L'objectif principal de ce travail a été de déterminer la relation structure-fonction de la curcumine, de l'acide trans-cinnamique et de l'acide caféique, dans leurs effets antioxydant et anti-inflammatoire, sur un modèle de colite expérimentale aiguë induite *in vivo* par injection intra rectale de l'acide acétique (5%) chez des souris blanches.

L'acide acétique (5%) induit des dommages macroscopiques, histologiques et biochimiques dans les côlons distaux. Ces altérations sont caractérisées par une infiltration des PNs, des œdèmes et des ulcérations hémorragiques. Une élévation significative des marqueurs du stress oxydant (MDA et MPO) et une diminution des marqueurs du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique (CAT et GSH) dans les homogénats des côlons distaux.

La curcumine (60mg/kg) prévient efficacement la colite à l'acide acétique 5%. Ce traitement a amélioré les scores macroscopiques, histologiques et a permis aussi de corriger les paramètres oxydants (MDA et MPO) et antioxydants (CAT et GSH).

Le traitement des souris par l'acide caféique (30mg/kg) a amélioré les dommages histologiques provoqués par l'acide acétique 5%, mais cette amélioration reste moins importante à celle trouvée par la curcumine. L'acide caféique a aussi diminué le taux de marqueurs du stress oxydatif (MDA et MPO) et a augmenté le marqueur du système antioxydant non enzymatique (GSH). Cependant, l'activité catalase n'a pas été corrigée par l'acide caféique (30mg/kg).

Le prétraitement des souris avec une dose de 30mg/kg d'acide trans-cinnamique a induit une réduction de l'intensité des altérations macroscopiques, histologiques et a permis aussi de corriger les paramètres oxydants (MDA et MPO) et antioxydant (CAT), mais le pool tissulaire de GSH n'a pas été rétabli.

# REMERCIEMENTS

Ce mémoire est l'aboutissement d'un travail réalisé au sein du laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire à l'université de l'USTHB, dirigé par Madame le professeur Djerdjouri. J'exprime ma profonde reconnaissance à ce laboratoire pour m'avoir apporté les moyens humains et matériels me permettant de réaliser mon travail dans les meilleures conditions.

## **A Monsieur le professeur Daoud Kamel**

Professeur à la faculté de génie des procédés et génie mécanique, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

## **A Monsieur le professeur Ben Kaci-Ali Farid**

Professeur à la faculté de chimie, qui nous a fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.

## **A Madame le professeur Yeddou Nacéra**

Professeur à la faculté de génie des procédés et génie mécanique, qui a accepté de participer à notre jury de thèse, de relire et corriger ce travail.

Avec mes remerciements, qu'elle soit assurée de mes sentiments les plus respectueux.

## **A Madame Khelil Malika**

Maître de conférences à la faculté des sciences biologiques, qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.

Hommage respectueux.

### **A Madame Belkebir Aicha**

Maître de conférences à la faculté des sciences biologiques, Qui a bien voulu nous faire l'honneur de participer à notre jury de thèse, remerciements respectueux.

### **A Madame le professeur Djerdjouri Bahia**

Professeur à la faculté des sciences biologiques pour avoir guidé, encadré et soutenu la réalisation de cette thèse. En témoignage de ma reconnaissance pour avoir apporté sa compétence, sa disponibilité et son regard critique et constructif sur ce travail. Recevez mes plus sincères remerciements pour votre implication, votre gentillesse et votre soutien. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous !

### **A Monsieur Bounâama**

Maître de conférences à la faculté des sciences biologiques, pour votre encadrement sur la paillasse, votre disponibilité, vos conseils, vos encouragements et votre assistance morale et matérielle pour la réalisation de ce travail.

Trouvez ici l'expression de ma sincère gratitude pour votre aide dans l'élaboration de cette thèse.

Un grand Merci !

Aux membres de laboratoire de la biologie cellulaire et moléculaire.

A tout mes collègues du laboratoire.

Aux animaleries qui ont su prendre soin des animaux et permettre le déroulement des différentes études dans les meilleures conditions.

Je dédie ce travail à la mémoire de mon père.

J'adresse un grand merci à ma famille et plus particulièrement à mes parents qui m'ont soutenue moralement et financièrement au cours de mes années d'étude.

Enfin une petite pensée pour toutes les petites souris qui ont sacrifié leur vie pour la science au cours de ma thèse.

## Liste des abréviations

<b>AA</b>	Acide acétique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AP-1</b>	Activated protein-1
<b>APC</b>	Antigen presenting cell
<b>BCL2</b>	B cell leukemia
<b>BSA</b>	Bovine Serum Albumine
<b>CAF</b>	Acide caféique
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CC</b>	Cellules calciformes
<b>CE</b>	Cellules entérocytes
<b>CIN</b>	Acide trans-cinnamique
<b>COX-2</b>	Cyclooxygénase 2
<b>CU</b>	Colite ulcéreuse
<b>CUR</b>	Curcumine
<b>DO</b>	Densité optique
<b>ESCs</b>	Embryonic stem cells
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>HClO</b>	Acide hypochloreux
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HSCs</b>	Hematopoietic stem cells
<b>IBD</b>	Inflammatory bowel disease
<b>ICAM-1</b>	Intracllular Cell Adhesion Molecule-1
<b>IFN</b>	Interferon
<b>IL</b>	Interleukine

<b>iNOS</b>	NO-synthase inductible
<b>LOX</b>	Lipoxygénase
<b>M</b>	Muqueuse colique
<b>MC</b>	Maladie de Crohn
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>mg de prot</b>	Milligramme de protéine
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mM</b>	Millimolaire
<b>MM</b>	Musculaire muqueuse
<b>MPO</b>	Myéloperoxydase
<b>MSCs</b>	Mesenchymal stem cells
<b>MU</b>	Musculeuse
<b>µmole</b>	Micromole
<b>µl</b>	Microlitre
<b>NaCl</b>	Solution saline physiologique
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>NF-κB</b>	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>nmole</b>	Nanomole
<b>NO<sup>•</sup></b>	Oxyde nitrique (monoxyde d'azote)
<b>NO<sub>2</sub><sup>•</sup></b>	Dioxyde d'azote
<b>NOD</b>	Nucleotide oligomerization domain receptors
<b>NOS</b>	Nitroso synthases ou NO synthase
<b>1O<sub>2</sub></b>	Oxygène singulet
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène moléculaire
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>O<sub>2</sub><sup>2-</sup></b>	Anion peroxyde
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozone
<b>HO<sup>•</sup></b>	Radical hydroxyle

<b>ONOO<sup>•</sup></b>	Peroxynitrite
<b>PAL</b>	Phénylalanine ammonia-lyase
<b>Phé</b>	phénylalanine
<b>PMN</b>	Polymorphonucléaire neutrophiles
<b>PN</b>	Polynucléaire neutrophile
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	Peroxisome proliferator-activated receptor ou récepteurs activité par les Proliférateurs de peroxysomes
<b>RO<sup>•</sup></b>	Radical alkoxyde
<b>ROO<sup>•</sup></b>	Radical peroxyde
<b>ROOH</b>	Hydroperoxyde
<b>RNS</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>S</b>	Séreuse
<b>SM</b>	Sous muqueuse
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>STAT</b>	Signal transducers and activators of transcription
<b>TBA</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TCD 4+</b>	Cellule possédant un récepteur (cluster de différenciation 4)
<b>TGF</b>	Transforming growth factor
<b>Th-1</b>	Type 1 helper T cells
<b>Th-2</b>	Type 2 helper T cells
<b>TNF</b>	Tumour necrosis factor
<b>U</b>	Unité catalytique de catalase
<b>UV</b>	Ultra Violet
<b>VCAM-1</b>	Vascular Cell Adhesion Molecule-1

# SOMMAIRE

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre 1 : Rappels bibliographiques</b> .....	3
<b>1.1. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (IBD)</b> .....	3
<b>1.2. L'inflammation intestinale</b> .....	4
<b>1.3. Physiopathologies des IBD</b> .....	4
<b>1.4. Stress oxydatif et IBD</b> .....	6
<b>1.5. Stress oxydatif</b> .....	6
<b>1.5.1. Définition</b> .....	6
<b>1.5.2. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ROS)</b> .....	6
<b>1.5.3. Espèces réactives de l'azote (RNS)</b> .....	10
<b>1.5.4. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène</b> .....	11
<b>1.5.4.1. Les lipides</b> .....	11
<b>1.5.4.2. Les protéines</b> .....	12
<b>1.5.4.3. L'ADN</b> .....	13
<b>1.5.5. Les systèmes de défense antioxydants</b> .....	14
<b>1.5.5.1. Les antioxydants enzymatiques</b> .....	14
<b>1.5.5.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)</b> .....	14
<b>1.5.5.1.2. La catalase</b> .....	14
<b>1.5.5.1.3. Les glutathion peroxydases</b> .....	15
<b>1.5.5.2. Les antioxydants non enzymatiques</b> .....	15
<b>1.6. Colite expérimentale à l'acide acétique</b> .....	16
<b>1.7. Traitement des IBD</b> .....	17
<b>1.8. Les composés phénoliques</b> .....	18
<b>1.8.1. Généralités</b> .....	18

---

1.8.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	19
1.8.3. Les principales classes des composés phénoliques.....	20
1.8.3.1. Les acides phénoliques simples.....	20
1.8.3.2. Les flavonoïdes.....	21
1.8.3.3. La curcumine.....	23
1.8.3.3.1. Pharmacocinétique.....	24
1.8.3.3.2. Propriétés pharmacologiques.....	24
1.8.3.3.2.1. Activité anti-inflammatoire.....	24
1.8.3.3.2.2. Activité antioxydante.....	25
1.8.3.3.2.3. Activités proapoptotique et anti-proliférative.....	25
1.8.3.3.3. Les cibles moléculaires de la curcumine.....	26
<b>Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....</b>	<b>28</b>
2.1. Matériel.....	28
2.1.1. Appareillages.....	28
2.1.2. Solvants et Réactifs.....	28
2.1.3. Matériel biologique.....	28
2.2. Méthodes.....	29
2.2.1. Protocole pharmacologique.....	29
2.2.2. Sacrifice des animaux et récupération des organes.....	31
2.2.3. Etude biochimique.....	31
2.2.3.1. Préparation des échantillons.....	31
2.2.3.2. Dosage protéique par la technique de Bradford.....	31
2.2.3.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	32
2.2.3.4. Dosage du glutathion réduit (GSH) .....	32
2.2.3.5. Dosage de l'activité catalase .....	33
2.2.3.6. Dosage de l'activité myéloperoxydase (MPO).....	33
2.2.4. Etude histologique .....	33
2.2.5. Analyse statistique.....	34

<b>Chapitre 3 : Résultats et discussion</b> .....	35
<b>3.1.</b> Colite aiguë induite par l'acide acétique (5%) chez des souris blanches.....	35
<b>3.2.</b> Dommages macroscopiques induits par l'acide acétique (5%) sur l'intégrité du côlon.....	35
<b>3.3.</b> Effet macroscopique des molécules antioxydantes sur la colite aiguë induite par l'acide acétique (5%).....	37
<b>3.4.</b> Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'architecture tissulaire du côlon.....	37
<b>3.5.</b> Résultats biochimiques.....	43
<b>3.5.1.</b> Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur le taux de MDA.....	43
<b>3.5.2.</b> Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur le taux de GSH colique...	45
<b>3.5.3.</b> Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'activité catalase.....	46
<b>3.5.4.</b> Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'activité MPO.....	48
<b>Chapitre 4 : Discussion générale</b> .....	50
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	56
<b>Références bibliographiques</b> .....	58

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Localisation de la maladie de Crohn et de la colite ulcéreuse. Les parties en rouge représentent les sites inflammatoires potentiels.....	3
<b>Figure 2 :</b> Quelques éléments impliqués dans la physiopathologie de la maladie de Crohn et de la colite ulcéreuse.....	5
<b>Figure 3 :</b> Origine de différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie.....	7
<b>Figure 4 :</b> Synthèse du monoxyde d'azote (NO <sup>•</sup> ), du peroxynitrite (ONOO <sup>•</sup> ) et du dioxyde d'azote (NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> ).....	11
<b>Figure 5 :</b> Peroxydation des lipides par les ROS.....	11
<b>Figure 6 :</b> Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	13
<b>Figure 7 :</b> La voie de phénylpropanoïde.....	19
<b>Figure 8 :</b> La plante de Curcuma Longa, le rhizome frais et réduit en poudre «Curcuma».....	23
<b>Figure 9 :</b> Structure chimique de la molécule de curcumine.....	24
<b>Figure 10 :</b> Le protocole pharmacologique <i>in vivo</i> .....	30
<b>Figure 11 :</b> Courbe étalon Bradford.....	32
<b>Figure 12 :</b> Lésions macroscopiques des côlons des souris témoins (NaCl 0,9%) (a), traitées par l'AA (5%) (b), prétraitées par la curcumine (60mg/kg) (c), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) (d) et l'acide caféique (30mg/kg) (e).....	36

---

<b>Figure 13 :</b> Structure de la paroi colique chez des souris.....	37
<b>Figure 14 :</b> Muqueuse colique de souris.....	38
<b>Figure 15:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×10).....	40
<b>Figure 16:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×40).....	40
<b>Figure 17:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×100).....	40
<b>Figure 18:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique (5%) (G×10).....	40
<b>Figure 19:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique (5%) (G×40).....	41
<b>Figure 20:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique (5%) (G×100).....	41
<b>Figure 21:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et prétraitée par la curcumine (60mg/kg) (G×10) .....	41
<b>Figure 22:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et prétraitée par la curcumine (60mg/kg) (G×40).....	41
<b>Figure 23:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et prétraitée par l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) (G×10).....	42
<b>Figure 24:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et prétraitée par l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) (G×40).....	42
<b>Figure 25:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et prétraitée par l'acide caféique (30mg/kg) (G×10).....	42
<b>Figure 26:</b> Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique et	

---

prétraitée par l'acide caféique (30mg/kg) (G×40).....	42
<b>Figure 27:</b> Effet de la curcumine (60mg/kg), acide trans-cinnamique (30mg/kg) et acide caféique(30mg/kg) sur la peroxydation lipidique dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%).....	44
<b>Figure28:</b> Effet de la curcumine (60mg/kg), acide trans-cinnamique (30mg/kg) et acide caféique (30mg/kg) sur le système antioxydant (GSH) dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%).....	45
<b>Figure 29:</b> Effet de la curcumine (60mg/kg), acide trans-cinnamique (30mg/kg) et acide caféique(30mg/kg) sur l'activité catalase dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%).....	47
<b>Figure 30:</b> Effet de la curcumine (60mg/kg), acide trans-cinnamique (30mg/kg) et acide caféique (30mg/kg) sur l'infiltration des PN dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%).....	48
<b>Figure 31:</b> Formes mésomères du radical « central».....	52
<b>Figure 32:</b> Formes mésomères du radical phénolique.....	53
<b>Figure 33:</b> Structure chimique de la curcumine (A), acide caféique (B) et acide trans-cinamique (C).....	55

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Principales sources des espèces réactives de l'oxygène (endogènes et exogènes) et des systèmes antioxydants.....	10
<b>Tableau 2</b> : Principaux acides hydroxybenzoïques.....	20
<b>Tableau 3</b> : Principaux acides hydroxycinnamiques.....	21
<b>Tableau 4</b> : Principaux types de coumarines.....	21
<b>Tableau 5</b> : Principales classes des flavonoïdes.....	22
<b>Tableau 6</b> : Taux de la peroxydation lipidique exprimé en nmoles/mg de protéine dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg).....	43
<b>Tableau 7</b> : Taux de glutathion réduit exprimé en nmoles/mg de protéine dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg).....	45
<b>Tableau 8</b> : Activité catalase exprimée en mU/min/mg de protéine dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg).....	46
<b>Tableau 9</b> : Activité MPO exprimée en µmoles/min/mg de protéine dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%), prétraitées par la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg).....	48

# ***INTRODUCTION***

## **Introduction générale**

Les colites définissent les maladies inflammatoires du côlon. L'inflammation peut être aiguë ou chronique et peut atteindre une ou plusieurs tuniques ou couches de la paroi colique. Les colites chroniques connues appelées IBD (inflammatory bowel disease) englobent la colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (MC).

La fréquence des IBD est importante et ne cesse d'augmenter dans les pays développés. Bien que l'étiologie de ces maladies ne soit pas connue, plusieurs études ont rapporté l'implication de facteurs environnementaux, immunologiques et génétiques dans le développement de ces pathologies. Les colites chroniques sont caractérisées par des phases d'inflammations actives suivies de phases de rémissions (Su Han et Coll., 2011). De plus, les colites chroniques ne disposent toujours pas de traitement spécifique.

La physiopathologie des IBD est complexe. Cependant, à côté d'une réponse immunitaire inadéquate, des travaux ont montré l'implication d'un stress oxydatif chronique comme facteur inducteur et/ou aggravant dans ces pathologies.

Le stress oxydatif est associé à une production massive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (NOS) par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles infiltrant la muqueuse colique. Ces radicaux oxydants contribuent non seulement à l'aggravation de la colite hémorragique ulcéreuse mais aussi à l'évolution vers le cancer colorectal (Seril et Coll., 2003).

Les modèles de colite aiguë expérimentale sont utilisés pour rechercher l'efficacité de molécules pharmacologiques comme les antioxydants naturels, dans le traitement adjuvant des colites chroniques.

La colite expérimentale aiguë à l'acide acétique est un modèle qui se caractérise par sa simplicité et la rapidité de sa réalisation.

La curcumine est une molécule antioxydante puissante, extraite à partir de *Curcuma longa*. Cette molécule a montré son efficacité dans le contrôle et la réduction de l'inflammation colique dans plusieurs modèles expérimentaux.

L'acide trans-cinnamique et l'acide caféique, sont deux acides phénols précurseurs métaboliques de la curcumine et doués eux aussi d'une activité antioxydante importante.

L'objectif principal de ce travail a été de déterminer la relation structure-fonction de la curcumine, de l'acide trans-cinnamique et de l'acide caféique, dans leurs effets antioxydant et anti-inflammatoire, sur un modèle de colite expérimentale aiguë.

La curcumine est un diféruloylméthane avec deux fonctions cétones et deux groupements hydroxyles. L'acide trans-cinnamique est l'acide 3-phenyl-2-propionique qui présente une fonction acide qui pourrait améliorer son absorption digestive et ainsi sa biodisponibilité et son efficacité thérapeutique. Enfin, l'acide caféique est un acide cinnamique di-hydroxylé en position 3 et 4 du groupement phényle.

La présence de deux groupements hydroxyles pourrait augmenter l'activité antioxydante de cet acide phénol.

Dans cette étude, une colite aiguë a été induite chez des souris blanches par instillation intra rectale d'une solution d'acide acétique à 5%. Les composés phénoliques ont été administrés par gavage gastrique une heure avant l'induction de la colite. Une étude histologique a été réalisée afin de caractériser les altérations de l'architecture colique. Parallèlement, la mesure de l'activité myéloperoxydase, le taux du malondialdéhyde ou MDA, le taux de glutathion et l'activité catalase, marqueurs du stress oxydatif, ont permis de caractériser les effets protecteurs de la curcumine, acide caféique et acide trans-cinnamique.

***RAPPELS***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

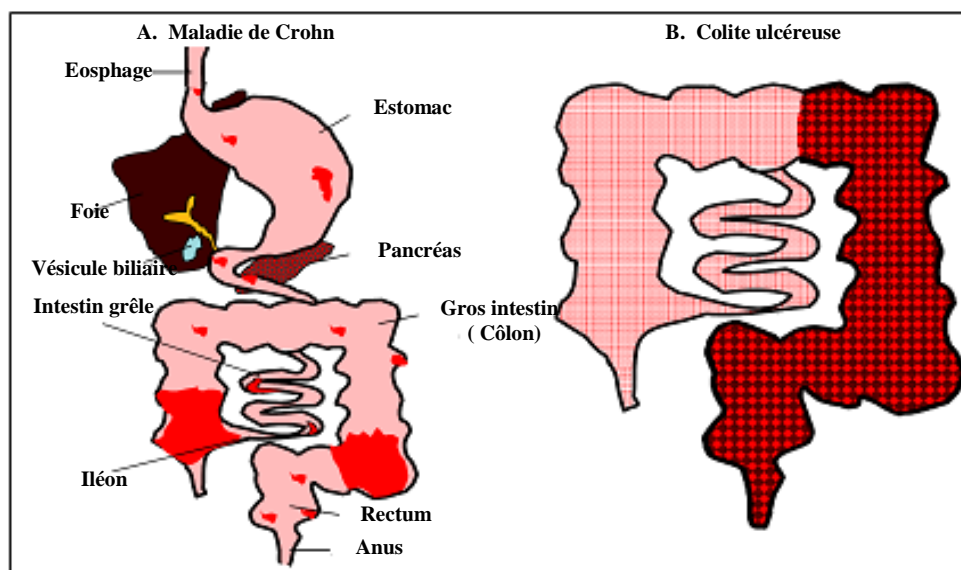
## Chapitre 1 : Rappels bibliographiques

### 1.1. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Inflammatory bowel disease, IBD), sont un groupe d'affections chroniques et évolutives du tube digestif. Elles regroupent la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU). Bien que l'étiologie des IBD soit inconnue, des facteurs génétiques, immunologiques, environnementaux et microbiens ont été incriminés dans la pathogenèse de cette affection.

Les IBD peuvent survenir à tout moment de la vie à partir de la petite enfance, à l'âge adulte avancé, bien que plus de 80% des cas soient actuellement diagnostiqués à l'âge de 20 à 30 ans (Nanau et Neuman., 2012).

La colite ulcéreuse est caractérisée par une inflammation du côlon avec atteinte exclusive de la muqueuse et de la sous-muqueuse. Au contraire, la maladie de Crohn peut se développer tout au long du tractus gastro-intestinal et touche toutes les couches de la paroi digestive : muqueuse, musculaire muqueuse, sous muqueuse et musculature (Fig.1). Une caractéristique commune de la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse est l'alternance de phases actives et de remissions. La rémission est asymptomatique alors que la phase active se caractérise par des diarrhées, saignement rectaux, une fièvre et douleurs abdominales.



## 1.2. L'inflammation intestinale

La réaction inflammatoire est une réponse locale mise en place à la suite d'une lésion ou d'une infection tissulaire. Elle se déroule en trois étapes principales : une phase vasculaire favorisant la migration des leucocytes et des protéines sériques, une phase cellulaire favorisant l'exsudation des protéines sériques, elle débute avec les polynucléaires neutrophiles, suivis dans un second temps par les cellules mononuclées, principalement les macrophages et elle se termine par une phase de résolution au cours de laquelle l'apoptose des polynucléaires joue un rôle important dans la terminaison de la réaction inflammatoire (Roitt et Coll., 2001). Ces réponses sont à leur tour associées à une production accrue de cytokines et d'autres médiateurs de l'inflammation qui diffusent dans les fluides extracellulaires et circulent dans le sang (Gruys et Coll., 2005).

Les cytokines sont produites par de nombreuses cellules comme les lymphocytes T et les macrophages. Elles agissent sur des récepteurs membranaires de manière autocrine (de la cellule productrice), paracrine (cellule proche) ou endocrine (cellule à distance). Elles peuvent être pro-inflammatoires (interleukine (IL) : IL-1 $\beta$ , IL-6, ou le TNF $\alpha$ ) qui sont retrouvées dans les lésions inflammatoires coliques de patients atteints de colite ulcéraire ainsi que dans plusieurs modèles expérimentaux de colite (Mustafa et Coll., 2006) ou encore anti-inflammatoires (IL-10). Les cytokines sont responsables de la médiation de l'immunité innée, de la régulation de l'activation, de la croissance et de la différenciation des lymphocytes, ainsi que de la stimulation de l'hématopoïèse.

## 1.3. Physiopathologies des IBD

Bien que les IBD soient idiopathiques, un déséquilibre de la balance pro-inflammatoire /anti-inflammatoire du système immunitaire au niveau de la muqueuse du tractus gastro-intestinal ou colique a été mis en évidence.

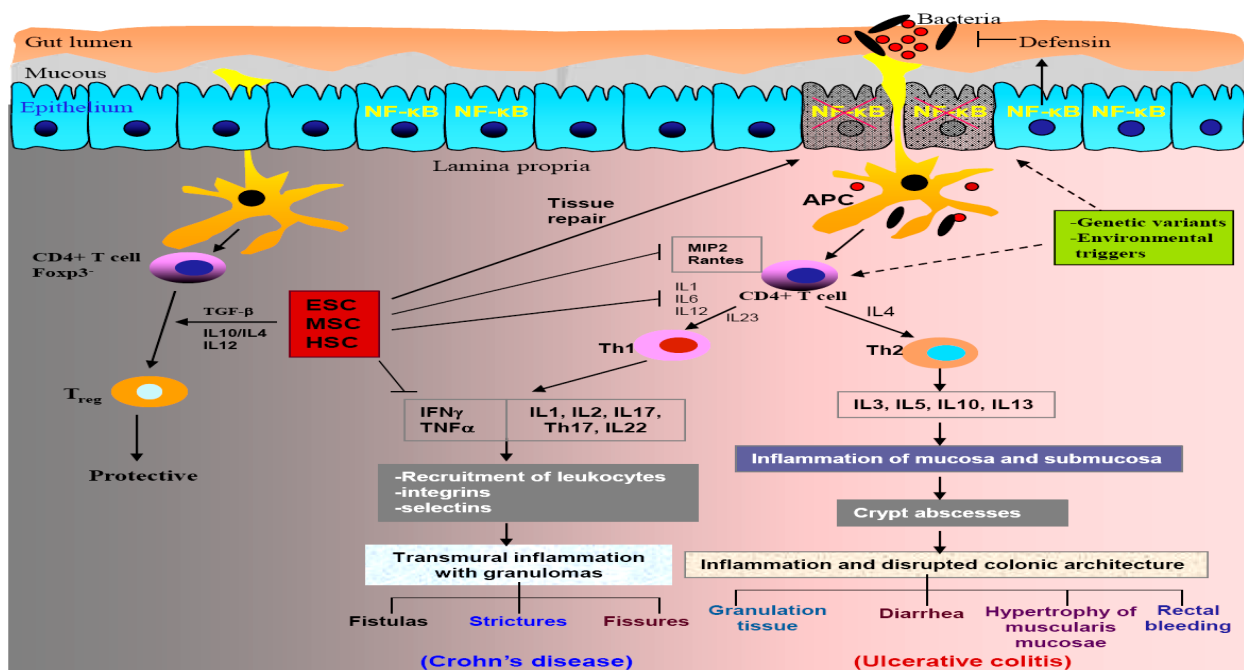
A l'état physiologique, la muqueuse intestinale et colique sont infiltrées de cellules immunitaires jouant un rôle important dans la défense de l'organisme contre toute infiltration bactérienne ou virale à travers la muqueuse. Le système immunitaire est normalement tolérant vis à vis des antigènes des bactéries commensales. Cependant, certains polymorphismes génétiques de récepteurs intracellulaires appelés NOD des entérocytes conduit à la reconnaissance de ces

antigènes non pathogènes et déclenche une cascade d'évènements (formation de l'inflammasome), aboutissant à une libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL1.

De plus, il arrive que les cellules présentatrices d'antigènes (APC) telles que les cellules dendritiques reconnaissent ces antigènes non pathogènes des bactéries commensales après rupture de la muqueuse conduisant à une activation des cellules TCD 4+. Ces dernières vont se différencier selon le panel de cytokines présent dans leur microenvironnement en cellules Th1 ou Th2.

Les Th1 semblent être associées au développement de la maladie de Crohn par le recrutement de cellules inflammatoire (neutrophiles, macrophages et lymphocytes T) au niveau de la *lamina propria* et la libération d'IL-17, IL-23, l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$ . Au contraire, les cellules Th2 seraient associées au développement de la colite ulcéreuse. Les cytokines impliquées dans ce cas sont l'IL-5, l'IL-3 et l'IL13 (Singh et Coll., 2010).

Enfin, il apparait que les cellules souches du tractus gastro-intestinal (ESC, MSC et HSC) joueraient un rôle protecteur par réparation des lésions, par production du TGF $\beta$ , une cytokine anti-inflammatoire, et par d'autres mécanismes (Fig. 2).



**Figure 2.** Quelques éléments impliqués dans la physiopathologie de la maladie de Crohn et de la colite ulcéreuse (Singh et Coll., 2010).

## 1.4. Stress oxydatif et IBD

Le stress oxydatif a été largement associé aux IBD. Holmes et collaborateurs ont montré une augmentation du taux de glutathion oxydé d'un facteur de 1,7 durant la phase active de la colite ulcéreuse par rapport à la phase de rémission (Holmes et Coll., 1998). De la même manière, la phase active de la maladie de Crohn, a été corrélée à une augmentation du taux de la peroxydation lipidique et à une réduction du système antioxydant (Rezaie et Coll., 2007). Toutefois, il apparaît que le stress oxydatif est plus prononcé dans la maladie de Crohn que dans la colite ulcéreuse. Cette différence serait liée à la réponse immunitaire de type pro-inflammatoire (voie Th1) qui caractérise la maladie de Crohn (Rezaie et Coll., 2007). En effet, la voie Th1 implique une infiltration de la muqueuse par des neutrophiles et des macrophages.

Les neutrophiles activés expriment la NADPH oxydase 2, une enzyme membranaire responsable de l'explosion oxydative par production excessive de l'anion superoxyde.

Les macrophages activés, conte à eux, expriment la NO synthase inductible, une enzyme cytosolique qui catalyse la production de monoxyde d'azote (NO).

## 1.5. Stress oxydatif

### 1.5.1. Définition

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production des espèces réactives (prooxydants) et le système antioxydant d'un organisme avec comme conséquence, l'apparition de lésions souvent irréversibles pour la cellule.

### 1.5.2. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ROS)

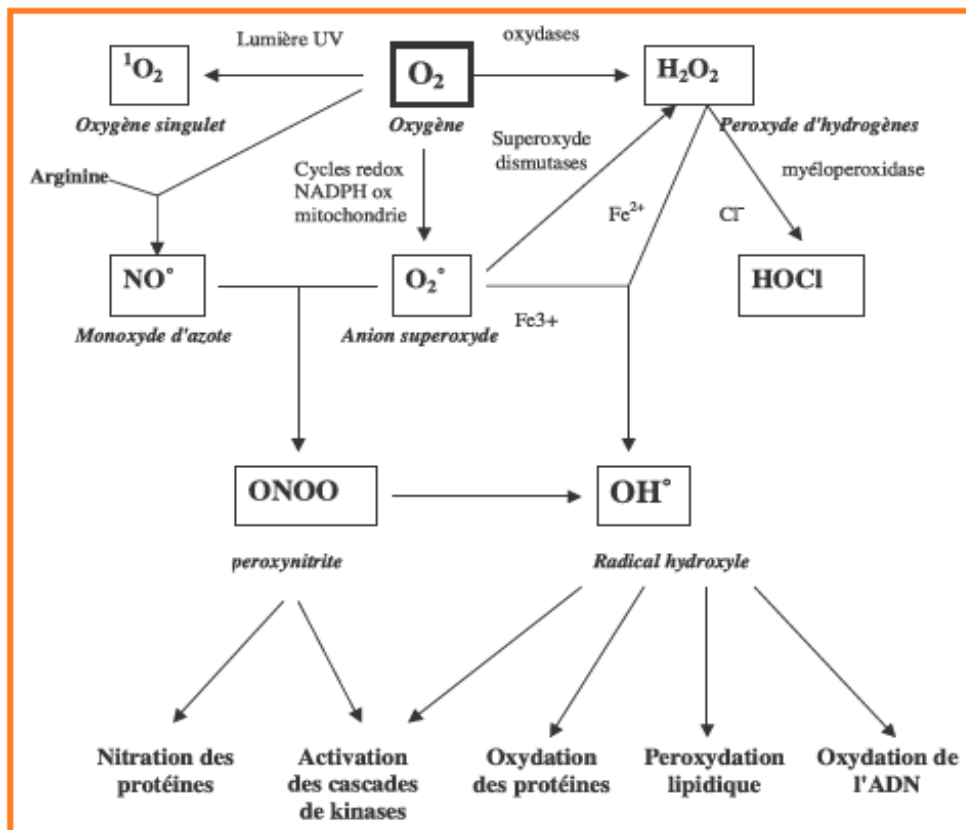
Un radical libre se définit comme tout atome, groupes d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Favier A., 2003).

Actuellement, on emploie le terme de dérivés actifs de l'oxygène ou ROS pour désigner un ensemble plus large de molécules :

- des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , les radicaux hydroyle  $HO^{\bullet}$ , peroxyde  $ROO^{\bullet}$ , alkoxyde  $RO^{\bullet}$ )
- des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) ou l'ozone ( $O_3$ ) fortement oxydants et/ou facilement convertis en radicaux.

Toutes ces espèces oxygénées sont formées en faible quantité dans les conditions physiologiques (au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de réactions inflammatoires) mais elles sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaire (Fig. 3).

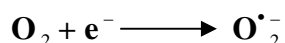
Lorsque leur production augmente et/ou lorsque les défenses antioxydantes ne sont plus suffisantes face à cette production, les ROS peuvent attaquer différentes cibles cellulaires (lipides, protéines, glucides, ADN...) causant des dommages multiples et pouvant entraîner la mort de la cellule.



**Figure 3.** Origine de différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier A., 2003).

**Le radical ou anion superoxyde  $\text{O}_2^{\bullet-}$** 

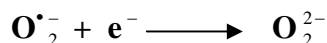
Si un électron célibataire est accepté par la molécule de dioxygène, il ne peut que rentrer sur l'orbitale la plus externe, il y a alors formation du radical superoxyde. Ce radical est formé dans presque toutes les réactions anaérobies. La principale source est l'explosion oxydative des cellules phagocytaires connues pour produire le radical superoxyde sont les polynucléaires neutrophiles, les polynucléaires éosinophiles, les monocytes et les macrophages (Halliwell et Coll., 1984).



**Equation 1:** Formation du radical superoxyde

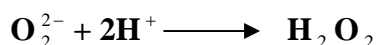
**Le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$** 

Si on ajoute un deuxième électron à l'anion superoxyde, on obtient l'ion peroxyde (Halliwell et Coll., 1984).



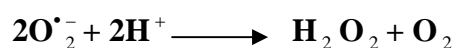
**Equation 2:** Formation du radical peroxyde

Cet ion n'a pas d'électrons non appariés et n'est donc pas un radical. A pH physiologique, tout ion peroxyde formé va se protoner pour donner immédiatement du peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Coll., 1984).



**Equation 3:** Formation du peroxyde d'hydrogène

Au bilan, le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du peroxyde d'hydrogène et du dioxygène (Halliwell et Coll., 1984). Cette réaction est catalysée par la superoxyde dismutase.

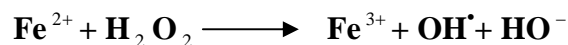


**Equation 4:** Dismutation de l'ion superoxyde par la superoxyde dismutase

Le peroxyde d'hydrogène est un produit plus stable que les produits qui lui donne naissance, ainsi sa réactivité est moins importante. La nature non ionique de cette molécule lui permet de traverser facilement les membranes cellulaires et ainsi de diffuser très facilement d'où une possibilité d'action à distance. Malgré une réactivité moins importante, le peroxyde d'hydrogène est un oxydant très puissant. Grâce à la myéloperoxydase des polynucléaires neutrophiles, le peroxyde d'hydrogène est couplé à un ion chlorure pour donner l'hypochlorite, qui peut réagir avec l'anion superoxyde pour former le radical hydroxyle, qui va exercer son attaque oxydante (Halliwell et Coll., 1984).

### Le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>

La fission homolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène donne deux radicaux hydroxyles. Cette fission peut être causée par la chaleur ou par des radiations ionisantes. Cependant, une solution de peroxyde d'hydrogène avec des ions ferreux suffit à fournir des radicaux hydroxyles. Cette réaction fut observée pour la première fois par Fenton en 1984 (Halliwell et Coll., 1984 et Vergely et Coll., 2003).



**Equation 5:** Réaction de Fenton

### L'oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>

Une autre manière d'augmenter la réactivité du dioxygène est de modifier le spin d'un des deux électrons non appariés (Halliwell et Coll., 1984). Ainsi, l'oxygène singulet n'est pas réellement un radical libre mais une molécule excitée par un quantum d'énergie qui a déplacé un électron d'une orbitale interne vers une orbitale externe (Moreau., 1993). Cette réaction se fait avec plusieurs pigments biologiques comme la chlorophylle, la flavine, les porphyrines quand ils sont éclairés et en présence de dioxygène (Halliwell et Coll., 1984). Le fait de posséder deux électrons non appariés confère à cette molécule une très importante réactivité avec la matière organique.

Dans les systèmes vivants, une production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces espèces réactives est possible.

Les défenses antioxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres oxygénés (Tableau.1).

**Tableau 1.** Principales sources des espèces réactives de l'oxygène (endogènes et exogènes) et des systèmes antioxydants (Beaudeau et Vasson., 2005).

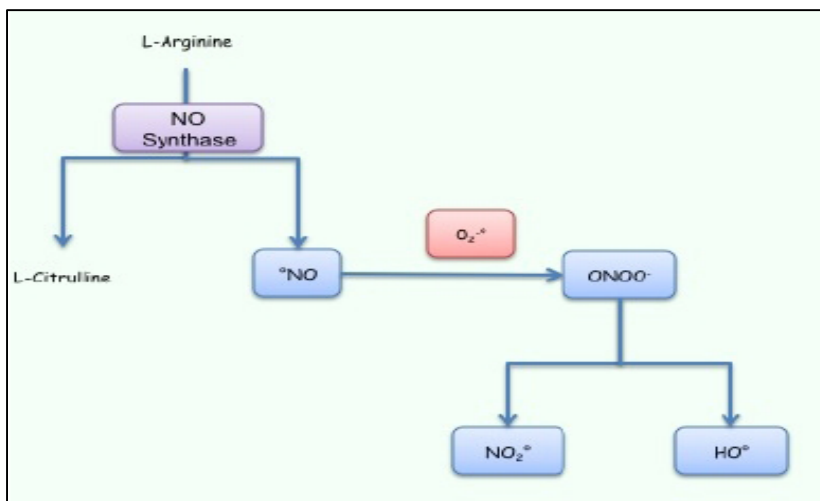
Sources des ROS		Systèmes antioxydants	
Endogènes	Exogènes	Enzymatiques	Non enzymatiques
NADPH oxydase	Toxiques environnementaux	Superoxyde dismutase	Glutathion
Chaîne respiratoire mitochondriale	Radiations ionisantes	Catalase	Thiorédoxine
Peroxisomes	Radiations UV	Glutathion peroxydase	Glutarédoxine
Cytochrome P450	Champs électriques		Vitamine C, A, E
Xanthine oxydase	Xénobiotiques pro-oxydant		Ubiquinone
Cyclooxygénases	Cytokines pro-inflammatoires		Lipoate
Lipooxygénases			Pyruvate

### 1.5.3. Espèces réactives de l'azote (RNS)

Les RNS sont des radicaux à base d'azote. Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthases (NOS).

Le monoxyde d'azote ou NO est un radical libre produit par une enzyme appelée la NO synthase. Cependant, cette enzyme se présente sous trois iso formes : la NOS neuronale, la NOS endothéliale, et une forme inductible : la iNOS.

Le NO est susceptible de réagir avec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes (Fig. 4), telle que la formation du peroxynitrite  $\text{ONOO}^{\bullet}$ , oxydant puissant vis-à-vis de nombreuses molécules. En outre, le peroxynitrite peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants ( $\text{NO}_2^{\bullet}$ ,  $^{\bullet}\text{OH}$ ) (Vibet S., 2008).

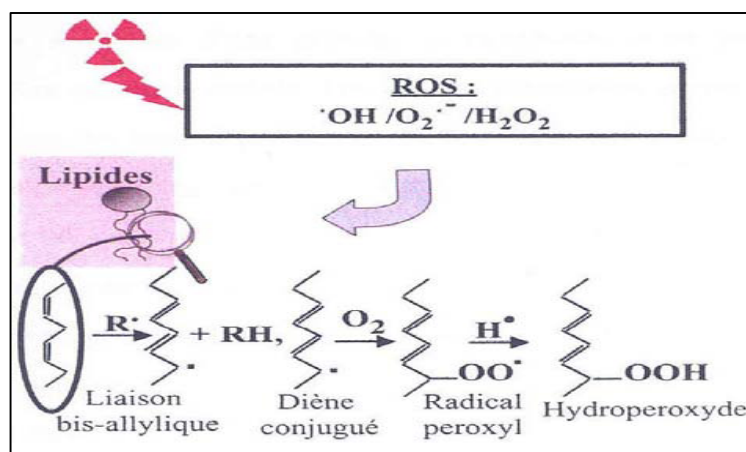


**Figure 4.** Synthèse du monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ), du peroxyde d'azote ( $ONOO^{\cdot}$ ) et du dioxyde d'azote ( $NO_2^{\cdot}$ ) (Vibet S., 2008)

#### 1.5.4. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène

##### 1.5.4.1. Les lipides

Les acides gras poly-insaturés sont les cibles privilégiées des ROS radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé (Fig. 5).



**Figure 5.** Peroxydation des lipides par les ROS (Halliwell et Gutteridge., 1989)

Les hydroperoxydes formés peuvent subir des coupures qui conduisent à la formation d'aldéhydes, d'hydroaldéhydes et de dialdéhydes. La peroxydation lipidique est un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison.

La phase d'initiation consiste à la création d'un radical d'acide gras  $R^\bullet$  à partir d'un acide gras RH par soustraction d'un atome d'hydrogène ( $H^\bullet$ ). Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que  $HO^\bullet$  ou  $HOO^\bullet$ .

Le radical lipidique  $R^\bullet$  subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' $O_2$  et former un radical peroxyde ( $ROO^\bullet$ ). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un  $H^\bullet$  à un acide gras poly-insaturé voisin propageant ainsi la réaction.

L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  et entraîner la formation d'alcanes et d'aldéhydes. La réaction en chaîne peut être heureusement interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Halliwell et Gutteridge., 1989).

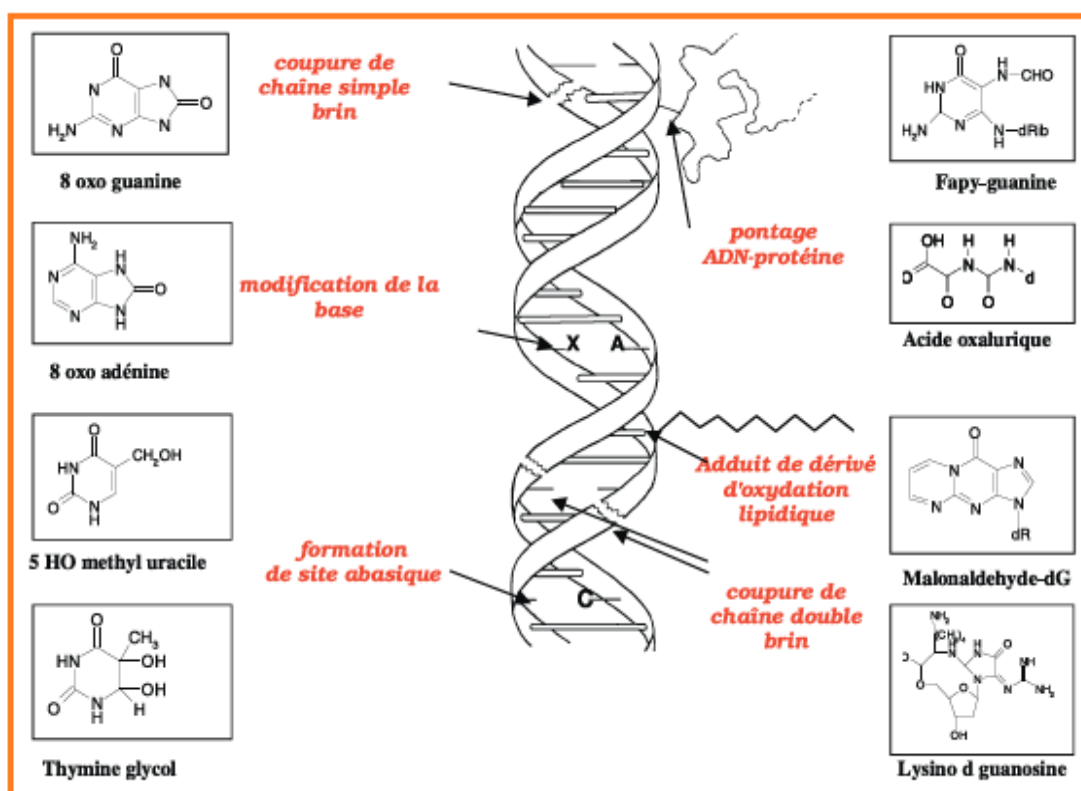
#### 1.5.4.2. Les protéines

En attaquant ces cibles cellulaires, les radicaux libres dénaturent et inactivent les protéines, ce qui aboutit à des lésions voir à la mort cellulaire associée la synthèse et l'accumulation des protéines non fonctionnelles.

Les dommages oxydatifs mis en cause sont des formations des groupements hydroperoxydes, des oxydations de squelettes carbonés de chaînes polypeptidiques, des oxydations des chaînes latérales des acides aminés avec apparition des ponts désulfures, de groupements carbonyles, de méthionine sulfoxyde ou de formation de dérivés chlorés (Moreau., 1993).

### 1.5.4.3. L'ADN

Les actions des radicaux libres oxygénés sur l'acide désoxyribonucléique (ADN) sont la formation de liaisons croisées anormales des brins d'ADN chromosomique des cassures des brins et une dégradation des désoxyriboses. Ces lésions de la molécule d'ADN n'empêchent pas toujours son expression, cependant, elles modifient l'information génétique. Ce phénomène est considéré comme un facteur de cancérisation (Moreau., 1993). La figure 6 relate comment ces évènements sont liés.



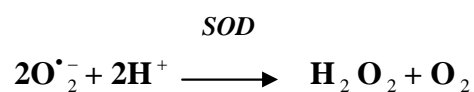
**Figure 6.** Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique (Favier A., 2003).

## 1.5.5. Les systèmes de défense antioxydants

### 1.5.5.1. Les antioxydants enzymatiques

#### 1.5.5.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des enzymes ubiquitaires catalysant la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion superoxydases (Vibet S., 2008).

Trois formes ont été décrites chez les mammifères (Fridovich., 1995) : la SOD à cuivre/zinc présente dans le cytoplasme, la SOD à manganèse présente dans les mitochondries est une SOD extracellulaire caractérisée au niveau de la lymphe et du plasma : c'est une SOD à cuivre/zinc. Elles catalysent la même réaction mais différent par leurs masses moléculaires, leurs séquences en acides aminés et leurs localisations.

#### 1.5.5.1.2. La catalase

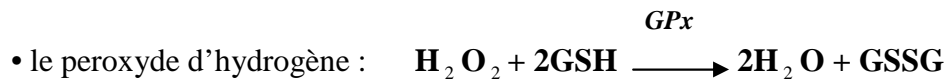
La catalase ou CAT est une protéine hémique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



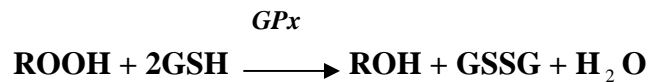
La catalase se trouve dans les hématines et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules. Cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formé dans le cytosol et les mitochondries (Blondeau et Coll., 1987).

### 1.5.5.1.3. Les glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases présentes dans la plupart des tissus des mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (Vibet S., 2008). Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



• les hydroperoxydes (ROOH) dérivés des lipides :



Plusieurs types de GPx ont été décrits :

- deux GPx intracellulaires, la GPx1 ou cGPx pour l'enzyme cellulaire cytosolique et la GPx4 ou PHGPx (« Phospholipid Hydroperoxyde Glutathione Peroxydase ») spécifique des hydroperoxydes contenus dans les phospholipides,
- une GPx plasmatique ou GPx3,
- une forme tissulaire spécifique gastro-intestinale ou GPx2.

### 1.5.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques, sont des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation ou des constituants endogènes. On distingue les antioxydants hydrosolubles comme le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, l'albumine et les antioxydants liposolubles : l'alpha tocophérol (vitamine E), l'ubiquinone, les caroténoïdes, les polyphénols.

**La vitamine C** agit non seulement comme piègeur des ROS, mais régénère aussi la vitamine E en réduisant les radicaux tocophéryls issus de l'oxydation des tocophérols à la surface des membranes (Moreau., 1993).

**Le glutathion (GSH)** est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine), c'est le thiol intracellulaire le plus abondant.

Le GSH joue son rôle d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases (GPx), mais également par ses propriétés intrinsèques. En effet, le glutathion prévient l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il tamponne l'état redox cellulaire grâce à ses 2 formes : réduite (GSH) et oxydée (GSSG) (Vibet S., 2008).

**La vitamine E** et le système ubiquinone/ubiquinol existent essentiellement dans les membranes et fonctionnent comme scavengers (piégeurs) des ROS, prévenant l'oxydation des phospholipides et les lipides en général (Moreau., 1993).

**Les caroténoïdes** ( $\beta$  carotène, lutéine, lycopène, cryptoxanthine, pigments xanthophylles...) sont aussi des scavengers des ROS et plus particulièrement de l'oxygène singulet (Matsuo., 1993).

**Les polyphénols** (Scalbert et Williamson., 2000), qui font l'objet d'une partie de ce travail de thèse, sont apportés par notre alimentation et ont une activité antioxydante importante, plus élevée par exemple que celle de la vitamine E (Rice-Evans et Coll., 1995 ; McKay et Blumberg., 2002).

### 1.6. Colite expérimentale à l'acide acétique

Les modèles expérimentaux des IBD sont des outils importants pour la détermination de nouveaux agents thérapeutiques ainsi que pour l'étude des mécanismes de pathogenèse de cette affection. Actuellement, plus de soixante-six modèles existe.

Ils sont généralement classés en quatre groupes en fonction de l'étiopathogénie:

- Les colites chimiquement et haptène induites;
- Les colites à mutation congénitale ;
- Les colites induites par transfert de cellules T ;
- Les modèles transgéniques.

Dans notre travail une colite à l'acide acétique a été induite. Cette colite se caractérise par une nécrose épithéliale et une inflammation aiguë de la muqueuse colique suite à l'instillation rectale d'une solution aqueuse d'acide acétique à 5%. La lésion initiale dans ce modèle est une nécrose épithéliale et un œdème de la lamina propria, de la sous muqueuse, ou encore de la musculaire en fonction de la concentration et de la durée d'exposition à l'acide acétique.

Cette colite est une réaction spécifique à l'acide acétique vue que l'instillation d'autres acides organiques tel que l'HCl à un pH comparable à celui de l'acide acétique n'induit pas de lésions similaires (Yamada et Coll., 1992). Une ischémie transitoire locale pourrait contribuer à cette inflammation aiguë. De plus, l'activation de la voie de l'acide arachidonique impliquant la production de prostanoïdes a été associée à la phase initiale de cette colite (Elson et Coll., 1995).

La colite à l'acide acétique est un modèle expérimental facile à mettre en œuvre et présente une similitude du profil inflammatoire avec l'inflammation intestinale aiguë humaine (Elson et Coll., 1995).

### **1.7. Traitement des IBD**

Il existe plusieurs traitements pour les IBD, mais aucun ne permet de guérir la maladie; on ne peut qu'atténuer les symptômes et les problèmes de mal absorption.

Le traitement chimique comprend habituellement des salicylés, comme le 5-aminosalicylate, un dérivé proche de l'aspirine, et des glucocorticoïdes, surtout la prednisone, lors des périodes de crise inflammatoire aiguë. L'administration préventive de 5-aminosalicylate diminue la fréquence des rechutes.

Le traitement nécessite parfois l'utilisation d'immunosuppresseurs puissants, tels l'azathioprine ou la 6-mercaptopurine. Dans les cas graves et de cortico-résistance, l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-TNF-alpha, de méthotrexate ou de ciclosporine peut être indispensable. Les antibiotiques, quant à eux, permettront de contrôler les infections bactériennes.

Le traitement chirurgical est indiqué dans les formes sévères des IBD, suite à l'échec du traitement médical ou dans des cas de complications graves. Malgré les troubles de réabsorption

causés par la chirurgie, la colectomie totale permet de guérir la colite ulcéreuse en éliminant l'organe cible, le côlon contrairement à la maladie de Crohn pour la quelle il est impossible de retirer l'intestin grêle lorsqu'il est affecté (Charbonneau-Larose., 2009).

Actuellement, la recherche sur les probiotiques et plusieurs autres substances d'intérêt populaire et médical semble assez prometteuse pour permettre de diminuer les symptômes et la gravité des IBD. En effet quelques études ont indiqué que certains polyphénols ont des effets bénéfiques sur les IBD. Ces polyphénols sont reconnus pour les propriétés antioxydantes et immunomodulatrices; ils regroupent les catéchines, le resvératrol, la curcumine et le *Boswellia serrata*.

L'apport en vitamine D semble aussi exercer un effet sur l'immunité. En effet, déficience en vitamine D favorise la réponse inflammatoire, tandis qu'un apport suffisant renverse le type de réponse (Charbonneau-Larose., 2009).

## **1.8. Les composés phénoliques**

### **1.8.1. Généralités**

Les polyphénols constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire des plantes.

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets sur la santé. En effet leurs rôles d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer (Chan et Coll., 2004), des maladies inflammatoires (Laughton et coll., 1991), des maladies cardiovasculaires (Frankel et Coll., 1993), des maladies neurodégénératives (Orgogozo et coll., 1997). Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), en coumarine, en quinones, en flavonoïdes et en formes polymérisée : lignine, tanins.

### 1.8.2. Biosynthèse des composés phénoliques

La voie de biosynthèse des polyphénols est appelée voie de phénylpropanoïde. Elle débute avec un acide aminé, la phénylalanine (Phe) (Hoffman et Coll., 2004).

La première étape de cette voie est catalysée par l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL). Au cours de cette réaction, la phénylalanine est convertie en acide cinnamique. Cette molécule aboutira ensuite sur les différents précurseurs de chacune des classes de polyphénols.

Parmi eux, on trouve les acides hydrocinnamiques comme l'acide p coumarique, précurseur de la voie des flavonoïdes et les acides caféique, férulique et sinapique ainsi que leurs dérivés, précurseur de la voie de biosynthèse des lignines (Fig. 7).

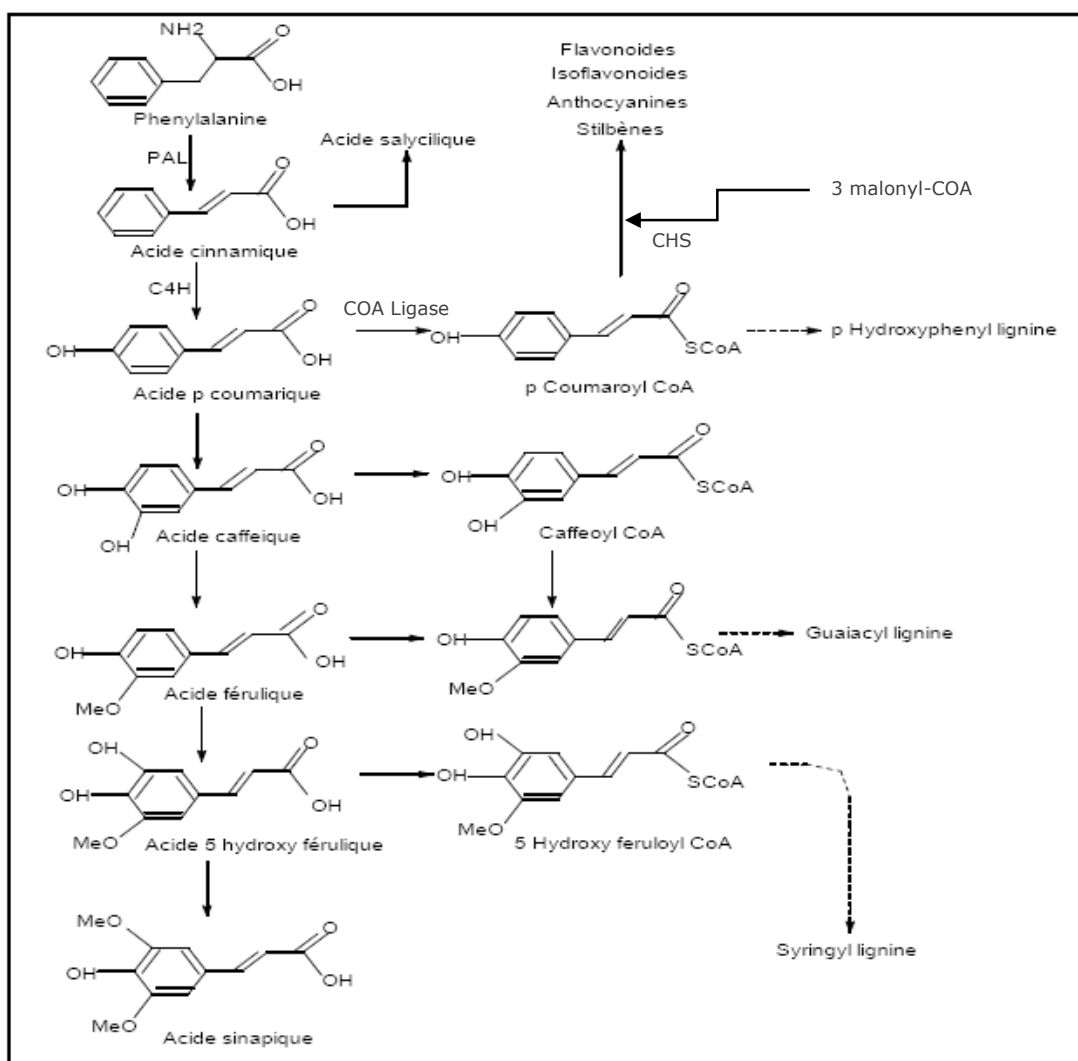


Figure 7. La voie de phénylpropanoïde (Hoffman et Coll., 2004).

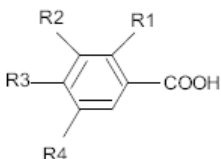
### 1.8.3. Les principales classes des composés phénoliques

#### 1.8.3.1. Les acides phénoliques simples

##### A/ Acides hydroxybenzoïques

- Sont des dérivés de l'acide benzoïque
- Ont une structure générale de base de type (C6-C1)
- Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides
- Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau 2.

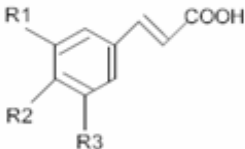
**Tableau 2.** Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006)

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

##### B/ Acides hydroxycinnamiques

- Dérivant de l'acide cinnamique
- Ont une structure générale de base de type (C6-C3)
- Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzéniques, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau 3 représente les principaux acides hydroxycinnamiques.

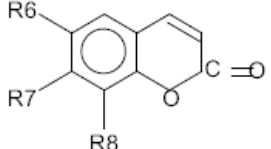
**Tableau 3.** Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006)

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

### C/ Coumarines

- Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale
- Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique

**Tableau 4.** Principaux types de coumarines (Marcheix et Coll., 2005)

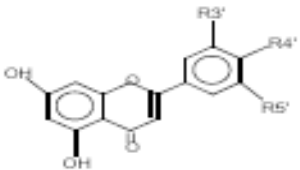
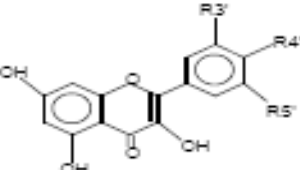
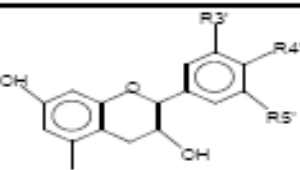
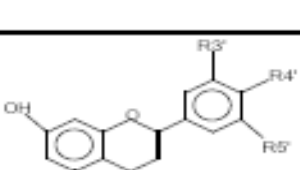
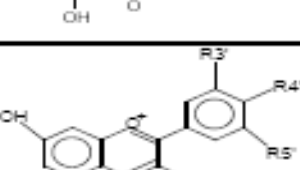
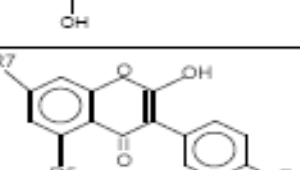
Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

#### 1.8.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques, qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocyte (W-Erdman et Coll., 2007). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano et Coll., 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes,

méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana., 2001; Malésev et Kuntié., 2007).

**Tableau 5.** Principales classes des flavonoïdes (Narayana et Coll., 2001; W-Erdman et Coll., 2007)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

### 1.8.3.3. La curcumine

La curcumine est une substance polyphénolique naturelle isolée à partir de la plante *Curcuma longa*, qui est une plante herbacée rhizomateuse vivace de la famille des Zingibéracées originaire de l'Asie. Le rhizome de cette plante est séché et réduit en poudre, appelée Curcuma.

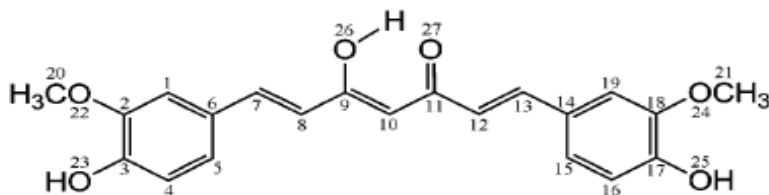


**Figure 8.** La plante de *Curcuma Longa*, le rhizome frais et réduit en poudre «Curcuma» (Anne et coll., 2010)

Les ingrédients actifs du Curcuma sont des substances appelées curcuminoïdes. Les curcuminoïdes constituent un groupe de trois composés phénoliques, la curcumine (diféruoylméthane), la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine. La curcumine constitue environ 90 % des curcuminoïdes.

Le Curcuma a été utilisé pendant des milliers d'années dans la médecine traditionnelle indienne en tant que traitement contre des problèmes biliaires, l'anorexie, la coryza, la toux, ou des blessures diabétiques (Ammon et Coll., 1992). Aujourd'hui, la curcumine est connue pour ses fortes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antivirales (Hergenhahn et Coll., 2002).

Plusieurs études effectuées durant la dernière décennie ont montré que la curcumine est aussi un puissant agent anticancéreux.



**Figure 9.** Structure chimique de la molécule de curcumine (Anne et coll., 2010)

### 1.8.3.3.1. Pharmacocinétique

Le Curcuma, au travers de ses différents constituants chimiques se montre capable d'interférer sur un certain nombre de voies métaboliques et de molécules cibles en lien avec des pathologies d'ordre inflammatoire ou cancéreux, mais son principal facteur limitant est une faible biodisponibilité, en relation directe avec la faible biodisponibilité de la molécule de curcumine.

La curcumine serait partiellement métabolisée dans l'intestin avec particulièrement des phénomènes de sulfatation et de glucuronidation qui pourraient expliquer sa faible biodisponibilité (Sharma., 2005).

Les raisons majeures attribuées à cette biodisponibilité basse, caractérisée par des niveaux plasmatiques et tissulaires faibles et parfois indétectables, sont une faible absorption digestive, un métabolisme rapide et une élimination systémique également rapide (Anand et Coll., 2007), essentiellement dues à la nature hydrophobe de la curcumine (Aggrawal et Kuzhuvélil., 2009).

### 1.8.3.3.2. Propriétés pharmacologiques

#### 1.8.3.3.2.1. Activité anti-inflammatoire

La curcumine inhibe les processus inflammatoires aussi bien dans des modèles d'inflammation aiguë que dans des protocoles d'inflammation chronique (Mukhopadhyay et Coll., 1982 ; Punithavathi et Coll., 2002) et cette activité anti-inflammatoire semble être due à la conjugaison de plusieurs propriétés.

La curcumine inhibe la migration et la prolifération des cellules pro-inflammatoires (Punithavathi et Coll., 2002 ; Araujo et Leon., 2001) et inhibe la lipoxigénase et la cyclooxygénase (Ammon et Coll., 1993). Elle empêche l'activation des macrophages et donc le relargage de substances cytotoxiques ou de médiateurs de l'inflammation tels  $O_2^{\bullet -}$ , le monoxyde d'azote, le TNF- $\alpha$  ou l'interleukine-1 (Chan., 1995 ; Punithavathi et Coll., 2002). L'inhibition par la curcumine de l'activation du facteur de transcription NF $\kappa$ B pourrait expliquer un grand nombre de ces propriétés (Chan., 1995 ; Brennan et O'Neill., 1998).

#### 1.8.3.3.2.2 .Activité antioxydante

La curcumine a été testée dans différents modèles de peroxydation des lipides membranaires. Elle inhibe la peroxydation lipidique dans des hépatocytes de rats traités au paracétamol (Donatus et Coll., 1990) et dans des microsomes de rats ayant subi un stress oxydatif généré par des radiations gamma (Khopde et Coll., 2000 ; Priyadarsini et Coll., 2003) ou un excès d'ions  $Fe^{2+}$  (Reddy et Lokesh., 1994).

L'inhibition de la peroxydation lipidique par la curcumine pourrait être due en partie à sa capacité à maintenir l'activité des enzymes antioxydantes SOD, catalase et GPx (Reddy et Lokesh., 1994).

La curcumine est aussi décrite comme un piègeur de ROS. En effet, elle capture  $O_2^{\bullet -}$  généré par le système xanthine-xanthine oxydase (Reddy et Lokesh., 1994; Sreejayan et Rao., 1996), et interfère avec les radicaux obtenus par radiolyse (Priyadarsini., 1997 ; Jovanovic et Coll., 1994 ; Khopde et Coll., 2000). Elle diminue aussi la production de monoxyde d'azote (Sreejayan et Rao., 1997).

#### 1.8.3.3.2.3. Activités pro-apoptotique et anti-proliferative

La curcumine peut induire l'apoptose des cellules de certains cancers (leucémie, sein, côlon, ovaire, hépatique) par différents mécanismes complexes, faisant intervenir par exemple des lésions de l'ADN ou l'altération des membranes mitochondriales.

De plus, la curcumine peut inhiber la prolifération d'une large variété de cellules cancéreuses, incluant les leucémies à cellule B et à cellule T, les carcinomes du côlon, les carcinomes des

épidermoïdes, les carcinomes des cellules squameuses de la tête et du cou, les myélomes multiples et le lymphome des cellules du manteau.

#### **1.8.3.3.3. Les cibles moléculaires de la curcumine**

Un grand nombre d'études suggèrent que la curcumine agit sur des multiples cibles, et influence ainsi de nombreuses cascades moléculaires et biochimiques. Parmi ces cibles moléculaires, nous retrouvons les facteurs de transcription, les facteurs de croissance et leurs récepteurs, les cytokines, les enzymes, les gènes régulant la prolifération cellulaire et l'apoptose.

##### **. La curcumine inhibe l'activation des facteurs de transcription**

Les facteurs de transcription sont des protéines intracellulaires à destinée intranucléaire et ayant pour fonction le contrôle (soit positif ou activateur, soit négatif ou inhibiteur) de la transcription des gènes.

La curcumine est un puissant modulateur de l'activation de nombreux facteurs de transcription incluant le NF- $\kappa$ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), le complexe AP-1 (*activated protein-1*), les protéines STAT (*signal transducers and activators of transcription*), le PPAR- $\gamma$  (*peroxisome proliferator-activated receptor ou récepteurs activité par les proliférateurs de peroxysomes*) et la  $\beta$ -caténine (Shishodia et Coll., 2007). Ces facteurs de transcription régulent l'expression de gènes impliqués dans la tumorigenèse, l'inflammation, la survie et la prolifération cellulaires, l'invasion tumorale et l'angiogenèse.

##### **. La curcumine réduit l'expression des molécules anti-apoptotiques**

BCL2 (B cell leukemia) appartient à une famille de protéines impliquées soit dans la survie (ce sont les molécules anti-apoptotiques, comme BCL2, BCL-XL), soit dans la mort cellulaire (ce sont les molécules pro-apoptotiques) (Guasch., 2002). Il a été démontré récemment dans une étude que la curcumine serait capable de réduire l'expression de BCL2 et ainsi d'avoir une activité anti-proliférative (Aoki et Coll., 2007).

### **.La curcumine inhibe l'expression cyclo-oxygénase 2**

Plusieurs études ont démontré que la curcumine réduit l'expression de la protéine COX-2 dans différentes lignées de cellules tumorales, probablement par la réduction de l'activation de NF- $\kappa$ B, qui est nécessaire à l'expression de la COX-2 (Aoki et Coll., 2007).

### **. La curcumine module l'expression de L'IL 1 $\beta$ , l'IL-6, le TNF- $\alpha$**

La curcumine est capable d'exercer des effets anti-inflammatoires et anti-prolifératifs sur des cellules cancéreuses, en inhibant l'expression de l'interleukine 1 $\beta$  (IL-1  $\beta$ ), de l'interleukine 6(IL-6) et du facteur nécrosant les tumeurs  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ainsi que de la cycline E (Earwae et Coll., 2006).

L'IL 1 $\beta$ , l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  sont des cytokines pro-inflammatoires. Elles sont impliquées dans de nombreuses maladies systémiques telles que la polyarthrite rhumatoïde ou la maladie de Crohn.

### **. Les gènes impliqués dans l'invasion et l'adhésion cellulaires**

La curcumine agit également sur des cibles moléculaires régulant l'invasion et l'adhésion cellulaires. Elle agit comme un puissant inhibiteur de l'expression de l'ICAM-1 (Intracellular Cell Adhesion Molecule-1), de VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) et de la sélectine E, sous le contrôle du TNF- $\alpha$ , dans des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine (Aoki et Coll., 2007).

**MATERIEL**  
**ET**  
**METHODES**

## Chapitre 2 : Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Appareillages

- Balance de précision (Sortorius)
- Centrifugeuse de paillasse (Sigma)
- Homogénéisateur (Ultra Turrax)
- Microscope photonique (Motic)
- Microtome (American Optical)
- pH-mètre (Hanna instruments)
- Spectrophotomètre UV-Visible (Jenway-genova)

#### 2.1.2. Solvants et Réactifs

Tous les solvants et réactifs utilisés dans cette étude sont de grade analytique de marque Sigma-Aldrich.

#### 2.1.3. Matériel biologique

Les expérimentations ont été effectuées sur des souris blanches (souche *Swiss*) de 25g à 32g, élevées à l'Institut Pasteur d'Alger. Elles ont été hébergées dans des conditions de stabulation contrôlées :

- température :  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ,
- humidité ambiante,
- litière (copeaux de bois), changée 3 fois par semaine,
- régime alimentaire : aliment granulé (glucides 49,80 %, protéines 34,50 %, lipides 10 %) et eau du robinet.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Protocole pharmacologique

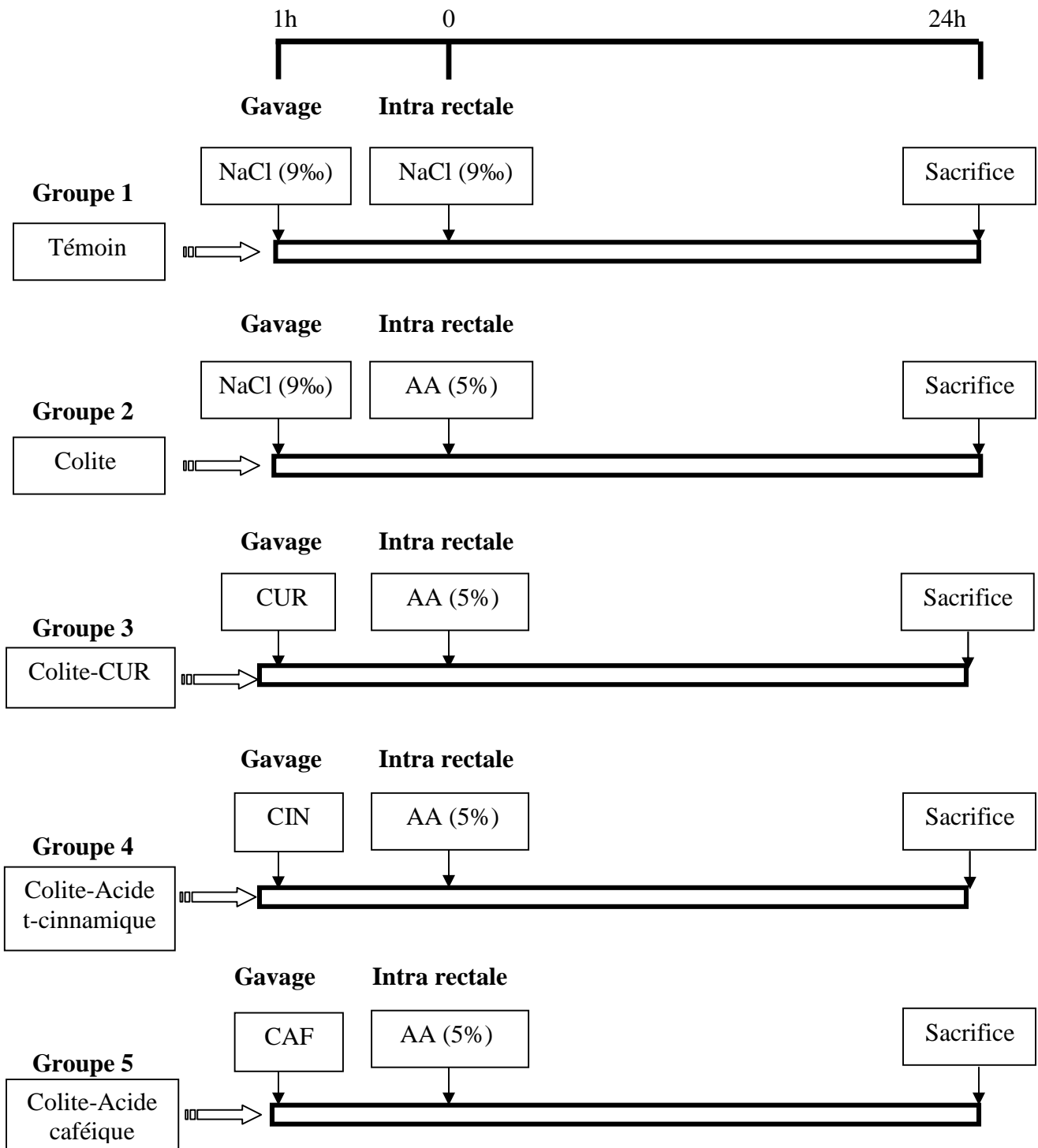
Les souris ont été réparties en 5 lots, mis à jeun pendant une nuit, puis traitées comme suit :

- Un premier groupe témoin (n = 6) a reçu 200µl de l'eau physiologique (NaCl 9‰) par voie intra rectale et 300µl de NaCl (9‰) par voie orale 1h avant l'injection.
- Le deuxième groupe colite (n = 5) a reçu 200µl de l'acide acétique (5%) par voie intra rectale et 300µl de NaCl (9‰) par voie orale 1h avant l'induction de la colite.
- Le troisième groupe traité à la curcumine (n = 4), les souris reçoivent une instillation 200µl d'une solution d'acide acétique (5%) par voie intra rectale et 300µl de curcumine 60mg/kg par voie orale 1h avant l'induction de la colite.
- Le quatrième groupe traité à l'acide trans-cinnamique (n = 4), les souris reçoivent une instillation 200µl d'une solution d'acide acétique (5%) par voie intra rectale et 300µl d'acide trans-cinnamique 30mg/kg par voie orale 1h avant l'induction de la colite.
- Le cinquième groupe traité à l'acide caféique (n = 6), les souris reçoivent une instillation 200µl d'une solution d'acide acétique (5%) par voie intra rectale et 300µl d'acide caféique 30mg/kg par voie orale 1h avant l'induction de la colite.

L'ensemble des animaux a été sacrifié 24h après l'induction de la colite.

Le modèle expérimental a été choisi pour plusieurs raisons :

- il est bien maîtrisé et caractérisé au sein de laboratoire ;
- il présente des homologues avec la colite aiguë ;
- dans ce modèle, l'inflammation est induite rapidement.



**Figure 10.** Le protocole pharmacologique *in vivo*

### **2.2.2. Sacrifice des animaux et récupération des organes**

Les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale, et les côlons ont été prélevés, ouverts et lavés dans une solution d'eau physiologique à +4°C. Les côlons bruts ont été analysés macroscopiquement pour la recherche de zones enflammées. La taille des côlons a été également mesurée.

Les échantillons coliques ont été ensuite découpés en deux parties (partie distale et partie proximale).

La partie distale a été divisée en deux fractions, une destinée à l'étude biochimique (conservée dans une solution d'eau physiologique à -20°C), l'autre fixée dans du formol tamponné pour l'étude histologique.

### **2.2.3. Etude biochimique**

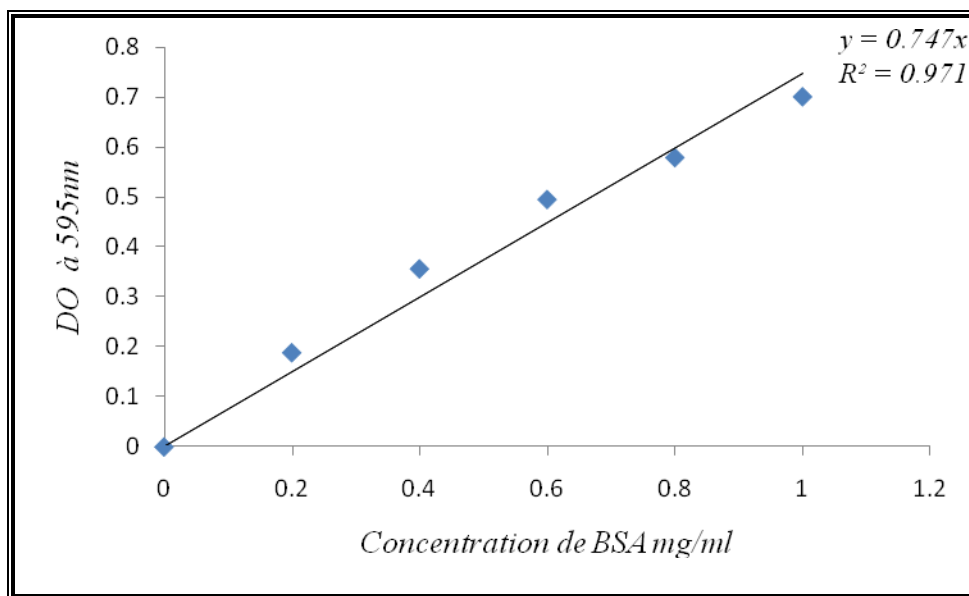
#### **2.2.3.1. Préparation des échantillons**

Les fractions coliques destinées à l'étude biochimique, ont été homogénéisées (5 cycles de 10 secondes), soumis à 3 cycles de congélation/décongélation puis centrifugées à 10000g/10min.

#### **2.2.3.2. Dosage protéique par la technique de Bradford**

La technique de Bradford est une technique colorimétrique, qui implique la liaison entre un colorant (Bleu de coomassie G-250) et des protéines (Bradford., 1976). Cette liaison provoque un déplacement de l'absorbance maximale du colorant de 465 à 595nm. Cette méthode est très reproductible, et très rapide, où le processus de liaison du colorant se fait en 2 minutes environs, avec une bonne stabilité de la couleur en 1 heure.

Les concentrations protéiques sont déterminées à l'aide d'une courbe étalon de la BSA (Bovine Serum Albumin) (Fig. 11).



**Figure 11.** Courbe étalon Bradford

#### 2.2.3.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du MDA, produit final du processus de la peroxydation lipidique et marqueur du stress oxydatif, a été réalisé selon la méthode d'Ohkawa et ses collaborateurs (1979). Cette technique est basée sur la réaction de deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) avec une molécule de MDA à chaud et en milieu acide pour donner un composé de couleur rose qui absorbe à 532nm.

Le taux de MDA dans les différents surnageants coliques est exprimé en nmoles/mg de protéines.

#### 2.2.3.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le glutathion représente le principal scavenger non enzymatique des radicaux libres (Loguercio et Coll., 1999). Le GSH colique est déterminé par la méthode décrite par Ellman (1959). Le GSH réagit avec le réactif d'Ellman (5,5-dithio-2-nitrobenzoïque acid) dans un milieu alcalin (pH 8.0), pour donner un produit de couleur jaune qui absorbe à 412nm. Les concentrations de GSH sont exprimées en nmoles/mg de protéines.

### 2.2.3.5. Dosage de l'activité catalase

L'activité catalase a été mesurée comme marqueur du système antioxydant enzymatique.

Le dosage de l'activité catalase a été réalisé selon la méthode de Beutler (1975). Cette dernière est basée sur la détermination de la cinétique de dégradation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et oxygène à 240nm en présence de l'échantillon à analyser. Cette cinétique a été suivie pendant 3min, et les DO enregistrées toutes les 30 secondes. L'activité catalase est exprimée en U/mg de protéines, avec U qui est égale à  $(2.30/t) (\log A_1/A_2)$ , dont t, est le temps en seconde, A<sub>1</sub>, l'absorbance à temps zéro et A<sub>2</sub>, l'absorbance à 3min.

### 2.2.3.6. Dosage de l'activité myéloperoxydase (MPO)

La myéloperoxydase (MPO) est une puissante enzyme oxydante, qui est abondamment exprimée dans les polymorphonucléaire neutrophiles (PMN). Elle catalyse la réaction suivante :



L'activité MPO est dosée selon la méthode de Krawisz et ses collaborateurs (1984). L'*O*-dianizidine est oxydé en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de la myéloperoxydase en un produit de couleur jaune qui absorbe à 460nm. La cinétique enzymatique est suivie pendant 2min, et la DO enregistrée toutes les 30sec. L'activité MPO est exprimée en  $\mu\text{M}$  de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> transformée/min/ mg de protéines.

### 2.2.4. Etude histologique

Une fraction de la partie distale de chaque côlon a été fixée pendant une nuit dans du formol à 10%, puis déshydratée à l'aide de bains croissant d'éthanol (1bain à 70°, 2 bains à 90° et 3 bains à 100°), suivie de 2 bains de toluène (5min chaque bain). Après une nuit d'imprégnation à la paraffine à 60°C et confection des blocs, des coupes de 4 $\mu\text{m}$  ont été réalisées puis collées sur des lames avec une solution de gélatine à 0,4%. 24 heures après, les lames ont été déparaffinées, réhydratées et colorées à l'hématoxyline et éosine. Les coupes ont été ensuite observées au microscope photonique après montage des lamelles.

### 2.2.5. Analyse statistique

Les résultats présentés sous la forme d'histogramme sont exprimés comme moyenne  $\pm$  écart type. Les comparaisons statistiques entre groupe témoin et colite, entre groupe colite et colite traitée par les molécules antioxydantes sont réalisées par le test de *Student*.

Les significations statistiques des différences entre deux moyennes a été évaluée par le test « t » de Fischer-Student et les valeurs des probabilités p.

- $p > 0,05$  : différence non significative
- $p < 0,05$  : différence significative (\* : vs lot témoin) et (# : vs lot colite)
- $p < 0,01$  : différence très significative (\*\* : vs lot témoin) et (## : vs lot colite)
- $p < 0,001$  : différence hautement significative (\*\*\*) : vs lot témoin) et (### : vs lot colite)

***RESULTATS***

***ET***

***DISCUSSION***

## Chapitre 3 : Résultats et Discussion

### 3.1. Colite aiguë induite par l'acide acétique (5%) chez des souris blanches

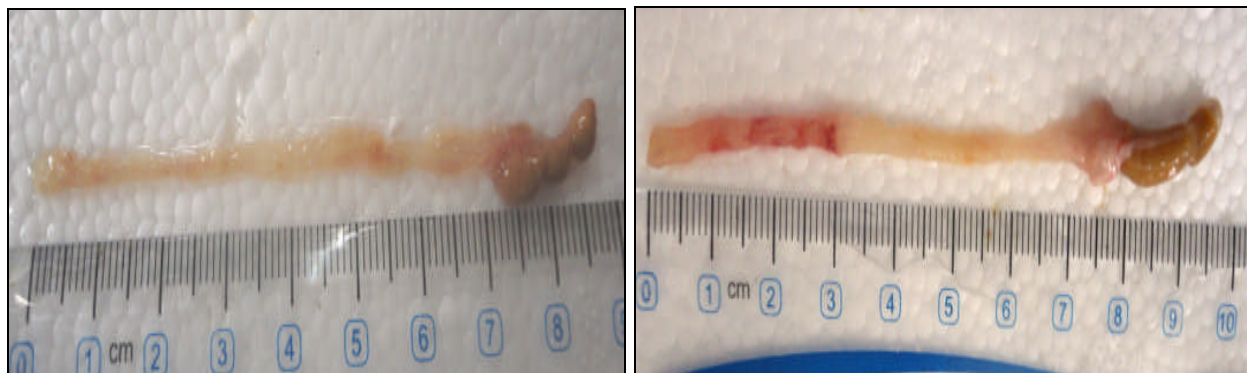
La colite expérimentale induite par l'acide acétique à 5% est un modèle murin de colite aiguë, qui mime la phase active des pathologies inflammatoires de l'intestin observées chez l'homme.

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'implication du stress oxydatif dans la colite aiguë à l'acide acétique. D'autre part, d'étudier l'effet protecteur de plusieurs antioxydants naturels structurellement apparentés (acide trans-cinnamique, acide caféique et curcumine), dans le but de déterminer la structure et/ou le groupement chimique porteur de l'effet thérapeutique escompté.

L'inflammation induite dans le côlon par l'acide acétique a été évaluée par une étude macroscopique et une étude histologique. Biochimiquement, la balance redox dans le côlon a été évaluée par le taux de GSH et l'activité catalase, parallèlement aux marqueurs du stress oxydatif, le taux de MDA et l'activité myéloperoxydase (MPO) comme marqueur de l'infiltration tissulaires des polynucléaires neutrophiles (PNs).

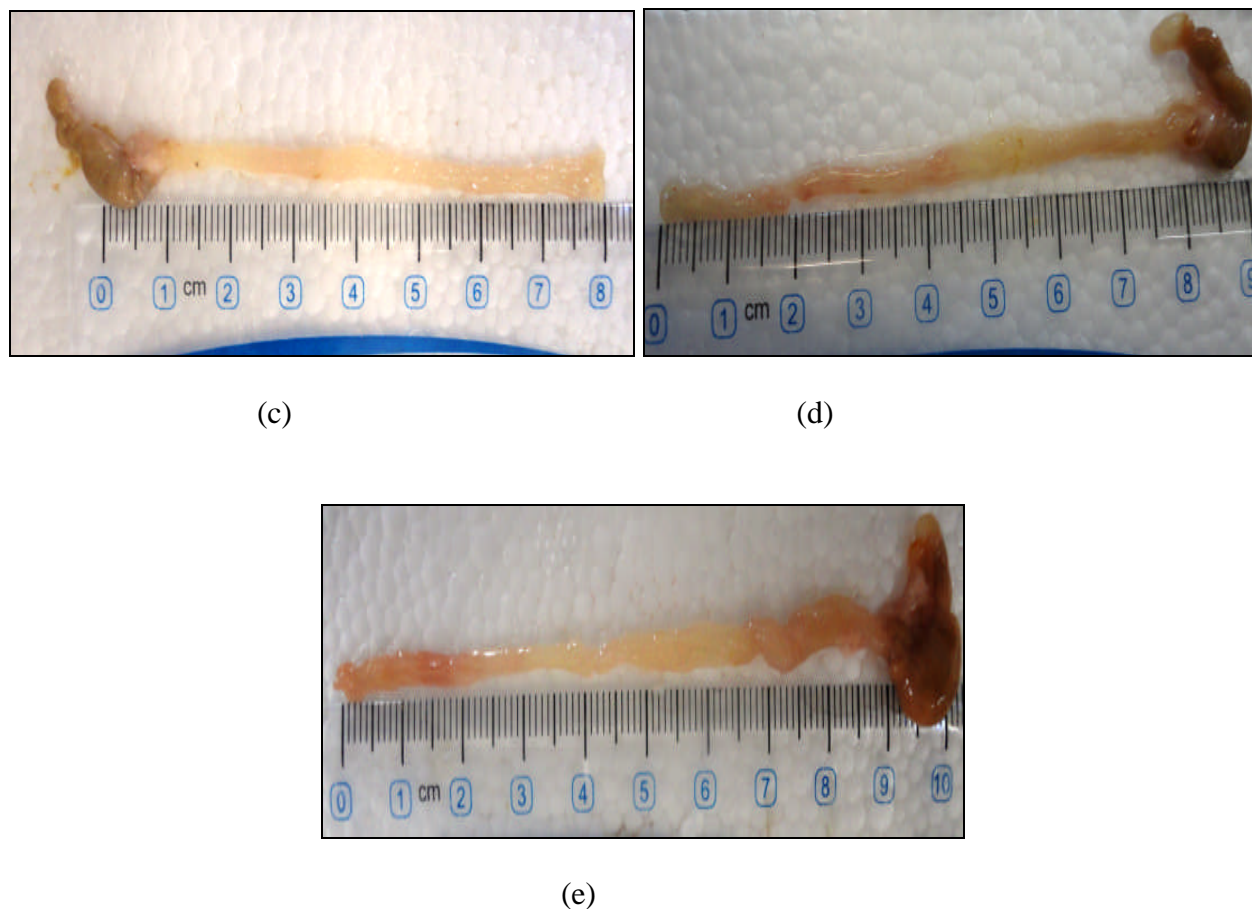
### 3.2. Dommages macroscopiques induits par l'acide acétique (5%) sur l'intégrité du côlon

Les photographies (a, b, c, d, e) des côlons prélevés sur des souris sacrifiées 24h après induction de la colite.



(a)

(b)



**Figure 12.** Lésions macroscopiques des côlons de souris témoins (NaCl 0,9%) (a), traitées par l'AA (5%) (b), prétraitées par la curcumine (60mg/kg) (c), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) (d) et l'acide caféique (30mg/kg) (e)

Les côlons de souris ayant reçu une instillation de NaCl 0,9%, présentent un aspect normal avec absence totale de rougeurs et d'ulcérations (Fig. 12a).

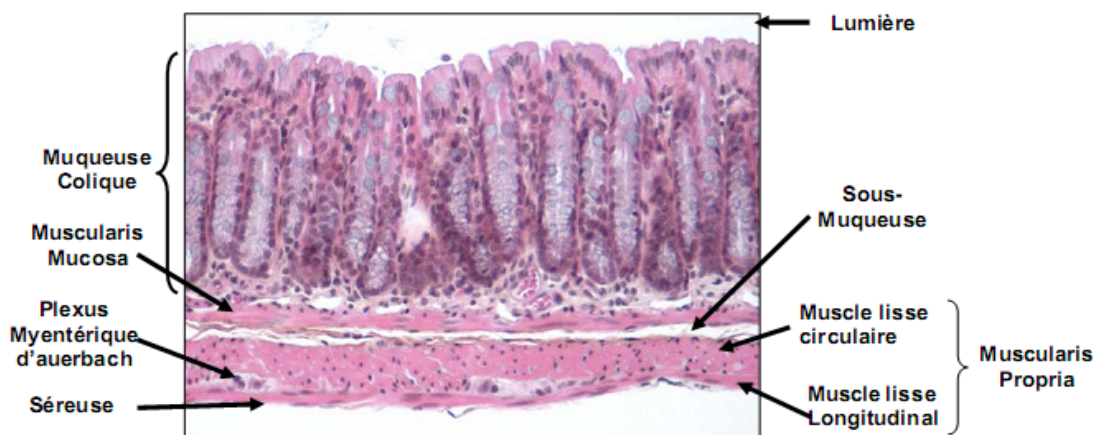
Au contraire, les côlons de souris ayant reçu une instillation d'acide acétique (5%) présentent une inflammation de la muqueuse des côlons distaux, caractérisées par des rougeurs, des hémorragies et des ulcérations (Fig. 12b). Ce résultat suggère le développement d'une colite aiguë spécifiquement au niveau du côlon distal, 24h après instillation de l'acide acétique. Cependant, la longueur moyenne des côlons de souris traitées avec l'acide acétique ne diffère pas de celle des témoins ( $7.40 \pm 1,10$ cm pour le lot colite contre  $7,75 \pm 1,25$ cm mesurée dans le lot témoin).

### 3.3. Effet macroscopique des molécules antioxydantes sur la colite aiguë induite par l'acide acétique (5%)

Le prétraitement des souris avec la curcumine (60mg/kg) a réduit totalement ces altérations macroscopiques, 24h après induction de la colite. Les côlons de souris traitées avec l'antioxydant présentent un aspect comparable à celui des côlons témoins (Fig. 12c). Cependant, le prétraitement avec l'acide caféique (30mg/kg) ou à l'acide trans-cinnamique (30 mg/kg) ne réduit pas efficacement la rougeur induite par l'acide acétique (Fig. 12d, e). En effet, les côlons présentent une rougeur mais qui est à la fois moins intense et moins étendue que celle observée avec l'acide acétique seul.

### 3.4. Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'architecture tissulaire du côlon

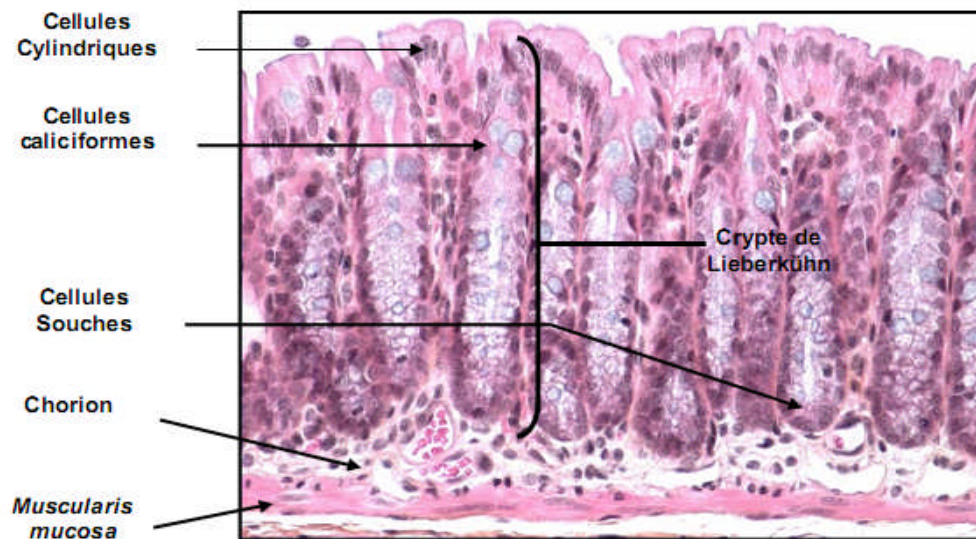
L'observation de coupes histologiques du côlon distal de souris témoins montre une structure colique normale (Fig. 15, 16, 17). La paroi colique est constituée de quatre couches : muqueuse, sous muqueuse, musculuse et séreuse (Fig. 13).



**Figure 13.** Structure de la paroi colique chez des souris (Beaulieu., 1999).

**La muqueuse colique (M)** est la partie de la paroi intestinale en contact avec la lumière. Elle est composée uniquement de cryptes (Fig. 14), contrairement à la muqueuse de l'intestin grêle qui présente à la fois des villosités et des cryptes.

Les cryptes du côlon ou cryptes de Lieberkühn (Lie) sont formées d'un épithélium composé des cellules entérocytes (CE) et calciformes (CC). Cet épithélium s'invagine dans un tissu conjonctif appelé chorion ou lamina propria (Ch) contenant des polynucléaires neutrophiles (PNs) et d'autres cellules du système général de défense. Le chorion est riche en capillaires sanguins et lymphatiques nécessaires à la sécrétion, à l'absorption et aux autres fonctions actives de la muqueuse.



**Figure 14.** Muqueuse colique de souris (Beaulieu., 1999).

**La sous muqueuse (SM)** est constituée d'un tissu conjonctif dense séparé de la muqueuse par une fine couche de cellules musculaires lisses, la Musculaire Muqueuse (**MM**). Celle-ci comprend une couche interne circulaire et une couche externe longitudinale. La sous muqueuse est un tissu conjonctif riche en fibres et en cellules immunes, parmi lesquelles les mastocytes. Il est irrigué par des vaisseaux sanguins et lymphatiques de diamètre important qui portent la vascularisation muqueuse, plus fine. On y trouve également des nerfs et de petites quantités de tissu adipeux chez l'homme.

**La musculature (MU)** se compose d'une couche de muscles lisses circulaire interne et d'une couche longitudinale externe discontinue disposée en 3 bandes reliées par de fins faisceaux. La contraction des muscles lisses du côlon est sous le contrôle du système nerveux autonome en particulier le système nerveux parasymphatique.

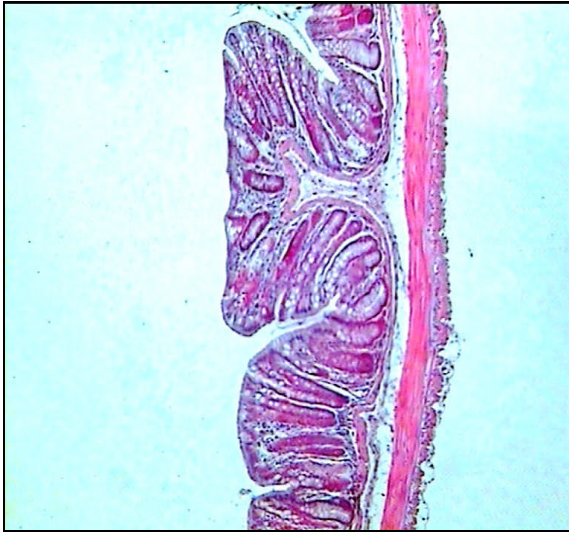
**La séreuse (S)** est la couche la plus externe de l'intestin. Elle est composée d'un tissu conjonctif lâche, qui soutient les gros vaisseaux et les nerfs, qui irriguent et innervent la musculaire externe.

L'étude histologique des côlons de souris traitées à l'acide acétique montre une désorganisation de la muqueuse colique avec perte des cryptes de Lieberkühn. Un rétrécissement de l'épaisseur de la muqueuse est également observé, ce qui correspond au phénomène d'érosion. Plusieurs foyers hémorragiques sont apparents (Fig. 18, 19). De plus, cette muqueuse est infiltrée de cellules inflammatoires parmi lesquels on trouve de nombreux PNs (Fig. 20). Les PNs infiltrent également la sous muqueuse. L'ensemble de ces lésions sont en accord avec l'aspect macroscopique des côlons, et oriente vers le développement d'une colite aiguë suite à l'instillation de l'acide acétique.

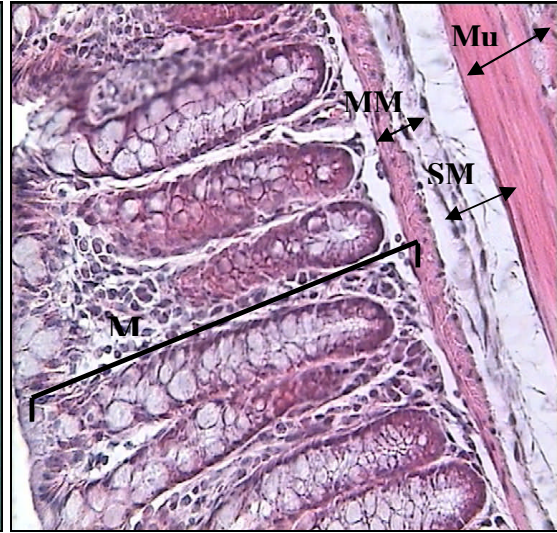
La paroi colique des souris prétraitées avec la curcumine (60mg/kg), montre une architecture normale très proche de celle des souris témoins. Toutefois, une infiltration des PNs mais avec une intensité moindre que celle obtenu avec l'acide acétique seul (Fig. 21, 22).

L'observation des coupes histologiques réalisées sur des côlons de souris prétraitées à l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) montre une réduction de la gravité des altérations tissulaires, l'infiltration de PN est minime. Il est également important de noter l'absence totale d'hémorragies au niveau de la muqueuse (Fig. 23, 24), en comparaison au lot acide acétique.

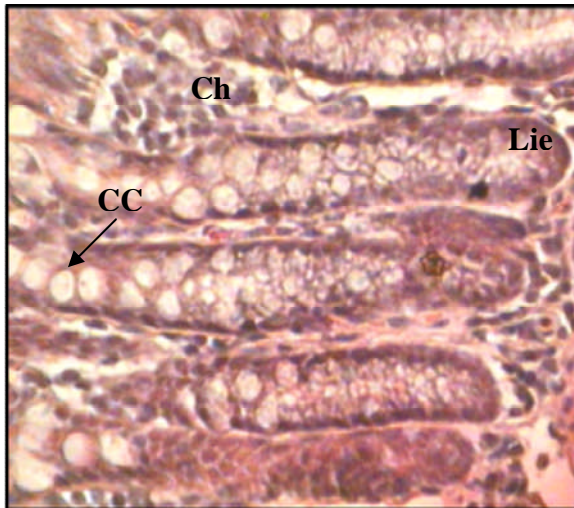
Enfin, le prétraitement des souris avec l'acide caféique (30mg/kg), réduit partiellement l'intensité de la colite par l'acide acétique. En effet, les coupes histologiques du groupe acide caféique montrent la présence de cryptes de Lieberkühn, avec persistance des hémorragies et de l'infiltrat inflammatoire (Fig. 25, 26).



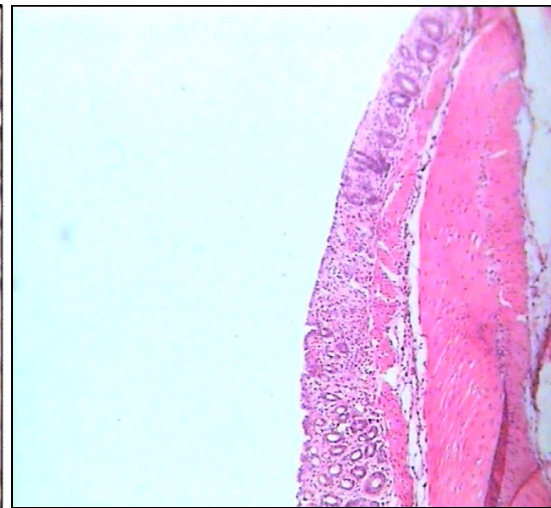
**Figure 15.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×10).



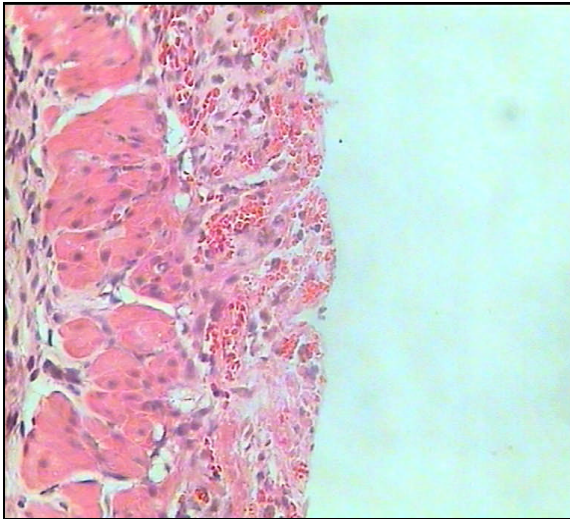
**Figure 16.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×40).



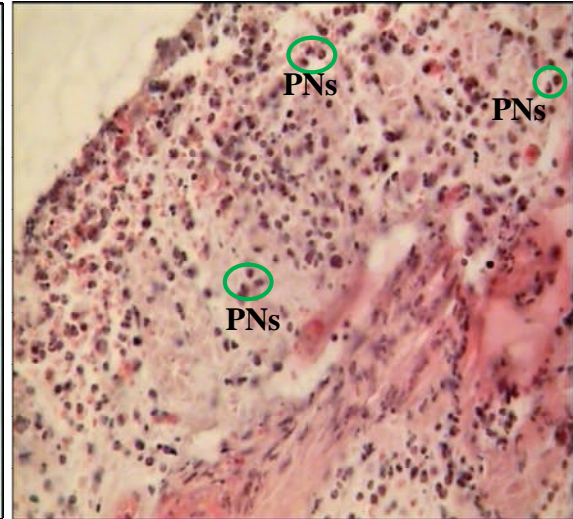
**Figure 17.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris témoin (G×100).



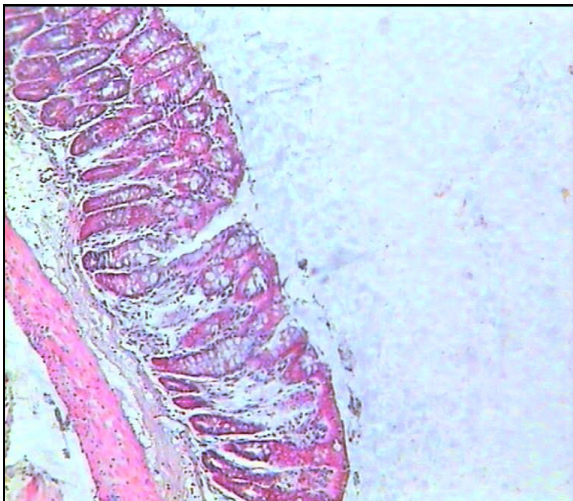
**Figure 18.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% (G×10).



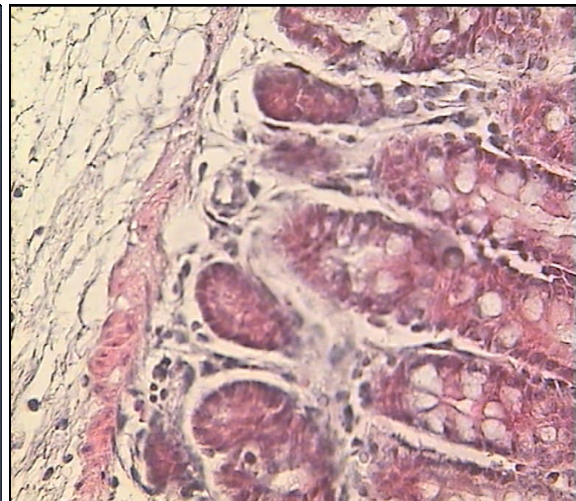
**Figure 19.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% (G×40).



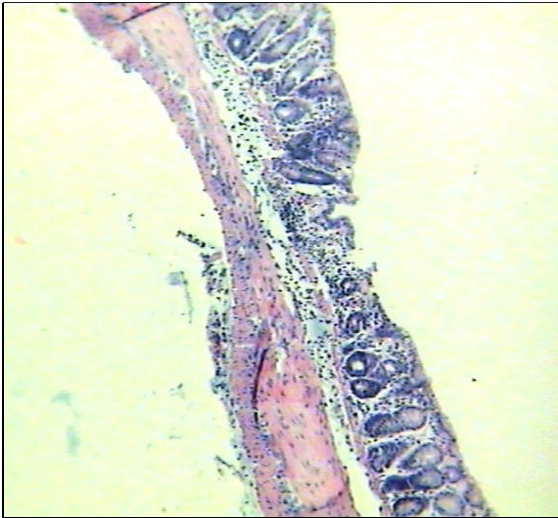
**Figure 20.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% (G×100).



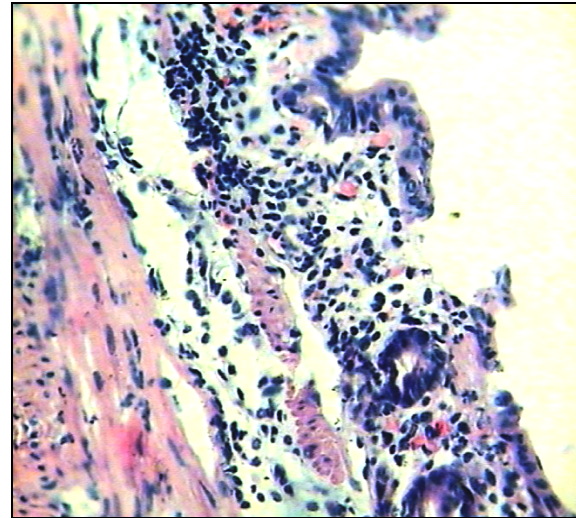
**Figure 21.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par la curcumine 60mg/kg (G×10).



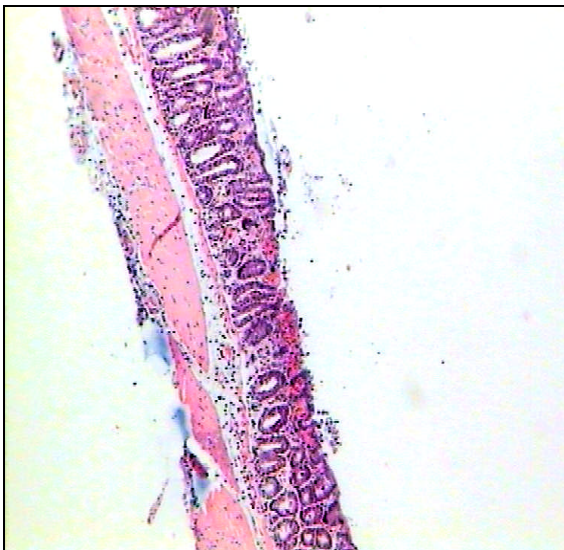
**Figure 22.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par la curcumine 60mg/kg (G×40).



**Figure 23.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par l'acide trans-cinnamique 30mg/kg (G×10).



**Figure 24.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par l'acide trans-cinnamique 30mg/kg (G×40).



**Figure 25.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par l'acide caféique 30mg/kg (G×10).



**Figure 26.** Coupe transversale du côlon distal d'une souris traitée à l'acide acétique 5% et prétraitée par l'acide caféique 30mg/kg (G×40).

### 3.5. Résultats biochimiques

Dans le but d'étudier l'implication du stress oxydatif et l'infiltration des cellules inflammatoires dans la colite aiguë, le taux de MDA et de GSH ainsi que les activités catalase (CAT) et myéloperoxydase (MPO) ont été mesurés dans les homogénats des côlons distaux de souris soumis aux différents traitements.

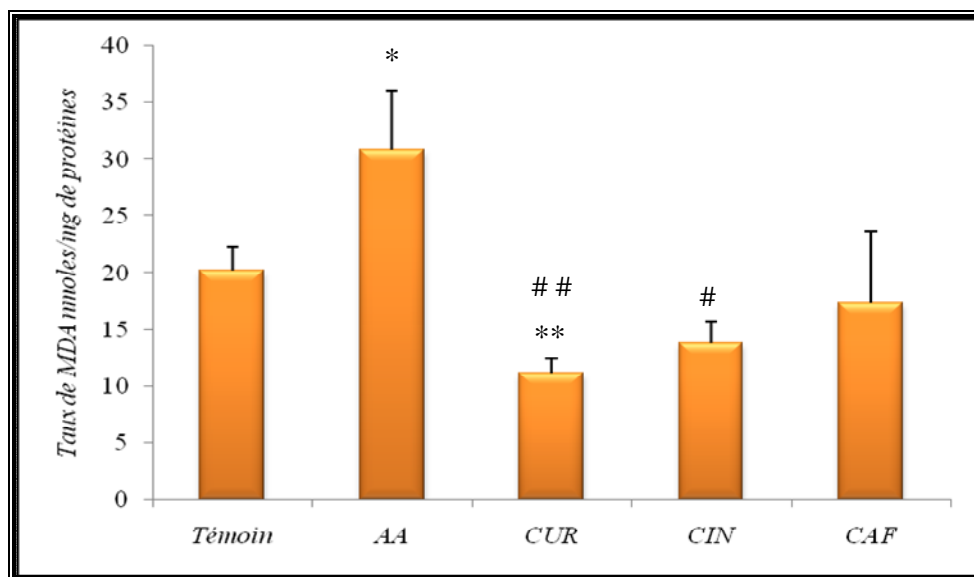
#### 3.5.1. Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur le taux de MDA

La formation du malondialdéhyde (MDA) est un indicateur de la peroxydation des lipides dans la muqueuse colique au cours de la colite aiguë.

Les taux de MDA dans les homogénats des côlons distaux ont été mesurés et regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 6.** Taux de la peroxydation lipidique exprimé en nmoles/mg de protéines dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg)

Traitements	Témoin	Acide acétique (5%)	AA(5%) + CUR (60mg/kg)	AA(5%) + CIN (30mg/kg)	AA(5%) + CAF (30mg/kg)
Taux de MDA (nmoles/mg de protéines)	20,21±2,03	30,85±5,16	11,20±1,34	13,83±1,95	17,40±6,16



**Figure 27.** Effet de la curcumine (60mg/kg), acide trans-cinnamique (30mg/kg) et acide caféique (30mg/kg) sur la peroxydation lipidique dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%). \*: différence significative vs lot témoin, \*\*: différence très significative vs lot témoin, #: différence significative vs lot AA, ##: différence très significative vs lot AA.

Le taux de MDA dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins est de  $20,21 \pm 2,03$  nmol/mg de protéines. L'acide acétique (5%) instillé par voie intra rectale provoque une augmentation significative de 52.64% du taux de MDA atteignant une valeur de  $30,85 \pm 5,16$  nmol/mg de protéines.

Le prétraitement des souris avec la curcumine (60mg/kg) et l'acide trans-cinnamique (30mg/kg), 1h avant l'induction de la colite, réduit efficacement le taux de MDA ( $11,20 \pm 1,34$  nmol/mg de protéines et  $13,83 \pm 1,95$  nmol/mg de protéines, respectivement).

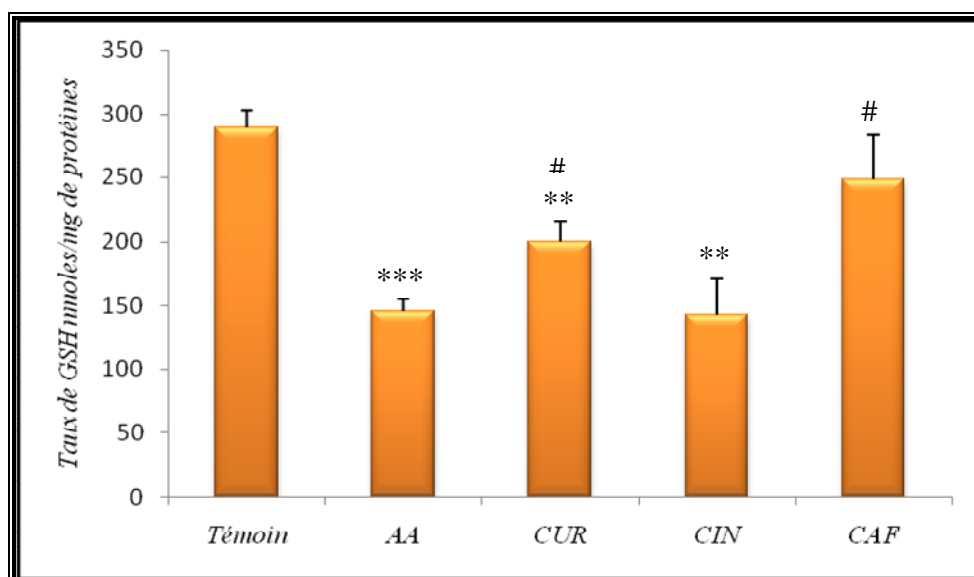
L'acide caféique (30mg/kg) administré 1h avant l'induction de la colite diminue le taux de MDA avec une valeur de  $17,40 \pm 6,16$  nmol/mg de protéines, une diminution qui reste non significative par rapport au groupe ayant reçu de l'acide acétique seul.

### 3.5.2. Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur le taux de GSH colique

Le glutathion réduit (GSH) représente le pool antioxydant intracellulaire majeur des cellules. La mesure du taux de GSH dans les homogénats des côlons distaux a donné les résultats représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 7.** Taux de glutathion réduit exprimé en nmoles/mg de protéines dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg)

Traitements	Témoin	AA (5%)	AA (5%) + CUR (60mg/kg)	AA (5%) + CIN (30mg/kg)	AA (5%) + CAF (30mg/kg)
Taux de GSH (nmoles/mg de protéines)	289,45±13,51	146,02±9,25	200,15±16,12	142,36±28,51	248,71±34,73



**Figure 28.** Effet de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg) sur le taux de GSH dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%). %.\* \*: différence très significative vs lot témoin, \*\*\* : différence hautement significative vs lot témoin, # : différence significative vs lot AA.

Le taux de GSH mesuré dans les homogénats des côlons distaux témoins est de  $289,45 \pm 13,51$  nmoles/mg de protéines. L'instillation d'acide acétique (5%) par voie intra rectale montre une réduction hautement significative de près de 50% du taux de GSH ( $146,02 \pm 9,25$  nmoles/mg de protéines).

Les doses (60mg/kg) de curcumine et (30mg/kg) d'acide caféique administrées 1h avant l'induction de la colite montrent une augmentation du taux de GSH soient ( $200,15 \pm 16,12$  nmoles/mg de protéines) et ( $248,71 \pm 34,73$  nmoles/mg de protéines) respectivement.

Le taux de GSH des souris prétraitées par l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) est de  $142,36 \pm 28,51$  nmoles/mg de protéines. Cette valeur reste très proche de celle des souris traitées à l'acide acétique seul.

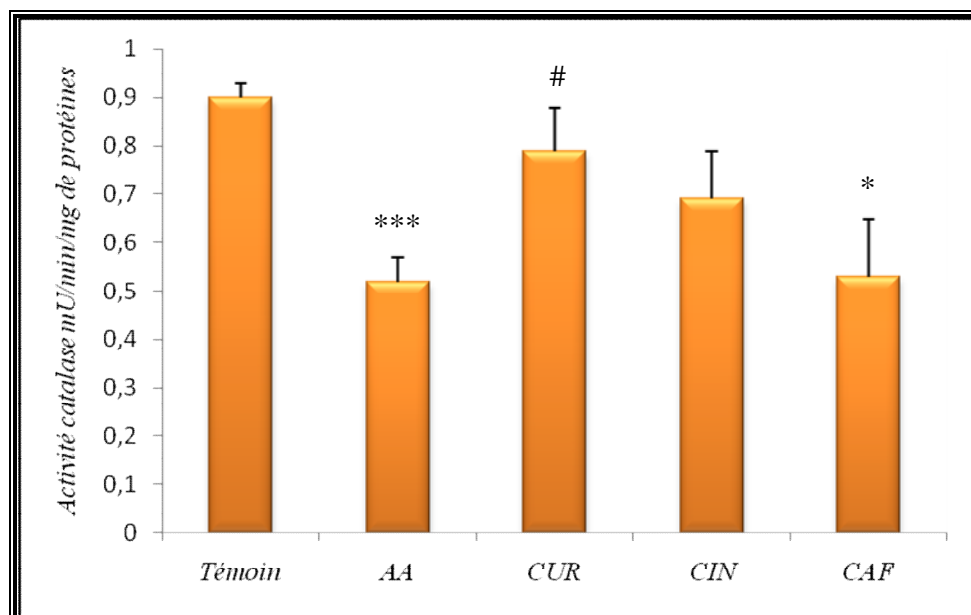
### 3.5.3. Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'activité catalase

La catalase est une enzyme antioxydante qui protège les cellules contre le peroxyde d'hydrogène qu'elle décompose en eau et oxygène. Le stress oxydatif se traduit par la diminution de l'activité catalase dans les homogénats coliques.

La mesure de l'activité catalase (CAT) dans les homogénats des côlons distaux a donné les résultats regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 8.** Activité catalase exprimée en mU/min/mg de protéines dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg)

Traitements	Témoin	AA (5%)	AA (5%) + CUR (60mg/kg)	AA (5%) + CIN (30mg/kg)	AA (5%) + CAF (30mg/kg)
Activité CAT (mU/min/mg de protéines)	$0,90 \pm 0,03$	$0,52 \pm 0,05$	$0,79 \pm 0,09$	$0,69 \pm 0,10$	$0,53 \pm 0,12$



**Figure 29.** Effet de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg) sur l'activité catalase dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%). \* : différence significative vs lot témoin, \*\*\* : différence hautement significative vs lot témoin, # : différence significative vs lot AA.

L'activité catalase (CAT) mesurée dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins est de  $0,90 \pm 0,03$  mU/min/mg de protéines. Elle diminue de 42% ( $0,52 \pm 0,05$  mU/min/mg de protéines) après instillation à l'acide acétique (5%).

Le prétraitement des souris par la curcumine (60mg/kg) ou l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) 1h avant l'induction de la colite, augmente efficacement l'activité catalase qui est égale à ( $0,79 \pm 0,09$  mU/min/mg de protéines) et ( $0,69 \pm 0,10$  mU/min/mg de protéines) respectivement.

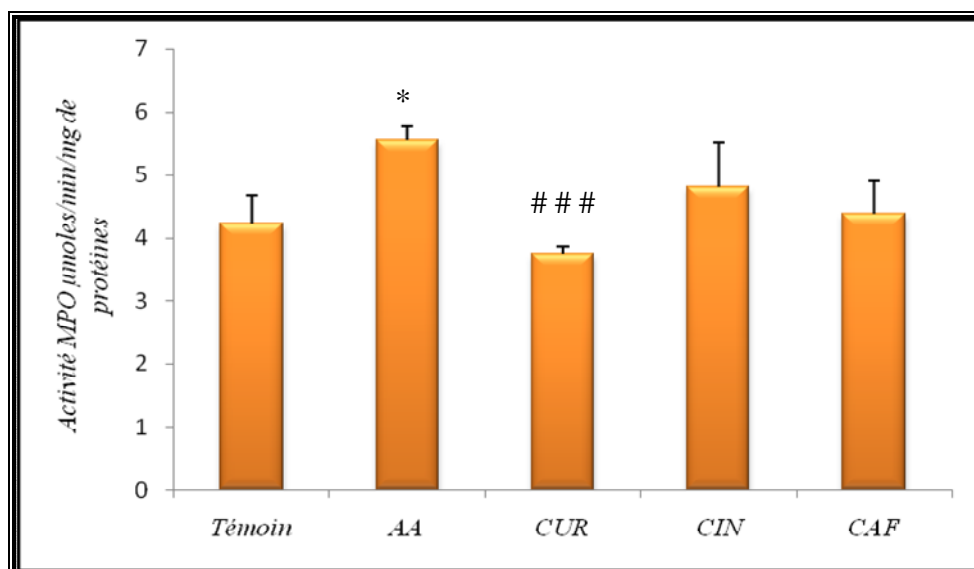
L'acide caféique (30mg/kg) ne restaure pas l'activité CAT, dont la valeur reste très proche de celle des souris traitées par l'acide acétique (5%) seul ( $0,53 \pm 0,12$  mU/min/mg de protéines).

### 3.5.4. Effet de l'acide acétique et des molécules antioxydantes sur l'activité MPO

L'activité myéloperoxydase (MPO) est un marqueur de l'infiltration des polynucléaires neutrophiles dans les tissus enflammés et sa mesure dans les homogénats des côlons distaux a donné les valeurs regroupées dans le tableau suivant :

**Tableau 9.** Activité MPO exprimée en  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines dans les homogénats des côlons distaux de souris témoins (NaCl 0,9%), traitées par l'AA (5%) seul ou en présence de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg)

Traitements	Témoin	AA (5%)	AA (5%) + CUR (60mg/kg)	AA (5%) + CIN (30mg/kg)	AA (5%) + CAF (30mg/kg)
Activité MPO ( $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	4,22 $\pm$ 0,45	5,54 $\pm$ 0,23	3,75 $\pm$ 0,11	4,82 $\pm$ 0,69	4,39 $\pm$ 0,52



**Figure 30.** Effet de la curcumine (60mg/kg), l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) et l'acide caféique (30mg/kg) sur l'infiltration des PN dans les homogénats des côlons distaux de souris traitées par l'acide acétique (5%). \* : différence significative vs lot témoin, ### : différence hautement significative vs lot AA.

La mesure de l'activité MPO dans la partie distale des côlons témoins est de  $4,22 \pm 0,45 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines. Cette activité augmente de 31% ( $5,54 \pm 0,23 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) après instillation à l'acide acétique (5%).

Le prétraitement des souris par la curcumine (60mg/kg), 1h avant l'induction de la colite, réduit efficacement l'activité MPO par rapport à celle des souris traitées à l'acide acétique 5% seul ( $3,75 \pm 0,11 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines).

Le prétraitement des souris par l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) ou l'acide caféique (30mg/kg) 1h avant l'induction de la colite, réduit l'activité MPO respectivement à des valeurs de  $4,82 \pm 0,69 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines et  $4,39 \pm 0,52 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines comparées à celle des souris traitées à l'acide acétique (5%) seul, mais celles-ci restent non significatives.

# ***DISCUSSION GENERALE***

## Chapitre 4 : Discussion générale

### - L'acide acétique instillé par voie intra rectale induit une colite aiguë

Dans la présente étude, une colite expérimentale a été induite par une instillation du côlon distal avec de l'acide acétique à 5% (correspondant à une dose de 6µl/g de poids corporel) chez des souris *Swiss*.

La colite s'est traduite 24h plus tard par des altérations macroscopiques, histologiques et biochimiques. Les altérations histologiques sont caractérisées par une infiltration de polynucléaires neutrophiles (PNs) dans la muqueuse et la sous muqueuse et une désorganisation de l'architecture de la muqueuse colique. Les coupes histologiques montrent des érosions profondes et des foyers hémorragiques. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Elson et Coll. (Elson et Coll., 1995), qui rapportent des lésions macroscopiques et histologiques dans le côlon distal de souris après l'induction de la colite par l'acide acétique.

L'infiltration de la muqueuse colique par les PNs serait l'étape clé du déclenchement d'inflammation aiguë induite par l'acide acétique. En effet, le recrutement de PN hyperactif provoque l'accumulation des ROS conduisant à un stress oxydatif dans des microenvironnements de la muqueuse, parallèlement à la réduction des défenses cellulaires antioxydantes (Flohe et Coll., 1985).

Dans notre étude, les altérations histologiques sont associées à une augmentation significative et concomitante de l'activité MPO et du taux de malondialdéhyde (MDA), ce qui confirme le rôle central du PN dans la physiopathologie de la colite à l'acide acétique via l'induction d'un stress oxydatif. La peroxydation des lipides induits par les ROS est une réaction en chaîne qui conduit à l'altération de la fluidité membranaire, l'inhibition et dénaturation des enzymes, l'inhibition de la chaîne respiratoire à l'origine de la mort cellulaire par apoptose et/ou nécrose cellulaire. Les produits de la peroxydation lipidique comme le MDA présentent également une activité chimio attractante, contribuant ainsi à une infiltration d'autant plus importante de PN dans la muqueuse colique. Enfin, les lipides peroxydés peuvent activer des médiateurs de l'inflammation par activation du facteur nucléaire kappa B (NF-κB), qui est un facteur de transcription ubiquitaire impliqué dans la régulation de plusieurs gènes dans les réponses immunitaires et inflammatoires (Thomson et Coll., 1998).

Dans notre étude, l'instillation de l'acide acétique a entraîné aussi une diminution du taux de GSH et de l'activité catalase, en accord avec un travail antérieur (Nosal'ova et Coll., 2001).

#### **- La curcumine 60mg/kg prévient efficacement la colite à l'acide acétique (5%)**

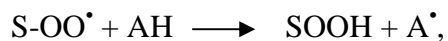
Le rôle protecteur de la curcumine a été étudié sur le modèle de colite à l'acide acétique (5%).

La curcumine (60mg/kg) a été administrée 1h avant l'instillation de l'acide acétique. Cette molécule a réduit l'activité MPO de 32%, traduisant une réduction de l'infiltration du côlon par les PN. En effet, les coupes histologiques du côlon des souris prétraitées par la curcumine (60mg/kg), ont montré une forte réduction de l'infiltration des cellules inflammatoires, qui est corrélée positivement avec la réduction des altérations tissulaires coliques (Lubbad et Coll., 2008). De plus, la curcumine a diminué les taux de MDA de près de 64% et a augmenté parallèlement le taux de GSH et l'activité catalase de près de 37% et de 52%.

Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux réalisés sur des souris (Billerey-Larmonier et Coll., 2008) et des rats (Jian et Coll., 2004).

L'effet protecteur de la curcumine ne serait pas dû uniquement à un seul mécanisme d'action, mais plutôt à la combinaison de plusieurs effets pharmacodynamiques. En effet, la curcumine est un puissant antioxydant, scavenger des ROS comme les anions superoxyde ou le radical hydroxyle. Son activité antioxydante est 10 fois plus importante que celle de la vitamine E (Chattopadhyay et Coll., 2004 ; Sandur et Coll., 2007). De plus, la curcumine préserve l'activité des enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (Somparn et Coll., 2007). Ces effets combinés permettent à la curcumine de réduire le stress oxydatif et de prévenir l'altération de la muqueuse colique.

Le mécanisme antioxydant de la curcumine est attribué à sa structure, incluant la forme énol de la  $\beta$ -dicétone (Fig. 31) et les phénols méthoxylés (Fig. 32). Le processus antioxydant de la curcumine non enzymatique se fait en deux étapes :



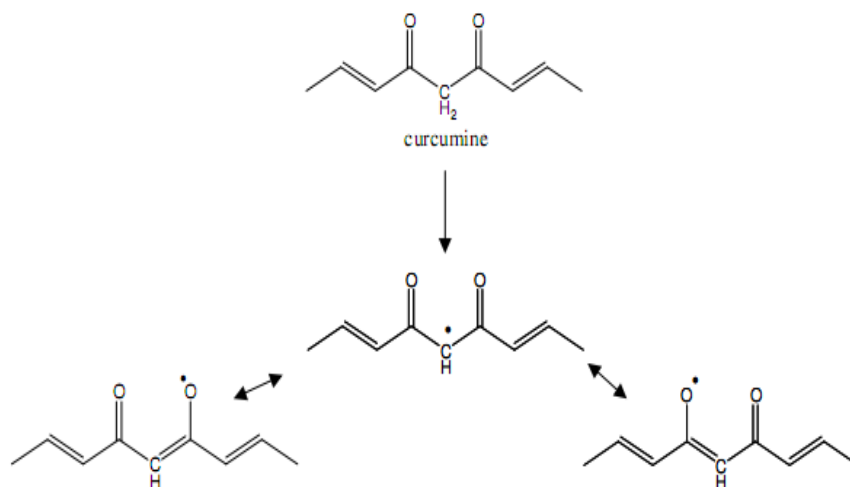
S est la substance oxydée,

AH l'antioxydant phénolique,

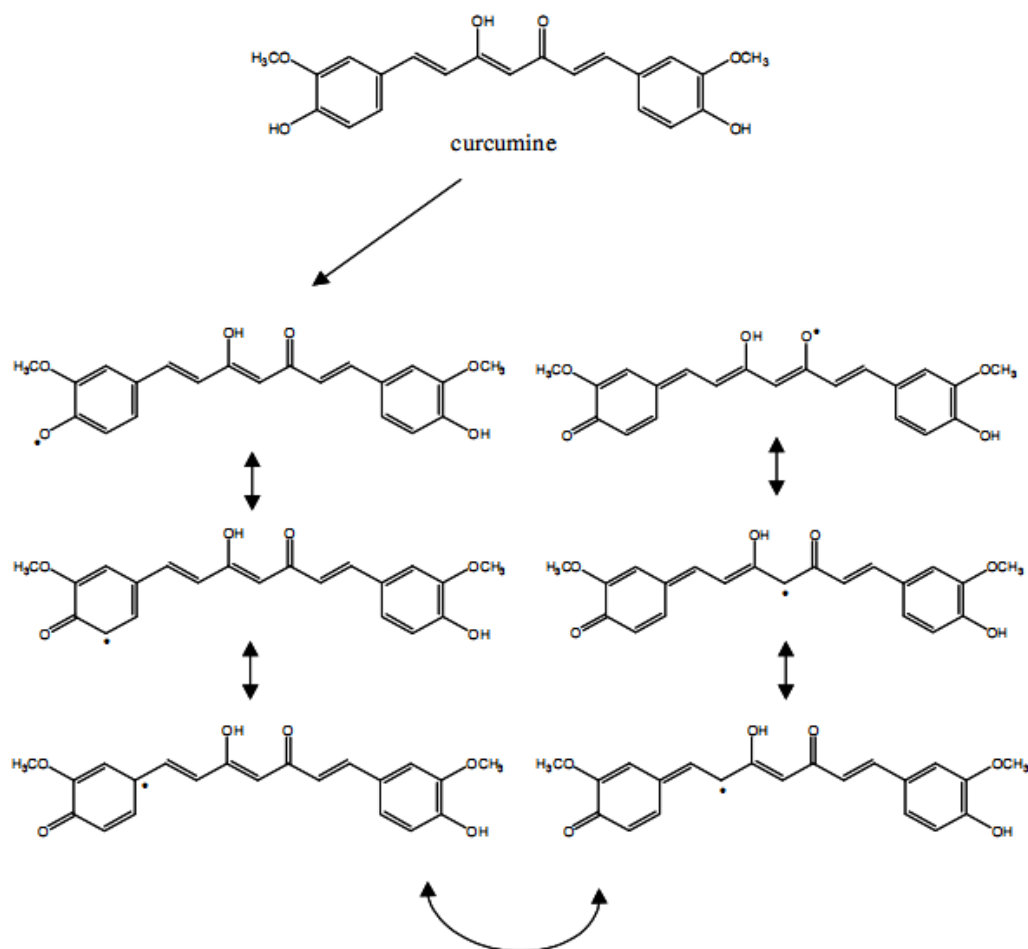
A<sup>•</sup> le radical antioxydant et X<sup>•</sup> un autre radical,

A<sup>•</sup> et X<sup>•</sup> se dimérisent pour former un produit non radical (Chattopadhyay et Coll., 2004).

Les autres mécanismes à l'origine de l'effet protecteur de la curcumine comprennent, l'inhibition de l'activation de NF-kB, l'inhibition de cyclooxygénase 2 (COX2) ainsi que celle la lipoxygénase (LOX), 2 enzymes productrices de médiateurs lipidiques impliquées dans le processus inflammatoire (Jurenka et Coll., 2009).



**Figure 31.** Formes mésomères du radical « central » (Chattopadhyay et Coll., 2004)



**Figure 32.** Formes mésomères du radical phénolique (Chattopadhyay et Coll., 2004)

**- L'acide caféique 30mg/kg a peu d'effet sur la colite à l'acide acétique (5%)**

Le prétraitement des souris à l'acide caféique (30mg/kg) 1 h avant l'induction de la colite, a montré après 24h, une amélioration partielle des lésions macroscopiques du côlon distal. Au niveau histologique, l'infiltration des PNs est réduite dans la muqueuse, mais persiste dans la sous muqueuse. Ainsi, l'acide caféique (30mg/kg) a amélioré les altérations histologiques induites par l'acide acétique (5%), mais de manière modérée comparé à la curcumine.

L'administration de l'acide caféique a réduit l'activité MPO de 21% et le taux de MDA près de 44% comparé au groupe acide acétique. Bien que l'acide caféique a augmenté le taux de GSH de près de 70%, cet antioxydant reste sans effet sur l'activité catalase qui n'a pas été restaurée dans nos conditions expérimentales.

L'acide caféique possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-radicalaires contre les espèces réactives de l'oxygène libérées, dans le côlon distal principalement par les PNs (Chung et Coll., 2006).

L'activité antioxydante de l'acide caféique est due à la présence de deux groupes hydroxyles dans sa structure. Ces derniers ont la capacité de capturer et de désactiver les radicaux libres, ce qui assure une forte activité anti-radicalaire à l'acide caféique.

#### **- L'acide trans-cinnamique 30mg/kg a peu d'effet sur la colite à l'acide acétique (5%)**

Le prétraitement des souris par une dose de 30mg/kg d'acide trans-cinnamique a indiqué une réduction de la gravité des altérations tissulaires induites par l'acide acétique 5%, au niveau macroscopique et histologique.

Cet effet protecteur est associé à une réduction de l'activité MPO de près de 13%. Parallèlement, l'acide trans-cinnamique a induit une réduction significative du taux de MDA de près de 55%. L'activité catalase a augmenté de près de 33% par rapport au groupe acide acétique, alors que le taux de GSH est inchangé chez le groupe de souris prétraitées à l'acide trans-cinnamique (30mg/kg) par rapport au groupe acide acétique.

L'acide trans-cinnamique est un précurseur des composés phénoliques. Sa faible activité antioxydante serait due à l'absence de groupements hydroxyles dans la molécule et responsables de la fixation des radicaux libres.

#### **- Comparaison structure-fonction de la curcumine, l'acide caféique et l'acide trans-cinnamique sur la colite aiguë induite à l'acide acétique (5%)**

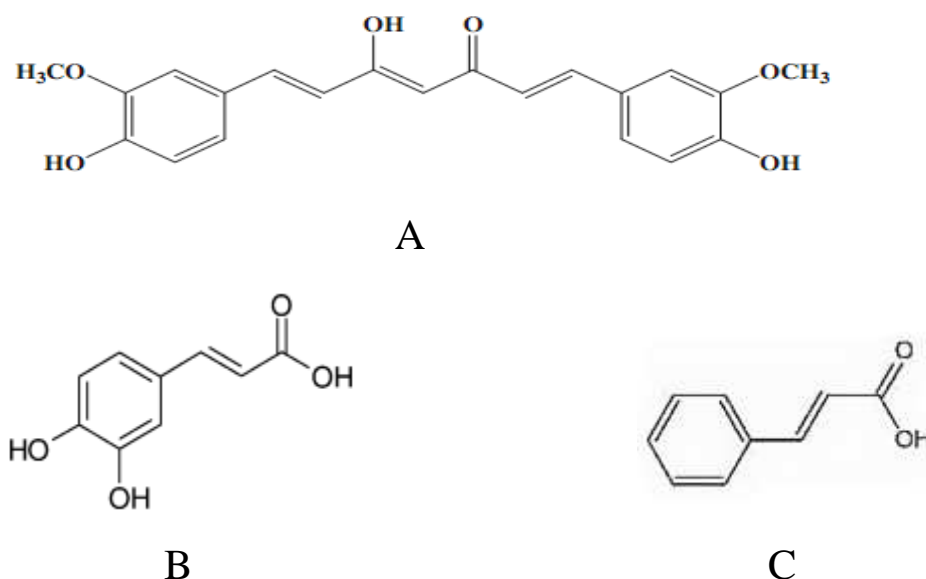
L'activité antioxydante des polyphénols est due au caractère acide de la fonction phénol (donneur d'hydrogène) et à sa possibilité d'établir des liaisons hydrogènes avec les radicaux libres.

En outre, les groupes hydroxyles et la méthylation améliorent le potentiel antioxydant. L'activité antioxydante des acides phénoliques dépend du nombre des groupes hydroxyles dans la molécule (Chattopadhyay et Coll., 2004).

La curcumine (Fig. 33A) est un polyphénol d'activité antioxydante très puissante. Elle présente les trois éléments de structure d'écrits ci-dessus, qui sont des scavengers efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique (Erben-Russ et Coll., 1987).

L'acide caféique (Fig. 33B) est un acide phénolique possédant une activité antioxydante qui reste moins importante à celle de la curcumine (présence de deux groupes hydroxyles dans sa structure).

L'acide trans-cinnamique (Fig. 33C) est aussi un acide phénolique précurseur de la curcumine possédant une faible activité antioxydante (sa structure est dépourvue des groupements hydroxyles réduit). Cependant la présence de la fonction acide améliorerait sa biodisponibilité.



**Figure 33.** Structure chimique de la curcumine (A), acide caféique (B) et acide trans-cinamique (C) (Chattopadhyay et Coll., 2004)

***CONCLUSION***

***ET PERSPECTIVES***

## **Conclusion**

Ce travail a eu pour objectif, d'une part, de rechercher un effet protecteur de la curcumine sur une colite aiguë à l'acide acétique ; et d'autre part de déterminer la relation structure-fonction de cette activité anti-inflammatoire en comparant les effets de la curcumine avec celles de ses précurseurs métaboliques, l'acide trans-cinnamique et l'acide caféique.

L'instillation intra rectale de l'acide acétique (5%) a induit des altérations macroscopiques et histologiques de la paroi colique distale. L'inflammation siège essentiellement au niveau de la muqueuse colique et se caractérise par une infiltration des PNs qui sont à l'origine d'une production massive des ROS, des œdèmes et des ulcérations hémorragiques. L'acide acétique (5%) induit une élévation significative des marqueurs du stress oxydatif (MDA et MPO) et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique (CAT et GSH).

L'administration de la curcumine à une dose de (60mg/kg) a amélioré l'état macroscopique des côlons et a prévenus l'altération de la muqueuse colique où l'inflammation est moins importante sur le plan histologique. Ce traitement a permis aussi de corriger les paramètres oxydants et antioxydants. En effet, la curcumine a réduit les taux élevés de MDA et MPO et a augmenté le pool de GSH et l'activité catalase.

Le traitement des souris à l'acide caféique (30mg/kg) a amélioré les altérations histologiques provoquées par l'acide acétique (5%), mais cette amélioration reste moins importante de celle obtenue avec la curcumine. L'acide caféique a aussi diminué le taux de marqueurs du stress oxydatif (MDA et MPO) et a augmenté le marqueur du système antioxydant non enzymatique (GSH). Cependant, l'activité catalase n'a pas été corrigée par l'acide caféique (30mg/kg).

Enfin, le prétraitement des souris avec une dose de 30mg/kg d'acide trans-cinnamique a induit une réduction de l'intensité des altérations macroscopiques et histologiques. Toutefois, bien que cet antioxydant ait réduit le marqueur de la peroxydation lipidique (MDA), le pool tissulaire de GSH n'a pas été rétabli. D'autre part, l'acide trans-cinnamique a réduit l'activité MPO et restauré l'activité catalase.

En conclusion il apparait que la curcumine est l'agent anti-inflammatoire le plus puissant comparé à ses deux précurseurs étudiés. La curcumine est une molécule qui possède des fonctions phénol, méthoxy et des groupements hydroxyles, ce qui seraient à l'origine de ses activités anti-inflammatoire et antioxydante.

L'acide caféique est un acide phénolique possédant une activité antioxydante qui reste moins importante à celle de la curcumine due à la présence unique de deux groupements hydroxyles dans sa structure.

L'acide trans-cinnamique est aussi un acide phénolique précurseur de la curcumine, possédant une faible activité antioxydante vue que sa structure est dépourvue de groupements hydroxyles. Cependant, la présence de la fonction acide améliorerait sa biodisponibilité.

**En perspective, il serait intéressant :**

- D'étudier d'autres paramètres du stress oxydatif (NO) et du système de défense (SOD) dans ce modèle de colite aiguë ;
- D'augmenter les doses administrées de l'acide caféique et l'acide trans-cinnamique ;
- De trouver une application de la curcumine en tant que nouveau médicament dans un futur proche pour contrôler des maladies variées, notamment les désordres inflammatoires, la carcinogénèse, et les pathologies associées au stress oxydatif ;
- D'améliorer la biodisponibilité de la curcumine par des techniques modernes comme la nano-encapsulation, et, à partir de la formule chimique de la curcumine, découvrir de nouvelles molécules plus puissantes et aux effets plus ciblés.

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

### A

Aggarwal BB., Kuzhuvelil B., Harikumar. 2009. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International J. biochemistry cell biology*. **41(1):40-59**.

Ammon HP., Anazoda MI., Safayhi, H., Dhawan BN., Srimal RC. 1992. Curcumin: A potent inhibitor of Leukotriene B<sub>4</sub> formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL). *Planta Medica*. **58: 26-28**.

Ammon HP., Safayhi H., Mack T., Sabieraj J. 1993. Mechanism of anti-inflammatory actions of curcumin and boswellic acids . *J. Ethnophar*. **38: 113-119**.

Anand P., Kunnumakkara AB., Newman RA ., Aggarwal BB. 2007. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Mol Pharm*. **4(6):807-818**.

Anne., Reine., Lucie V. 2010. Intérêt d'un nouveau nutriment à visée anti-inflammatoire dans la gestion de troubles locomoteurs chez le cheval. *Aspect bibliographiques et étude clinique*. **71-105**.

Aoki H., Takada Y., Kondo S., Sawaya R., Aggarwal BB., Kondo Y. 2007. Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas in vitro and in vivo through induction of autophagy: Role of Akt and extracellular signal regulated kinase signaling pathways. *Mol Pharmacol*. **72: 29-39**.

Araujo CA., Leon LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **96: 723-728**.

### B

Beaudeau JL., Vasson MP. 2005. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène: Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier (ed). *Aspects biologiques et pathologiques*. **45-86**.

Beaulieu JF. 1999. Integrins and human intestinal cell functions. *Front biosci*. **4: 310-321**.

Beutler. 1975. Catalase. In: Beutler E (ed) Red cell metabolism. *A Manual of Biochemical Methods*. **105: 8-18**.

Billerey-Larmonier C., Uno JK., Larmonier N., Midura AJ., Tim-mermann B., Ghishan FK., Kiela PR. 2008. Protective effects of dietary curcumin in mouse model of chemically induced colitis are strain dependent. *Inflamm Bowel Dis.* **14(6):780-793.**

Blondeau C., Sava P., Toubin G., Belon JP., Magnin P., Gillet M. 1987. Activités des enzymes antioxydantes plaquettaires au cours de l'artériothérapie. *Path Biol.* **35 (8): 1115-1118.**

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* **72:248-254.**

Brennan P., O'Neill LA. 1998. Inhibition of nuclear factor kappaB by direct modification in whole cells--mechanism of action of nordihydroguaiaritic acid, curcumin and thiol modifiers. *Biochem pharmacol.* **55(7):965-73.**

## C

Chan MM. 1995. Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin a phytochemical. *Biochem Pharmacol.* **49: 1551-1556.**

Chan TH., Dou QP. 2004. Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Biosci.* **9: 2618-2631.**

Charbonneau-Larose P. 2009. Le contrôle des maladies inflammatoires intestinales. *Sciences biologiques.* **1-5.**

Chattopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee RK. 2004. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci India.* **87(1): 44-53.**

Chung MJ., Walker PA., Hogstrand C. 2006. Dietary phenolic antioxidants, caffeic acid and Trolox, protect rainbow trout gill cells from nitricoxide-induced apoptosis. *Aquat Toxicol.* **80: 321-328.**

## D

Donatus IA., Sardjoko J., Vermeulen NPE. 1990. Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin: effects on paracetamol-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* **39: 1869-1875.**

## **E**

Earwae W., Chu H., Lee TR. 2006. Curcuminoids purified from turmeric powder modulate the function of human multidrug resistance protein 1 (ABCC1). *Cancer chemotherapy and pharmacology*. **57(3): 376-388**.

Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. **82 (1): 70-77**.

Elson CO., Sartor RB., Tennyson GS., Riddell RH. 1995. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. **109: 1344-1367**.

Emerenciano VP., Barbosa KO., Scotti MT., Ferriro MJP. 2007. Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. *J. brazilian chemical society*. **18(5): 891-899**.

Erben-Russ M., Bors W., Saran M. 1987. Reactions of linoleic peroxy radicals with phenolic antioxidants: a pulse radiolysis study. *Int J. Radiat. Biol*. **52: 393-412**.

## **F**

Favier A. 2003. Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. Novembre-décembre: **108-115**.

Flohe L., Beckmann R., Giertz H., Loschen G. 1985. Oxygen-centered free radicals as mediators of inflammation. In oxidative stress. Sies H (ed). London *Academic Press*. **403-436**.

Frankel EN., Kanner J., German JB., Parks E., Kinsella JE. 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*. **341: 454-457**.

Fridovich I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*. **64: 97-112**.

## **G**

Guasch G. 2002. Dérégulation moléculaire et cancer: prolifération, survie et inhibition de l'apoptose. Lefrand MP (ed). *Oncology Molecular*. **31: 307-310**.

Gruys E., Toussaint M.J., Niewold TA. 2005. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J. Zhejiang Univ Sci B*. **6: 1045-1056**.

## H

Halliwell B., Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *J. Biochem.* **219**: 1-14.

Halliwell B., Gutteridge JMC. 1989. Free Radicals in Biology and Medicine, Second edition. *Clarendon Press.* **22-81**.

Hergenbahn M., Soto U., Weninger A., Polack A., Hsu CH., Cheng AL and Rosi F. 2002. The chemopreventive compound curcumin is an efficient inhibitor of Epstein-Barr virus BZLF 1 transcription in Raji DR-LUC cells. *Mol Carcinog.* **33(3)**: 137-45.

Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B., Legrand M. 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate/quinate hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.* **16(6)**: 1446-1465.

Holmes EW., Yong SL., Eiznhamer D., Keshavarzian A. 1998. Glutathione content of colonic mucosa: evidence for oxidative damage in active ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* **43**: 1088-1095.

## J

Jian YT., Wang JD., Mai GF., Zhang YL., Lai ZS. 2004. Modulation of intestinal mucosal inflammatory factors by curcumin in rats with colitis. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* **24(12)**:1353-1358.

Jovanovic SV., Steenken S., Tosic M., Marjanovic., Simic MG. 1994. Flavonoids as antioxidants. *J. Am Chem Soc.* **116**: 4846-4851.

Jurenka JS. 2009. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of curcuma longa: a review of preclinical and clinical research. *Altern. Med. Rev.* **14(2)**: 141-153.

## K

Khopde SM., Priyadarsini KI., Guha SN., Satav JG., Venkatesan P., Rao MN. 2000. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by tetrahydrocurcumin: possible mechanisms by pulse radiolysis. *Biosci Biotechnol Biochem.* **64(3)**: 503-509.

Krawisz JE., Sharon P., Stenson F. 1984. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterol.* **87**: 1344-1350.

## **L**

Laughton MJ., Evans PJ., Moroney MA., Hoult JR., Halliwell B. 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol.* **42**: 1673-1681.

Loguercio C., Di Pierro M. 1999. The role of glutathione in the gastrointestinal tract: a review. *Ital J. Gastroenterol Hepatol.* **31**: 401-7.

Lubbad A., Oriowo M A., Khan I. 2008. Curcumin attenuates inflammation through inhibition of TLR-4 receptor in experimental colitis. *Mol Cell Biochem.* **127**-135.

## **M**

Malésev D., Kuntié V. 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J. serbianchemical society.* **72(10)**: 921-939.

Marcheix JJ., Fleuriet A., Jay-Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques.* **84-86**.

Matsuo M. 1993. Age-related alteration in antioxidant defense, Free Radical in Aging, *Florida CRC Press.* **143-182**.

McKay DL., Blumberg JB. 2002. The role of tea in human health: an update. *J. Am Coll Nutr.* **21**: 1-13.

Moreau P. 1993. La micronutrition en biologie et pratique clinique: radicaux libres, vitamines, éléments traces essentiels, acides amines. Lavoisier Tec et Doc (ed). *Médicales Internationales.* **77-199**.

Mukhopadhyay A., Basu N., Ghatak N., Gujral PK. 1982. Anti-inflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. *Agents Actions.* **12**: 508-15.

Mustafa A., El-Medany A., Hagar HH . 2006. *Ginkgo biloba* attenuates mucosal damage in a rat model of ulcerative colitis. *Pharmacol Res.* **53: 324-330.**

## **N**

Nanau RM., Neuman MG. 2012. Metabolome and inflammasome in inflammatory bowel disease. *Transl Res.* **160: 1-28.**

Narayana KR., Reddy MS., Chaluvadi MR., Krishna DR. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. pharmacology.* **33: 2-16.**

Nosal'ova V., Cema S., Viktor Bauer V. 2001. Effect of N-acetylcysteine on colitis induced by acetic acid in rats. *General Pharmacology.* **35: 77-81.**

## **O**

Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95: 351-358.**

Orgogozo JM., Dartigues JF., Lafont S., Letenneur L., Commenges D., Salamon R., Renaud S., Breteler MB. 1997. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Rev. Neurol.* **153: 185-192.**

## **P**

Priyadarsini KI. 1997. Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radic Biol Med.* **23(6): 838-843.**

Priyadarsini KI., Maity DK., Naik GH., Kumar G., Mohan H. 2003. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med.* **35: 475-484.**

Punithavathi D., Venkatesan N., Babu M. 2002. Curcumin inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Br. J. Pharmacol.* **13:169-172.**

## **R**

Reddy AC., Lokesh BR. 1994. Effect of dietary turmeric (*Curcuma Longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food Chem. Toxicol.* **32: 279-283.**

- Rezaie A., Parker RD., Abdollahi M. 2007. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: An epiphenomenon or the cause?. *Dig Dis Sci.* **52**: 2015-2021.
- Rice-Evans CA., Miller NJ., Bolwell GP., Bramley P., Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* **22**: 375-83.
- Roitt I., Brostoff J., Male D. 2001. Immunology. 6<sup>th</sup> ed St Louis. *Mosby International Ltd.* **417-34.**

## S

- Sadur SK., Ichikawa H., Pandey MK., Kunnumakkara AB., Sung B., Sethi G. 2007. Role of prooxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effects of Curcumin (Diferuloylmethane). *Free Radical Bio Med.* **43(4)**: 568-580.
- Sarni-Manchado P., Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier Tec et Doc (ed). *Sciences et techniques agro-al.* **61-377.**
- Scalbert A., Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* **130**: 2073-85.
- Seril DN., Lia J., Yang GY., Yang CS. 2003. *Carcinogenesis.* **24**: 353-362.
- Sharma RA., Gescher AJ., Steward WP. 2005. Curcumin: The story so far. *Eur. J. Cancer.* **41**: 1955-1968.
- Shishodia S., Singh T., Chaturvedi MM. 2007. Modulation of transcription factors by curcumin. *Adv Exp Med Biol.* **595**: 127-48.
- Singh UP., Singh NP., Singh B., Mishra MK., Nagarkatti M., Nagarkatti PS., Singh SR. 2010. Stem cells as potential therapeutic targets for inflammatory bowel disease. *Front Biosci.* **2**: 993-1008.
- Somporn P., Phisalaphong C., Nakornchi S., Unchern S., Morales NP. 2007. Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives. *Biol Pharm. Bull.* **30(1)**: 74-78.
- Sreejayan N., Rao MNA. 1996. Oxygen free radical scavenging by curcuminoids. *Arzneim-Froschun /Drug Research.* **2**: 169-171.
- Sreejayan N., Rao MNA. 1997. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J. Pharm Pharmacol.* **49**: 105-107.

Su Han E., Joo Yeon Oh., Hye-Jin Park. 2011. Cordyceps militaris extract suppresses dextran sodium sulfate-induced acute colitis in mice and production of inflammatory mediators from macrophages and mast cells. *J. Ethnopharmacology*. **134: 703-710**.

## **T**

Thomson A., Hemphill D., Jeejeebhoy KN. 1998. Stress and antioxidants in intestinal disease. *Dig Dis*. **16: 152-158**.

## **V**

Vergely C., Goirand F., Ecarnot-Laubriet A., Renard C., Moreau JC., Guillard D. 2003. NF- $\kappa$ B activation in hydrogen peroxide-treated human endothelial cells. *Experi Biol and Med*. **228: 855-865**.

**Vibet S.** 2008. Augmentation de la sensibilité des cellules tumorales mammaires aux agents anticancéreux par les acides gras polyinsaturés n-3 : rôle du statut oxydant et de la vascularisation tumorale. *Nutrition Croissance et Cancer*. **86-93**

## **W**

W-Erdman J., Balentine JD., Arab L., Beecher G., Dwyer JT., Folts J., Harnly., Hollman JP., L-Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J. 2007. Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. *Washington J. Nutrition*. **137: 718-737**.

## **Y**

Yamada T., Marshall S., Specian R.D., Grisham MB. 1992. A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology*. **102: 15-24**.

## **ABSTRACT**

The main objective of this work was to determine the structure-function relationship for antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin, caffeic acid and trans-cinnamic acid in acute colitis induced *in vivo* by intra rectal acetic acid (5%) in mice.

Acetic acid (5%) induced macroscopic, histological damages and biochemical alterations in distal colons. These changes are characterized by leukocyte infiltration, edema and bleeding ulcers. A significant increase in markers of oxidative stress (MDA and MPO) and a decrease in markers of antioxidant defense system enzymes and non-enzymatic (CAT and GSH) occurred concomitantly, in homogenates of distal colons.

Curcumin (60 mg/kg) effectively protects against the symptoms of acetic acid-colitis. It has improved macroscopic and histological scores and ameliorated the oxidative stress markers (MDA and MPO) and the antioxidant pool (CAT and GSH).

Caffeic acid (30mg/kg) moderately improved histological and biochemical damages induced by acetic acid, compared to curcumin. Trans-cinnamic acid (30 mg/ml) induced a reduction in the intensity of macroscopic, histological scores and also corrected the oxidative markers (MDA and MPO) and antioxidant (CAT), but the tissular GSH pool was not restored. Taken together, these results suggest a relationship structure-function of these natural antioxidants.