

N° d'ordre : 278/2025-C/SB

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 des Sciences Biologiques



THÈSE DE DOCTORAT

Présenté pour l'obtention du grade de docteur

En : Sciences Biologiques

**Spécialité : Pharmacologie Expérimentale et Science du Médicament dans les
Pathologies inflammatoires et infectieuses**

Par

ABDELAZIZ Ismahane

Thème

**Contribution à l'étude du microenvironnement inflammatoire tumoral au
cours des phases de promotion et de progression du cancer colorectal.
Modulation pharmacologique**

Soutenue publiquement, le : 11/03/2025

devant le jury composé de :

Mme Djelila HAMMOUDI-TRIKI	Professeure à l'USTHB/FSB	Présidente
Mr Abdelkader BOUNAAMA	Maitre de conférence/A à l'USTHB/FSB	Directeur de thèse
Mme Nacima DJENNANE	Professeure à l'Uni-Alger1	Examinatrice
Mr Kamel DJENOUHAT	Professeur à l'Uni-Alger1	Examinateur
Mme Souad CHAYEB-MOUZAOUI	Maitre de conférence/A à l'USTHB/FSB	Examinatrice

Résumé

Le cancer associé à la colite (CAC) est un sous-type agressif du cancer colorectal qui peut se développer chez les patients atteints d'une colite ulcéreuse. La chimiothérapie actuelle, utilisant le 5-fluorouracil et l'oxaliplatine, est partiellement efficace et entraîne des effets secondaires, ce qui incite à explorer des thérapies alternatives. Le diméthylfumarate (DMF), activateur du facteur nucléaire dérivé de l'érythroïde 2 (NRF2), est un antioxydant et immunomodulateur utilisé pour traiter la sclérose en plaques qui a montré des effets anti-inflammatoires sur la colite expérimentale. Nous avons ainsi étudié son effet thérapeutique sur un modèle expérimental de CAC. Pour cela, des souris NMRI mâles ont reçu deux injections de 1,2 diméthylhydrazine (DMH) et trois cycles de sulfate de dextran sodique (DSS). Des doses faibles (DMF30) et élevées (DMF100) de DMF ou d'oxaliplatine (OXA) ont été administrées pendant un mois. Les tissus coliques ont ensuite été analysés. Le DMH/DSS a induit des foyers cryptiques aberrants dysplasiques (ACF), un stress oxydatif et une inflammation colique sévère, avec une infiltration des macrophages M1 pro-inflammatoires. Comme l'OXA, le DMF30 a réduit les ACF et la dysplasie des cryptes, restauré l'état redox et réduit la colite en déplaçant les macrophages vers le phénotype anti-inflammatoire M2. Étonnamment, le DMF100 a exacerbé le développement des ACF, le stress oxydatif et l'inflammation, probablement par la surexpression de NRF2 et de p53 dans les cellules inflammatoires coliques. Le DMF a eu un effet dual sur le CAC. À faible dose, le DMF agit comme un antioxydant et un immunomodulateur, tandis qu'à forte dose, le DMF est pro-oxydant et exacerbe le CAC.

Mots clés : Cancer associé à la colite, Diméthylfumarate, Macrophages, Stress oxydatif, NRF2, p53

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de recherche : le Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Équipe de pharmacologie cellulaire et signalisation de la faculté des Sciences biologiques (FSB) de l'USTHB.

Je remercie tout d'abord le **Seigneur tout-puissant**, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce projet de thèse de doctorat.

Je tiens ensuite à exprimer mes profonds remerciements au **Professeur Bahia Djerdjouri**, qui m'a accueilli dans son équipe. J'ai eu le privilège d'apprendre sous sa direction la rigueur académique et le dévouement exceptionnel, instillant en nous tous une éthique de travail exemplaire.

Mes vifs remerciements s'adressent au **Docteur Abdelkader Bounaama**, pour son soutien indéfectible et ses précieux conseils tout au long de mon cursus. De son rôle d'enseignant engagé à celui de promoteur de mon projet de fin d'études en master, puis de superviseur de cette thèse de doctorat, sa présence et son engagement ont été essentiels dans mon développement académique.

Ma gratitude au **Professeur Djelila Hammoudi Triki** d'avoir accepté de présider ce jury. Vous m'honorez grandement par votre présence et par le poids scientifique inestimable que vous apportez à ce jury.

J'exprime mes sincères remerciements aux **Professeur Nacima Djennane** et **Professeur Kamel Djenouhat** pour l'honneur qu'ils me font en examinant ma thèse et en apportant leur expertise en anatomopathologie et immunologie, malgré leurs multiples occupations. Je vous adresse mes plus loyales expressions de respect et de gratitude.

Je suis très gratifié par la présence du **Docteur Souad Chayeb-Mouzaoui** au sein de mon jury. Je vous remercie d'avoir accepté d'examiner mon travail. Votre présence dans ce jury est une source de fierté personnelle pour moi. Je vous exprime toute ma gratitude et mon respect pour l'honneur que vous me faites en évaluant ce travail.

Merci aux doctorants et aux enseignants de l'équipe de pharmacologie cellulaire et signalisation, pour les échanges stimulants, réconfortants et les moments de partage.

Je dédie cette thèse aux membres de ma petite famille,

*A mes très chers parents, **Meriem** et **Ali**, et à mes très chers beaux-parents, **Zahoua** et **Mohamed**, pour l'amour et le soutien incommensurables qu'ils m'ont toujours apporté. Pour vos encouragements constants et vos sacrifices inestimables. Pour chaque geste d'amour, grands et petits. Pour tout ce que vous avez fait pour moi, et pour tout ce que vous continuez à faire. J'espère sincèrement que ce travail vous rendra un tant soit peu fiers de moi, car jamais il n'égalera la fierté immense que j'éprouve à vous avoir comme parents.*

« Je vous porterai un amour infini et inconditionnel dans ce monde et bien au-delà »

*A mes chers frères et sœurs, **Fatima Zohra**, **Nacima**, **Karima**, **Reda**, **Samir**, **Kenza**, **Sarah**, **Fella**, et **Amine**, pour le soutien indéfectible et l'aide précieuse tout au long de ce parcours. Chacun de vous a contribué à sa manière, avec générosité et bienveillance, pour m'aider à atteindre cet objectif. Je suis fière et chanceuse d'avoir une famille aussi formidable. Que Dieu vous protège et vous garde toujours à mes côtés.*

*A mon mari **Badr-Eddine**, aucun mot que je pourrais porter sur cette feuille ne pourra exprimer la gratitude et l'amour que je te porte. Tu as été avec moi dans les meilleurs et les pires moments, à chaque doute, et chaque triomphe car ta présence à mes côtés régit l'équilibre de toute ma vie, je te remercie pour chaque instant partagé, chaque sourire échangé, chaque mot d'encouragement. Au final, cette thèse, c'est autant la tienne que la mienne.*

*A ma très chère tante **Lila Abdelaziz**, pour tes prières aux nuits de mes révisions, pour tes larmes à l'affichage des résultats. Tu es partie, mais ta présence reste profondément gravée et c'est aussi avec toi que je partage cette victoire. Repose en paix, en sachant que tu resteras à jamais dans mon cœur et mes pensées.*

Sommaire

1	Introduction.....	1
2	Rappels Bibliographiques	4
2.1	Epidémiologie.....	4
2.2	Cancer colorectal	4
2.3	Hallmarks du cancer : Émergence de l'inflammation pro-tumorale	7
2.3.1	Les maladies inflammatoires chroniques intestinales	9
2.4	Cancer colorectal associé à la colite	10
2.4.1	Pathogénèse associée au CAC.....	10
2.4.2	Stress oxydatif associé au CAC.....	14
2.4.2.1	Les espèces réactives de l'oxygène.....	14
2.4.2.2	Système antioxydant.....	19
2.4.3	Microenvironnement immunitaire associés au CAC.....	23
2.4.3.1	Neutrophiles	24
2.4.3.2	Macrophages.....	25
2.4.3.3	Lymphocytes	28
2.4.4	Thérapies associées au CAC	30
2.4.4.1	Oxaliplatine	31
2.5	Dimethylfumarate.....	32
2.5.1	Activation de la voie NRF2.....	34
2.5.2	Inhibition de la voie NF- κ B.....	36
3	Matériel et Méthodes	37
3.1	Matériels	37
3.1.1	Matériel biologique	37
3.2	Méthodes	37
3.2.1	Modélisation animale d'une colite associée au cancer colorectal	37
3.2.1.1	Protocole pharmacologique	38
3.2.2	Préparation des échantillons	39
3.2.3	Etudes des altérations coliques macroscopiques et microscopiques	39
3.2.3.1	Quantification des foyers de crypte aberrante	39
3.2.3.2	Etudes histologiques	39
3.2.3.3	Étude immunohistochimique.....	40
3.2.4	Evaluation biochimique du profil inflammatoire et immunitaire.....	41
3.2.4.1	Mesure de l'activité de la phosphatase alcaline	41

3.2.4.2	Mesure de l'activité de la myéloperoxydase	41
3.2.4.3	Mesure de l'activité de l' α -naphtyl acétate estérase	42
3.2.4.4	Mesure de l'activité de l'arginase.....	42
3.2.4.5	Mesure des niveaux de nitrites	43
3.2.5	Evaluation biochimique de l'homéostasie redox.....	44
3.2.5.1	Mesure de l'activité superoxyde dismutase.....	44
3.2.5.2	Mesure de l'activité catalase	44
3.2.5.3	Mesure des niveaux de glutathion réduit.....	45
3.2.5.4	Mesure des niveaux de malondialdéhyde.....	45
3.2.5.5	Mesure des niveaux des produits avancés d'oxydation des protéines.....	45
3.2.6	Etudes des altérations hépatiques macroscopiques et microscopiques	46
3.2.6.1	Etudes histologiques	46
3.2.6.2	Etudes biochimiques des paramètres de toxicité hépatique	47
3.2.7	Etude statistique.....	48
4	Résultats.....	49
4.1	Altérations microscopiques et macroscopiques associées au CAC murin	49
4.1.1	La DMH/DSS induit un développement d'un CAC.....	49
4.1.2	Le DMF a un effet dual sur les altérations macroscopiques et microscopiques au DMH/DSS	53
4.2	Implication du stress oxydatif dans le développement du CAC.....	57
4.2.1	La faible dose de DMF diminue la peroxydation lipidique et protéique.....	57
4.2.2	La faible dose de DMF augmente les activités du système antioxydant enzymatique	58
4.2.3	La faible dose de DMF induit une déplétion des réserves de glutathionne du système antioxydant non-enzymatique	59
4.3	Remodelage du microenvironnement inflammatoire au cours du CAC	61
4.3.1	La faible dose de DMF réduit l'infiltration des neutrophiles.....	61
4.3.2	La faible dose de DMF diminue l'infiltration des lymphocytes B	62
4.3.3	La faible dose de DMF favorise la polarisation M2 des macrophages	64
4.4	Mécanisme moléculaire associé à l'effet antioxydant et anti-inflammatoire du DMF	67
4.5	Altération structurale et fonctionnelle hépatique associée au traitement	72
4.5.1	Le DMF a un effet dual sur les altérations hépatiques au DMH/DSS.....	72
4.5.2	La faible dose de DMF n'altère pas le statut redox hépatique	74
4.5.3	Le DMF n'altère pas la fonction des enzymes hépatiques	75
5	Discussion	76
5.1	Le modèle translationnel DMH/DSS reproduit fidèlement le CAC humain.....	76

5.2	Le modèle translationnel DMH/DSS reproduit le microenvironnement inflammatoire et immunitaire associé à la pathogenèse du CAC	78
5.3	Le modèle translationnel DMH/DSS perturbe l'homéostasie redox dans la pathogenèse du CAC.....	80
5.4	Le DMF présente un effet pharmacologique dual dans le modèle DMH/DSS	84
5.5	Le mécanisme d'action du DMF dépend de l'activation du NRF2.....	87
6	Conclusion et perspectives futures	90
7	Références.....	91

Liste des figures

Figure 1. Hallmarks caractéristiques des cellules cancéreuses	7
Figure 2. « Field effect » associé au développement du CAC	8
Figure 3. Séquences de développement tumoral du CCR sporadique et du CAC.....	11
Figure 4. Physiopathologie associée au développement du CAC	13
Figure 5. Modifications oxydatives protéiques causées par les ROS.	16
Figure 6. Modifications oxydatives cellulaires causées par les ROS	17
Figure 7. Modifications oxydatives des nucleobases causées par les ROS.....	18
Figure 8. Réaction de dismutation du superoxyde par la superoxyde Dismutase.....	19
Figure 9. Les cellules immunitaires impliquées dans la progression du cancer du côlon associé à une colite	22
Figure 10. Dual effect des neutrophiles associés à la physiopathologie des IBD vers un CAC	24
Figure 11. Fonction des macrophages dans les IBD	25
Figure 12. Plasticité phénotypique et fonctionnelle des macrophages	26
Figure 13. Cross-talk des macrophages M1 et des lymphocytes TCD4+ dans le développement du CAC	28
Figure 14. Thérapies Actuelles et emergentes des maladies inflammatoires de l'intestin	29
Figure 15. Métabolisme de l'oxaliplatine	31
Figure 16. Structure chimique du Dimethylfumarate	32
Figure 17. Métabolisme du DMF.....	33
Figure 18. Mécanismes d'action potentiels du DMF	34
Figure 19. Protocole d'induction de la CAC à la DMH et le DSS sur modèle murin et traitements pharmacologiques	37
Figure 20. Le DMH/DSS a induit des altérations macroscopiques sur les colons des souris...49	49
Figure 21. Le DMH/DSS induit la formation et la multiplicité ACF.....	50
Figure 22. Effet du DMH/DSS sur la prolifération des cryptes coliques	51
Figure 23. Le DMH/DSS a induit des lésions microscopiques du côlon et aggravé la sévérité de la colite	52
Figure 24. Effet dual du DMF sur la formation et la multiplicité	54
Figure 25. Effet des différents traitements sur la prolifération des cryptes coliques.....	54

Figure 26. Effet dual du DMF sur les lésions microscopiques du côlon et la sévérité de la colite.....	52
Figure 27. Evaluation des marqueurs pro-oxydants	54
Figure 28. Evaluation des marqueurs du système antioxydant	54
Figure 29. Evaluation des marqueurs antioxydants non enzymatique	55
Figure 30. Evaluation biochimique de l'activité myeloperoxidase	57
Figure 31. Effet du DMF et de l'OXA sur le recrutement des neutrophiles dans le tissu colique de souris traité au DMH/DSS	59
Figure 32. Evaluation biochimique de l'activité ANAE lymphocytaire dans l'homogénat tissulaire colique de souris traité au DMH/DSS.	60
Figure 33. Evaluation de l'infiltration lymphocytaire dans l'homogénat tissulaire colique de souris traité au DMH/DSS	61
Figure 34. Effet du DMF et de l'OXA sur le recrutement des macrophages dans le tissu colique de souris traité au DMH/DSS.	62
Figure 36. Effet des différents traitements sur le recrutement des macrophages dans le tissu colique de souris traité au DMH/DSS.....	63
Figure 37. Evaluation de la polarisation des macrophages dans l'homogénat tissulaire colique de souris traité au DMH/DSS.....	64
Figure 38. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription NRF2 et p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS.....	65
Figure 38. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS	67
Figure 39. Effet du DMF et de l'OXA sur l'architecture tissulaire hépatique de souris traitées au DMH/DSS.....	73
Figure 40 . Evaluation du statut redox dans l'homogénat tissulaire hépatique de souris traitées au DMH/DSS.....	74
Figure 41. Voies de signalisations dépendantes des ROS.....	82
Figure 42. Schéma récapitulatif de l'effet dual du DMF dans le modèle de CAC.....	89

Liste des tableaux

Tableau I. Altérations phénotypiques, génétiques et épigénétiques dans le processus multistep de développement du CCR.....	6
Tableau II. Sources et Voies mécanistiques de production des ROS.....	16
Tableau III. Multiplicité des ACF dans les groupes de souris.....	49
Tableau IV. Tableau des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT).....	73

Liste des abréviations

5-LO : 5-lipoxygénase

ACF : Foyers de cryptes aberrants

ADN : Acide désoxyribonucléique

AOM : Azoxyméthane

AOPP : Advanced Oxidation Proteins Products

APC : Adenomatous polyposis coli,

ARE : Élément de réponse aux antioxydants

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine triphosphate

CAC : colitis associated colorectal cancer

CCR : Cancer colorectal

CD : Crohn disease

DMF : Dimethylfumarate

DMH : Dimethylhydrazine

DNMT : ADN méthyltransférases

DSS : Dextran sulfate sodium

EMA : Agence européenne des médicaments

FDA : Food and drug administration

GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

GSH : Glutathion Réduit

HCAR2 : Hydroxycarboxylic Acid Receptor 2

HClO: hypochlorous acid

HDAC : histones désacétylases

IBD : Inflammatory bowel disease

Kras : V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

LTB4 : leucotriène B4

MAPK : Mitogen-activated protein kinases

MDA : Malondialdéhyde

MDF : Mucine depleted foci

MPO : Myeloperoxydase

NFKB : Nuclear factor-kappa B
NOX : NADPH oxydases membranaires
NQO1 : NAD(P)H dehydrogenase (quinone)
NRF2 : Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
PD-1 : Programmed cell death protein
PHD : Prolyl-hydroxylases
Pi3k : Phosphoinositide 3-kinase
ROS : Espèces réactives de l'oxygène
S-CCR : cancer colorectal sporadique
SOD2 : Super oxyde dismutase 2
STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3
TAM : Tumor associated macrophages
TGFβ : Transforming growth factor beta
TNBS : 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid
TNFα : tumor necrosis factor α
TP53 : Tumor protein 53
UC : Ulcerative colitis
VHL : Von hippel lindau

1 Introduction

Le cancer colorectal associé à la colite (CAC) représente une des complications des plus graves des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Inflammatory Bowel Disease, IBD) (Olén et al., 2020). Les estimations du risque varient considérablement selon les études épidémiologiques disponibles, certaines analyses rapportent un risque multiplié par 2 à 3 chez les patients atteints de colite ulcéreuse (Ulcerative colitis, UC) par rapport à la population générale (Lu et al., 2022). Bien que les progrès récents dans la compréhension de la physiopathologie des IBD et le développement de nouvelles thérapies aient permis d'améliorer la prise en charge des patients, ces patients semblent présenter un pronostic plus sombre que ceux atteints de CCR sporadique (S-CCR), avec des taux de mortalité plus élevés face aux difficultés rencontrées pour détecter précocement les lésions précancéreuses chez ces patients, en raison de l'inflammation chronique masquant les anomalies endoscopiques (Baker et al., 2019, Choi et al., 2015).

L'inflammation chronique reste le facteur le plus déterminant dans la progression vers le cancer, dans le contexte des IBD, entraînant des modifications cellulaires et moléculaires et générant un environnement propice au développement tumoral, caractérisé par une production accrue de cytokines pro-inflammatoires, de radicaux libres et de médiateurs chimiques qui altèrent la régulation normale de la croissance cellulaire et de l'apoptose (Nardone et al. 2023).

Les cellules immunitaires, à leur tour, en réponse à l'inflammation, libèrent des cytokines et des facteurs de croissance qui, bien qu'initialement bénéfiques pour la réparation tissulaire, peuvent devenir néfastes lorsqu'ils sont sécrétés de manière chronique. En effet, des cytokines telles que le facteur de nécrose tumorale alpha ($TNF\alpha$) et l'interleukine-6 (IL-6), qui sont souvent surproduites dans les IBD, ont été associées à une augmentation de la prolifération cellulaire et à une inhibition de l'apoptose, deux caractéristiques clés du développement tumoral (Russo, 2022; Luo et Zhang., 2017).

Les macrophages, en tant que cellules effectrices clés de l'immunité innée et adaptative, jouent un rôle crucial dans la pathogenèse des IBD. Lors de l'inflammation chronique, les macrophages peuvent se polariser en phénotypes pro-inflammatoires M1 ou anti-inflammatoires M2 (Han et al., 2016). Les macrophages M1 sécrètent des quantités élevées de médiateurs pro-inflammatoires tels que le $TNF\alpha$, l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-12, contribuant à la destruction locale des tissus. À l'inverse, les macrophages M2 favorisent la régénération tissulaire en libérant des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le TGF- β . Leur

capacité à se polariser en phénotypes distincts influence significativement l'inflammation chronique intestinale mais aussi le pronostic des patients atteints d'IBD, jouant un rôle crucial dans l'installation d'un environnement favorable au développement du cancer CAC ([Kvorjak et al., 2020](#), [Kang et al., 2021](#)).

De plus, l'inflammation chronique entraîne des dommages à l'ADN, principalement en raison de la production accrue des espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species, ROS) générées par les cellules immunitaires activées. Ces dommages peuvent provoquer des mutations dans les gènes régulateurs du cycle cellulaire et de la réparation de l'ADN, ce qui augmente le risque de transformation maligne des cellules épithéliales intestinales ([Frick A. et al. 2018](#)). L'accumulation de ces mutations, associée à un environnement pro-inflammatoire, crée une boucle de rétroaction positive qui favorise la progression vers le CAC.

Face à cet effet délétère de l'inflammation sur la progression vers le CAC, il est crucial de développer des alternatives thérapeutiques précoces visant à moduler cet état inflammatoire et immunitaire. En intervenant à des stades précoces des IBD, il sera possible ainsi de bloquer ou de ralentir l'évolution vers le cancer colorectal (CCR). Les stratégies thérapeutiques pourraient inclure des agents anti-inflammatoires, des immunomodulateurs ou des traitements ciblant spécifiquement les voies de signalisation impliquées dans la réponse inflammatoire.

Le diméthylfumarate (DMF), un ester méthylé de l'acide fumarique, est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) et l'Agence européenne des médicaments (EMA) pour la gestion des troubles auto-immuns. Le DMF est largement reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et immunomodulatrices. Des études récentes ont démontré que le DMF peut inhiber la croissance tumorale et la métastase dans divers cancers, notamment le cancer du sein, le CCR et le cancer du pancréas ([Xie et al., 2015](#), [Saidu et al., 2017](#), [Kastrati et al., 2016](#), [Chen et al., 2021](#)).

Les études précliniques ont démontré que le DMF inhibe efficacement l'activation du facteur NF- κ B, un acteur majeur dans le développement du CAC ([Kastrati et al., 2016](#), [Saidu et al., 2017](#)). De plus, le DMF active la voie du facteur nucléaire érythroïde 2-lié au facteur 2 (NRF2), entraînant une augmentation de l'expression d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT). Cette activation de la défense antioxydante cellulaire protège contre les dommages oxydatifs induits par l'inflammation, réduisant ainsi le risque de mutations génétiques et de transformation maligne dans les stades précoces de la carcinogenèse colorectale ([Saidu et al., 2017](#)). Compte tenu de ces mécanismes d'action, le

DMF pourrait représenter une approche thérapeutique innovante pour prévenir ou ralentir la progression du CAC, en particulier chez les patients atteints d'IBD, qui présentent un risque accru de développer cette pathologie.

Objectif du travail

Le présent travail de thèse se concentre sur l'évaluation des effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires du DMF sur un modèle murin de CAC, en tant que thérapie de repositionnement potentielle pour le traitement du cancer, afin de mieux comprendre le mécanisme d'action du DMF mais également à ouvrir la voie à des stratégies innovantes qui tirent parti des médicaments existants pour lutter plus efficacement contre le cancer.

Dans une première partie, nous avons établi un modèle murin de CAC en administrant l'agent carcinogène colique, le 1,2-diméthylhydrazine (DMH), en conjonction avec des cycles de sulfate de dextran (DSS) pour induire une colite chronique. Les animaux ont été traités ensuite avec des doses variées de DMF et, pour contextualiser nos résultats, nous avons utilisé l'oxaliplatine comme thérapie de référence dans le traitement du CAC et du CCR sporadique (S-CCR).

Nous avons ensuite entrepris une évaluation approfondie des altérations du statut redox ainsi que du remodelage immunitaire du microenvironnement inflammatoire durant les premières étapes du CAC en utilisant des outils d'analyses biochimiques et immunohistochimiques, mettant en lumière comment ces changements influencent le développement et la progression tumorale et nous permettant ainsi d'identifier des cibles thérapeutiques potentielles pour une intervention précoce.

Ensuite, nous nous sommes concentrés sur les facteurs de transcription clés impliqués dans la modulation du CAC par le DMF, à savoir le NRF2 et p53, qui jouent des rôles cruciaux dans la régulation des réponses cellulaires au stress oxydatif et aux dommages à l'ADN.

Dans la dernière partie de notre travail, nous avons entrepris une étude de toxicité comparative entre le DMF et l'oxaliplatine sur la fonction hépatique. L'objectif de cette étude était de vérifier le profil de sécurité du DMF par rapport à l'oxaliplatine, une chimiothérapie dont la toxicité et les effets secondaires sont bien documentés.

Les implications translationnelles de cette recherche sont significatives, car le repositionnement du DMF pourrait conduire au développement de thérapies plus efficaces et ciblées, avec des profils de sécurité améliorés pour les patients confrontés à cette maladie dévastatrice.

2 Rappels Bibliographiques

2.1 Epidémiologie

Le CCR constitue un défi majeur pour la santé publique mondiale, se classant comme le troisième cancer le plus fréquemment diagnostiqué à l'échelle mondiale et le deuxième en Algérie après le cancer du sein. En 2020, les estimations indiquaient un nombre alarmant de 1,9 million de nouveaux cas de CCR diagnostiqués, et plus de 930 000 décès ([World Health Organization 2020](#)).

Bien que l'Algérie présente une incidence inférieure à la moyenne européenne, elle affiche les taux les plus élevés d'Afrique du Nord. GLOBOCAN a rapporté que le nombre de nouveaux cas de CCR identifiés en 2020 a presque doublé par rapport à l'année précédente, marquant une augmentation de 94% des nouveaux cas ([World Health Organization 2020](#)). Ces chiffres illustrent l'ampleur du fardeau mondial du CCR, impactant non seulement la mortalité des patients, mais également le système de santé et le bien-être sociétal.

Les IBD sont un facteur de risque majeur dans le développement d'une colite associée à un CCR, un risque plus apparent dans la UC en raison d'une incidence plus élevée par rapport à la CD ([Maryńczak et al., 2011](#)). En effet, des études antérieures indiquent que les patients atteints d'UC présentent un risque deux fois plus important de développer un CCR après 10 ans de la durée de la maladie et de 18 % après 30 ans ([Wan et al., 2022](#)).

Toutefois, l'incidence cumulative du CAC varie significativement en fonction de la localisation géographique et des caractéristiques démographiques des patients. Une méta-analyse américaine publiée en 2022, portant sur plus de 270 000 patients atteints d'IBD suivis pendant 40 ans, a révélé que le risque de CCR chez les patients atteints d'UC était de 2,1 % après 10 ans, 6,6 % après 20 ans et 13,8 % après 30 ans, contre respectivement 0,6 %, 1,8 % et 4,3 % chez les patients atteints de CD ([Kappelman et al., 2022](#)).

2.2 Cancer colorectal

Le cancer colorectal (CCR), constitué principalement d'adénocarcinomes du côlon et du rectum, est défini comme une transformation de l'épithélium colique et rectal normal en une lésion précancéreuse (adénome), puis en un adénocarcinome invasif. ([Carethers et al., 2015](#); [Mundade et al., 2010](#)).

Les causes du cancer colorectal sont multifactorielles et peuvent impliquer à la fois une prédisposition génétique, qu'elle soit somatique (acquise), soit germinale (héréditaire) sur une période de 10 à 15 ans ainsi que des expositions environnementales, y compris des facteurs liés au mode de vie (Carethers et al., 2015). L'inflammation chronique est l'un des mécanismes possibles qui, selon plusieurs voies étiologiques, augmente le risque de cancer (Brenner, 2014).

Selon l'origine, on peut distinguer trois types de CCR.

- Type 1 (ou sporadique) : Ces tumeurs surviennent chez des individus sans prédisposition génétique ni antécédents familiaux et représentent à elles seules environ 70 à 80 % des CCR (Yamagishi, 2016).
- Type 2 (ou familial) : Ces tumeurs sont attribuées à des antécédents familiaux de CCR sans syndrome génétique évident (Yamagishi, 2016).
- Type 3 (ou héréditaire) : Ces cancers sont causés par des mutations germinales héritées dans des gènes de susceptibilité connus. Ils incluent le syndrome de cancer non polyposique héréditaire (syndrome de Lynch) et la polypose adénomateuse familiale (Kuipers et al., 2015).

Les séquences de la carcinogenèse colorectale débutent par l'acquisition de mutations initiatrices dans des gènes critiques régulant la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose (Carethers, J.M et al., 2015). Ces cellules initiées prolifèrent davantage et évoluent pour former les foyers cryptiques aberrants (Aberrant crypt foci, ACF).

Les ACF représentent les premiers précurseurs identifiables dans le processus multistep de développement du CCR. Ces lésions peuvent être observées à la surface du côlon grâce à des techniques de grossissement et/ou de coloration. Leur identification est cruciale dans le diagnostic du CCR car l'analyse des ACF peut servir d'indicateur précoce de transformation maligne, facilitant ainsi l'étude des changements pathologiques et moléculaires associés au cancer (Alrawi et al., 2006).

Les ACF ont été décrits pour la première fois par Bird et sont définis comme des cryptes présentant les critères suivants :

- Ouvertures lumineales altérées : une forme plus elliptique que circulaire indiquant une perte de l'architecture cryptique.
- Épithélium épaissi : une paroi épithéliale plus épaisse que celle des cryptes environnantes normales, indiquant une prolifération cellulaire anormale.

- Augmentation de la taille de la crypte : au moins 1,5 fois supérieure à celle des cryptes environnantes normales reflétant une transformation néoplasique (Bird, 1987; Bird et Good., 2000).

Tableau I. Altérations phénotypiques, génétiques et épigénétiques dans le processus multistep de développement du CCR adapté de Cheng et Lai., 2003; Père et Cerar., 2014.

Diagnostique histologique	Cryptes normales	Cryptes hyperplasiques	Cryptes dysplastiques	Adénome	Carcinome
Observation endoscopique	-	Lésions hyperplasiques intraépithéliales	Lésions dysplastiques intraépithéliales	Lésion néoplasique intraépithéliales	Tumeurs malignes
Critères histologiques	Architecture colique saine	Architecture saine ACF Diamètre > 1.5 vs crypte normale	Distorsion architecturale et légères atypies Hyper chromatique / Hyper cellularité	Noyau stérifié Perte de la forme cellulaire vers Tubulaire ou villose	Atypies nucléaires Croissance invasifs Nécrose
	-	Pas de dysplasie	Dysplasie faible à modérée	Dysplasie de bas grade/ haut grade	Dysplasie de haut grade
	Polarité apico-basale	Profil de crypte dentelé		Perte de polarité	
	-	Déplétion en mucine partielle	Diminution de la sécrétion de mucus		Perte totale de la mucine cryptique
Critères moléculaires		KRAS MSI	KRAS, APC MSI ++ Methylation	KRAS, BRAS, B catenine, APC, P53 Methylation ++	

Histologiquement, ils constituent un groupe hétérogène de lésions intraépithéliales, allant d'une quasi-normale ou d'une atypie légère à une dysplasie sévère. Selon l'Organisation mondiale de la santé, les ACF sont classés histologiquement en deux groupes : ceux avec des cryptes hyperplasiques et ceux avec des cryptes dysplastiques (World Health Organization, 2010) (Tableau I).

Ces ACF acquièrent ensuite des altérations génétiques et épigénétiques supplémentaires, en particulier au niveau des gènes critiques, et évoluent en adénomes (tumeurs non cancéreuses)

(Swain et Kresak., 2024). Ces adénomes seront classés en néoplasies intraépithéliales de bas ou haut grade en fonction de l'étendue et de la gravité des altérations histologiques. Certains adénomes régressent spontanément, tandis que d'autres évoluent vers un carcinome après acquisition de hallmarks caractéristiques conférant des propriétés d'agressivité (Sievers et al., 2015).

2.3 Hallmarks du cancer : Émergence de l'inflammation pro-tumorale

Les cellules cancéreuses acquièrent des caractéristiques spécifiques qui sont essentielles à leur survie, prolifération et potentiel métastatique. Ces marqueurs ont été identifiés par Hanahan et Weinberg et qu'ils ont réévalués au début de chaque nouvelle décennie. Les six marqueurs originaux sont le maintien de la signalisation proliférative, l'évasion des suppresseurs de croissance, la résistance à la mort cellulaire, l'immortalité réplivative, l'immortalité réplivative, l'induction de l'angiogénèse et l'activation de l'invasion et des métastases (Hanahan et Weinberg., 2000) (Fig. 1).

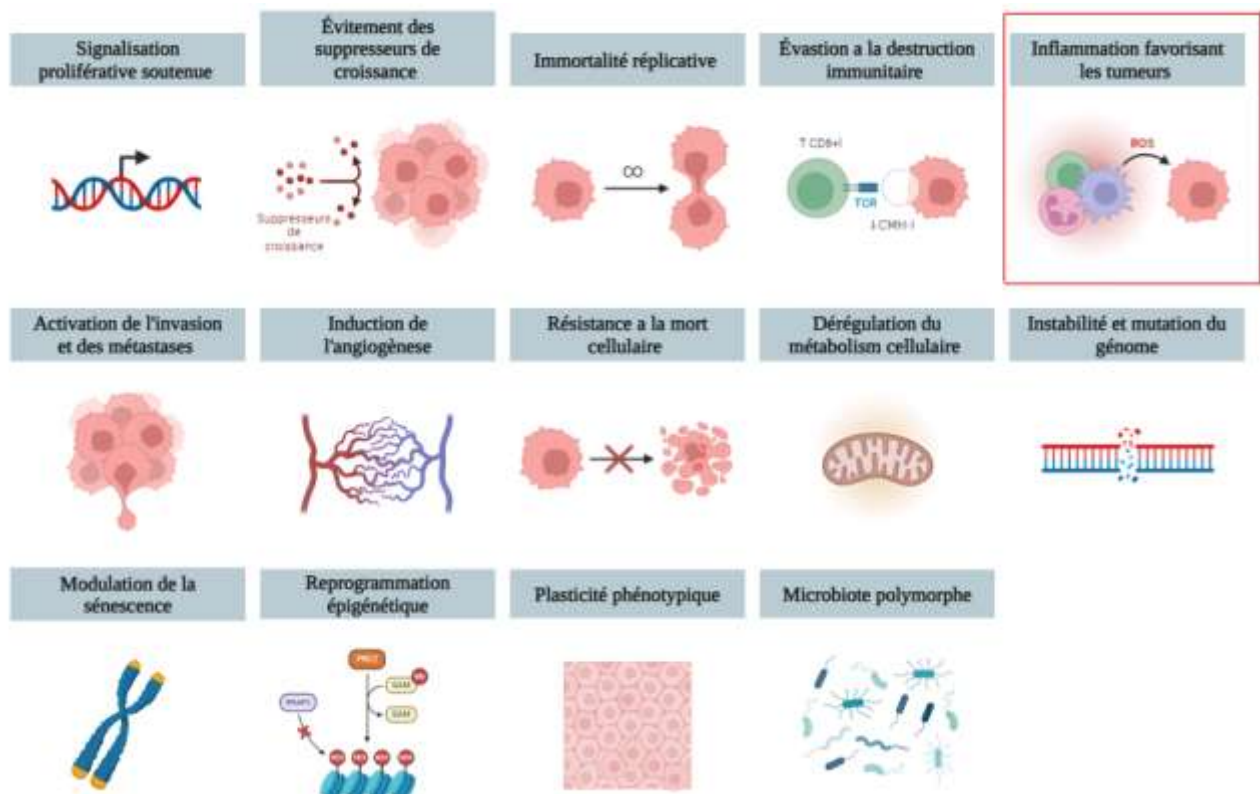


Figure 1. Hallmarks caractéristiques des cellules cancéreuses (Hanahan,2022)

On rajouta par la suite la reprogrammation du métabolisme énergétique et l'évasion immunitaire (Hanahan et Weinberg., 2011). Ensuite, l'évitement de la senescence,

l'inflammation pro-tumorale, le microbiote polymorphe, l'instabilité génomique, la plasticité phénotypique et enfin le remodelage du métabolisme cellulaire (Hanahan, 2022).

L'association entre l'inflammation et le cancer est soutenue par de nombreuses études (Grivennikov et al., 2010; Fantini et Guadagni, 2021; Bardelčíková et al., 2023). Les voies étiologiques impliquées ne sont pas entièrement élucidées. Cependant, l'inflammation chronique déclenchée par des infections, des réactions immunitaires aberrantes ou des facteurs environnementaux augmente considérablement le risque de développement de tumeurs (Grivennikov et al., 2010). Cela pourrait être en partie attribué à la génération d'un champ de prédisposition au développement du cancer, non seulement en augmentant le taux de mutagenèse de l'ADN, mais aussi en favorisant des changements épigénétiques (Baker et al., 2018) (Fig. 2).

De plus, l'inflammation renforce le renouvellement épithélial, induisant une pression sélective sur les clones mutés. Enfin, l'inflammation induit une dysbiose intestinale, perturbant l'intégrité intestinale et altérant le système immunitaire intestinal (Arthur et Jobin., 2011). Le « Field effect » ainsi généré par l'inflammation peut initier la tumorigenèse sur des zones non dysplasiques en l'absence de tout agent carcinogène exogène (Baker et al., 2018).

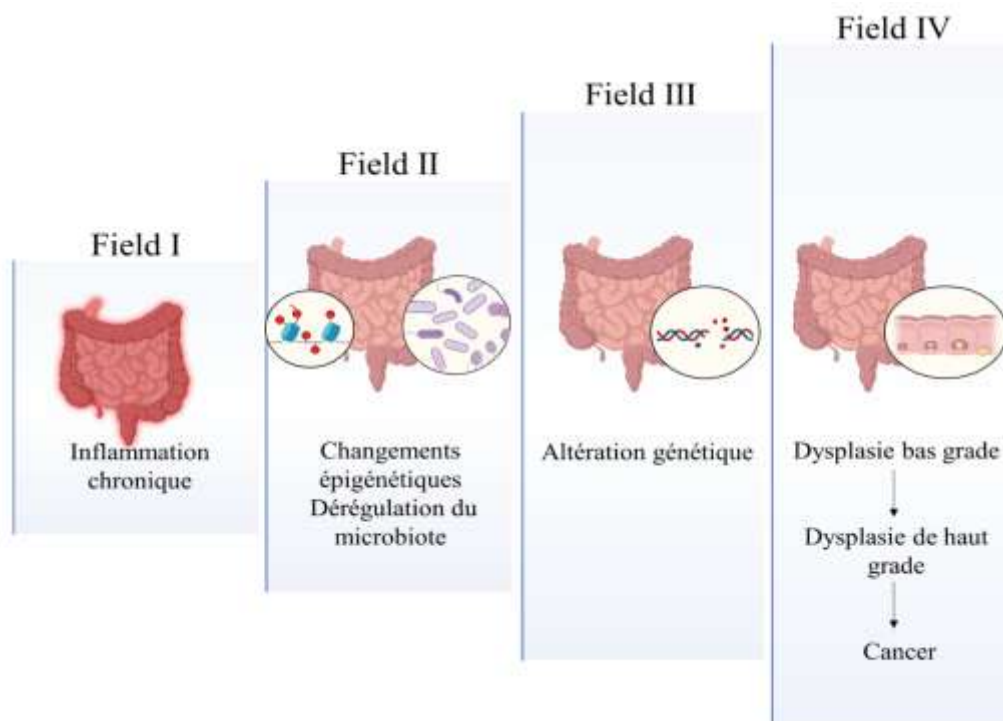


Figure 2. « Field effect » associé au développement du CAC adapté de Baker KT et al., 2018.

2.3.1 Les maladies inflammatoires chroniques intestinales

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (Inflammatory Bowel disease, IBD) constituent un groupe d'affections du tractus gastro-intestinal, caractérisées par une inflammation chronique intermittente, due à une réponse immunitaire dérégulée contre la muqueuse intestinale (Kaplan, 2015).

L'étiologie des IBD reste complexe et n'est pas causée par un facteur unique. Il s'agit plutôt d'une interaction complexe entre plusieurs facteurs impliquant une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux qui modifient les interactions hôte-microbiote entraînant une dérégulation des réponses immunitaires intestinales chez un individu génétiquement prédisposé, et contribuant ainsi au développement de la chronicité (Podolsky et Xavier., 2007).

La colite ulcéreuse (Ulcerative colitis, UC) et la maladie de Crohn (Crohn Disease, CD) sont les deux phénotypes cliniques les plus courants des IBD. Une étude de cohorte réalisée par Eaden et al. a rapporté que la probabilité de développer un CCR dix ans après le diagnostic de l'UC était de 2 %, atteignant 8 % après vingt ans et 18 % après 30 ans. Une méta-analyse de douze articles publiée par Canavan et al. a montré que le risque cumulatif pour les patients atteints de la maladie de CD était de 2,9 % à 10 ans, 5,6 % à 20 ans et 8,3 % à 30 ans après le diagnostic de la CD (Eaden et al., 2001; Canavan et al., 2006).

L'UC et CD partagent des caractéristiques cliniques et démographiques communes. Cependant, elles présentent des différences importantes en termes de lésions tissulaires et de pronostic. La UC est idiopathique et se caractérise par une succession de phases actives (rechute) et de rémission inflammatoire, mais contrairement à la CD qui peut toucher n'importe quelle partie du tractus allant de la bouche à l'anus, l'UC reste confinée au côlon et n'affecte que la muqueuse et la sous-muqueuse (Tontini, 2015; Liu et al., 2021).

Les deux phénotypes présentent aussi des signatures génétiques différentes, Wu et al., et Lawrance et al., ont déterminé par des analyses du phénotype des cellules T une prédominance de la réponse de type Th2, où des cytokines telles que l'interleukine-13 (IL-13) et l'interleukine-5 (IL-5) jouent un rôle important dans la promotion de l'inflammation du côlon ainsi que des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (Tumor Necrosis Factor α , TNF- α) et l'interleukine-6 (IL-6). En revanche, la CD est associée à une réponse mixte Th1/Th17, avec des cytokines clés telles que l'interféron gamma (IFN- γ) et l'interleukine-12 (IL-12) qui pilotent le processus inflammatoire. Les profils de cytokines distincts dans ces

maladies mettent en évidence des mécanismes immunologiques différents et soulignent l'importance de stratégies thérapeutiques ciblées pour une gestion efficace (Wu et al., 2007; Lawrance et al., 2001).

Plusieurs études ont confirmé une association entre les IBD et le risque de développer un CCR (Eaden JA et al., 2001 ; Zhao M et al., 2020). En effet, des antécédents d'IBD de longue date ainsi qu'une inflammation persistante du tractus gastro-intestinal induite par de mauvaises habitudes alimentaires, comme un régime de type occidental, constituent une niche favorable au développement du CCR (Schäfer et Werner., 2008).

2.4 Cancer colorectal associé à la colite

Le CAC est un sous-type spécifique du CCR associé aux IBD en raison d'une colite prolongée, notamment une des complications des plus graves de la UC. Les patients atteints d'IBD présentent un risque de développement d'un CAC supérieur par rapport à la population générale mais aussi une survie globale significativement plus mauvaise que celle des patients sans profil IBD (Olén et al., 2020 ; Lu et al., 2022).

Les facteurs de risque pour le développement du CAC ont été bien établis, notamment l'âge au moment du diagnostic de l'IBD, la durée d'évolution de la maladie, la sévérité et l'étendue des lésions inflammatoires ainsi que les antécédents familiaux de CCR (Triantafillidis, 2009). Kameyama et al., (2018) ont ensuite hiérarchisé ces facteurs de risque comme apparaissent parmi les déterminants les plus critiques du risque de CAC chez les patients atteints d'UC, comme suit : (1) la durée d'évolution des IBD, (2) la sévérité de la colite (évaluée par l'index de Mayo) (3) l'étendue des lésions inflammatoires (pancolite vs colite gauche).

2.4.1 Pathogénèse associée au CAC

Le CAC et le S-CCR ont une pathogénèse différente. Toutefois, tant le CAC que le S-CCR se développent dans une muqueuse intestinale précancéreuse dysplasique; le S-CCR émerge généralement à partir de polypes adénomateux surélevés et suit la voie adénome-carcinome, tandis que le CAC se développe dans une muqueuse chroniquement inflammée et suit la séquence inflammation-dysplasie-carcinome (Dyson et Rutter 2012 ; Mark-Christensen et al., 2018) (*Fig. 3*).

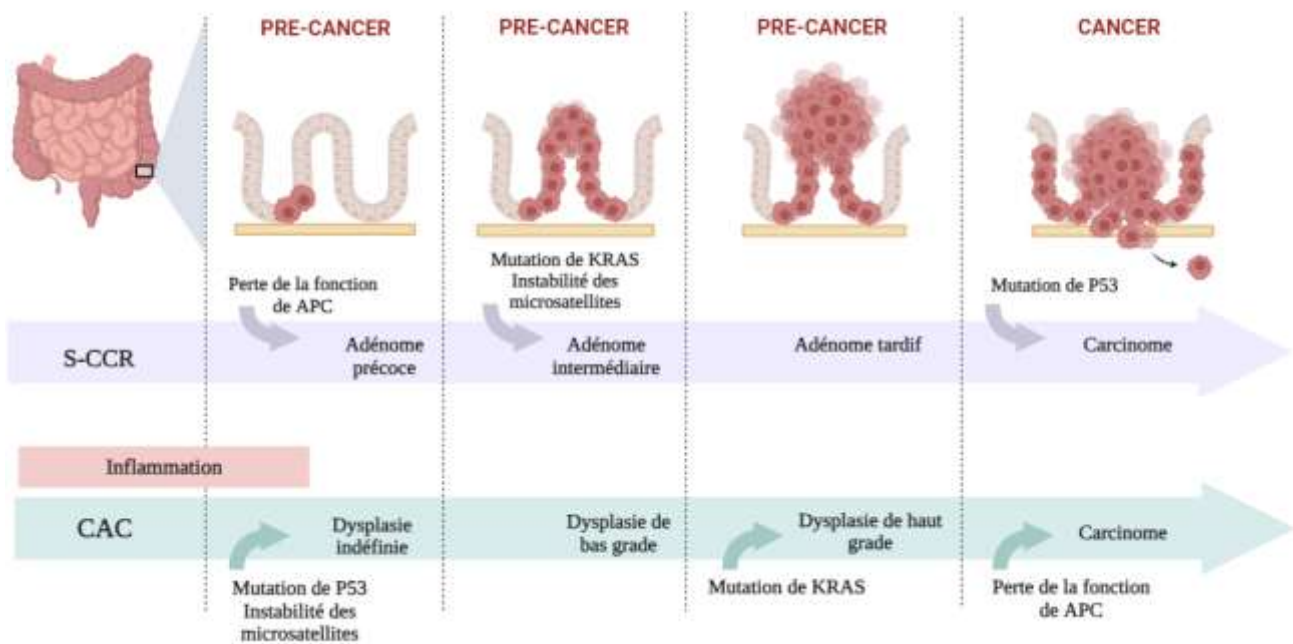


Figure 3. Séquences de développement tumoral du CCR sporadique et du CAC adapté de Kameyama et al., 2018; Nagao-Kitamoto et al., 2022 APC : Adenomatous polyposis coli, Kras : V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, p53 : Protein 53.

Les mutations qui se produisent dans le développement du CAC sont similaires à celles du S-CCR, mais l'ordre des mutations est inverse. Par exemple, Dans le S-CCR, la mutation du gène APC, qui régule négativement la voie Wnt/ β -caténine, est un événement précoce initiant la transformation adénomateuse. Cette mutation est suivie par l'activation d'oncogènes comme KRAS et la perte de fonction de p53. En revanche, dans le CAC, la mutation de p53 survient de façon précoce et précède la mutation d'APC, conférant un avantage de croissance aux cellules épithéliales dysplasiques sur un fond d'inflammation chronique (Dan et al., 2023).

La pathogenèse du CAC n'est pas totalement élucidée, mais les preuves accumulées suggèrent que l'inflammation chronique déclenchée par des infections, des réactions immunitaires aberrantes ou des facteurs environnementaux augmente considérablement le risque de développement du cancer (Fig. 4).

La contribution de l'inflammation chronique s'explique par deux mécanismes possibles : un mécanisme direct, entraîné par le stress oxydatif et les dommages à l'ADN, et des mécanismes indirects, provoqués par des cytokines produites par les cellules inflammatoires et

les cellules épithéliales intestinales (Fantini et Guadagni., 2021). Par ailleurs, deux événements clés sont impliqués, à savoir : Une inflammation déclenchant une initiation tumorale, caractérisée par l'accumulation de mutations génétiques ou de changements épigénétiques, et une promotion tumorale, où les cellules mutées se multiplient et s'étendent, évoluant ainsi d'un état d'absence de dysplasie dans un contexte inflammatoire et de dommages oxydatifs, vers une dysplasie de bas grade, puis de haut grade, pour finalement aboutir à un cancer (Nardone et al., 2023).

Dans un premier temps, l'inflammation initie une tumorigenèse via des dommages à l'ADN en l'absence de tout agent cancérigène exogène (Meira et al., 2008). Cela pourrait être en partie attribué à un stress oxydatif, causé par le recrutement de cellules du système immunitaire inné (comme les macrophages et les neutrophiles) qui libèrent des niveaux accrus d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote dans le microenvironnement tissulaire, induisant une succession d'altérations comme des transversions de bases (GC-TA), formation de sites apuriniques et des cassures simples et doubles brins de l'ADN et provoquant des mutations critiques (Frick et al., 2018; Fantini et Guadagni 2021). Si ces mutations ne sont pas réparées, elles peuvent s'accumuler au fil du temps et potentiellement conduire à une prolifération cellulaire incontrôlée et à une évasion à l'apoptose, un signe distinctif du cancer (Waris et Ahsan 2006).

De plus, l'inflammation intestinale affecte la fonction de barrière épithéliale. L'altération de l'intégrité de la barrière intestinale, avec la défaillance des jonctions serrées (TJ), ainsi que l'exposition accrue aux micro-organismes commensaux et pathogènes, active des réponses immunitaires inflammatoires excessives (Dan et al., 2023).

Dans le UC, la détérioration continue de l'épithélium aggrave davantage l'inflammation, favorisant le développement du CAC (McDowell C 2023). Les études soutiennent un rôle significatif du microbiote dans le développement et la progression du CCR, en se concentrant sur *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) (Dan et al., 2023). Par exemple, il a été montré que *F. nucleatum* aggrave l'induction tumorale dans le modèle murin de CAC à l'Azoxymethane (AOM)/Dextran Sodium Sulfate (DSS) en activant les voies de signalisation de l'EGFR et en favorisant la transition épithéliale-mésenchymateuse, un événement clé dans la carcinogenèse du côlon (Yu et al., 2020).

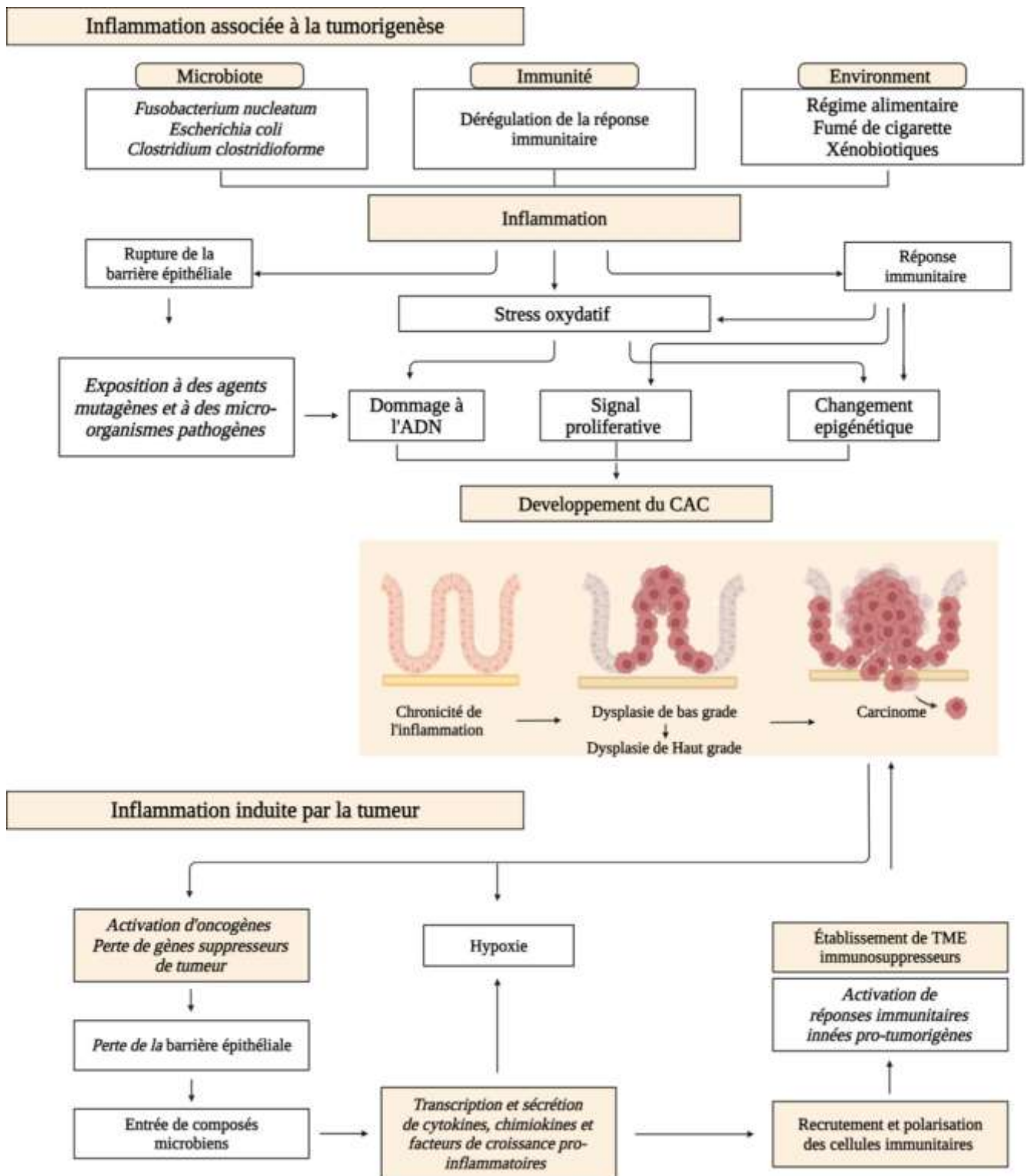


Figure 4. Physiopathologie associée au développement du CAC (Schmitt et al., 2021)

En plus de provoquer des mutations par le biais de dommages à l'ADN, l'inflammation affecte des voies de signalisation médiées par des récepteurs de cytokines clés, qui contrôlent des processus centraux d'initiation et de promotion tumorale, tels que l'activation du facteur nucléaire κ B (NF- κ B) en aval du récepteur du facteur de nécrose tumorale (TNF) et de la signalisation du récepteur IL-1 (Shaked et al., 2012) ainsi que l'induction de l'expression du facteur HIF1 α en réponse à l'hypoxie tissulaire, la libération des facteurs TGF β et CXCL13 par les fibroblastes associés au cancer et le recrutement de divers types de cellules myéloïdes et lymphoïdes incluant monocytes, macrophages et cellules B (Ammirante et al., 2014).

2.4.2 Stress oxydatif associé au CAC

2.4.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène

Dans les cellules saines, les ROS sont un groupe de molécules hautement réactives contenant de l'oxygène, générées comme sous-produit des processus métaboliques normaux, tels que la respiration aérobie dans les mitochondries (OXPHOS), les enzymes métaboliques et les NADPH oxydases membranaires (NOX) (Holmström et Finkel 2014). À des niveaux faibles à modérés, les ROS jouent un rôle essentiel dans divers processus physiologiques, notamment :

- Signalisation cellulaire : les ROS agissent comme des messagers secondaires dans diverses voies de signalisation, qui sont cruciaux pour réguler la prolifération et la différenciation cellulaires. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) peut activer les kinases régulées par des signaux extracellulaires (Extracellular signal-Regulated Kinases, ERK1/2), entraînant des réponses cellulaires telles que la croissance et la survie (Sies, 2015; Sinenko et al., 2021).
- Réponse immunitaire : les cellules immunitaires, telles que les neutrophiles après activation, génèrent des ROS, i.e. Les anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$), à partir de l'oxygène moléculaire, grâce à l'enzyme NADPH oxydase, qui sont ensuite transformés en H_2O_2 et en d'autres espèces réactives pour combattre les agents pathogènes pendant la réponse inflammatoire (Piechota-Polanczyk et al., 2014).
- Homéostasie : les ROS participent au maintien de l'homéostasie cellulaire et à la régulation des voies métaboliques, comme la régulation de l'activité aconitase et de la pyruvate déshydrogénase kinase 2 (PDK2) par des modifications oxydatives réversibles de résidus cystéine. Cette régulation favorisera ainsi la production d'acétyl-CoA via la pyruvate déshydrogénase à partir des glucides, tout en inhibant simultanément la β -oxydation des

acides gras, contribuant à l'adaptation du métabolisme cellulaire en fonction des besoins énergétiques et des conditions redox (Holmström et Finkel, 2014; Forrester et al., 2018).

Les ROS, produits comme sous-produits de processus métaboliques normaux (*Tableau II*), sont des molécules hautement réactives dérivées de l'oxygène moléculaire (O_2) qui jouent des rôles critiques dans les processus cellulaires. Ces espèces comprennent des radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et les radicaux hydroxyles ($\cdot OH$), caractérisés par la présence d'électrons non appariés qui contribuent à la haute réactivité des ROS et à leur capacité à interagir avec divers composants cellulaires, ainsi que des molécules non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (Nathan, 2003; Murphy, 2009; Forman et al., 2014).

Tableau II. Sources et voies mécanistiques de production des ROS adapté de Di Meo et al., 2016

Source	Processus cellulaire	Sous-produit oxydant
Chaîne de respiration mitochondriale	Phosphorylation oxydative	$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2
NADPH Oxydases	Activation des phagocytes, cellules endothéliales, colonocytes	$O_2^{\cdot-}$
Xanthine Oxydase	Catabolisme des purines	$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2
Cytochrome P450	Oxydation des acides gras et métabolisme xénobiotique	$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2
Cyclooxygénases	Métabolisme des acides gras	$\cdot OH$, H_2O_2
Nitric oxide synthases	Synthèse d'oxyde nitrique	NO^{\cdot}
Réticulum endoplasmique	Processus de repliement des protéines sous stress	H_2O_2
Peroxisomes	Oxydation des acides gras	H_2O_2
Myeloperoxydase	Défense immunitaire	$HOCl$
Haber Weiss	Voie signalétique	OH^{\cdot}

Bien que les ROS jouent des rôles essentiels dans la signalisation cellulaire, l'inflammation, la prolifération et l'apoptose, une production excessive peut conduire à un stress oxydatif, causant des dommages aux composants cellulaires. Ce double rôle souligne l'importance de maintenir un équilibre entre la production de ROS et les défenses anti-oxydantes pour l'homéostasie cellulaire.

Plusieurs études démontrent que le stress oxydatif joue un rôle critique dans la pathogenèse du CAC (Gu et al., 2023; Bardelčíková et al., 2023). En effet, lorsque le niveau de ROS augmente de manière significative ou que la neutralisation des ROS diminue, les cellules subissent alors une condition de stress oxydatif. Ce phénomène peut avoir des conséquences dévastatrices sur les cellules, entraînant des dommages à diverses macromolécules cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN (Nathan, 2003).

En effet, les ROS Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) induisent des modifications covalentes des protéines par l'oxydation de résidus cystéine et tyrosine, souvent situés près des sites actifs, ce qui peut altérer leur fonction. Par exemple, les résidus cystéine peuvent former des anions thiolate (Cys-S⁻) qui, à pH physiologique, sont très réactifs et peuvent conduire à la formation d'acides sulfeniques (Cys-SOH), modifiant ainsi la signalisation cellulaire. De plus, les ROS favorisent la formation de S-nitrothiols, influençant l'activité enzymatique, et peuvent entraîner la carbonylation des protéines, provoquant une perte d'activité et une agrégation. À des niveaux de stress oxydatif élevés, les thiolates peuvent être oxydés en acides sulfoniques (Cys-SO₃H), entraînant des dommages irréversibles (Fig. 5).

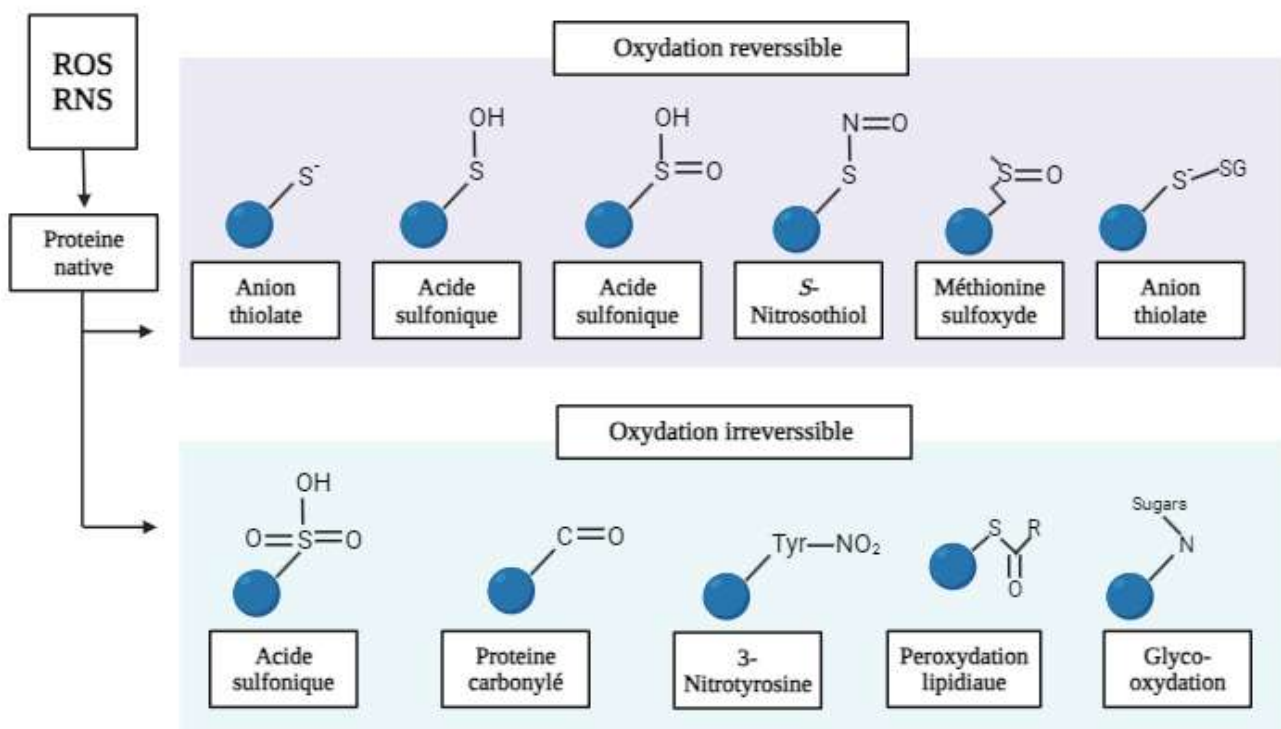


Figure 5. Oxydative damage protéiques causées par les ROS. (Pajares, 2015)

Ces modifications peuvent également créer des ponts intraprotéiques et interprotéiques, affectant la stabilité et l'interaction des protéines tels que l'inactivation des suppresseurs de tumeurs ou encore la stabilisation du facteur de transcription Hif1 α (hypoxia inducible factor 1 α) (Owusu-Ansah et al., 2008 ; Houée-Lévin et al., 2015). Au niveau nucléaire, les ROS influencent l'expression génique en contrôlant l'activité des modulateurs épigénétiques, tels que les histones désacétylases (HDAC) ou les ADN méthyltransférases (DNMT) (Matsushima et al., 2013) (Fig. 6).

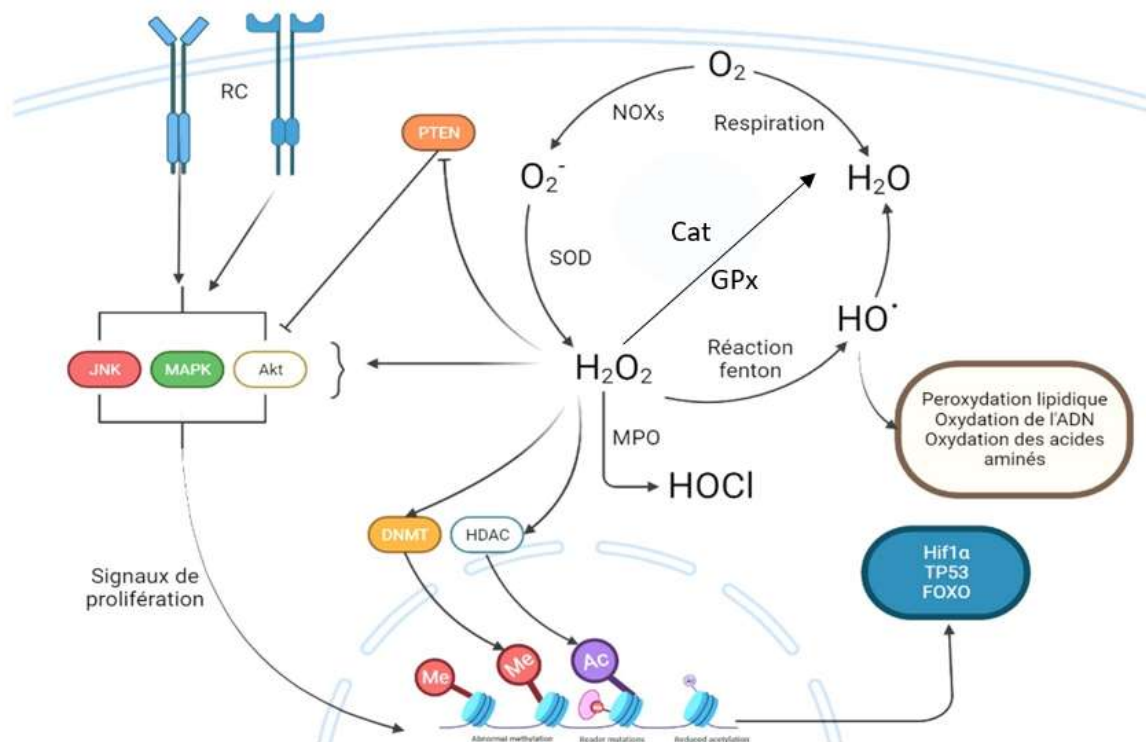


Figure 6. Oxydative damage cellulaires causées par les ROS (Matsushima et al., 2013; Olanich et Barr, 2013; Heather et Elizabeth, 2016). Cat : Catalase, NOX : NADPH oxidase, Akt : protein kinase B, MAPK : Mitogen activated proteine kinase, JNK : -c-Jun N-terminal Kinase, Me : methyl group, Ac : acetyl group, Hif1 : hypoxia inducible factor, FOXO : Forkhead box O, GPx : Glutathione peroxidases, HDAC : Histone deacetylases, DNMT : DNA methyltransferases, MPO : Myeloperoxydase, SOD : Superoxyde dismutase, RC : Growth factor receptors.

Les ROS favorisent également l'accumulation de mutations en oxydant également l'ADN, en particulier l'adénine et la guanine (8-oxo-A et 8-oxo-G) (Valko et al., 2006) (Fig. 7).

En effet, la 8-oxoguanine (oxoG) peut subir une oxydation supplémentaire pour former des lésions oxydatives secondaires telles que la spiroiminohydantoïne (Sp) et la 5-guanidinohydantoïne (Gh). De plus, l'oxoG peut réagir avec des acides aminés comme la lysine ou la tyrosine pour créer des liaisons croisées ADN-protéines en présence d'oxydants. Ainsi que d'autres lésions secondaires, telles que les formamidopyrimidines (Fapy), suite à une oxydation supplémentaire des 8-oxopurines. Ces processus mettent en évidence la complexité des dommages oxydatifs à l'ADN et leurs implications pour la fonction cellulaire et la stabilité génomique (Chen et al., 2007, Rozelle et al., 2021).

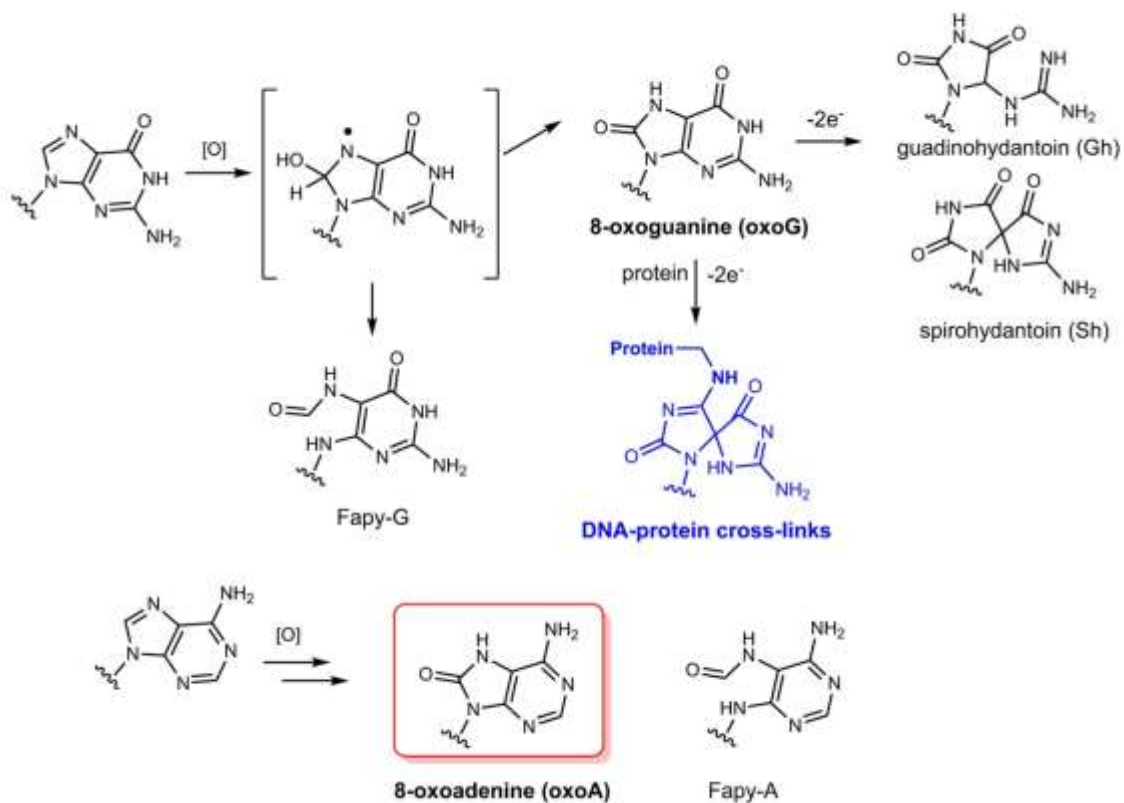


Figure 7. Oxydative damage des nucleobases causées par les ROS (Rozelle et al., 2021).

oxoA : 8-oxoadenine, *oxoG* : 8-oxoguanine, *Sp* : spiroiminohydantoïne, *Gh* : 5-guanidinohydantoïne, *Fapy* : formamidopyrimidines.

2.4.2.2 Système antioxydant

Pour se protéger contre les taux élevés de ROS, les cellules disposent d'un réseau sophistiqué de défenses anti-oxydantes. Ces mécanismes de défense peuvent être classés en deux grandes catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques, chacun jouant un rôle crucial dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif.

2.4.2.2.1 Antioxydants Enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont des protéines qui catalysent des réactions chimiques pour neutraliser les ROS.

2.4.2.2.1.1 Superoxyde Dismutase

La Superoxyde Dismutase (SOD) catalyse la dismutation de deux anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) en H_2O_2 et O_2 (Karihtala et Soini, 2007). En réduisant la concentration de superoxyde, la SOD joue un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs. La SOD existe sous trois isoformes, en fonction de la localisation cellulaire et du co-facteur, on distingue : la SOD1 ou CuZnSOD cytosolique, la SOD2 ou MnSOD mitochondriale, et la SOD3 ou ecSOD extracellulaire (Fridovich, 1995) (Fig. 8).

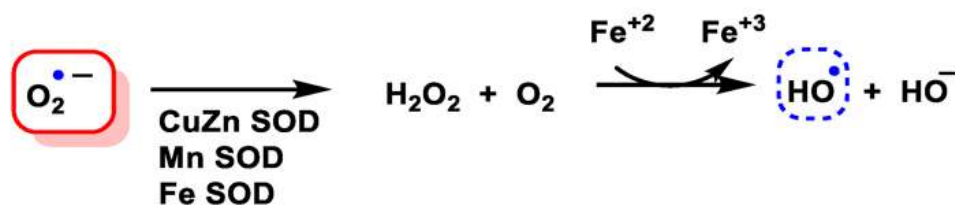


Figure 8. Réaction de dismutation du superoxyde par la superoxyde dismutase (Andrés et al., 2023).

Les études indiquent que l'activité SOD peut être altérée dans le CCR. Govatati et al., ont mis en évidence une régulation à la hausse de la Mn-SOD dans le CCR, qui peut être une réponse à un stress oxydatif accru. Cependant, cette régulation peut parfois contribuer à un déséquilibre des ROS, favorisant potentiellement la progression tumorale (Govatati et al., 2016).

2.4.2.2.1.2 Catalase

La catalase est une enzyme essentielle dans les cellules de mammifères, principalement située dans les peroxysomes où elle détoxifie le H_2O_2 en H_2O et O_2 , protégeant ainsi les cellules des dommages oxydatifs. On peut également la trouver dans le cytosol, notamment dans des conditions de stress oxydatif. Au niveau extracellulaire, la catalase est associée à la membrane de certaines cellules, comme les cellules cancéreuses, et peut être sécrétée dans l'espace extracellulaire lors de conditions pathologiques pour poursuivre ses fonctions anti-oxydantes (Fujiki et Bassik, 2020).

Les recherches indiquent que l'expression de la catalase est souvent réduite dans les tissus atteints de cancer colorectal par rapport aux tissus normaux. Cette réduction peut entraîner une accumulation de peroxyde d'hydrogène, contribuant au stress oxydatif et aux dommages à l'ADN, qui sont des facteurs clés de la cancérogénèse (Che et al., 2016).

2.4.2.2.1.3 Glutathion-peroxydases

Les glutathion-peroxydases (GPx) constituent une famille d'enzymes anti-oxydantes présentes dans différents compartiments cellulaires chez les mammifères et en fonction de leur localisation subcellulaire et spécificité de substrat propre. Nous distinguons la GPx cytosolique, membranaire et extracellulaire. Leur fonction primaire est de catalyser la réduction des hydroperoxydes organiques et du peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme substrat donneur d'électrons. Cette réaction enzymatique permet de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs induits par ces espèces réactives de l'oxygène (Lubos et Handy., 2011).

2.4.2.2.1.4 Glutathion-reductases

Les Glutathione Réductases (GRs) sont des enzymes essentielles qui catalysent la réduction du glutathion oxydé (GSSG) en sa forme réduite (GSH), maintenant ainsi le pool cellulaire de GSH. Cette réaction est cruciale pour les défenses anti-oxydantes cellulaires, en particulier en conjonction avec les GPxs, car elle assure un approvisionnement continu en GSH pour la détoxification des ROS. Les GRs relient la voie des pentoses phosphates au cycle redox du glutathion en utilisant le NADPH comme cofacteur. Ainsi, les GRs intègrent les activités métaboliques de la voie des pentoses phosphates avec le cycle redox du glutathion, assurant une protection efficace contre le stress oxydatif et le maintien de l'homéostasie cellulaire (Achary et al., 2015).

2.4.2.2.1.5 Glutathione S-transferases

Les Glutathione S-Transférases (GSTs) constituent une famille diverse d'enzymes impliquées dans les processus de détoxification. Elles catalysent la conjugaison du glutathion à une large gamme de composés électrophiles, y compris les xénobiotiques et les métabolites endogènes, augmentant leur solubilité et facilitant leur excrétion du corps. Les GSTs sont classées en plusieurs classes selon leur structure et leur spécificité de substrat, chaque classe présentant des fonctions uniques dans différents tissus. Au-delà de la détoxification, les GSTs participent également aux processus de signalisation cellulaire et à la protection contre le stress oxydatif, mais aussi dans divers processus physiologiques, y compris la prolifération cellulaire, l'apoptose et les réponses immunitaires (Vaish et al., 2020).

2.4.2.2.2 Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques sont des molécules qui neutralisent les ROS sans nécessiter de catalyse enzymatique.

2.4.2.2.2.1 Glutathion

Le glutathion réduit (GSH) est un tripeptide qui représente un antioxydant endogène non-enzymatique qui piège directement les ROS et aide à maintenir l'état redox de la cellule. En plus de sa fonction anti-oxydante, le glutathion joue un rôle crucial dans la détoxification des métabolites réactifs et dans la régulation des voies de signalisation cellulaires (Townsend et al., 2003).

Les taux élevés de GSH favorisent l'initiation et la progression des cancers (Harris et al., 2015). En effet, les cellules cancéreuses subissent souvent une reprogrammation métabolique pour répondre à leurs besoins énergétiques accrus. Cette reprogrammation comprend la régulation positive de la synthèse du GSH, qui aide à détoxifier les ROS et à maintenir l'homéostasie cellulaire ainsi des niveaux élevés de GSH sont associés à un potentiel métastatique accru (Bansal et Simon., 2015).

2.4.2.2.2.2 Vitamines C

L'acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble qui peut céder des électrons pour neutraliser les ROS, empêchant ainsi les dommages oxydatifs aux biomolécules (Pisoschi et Pop., 2015).

2.4.2.2.3 Vitamines E

La vitamine E, principalement sous forme d'alpha-tocophérol, est un puissant antioxydant liposoluble non enzymatique, qui joue un rôle crucial dans la protection des membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs, en particulier la peroxydation lipidique. Cette vitamine neutralise efficacement les ROS et interrompt les réactions en chaîne des radicaux libres, empêchant ainsi l'oxydation des acides gras polyinsaturés dans les lipides membranaires, préservant ainsi l'intégrité structurelle des membranes cellulaires (Pisoschi et Pop., 2015).

L'implication du stress oxydatif dans la dérégulation de l'inflammation dans la maladie inflammatoire de l'intestin repose sur un cercle vicieux où les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote amplifient à la fois les dommages cellulaires et l'activation de la réponse immunitaires pro-inflammatoire. Dans les maladies inflammatoires chroniques comme la colite, les cellules immunitaires (macrophages, neutrophiles) génèrent des ROS via l'activation de systèmes enzymatiques tels que la NADPH oxydase et l'iNOS. Ces radicaux libres endommagent l'ADN, les protéines et les lipides membranaires, déclenchant des voies de signalisation comme NF- κ B qui stimulent la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-1 β), ce qui conduit à des dommages à l'ADN, à une instabilité génomique et à des mutations précoces du gène p53 dans les cellules épithéliales intestinales—des mécanismes clés dans la pathogenèse du cancer colorectal associé à la colite (Gu et al., 2023; Bardelčíková et al., 2023).

Ce stress oxydatif crée un microenvironnement immunitaire pro-tumorigénique caractérisé par des cellules suppressives dérivées des myéloïdes (MDSC) et des macrophages associés aux tumeurs (TAM) qui favorisent l'immunosuppression, tandis que des réseaux de cytokines dysrégulés (par exemple, l'axe TNF- α /NF- κ B) maintiennent l'inflammation chronique et la dysfonction de la barrière épithéliale. Les stratégies thérapeutiques émergentes se concentrent sur l'interruption de cet axe inflammation-oxydation-immunosuppression par des thérapies anti-inflammatoires ciblées (Li et al., 2023; Wang, 2023).

2.4.3 Microenvironnement immunitaire associés au CAC

Le système immunitaire est un réseau complexe et dynamique, constitué de diverses cellules qui interagissent de manière coordonnée pour maintenir l'homéostasie. L'interaction entre les cellules immunitaires et les cellules coliques est établie par une balance délicate entre des signaux d'activation et d'inhibition afin de prévenir des réactions auto-immunes et les inflammatoires chroniques.

Dans le contexte des IBD associés, la dysbiose caractérisée par l'altération de la composition du microbiote intestinal et l'activation inappropriée des cellules inflammatoires perturbe cet équilibre entraînant une dérégulation des réponses immunitaires innées et adaptatives perpétuant l'inflammation chronique et, dans certains cas, évoluant vers un CAC (Russo, 2022 ; Wang, 2023) (**Fig. 9**).

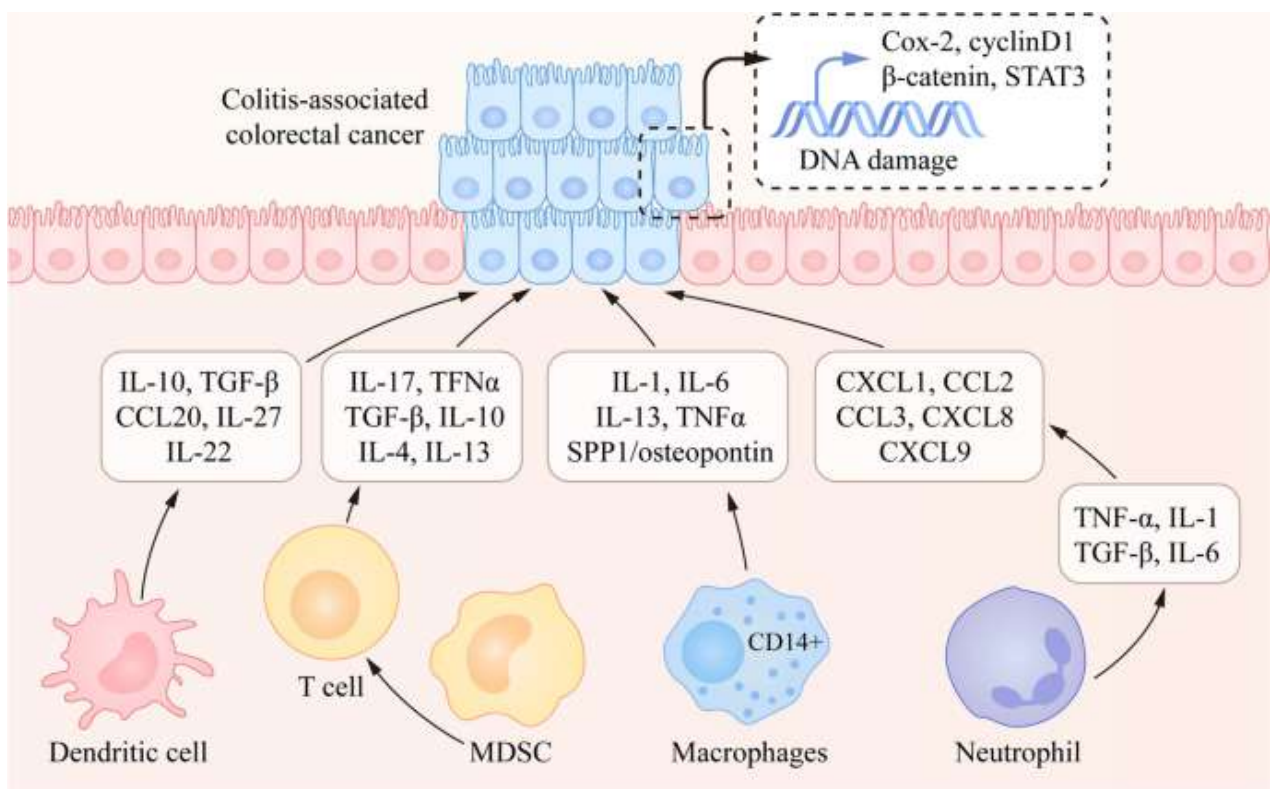


Figure 9. Les cellules immunitaires impliquées dans la progression du cancer du côlon associé à une colite (Li et al., 2023)

Plusieurs études récentes ont montré que le CAC est accompagné d'un recrutement et d'une activation accrue de composants de l'immunité innée telles que les cellules suppressives dérivées de la lignée myéloïde (MDSC), les macrophages, les cellules dendritiques (DC), les neutrophiles et les cellules NK mais aussi de cellules immunitaires adaptatives, y compris les lymphocytes T et B. Ces cellules sécrètent une variété de cytokines et de chimiokines qui modifient l'environnement tumoral, entraînant des dommages à l'ADN et l'activation de gènes associés aux tumeurs (Therrien et al., 2019; Li et al., 2023; Wang, 2023).

2.4.3.1 Neutrophiles

Dans des conditions physiologiques, les neutrophiles ont un rôle majeur dans la défense de l'hôte contre les microorganismes envahissants. Ils sont le type de leucocytes le plus couramment retrouvé dans le sang, toujours prêts à répondre aux stimuli chimiotactiques et à combattre les infections. En effet, en fonction du signal perçu, les neutrophiles peuvent s'activer en deux sous-types fonctionnels distincts, les N1 sont principalement pro-inflammatoires, impliqués dans la destruction de l'agent pathogène et les N2 anti-inflammatoires, impliqués dans la résolution de l'inflammation et la réparation tissulaire (Therrien et al., 2019).

Dans le contexte des IBD, les neutrophiles jouent un rôle important, étant des cellules effectrices centrales dans l'induction des dommages de la muqueuse, produisant des ROS, des RNS et d'autres enzymes spécifiques telles que la myeloperoxydase (MPO), l'élastase des neutrophiles (NE), la cathepsine G, la métalloprotéinase 8 (MMP8) et la MMP9 qui perturbent l'intégrité du tissu intestinal et exacerbent l'inflammation intestinale et une multitude de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- α , l'IL-1, le TGF- β et l'IL-6, ainsi que des chimiokines comme CXCL1, CCL2, CCL3, CXCL8 et CXCL9. Ces molécules ont des effets synergiques qui modifient l'environnement tumoral, favorisant le recrutement de leucocytes et amplifiant ainsi les voies inflammatoires (Pham, 2006 ; Wéra et al., 2016) (*Fig. 10*).

D'autres études montrent que les neutrophiles contribuent à l'immunosurveillance et ont un rôle protecteur dans le développement du CAC (Zhou 2018). Dans divers modèles de souris associés à la colite, l'épuisement des neutrophiles circulants accélère l'inflammation, ce qui suggère que les neutrophiles sont un facteur protecteur dans la progression de l'inflammation (Kühl et al., 2018). Ainsi, les neutrophiles ont un rôle dual dans la carcinogenèse associée aux IBD, étant à la fois pro-tumorigéniques en générant des médiateurs pro-inflammatoires qui

augmentent les dommages à l'ADN et le renouvellement tissulaire, et anti-tumorigéniques en jouant un rôle important dans l'immunosurveillance (Wéra et al., 2016).

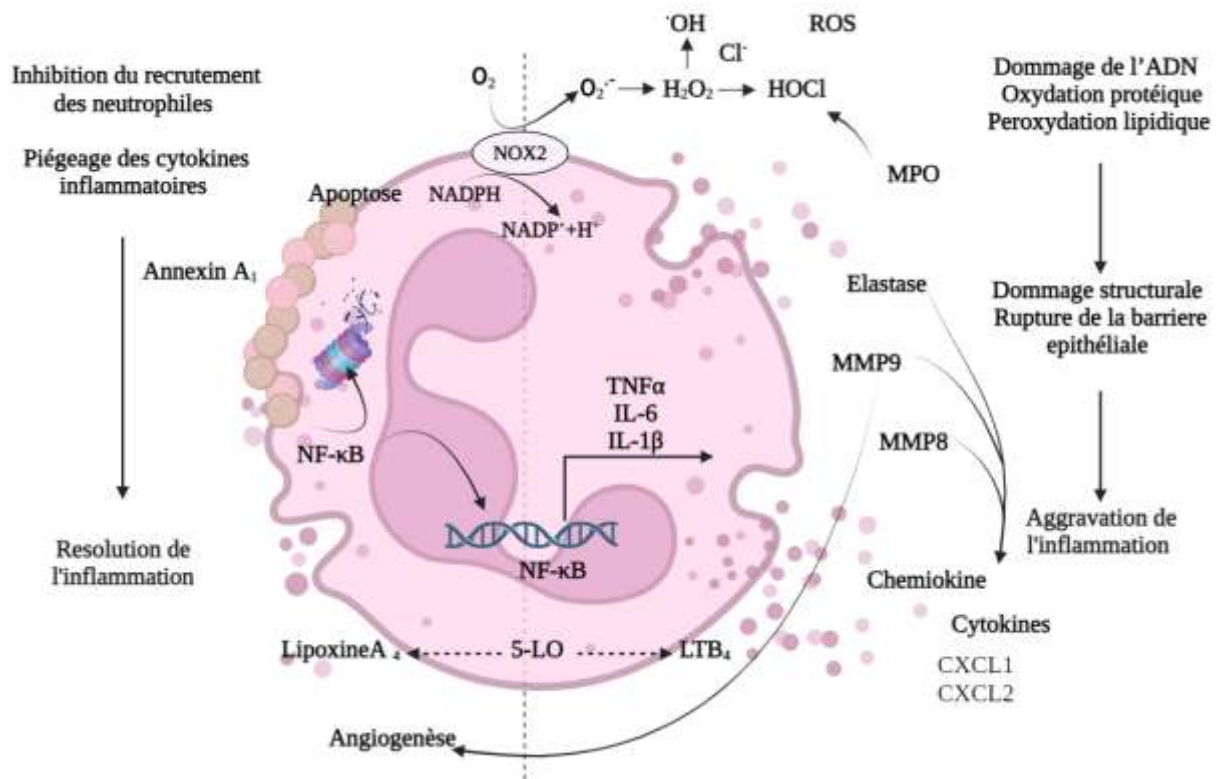


Figure 10. Dual effect des neutrophiles associés à la physiopathologie des IBD vers un CAC adapté de Wéra et al.,2016 5-LO : 5-lipoxygénase, LTB₄ : Leukotriene B4, MMP8 et 9 : Matrix metalloproteinases 8 et 9, NF-Kb: Nuclear factor-kappa B, ROS: Reactive oxygen species, STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3, TNFα: Tumor Necrosis Factor

2.4.3.2 Macrophages

Les macrophages, principales cellules résidentes des tissus appartenant au système immunitaire inné, sont impliqués à la fois dans les réponses immunitaires anti-inflammatoires (M2 ou activées de manière alternative) et pro-inflammatoires (M1 ou activées de manière classique) (Han et al., 2016).

Les macrophages M1, activés par des cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN-γ et des stimuli microbiens tels que les lipopolysaccharides (LPS), produisent des cytokines pro-inflammatoires comme le TNFα et l'IL6, ainsi que des ROS, jouant un rôle essentiel dans la défense contre les infections et la présentation d'antigènes aux cellules T. En revanche, les

macrophages M2, activés par des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL4 et l'IL10, sont impliqués dans la réparation tissulaire et la modulation de la réponse immunitaire en produisant des enzymes favorisant la guérison (Han et al., 2016; Huang et al., 2018; Kang et al., 2021) (Fig. 11).

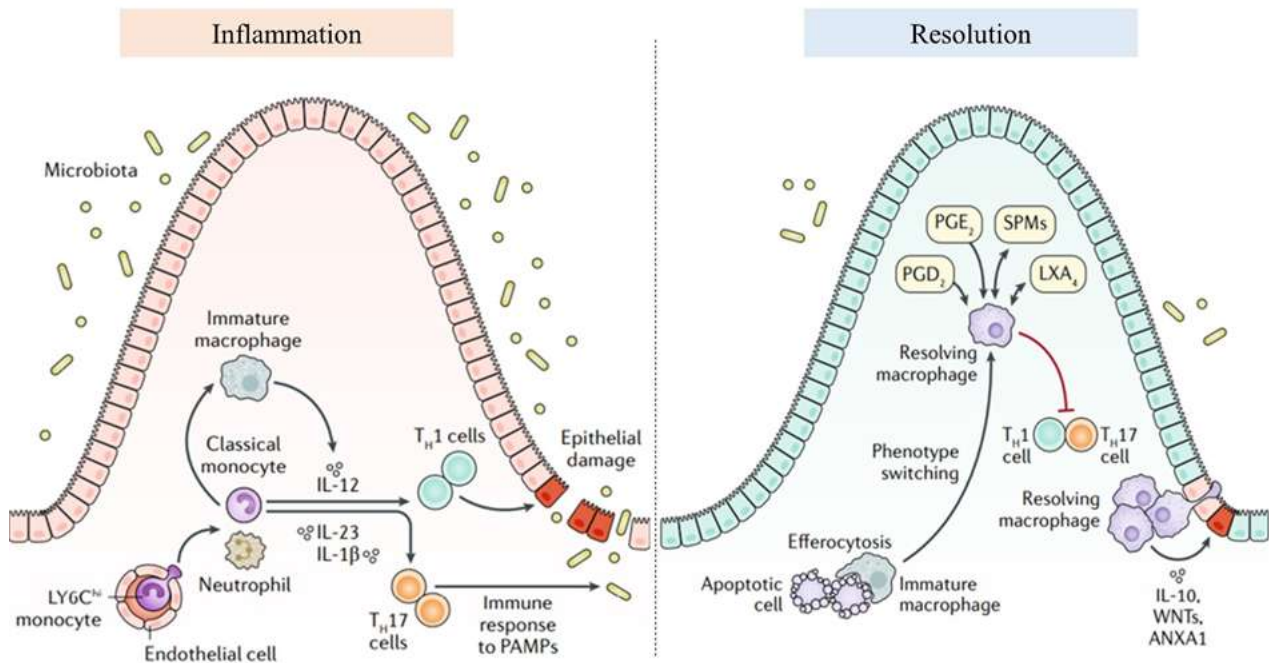


Figure 11. Fonction des macrophages dans les IBD (NA et al., 2019) PGE2 :

Prostaglandin E2, SPM : specialized proresolving mediators, LXA : d lipoxin A4, PGD :

prostaglandin D2 ANXA : Annexin A1

Dans l'IBD, les monocytes migrent vers la *lamina propria* et se transforment en macrophages inflammatoires en réponse à la stimulation des récepteurs Toll-like (TLR) et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-12, IL-23 et IL-1 β favorisant les réponses immunitaires Th1 et Th17 et aggravant les lésions tissulaires (Zhang M et al., 2023). La résolution de l'inflammation implique une variété de médiateurs pro-résolvants, y compris des médiateurs lipidiques tels que les eicosanoïdes et des médiateurs pro-résolvants spécialisés (specialized proresolving mediators, SPMs) comme les résolvines, les protectines et les maresines. Ces médiateurs, ainsi que des cytokines anti-inflammatoires et les facteurs de croissance, facilitent la différenciation des macrophages en un phénotype anti-inflammatoire, limitant l'infiltration supplémentaire des phagocytes tout en favorisant la migration des

monocytes, inhibant ainsi la production de ROS et réduisant l'activation du NF- κ B (NA et al., 2019).

Dans le CAC, les macrophages jouent non seulement un rôle dans l'immunité tumorale, mais aussi dans l'environnement inflammatoire avant la formation de la tumeur, en aggravant les dommages inflammatoires et favorisant la cancérogenèse. Ainsi, en fonction des signaux reçus, l'équilibre de la plasticité phénotypique et fonctionnelle des macrophages M1/M2 peut être inversé, passant de M1 à M2 et vice versa (Bain et Mowat., 2014; Han et al., 2016). Les études de Kvorjak et al., et Bain et Mowat ont démontré qu'à des stades précoces du CAC, les macrophages de type M1 conduisaient à l'activation des cellules immunitaires adaptatives. Ensuite, le phénotype M1 se transforme en un phénotype anti-inflammatoire M2 induisant cette une réponse de type Th2 et participe à l'expansion et à la prolifération tumorales (Kvorjak et al., 2020 ; Bain et Mowat., 2014) (**Fig. 12**). Un nombre croissant d'études ont exploré la régulation de l'équilibre entre les réponses pro-inflammatoires et anti-inflammatoires comme nouvelle stratégie thérapeutique pour les maladies inflammatoires (Dou et al., 2020 ; Huang et al., 2018).

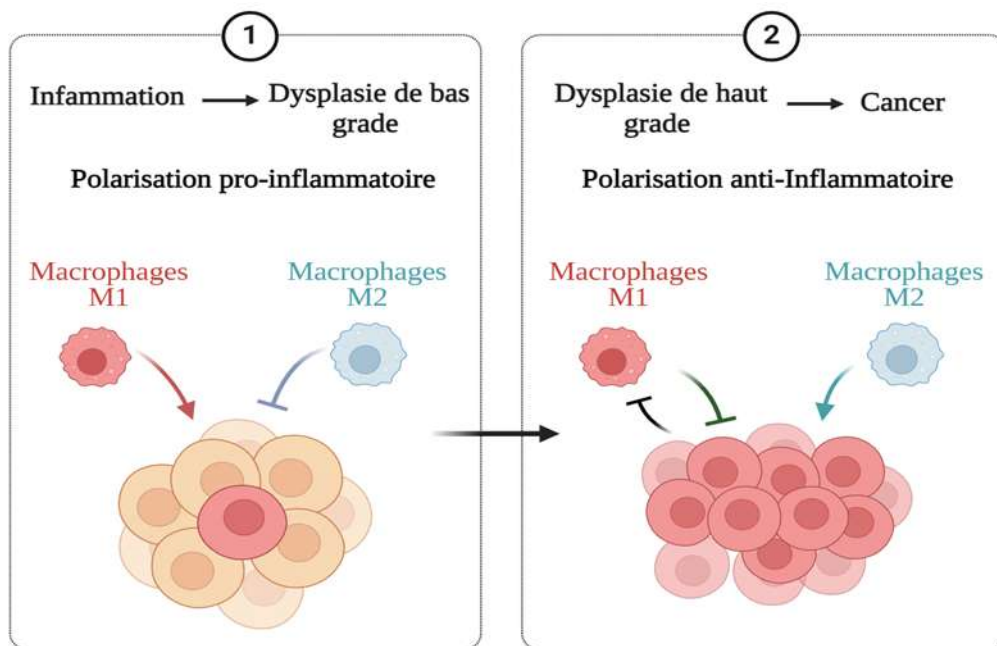


Figure 12. Plasticité phénotypique et fonctionnelle des macrophages associées au développement du CAC adapté de Kvorjak et al., 2020; Bain CC et Mowat 2014.

2.4.3.3 Lymphocytes

Les cellules T sont des cellules immunitaires importantes qui participent à l'immunité adaptative. L'interaction entre les macrophages et les cellules T, peut réguler la direction et l'intensité de la réponse immunitaire par divers mécanismes. Elles incluent divers sous-types, tels que les cellules T auxiliaires CD4⁺, les cellules T cytotoxiques CD8⁺ et les cellules T régulatrices (Tregs) (Zhang et al., 2023).

2.4.3.3.1 LT CD4⁺

Le compartiment des cellules T de la *lamina propria* intestinale est principalement composé de cellules T résidentes CD4⁺ de mémoire effectrice. Elles sont classées comme cellules T auxiliaires CD4⁺ (Th), qui sont à leur tour subdivisées en cellules Th1, Th2, Th17 et Treg.

Dans l'immunité anti-tumorale, les cellules T jouent un rôle crucial. Elles peuvent directement lyser les cellules cancéreuses et coordonner différentes réponses immunitaires protectrices. La présence et la densité des lymphocytes T infiltrant les tumeurs (TIL) ont été associées à de meilleurs pronostics cliniques. Cela suggère que les cellules T pourraient exercer des fonctions de surveillance immunitaire au niveau des lésions dysplasiques précancéreuses. En effet, l'inhibition de l'expression de la molécule de co-stimulation CD80 *in vivo* dans un modèle murin de CAC a significativement augmenté la fréquence et la taille des lésions dysplasiques de haut grade, tandis que la restauration de CD80 a diminué la dysplasie colique (Scarpa M et al., 2015).

Cependant, les cellules T activées peuvent aussi promouvoir indirectement la progression tumorale. Le recrutement des lymphocytes T CD4⁺ Th joue un rôle significatif dans le maintien de l'entérite chronique chez les patients atteints d'IBD, ainsi que dans la promotion du CAC à travers la promotion d'une réponse immunitaire type Th1, libérant des cytokines pro-tumorales et des chimiokines angiogéniques et des MMP qui favorisent la croissance des tumeurs et stimulent l'angiogenèse et la dégradation de la matrice extracellulaire (Waldner et Neurath., 2009) (Fig. 13).

De plus, les cellules Tregs, exprimant les facteurs de transcription Foxp3 et CD25, exercent des effets immunosuppresseurs par le biais de communications cellulaires directes et de la sécrétion de cytokines telles que le TGF- β et l'IL-10. Ces dynamiques illustrent l'interaction complexe entre différents sous-types de cellules T et leurs contributions à

l'inflammation et au développement du cancer dans le tractus gastro-intestinal (*Pan et al., 2010; NA et al., 2019; Clough et al., 2020*).

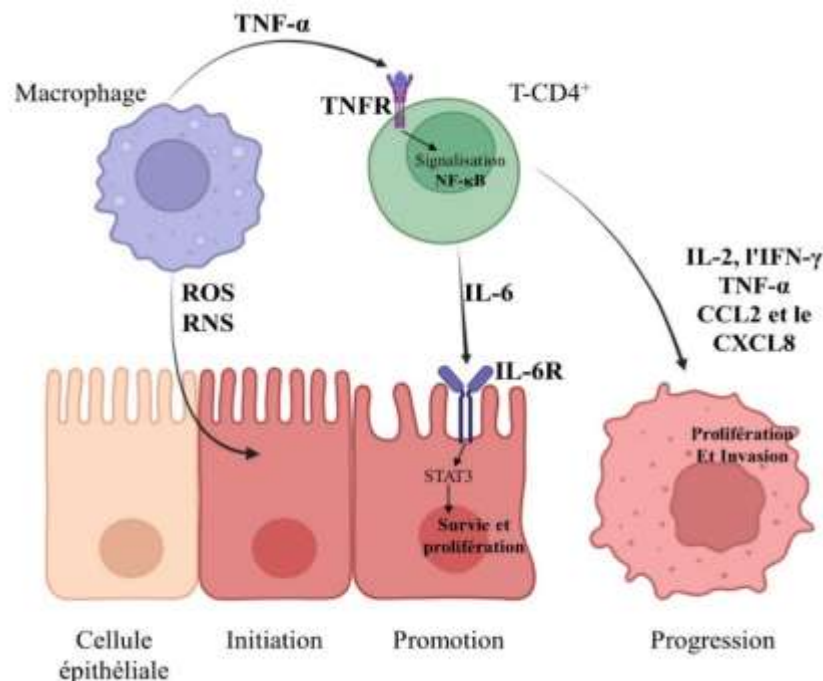


Figure 13. Cross-talk des macrophages M1 et des lymphocytes TCD4⁺ dans le développement du CAC adapté de Pan et al., 2010; NA et al., 2019; Clough et al., 2020. TNFα: Tumor Necrosis Factor alpha, TNFR: Tumor Necrosis Factor, NF-Kb: Nuclear factor-kappa B, STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3, ROS : Reactive oxygen species, RNS: Reactive nitrogen species.

2.4.3.3.2 LB CD20⁺

Les lymphocytes B, ou cellules B, jouent un rôle crucial dans le système immunitaire adaptatif, à savoir l'immunité humorale, en produisant des anticorps qui neutralisent les agents pathogènes. Ils proviennent des cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse et subissent des processus de maturation pour devenir pleinement fonctionnels.

Dans le contexte des IBD, les lymphocytes B contribuent à l'inflammation chronique observée dans la CD et l'UC. Des études ont montré que les cellules B peuvent produire des cytokines, des facteurs pro-inflammatoires et des auto-anticorps qui exacerbent l'inflammation intestinale. Par exemple, le facteur d'activation des cellules B (BAFF) qui favorise la survie et l'activité des cellules B (*Rosenberg JH et al., 2020*).

De plus, les lymphocytes B peuvent interagir avec les cellules T et les macrophages, exacerbant les processus inflammatoires et le stress oxydatif, créant une boucle de rétroaction et générant une polarisation Th2, qui augmente le risque de cancer. D'autre part, les lymphocytes B peuvent avoir des rôles à la fois protecteurs et pathogènes. Ainsi, les cellules B peuvent contribuer à l'immunité anti-tumorale en produisant des anticorps contre les antigènes tumoraux (Rosenberg et al., 2020 ; Matsumoto T et al., 2021).

2.4.4 Thérapies associées au CAC

Compte tenu de l'impact significatif des IBD et de leur étiologie complexe, des efforts ont été déployés pour améliorer la prise en charge médicale. Les stratégies thérapeutiques traditionnelles visent à modérer la réponse immunitaire exacerbée de l'hôte à l'aide de médicaments tels que les aminosalicylates, les antibiotiques, les corticostéroïdes, les thiopurines, le méthotrexate et les agents biologiques ciblant le facteur de nécrose tumorale (TNF α) (Sales-Campos et al., 2015).

Bien que ces traitements se soient révélés efficaces dans de nombreux tableaux des CD et des UC, leur efficacité est souvent limitée en raison d'une réponse variable conduisant à des résultats imprévisibles (Fig. 14). Les nouvelles stratégies visent à atténuer l'inflammation sans induire d'immunosuppression, ce qui demeure un défi pour les professionnels de la santé (Sales-Campos et al., 2015).

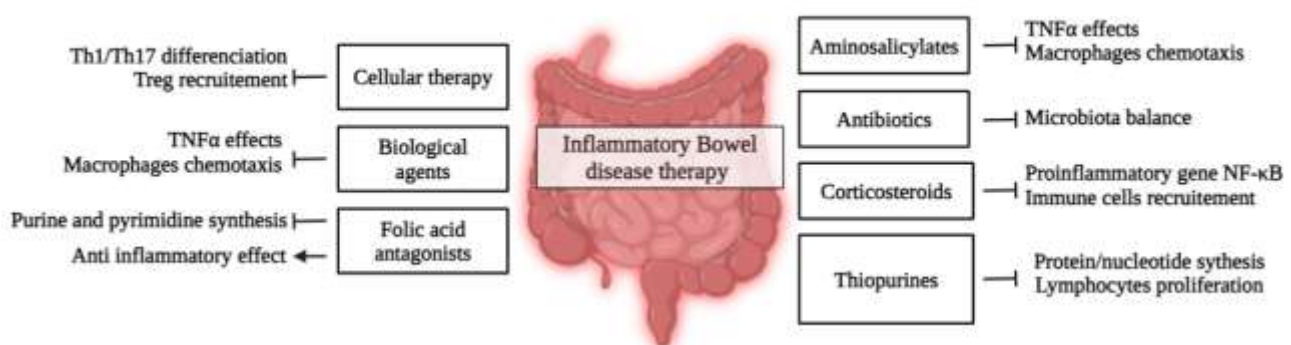


Figure 14. Thérapies actuelles et émergentes des maladies inflammatoires de l'intestin (Sales-Campos et al., 2015)

Dans le traitement du CAC, les thérapies reposent sur plusieurs approches, notamment la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie. Bien que ces stratégies aient permis d'améliorer

le pronostic de nombreux patients, elles présentent encore des limites et peuvent avoir un impact significatif sur la qualité de vie (Tournigand et al., 2004). La chimiothérapie reste un pilier essentiel du traitement du CCR et CAC. Deux des agents chimiothérapeutiques les plus couramment utilisés sont l'oxaliplatine et le 5-fluorouracile (5-FU). Néanmoins, les effets secondaires restent fréquents et peuvent être invalidants, altérant la qualité de vie sur le plan physique, psychologique et social. De plus, les résistances tumorales représentent un défi majeur, limitant l'efficacité à long terme de ces traitements (Nio et al., 2016 ; Gordon et al., 2019).

2.4.4.1 Oxaliplatine

L'oxaliplatine est un agent chimiothérapeutique à base de platine classé comme un agent alkylant, souvent utilisé en association avec le 5-FU et le leucovorine dans le schéma FOLFOX pour le traitement du CCR et du CAC, ce qui a démontré une amélioration de la survie sans progression et de la survie globale chez les patients atteints de CAC par rapport au 5-FU seul (Tournigand et al., 2004).

Lors de son administration, l'oxaliplatine est converti en sa forme active, qui se lie à l'ADN, entraînant la formation d'adduits à l'ADN. Cette liaison se produit principalement au niveau de la position N7 des bases de guanine, conduisant à la formation de liaisons interbrins et intrabrins (Miller et al., 2020). Ces liaisons empêchent la séparation des brins d'ADN, qui est essentielle pour la réplication et la transcription, entraînant ainsi un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose (Fig. 15). En plus des dommages directs à l'ADN, l'oxaliplatine peut induire un stress oxydatif comme sous-produit de sa conversion métabolique et de son interaction avec les composants cellulaires. Des niveaux élevés de ROS peuvent endommager davantage les macromolécules cellulaires, y compris les lipides et les protéines, exacerbant ainsi les effets cytotoxiques de l'oxaliplatine dans les cellules cancéreuses (Čipak Gašparović et al., 2021).

Cependant, l'oxaliplatine est associé à plusieurs effets indésirables, notamment des neuropathies sensorielles périphériques, myélodépression, une toxicité gastro-intestinale et des réactions allergiques (Argyriou et al., 2008 ; Tournigand et al., 2004). Face à ces limitations, de nouvelles approches thérapeutiques émergent, telles que l'immunothérapie et la thérapie génique. Bien que prometteuses, leur efficacité et leur tolérance à long terme restent à évaluer (Brahmer et al., 2018). De plus, l'accès à ces traitements innovants peut être limité par des considérations économiques et réglementaires.

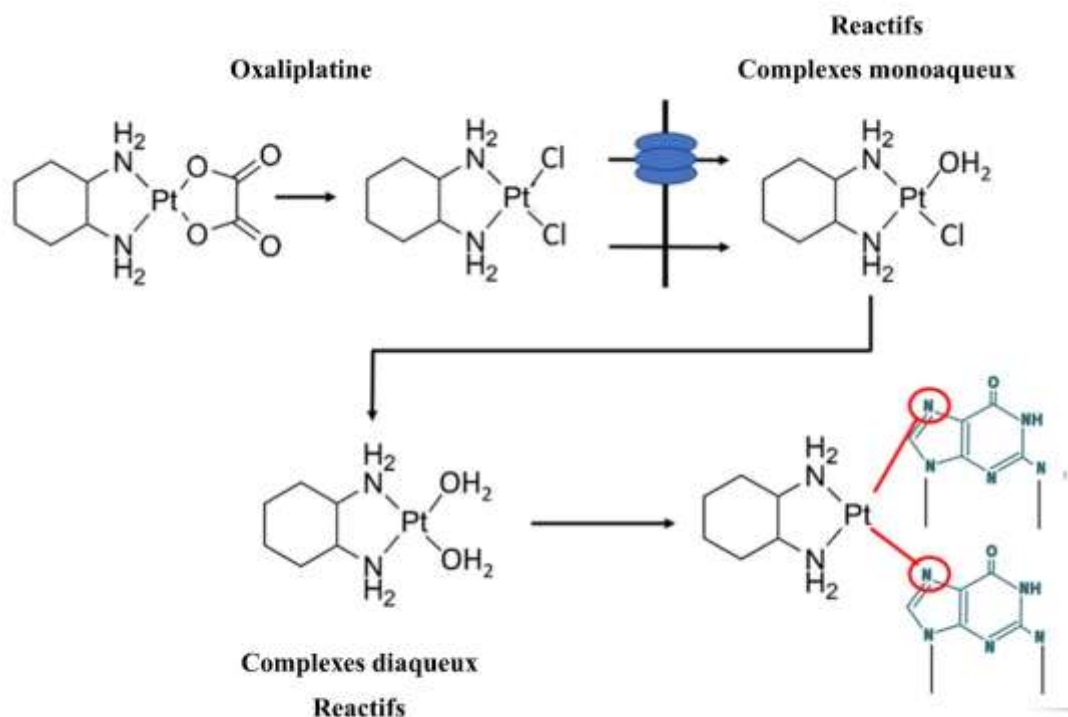


Figure 15. Métabolisme de l'oxaliplatine et formation d'adduits à l'ADN (Karlsson et al., 2024)

2.5 Diméthylfumarate

Le DMF est un composé organique dérivé des esters d'acide fumarique (FAE) actuellement approuvé par la FDA sous les produits commerciaux Fumaderm® et Tecfidera® aux États-Unis et Sclera® en Algérie pour le traitement du psoriasis et de la sclérose en plaques rémittente-récurrente (Han et al., 2016) (Fig. 16). Le DMF et son métabolite actif, le monométhylfumarate (MMF), exercent une large gamme de fonctions biologiques, notamment en tant qu'agents anti-inflammatoires et immunomodulateurs (Kornberg et al., 2018 ; Saidu et al., 2017).

Le DMF est particulièrement reconnu pour ses propriétés anti-oxydantes, qui lui permettent de neutraliser les ROS et de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. Cette action étant cruciale, car le stress oxydatif est un facteur contributif majeur dans de nombreuses maladies chroniques, y compris les cancers (Saidu et al., 2017).

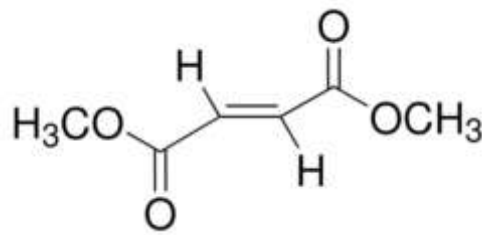


Figure 16. Structure chimique du Dimethylfumarate (Timpani et al., 2023)

Le DMF agit aussi comme un immunomodulateur en influençant les sous-ensembles de cellules T et les cellules gliales. Il réduit la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine-2 (IL2) et le TNF- α , qui sont souvent impliquées dans les cascades inflammatoires. Cette réduction des cytokines pro-inflammatoires contribue à atténuer l'inflammation chronique, un facteur clé dans le développement des IBD (Loewe et al., 2002 ; Kastrati et al., 2016).

Le DMF est reconnu comme le composant responsable des effets cliniques de la préparation d'ester d'acide fumarique. Des études in vitro ont démontré que le DMF subit une absorption rapide et un métabolisme excessif au niveau du tractus gastro-intestinal en sa forme active, le MMF, par les estérases abondantes présentes dans les tissus. Bien que le DMF ne soit pas traçable dans la circulation systémique, la concentration de MMF dans la circulation sanguine atteint un pic environ 2 à 2,5 heures (Tmax) après l'ingestion avec une biodisponibilité d'environ 60 % et une demi-vie d'élimination d'environ 1 heure. Le Tmax peut être retardé jusqu'à quelques heures avec la Co-administration d'un repas riche en graisses et en calories qui, cependant, ne modifiera pas l'AUC tout en diminuant les effets secondaires liés au métabolisme du médicament. Ces propriétés pharmacocinétiques contribuent à l'efficacité et au profil de sécurité du DMF dans le traitement de la sclérose en plaques (Bomprezzi et al., 2015; Timpani et al., 2023) (*Fig. 17*).

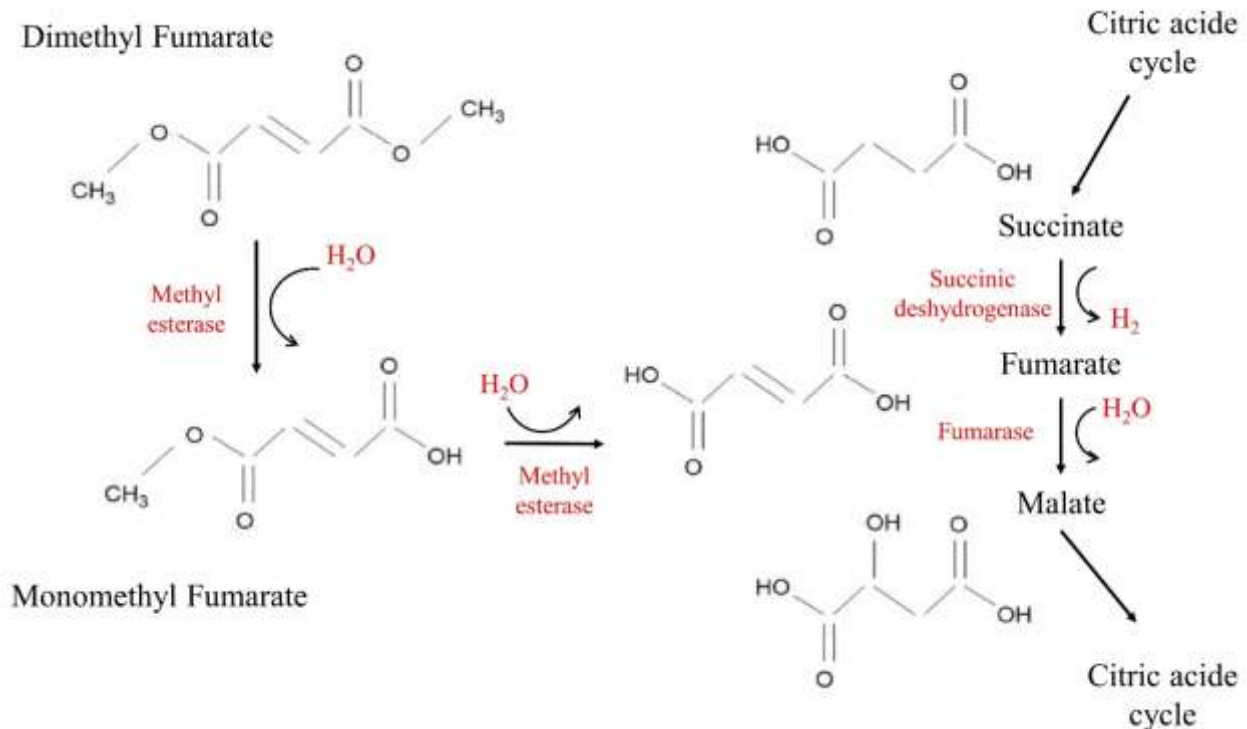


Figure 17. Métabolisme du DMF (Bomprezzi et al., 2015)

Bien que le mécanisme d'action du DMF ne soit pas encore entièrement élucidé, des études ont montré qu'il exerce ses effets principalement par la modulation de l'activation du facteur Nrf2 (Saidu et al., 2017) et l'inhibition de la voie NF- κ B (Kastrati et al., 2016) (Fig. 18).

2.5.1 Activation de la voie NRF2

Le DMF induit des réponses cytoprotectrices via l'activation de la voie de la réponse anti-oxydante médiée par le facteur de transcription NRF2. Dans des conditions basales, le facteur NRF2 est retenu dans le cytoplasme, inhibé et dégradé après ubiquitination et dégradation protéasomale par liaison avec son répresseur, la protéine associée à ECH de type Kelch 1 (Keap1) (Timpani et al., 2023).

Le mode d'action du DMF dépend principalement de la réaction de succination exercée sur les résidus cystéine de Keap1, entraînant ainsi un changement conformationnel suivi de la libération de NRF2 et sa translocation dans le noyau, favorisant la transcription de gènes cibles sur enhancer cis-régulateurs, appelés éléments de réponse anti-oxydante (ARE), qui contrôlent l'expression d'enzymes cytoprotectrices et détoxifiantes. Parmi d'autres, certains gènes cibles

de NRF2 incluent l'hème oxygénase-1 (*HO-1*), la NAD(P)H quinone déshydrogénase 1 (*NQO1*) (Saidu et al., 2017).

Outre son action sur le NRF2, le DMF peut aussi contrôler le métabolisme énergétique cellulaire notamment via la succination de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) conduisant à l'inhibition de la glycolyse dans les cellules myéloïdes et lymphoïdes (Kornberg et al., 2018 ; Timpani et al., 2023).

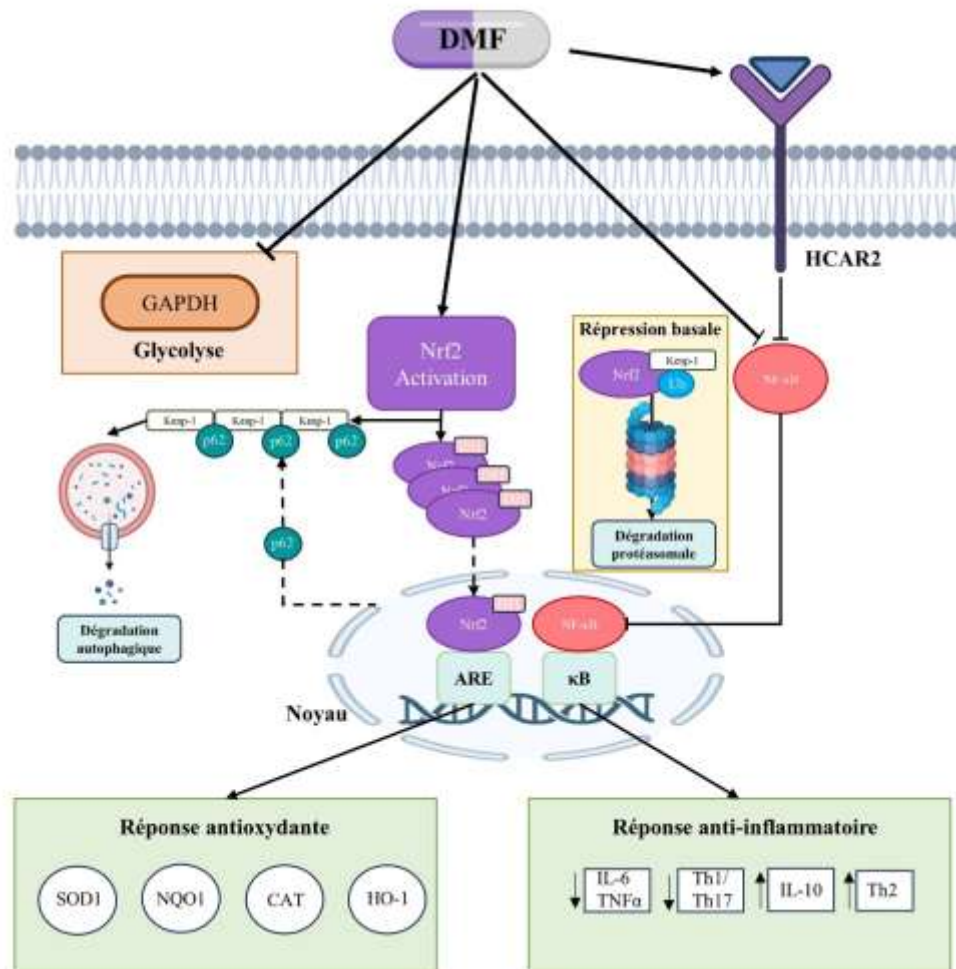


Figure 18. Mécanismes d'action potentiels du DMF adapté de Timpani et al., 2023 NRF2 :
nuclear factor erythroid 2–related factor 2, Keap : Kelch-like ECH-associated protein 1, ARE: antioxidant response element, SOD1 : superoxide dismutase 1, NQO1: NAD(P)H dehydrogenase (quinone), CAT : catalase, HO-1 : haemoxygenase 1, NF-κB : nuclear factor kappa B, ikB : IkappaB kinase, HCAR2 : hydroxycarboxylic acid receptor, GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH).

2.5.2 Inhibition de la voie NF- κ B

Le DMF inhibe le facteur de transcription NF- κ B entraînant une réduction en aval de la production de cytokines inflammatoires ainsi qu'une déviation immunitaire des cellules T auxiliaires (Th) du profil Th1 et Th17 vers un phénotype Th2 (Kastrati et al., 2016).

Dans des conditions physiologiques, le NF- κ B est confiné dans le cytoplasme sous forme de dimère grâce à la présence des inhibiteurs de kappa B (I κ B), qui empêchent sa translocation vers le noyau. Cependant, dans des conditions inflammatoires, cette dynamique change suite à la libération du TNF- α entraînant l'activation de la voie canonique de NF- κ B. L'activation de cette voie commence par l'activation du complexe inhibiteur kappa B kinase (IKK), qui joue un rôle crucial dans la régulation de NF- κ B. IKK phosphoryle les I κ B qui se lient au NF- κ B, un processus qui conduit à l'ubiquitination des I κ B. Cette modification post-traductionnelle marque les I κ B pour leur dégradation par le protéasome, permettant ainsi aux sous-unités p65 et p50 de NF- κ B d'être libérées. Une fois libérées, ces sous-unités peuvent pénétrer dans le noyau cellulaire, où elles agissent comme des facteurs de transcription (Viennois et al., 2013).

Dans le noyau, le NF- κ B initie la transcription d'une multitude de gènes impliqués dans des processus cellulaires critiques tels que l'inflammation, la survie, la prolifération et l'apoptose. Ces gènes incluent ceux codant pour des protéines anti-apoptotiques telles que le Bcl-2, des facteurs de croissance comme le VEGF et des cytokines pro-inflammatoires, par exemple TNF- α , IL-6 et l'IL-1 β , contribuant ainsi à un microenvironnement tumoral favorable à la progression du cancer. Par conséquent, l'activation aberrante de NF- κ B, souvent observée dans les tumeurs, peut favoriser un état d'inflammation chronique qui, à son tour, stimule la carcinogenèse. Cette interconnexion entre inflammation et cancer souligne l'importance de cibler la voie NF- κ B dans le développement de stratégies thérapeutiques pour traiter les cancers associés à l'inflammation (Viennois et al., 2013 ; Kastrati et al., 2016).

Parmi les mécanismes anti-inflammatoires du DMF, nous citons l'inhibition de la translocation nucléaire du NF- κ B médiée par le récepteur des acides hydroxycarboxyliques 2 (HCAR2), ce qui conduit à l'induction de la voie AMPK-SIRT1, qui favorise la désacétylation de NF- κ B et, par conséquent, son inhibition (Timpani et al., 2023).

3 Matériel et Méthodes

Le présent travail a été réalisé en collaboration entre l'Université des Sciences et Technologies Houari Boumediene, au sein du Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Équipe Pharmacologie et Signalisation, et le Centre Hospitalier Universitaire Mustapha Pacha d'Alger, Service d'Anatomopathologie. Les ressources et l'expertise des deux institutions ont été cruciales pour la réussite de ce projet.

3.1 Matériels

3.1.1 Matériel biologique

Notre recherche a été menée sur des souris NMRI femelles âgées de 8 à 10 semaines (23 à 26 g) fournies par l'Institut Pasteur d'Alger.

Ces souris ont été acclimatées pendant 3 semaines à l'animalerie de la faculté des sciences biologiques (USTHB) dans des conditions standard et un accès libre à l'eau potable et à une alimentation pour rongeurs composée de 49,80 % de glucides, 34,50 % de protéines, 10 % de lipides, et 5,7 % de complexe minéral-vitaminé.

3.2 Méthodes

3.2.1 Modélisation animale d'une colite associée au cancer colorectal

La modélisation animale est un outil essentiel pour la compréhension des causes et des mécanismes cancéreux.

Dans le domaine de la colite ulcéreuse, il existe de nombreux modèles développés chez les rongeurs, mais seulement quelques-uns d'entre eux sont adaptés à l'étude de la séquence inflammation-cancer, un aspect crucial pour comprendre le développement du CAC. Le modèle le plus largement utilisé dans ce contexte repose sur l'administration orale du DSS chez les souris, qui induit une colite chimique reproduisant plusieurs caractéristiques histopathologiques de la rectocolite hémorragique humaine.

La DMH et son métabolite actif, l'AOM, sont à leur tour largement utilisés comme carcinogènes pour induire un cancer du côlon. Des expérimentations menées sur des modèles murins ont révélé des tumeurs coliques induites par l'exposition à la DMH avec une origine épithéliale ainsi qu'une histologie, une morphologie et une anatomie analogues à celles des néoplasmes coliques observés chez l'Homme (Bounaama et al., 2012). Toutefois, l'induction

de néoplasmes nécessite l'administration de doses répétées de DMH (de l'ordre de 20 à 40 mg/kg de masse corporelle) ainsi qu'une période d'expérimentation prolongée.

L'association DMH/DSS a fourni par la suite un modèle murin de CAC, dans lequel la transition inflammation-dysplasie-cancer est développée en 10 semaines avec une dose faible de DMH, suivie de trois cycles de DSS à 2%. L'inflammation provoquée par le DSS induit un cycle de récurrence-rémission de la colite chronique, favorisant la progression des lésions précancéreuses initiées par le DMH vers une dysplasie, voire un cancer (*Fig. 19*).

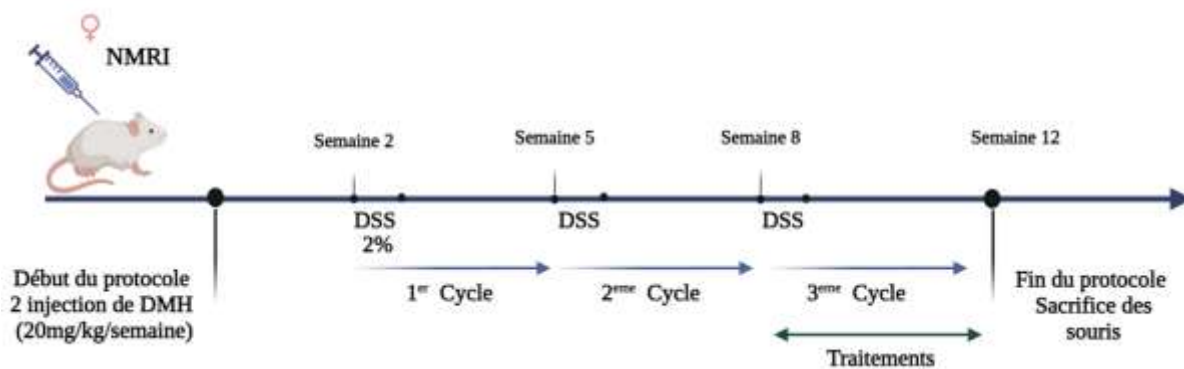


Figure 19. Protocole d'induction de la CAC à la DMH et le DSS sur modèle murin et traitements pharmacologiques

3.2.1.1 Protocole pharmacologique

Les souris ont été réparties de manière aléatoire en 5 groupes de 15 animaux chacun :

- Groupe contrôle : les souris ont reçu des injections sous-cutanées de NaCl à 0,9% une fois par semaine pendant 2 semaines consécutives.
- Groupe DMH/DSS : les animaux ont reçu deux injections sous-cutanées de DMH (20 mg/kg de poids corporel), une fois par semaine. Ces injections ont été suivies de trois cycles de DSS dans l'eau de boisson (2% poids/volume). Chaque cycle était défini comme une période de sept jours pendant laquelle les animaux recevaient du DSS, suivie d'une période de 14 jours pendant laquelle ils recevaient de l'eau du robinet.
- Groupe DMF : les souris ont reçu le diméthyle fumarate post-induction DMH/DSS par voie orale à deux doses différentes : 30 et 100 mg/kg par jour pendant un mois (groupes DMF30 et DMF100 respectivement).
- Groupe OXA : les souris ont reçu l'oxaliplatine post DMH/DSS induction par voie péritonéale à 6.8mg/kg par semaine pendant un mois.

3.2.2 Préparation des échantillons

Après le sacrifice, les côlons ont été prélevés puis divisés en deux fractions.

La première fraction a été utilisée pour l'étude histologique et immunohistochimique. Les côlons ont été fixés dans du paraformaldéhyde à 4 % pendant 24 heures, puis transférés dans de l'éthanol à 70 %.

La deuxième fraction a été utilisée pour l'analyse biochimique. Les échantillons ont d'abord été homogénéisés dans un tampon phosphate à 50 mM (pH 7,2) contenant 1 % de Triton X-100, puis soumis à trois cycles de congélation-décongélation. Ensuite, une centrifugation a été réalisée à 10 000 g pendant 10 minutes à 4 °C, permettant ainsi de récupérer le surnageant pour l'évaluation des activités enzymatiques et non enzymatiques.

3.2.3 Etudes des altérations coliques macroscopiques et microscopiques

3.2.3.1 Quantification des foyers de crypte aberrante

Après la fixation, les côlons ont été brièvement rincés à l'eau, puis immergés dans une solution de bleu de méthylène à 0,2 % pendant 5 minutes. Le bleu de méthylène est un colorant cationique qui est avidement absorbé par la muqueuse intestinale, mettant en évidence les régions de prolifération cellulaire active, telles que les ACF (Bird, 1987).

Les ACF ont été identifiés et distingués des cryptes normales sur la base de plusieurs critères morphologiques bien définis (Yuan et al., 2008 ; Yamada et al., 2001):

- L'intensité de la coloration par rapport aux cryptes normales adjacentes, reflétant une prolifération et une densité cellulaires accrues.
- La taille des cryptes et l'épaisseur du revêtement épithélial, présentant souvent des ouvertures luminales comprimées ou allongées en fente, contrairement aux lumières rondes et régulières des cryptes normales.
- L'élévation par rapport au plan de la muqueuse environnante saine, formant des protubérances microscopiques distinctes.

Le nombre total d'ACF par côlon a été compté et la multiplicité des cryptes (nombre de cryptes aberrantes par foyer) a été évaluée au microscope optique à faible grossissement (40X).

3.2.3.2 Etudes histologiques

Les échantillons préalablement fixés et conservés dans une solution d'éthanol à 70 % ont été soumis à un processus de déshydratation progressive par immersion dans une série de bains d'éthanol de degré croissant, puis inclus dans un milieu d'enrobage de paraffine afin de permettre la réalisation de sections histologiques fines de 2 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome. Enfin, les coupes obtenues ont été déparaffinées et réhydratées par des passages successifs dans des bains d'éthanol de degré décroissant.

3.2.3.2.1 Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E)

Les coupes histologiques ont été colorées par la méthode standard à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) dans le but d'évaluer les niveaux de dysplasie et d'altération histopathologique associés au CAC. En résumé, les lames ont été exposées à l'hématoxyline pendant 1 minute à température ambiante, puis rincées à l'eau avant d'être immergées dans une solution d'éosine durant 45 secondes.

L'analyse microscopique des coupes histologiques a été effectuée en double aveugle par deux observateurs, dont un pathologiste, afin de classer les anomalies.

3.2.3.2.2 Coloration au bleu Alcian

La coloration au bleu Alcian a été utilisée pour identifier les foyers dépourvus de mucine (Mucin depleted Foci, MDF). En bref, après fixation dans de l'acide acétique à 3 % ; les coupes histologiques ont été colorées pendant 30 min avec une solution de bleu Alcian à 1 % pH 2,5 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Ces côlons ont ensuite été rincés pendant 10 minutes pour prévenir toute coloration non spécifique.

Les MDF ont été identifiés comme des cryptes caractérisées par une production réduite ou absente de mucines, et distingués par une absence de coloration au bleu Alcian lors de leur observation sous un microscope à lumière à faible grossissement ([Femia et al., 2012](#)).

3.2.3.3 Étude immunohistochimique

Les fines coupes de tissu sur lames silanisées ont été déparaffinées, réhydratées et soumises à un démasquage antigénique à 90°C dans un tampon Tris-EDTA pH 9,0, puis traitées avec une solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3% afin d'inhiber l'activité peroxydase endogène.

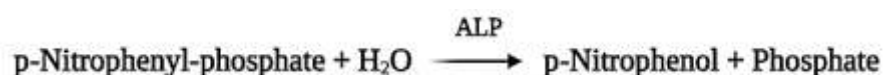
Les coupes ont été incubées avec des anticorps primaires spécifiques préalablement dilués (1/100) pour la détection de l'expression de la MPO, CD68, CD20, p53 (Dako, Danemark A/S) et (1/50) pour le NRF2 (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), puis marquées avec des anticorps secondaires (dilution 1/200, DAKO® et Sigma-Aldrich). La visualisation a ensuite été réalisée à l'aide du chromogène DAB (DAKO®).

Les coupes ont été contre-colorées à l'hématoxyline de Mayer, montées, puis analysées en microscopie optique pour évaluer la localisation, l'intensité et la distribution du marquage immunohistochimique. Une analyse quantitative du marquage tissulaire et cellulaire a été effectuée à l'aide du logiciel ImageJ®.

3.2.4 Evaluation biochimique du profil inflammatoire et immunitaire

3.2.4.1 Mesure de l'activité de la phosphatase alcaline

L'activité de l'enzyme phosphatase alcaline a été mesurée comme indice de prolifération des colonocytes et marqueur inflammatoire dans les échantillons coliques (Hung et al., 2017). Le dosage de l'activité enzymatique a été réalisé par utilisation d'un kit de réaction enzymatique ALP (Spinreact, Spain). L'activité enzymatique est mesurée à pH 10,4 par l'ajout de l'échantillon (100 µl) au tampon contenant du Diéthanolamine, Chlorure de magnésium (1 mmol/L, 0,5 mmol/L) en présence du substrat p-Nitrophénylphosphate (10 mmol/L).



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée avec photométrie à 405nm, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

3.2.4.2 Mesure de l'activité de la myéloperoxydase

La myéloperoxydase (MPO) est une peroxydase hémique (EC 1.11.1.7) localisée dans les granules azurophiles des neutrophiles.

Le dosage enzymatique de l'activité de la MPO a été réalisé par oxydation de l'orthodianisidine, substrat chromogène, en présence de peroxyde d'hydrogène. Brièvement, 100 µL d'homogénat tissulaire a été ajouté à 1 ml de tampon phosphate 50mM pH 6 et 0.167 mg/ml d'orthodianisidine, ma réaction a été déclenchée par l'addition de 0.0005% d'H2O2 (Krawisz et al., 1984).

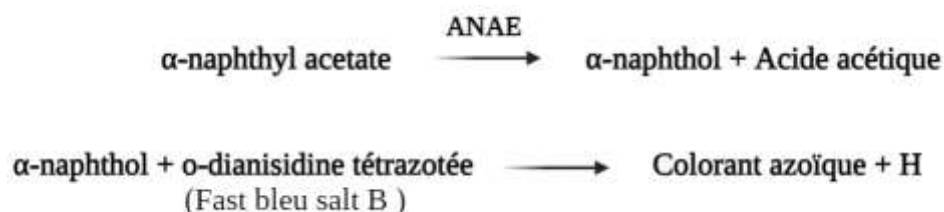


La cinétique de la réaction a été suivie par augmentation de l'absorbance à 460 nm pendant 5 minutes à 30 °C. L'activité MPO est exprimée en $\mu\text{moles d'H}_2\text{O}_2$ transformée/min/mg de protéines.

3.2.4.3 Mesure de l'activité de l' α -naphthyl acétate estérase

L'activité de l' α -naphthyl acétate estérase (ANAE) (EC 3.1.1.7) est localisée dans les lysosomes des macrophages et dans les vésicules cytoplasmiques des lymphocytes (Zhou et al., 2003).

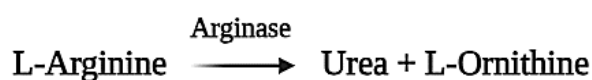
Le dosage de l'activité de l'ANAE a été effectué par la mesure de la formation de β -naphthol à partir du substrat α -naphthyl acétate. Pour cela, 10 μl d'homogénat tissulaire ont été mélangés à 188 μl de tampon phosphate (0,02 M, pH 7,0) et 2 μl de substrat (25 mM) dilué dans de l'acétone, puis incubés à 30°C pendant 15 minutes en présence ou en absence de 10 mM de fluorure de sodium (inhibiteur de l'ANAE des macrophages). La réaction a été arrêtée par l'ajout de 33,2 μl de fast blue BN (tétrazotized O-diansidine) à 0,3 % préparé dans 3,5 % de dodécylsulfate.



La réaction a été laissée se développer pendant 15 minutes à température ambiante et l'absorbance est mesurée à 600 nm puis l'activité de l'ANAE a été exprimée en $\mu\text{M d}'\alpha$ -naphthol/min/mg de protéine.

3.2.4.4 Mesure de l'activité de l'arginase

Arginase (EC 3.5.3.1) est une uréohydrolase, qui représente l'enzyme finale du cycle de l'urée en catalysant l'hydrolyse de l-arginine en l-ornithine et en urée.

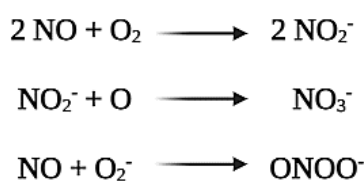


L'activité enzymatique a été mesurée dans 30 µl d'homogénat tissulaire incubé avec 20 µl de tampon Tris-HCl et 4 µl de MnCl₂ à 56°C pendant 10 minutes. Par la suite, 20 µl d'arginine ont été ajoutés et l'incubation s'est poursuivie à 37°C pendant 30 minutes. La réaction a été arrêtée par l'ajout d'une solution de H₂SO₄ à 96%, H₃PO₄ à 85% et H₂O. Ensuite, 8 µl d'α-isonitropropionophénone à 9 % ont été ajoutés au mélange réactionnel, et après chauffage à 95°C pendant 30 minutes (Corraliza IM et al., 1995).

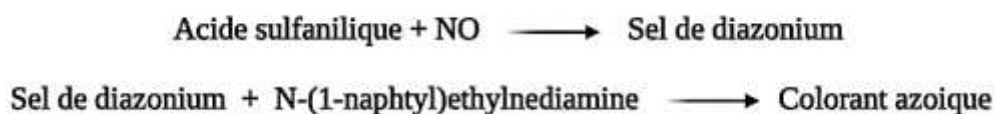
La densité optique (DO) a été mesurée à 540 nm sur microplaque, et la concentration d'urée générée par l'arginase a été mesurée à 550 nm et exprimée en µM d'urée/min/mg de protéine.

3.2.4.5 Mesure des niveaux de nitrites

L'activité de la Nitric Oxide Synthase (NOS, EC 1.14.13.39) est mesurée par dosage du monoxyde d'azote (NO) de manière indirecte à travers la quantification de deux métabolites physiologiquement stables du NO, les nitrites (NO₂⁻) et les nitrates (NO₃⁻).



Le dosage des métabolites a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Griess, basée sur une réaction de diazotation pour donner un colorant azoïque (rose) qui absorbe à 550 nm (Miranda KM et al., 2001).



Après déprotéinisation de notre homogénat par du méthanol, le surnageant a été combiné en volume égal avec du chlorure de vanadium et le réactif de Griess (contenant 0,2 % de p-aminobenzène et 0,02 % de N-(1-naphtyl)éthylènediamine dihydrochlorure dans de l'acide phosphorique). Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 550 nm.

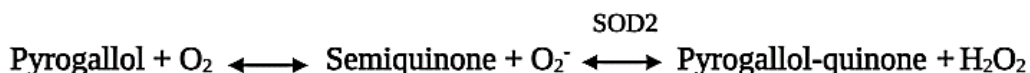
Les concentrations de nitrites ont été calculées en extrapolant sur une courbe étalon d'une solution de NO₂Na utilisée comme source de nitrites et le niveau de nitrites a été exprimé en µM de nitrites/mg de protéine.

3.2.5 Evaluation biochimique de l'homéostasie redox

3.2.5.1 Mesure de l'activité superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du radical anionique (O_2^-) en oxygène moléculaire (O_2) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Le dosage de l'activité SOD2 est basé sur la capacité de notre échantillon à inhiber la formation de l'anion superoxyde en présence d'un générateur spontané de ce dernier.

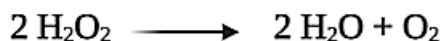


Brièvement, 200 μ l d'homogénat tissulaire ont été incubés dans un tampon Tris-HCl (pH 8,2) en présence de KCN, comme inhibiteur de la Cu/ZNSOD et FeSOD, et de pyrogallol. L'oxydation du pyrogallol a été observée à 420 nm ([Marklund and Marklund, 1974](#)).

L'activité SOD a été exprimée en U/mg de protéine. Une unité (U) est définie comme l'activité inhibant l'auto-oxydation du pyrogallol de 50 %.

3.2.5.2 Mesure de l'activité catalase

La catalase (EC 1.11.1.7) est une hydrogène-peroxyde oxydoréductase ubiquitaire qui catalyse la réaction de décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène.

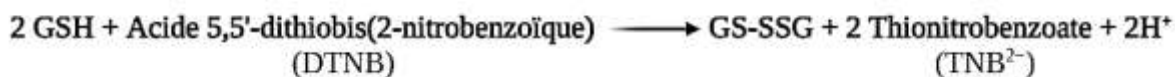


L'activité catalase a été mesurée dans 100 μ l d'homogénat tissulaire à pH 7.0 en présence de H_2O_2 (10 mM) et de tampon phosphate (50 mM). La cinétique de dégradation de H_2O_2 a été mesurée à 25°C pendant 3 minutes, à une longueur d'onde de 240 nm ([Aebi, 1984](#)). L'activité enzymatique a été exprimée en μ M H_2O_2 /mg de protéine.

Une unité de catalase correspondait à K qui était égale à $(2.30/t) (\log A_1/A_2)$, où t était le temps en secondes, A1 l'absorbance à temps zéro et A2 l'absorbance à 2 minutes ([Starrs et Coll., 2001](#)).

3.2.5.3 Mesure des niveaux de glutathion réduit

Le Glutathion réduit est un tripeptide actif du glutathion doté d'un groupement sulfhydryle capable de réduire les peroxydes cellulaires.



Le glutathion réduit a été mesuré après déprotéinisation de notre échantillon dans de l'acide sulfosalicylique. Le surnageant a ensuite été incubé avec le réactif d'Ellman (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque, DTNB) à pH 8,2 dans un volume réactionnel égal à 200 µl. Ce dernier a réagi spontanément avec le groupement sulfhydryle (-SH) du GSH, conduisant à l'apparition d'une coloration jaune (Ellman, 1959).

La quantité de GSH a été mesurée et quantifiée à 412 nm et exprimée en nmoles de GSH/mg de protéines.

3.2.5.4 Mesure des niveaux de malondialdéhyde

La malondialdéhyde (MDA) est un produit final de la peroxydation lipidique.

Le dosage du MDA repose sur la réaction de ce dernier avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide pour former un pigment rose. Brièvement, 100 µl d'homogénat tissulaire ont été incubés à 95°C pendant une heure avec de l'acide thiobarbiturique 0,8 % et du sodium dodecylsulfate 8,1%. La réaction a été arrêtée par un refroidissement rapide et une centrifugation à +4°C. La densité optique a été mesurée à 532 nm (Ohkawa et al., 1979). La concentration tissulaire en MDA a été exprimée en Moles/mg de protéines.

3.2.5.5 Mesure des niveaux des produits avancés d'oxydation des protéines

Les produits avancés d'oxydation des protéines (AOPP) sont des produits finaux de l'oxydation protéique.

La détermination des niveaux d'AOPP repose sur l'oxydation des protéines dans l'échantillon par l'ajout d'iodure de potassium (KI) et d'acide acétique glacial. Brièvement, 200 µl d'échantillon (dilué à 1:5 dans le PBS) est ajouté à 20 µl d'acide acétique et 10 µl d'iodure de potassium (1,16 M). La réaction a été stoppée par l'ajout de 20 µl d'acide acétique (Witko-Sarsat et al., 1996). L'absorbance mesurée est extrapolée à une courbe de calibration standard utilisant une solution de chloramine-T (de 0 à 100 µmol/l).

3.2.6 Etudes des altérations hépatiques macroscopiques et microscopiques

Dans la dernière partie expérimentale de notre étude, nous avons concentré nos efforts sur l'évaluation du profil d'innocuité hépatique du DMF. Cette démarche vise à garantir que ce composé ne présente pas d'effets hépatotoxiques similaires à ceux fréquemment observés avec les médicaments de chimiothérapie. Pour ce faire, nous avons réalisé des analyses histologiques et biochimiques afin de détecter d'éventuels dommages hépatiques.

3.2.6.1 Etudes histologiques

Après sacrifice des animaux, une partie des tissus hépatiques ont été prélevés et fixés dans du formol, déshydratés dans des bains d'alcool, éclaircis dans du xylène, puis imprégnés de paraffine. Après inclusion en paraffine, des sections histologiques de 2 μ M ont été réalisées, fixées sur des lames et colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine.

Nous nous sommes par ailleurs reposés sur des critères histologiques spécifiques pour l'évaluation des altérations hépatiques (Black et al., 2014; Melo et al., 2019). À savoir :

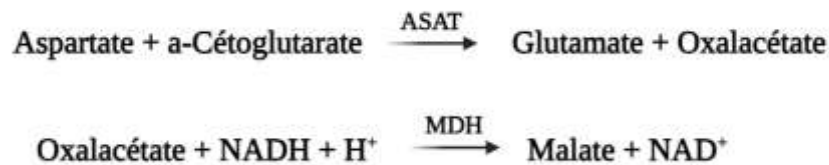
- Dilatation des Sinusoïdes, indiquant une congestion et une altération du flux sanguin.
- Ballonnement des hépatocytes, dû à l'accumulation d'eau et de lipides, souvent associé à la stéatose.
- Inflammation, due à l'infiltration de cellules inflammatoires dans le parenchyme hépatique, indiquant une réponse immunitaire.
- Nécrose, identifiable par des membranes cellulaires et des noyaux fragmentés.
- Fibrose, par formation de tissu conjonctif fibreux excessif, pouvant entraîner des cicatrices et une altération de la fonction hépatique.
- Stéatose, en fonction de l'étendue des gouttelettes lipidiques.

Ces critères aident à déterminer l'étendue des dommages hépatiques et les effets hépatotoxiques potentiels des médicaments de chimiothérapie.

3.2.6.2 Etudes biochimiques des paramètres de toxicité hépatique

3.2.6.2.1 Dosage de l'activité ASAT

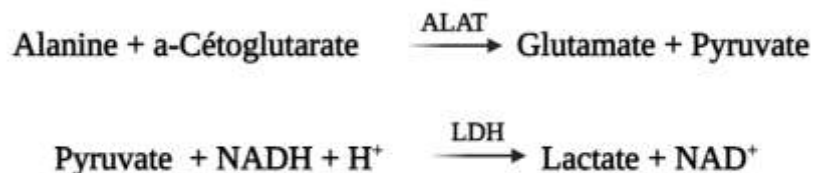
L'aspartate aminotransférase (AST) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate vers l' α -cétoglutarate, produisant ainsi du glutamate et de l'oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est ensuite réduit en malate grâce à l'action de la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH.



La diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est directement proportionnelle à la concentration d'AST dans l'échantillon. Les résultats ont été exprimés par unité internationale (U/L) qui correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard.

3.2.6.2.2 Dosage de l'activité ALAT

L'alanine aminotransférase (ALT), autrefois connue sous le nom de transaminase glutamique pyruvique (GPT), catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine vers l' α -cétoglutarate, ce qui produit du glutamate et du pyruvate. Le pyruvate ainsi formé est ensuite réduit en lactate grâce à l'action de la lactate déshydrogénase (LDH) en présence de NADH.



La vitesse de réduction de la concentration de NADH, mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon. Les résultats ont été exprimés par unité internationale (U/L).

3.2.7 Etude statistique

Pour la partie *in vivo*, les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. Le logiciel GraphPad Prism v. 8.0 a été utilisé pour analyser les données et les convertir en graphes. Le test ANOVA unidirectionnel avec un test post-hoc de Newman-Keuls a été utilisé pour comparer les différences entre les groupes expérimentaux, avec $P < 0.05$ considéré comme significatif.

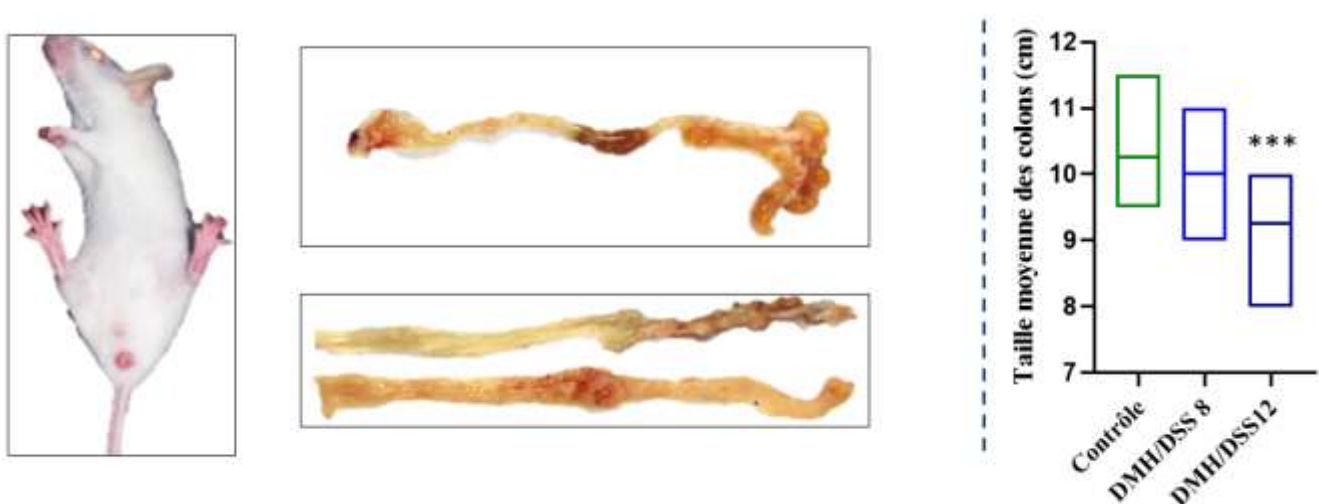
4 Résultats

4.1 Altérations microscopiques et macroscopiques associées au CAC murin

Dans notre étude, nous avons utilisé un modèle murin établi au DMH et DSS pour étudier les stades précoces de la carcinogenèse colorectale associée à la colite chronique chez la souris. Ce protocole expérimental nous permet de mimer les principales étapes de la séquence inflammation-cancer observée dans le CAC. L'exposition au DMH a induit des lésions précancéreuses, telles que les ACF et des MDF, tandis que le DSS a provoqué une inflammation colique chronique soutenue, créant ainsi un microenvironnement tumoral propice à la progression néoplasique. L'utilisation de ce modèle murin nous a permis d'évaluer l'effet thérapeutique du DMF sur la carcinogenèse colorectale liée à l'inflammation.

4.1.1 La DMH/DSS induit un développement d'un CAC

A la fin de notre protocole d'induction DMH/DSS, les souris présentaient des signes cliniques typiques d'une colite aiguë entre une hypoactivité, changement des habitudes alimentaires, perte de poids mais aussi des diarrhées et des lésions rectales. Ainsi, après sacrifice et isolement des colons, nous avons remarqué la présence d'ulcération colique ainsi qu'un épaissement de la paroi colique, ce qui a contribué à un rétablissement du lumen et donc à une réduction significative de la taille moyenne des colons de nos souris issues du groupe DMH/DSS par rapport au groupe contrôle (*Fig. 20 ; p < 0.001*).



*Figure 20. Le DMH/DSS a induit des altérations macroscopiques sur les colons des souris. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, avec $*p < 0.05$ et $***p < 0.001$ vs contrôle groupe.*

Afin d'explorer en détail les altérations induites par l'administration du DMH/DSS, nous avons réalisé une analyse histologique des tissus coliques prélevés chez les souris.

Dans un premier temps, nous avons effectué une coloration au bleu de méthylène pour visualiser et quantifier les ACF, considérés comme des précurseurs d'un CCR (*Fig. 21*). Ensuite, nous avons réalisé une évaluation biochimique de l'activité de la PAL, comme indice de la prolifération des cellules coliques (*Fig. 22*).

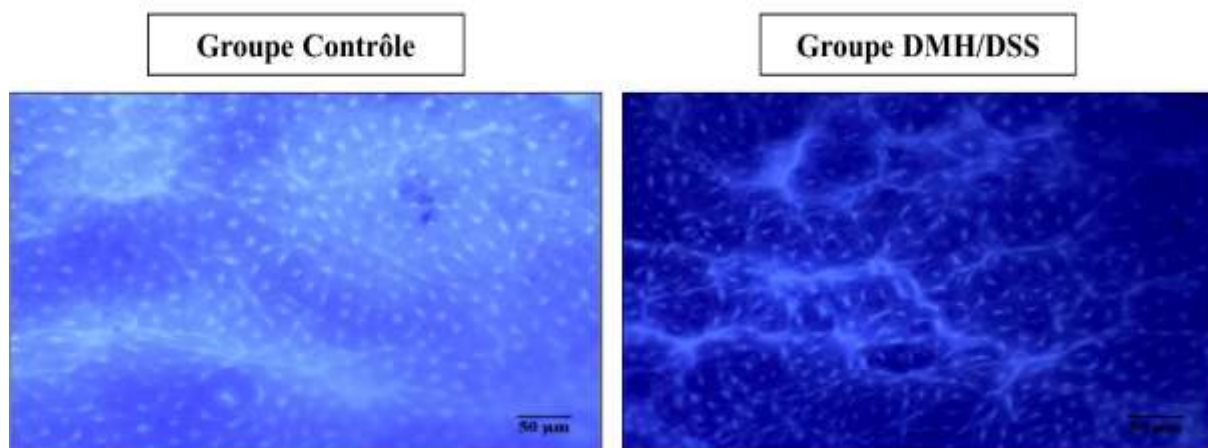
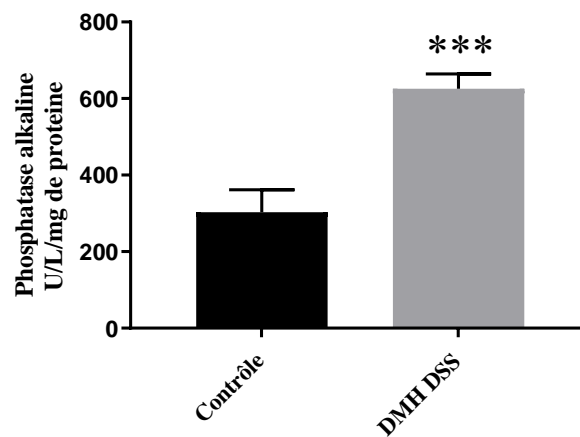


Figure 21. Le DMH/DSS induit la formation et la multiplicité des ACF (A) Photographies de côlons après coloration au bleu de méthylène, issues de souris des groupes contrôles, DMH/DSS. Grossissement x400.

Dans notre modèle de CAC induit chimiquement, le DMH/DSS a induit la formation des ACF au niveau des côlons de souris, avec un nombre total de 137 ± 11 ACF/côlon parallèlement à une augmentation significative de l'activité PAL d'environ 100% dans le groupe DMH/DSS ($p < 0,05$) (*Fig. 22*).



*Figure 22. Effet du DMH/DSS sur la prolifération des cryptes coliques. Activité de la phosphatase alcaline dans l'homogénat tissulaire. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, avec * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs contrôle groupe.*

Tableau III. Multiplicité des ACF dans les groupes de souris.

	ACF<5	ACF>5
DMH/DSS	87 \pm 10	50 \pm 14
DMF 30	78 \pm 7##	18 \pm 4 ** and ##
DMF 100	121 \pm 23**	49 \pm 17
OXA	87 \pm 13##	17 \pm 4** and ##

* $p < 0.05$ et ** $p < 0.01$ vs DMH/DSS, # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$ vs DMF100

Ensuite, nous avons effectué une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine afin d'examiner les altérations de l'architecture tissulaire, telles que l'inflammation, les dysplasies épithéliales et autres changements précancéreux (*Fig. 23 A*), ainsi qu'une coloration au bleu Alcian pour évaluer la déplétion en mucines (*Fig. 23 B*).

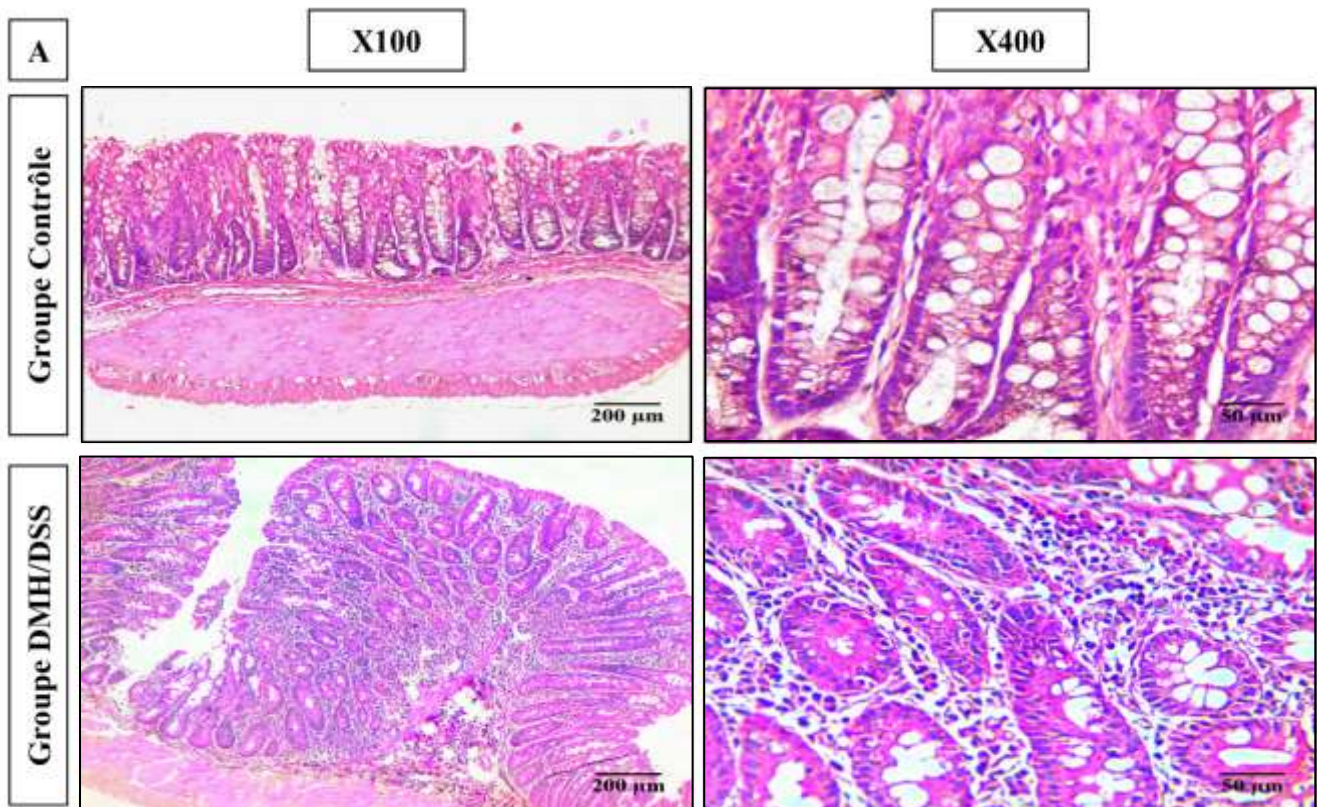


Figure 23. Le DMH/DSS a induit des lésions microscopiques du côlon et aggravé la sévérité de la colite. (A) Photographies de côlons après coloration H&E issus des groupes contrôles et DMH/DSS Grossissements X100, X400.

L'évaluation histopathologique des sections de côlon du groupe témoin a montré une histo-architecture normale sans signes d'anomalie apparente. Les cryptes étaient intacts et les cellules caliciformes, responsables de la production de mucus, étaient bien développées et abondantes.

En revanche, les sections de côlon du groupe traité par DMH/DSS ont montré des altérations histopathologiques significatives. Les cryptes apparaissaient dysplasiques, caractérisées par un nombre accru de cellules, indicateur de prolifération cellulaire anormale, avec une réduction marquée du nombre de cellules caliciformes et une diminution correspondante de la production de mucus compromettant la barrière épithéliale. De plus, une infiltration significative de cellules inflammatoires a été observée dans la *lamina propria* (Fig. 23).

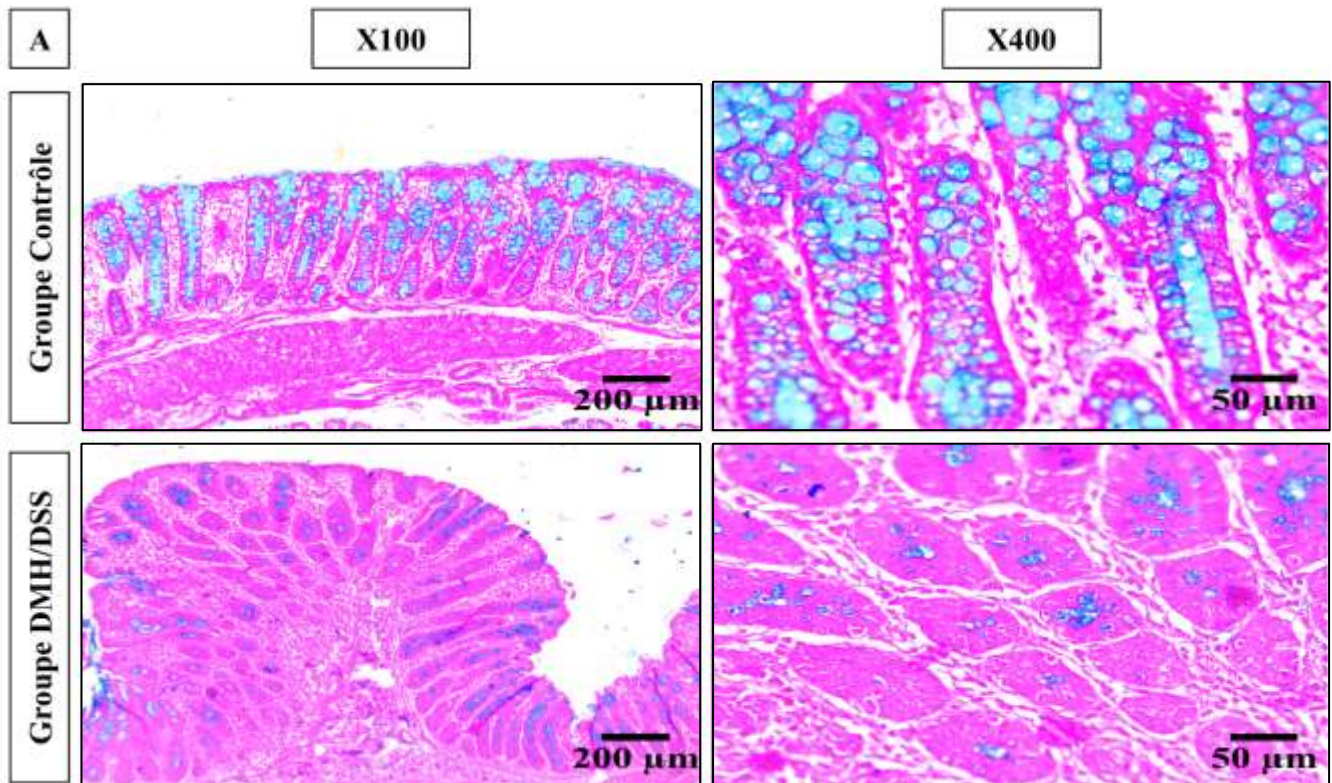


Figure 23. Le DMH/DSS a induit des lésions microscopiques du côlon et aggravé la sévérité de la colite. (B) Photographies de côlons après coloration au bleu Alcian issus des groupes contrôles et DMH/DSS Grossissements X100, X400.

4.1.2 Le DMF a un effet dual sur les altérations macroscopiques et microscopiques au DMH/DSS

Le traitement des groupes de souris avec deux doses différentes de DMF a induit deux effets distincts (*Fig. 24*). La faible dose de 30 mg/kg (DMF30) a réduit de manière significative l'incidence ($p < 0,05$) ainsi que la multiplicité ($p < 0,01$) des ACF. Cette réduction était comparable à l'effet observé après le traitement des souris avec l'oxaliplatine (OXA), utilisée comme molécule de référence dans cette étude. Plus précisément, le DMF30 a entraîné une réduction d'environ 30 % ($p < 0,05$) de l'incidence des ACF, tandis que l'OXA a obtenu une réduction de 23 % ($p > 0,05$).

En revanche, la forte dose de 100 mg/kg (DMF100) a entraîné une augmentation surprenante de 39 % du nombre total des ACF ($p < 0,05$) et de leur multiplicité ($p < 0,01$) par rapport aux souris traitées par DMH/DSS (*Fig.25, Tableau I*).

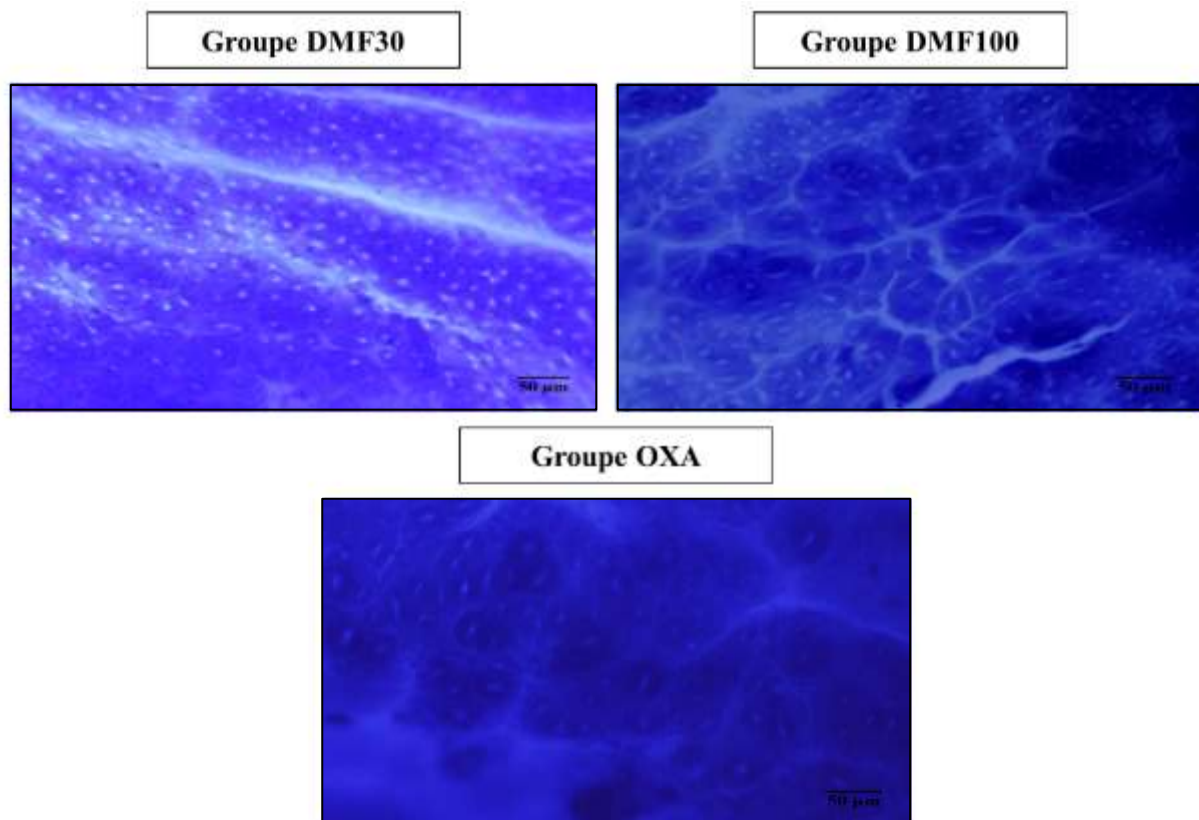


Figure 24. Effet dual du DMF sur la formation et la multiplicité ACF (A)

Photographies de côlons après coloration au bleu de méthylène issues de souris issus des groupes DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x400.

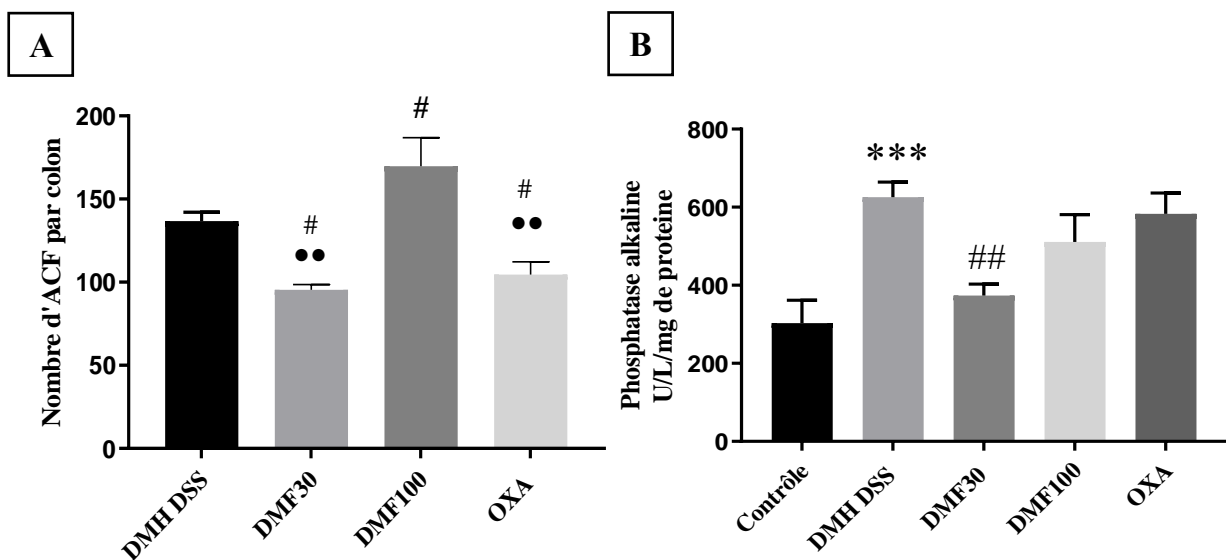


Figure 25. Effet des différents traitements sur la prolifération des cryptes coliques. (A) : Nombre d'ACF par côlon, (B) : Activité de la phosphatase alcaline dans l'homogénat tissulaire. Les résultats sont en moyenne \pm SEM, avec $*p < 0.05$ et $***p < 0.001$ vs contrôle groupe, $##p < 0.01$ et $###p < 0.001$ vs DMH/DSS groupe, $\bullet\bullet p < 0.01$ et $\bullet\bullet\bullet p < 0.001$ vs DMF100.

L'évaluation histopathologique a également révélé que l'administration de DMF à 30 mg/kg chez les souris traitées par le DMH/DSS a non seulement maintenu l'architecture normale des cryptes, mais a également restauré la population de cellules caliciformes. De plus, la faible dose a réduit de manière significative l'infiltration des cellules inflammatoires dans la lamina propria (*Fig. 26*).

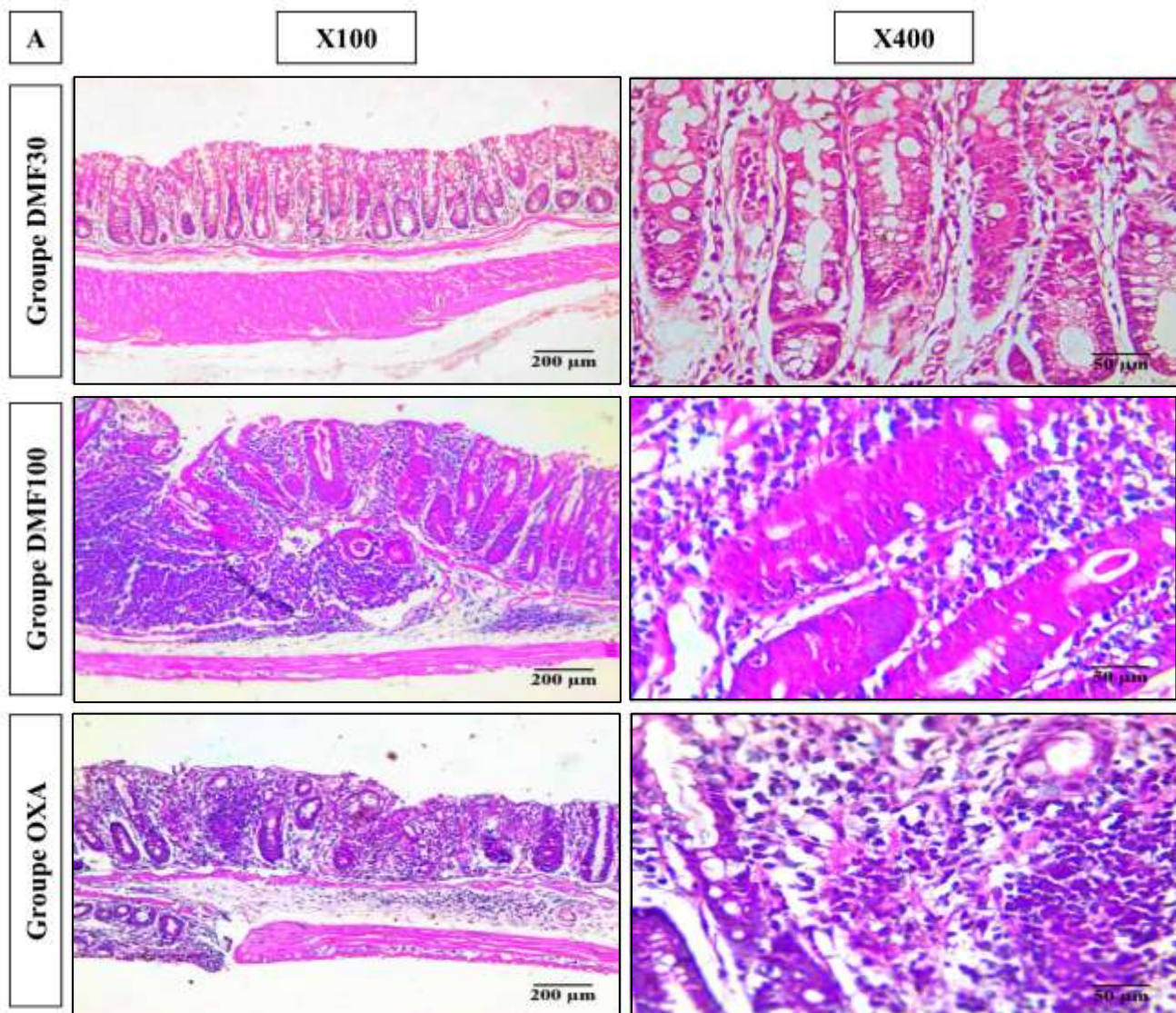


Figure 26. Effet dual du DMF sur les lésions microscopiques du côlon et la sévérité de la colite. (A) Photographies de côlons après coloration H&E issus des groupes DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x100 et x400.

En revanche, la forte dose a exacerbé la dysplasie des cryptes en augmentant le nombre de MDF et en provoquant une distorsion des cryptes, conduisant à une rupture de la muscularis mucosa et à l'invasion de glandes depuis la muqueuse vers la sous-muqueuse. De plus, le DMF100 a fortement augmenté l'infiltration des cellules inflammatoires dans la *lamina propria* ainsi que dans la sous-muqueuse, aggravant ainsi le cancer associé à la colite.

La chimiothérapie a réduit de manière drastique les cryptes aberrantes dysplasiques mais sans amélioration significative de l'architecture colique, marquée par une aggravation de la colite et l'installation d'une nécrose cellulaire (Fig. 26).

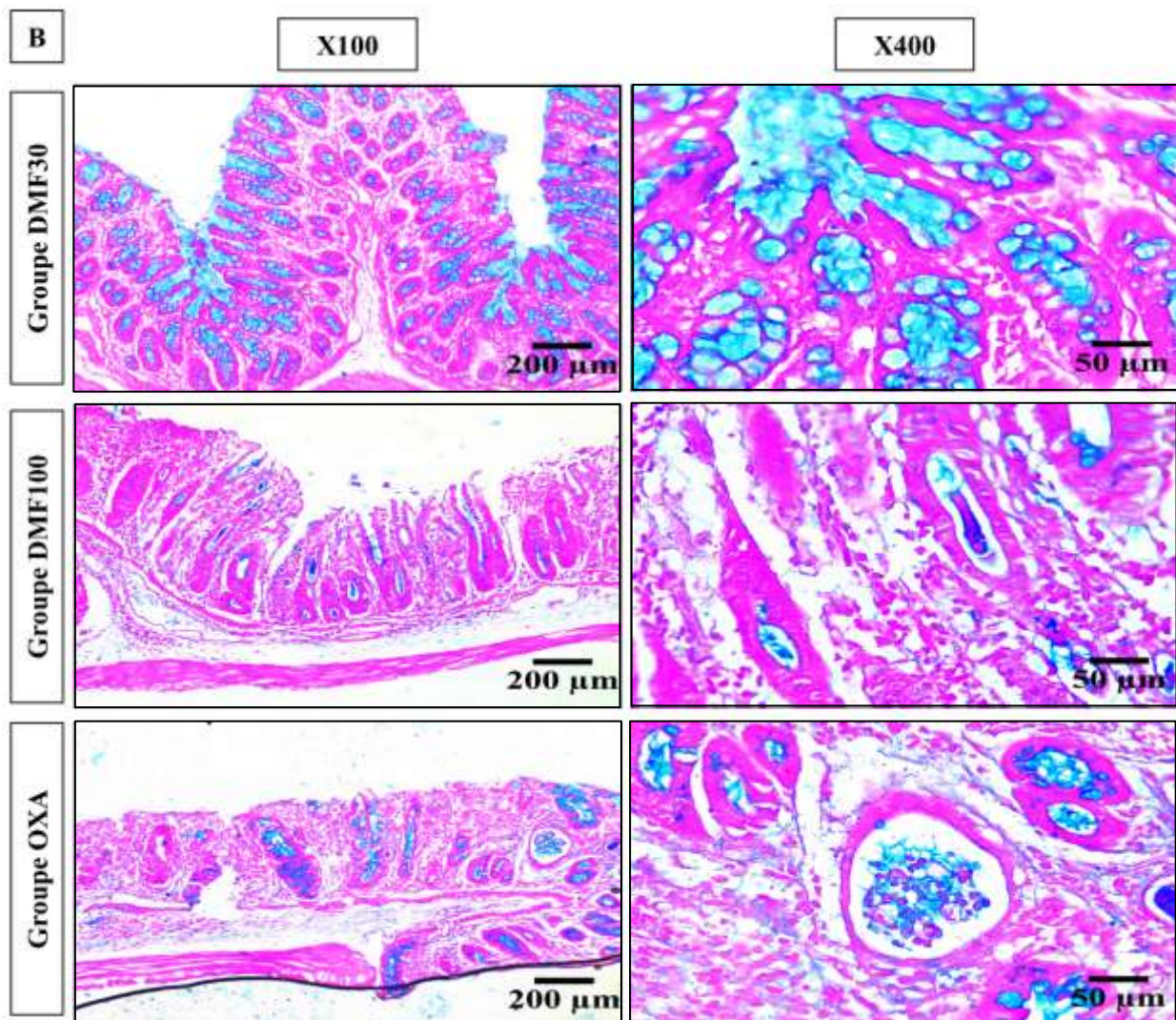


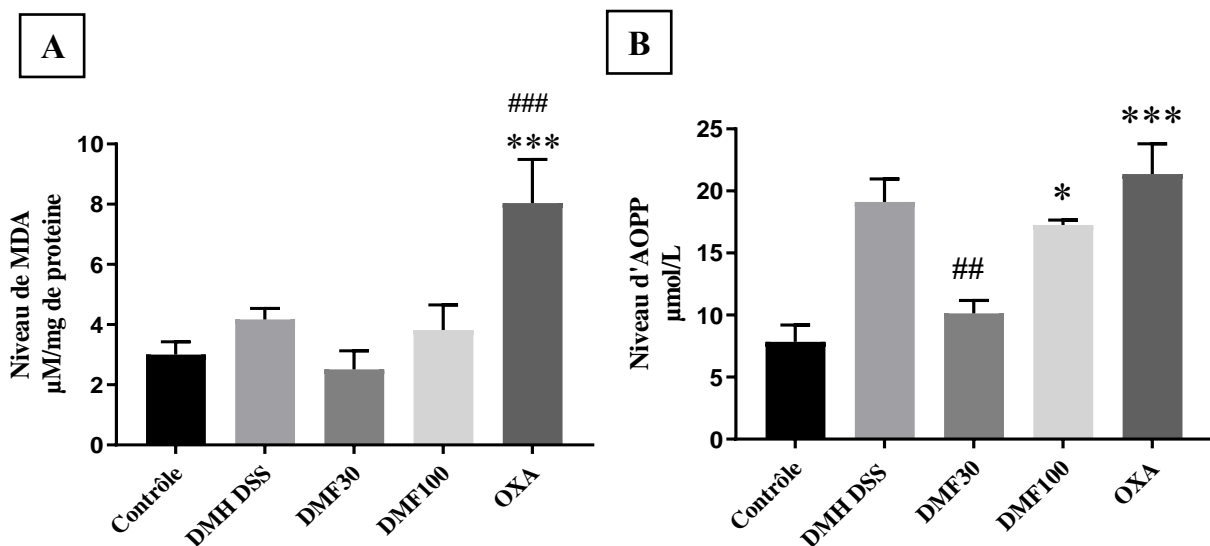
Figure 26. Effet dual du DMF sur les lésions microscopiques du côlon et la sévérité de la colite. (B) Photographies de côlons après coloration bleu Alcian issus des groupes DMF30, DMF100 et OXA. Grossissements X100, X400.

4.2 Implication du stress oxydatif dans le développement du CAC

Nous avons examiné l'effet du DMF sur le stress oxydatif, un mécanisme clé dans la carcinogenèse colique induite par l'inflammation chronique.

4.2.1 La faible dose de DMF diminue la peroxydation lipidique et protéique

Dans le cadre de notre étude, nous avons évalué deux marqueurs clés de l'oxydation : le MDA et l'AOPP. Le MDA est un sous-produit de la dégradation des acides gras polyinsaturés résultant de la peroxydation lipidique au sein des membranes cellulaires. Les AOPP, quant à eux, sont des marqueurs de l'oxydation des protéines, indiquant des modifications oxydatives qui peuvent affecter la fonction et la structure des protéines.



*Figure 27. Evaluation des marqueurs pro-oxydants. Analyse des (A) niveaux de malondialdéhyde (MDA) (B) niveaux des produits avancés d'oxydation des protéines (AOPP). * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs contrôle groupe, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs DMH/DSS groupe.*

Les résultats obtenus ont montré une élévation significative des marqueurs oxydants dans le groupe de souris traité au DMH/DSS. Plus précisément, les niveaux de MDA étaient 1,3 fois plus élevés que ceux du groupe témoin ($p > 0,05$). En revanche, les AOPP ont présenté une augmentation encore plus marquée, atteignant 2,4 fois les niveaux observés dans le groupe contrôle (Fig. 27, $p < 0,01$). Ces résultats suggèrent l'émergence d'un stress oxydatif dans notre modèle d'inflammation colique, ce qui pourrait jouer un rôle dans les lésions cellulaires et l'évolution du cancer.

L'évaluation des marqueurs pro-oxydants a aussi mis en évidence une disparité d'effet considérable selon la dose administrée du DMF. En effet, la faible dose a entraîné une réduction significative des niveaux de MDA et d'AOPP, ramenant ces valeurs à des niveaux similaires à ceux du groupe contrôle ($p < 0,01$). En revanche, lorsque nous avons utilisé une dose plus élevée de DMF, aucune amélioration notable n'a été constatée, les niveaux de MDA et d'AOPP restant presque identiques à ceux du groupe DMH/DSS. Ces résultats indiquent que le DMF à faible dose peut atténuer le stress oxydatif en diminuant les dommages oxydatifs aux lipides et aux protéines (*Fig. 27*).

En parallèle, dans le groupe traité avec l'oxaliplatine, une augmentation drastique du niveau de MDA a été observée, atteignant 2,6 fois celui du groupe contrôle ($p < 0,001$). Cependant, les niveaux d'AOPP n'ont pas montré de différence significative par rapport aux souris du groupe DMH/DSS, suggérant que la chimiothérapie induit une réponse oxydative similaire à celle observée dans le groupe DMF100 (*Fig. 27*).

4.2.2 La faible dose de DMF augmente les activités du système antioxydant enzymatique

La superoxyde dismutase (SOD) et la catalase sont deux enzymes anti-oxydantes synergiques qui jouent un rôle crucial dans la protection des cellules contre le stress oxydatif afin de réduire les risques de dommages cellulaires.

Dans notre étude, nous avons observé une diminution significative des activités anti-oxydantes dans le modèle DMH/DSS. Les niveaux de superoxyde dismutase (SOD) et de catalase ont respectivement diminué de 46 % ($p < 0,01$) et de 35 % ($p < 0,05$) par rapport au groupe contrôle (*Fig. 28*). Cette réduction des activités enzymatiques témoigne d'une capacité affaiblie de l'organisme à neutraliser les radicaux libres, ce qui peut exacerber le stress oxydatif et augmenter le risque de dommages cellulaires contribuant à la progression des lésions tissulaires.

Le DMF a montré des effets contrastés selon la dose administrée. Le DMF30 a induit une augmentation significative des activités de SOD et de catalase d'environ 30 % et 40 %, respectivement, par rapport au groupe DMH/DSS ($p < 0,001$). Ces résultats suggèrent que le DMF30 peut renforcer la capacité de l'organisme à lutter contre le stress oxydatif, favorisant ainsi un environnement cellulaire plus sain et réduisant les risques de dommages oxydatifs.

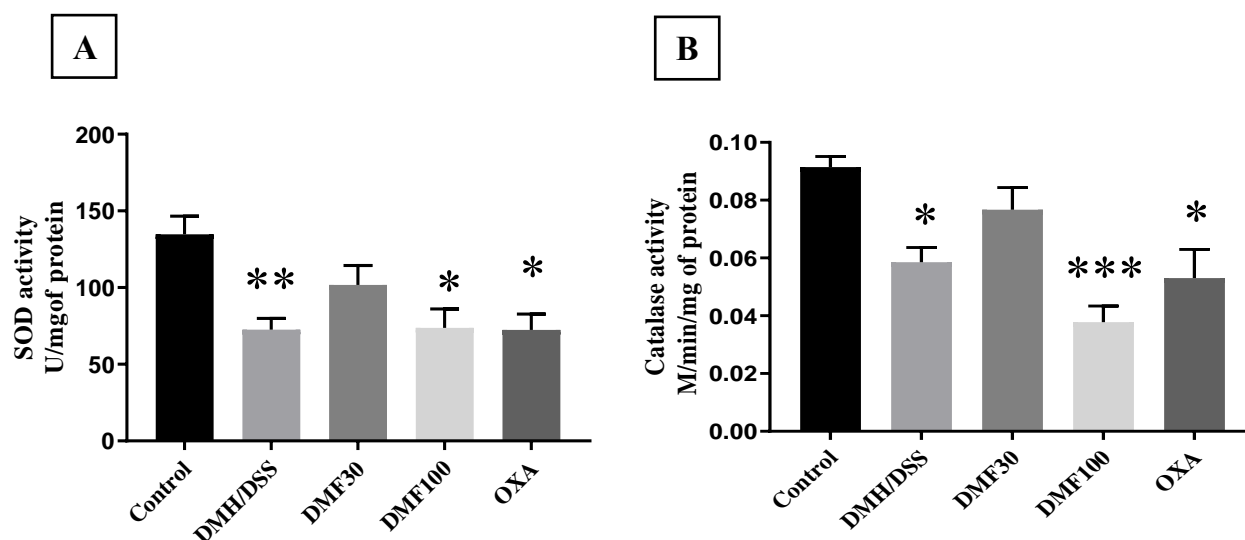


Figure 28. Evaluation des marqueurs du système antioxydant. Analyse de (A) l'activité superoxyde dismutase mitochondriale (SOD2), (B) l'activité catalase (Cat) avec * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs contrôle groupe, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs DMH/DSS groupe.

En revanche, l'administration de DMF à forte dose (DMF100) n'a pas produit d'amélioration notable. L'activité de SOD est restée presque identique à celle observée dans le groupe DMH/DSS, tandis que l'activité de la catalase a diminué d'environ 35 % ($p < 0,001$). Cela suggère que cette posologie pourrait ne pas être efficace pour restaurer les fonctions antioxydantes et pourrait au contraire aggraver le stress oxydatif.

Concernant le groupe traité avec l'oxaliplatine, les activités de SOD et de catalase n'ont présenté aucune différence significative par rapport aux souris du groupe DMH/DSS. Cela suggère que l'oxaliplatine n'a pas eu d'effet protecteur significatif sur les niveaux des antioxydants dans ce modèle (Fig. 28).

4.2.3 La faible dose de DMF induit une déplétion des réserves de glutathionne du système antioxydant non-enzymatique

Le GSH joue un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs en neutralisant les radicaux libres et en participant à la réparation des lésions cellulaires. Nous avons donc évalué les niveaux de GSH.

Les résultats de notre étude indiquent une diminution significative des niveaux de glutathion réduit (GSH) dans le groupe DMH/DSS, avec une baisse de 25 % par rapport au

groupe contrôle (*Fig. 29*, $p > 0,05$). Cette réduction des réserves de GSH suggère une perturbation de l'équilibre redox dans ce modèle d'inflammation colique, rendant les cellules plus vulnérables au stress oxydatif. La diminution du GSH, un antioxydant clé, compromet la capacité des cellules à neutraliser les ROS, ce qui peut entraîner des dommages cellulaires et aggraver l'inflammation.

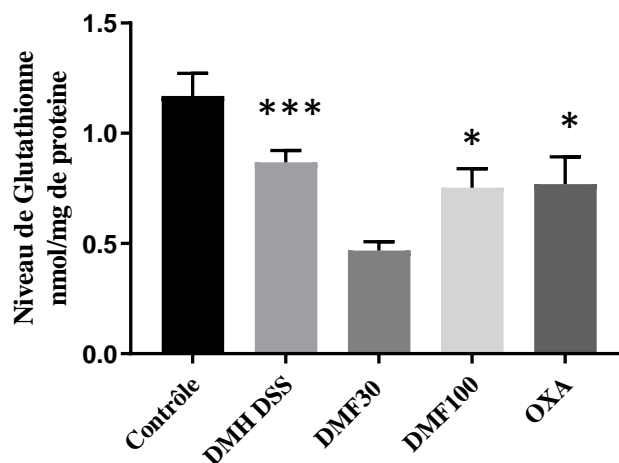


Figure 29. Evaluation des marqueurs antioxydants. Analyse des niveaux de glutathion (GSH) dans l'homogénat tissulaire colique. * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs groupe contrôle, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs groupe DMH/DSS.

Le traitement des souris avec le DMF aux deux doses différentes n'a pas permis de restaurer les niveaux de GSH, qui ont chuté de 46 % dans le groupe DMF 30 par rapport aux souris DMH/DSS ($p < 0,001$) et qui sont restés presque équivalents dans le groupe DMF100 à ceux observés dans le groupe DMH/DSS. Cette déplétion des réserves de GSH suggère que d'autres mécanismes, tels que l'augmentation de l'activité des enzymes anti-oxydantes SOD et catalase, peuvent contribuer de manière plus significative aux effets protecteurs de ce traitement contre le stress oxydatif.

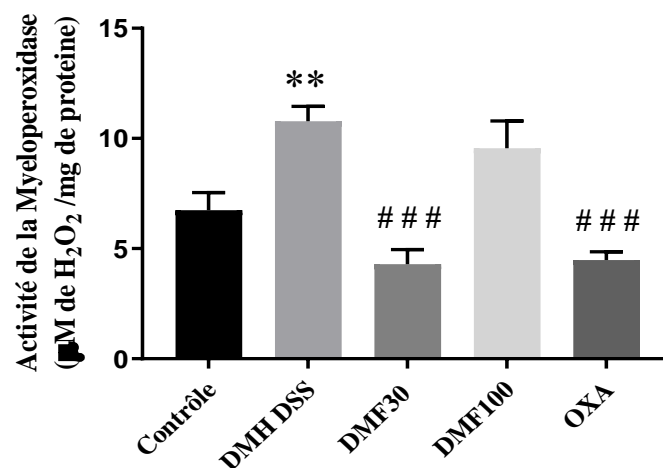
De même, dans le groupe OXA, les niveaux de GSH n'ont pas montré d'amélioration significative par rapport aux souris du groupe DMH/DSS.

4.3 Remodelage du microenvironnement inflammatoire au cours du CAC

4.3.1 La faible dose de DMF réduit l'infiltration des neutrophiles

L'infiltration des neutrophiles dans le tissu colique est un marqueur clé d'inflammation intestinale. Dans cette étude, l'activité de la myéloperoxydase (MPO), une enzyme abondante dans les neutrophiles, a été utilisée comme indicateur indirect du recrutement de ces cellules immunitaires inflammatoires.

Les résultats de notre étude ont révélé une augmentation significative de l'activité de la MPO dans le tissu colique des souris traitées avec DMH/DSS, atteignant environ 37 % de plus que dans le groupe contrôle ($p < 0,01$). Cette élévation indique une infiltration accrue des neutrophiles, ce qui est caractéristique de notre modèle expérimental d'inflammation colique chronique (*Fig.30*).



*Figure 30. Evaluation biochimique de l'activité de la myéloperoxydase. * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs groupe contrôle, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs groupe DMH/DSS.*

Les résultats de l'activité enzymatique de la MPO ont été corroborés par une analyse immunohistochimique de cette protéine sur les coupes de tissu colique. L'intensité de la coloration de la MPO était réduite dans le groupe DMF30, reflétant une diminution de l'infiltration des neutrophiles. A l'inverse, le groupe DMF100 a présenté un marquage plus intense de la MPO, ce qui est en accord avec l'absence d'effet inhibiteur de cette dose élevée sur l'activité enzymatique (*Fig. 31*).

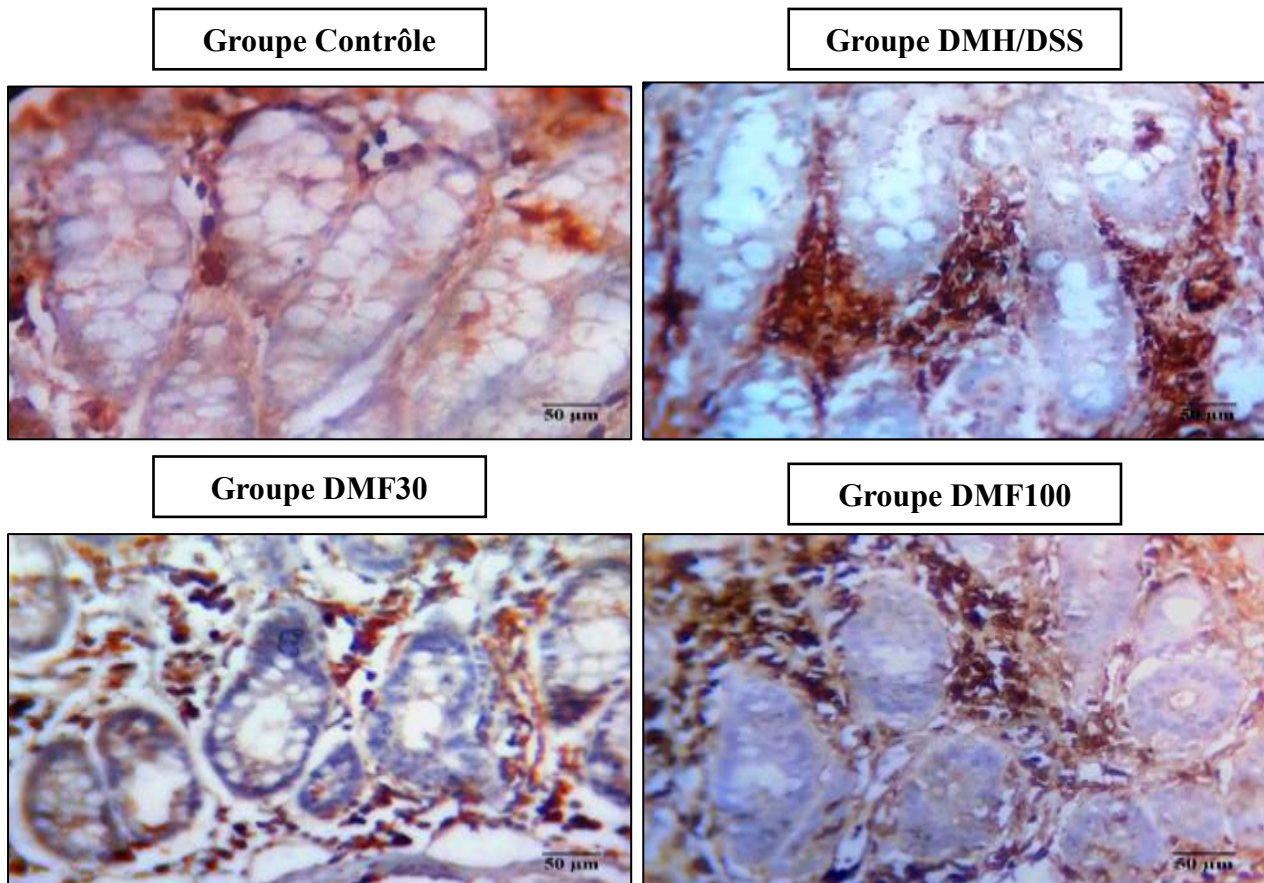


Figure 31. Effet du DMF et de l'OXA sur le recrutement des neutrophiles dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique de la protéine MPO sur des côlons issus des groupes contrôles, DMH/DSS, DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x400.

4.3.2 La faible dose de DMF diminue l'infiltration des lymphocytes B

Les cellules B jouent un rôle crucial dans les réponses immunitaires adaptatives, notamment de type Th2, au cours de la colite ulcéreuse. Leur activation et leur prolifération peuvent contribuer au développement du CAC en favorisant l'inflammation chronique et en modifiant le microenvironnement tumoral. Dans notre étude, nous avons examiné l'expression du marqueur CD20 et l'activité ANAE pour évaluer l'impact des cellules B dans notre modèle murin de CAC.

Les résultats ont montré une augmentation significative du nombre de cellules positives pour CD20 dans le groupe traité avec DMH/DSS, avec une hausse de 39 % par rapport au groupe contrôle (*Fig. 32*, $p < 0,001$).

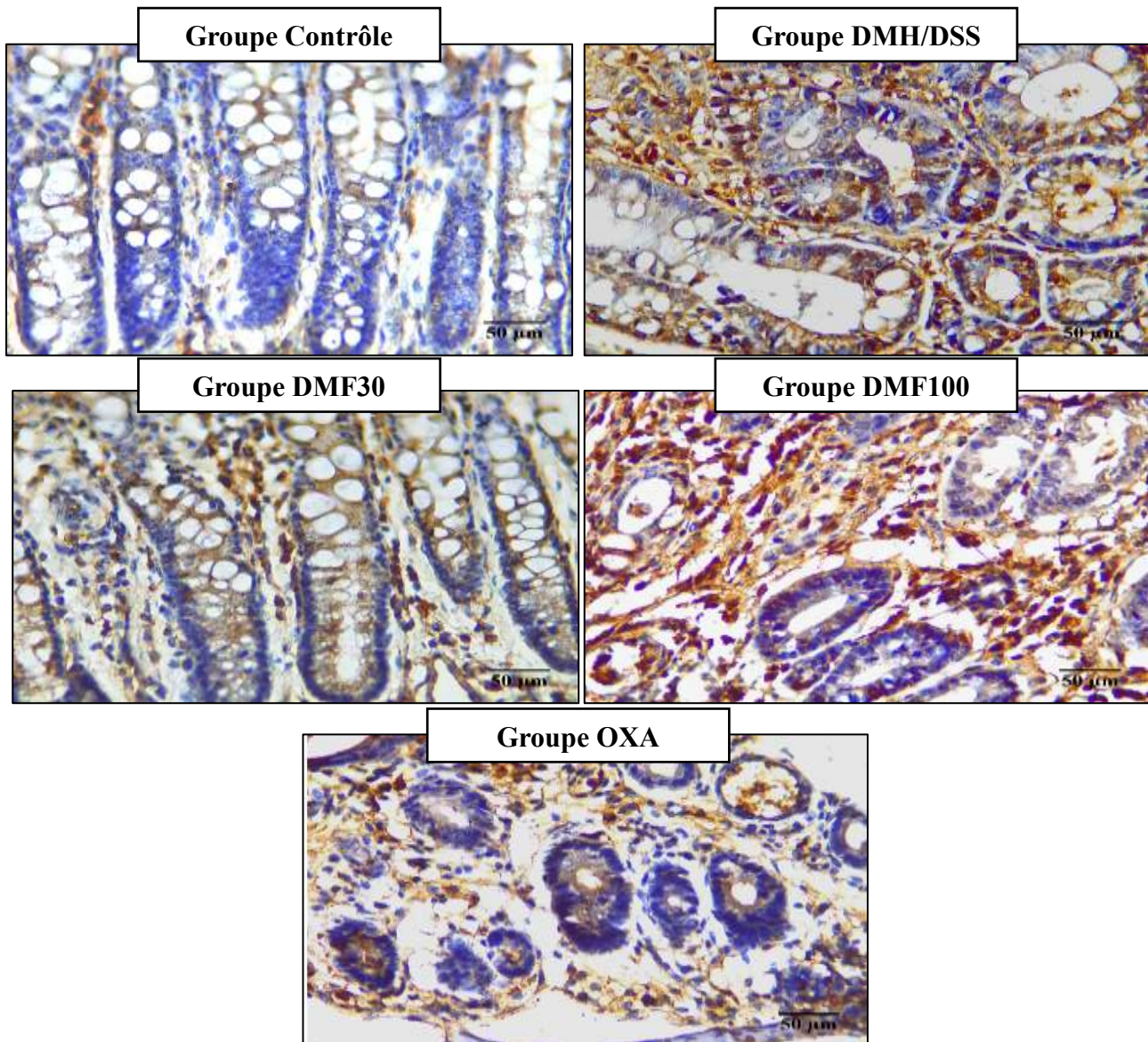


Figure 32. Effet du DMF et de l'OXA sur le recrutement des lymphocytes dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique du cluster de différenciation CD68+. Grossissement x400.

Nous avons aussi remarqué des effets opposés des traitements sur l'expression de CD20. La faible dose de DMF et la chimiothérapie ont respectivement réduit l'expression du CD20 de 23 % (**Fig. 33 A**, $p < 0,05$) et de 13 % par rapport au groupe DMH/DSS, suggérant une atténuation de l'infiltration et de l'activation des cellules B. En revanche, le traitement avec la forte dose de DMF a entraîné une augmentation de l'expression du CD20 d'environ 30 % par rapport au groupe DMH/DSS (**Fig. 33 A**, $p < 0,01$), ce qui pourrait indiquer une réponse immunitaire altérée ou une activation excessive des cellules B dans ce contexte.

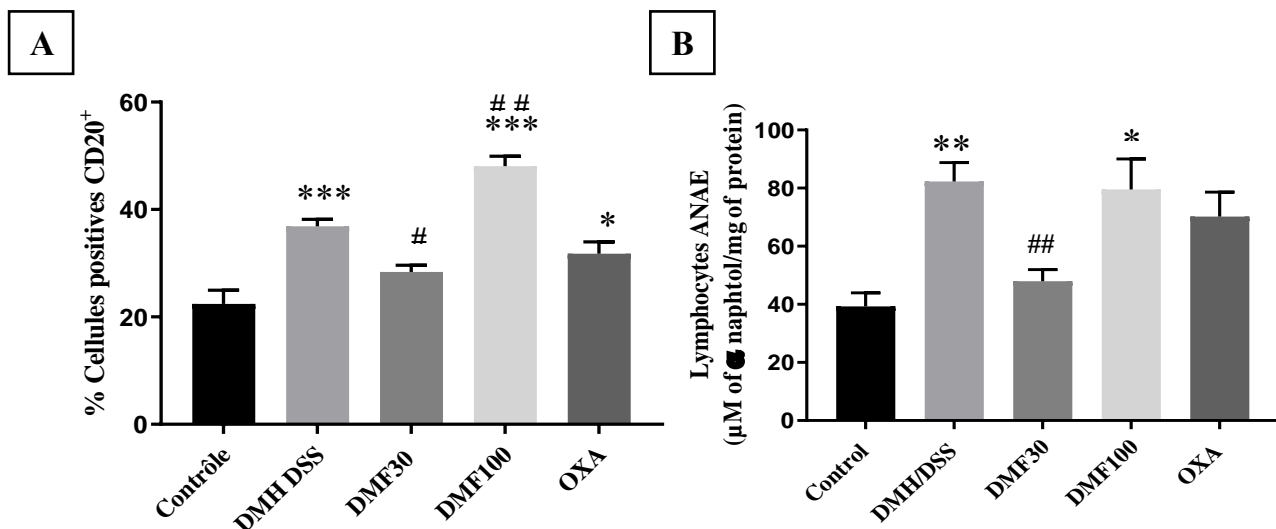


Figure 33. Evaluation de l'infiltration lymphocytaire dans l'homogénat tissulaire colique de souris traitées au DMH/DSS. (A) : pourcentage de cellules positives CD20, (B): évaluation biochimique de l'activité ANAE lymphocytaire dans l'homogénat tissulaire * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs groupe contrôle, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs groupe DMH/DSS.

Ces résultats ont été corroborés par l'analyse de l'ANAE lymphocytaire, qui a montré une augmentation marquée d'environ 100 % dans le groupe DMH/DSS par rapport aux souris témoins ($p < 0,01$). De plus, le DMF30 a réussi à restaurer l'activité de l'ANAE des lymphocytes à la valeur de contrôle, suggérant un effet bénéfique de ce traitement sur la modulation de l'activation des cellules B (Fig. 33 B, $p < 0,01$).

4.3.3 La faible dose de DMF favorise la polarisation M2 des macrophages

Les macrophages jouent un rôle central dans la réponse immunitaire et leur infiltration dans les tissus est souvent associée à des états inflammatoires. Dans cette étude, nous avons évalué l'inflammation colique en mesurant le taux d'expression de CD68, un marqueur spécifique des macrophages ainsi que leur activité ANAE.

L'analyse du marquage sur les lames de nos souris a montré une forte expression du CD68⁺ dans la lamina propria de la muqueuse colique des souris DMH/DSS. Plus précisément, l'expression de CD68 a augmenté de 68 % par rapport au groupe contrôle ($p < 0,001$), indiquant une infiltration significative des macrophages dans le tissu colique en réponse à l'inflammation induite expérimentalement (Fig. 34).

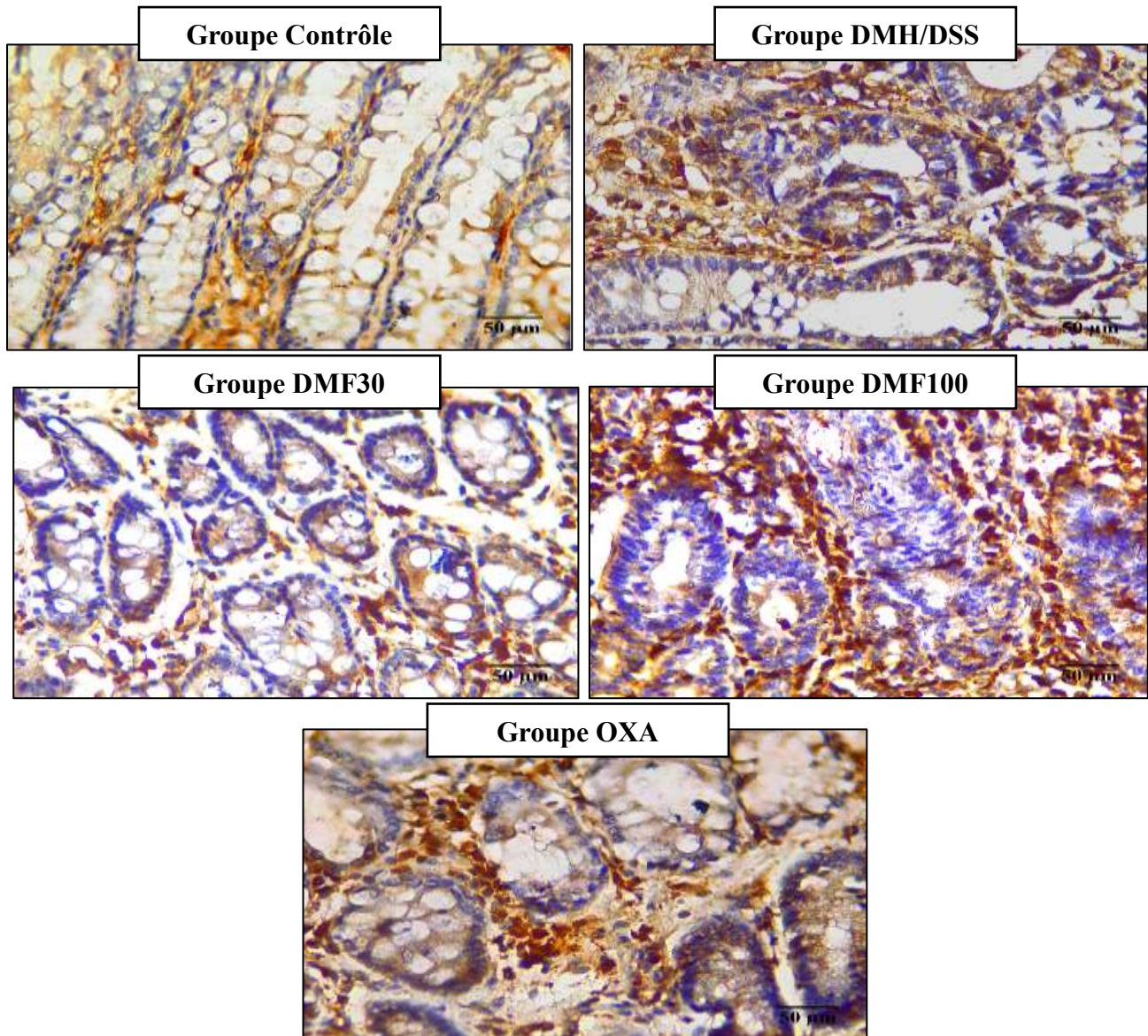


Figure 34. Effet du DMF et de l'OXA sur le recrutement des macrophages dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique du cluster de différenciation CD68+. Grossissement x400.

Concernant nos traitements, ni le DMF à forte dose, ni la chimiothérapie n'ont montré d'effet significatif sur la réduction des cellules positives au CD68 dans la muqueuse colique. En revanche, le groupe DMF30 a montré des résultats prometteurs avec une diminution de l'infiltration des macrophages d'environ 26 % par rapport au groupe DMH/DSS ($p < 0,001$). Cette réduction indique que le DMF30 pourrait exercer un effet anti-inflammatoire en limitant

l'infiltration de macrophages dans le tissu colique, impactant directement sur l'inflammation chronique colique (*Fig. 35A*).

Ces résultats sont également corroborés par l'analyse de l'activité estérase non spécifique des macrophages (ANEA) (*Fig. 35B*). Dans le groupe DMH/DSS, l'activité de l'ANEA a fortement augmenté d'environ 420 % par rapport aux souris témoins, ce qui reflète une infiltration accrue des macrophages dans un milieu inflammatoire. En revanche, le traitement avec le DMF30 a permis de réduire efficacement l'activité de l'ANEA, ramenant celle-ci à des niveaux similaires à ceux du groupe contrôle ($18,96 \pm 8,93$ vs $54,47 \pm 28,20$ μ M de protéines) ($p < 0,001$).

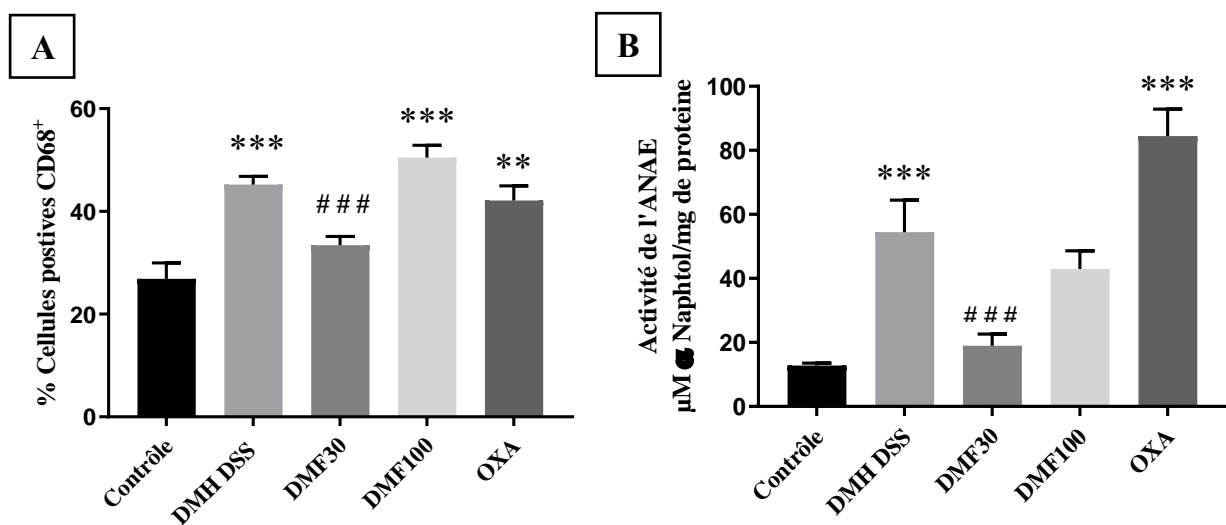


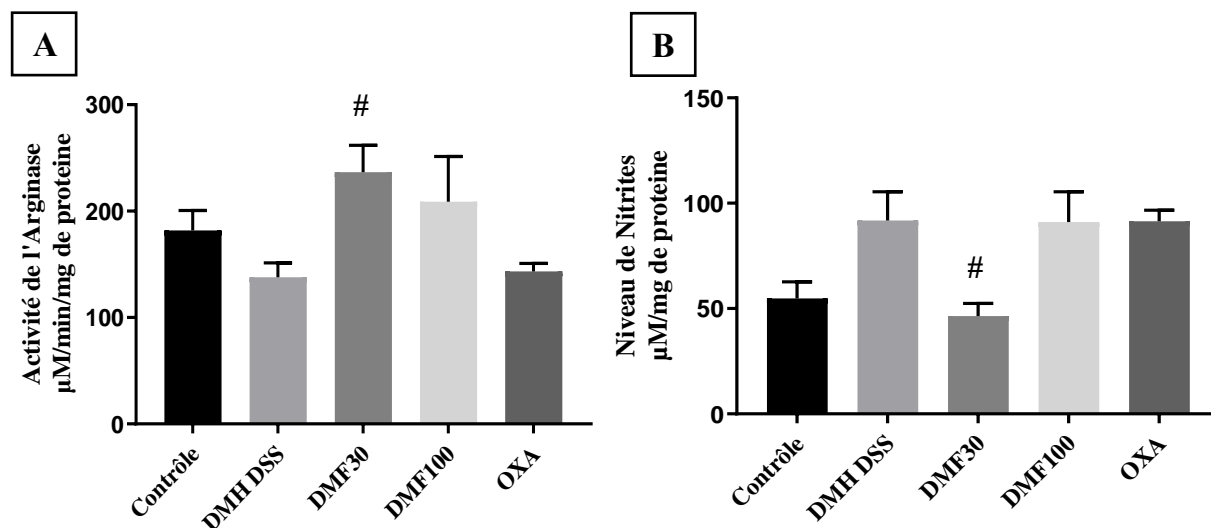
Figure 35. Effet des différents traitements sur le recrutement des macrophages dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. (A) Pourcentage de cellules positives CD68, (B) Evaluation biochimique de l'activité ANAE macrophagique dans l'homogénat tissulaire.

Nous avons par la suite examiné l'impact du DMF sur la polarisation des macrophages, en nous concentrant sur les phénotypes de polarisation M1 et M2. Pour ce faire, nous avons mesuré deux paramètres clés : les niveaux de nitrites, qui sont des marqueurs associés aux macrophages de type M1, et l'activité de l'arginase, qui est un indicateur des macrophages de type M2 (*Fig. 36*).

Nos résultats ont révélé une augmentation significative des niveaux de nitrites coliques chez les souris traitées avec le modèle DMH/DSS, avec une élévation de 67 % par rapport au groupe contrôle ($p > 0,05$). Cette augmentation des nitrites suggère une activation accrue des

macrophages M1, qui sont souvent associés à des réponses pro-inflammatoires. En revanche, l'activité de l'arginase a montré une diminution de 24 % dans le même groupe ($p > 0,05$). Cette diminution pourrait indiquer une réduction de la polarisation vers le phénotype M2, qui est généralement associé à des effets anti-inflammatoires. Ces résultats sont révélateurs d'une prépondérance des macrophages M1 par rapport aux M2, soulignant ainsi un environnement inflammatoire dominant dans notre modèle DMH/DSS.

Le traitement dans le groupe DMF30 a montré un effet significatif du DMF sur la polarisation des macrophages, diminuant considérablement le rapport nitrites/arginase d'environ 3,9 fois par rapport au groupe DMH/DSS ($p < 0,001$). Cette réduction indique une transition vers une polarisation accrue des macrophages vers le phénotype M2, suggérant que le DMF30 pourrait favoriser un environnement anti-inflammatoire et promouvoir la réparation tissulaire (*Fig. 36*).



*Figure 36. Evaluation de la polarisation des macrophages dans l'homogénat tissulaire colique de souris traitées au DMH/DSS. Nitrites (A), Activité Arginase (B). * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs groupe contrôle, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs groupe DMH/DSS.*

4.4 Mécanisme moléculaire associé à l'effet antioxydant et anti-inflammatoire du DMF

Le NRF2 est un facteur de transcription clé qui régule la réponse anti-oxydante et joue un rôle crucial dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif. Nous avons évalué l'expression de NRF2 par immunohistochimie (*Fig. 37*).

Dans le groupe contrôle, l'expression du NRF2 était relativement faible au sein de la muqueuse colique. Cette expression modérée suggère un niveau de base d'activité anti-oxydante, qui est crucial pour maintenir l'homéostasie cellulaire et protéger contre le stress oxydatif. En revanche, dans le groupe traité avec du DMH/DSS, une diminution marquée voire absente de l'expression du NRF2 a été observée dans la muqueuse colique. Cette réduction significative met en évidence les effets néfastes de l'inflammation chronique sur la régulation de NRF2 et suggère une réponse anti-oxydante compromise (*Fig. 37 A*).

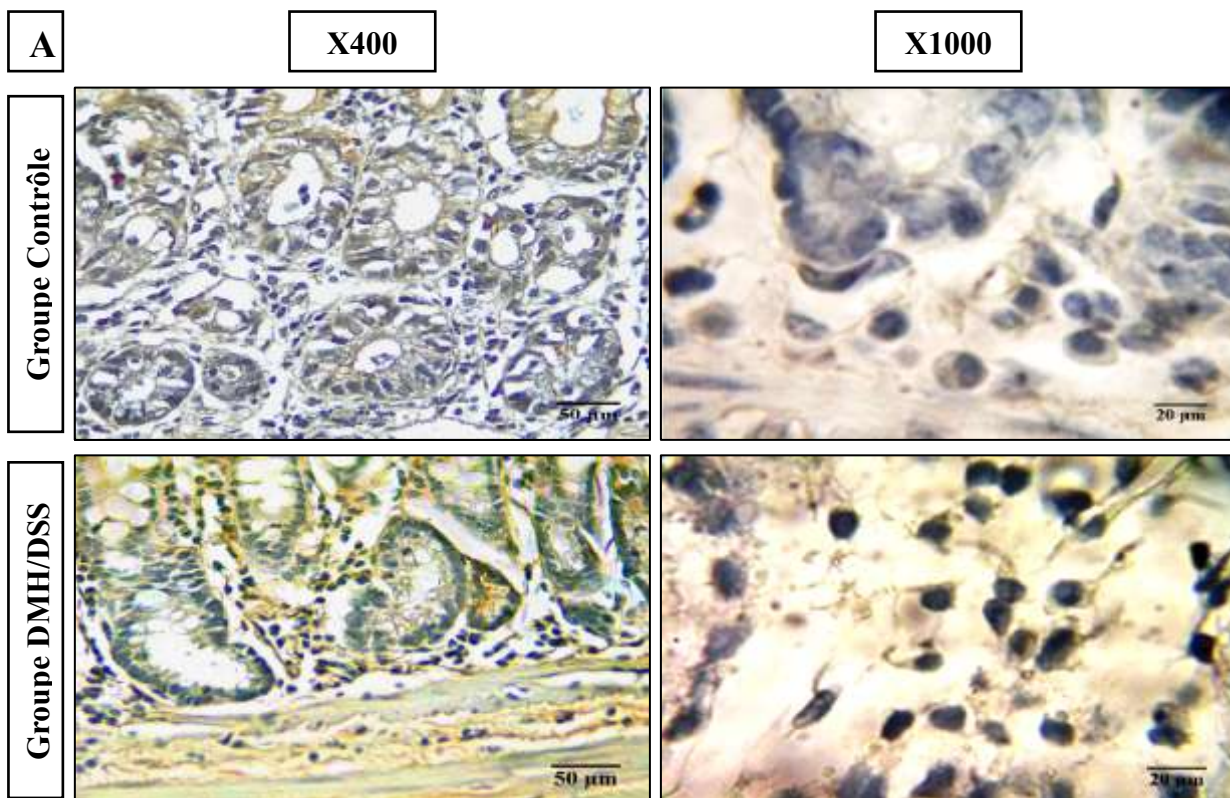


Figure 37. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription NRF2 et p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique des facteurs NRF2 sur des côlons issus des groupes contrôle et DMH/DSS. Grossissement x400, x1000.

Conformément à nos attentes, le traitement avec une faible dose de DMF a entraîné une augmentation significative de l'expression du NRF2 au sein des cryptes de Lieberkühn (*Fig. 37 B*). Cette amélioration suggère que le DMF30 stimule effectivement la voie anti-oxydante médiée par le NRF2, favorisant ainsi les mécanismes de défense cellulaire contre le stress oxydatif. L'augmentation de l'expression du NRF2 dans ce contexte indique une restauration de la capacité anti-oxydante au sein de la muqueuse colique, ce qui pourrait contribuer à atténuer les effets néfastes de l'inflammation induite par le DMH/DSS

Il est intéressant de noter que le traitement avec une dose élevée de DMF a également conduit à une augmentation de l'expression de NRF2, similaire à celle observée avec la faible dose. Cependant, le marquage a été observé principalement dans les cellules immunitaires, y compris les macrophages, les neutrophiles et les lymphocytes situés dans la *lamina propria* (Fig. 37 B).

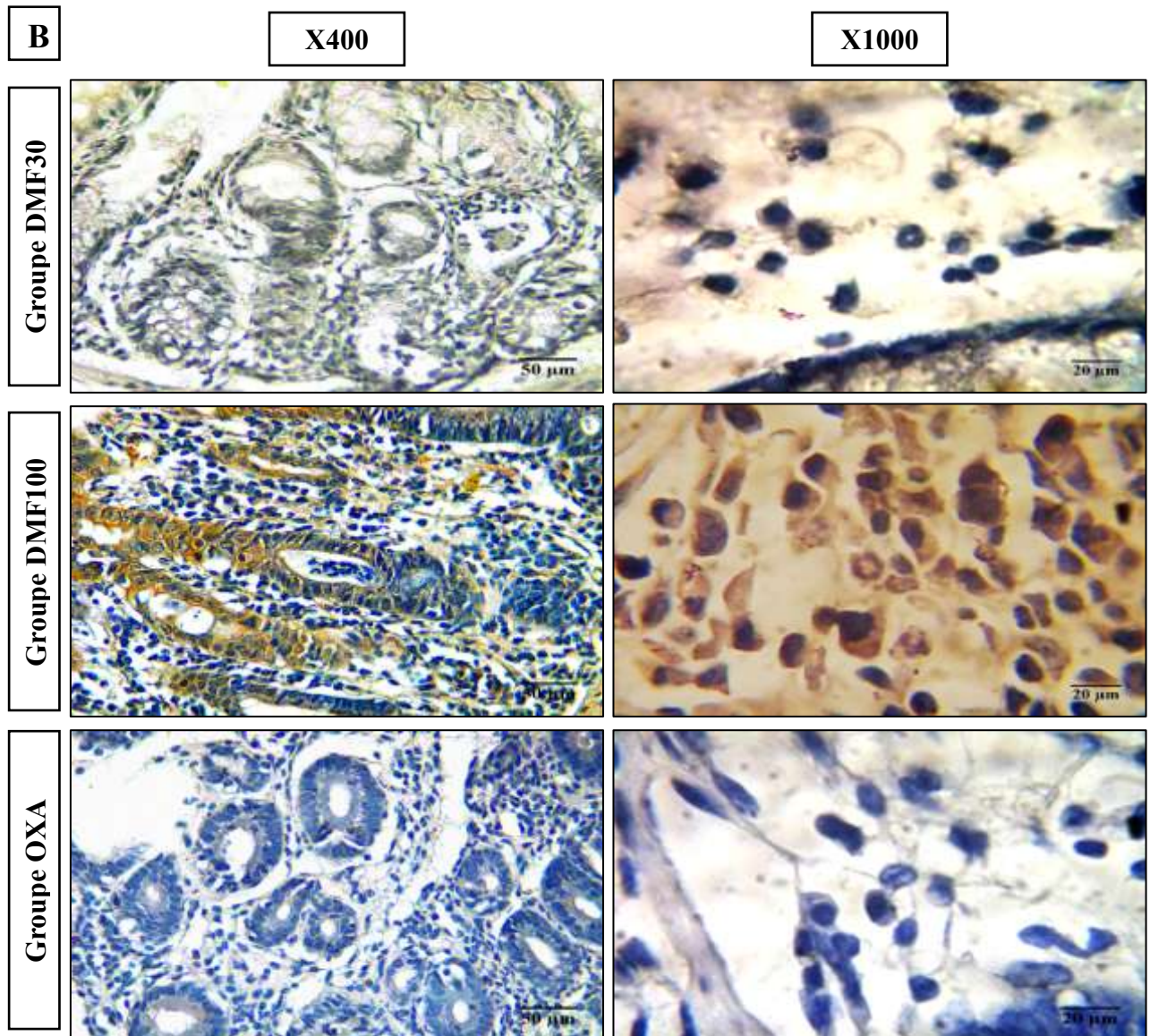


Figure 37. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription NRF2 et p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique des facteurs NRF2 sur des côlons issus des groupes DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x400, x1000.

En parallèle, nous avons exploré l'expression de la p53, une protéine qui joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire et la réponse aux dommages de l'ADN. La p53

est souvent qualifiée de "gardien du génome" en raison de sa fonction cruciale dans la détection des anomalies cellulaires et la prévention de la progression tumorale (*Fig. 38*)

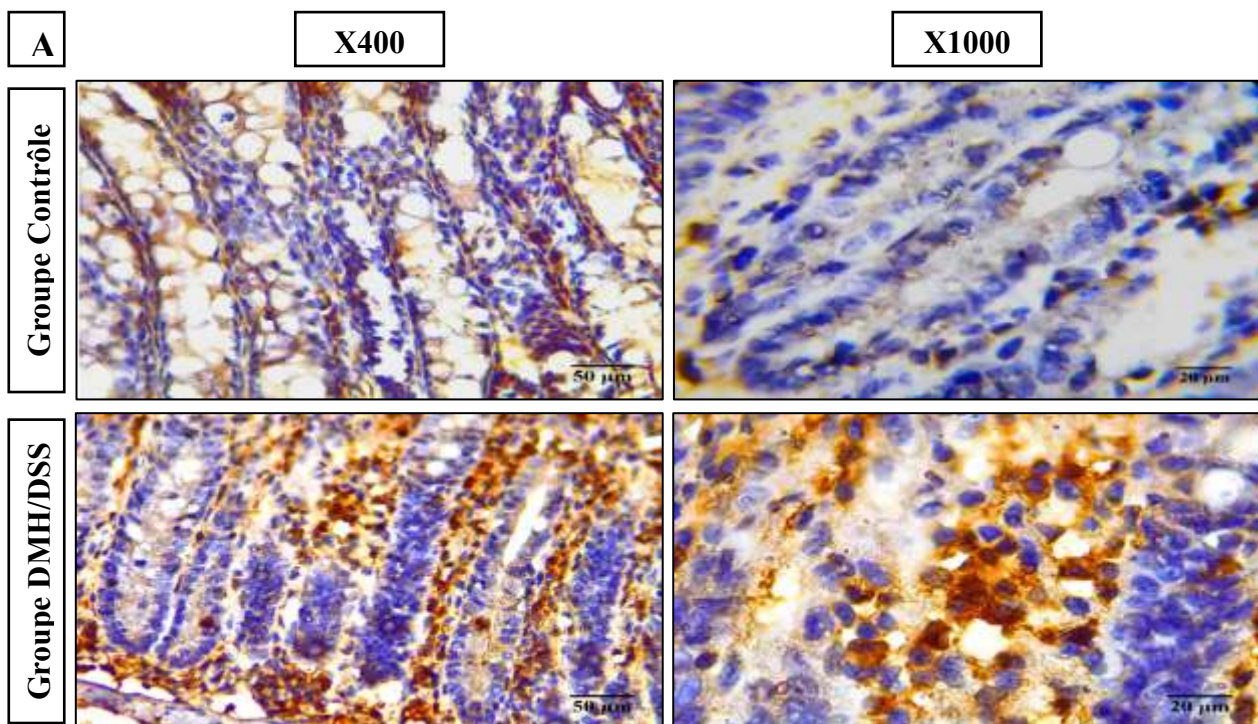


Figure 38. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique des facteurs p53 sur des côlons issus des groupes contrôle et DMH/DSS. Grossissement x400, x1000.

Dans notre modèle de CAC, nous avons observé une augmentation notable de l'expression de la protéine p53 dans le groupe traité avec DMH/DSS. Cette élévation a été constatée à la fois dans la *lamina propria* et au fond des cryptes de Lieberkühn (*Fig. 38 A*). L'augmentation de l'expression de p53 dans ces régions suggère que l'inflammation chronique induite par DMH/DSS active ce régulateur clé du cycle cellulaire et des réponses aux dommages de l'ADN. Cette activation pourrait avoir des conséquences importantes, notamment en favorisant la production de cytokines pro-inflammatoires, ce qui pourrait aggraver l'inflammation et contribuer à un cercle vicieux où l'inflammation chronique favorise davantage d'atteintes tissulaires et, potentiellement, la progression vers le cancer colorectal.

En réponse au traitement par DMF à faible dose, nous avons noté une augmentation significative de l'expression de la p53, mesurée à environ 100 % par rapport au groupe DMH/DSS ($p < 0,05$) dans les cellules immunitaires de la *lamina propria*. De manière encore plus marquée, le traitement avec une dose élevée de DMF a entraîné une augmentation encore

plus significative de l'expression de p53, atteignant environ 155 % par rapport au groupe DMH/DSS ($p < 0,001$) dans les cellules immunitaires de la *lamina propria* (Fig. 38 B). Ces résultats indiquent que le DMF pourrait moduler l'expression de p53, ce qui pourrait avoir des implications pour la régulation de la réponse inflammatoire et la protection contre les lésions cellulaires.

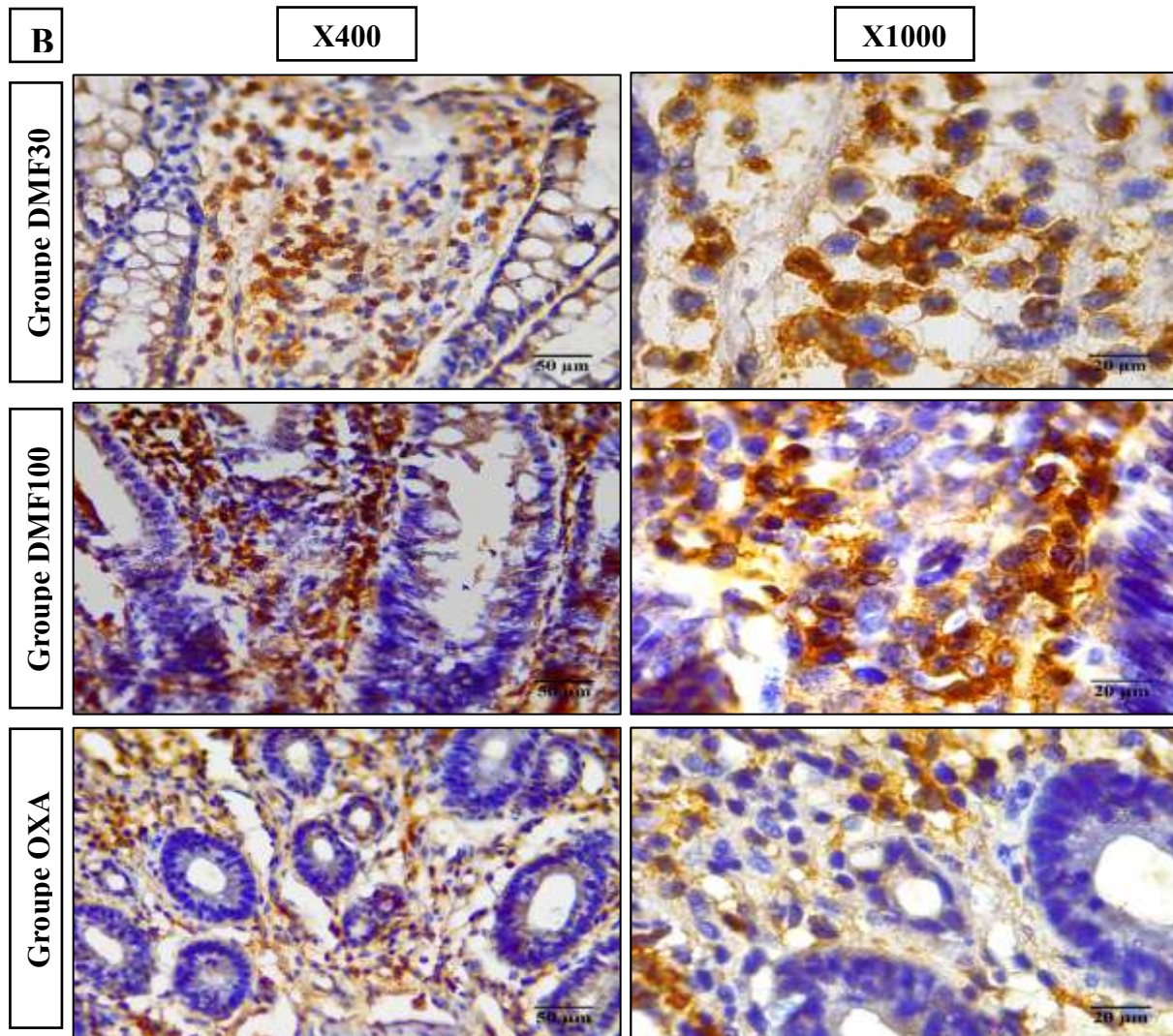


Figure 38. Evaluation de l'expression des facteurs de transcription p53 dans le tissu colique de souris traitées au DMH/DSS. Détection immunohistochimique des facteurs p53 sur des côlons issus des groupes DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x400, x1000.

Enfin, dans le groupe traité avec l'oxaliplatine, nous n'avons pas observé d'augmentation significative de l'expression de la p53 par rapport au groupe DMH/DSS. Cela indique que le traitement par oxaliplatine n'a pas réussi à stimuler les mécanismes régulateurs associés à p53 dans le contexte d'une inflammation chronique. L'absence d'effet sur l'expression de p53

suggère que l'oxaliplatine pourrait ne pas offrir les mêmes bénéfices en termes de modulation des réponses inflammatoires que ceux observés avec le traitement par DMF.

4.5 Altération structurale et fonctionnelle hépatique associée au traitement

Dans la dernière partie expérimentale de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'hépatotoxicité du DMF par rapport à la toxicité hépatique préétablie induite par l'oxaliplatine. L'oxaliplatine étant un agent chimiothérapeutique connu pour provoquer des lésions hépatiques significatives, notre objectif était d'évaluer le profil de sécurité du DMF sur la fonction hépatique, mais aussi pour éclairer les décisions cliniques concernant la prise en charge des patients subissant une chimiothérapie pour des pathologies malignes associées au foie.

Pour ceux-là, nous avons d'abord effectué une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine d'événements significatifs d'altérations de l'architecture tissulaire tels qu'une stéatose hépatique, hépatite médicamenteuse voire une nécrose hépatocellulaire (*Fig. 39*).

4.5.1 Le DMF a un effet dual sur les altérations hépatiques au DMH/DSS

L'architecture histologique du groupe témoin révèle des hépatocytes polygonaux mononucléés et binucléés organisés en cordons, ou travées, rayonnant à partir de la veine centrale et formant la structure classique du lobule hépatique. Les sinusoides hépatiques tissent un réseau structuré parmi ces travées d'hépatocytes, convergeant finalement dans la veine centrale.

Dans le groupe traité avec une faible dose de DMF, l'architecture hépatique est globalement préservée, indiquant une intégrité cellulaire et tissulaire maintenue. Cependant, on observe la présence de microsteatose, caractérisée par des petites gouttelettes de graisse dans le cytoplasme des hépatocytes, comme une forme de stéatose hépatique, bien que modérée, suggère une accumulation de lipides au niveau cellulaire.

En revanche, dans le groupe traité avec une forte dose de DMF, des modifications histopathologiques significatives ont été observées. Le DMF100 a induit une dilatation des sinusoides, suggérant une congestion et une perturbation de la microcirculation hépatique, et un ballonnement des hépatocytes, caractérisé par une augmentation du volume cellulaire due à

l'accumulation de lipides et d'eau accompagné d'une stéatose, indiquée par la présence de vacuoles lipidiques dans les hépatocytes.

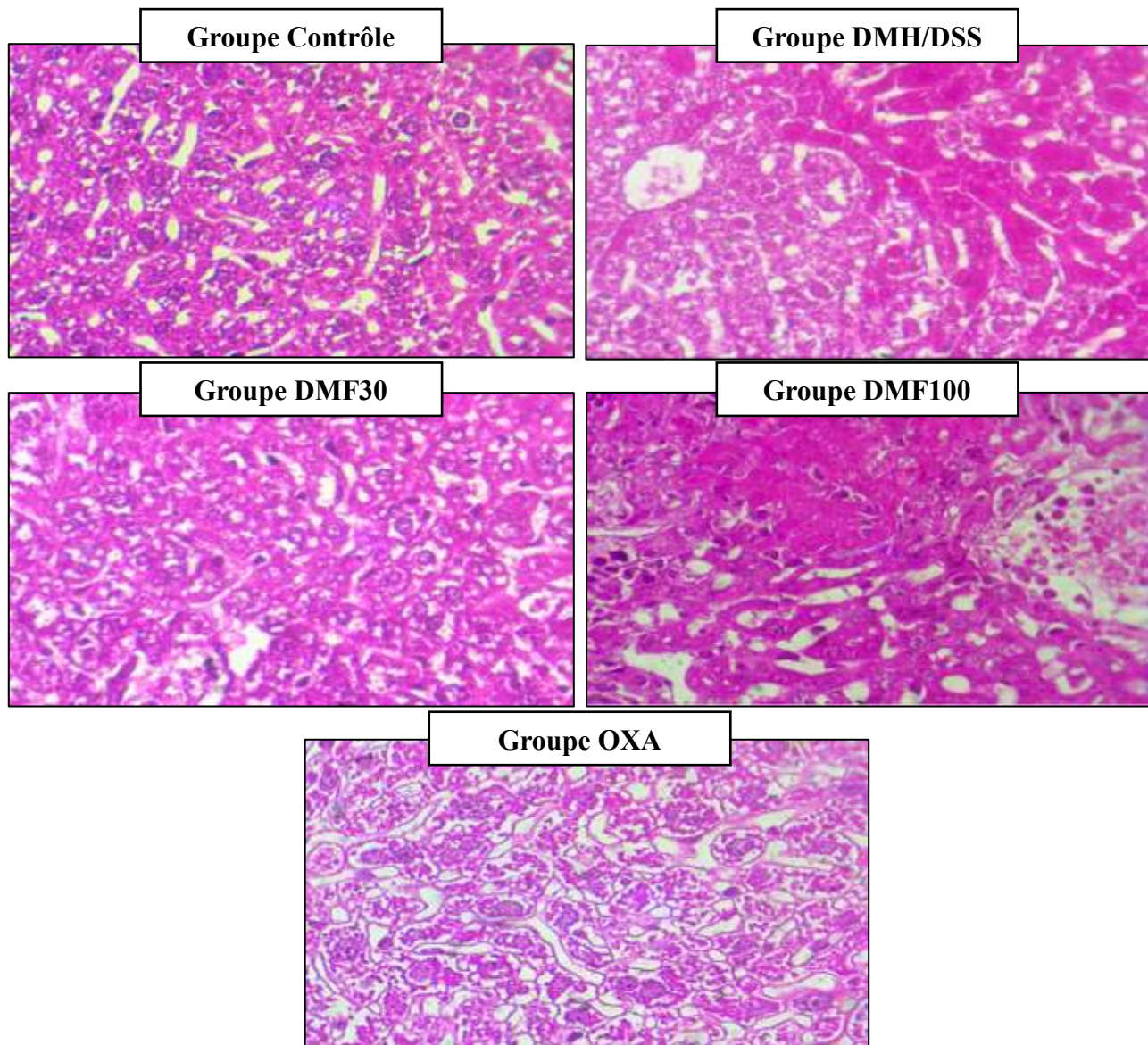


Figure 39. Effet du DMF et de l'OXA sur l'architecture tissulaire hépatique de souris traitées au DMH/DSS. Photographies de côlons après coloration H&E issus des groupes contrôles, DMF30, DMF100 et OXA. Grossissement x400.

Enfin, la chimiothérapie a entraîné des altérations histologiques sévères, notamment la destruction des sinusoides, entraînant une perturbation majeure de la circulation sanguine, l'altération du parenchyme hépatique avec des modifications notables dans la structure des hépatocytes qui ont été observé avec des noyaux fragmentés et une rupture des membranes plasmatisques, reflétant une nécrose cellulaire étendue (**Fig. 39**).

4.5.2 La faible dose de DMF n'altère pas le statut redox hépatique

Dans une seconde partie, nous avons entrepris une évaluation quantitative des marqueurs clés associés aux systèmes oxydant et antioxydant; à savoir les niveaux de MDA et l'activité de la catalase afin de caractériser l'équilibre redox de notre modèle expérimental au niveau du foie.

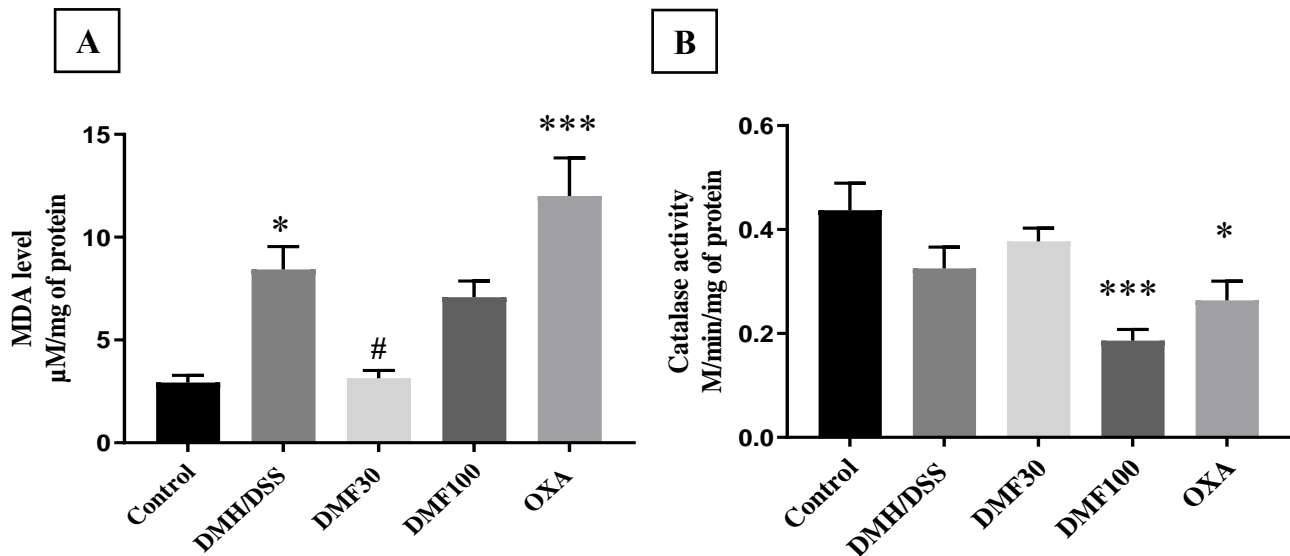


Figure 40. Evaluation du statut redox dans l'homogénat tissulaire hépatique de souris traitées au DMH/DSS. Taux de Malondihaldehyde (A), Activité Catalase (B). * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ vs groupe contrôle, ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs groupe DMH/DSS.

Nos résultats ont révélé une augmentation significative du MDA dans le groupe de souris induit par le DMH/DSS ($p < 0.05$). L'administration d'une faible dose de DMF a entraîné une réduction remarquable des niveaux hépatiques de MDA de plus de 65% par rapport au groupe DMH/DSS (Fig. 40 A, $p < 0.05$). Cette diminution substantielle suggère que le DMF à faible dose pourrait exercer un effet protecteur contre la peroxydation lipidique, atténuant les dommages oxydatifs hépatique causés par l'administration du carcinogène. En revanche, la forte dose de DMF n'a montré aucun impact significatif sur les niveaux de MDA, mais a induit une réduction significative de l'activité de la catalase d'environ 60 % par rapport au contrôle (Fig. 40 B, $p < 0,001$).

L'administration de la chimio thérapeutique de référence a induit une augmentation dramatique des niveaux hépatiques de MDA, avec une élévation de 316 % par rapport aux groupes témoins (*Fig. 40 A*, $p < 0.001$) et une diminution notable de l'activité de la catalase hépatique d'environ 35% (*Fig. 40 B*, $p < 0.05$). Ces résultats indiquent un renforcement significatif du stress oxydatif associé à l'effet pharmacologique de chimio-thérapeutique.

4.5.3 Le DMF n'altère pas la fonction des enzymes hépatiques

Par la suite, nous avons mesuré biochimiquement les activités de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT) en tant que biomarqueurs de dommages hépatiques. Ces enzymes sont des indicateurs cruciaux de lésions hépatiques, fournissant un aperçu de l'étendue des dommages cellulaires et de l'impact des différents traitements sur la fonction hépatique (*Tableau IV*).

Tableau IV. Tableau des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT).

Groupes	ASAT		ALAT	
	U.L ⁻¹	% Change	U.L ⁻¹	% Change
Contrôle	54,04 ± 11,17	-	15,53 ± 4,90	-
DMH/DSS	90,45 ± 32,33	67,37	36,34 ± 8,98	133,99
DMF 30mg/kg	52,82 ± 15,83	0	33,53 ± 6,15	115,90
DMF 100mg/kg	67,60 ± 12,71	25,09	46,79 ± 14,56	201,28
Oxaliplatin	109,44 ± 47,67	102,51	50,69 ± 16,04	226,40

L'analyse biochimique sérique des activités ASAT et ALAT a montré une augmentation par rapport au groupe contrôle, respectivement 67% et 133%. Pour le DMF, quelle que soit la dose administrée, nous n'avons pas observé de différence significative dans les taux d'ASAT. Toutefois, nous avons remarqué une augmentation significative des niveaux d'ALAT dans les groupes traités avec une forte dose de DMF de (200%, $p < 0,001$).

La chimiothérapie, à notre attente, a marqué une augmentation significative des niveaux d'ASAT (102%, $p < 0,05$) et hautement significative des taux d'ALAT (226%, $p < 0,001$) par rapport au contrôle (*Tableau IV*).

5 Discussion

Le CCR demeure un problème de santé mondiale et son association avec des conditions inflammatoires chroniques, telles que les IBD, ajoute une complexité supplémentaire aux stratégies de détection et de diagnostic. Le pronostic des patients reste sombre, en partie en raison de la difficulté d'un diagnostic précoce (Carethers et al., 2015). Compte tenu de ce pronostic défavorable, il devient urgent de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre ce sous-type de CCR. Le DMF, un composé doté de puissantes propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices, s'est révélé être un candidat prometteur pour le traitement du cancer tout particulièrement le CAC (Bresciani et al., 2023).

Pour comprendre la pathogenèse du CAC et les effets curatifs de l'administration de DMF, un modèle murin préétabli de CAC, initié par le DMH et promu par le DSS, a été induit dans notre étude.

5.1 Le modèle translationnel DMH/DSS reproduit fidèlement le CAC humain

Pour des raisons éthiques et pratiques, il est extrêmement complexe d'étudier en détail le développement d'un CAC chez l'homme, en particulier les stades précoces de la maladie. En effet, les biopsies répétées nécessaires pour suivre l'évolution des lésions précancéreuses représentent un risque non négligeable pour le patient. De plus, les patients ne consultent souvent qu'à des stades avancés, rendant difficile l'accès aux stades précoces. Enfin, la grande variabilité interindividuelle rend difficile l'établissement de corrélations fiables entre les différents paramètres. C'est pourquoi il est essentiel de recourir à des modèles animaux translationnels, qui reproduisent fidèlement les altérations histologiques, moléculaires et génétiques observées chez l'homme. Ces modèles permettent d'étudier en détail la séquence des événements menant de l'inflammation chronique au cancer, ouvrant la voie à de nouvelles stratégies de dépistage et de prévention.

Le modèle DMH/DSS a émergé comme un outil précieux pour étudier l'évolution du CAC. Dans ce modèle murin, le carcinogène DMH est administré pour induire des dommages à l'ADN et initier la carcinogenèse, tandis que le DSS est utilisé pour déclencher des cycles d'inflammation et de lésions coliques. Cette combinaison imite efficacement la séquence d'événements observés dans le CAC chez l'homme, avec une phase inflammatoire initiale progressant vers la dysplasie et, finalement, un carcinome invasif (Neufert et al., 2007).

Des études ont montré que le DMH induit des dommages à l'ADN et active des voies de signalisation oncogéniques, telles que la voie Wnt/ β -caténine, qui favorisent l'initiation et la progression tumorale (Kansal et al., 2014). D'autre part, le DSS déclenche une réponse inflammatoire caractérisée par l'infiltration de cellules immunitaires, la production de cytokines pro-inflammatoires et l'activation des voies de signalisation NF- κ B et STAT3 (Viennois et al., 2013; Bollrath et al., 2009). L'interaction entre ces voies conduit à une instabilité génomique, à des altérations épigénétiques et à l'acquisition des caractéristiques des hallmarks du cancer.

En s'appuyant sur le modèle DMH/DSS, les chercheurs peuvent explorer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le CAC qui ciblent des voies clés impliquées dans l'inflammation et la carcinogenèse (Neufert et al., 2007). Dans ce contexte, plusieurs études ont exploré l'efficacité de certains médicaments anti-inflammatoires, antioxydants et même immunomodulateurs afin de prévenir ou de retarder l'apparition du CAC (Kawamori et al., 1999; Tanaka et al., 2007).

Notre modélisation expérimentale *in vivo* a reproduit fidèlement les altérations précoces observées chez les patients atteints de CAC. Les groupes de souris traités au DMH/DSS présentent une symptomatologie similaire à celle des patients atteints de CAC, avec des diarrhées sanglantes et une perte de poids, ce qui est en accord avec un précédent travail sur ce modèle (Snider et al., 2016). L'étude de Tanaka et al. (2003) a aussi démontré que l'administration combinée de DMH et de DSS accélère le développement du CCR, en comparaison à la DMH seule, ce qui était en accord avec notre protocole qui nous a permis de réduire la durée totale jusqu'au développement des stades précoces du CCR, d'environ plusieurs semaines (Tanaka et al., 2003).

Au niveau histologique, le modèle DMH/DSS a reproduit fidèlement la cascade d'événements néoplasiques associés au CAC, comprenant l'apparition des ACF dès 9 semaines et devenant plus prononcées à 12 semaines avec formation d'adénomes. Ces changements histologiques caractérisés par une perturbation de la relation structure-fonction du tissu colique associant la distorsion de l'architecture cryptique à une déplétion en mucine. Le DSS a favorisé un microenvironnement inflammatoire propice à la tumorigenèse colique, via une inflammation chronique associée à l'infiltration de cellules immunitaires au niveau de la *lamina propria*. En effet, le milieu d'inflammation intestinale chronique joue un rôle vital dans la transformation de la colite en cancer colique en facilitant la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, ce qui promeut le développement, la croissance et la progression du cancer (Babu et al., 2023).

5.2 Le modèle translationnel DMH/DSS reproduit le microenvironnement inflammatoire et immunitaire associé à la pathogenèse du CAC

Dans le modèle de CAC induit par le DMH/DSS, le DSS joue un rôle central dans l'induction d'une colite et la promotion de l'infiltration des cellules inflammatoires dans le tissu colique. Le mécanisme par lequel le DSS induit une inflammation intestinale n'est pas clair, mais des études récentes ont indiqué que c'est probablement dû à la disruption de la barrière épithéliale dans le gros intestin. Cette disruption permet la translocation de contenus intestinaux pro-inflammatoires, y compris des bactéries et leurs produits de dégradation, dans les tissus sous-jacents (Yang et al., 2024).

Le recrutement inflammatoire se caractérise par une augmentation significative des neutrophiles, des macrophages et des lymphocytes, cruciaux pour initier et maintenir la réponse inflammatoire. Des études ont montré que le traitement par DSS entraîne l'activation de voies qui augmentent l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales telles que l'ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), facilitant ainsi la migration de ces cellules immunitaires dans le tissu enflammé (Horuluoglu et al., 2022 ; Danne et al., 2024). De plus, l'infiltration de ces cellules immunitaires contribue à la production de médiateurs inflammatoires supplémentaires, perpétuant le cycle de l'inflammation et favorisant la progression du CCR (Babu et al., 2023).

Les polynucléaires neutrophiles (PN) et les macrophages constituent la première ligne de défense immunitaire mobilisée lors d'un processus inflammatoire. Leur intervention rapide est cruciale pour endiguer l'invasion par des pathogènes microbiens. De plus, ces cellules jouent un rôle essentiel dans la résolution adéquate de l'inflammation (Bain & Mowat., 2014; Wéra et al., 2016).

Cependant, lorsque ces mécanismes ne sont pas rigoureusement régulés, il peut s'ensuivre un emballement des boucles de rétroaction positive qui amplifient l'infiltration et l'activation de ces cellules ainsi que la libération de ces médiateurs pro-inflammatoires. Cette dérégulation engendre alors des dommages tissulaires conséquents et favorise la chronicisation de la pathologie (Bain et Mowat., 2014 ; Wéra et al., 2016). Les neutrophiles et les macrophages sont détectés dans la muqueuse enflammée des patients atteints d'IBD et bien que le rôle de ces cellules ait été étudié depuis de longue date dans différents modèles animaux de maladies inflammatoires intestinales, leur contribution exacte à la physiopathologie reste encore mal comprise, pouvant avoir des effets à la fois protecteurs et nocifs, ce qui rend difficile de

déterminer leurs rôles exacts (Saez et al., 2023). À ce jour, aucune molécule thérapeutique ciblant spécifiquement les neutrophiles n'a été validée pour le traitement de ces affections.

Notre modèle de CAC induit par le DMH/DSS a entraîné une inflammation chronique, marquée par une infiltration significative de neutrophiles et de macrophages, ce qui est en adéquation avec les données de la littérature. Des études antérieures ont démontré que l'infiltration de neutrophiles est un marqueur clé de l'inflammation dans les modèles de colite et de CCR, renforçant l'idée que ces cellules jouent un rôle central dans la pathogenèse du CAC, via la production de cytokines et chimiokines telles que le CXCL1 et le CXCL2, les neutrophiles favorisent leur propre recrutement, et le recrutement d'autres cellules inflammatoires, instaurant un microenvironnement inflammatoire favorable au développement du CAC dans le modèle translationnel murin (Bain et Mowat., 2014; Kvorjak et al., 2020; Zheng et al., 2022).

D'autre part, les résultats de l'étude de Kamada et al., (2018) a démontré que le microenvironnement inflammatoire de la muqueuse intestinale chez les patients atteints d'IBD affectait la différenciation des macrophages via l'IFN- γ et modifiait leur phénotype en macrophages anormaux avec un nouveau phénotype CD14⁺ hyper-producteur d'IL-23 et qui sont associées à une réponse inflammatoire perturbée caractérisée par une maturation morphologique anormale des macrophages, une survie bactérienne intracellulaire prolongée et des différences dans l'expression des marqueurs de surface, avec une capacité accrue d'induire la conversion et l'expansion des cellules Th17 pathogènes (Kamada et al., 2008).

Les macrophages sont représentés par une population cellulaire hétérogène avec un effet pro-tumoral ou anti-tumoral en fonction du contexte, de la séquence tumorale et du stade de progression. Nous nous sommes donc intéressés à la polarisation des macrophages au cours des stades précoces du CAC.

Les macrophages (phénotype M1) jouent un rôle très important dans l'initiation et la progression des IBD vers un CAC. Inversement, les macrophages anti-inflammatoires (phénotype M2) inhibent l'inflammation chronique associée au CAC. On retrouve souvent une polarisation majoritairement M1 aux stades précoces du CAC, et M2 aux stades tardifs du CAC (Zhang et al., 2023).

La polarisation des macrophages est régulée par diverses voies de signalisation, telles que les voies NF- κ B et MAPK, ainsi que par d'autres facteurs de transcription. La présence de ROS joue un rôle particulièrement influent dans l'activation de ces voies et la différenciation des

macrophages vers le phénotype M1. La NADPH oxydase 2 (NOX2) contribue à l'induction de la polarisation M1 des macrophages par la génération de ROS, en particulier le O₂⁻. Ces derniers peuvent à leur tour activer la voie NF-κB en favorisant la dégradation de l'IκB, un inhibiteur de NF-κB. Une fois libéré, le NF-κB peut induire la transcription de gènes pro-inflammatoires associés au phénotype M1 (Xu et al., 2016).

Les résultats sur notre modèle DMH/DSS corroborent ceux de l'étude de Wang et al., (2016) qui ont démontré une prédominance du phénotype M1 dans le modèle murin de CAC, soulignant l'importance de la polarisation des macrophages dans la pathogenèse du CAC (Wang et al., 2016). Il a été par la suite démontré que le facteur de transcription NF-κB favorise le phénotype M1 des macrophages via la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-α et l'interleukine-1 bêta (IL-1β), qui contribuent à l'inflammation chronique et à la promotion de l'angiogenèse. Cette inflammation persistante peut engendrer des dommages à l'ADN et des mutations, favorisant ainsi l'instabilité génomique, un élément fondamental dans la progression vers le cancer (Wang et al., 2016, Liu et al., 2021a ; Liu et al., 2021b).

La pathogenèse des UC est caractérisée par une réponse immune de type Th2, qui joue un rôle crucial dans sa pathogénie. Cette réponse immune se manifeste par des niveaux élevés de cytokines telles que l'IL-5 et l'IL-13, qui sont produites en plus grande quantité par les patients atteints d'UC par rapport à ceux souffrant de la maladie de CD (Fuss et al., 1996; Fuss et Strober., 2008). La voie Th2 est principalement une réaction immune humorale qui implique l'infiltration et l'activation des cellules B, entraînant une augmentation des niveaux d'immunoglobuline G (IgG) dans la muqueuse intestinale des patients atteints d'UC (Hevia et al., 2014).

5.3 Le modèle translationnel DMH/DSS perturbe l'homéostasie redox dans la pathogenèse du CAC

Le cross-talk entre le stress oxydatif et l'inflammation pro-tumorale joue un rôle crucial dans la progression du CAC (Babu et al., 2023). Le stress oxydatif, caractérisé par une accumulation excessive de ROS suite à un excès de production ou un défaut du système antioxydant, peut être induit par l'administration du DMH et DSS. Concrètement, la DMH et ses métabolites actifs, à savoir l'Azoxymethane (AOM) et Methylazoxymethanol (MAM), entraînent la production accrue ROS en perturbant les mécanismes de réparation de l'ADN et en provoquant des dommages cellulaires (Kansal et al., 2014; Babu et al., 2023).

L'inflammation chronique induite par le DSS stimule encore plus la libération de ROS par les cellules immunitaires activées. Cette accumulation de ROS engendre un stress oxydatif qui, à son tour, active des voies de signalisation pro-inflammatoires, établissant un cercle vicieux favorisant le développement tumoral dans le côlon (Frick et al. 2018 ; Kang et al., 2021).

Les ROS jouent un rôle significatif dans la signalisation cellulaire, en particulier dans l'activation de la voie des MAPK à travers l'oxydation des résidus de cystéine sur les protéines, entraînant des changements conformationnels qui activent d'autres kinases en aval ou en inhibant les phosphatases des protéines tyrosine (PTP) empêchant la déphosphorylation des MAPK et maintenant ainsi leur activation. Ainsi que par activation de la voie ERK par la cascade Ras-Raf-MEK-ERK. De plus, les ROS peuvent activer les voies JNK et p38 (Setia et al., 2014; Xie et al., 2015). Ces kinases sont impliquées dans divers processus cellulaires, notamment la prolifération, la différenciation et l'apoptose, mais aussi activent la voie PI3K/AKT, qui favorise la survie et la croissance cellulaires, contribuant ainsi à la tumorigenèse (Setia et al., 2014). En conséquence, la compréhension de cette interaction est essentielle pour développer des stratégies thérapeutiques ciblées (Fig. 41).

Les PN, qui jouent un rôle central dans l'inflammation associée aux IBD et dans le développement du CAC, établissent un lien crucial entre l'inflammation et le stress oxydatif (Wéra et al., 2016). L'enzyme MPO, fortement exprimée par les neutrophiles, exerce un double rôle, pro-inflammatoire et pro-oxydant, dans ces processus. Lors de l'activation des neutrophiles, la MPO est libérée après dégranulation dans la muqueuse colique, où elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en acide hypochloreux (HOCl), un oxydant puissant qui peut entraîner des dommages cellulaires et tissulaires (Marrocco et al., 2017).

Des études ont montré que l'activité de la MPO augmente chez les souris traitées avec du DSS dans des modèles d'IBD, indiquant une forte activation des neutrophiles (Marrocco et al., 2017). De plus, des niveaux plasmatiques de MPO élevés sont souvent corrélés à la gravité de la maladie chez les patients, soulignant son rôle en tant que marqueur de la fonction pathologique des neutrophiles. Nos observations suggèrent que les neutrophiles, par le biais d'une augmentation de l'activité MPO, peuvent contribuer à la transformation de la colite en cancer en favorisant un environnement pro-inflammatoire et en exacerbant le stress oxydatif (Danne et al., 2024).

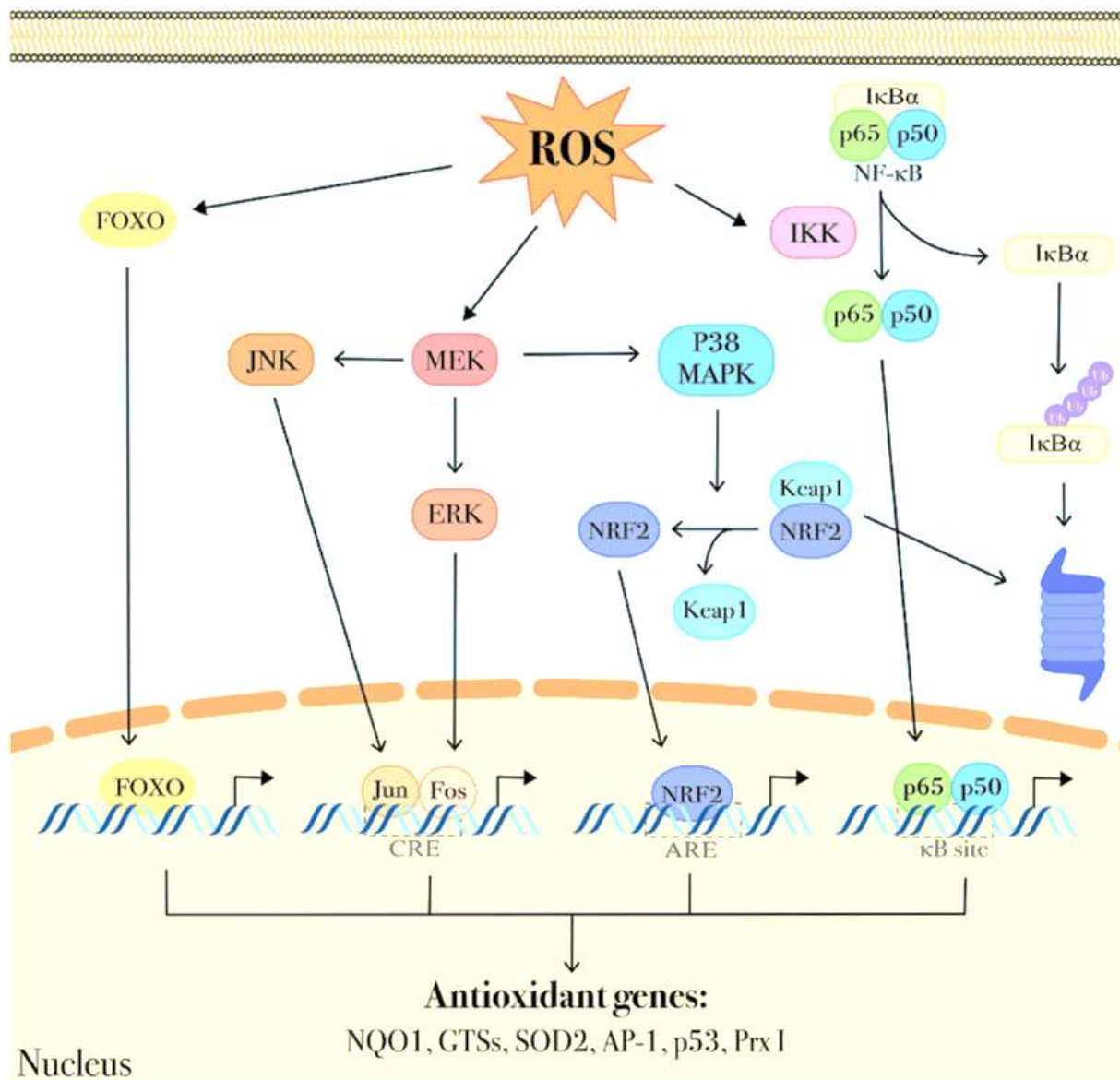


Figure 41. Voies de signalisations dépendantes des ROS (Trombetti S et al., 2021).

D'autre part, les macrophages M1, activés par des stimuli inflammatoires, synthétisent le $\text{NO}\cdot$ via l'enzyme iNOS. Ce $\text{NO}\cdot$ a des effets à la fois protecteurs et délétères. D'une part, il peut exercer des propriétés antitumorales en inhibant la prolifération cellulaire et en induisant l'apoptose des cellules tumorales dans les phases avancées du cancer. D'autre part, une production excessive de $\text{NO}\cdot$ dans un environnement inflammatoire chronique, comme celui observé dans les stades précoces du CAC, peut contribuer à des dommages tissulaires (Kang et al., 2021).

En effet, le NO• réagit avec des ROS pour former des composés nitrés, tels que le peroxynitrite (ONOO⁻), qui peut provoquer des lésions oxydatives sur l'ADN, les lipides et les protéines. Ces dommages peuvent entraîner des mutations génétiques et une instabilité génomique, favorisant ainsi la progression vers le cancer. De plus, le stress nitrosatif résultant de l'accumulation de NO• et de ses dérivés peut exacerber l'inflammation, créant un cercle vicieux qui contribue à la carcinogenèse dans le côlon. Notre modèle de DMH/DSS a parfaitement retranscrit l'altération des stades précoces du CAC, caractérisé par un phénotype M1 pro-inflammatoire producteur le NO•, favorisant ainsi les dommages nitrosatifs ([Horuluoglu et al., 2020](#); [Kamada et al., 2008](#)).

Dans notre modèle, nous avons observé une altération significative de l'équilibre redox chez les souris soumises au DMH/DSS, caractérisée par une augmentation des marqueurs d'oxydation lipidique et protéique. Ceci suggère que les réactions médiées par la MPO et le NO• contribuent à la formation des AOPPs dans le côlon. Les AOPPs sont connus pour être élevés chez les patients atteints d'IBD et sont impliqués dans l'activation du facteur de transcription NF-κB, conduisant ainsi à la transcription de cytokines pro-inflammatoires et perpétuant le cycle inflammatoire ([Krzystek-Korpacka et al., 2008](#)). Nos résultats corroborent les conclusions de l'étude Lou A et al., (2021) qui ont démontré que les AOPPs peuvent induire une inflammation en favorisant la libération de cytokines telles que TNF-α et IL-6, qui sont cruciales dans la pathogenèse d'IBD. La corrélation entre les niveaux d'AOPPs et la gravité de la maladie souligne l'importance du stress oxydatif dans la progression des IBD ([Lou A et al., 2021](#)).

De plus, l'élévation des niveaux de MDA, index de la peroxydation lipidique, confirme davantage le stress oxydatif observé dans notre étude. Le MDA est connu pour agir comme un médiateur dans les voies de signalisation inflammatoire et a été associé à la tumorigenèse en raison de ses propriétés mutagènes, provoquant des dommages à l'ADN par divers mécanismes, y compris des substitutions de paires de bases et des cassures de brins ([Jackson et al, 2001](#); [Waldner et al., 2015](#)).

Par ailleurs, les dommages oxydatifs observés ont aussi été perpétués suite à la baisse de l'activité des enzymes anti-oxydantes SOD et Catalase. De précédentes études, comme celle menée par Zhu et al., ont démontré la baisse d'activité de ces deux enzymes anti-oxydantes clés, SOD et catalase, dans un modèle similaire de CAC ([Wang et al., 2022](#)). Ces travaux ont également mis en évidence une diminution significative des taux de GSH, un important

antioxydant non enzymatique. Nos propres résultats corroborent ces observations, révélant une baisse marquée des niveaux de GSH chez les souris exposées à ce même traitement pro-oxydant et pro-inflammatoire. Cette diminution concomitante des défenses anti-oxydantes enzymatiques et non enzymatiques souligne l'importance de ce déséquilibre redox dans la pathogenèse du CAC. Ces observations sont en accord avec les données de la littérature, qui soulignent l'implication majeure de l'inflammation chronique et le stress oxydatif dans la pathogenèse du CAC (Valko et al., 2006 ; Babu et al., 2023).

La DMH et le DSS dans les modèles expérimentaux de CAC ont montré qu'ils peuvent induire diverses sources d'espèces ROS que nous n'avons pas pu explorer entièrement dans cette étude. Il est tout d'abord reconnu que ce modèle favorise les altérations mitochondriales. La dysfonction mitochondriale peut entraîner une augmentation de la génération de ROS en raison d'une activité altérée de la chaîne de transport d'électrons (Wang et al., 2019a ; Wang et al., 2019b). De plus, les altérations de l'oxydase xanthine (XO), une enzyme impliquée dans le métabolisme des purines, peuvent également exacerber la production de ROS, car la XO est connue pour générer des superoxydes lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique. En outre, des changements dans l'activité de la glutathion peroxydase (GPX) et de la NADPH oxydase (NOX) peuvent également jouer des rôles critiques dans la modulation du stress oxydatif (Kuai et al., 2020). Collectivement, ces mécanismes soulignent la complexité de la production de ROS dans le modèle DMH/DSS.

5.4 Le DMF présente un effet pharmacologique dual dans le modèle DMH/DSS

Le rôle essentiel du stress oxydatif et de l'inflammation dans le développement du CAC a été établi par des études antérieures et confirmé par notre étude actuelle. Cela nous a amené à proposer que l'utilisation d'une molécule possédant des propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires pourrait non seulement prévenir l'apparition du CAC, mais aussi atténuer ses symptômes. Pour cela, nous avons choisi d'explorer l'effet thérapeutique du DMF, une molécule initialement utilisée pour traiter la sclérose en plaques, en tant que candidat pour un repositionnement de médicament dans la prévention du CAC et de l'atténuation de ses symptômes, en ciblant les mécanismes sous-jacents du stress oxydatif et de l'inflammation.

Le DMF est un ester de l'acide fumarique, dont la faible taille ($144.126 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) et la bonne liposolubilité ($\text{Log}(P)=0.88$) lui permettent de traverser les membranes plasmiques facilement. Reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes, le DMF a

démonstré, dans des recherches antérieures, sa capacité à réduire l'activation des cellules immunitaires et à diminuer la libération de cytokines pro-inflammatoires. De plus, il favorise la production de cytokines anti-inflammatoires, contribuant ainsi à un équilibre immunitaire bénéfique (Han et al., 2016 ; Kastrati et al., 2016 ; Kornberg et al., 2018).

Le DMF est typiquement prescrit à des doses entre 30 mg et 720 mg par jour pour, équivalant à des doses de 0.4 mg/kg à 10 mg/kg en fonction de la sévérité de l'inflammation (Malara et al., 2021). Ces doses sont admises comme sûres et sans effet secondaire majeur (Corazza et al., 2021). Dans notre modèle, les doses de 30 mg/kg et 100 mg/kg de DMF ont été choisies sur la base de leur efficacité préalablement établie dans un modèle expérimental murin de maladie de Crohn (Casili et al., 2016).

Notre actuelle étude contribue de manière significative à la compréhension des effets du DMF, en mettant en lumière un effet dual du DMF en fonction de la dose utilisée. À faible dose, le DMF réduit significativement le nombre total et la multiplicité des ACF ainsi que les MDF, qui sont tous deux des précurseurs néoplasiques du CCR (Alrawi et al., 2006; Femia et al., 2012). Tandis que la forte dose de DMF a aggravé la formation de ces ACF et favorisant l'apparition du CAC. Par cette étude, nous avons été les premiers à montrer une telle dualité de l'effet du DMF dans un modèle murin de CAC induit à la DMH/DSS.

Afin de mieux élucider les mécanismes sous-jacents à l'effet dual du DMF, nous avons évalué les paramètres du stress oxydatif. Nous avons observé qu'à faible dose, le DMF a significativement réduit le taux de MPO ainsi que les niveaux de MDA et d'AOPP, suggérant un rôle thérapeutique potentiel pour cette faible dose dans l'atténuation du stress oxydatif et de l'inflammation dans les IBD. Cela s'aligne avec la littérature existante qui souligne l'importance des antioxydants dans la réduction des dommages oxydatifs et de l'inflammation dans des modèles expérimentaux de colite (Kang et al., 2021).

Au contraire, l'utilisation du DMF à forte dose a augmenté les taux de peroxydation lipidique et protéique induisant un stress oxydatif dans notre modèle. Ces résultats controversent les effets du DMF décrits dans la littérature, en mettant en avant des modes d'actions dose-dépendants du DMF.

Dans une deuxième partie, nous avons évalué les paramètres inflammatoires ainsi que le recrutement immunitaire en aval du traitement DMF. La faible dose du DMF a considérablement atténué l'inflammation chronique en diminuant l'infiltration des neutrophiles, traduite par un faible taux de MPO. Une réduction marquée par une diminution de la production

de ROS et RNS par ces lignées cellulaires, comme cité plus haut. Nos résultats sont en accord avec les précédents travaux de Müller et al. (2016) et Han et al. (2016).

Par ailleurs, les études dans la littérature pointent différents mécanismes de l'effet suppressif du DMF sur les neutrophiles. Chen H et al., (2016) ont démontré que le DMF a diminué le nombre de neutrophiles infiltrants de manière dépendante du récepteur HCA2 dans un modèle expérimental d'encéphalomyélite auto-immunitaire, probablement en interférant avec l'adhésion des neutrophiles aux cellules endothéliales et la chimiotaxie. D'autre part, Hoffmann JHO et al., (2018) ont démontré que le DMF inhibe l'activation des neutrophiles, la production de ROS, induite par le phorbol 12-myristate 13-acétate (PMA) et la formation de pièges extracellulaires de neutrophiles (Neutrophil extracellular traps, NET) dans les neutrophiles de patients atteints de psoriasis humain par épuisement du GSH. Collectivement, ces résultats suggèrent que l'effet anti-inflammatoire du DMF peut également inclure la suppression de l'infiltration des neutrophiles.

Le DMF à faible dose a aussi protégé de manière significative les souris de l'inflammation chronique du DSS en augmentant le nombre de macrophages anti-inflammatoires M2, tout en diminuant simultanément le niveau de macrophages pro-inflammatoires M1 comme le souligne les résultats obtenus dans le rapport iNOS/Arginase. Cet effet bénéfique semble être dû à l'activation du facteur de transcription Nrf2 et de son gène cible, HO-1, qui pourrait faciliter la polarisation des macrophages vers le type M2. Ce changement est crucial car les macrophages M2 sont connus pour sécréter des cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF β , qui exercent des effets protecteurs contre la colite (Arranz et al., 2012 ; Weisser et al., 2011). La capacité des macrophages M2 à atténuer l'inflammation est également soutenue par l'observation que le PAM3, un agoniste du récepteur TLR1/2, favorise la polarisation M2 et protège contre la colite induite par le DSS (Horuluoglu et al., 2020). La forte dose, au contraire, a maintenu un phénotype M1 et a augmenté significativement l'infiltration des cellules B dans le côlon comme le confirme l'augmentation des taux d'estérase lymphocytaire, ce qui implique une exacerbation de la réponse immune Th2.

Ces régulations complexes peuvent être expliquées par les fortes propriétés électrophiles du DMF qui lui permettent d'interagir avec des sites nucléophiles sur les protéines et autres macromolécules, en particulier ceux contenant des groupes thiols, comme les résidus cystéine (Satoh et al., 2017). En tant que puissant électrophile, le DMF peut accepter facilement les électrons, facilitant ainsi la formation d'adduits covalents avec ces sites nucléophiles. Cette

modification peut entraîner des altérations significatives de la structure et de la fonction des protéines affectées, impactant leur activité, leur stabilité et leurs voies de dégradation, renforçant ou inhibant l'activité enzymatique, selon le contexte spécifique de la modification (Brennan et al., 2015). De plus, la réactivité du DMF ne se limite pas aux protéines ; il peut également interagir avec d'autres macromolécules, notamment les lipides et les acides nucléiques, influençant potentiellement les voies de signalisation cellulaire et l'expression des gènes (Saidu et al., 2019). Les modifications résultantes peuvent déclencher une cascade de réponses cellulaires, notamment l'activation de mécanismes de réponse au stress et la régulation positive de facteurs protecteurs qui aident la cellule à s'adapter au stress oxydatif et à l'inflammation (Satoh et al., 2017).

5.5 Le mécanisme d'action du DMF dépend de l'activation du NRF2

Plusieurs études ont démontré que le DMF est capable d'activer le facteur nucléaire NRF2 par l'oxydation des groupements thiols réactifs sur la protéine associée à ECH de type Kelch 1 (Keap1), ce qui entraîne la stabilisation de NRF2, sa translocation dans le noyau et l'activation de la réponse anti-oxydante cellulaire par la transcription de gènes régulateurs sur l'ARE (Brennan et al., 2016). Nous nous sommes alors intéressés à l'expression de ce dernier comme un des mécanismes régulateurs possible du DMF dans notre modèle de DMH/DSS.

Bien que le DMF soit reconnu pour ses propriétés anti-oxydantes, les résultats de notre étude sur l'expression de NRF2 dans le modèle DMH/DSS ont révélé des observations surprenantes en fonction de la dose administrée.

À faible dose, nous avons observé un marquage nucléaire du NRF2 dans les cellules épithéliales coliques. Cette localisation nucléaire du NRF2 indique son activation et sa translocation du cytoplasme vers le noyau et l'activation de gènes impliqués dans la défense anti-oxydante et la détoxification cellulaire (Brennan et al., 2015). Ces résultats sont en accord avec la littérature sur les effets thérapeutiques du DMF contribuant à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs et inflammatoires coliques dans les cancers (Loewe et al., 2002 ; Brennan et al., 2005 ; Saidu et al., 2017).

Cependant, l'administration de DMF à forte dose a entraîné une expression nucléaire de NRF2 dans les cellules immunitaires infiltrantes, principalement les lymphocytes, exacerbant ainsi la réponse Th2. Cette localisation du marquage dans les cellules immunitaires suggère que

le DMF à forte dose peut moduler la réponse inflammatoire en activant le NRF2 dans les cellules du système immunitaire vers un phénotype Th2 suite à la génération d'un stress oxydatif.

D'un point de vue pharmacodynamique, l'effet dual du DMF observé peut être lié à une saturation des récepteurs se trouvant sur les cellules épithéliales à forte concentration, ciblant ainsi les cellules immunitaires. Le DMF étant converti en MMF, la saturation des hydrolases intestinales peut aussi expliquer la différence de réponse entre la faible et forte dose de DMF. Enfin la capacité électrophile du DMF et du MMF fait qu'à fortes doses, il peut toucher plusieurs autres cibles, modifiant leurs activités. Ainsi, le DMF peut succinyler le Keap1 à faible concentration, libérant le Nrf2, tandis qu'à forte dose, il pourra succinyler les résidus cystéine du Nrf2 lui-même, modifiant son activité. Les différents types cellulaires peuvent nécessiter alors des concentrations différentes de DMF ou de MMF pour produire une réponse similaire (Rostami-Yazdi et al., 2010).

Pour confirmer notre hypothèse, nous avons évalué l'expression du gène *TP53*. Il est bien établi que p53 peut être activé par le stress oxydatif. En effet, le H₂O₂ peut induire la phosphorylation de p53 par une activation directe de l'ATM (Ataxia-telangiectasia mutated) (Guo et al., 2010). Dans notre étude, la forte dose a augmenté significativement l'expression de la p53 par le DMF100 dans les cellules immunitaires infiltrantes, ce qui nous permet de suggérer un effet de causalité du stress oxydatif généré par la forte dose. Bien que l'activation de p53 soit généralement bénéfique en induisant des gènes pro-apoptotiques dans les cellules épithéliales, son activation dans les cellules immunitaires peut avoir des effets délétères sur l'inflammation chronique. En effet, l'étude de Lowe JM., et al (2014) ont démontré un mécanisme par lequel les macrophages humains intègrent les signaux via p53 et NF-κB pour l'induction de cytokines pro-inflammatoires et soulignent dans le rôle du p53 dans le conditionnement du microenvironnement immunitaire tumoral (Lowe et al., 2014).

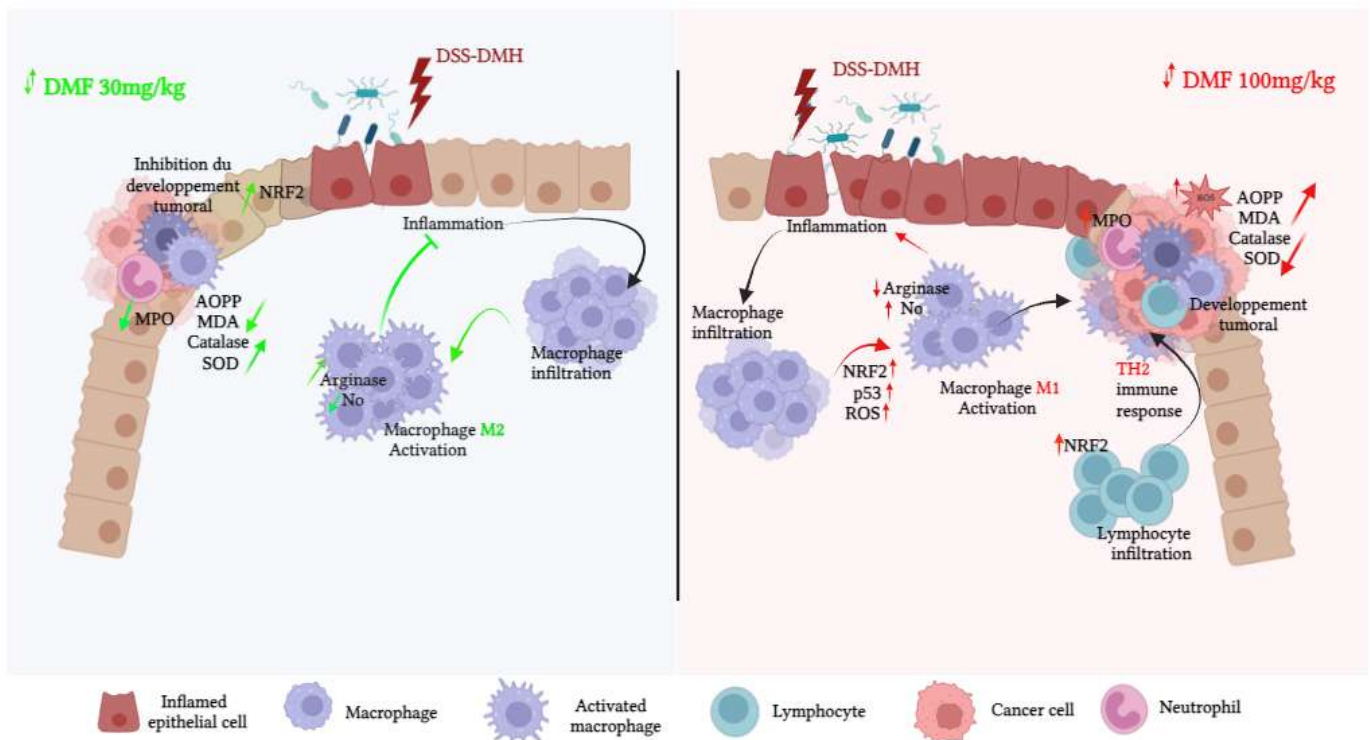


Figure 42. Schéma récapitulatif de l'effet dual du DMF dans le modèle de CAC ACF: aberrant crypt foci, AOPP: advanced oxidation protein products, ARG: arginase, CAC: colitis-associated cancer, DMF30: 30 mg/kg of dimethylfumarate, DMF100: 100 mg/kg of dimethylfumarate, HClO: hypochlorous acid, iNOS: inducible nitric oxide synthase, M1: macrophage M1, M2: macrophage M2, MDA: malondialdehyde, MPO: myeloperoxidase, NO: nitric oxide, NRF2: nuclear factor erythroid-derived 2-related factor 2, O_2^- : superoxide anion, ONOO $^-$: peroxynitrite, PN: polynuclear neutrophil.

6 Conclusion et perspectives futures

En conclusion, cette étude a démontré un effet dual dose-dépendant du diméthylfumarate (DMF) dans un modèle murin de cancer colorectal associé à une colite (CAC) induit par la diméthylhydrazine/dextran sulfate sodique (DMH/DSS). Nos résultats ont révélé que le traitement par DMF à faible dose améliore significativement la progression du cancer CAC, principalement par l'inhibition des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la polarisation des macrophages vers le phénotype M2. En revanche, le traitement par DMF à forte dose a agi comme un pro-oxydant, exacerbant l'inflammation colique et favorisant la carcinogénèse. Cet effet dual du DMF met en évidence l'importance de la posologie dans les stratégies thérapeutiques, car le régime à forte dose peut entraîner des résultats néfastes en augmentant le stress oxydatif et les réponses inflammatoires.

Il est également important de noter que nos résultats ont indiqué que le DMF à faible dose est aussi efficace que l'oxaliplatine pour réduire la carcinogénèse colique, tout en étant moins toxique. Cette découverte est particulièrement pertinente compte tenu du besoin d'options de traitement efficaces mais plus sûres pour les patients atteints de cancer colorectal.

En perspective, des investigations supplémentaires utilisant des inhibiteurs de NRF2 et de p53 pourraient confirmer les implications de ces facteurs de transcription dans le maintien de la réponse immunitaire Th2 et l'exacerbation du CAC par le DMF à forte dose.

Il serait aussi crucial d'explorer les effets du DMF administré en combinaison avec d'autres agents chimiothérapeutiques ou immunothérapeutiques sur les phases avancées de la carcinogénèse colorectale, hypothéquant la possibilité d'améliorer l'efficacité des traitements existants tout en réduisant leurs effets secondaires.

Des études sur les autres mécanismes moléculaires sous-jacents par lesquels le DMF exerce ses effets sur les cellules cancéreuses. L'exploration des voies de signalisation, telles que l'activation des MAPK (p38, JNK, ERK), pourrait fournir des informations précieuses sur la manière dont le DMF influence la survie et la prolifération des cellules tumorales.

Les résultats de cette étude pourraient avoir des implications importantes pour la recherche translationnelle, en fournissant des bases pour des essais cliniques visant à évaluer l'efficacité du DMF chez les patients atteints de cancer colorectal associé à la colite. La mise en place d'études cliniques pourrait valider les résultats précliniques et aider à établir des protocoles de traitement basés sur les données obtenues. Ces perspectives visent à enrichir la compréhension des effets du DMF dans le traitement du cancer colorectal et à ouvrir de nouvelles voies de recherche pour améliorer les options thérapeutiques disponibles.

7 Références

- Achary VM, Reddy CS, Pandey P, Islam T, Kaul T, Reddy MK. Glutathione reductase a unique enzyme: molecular cloning, expression and biochemical characterization from the stress adapted C4 plant, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. *Mol Biol Rep.* 2015;42(5):947-962. doi:10.1007/s11033-014-3832-z
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984 ;105:121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Alrawi SJ, Schiff M, Carroll RE, et al. Aberrant crypt foci. *Anticancer Res.* 2006;26(1A):107-119.
- Ammirante M, Shalapour S, Kang Y, Jamieson CA, Karin M. Tissue injury and hypoxia promote malignant progression of prostate cancer by inducing CXCL13 expression in tumor myofibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(41):14776-14781. doi:10.1073/pnas.1416498111
- Arranz A, Doxaki C, Vergadi E, et al. Akt1 and Akt2 protein kinases differentially contribute to macrophage polarization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(24):9517-9522. doi:10.1073/pnas.1119038109
- Arthur JC, Jobin C. The struggle within: microbial influences on colorectal cancer. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:396-409
- Babu SSN, Singla S, Jena G. Role of Combination Treatment of Aspirin and Zinc in DMH-DSS-induced Colon Inflammation, Oxidative Stress and Tumour Progression in Male BALB/c Mice. *Biol Trace Elem Res.* 2023;201(3):1327-1343. doi:10.1007/s12011-022-03241-3
- Bain CC, Mowat AM. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *Immunol Rev.* 2014;260(1):102-117. doi:10.1111/imr.12192
- Baker AM, Cross W, Curtius K, et al. Evolutionary history of human colitis-associated colorectal cancer. *Gut* 2019;68:98
- Baker KT, Salk JJ, Brentnall TA, Risques RA. Precancer in ulcerative colitis: the role of the field effect and its clinical implications. *Carcinogenesis.* 2018;39(1):11-20. doi:10.1093/carcin/bgx117
- Bansal A, Simon MC. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance. *J Cell Biol.* 2018;217(7):2291-2298. doi:10.1083/jcb.201804161
- Bardelčíková A, Šoltys J, Mojžiš J. Oxidative Stress, Inflammation and Colorectal Cancer: An Overview. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(4):901. Published 2023 Apr 9. doi:10.3390/antiox12040901
- Bardelčíková A, Šoltys J, Mojžiš J. Oxidative Stress, Inflammation and Colorectal Cancer: An Overview. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(4):901. Published 2023 Apr 9. doi:10.3390/antiox12040901
- Bennett Saidu NE, Bretagne M, Mansuet AL, et al. Dimethyl fumarate is highly cytotoxic in KRAS mutated cancer cells but spares non-tumorigenic cells. *Oncotarget.* 2018;9(10):9088-9099. Published 2018 Jan 10. doi:10.18632/oncotarget.24144
- Bird RP, Good CK. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Toxicol Lett.* 2000;112-113:395-402. doi:10.1016/s0378-4274(99)00261-1
- Bird RP. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett.* 1987;37(2):147-151. doi:10.1016/0304-3835(87)90157-1
- Black, D. D. (2014). Structure, Functional Assessment, and Blood Flow of the Liver. In *The Gastrointestinal System* (pp. 237-269). Springer.

https://doi.org/10.1007/978-94-017-8771-0_10

Bollrath J, Pheesse TJ, von Burstin VA, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2009;15(2):91-102. doi:10.1016/j.ccr.2009.01.002

Bomprezzi R. Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: an overview. *Ther Adv Neurol Disord*. 2015;8(1):20-30. doi:10.1177/1756285614564152

Bounaama A, Djerdjouri B, Laroche-Clary A, Le Morvan V, Robert J. Short curcumin treatment modulates oxidative stress, arginase activity, aberrant crypt foci, and TGF- β 1 and HES-1 transcripts in 1,2-dimethylhydrazine-colon carcinogenesis in mice. *Toxicology*. 2012;302(2-3):308-317. doi:10.1016/j.tox.2012.08.014

Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*. 2018;369(25):2455-2465. doi:10.1056/NEJMoa1403204.

Brennan MS, Matos MF, Li B, et al. Dimethyl fumarate and monoethyl fumarate exhibit differential effects on KEAP1, NRF2 activation, and glutathione depletion in vitro. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120254. Published 2015 Mar 20. doi:10.1371/journal.pone.0120254

Brenner DR, Scherer D, Muir K, Schildkraut J, Boffetta P, Spitz MR, et al. A review of the application of inflammatory biomarkers in epidemiologic cancer research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(9):1729-51.

Bresciani G, Manai F, Davinelli S, Tucci P, Saso L, Amadio M. Novel potential pharmacological applications of dimethyl fumarate-an overview and update. *Front Pharmacol*. 2023;14:1264842. Published 2023 Sep 7. doi:10.3389/fphar.2023.1264842

Canavan C, Abrams KR, Mayberry J. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23(8):1097-1104. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02854.x

Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2015;149(5):1177-1190.e3. doi:10.1053/j.gastro.2015.06.047

Casili G, Cordaro M, Impellizzeri D, et al. Dimethyl Fumarate Reduces Inflammatory Responses in Experimental Colitis. *J Crohns Colitis*. 2016;10(4):472-483. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv231

CH, Rutter MD, Askari A, et al. Forty-year analysis of colonoscopic surveillance program for neoplasia in ulcerative colitis: an updated overview. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(7):1022-1034. doi:10.1038/ajg.2015.213

Chami B, Martin NJJ, Dennis JM, Witting PK. Myeloperoxidase in the inflamed colon: A novel target for treating inflammatory bowel disease. *Arch Biochem Biophys*. 2018;645:61-71. doi:10.1016/j.abb.2018.03.012

Che M, Wang R, Li X, Wang HY, Zheng XFS. Expanding roles of superoxide dismutases in cell regulation and cancer. *Drug Discov Today*. 2016;21(1):143-149. doi:10.1016/j.drudis.2015.10.001

Chen H, Assmann JC, Krenz A, Rahman M, Grimm M, Karsten CM, Kohl J, Offermanns S, Wettschureck N, Schwaninger M (2014) Hydroxycarboxylic acid receptor 2 mediates dimethyl fumarate's protective effect in EAE. *J Clin Invest* 124:2188–2192

Chen K, Wu S, Ye S, et al. Dimethyl Fumarate Induces Metabolic Crisis to Suppress Pancreatic Carcinoma. *Front Pharmacol*. 2021;12:617714. Published 2021 Feb 22. doi:10.3389/fphar.2021.617714

Cheng L, Lai MD. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2003;9(12):2642-2649. doi:10.3748/wjg.v9.i12.2642

Čipak Gašparović A, Milić M, Kovačević M, et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of colorectal cancer: a review. *Front Pharmacol.* 2021;12:991881. doi:10.3389/fphar.2022.991881.

Clough JN, Omer OS, Tasker S, et al. Regulatory T-cell therapy in Crohn's disease: challenges and advances. *Gut.* 2020;69(5):942–52.

Corazza M, Odorici G, Conti A, et al. Dimethyl fumarate treatment for psoriasis in a real-life setting: A multicentric retrospective study. *Dermatol Ther.* 2021;34(5):e15066. doi:10.1111/dth.15066

Corraliza IM, Soler G, Eichmann K, Modolell M. Arginase induction by suppressors of nitric oxide synthesis (IL-4, IL-10 and PGE2) in murine bone-marrow-derived macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;206(2):667-673. doi:10.1006/bbrc.1995.1094

Dan, W. Y., Zhou, G. Z., Peng, L. H., & Pan, F. (2023). Update and latest advances in mechanisms and management of colitis-associated colorectal cancer. *World journal of gastrointestinal oncology*, 15(8), 1317–1331. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v15.i8.1317>

Danne C, Skerniskyte J, Marteyn B, Sokol H. Neutrophils: from IBD to the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2024;21(3):184-197. doi:10.1038/s41575-023-00871-3

Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1245049. doi:10.1155/2016/1245049

Dou G, Tian R, Liu X, Yuan P, Ye Q, Liu J, et al. Chimeric apoptotic bodies

functionalized with natural membrane and modular delivery system for inflammation modulation. *Sci Adv* (2020) 6:eaba2987. doi: 10.1126/sciadv.aba2987

Dyson JK, Rutter MD. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: what is the real magnitude of the risk? *World J Gastroenterol.* 2012 Aug 7;18(29):3839-48. doi: 10.3748/wjg.v18.i29.3839. PMID: 22876036; PMCID: PMC3413056.

Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut.* 2001;48(4):526-535. doi: 10.1136/gut.48.4.526

Eaden, J.A.; Abrams, K.R.; Mayberry, J.F. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: A meta-analysis. *Gut* 2001, 48, 526–535.

F Z, Li S, Cao Y, et al. Oxidative Stress and Carbonyl Lesions in Ulcerative Colitis and Associated Colorectal Cancer. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:9875298. doi:10.1155/2016/9875298

Fantini, M. C., & Guadagni, I. (2021). From inflammation to colitis-associated colorectal cancer in inflammatory bowel disease: Pathogenesis and impact of current therapies. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 53(5), 558–565. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2021.01.012>

Femia AP, Swidsinski A, Dolara P, Salvadori M, Amedei A, Caderni G. Mucin depleted foci, colonic preneoplastic lesions lacking Muc2, show up-regulation of Tlr2 but not bacterial infiltration. *PLoS One.* 2012;7(1):e29918. doi:10.1371/journal.pone.0029918

Forman HJ, Ursini F, Maiorino M. An overview of mechanisms of redox signaling. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;73:2-9. doi:10.1016/j.yjmcc.2014.01.018

Frick A, Khare V, Paul G, et al. Overt Increase of Oxidative Stress and DNA Damage in Murine and Human Colitis and Colitis-Associated Neoplasia. *Mol Cancer Res.* 2018;16(4):634-642. doi:10.1158/1541-7786.MCR-17-0451

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:97-112. doi:10.1146/annurev.bi.64.070195.000525

Fujiki Y, Bassik MC. A New Paradigm in Catalase Research. *Trends Cell Biol.* 2021;31(3):148-151. doi:10.1016/j.tcb.2020.12.006

Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, et al. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol.* 1996;157(3):1261-1270.

Fuss IJ, Strober W. The role of IL-13 and NK T cells in experimental and human ulcerative colitis. *Mucosal Immunol.* 2008;1 Suppl 1(0 1):S31-S33. doi:10.1038/mi.2008.40

Gordon M, Shapiro GI, Jänne PA, et al. Resistance mechanisms to targeted therapies in colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2019;9(6):746-764. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-1018.

Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010;140(6):883-899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025

Gu H, Li B, Xiang L, et al. Association between oxidative stress exposure and colorectal cancer risk in 98,395 participants: results from a prospective study. *Front Nutr.* 2023;10:1284066. Published 2023 Dec 15. doi:10.3389/fnut.2023.1284066

Guo Z, Kozlov S, Lavin MF, Person MD, Paull TT. ATM activation by oxidative

stress. *Science.* 2010;330(6003):517-521. doi:10.1126/science.1192912

Han R, Xiao J, Zhai H, Hao J. Dimethyl fumarate attenuates experimental autoimmune neuritis through the nuclear factor erythroid-derived 2-related factor 2/hemoxygenase-1 pathway by altering the balance of M1/M2 macrophages. *J Neuroinflammation.* 2016;13(1):97. Published 2016 May 3. doi:10.1186/s12974-016-0559-x

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; 100(1):57-70.

Hanahan, D. 2022. 'Hallmarks of Cancer: New Dimensions', *Cancer Discov*, 12: 31-46.

Harris IS, Treloar AE, Inoue S, et al. Glutathione and thioredoxin antioxidant pathways synergize to drive cancer initiation and progression [published correction appears in *Cancer Cell.* 2015 Feb 9;27(2):314]. *Cancer Cell.* 2015;27(2):211-222. doi:10.1016/j.ccell.2014.11.019

Hevia A, López P, Suárez A, et al. Association of levels of antibodies from patients with inflammatory bowel disease with extracellular proteins of food and probiotic bacteria. *Biomed Res Int.* 2014;2014:351204. doi:10.1155/2014/351204

Hoffmann JHO, Schaeckel K, Hartl D, Enk AH, Hadaschik EN (2018) Dimethyl fumarate modulates neutrophil extracellular trap formation in a glutathione- and superoxide-dependent manner. *Br J Dermatol* 178:207–214

Holmström KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(6):411-421. doi:10.1038/nrm3801

Horuluoglu BH, Kayraklioglu N, Tross D. et al. PAM3 protects against DSS-induced colitis by altering the M2:M1 ratio. *Sci Rep* 10, 6078 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63143-z>

Hou JK, El-Serag H, Thirumurthi S. Distribution and manifestations of inflammatory bowel disease in Asians, Hispanics, and African Americans: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(8):2100-2109. doi:10.1038/ajg.2009.190

Houée-Lévin C, Bobrowski K, Horakova L, et al. Exploring oxidative modifications of tyrosine: an update on mechanisms of formation, advances in analysis and biological consequences. *Free Radic Res*. 2015;49(4):347-373. doi:10.3109/10715762.2015.1007968

Houghton AM. The paradox of tumor-associated neutrophils: fueling tumor growth with cytotoxic substances. *Cell Cycle*. 2010;9(9):1732-1737. doi:10.4161/cc.9.9.11297

Howarth, K. S., Chatterjee, S., Gorr, W. A., & Pellatt, G. (2011). Meta-analysis of the incidence of colorectal cancer in ulcerative colitis: Updating the risk and relevance of disease location. *British Journal of Surgery*, 98(9), 1384-1390. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3192407/>

Huang YJ, Hung KC, Hung HS, Hsu SH. Modulation of macrophage phenotype by biodegradable polyurethane nanoparticles: Possible relation between macrophage polarization and immune response of nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces* (2018) 10:19436–48. doi:10.1021/acsami.8b04718

Hung HY, Chen JS, Chien-YuhYeh, et al. Preoperative alkaline phosphatase elevation was associated with poor survival in colorectal cancer patients. *Int J Colorectal Dis*. 2017;32(12):1775-1778. doi:10.1007/s00384-017-2907-4

Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res*. 2001;477(1-2):7-21. doi:10.1016/s0027-5107(01)00091-4

Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L. Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(6):639-645. doi:10.1016/j.cgh.2012.01.010

Jostins, L., Ripke, S., Barrett, R. J., Parkes, M., Satsangi, J., & Lathrop, M. (2012). Host-microbe interactions and genetic susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Cell*, 150(5), 803-810. <https://www.nature.com/articles/nature11582> (This article explores the link between genetics and the gut microbiome in IBD)

Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, et al. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gamma axis. *J Clin Invest*. 2008;118(6):2269-2280. doi:10.1172/JCI34610

Kameyama H, Nagahashi M, Shimada Y, et al. Genomic characterization of colitis-associated colorectal cancer. *World J Surg Oncol*. 2018;16(1):121. Published 2018 Jul 2. doi:10.1186/s12957-018-1428-0

Kang ZP, Wang MX, Wu TT, et al. Curcumin Alleviated Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis by Regulating M1/M2 Macrophage Polarization and TLRs Signaling Pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021;2021:3334994. Published 2021 Sep 16. doi:10.1155/2021/3334994

Kansal S, Vaiphei K, Agnihotri N. Alterations in lipid mediated signaling and Wnt/ β -catenin signaling in DMH induced colon cancer on supplementation of fish oil. *Biomed Res Int*. 2014;2014:832025. doi:10.1155/2014/832025

Kaplan, G. G. (2015). The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(12), 720-727

Kappelman, M. D., Ananthakrishnan, A. N., Kasinger, A., Liu, S., Spiegel, B. M., & Loftus, E. V. (2022). Long-term risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease: A meta-analysis of 270,000 patients. *Gastroenterology*, 162(2), 374-385.e10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8661426/>

Karlsson JOG, Jynge P. Manganese- and Platinum-Driven Oxidative and Nitrosative Stress in Oxaliplatin-Associated CIPN with Special Reference to Ca4Mn(DPDP)5, MnDPDP and DPDP. *Int J Mol Sci*. 2024;25(8):4347. Published 2024 Apr 15. doi:10.3390/ijms25084347

Kastrati I, Siklos MI, Calderon-Gierszal EL, et al. Dimethyl Fumarate Inhibits the Nuclear Factor κ B Pathway in Breast Cancer Cells by Covalent Modification of p65 Protein. *J Biol Chem*. 2016;291(7):3639-3647. doi:10.1074/jbc.M115.679704

Kawamori T, Lubet R, Steele VE, et al. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res*. 1999;59(3):597-601.

Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(12):713-32.

Kornberg MD, Bhargava P, Kim PM, et al. Dimethyl fumarate targets GAPDH and aerobic glycolysis to modulate immunity. *Science*. 2018;360(6387):449-453. doi:10.1126/science.aan4665

Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat

and hamster models. *Gastroenterology*. 1984;87(6):1344-1350.

Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Berdowska I, et al. Enhanced formation of advanced oxidation protein products in IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(6):794-802. doi:10.1002/ibd.20383

Kuai Y, Liu H, Liu D, et al. An ultralow dose of the NADPH oxidase inhibitor diphenyleneiodonium (DPI) is an economical and effective therapeutic agent for the treatment of colitis-associated colorectal cancer. *Theranostics*. 2020;10(15):6743-6757. Published 2020 May 20. doi:10.7150/thno.43938

Kühl AA, Kakirman H, Janotta M, et al. Aggravation of different types of experimental colitis by depletion or adhesion blockade of neutrophils. *Gastroenterology*. 2007;133(6):1882-1892. doi:10.1053/j.gastro.2007.08.073

Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. Colorectal cancer. *Nature reviews Disease primers*. 2015;1:15065

Kvorjak M, Ahmed Y, Miller ML, et al. Cross-talk between Colon Cells and Macrophages Increases ST6GALNAC1 and MUC1-sTn Expression in Ulcerative Colitis and Colitis-Associated Colon Cancer. *Cancer Immunol Res*. 2020;8(2):167-178. doi:10.1158/2326-6066.CIR-19-051Choi

Lakatos, P. L. (2017). Surveillance for colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(1), 18-28.e2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5212042/>

Lawrance IC, Fiocchi C, Chakravarti S. Ulcerative colitis and Crohn's disease: distinctive gene expression profiles and novel susceptibility candidate genes. *Hum Mol Genet* 2001,10(5):445-456.

Lees, C. W., 駮, Barrett, J. C., Parkes, M., Satsangi, J., & Uhlig, H. H. (2019). NCF4

variants and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Nature Genetics*, 51(1), 189-194.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11012229/>

Liu L, Wu Y, Wang B, et al. DA-DRD5 signaling controls colitis by regulating colonic M1/M2 macrophage polarization. *Cell Death Dis.* 2021;12(6):500. Published 2021 May 17. doi:10.1038/s41419-021-03778-6

Liu T, Han L, Tilley M, et al. Distinct clinical phenotypes for Crohn's disease derived from patient surveys. *BMC Gastroenterol.* 2021;21(1):160. Published 2021 Apr 9. doi:10.1186/s12876-021-01740-6

Loewe R, Holnthoner W, Gröger M, et al. Dimethylfumarate inhibits TNF-induced nuclear entry of NF-kappa B/p65 in human endothelial cells. *J Immunol.* 2002;168(9):4781-4787. doi:10.4049/jimmunol.168.9.4781

Long AG, Lundsmith ET, Hamilton KE. Inflammation and Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2017;13(4):341-351. doi:10.1007/s11888-017-0373-6

Lou A, Wang L, Lai W, et al. Advanced oxidation protein products induce inflammatory responses and invasive behaviour in fibroblast-like synoviocytes via the RAGE-NF-κB pathway. *Bone Joint Res.* 2021;10(4):259-268. doi:10.1302/2046-3758.104.BJR-2020-0085.R2

Lowe JM, Menendez D, Bushel PR, et al. p53 and NF-κB coregulate proinflammatory gene responses in human macrophages. *Cancer Res.* 2014;74(8):2182-2192. doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-1070

Lu C, Schardey J, Zhang T, Crispin A, Wirth U, Karcz KW, Bazhin AV, Andrassy J, Werner J, Kühn F. Survival Outcomes and Clinicopathological Features in Inflammatory Bowel Disease-associated Colorectal Cancer: A Systematic Review

and Meta-analysis. *Ann Surg.* 2022;276:e319–e330. [PubMed] [Google Scholar]

Lu L, Liu YJ, Cheng PQ, Hu D, Xu HC, Ji G. Macrophages play a role in inflammatory transformation of colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2021;13(12):2013-2028. doi:10.4251/wjgo.v13.i12.2013

Luo C, Zhang H. The Role of Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Colitis-Associated Colorectal Cancer. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:5126048. doi:10.1155/2017/5126048

Malara G, Fabbrocini G, Trifirò C, Burlando M. Dimethyl fumarate titration for the systemic treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis. *Drugs Context.* 2021;10:2020-12-4. Published 2021 May 31. doi:10.7573/dic.2020-12-4

Mark-Christensen A, Laurberg S, Haboubi N. Dysplasia in Inflammatory Bowel Disease: Historical Review, Critical Histopathological Analysis, and Clinical Implications. *Inflamm Bowel Dis.* 2018 Aug 16;24(9):1895-1903. doi:10.1093/ibd/izy075. PMID: 29668897.

Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1974;47(3):469-474. doi:10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x

Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:6501046. doi:10.1155/2017/6501046

Maryńczak K, Włodarczyk J, Sabatowska Z, Dziki A, Dziki Ł, Włodarczyk M. Colitis-Associated Colorectal Cancer in Patients with Inflammatory Bowel Diseases in a Tertiary Referral Center: A Propensity Score

Matching Analysis. *J Clin Med.* 2022;11(3):866. Published 2022 Feb 7. doi:10.3390/jcm11030866

Matrella E, Valatas V, Notas G, et al. Bolus somatostatin but not octreotide reduces hepatic sinusoidal pressure by a NO-independent mechanism in chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001;15(6):857-864. doi:10.1046/j.1365-2036.2001.00996.x

Matsumoto T, Hoshino Y, Nishida T. The role of B cells in the development of colorectal cancer. *Front Immunol.* 2021;12:675123. doi:10.3389/fimmu.2021.675123

Matsushima S, Kuroda J, Ago T, et al. Increased oxidative stress in the nucleus caused by Nox4 mediates oxidation of HDAC4 and cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2013;112(4):651-663. doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.279760

McDowell, C., Farooq, U., & Haseeb, M. (2023). *Inflammatory Bowel Disease*. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Meira LB, Bugni JM, Green SL, et al. DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice. *J Clin Invest.* 2008;118(7):2516-2525. doi:10.1172/JCI35073

Melichar B, Hu W, Patenia R, Melicharová K, Gallardo ST, Freedman R. rIFN-gamma-mediated growth suppression of platinum-sensitive and -resistant ovarian tumor cell lines not dependent upon arginase inhibition. *J Transl Med.* 2003;1(1):5. Published 2003 Sep 19. doi:10.1186/1479-5876-1-5

Melo, R. C. N., Raas, M. W. D., Palazzi, C., Neves, V. H., Malta, K. K., & Silva, T. P. (2019). Whole Slide Imaging and Its Applications to Histopathological Studies of Liver Disorders. *Frontiers in Medicine*, 6, 310. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00310>

Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, et al. Mechanisms of Cisplatin, Carboplatin, and Oxaliplatin-Induced Neurotoxicity.

Neurotoxicology. 2020;78:20-29. doi:10.1016/j.neuro.2020.06.001.

Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001;5(1):62-71. doi:10.1006/niox.2000.0319

Müller S, Behnen M, Bieber K, et al. Dimethylfumarate Impairs Neutrophil Functions. *J Invest Dermatol.* 2016;136(1):117-126. doi:10.1038/JID.2015.361

Mundade R, Imperiale TF, Prabhu L, Loehrer PJ, Lu T. Genetic pathways, prevention, and treatment of sporadic colorectal cancer. *Oncoscience.* 2014;1(6):400-

Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J.* 2009;417(1):1-13. doi:10.1042/BJ20081386

Na YR, Stakenborg M, Seok SH, Matteoli G. Macrophages in intestinal inflammation and resolution: a potential therapeutic target in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(9):531-543. doi:10.1038/s41575-019-0172-4

Nagao-Kitamoto H, Kitamoto S, Kamada N. Inflammatory bowel disease and carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 2022;41(2):301-316. doi:10.1007/s10555-022-10028-4

Nardone, O. M., Zammarchi, I., Santacroce, G., Ghosh, S., & Iacucci, M. (2023). Inflammation-Driven Colorectal Cancer Associated with Colitis: From Pathogenesis to Changing Therapy. *Cancers*, 15(8), 2389. <https://doi.org/10.3390/cancers15082389>

Nathan C. Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling. *J Clin Invest.* 2003;111(6):769-778. doi:10.1172/JCI18174

Neufert C, Becker C, Neurath MF. An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression. *Nat Protoc.* 2007;2(8):1998-2004. doi:10.1038/nprot.2007.279

Nio K, Higashi D, Kumagai H, et al. Efficacy and safety analysis of chemotherapy for advanced colitis-associated colorectal cancer in Japan. *Anticancer Drugs.* 2016;27(5):457-463. doi:10.1097/CAD.0000000000000338

Ogino T, Nishimura J, Barman S, et al. Increased Th17-inducing activity of CD14+ CD163 low myeloid cells in intestinal lamina propria of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2013;145(6):1380-91.e1. doi:10.1053/j.gastro.2013.08.049

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-358. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3

Olén O, Erichsen R, Sachs MC, Pedersen L, Halfvarson J, Askling J, Ekblom A, Sørensen HT, Ludvigsson JF. Colorectal cancer in ulcerative colitis: a Scandinavian population-based cohort study. *Lancet.* 2020;395:123–131. [PubMed] [Google Scholar]

Owusu-Ansah E, Yavari A, Mandal S, Banerjee U. Distinct mitochondrial retrograde signals control the G1-S cell cycle checkpoint. *Nat Genet.* 2008;40(3):356-361. doi:10.1038/ng.2007.50

Pan PY, Ma G, Weber KJ, et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Can Res.* 2010;70(1):99–108.

Pere, M., & Cerar, A. (2014). The Role, Significance and Applicability of Aberrant Crypt Foci in Clinical Practice. *InTech.* doi:10.5772/57474

Pham CT. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(7):541-550. doi:10.1038/nri1841

Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2014;387(7):605-620. doi:10.1007/s00210-014-0985-1

Podolsky, D.K., Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med,* 2002. 347(6): p. 417-29

Rosenberg JH, Heller T, Kahn SA. B cell responses and autoantibodies in inflammatory bowel disease: Implications for colorectal cancer. *J Crohns Colitis.* 2020;14(4):500-511. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz206

Rostami-Yazdi M, Clement B, Mrowietz U. Pharmacokinetics of anti-psoriatic fumaric acid esters in psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 2010 Sep;302(7):531-8. doi:10.1007/s00403-010-1061-4. Epub 2010 Jun 24. PMID: 20574745.

Rozelle AL, Cheun Y, Vilas CK, Koag MC, Lee S. DNA interstrand cross-links induced by the major oxidative adenine lesion 7,8-dihydro-8-oxoadenine. *Nat Commun.* 2021;12(1):1897. Published 2021 Mar 26. doi:10.1038/s41467-021-22273-2

Rubin DT, Huo D, Kinnucan JA, et al. Inflammation is an independent risk factor for colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis: a case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(12):1601-8.e84. doi:10.1016/j.cgh.2013.06.023

Russo E, Boem F, Curini L, Amedei A. Gastrointestinal cancers: what is the real board of microenvironment and the role of microbiota-immunity axis? *Interdiscip Cancer Res Springer* (2022) 1–27. doi:10.1007/16833_2022_6

Saez A, Herrero-Fernandez B, Gomez-Bris R, Sánchez-Martinez H, Gonzalez-Granado

JM. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Innate Immune System. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1526. Published 2023 Jan 12. doi:10.3390/ijms24021526

Saidu NE, Noé G, Cerles O, et al. Dimethyl Fumarate Controls the NRF2/DJ-1 Axis in Cancer Cells: Therapeutic Applications. *Mol Cancer Ther.* 2017;16(3):529-539. doi:10.1158/1535-7163.MCT-16-0405

Saidu NEB, Kavian N, Leroy K, et al. Dimethyl fumarate, a two-edged drug: Current status and future directions. *Med Res Rev.* 2019;39(5):1923-1952. doi:10.1002/med.21567

Samadder NJ, Valentine JF, Guthery S, et al. Family History Associates With Increased Risk of Colorectal Cancer in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(9):1807-1813.e1. doi:10.1016/j.cgh.2018.09.038

Santos, M. P. C., Gomes, C., & Torres, J. (2018). Familial and ethnic risk in inflammatory bowel disease. *Annals of gastroenterology*, 31(1), 14–23. <https://doi.org/10.20524/aog.2017.0208>

Satoh T, Lipton S. Recent advances in understanding NRF2 as a druggable target: development of pro-electrophilic and non-covalent NRF2 activators to overcome systemic side effects of electrophilic drugs like dimethyl fumarate. *F1000Res.* 2017;6:2138. Published 2017 Dec 14. doi:10.12688/f1000research.12111.1

Scarpa M, Brun P, Scarpa M, et al. CD80-CD28 signaling controls the progression of inflammatory colorectal carcinogenesis. *Oncotarget.* 2015;6(24):20058-20069. doi:10.18632/oncotarget.2780

Schäfer M, Werner S. Cancer as an overhealing wound: an old hypothesis revisited. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(8):628-638. doi:10.1038/nrm2455

Schmitt M, Greten FR. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. *Nat Rev Immunol.* 2021;21(10):653-667. doi:10.1038/s41577-021-00534-x

Setia S, Nehru B, Sanyal SN. Upregulation of MAPK/Erk and PI3K/Akt pathways in ulcerative colitis-associated colon cancer. *Biomed Pharmacother.* 2014;68(8):1023-1029. doi:10.1016/j.biopha.2014.09.006

Shaked H, Hofseth LJ, Chumanevich A, et al. Chronic epithelial NF-κB activation accelerates APC loss and intestinal tumor initiation through iNOS up-regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(35):14007-14012. doi:10.1073/pnas.1211509109

Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015;4:180-183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002

Sievers CK, Grady WM, Halberg RB, Pickhardt PJ. New insights into the earliest stages of colorectal tumorigenesis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;11(8):723–9.

Sinenko SA, Starkova TY, Kuzmin AA, Tomilin AN. Physiological Signaling Functions of Reactive Oxygen Species in Stem Cells: From Flies to Man. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:714370. Published 2021 Aug 6. doi:10.3389/fcell.2021.714370

Snider AJ, Bialkowska AB, Ghaleb AM, Yang VW, Obeid LM, Hannun YA. Murine Model for Colitis-Associated Cancer of the Colon. *Methods Mol Biol.* 2016;1438:245-254. doi:10.1007/978-1-4939-3661-8_14

Swain IX, Kresak AM. Proteins Involved in Focal Cell Adhesion and Podosome Formation Are Differentially Expressed during Colorectal Tumorigenesis in AOM-Treated Rats. *Cancers.* 2024; 16(9):1678. <https://doi.org/10.3390/cancers16091678>

Tanaka T, Sugie S. Inhibition of colon carcinogenesis by dietary non-nutritive

compounds. *J Toxicol Pathol.* 2007;20(4):215-235. doi:10.1293/tox.20.215

Therrien A., Chapuy L., Bsai M., Rubio M., Bernard G., Arslanian E., Orlicka K., Weber A., Panzini B., Dorais J., et al. Recruitment of activated neutrophils correlates with disease severity in adult Crohn's disease. *Clin. Exp. Immunol.* 2019;195:251–264. doi: 10.1111/cei.13226

Timpani CA, Kourakis S, Debruin DA, et al. Dimethyl fumarate modulates the dystrophic disease program following short-term treatment. *JCI Insight.* 2023;8(21):e165974. Published 2023 Nov 8. doi:10.1172/jci.insight.165974

Tontini, G. E., Vecchi, M., Pastorelli, L., Neurath, M. F., & Neumann, H. (2015). Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: state of the art and future perspectives. *World journal of gastroenterology*, 21(1), 21–46.

Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFOX4 versus FOLFIRI in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol.* 2004;22(2):229-237. doi:10.1200/JCO.2004.06.160.

Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* 2003;57(3-4):145-155. doi:10.1016/s0753-3322(03)00043-x

Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res.* 2009;29(7):2727-2737.

Uronis JM, Muhlbauer M, Herfarth HH, et al. Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. *PLoS ONE* 2009;4:e6026.

Ursini T, Desideri G, Bertini R, et al. The role of glutathione in the prevention of

oxidative stress-induced cell damage. *Free Radic Biol Med.* 1995;18(4):779-786. doi:10.1016/0891-5849(94)00209-3.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40. doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009

Vaish S, Gupta D, Mehrotra R, Mehrotra S, Basantani MK. Glutathione S-transferase: a versatile protein family. *3 Biotech.* 2020;10(7):321. doi:10.1007/s13205-020-02312-3

Viennois E, Chen F, Merlin D. NF- κ B pathway in colitis-associated cancers. *Transl Gastrointest Cancer.* 2013;2(1):21-29. doi:10.3978/j.issn.2224-4778.2012.11.01

Waldner MJ, Neurath MF. Colitis-associated cancer: the role of T cells in tumor development. *Semin Immunopathol.* 2009;31(2):249-256. doi:10.1007/s00281-009-0161-8

Waldner MJ, Neurath MF. Mechanisms of Immune Signaling in Colitis-Associated Cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2014;1(1):6-16. Published 2014 Dec 12. doi:10.1016/j.jcmgh.2014.11.006

Waldner MJ, Neurath MF. Mechanisms of Immune Signaling in Colitis-Associated Cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2014;1(1):6-16. Published 2014 Dec 12. doi:10.1016/j.jcmgh.2014.11.006

Wan Q, Zhao R, Xia L, et al. Inflammatory bowel disease and risk of gastric, small bowel and colorectal cancer: a meta-analysis of 26 observational studies. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2021;147(4):1077-1087. doi:10.1007/s00432-020-03496-0

Wang B, Wang L, Shang R, Xie L. MDSC suppresses T cell antitumor immunity in CAC via GPNMB in a MyD88-dependent manner. *Cancer Med.* Published online December 22, 2023. doi:10.1002/cam4.6887

Wang J, Ding K, Wang Y, et al. Wumei Pill Ameliorates AOM/DSS-Induced Colitis-Associated Colon Cancer through Inhibition of Inflammation and Oxidative Stress by Regulating S-Adenosylhomocysteine Hydrolase-(AHCY-) Mediated Hedgehog Signaling in Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4061713. Published 2022 Jul 26. doi:10.1155/2022/4061713

Wang SQ, Cui SX, Qu XJ. Metformin inhibited colitis and colitis-associated cancer (CAC) through protecting mitochondrial structures of colorectal epithelial cells in mice. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(3):338-348. doi:10.1080/15384047.2018.1529108

Wang SQ, Yang XY, Cui SX, Gao ZH, Qu XJ. Heterozygous knockout insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) regulates mitochondrial functions and prevents colitis and colorectal cancer. *Free Radic Biol Med*. 2019;134:87-98. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.035

Waris, G., & Ahsan, H. (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of carcinogenesis*, 5, 14. <https://doi.org/10.1186/1477-3163-5-14>

Warsingih, Irawan B, Labeda I, et al. Association of superoxide dismutase enzyme with staging and grade of differentiation colorectal cancer: A cross-sectional study. *Ann Med Surg (Lond)*. 2020;58:194-199. Published 2020 Sep 2. doi:10.1016/j.amsu.2020.08.032

Weisser SB, Brugger HK, Voglmaier NS, McLarren KW, van Rooijen N, Sly LM. SHIP-deficient, alternatively activated macrophages protect mice during DSS-induced colitis. *J Leukoc Biol*. 2011;90(3):483-492. doi:10.1189/jlb.0311124

Wéra O, Lancellotti P, Oury C. The Dual Role of Neutrophils in Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Med*. 2016;5(12):118.

Published 2016 Dec 17. doi:10.3390/jcm5120118

Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*. 1996;49(5):1304-1313. doi:10.1038/ki.1996.186

World Cancer Research Fund. Diet, Nutrition, Physical Activity and Colorectal Cancer. Continuous Update Project Report. 2018. Available from: <https://www.wcrf.org/wp-content/uploads/2021/02/Colorectal-Cancer-Report-2018-1.pdf>.

World Health Organization. (2020). Colorectal cancer [Fact sheet]. Retrieved from <https://www.iarc.who.int/cancer-type/colorectal-cancer/>

Wu F, Dassopoulos T, Cope L, Maitra A, et al. Genome-wide gene expression differences in Crohn's disease and ulcerative colitis from endoscopic pinch biopsies: insights into distinctive pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(7):807-821.

Wu F, Dassopoulos T, Cope L, Maitra A, et al. Genome-wide gene expression differences in Crohn's disease and ulcerative colitis from endoscopic pinch biopsies: insights into distinctive pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(7):807-821.

Wu Q, Wang Q, Mao G, Dowling CA, Lundy SK, Mao-Draayer Y. Dimethyl Fumarate Selectively Reduces Memory T Cells and Shifts the Balance between Th1/Th17 and Th2 in Multiple Sclerosis Patients. *J Immunol*. 2017;198(8):3069-3080. doi:10.4049/jimmunol.1601532

Xavier, R.J. and D.K. Podolsky, Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel

Xie X, Zhao Y, Ma CY, et al. Dimethyl fumarate induces necroptosis in colon cancer cells through GSH depletion/ROS

increase/MAPKs activation pathway. *Br J Pharmacol.* 2015;172(15):3929-3943. doi:10.1111/bph.13184

Xu Q, Choksi S, Qu J, et al. NADPH Oxidases Are Essential for Macrophage Differentiation. *J Biol Chem.* 2016;291(38):20030-20041. doi:10.1074/jbc.M116.731216

Yamagishi, H., Kuroda, H., Imai, Y., & Hiraishi, H. (2016). Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. *Chinese journal of cancer*, 35, 4. <https://doi.org/10.1186/s40880-015-0066-y>

Yang, C., & Merlin, D. (2024). Unveiling Colitis: A Journey through the Dextran Sodium Sulfate-induced Model. *Inflammatory Bowel Diseases*, 30(5), 844-853. <https://doi.org/10.1093/ibd/izad312>

Yu MR, Kim HJ, Park HR. *Fusobacterium nucleatum* accelerates the progression of colitis-associated colorectal cancer by promoting EMT. *Cancers (Basel)* 2020;12.

Yuan JH, Li YQ, Yang XY. Protective effects of epigallocatechin gallate on colon preneoplastic lesions induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in mice. *Mol Med.* 2008;14(9-10):590-598. doi:10.2119/2007-00050.Yuan

Zhang M, Li X, Zhang Q, Yang J, Liu G. Roles of macrophages on ulcerative colitis and colitis-associated colorectal cancer. *Front Immunol.* 2023;14:1103617. Published 2023 Mar 16. doi:10.3389/fimmu.2023.1103617

Zhao, M.; Gönczi, L.; Lakatos, P.L.; Burisch, J. The Burden of Inflammatory

Bowel Disease in Europe in 2020. *J. Crohn's Colitis*

Zheng W, Wu J, Peng Y, Sun J, Cheng P, Huang Q. Tumor-Associated Neutrophils in Colorectal Cancer Development, Progression and Immunotherapy. *Cancers (Basel).* 2022;14(19):4755. Published 2022 Sep 29. doi:10.3390/cancers14194755

Zhou G, Peng K, Song Y, et al. CD177+ neutrophils suppress epithelial cell tumourigenesis in colitis-associated cancer and predict good prognosis in colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 2018;39(2):272-282. doi:10.1093/carcin/bgx142

Abstract

Colitis-associated cancer (CAC) is an aggressive subtype of colorectal cancer that can develop in ulcerative colitis patients and is driven by chronic inflammation and oxidative stress. Current chemotherapy for CAC, based on 5-fluorouracil and oxaliplatin, is not fully effective and displays severe side effects, prompting the search for alternative therapies. Dimethylfumarate (DMF), an activator of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2), is a potent antioxidant and immunomodulatory drug used in the treatment of multiple sclerosis and showed a strong anti-inflammatory effect on experimental colitis. Here, we investigated the chemotherapeutic effect of DMF on an experimental model of CAC. Male NMRI mice were given two subcutaneous injections of 1,2 Dimethylhydrazine (DMH), followed by three cycles of dextran sulfate sodium (DSS). Low-dose (DMF30) and high-dose of DMF (DMF100) or oxaliplatin (OXA) were administered from the 8th to 12th week of the experiment, and then the colon tissues were analysed histologically and biochemically. DMH/DSS induced dysplastic aberrant crypt foci (ACF), oxidative stress, and severe colonic inflammation, with a predominance of pro-inflammatory M1 macrophages. As OXA, DMF30 reduced ACF multiplicity and crypt dysplasia, but further restored redox status, and reduced colitis severity by shifting macrophages towards the anti-inflammatory M2 phenotype. Surprisingly, DMF100 exacerbated ACF multiplicity, oxidative stress, and colon inflammation, likely through NRF2 and p53 overexpression in colonic inflammatory cells. DMF had a dual effect on CAC. At low dose, DMF is chemotherapeutic and acts as an antioxidant and immunomodulator, whereas at high dose, DMF is pro-oxidant and exacerbates colitis-associated cancer.

Keywords : Colitis-associated cancer, Dimethylfumarate, Macrophage polarization, Oxidative stress, NRF2, p53

المخلص

سرطان القولون المرتبط بالتهاب القولون (CAC) هو نوع عدواني من سرطان القولون يمكن أن يتطور لدى المرضى المصابين بالتهاب القولون التقرحي، ويكون مدفوعاً بالتهاب مزمن وإجهاد أكسيدي. العلاج الكيميائي الحالي لـ CAC، المعتمد على 5-فلورويوراسيل وأوكسالبيلاتين، ليس فعالاً بالكامل ويظهر آثاراً جانبية شديدة، مما يستدعي البحث عن علاجات بديلة.

ثنائي ميثيل الفورمات (DMF)، وهو منشط لعامل النسخ النووي المرتبط بالعامل 2 (NRF2)، هو دواء قوي مضاد للأكسدة ومعدل للمناعة يُستخدم في علاج التصلب المتعدد وأظهر تأثيراً قوياً مضاداً للالتهابات في التهاب القولون التجريبي. في هذه الدراسة، تم التحقيق في تأثير ثنائي ميثيل الفورمات الكيميائي على نموذج تجريبي لسرطان القولون المرتبط بالتهاب القولون. تم إعطاء ذكور الفئران حقتين تحت الجلد من 1، 2 ثنائي ميثيل هيدرازين (DMH)، تلاها ثلاث دورات من صوديوم دكستران سلفات (DSS). تم إعطاء جرعات منخفضة وجرعات عالية أو أوكسالبيلاتين من الأسبوع الثامن إلى الأسبوع الثاني عشر من التجربة، ثم تم تحليل أنسجة القولون.

أدى DMH/DSS إلى ظهور بؤر كريببت شاذة، وإجهاد أكسيدي، والتهاب قولوني شديد، مع هيمنة الخلايا البلعمية M1 المسببة للالتهاب. مثل أوكسالبيلاتين، قلل DMF30 من تكرار بؤر كريببت شاذة وخلل الكريببت، لكنه استعاد حالة الأكسدة، وقلل من شدة التهاب القولون عن طريق تحويل الخلايا البلعمية نحو النمط المضاد للالتهاب M2 بشكل مفاجئ، زاد ثنائي ميثيل الفورمات DMF100 من تكرار بؤر كريببت شاذة، وإجهاد الأكسدة، والتهاب القولون، على الأرجح من خلال زيادة تعبير NRF2 و P53 في خلايا الالتهاب القولوني. كان لثنائي ميثيل الفورمات تأثير مزدوج على سرطان القولون المرتبط بالتهاب القولون. عند الجرعة المنخفضة، يعمل ثنائي ميثيل الفورمات كعلاج كيميائي ويعمل كمضاد للأكسدة ومعدل للمناعة، بينما عند الجرعة العالية، يكون ثنائي ميثيل الفورمات مؤكسداً ويزيد من شدة CAC.

الكلمات الرئيسية: السرطان المرتبط بالتهاب القولون، ثنائي ميثيل فورمات، استقطاب الخلايا البلعمية، الإجهاد التأكسدي، عامل النسخ النووي المرتبط بالعامل، NRF2، p53