

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Filière : Biologie  
Option : Biochimie Physiopathologique



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Effet protecteur de l'acide tannique et  
de la salazopyrine sur la rectocolite  
induite chez les souris albinos**

Présenté par :  
YALAOUI Nafissa Chahinez  
ZAIDI linda

Soutenues le : **24 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M<sup>R</sup>. HAMOUM M  
M<sup>me</sup>. ATMANI D  
M<sup>me</sup>. MAHDID A

MAA  
MCA  
MAA

Président  
Promoteur  
Examineur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Filière : Biologie  
Option : Biochimie Physiopathologique



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Effet protecteur de l'acide tannique et  
de la salazopyrine sur la rectocolite  
induite chez les souris albinos**

Présenté par :  
YALAOUI Nafissa Chahinez  
ZAIDI linda

Soutenues le : **24 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M<sup>R</sup>. HAMOUM M  
M<sup>me</sup>. ATMANI D  
M<sup>me</sup>. MAHDID A

MAA  
MCA  
MAA

Président  
Promoteur  
Examineur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## *Remerciements*

On remercie tout d'abord Dieu le tout puissant pour nous avoir donnés le force, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice **M<sup>me</sup> ATMANI D**, pour sa gentillesse et sa spontanéité avec lesquelles elle a dirigé ce travail. Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous sa direction. Nous avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute notre admiration.

Veillez, chère madame, trouvé dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération, de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

On tient à remercier sincèrement **M<sup>me</sup> BENLOUKIL M**, pour son aide précieuse, ses conseils et sa gentillesse. Qu'elle trouve dans le présent l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidées pour le bon déroulement de notre travail.

Nous tenons à remercier **M<sup>r</sup> HAMOUM M**. Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant aimablement de présider le jury et d'avoir eu l'amabilité de discuter avec nous certains points clés de notre analyse, vos remarques pertinentes contribueront sans doute au perfectionnement du présent travail.

Comme nous remercions également **M<sup>me</sup> MAHDID A**, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

On adresse nos plus sincère remerciements à toute l'équipe du laboratoire de génétique spécialement **M<sup>me</sup> BARBOUCHA**, **M<sup>me</sup> KASMI**, **M<sup>me</sup> YOUS**, **M<sup>me</sup> REMILA**, et au personnel du laboratoire d'Histopathologie de la Faculté de Médecine sans exception, on les remercie pour nous avoir fait bénéficier de leurs conseils et de leur avis éclairés.

Finalement, on est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.

*Linda & Chahinez*



## *Je dédie ce modeste travail ...*

A mes chères parents, à qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni ma forte reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices et des souffrances que vous avez enduré pour mon éducation, pour mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Vos prières et votre présence à mes côtés ont été pour moi un grand soutien moral tout au long de ma vie, j'espère réaliser en ce jour un de vos rêves, et être digne de votre confiance. Puisse Dieu, le tout puissant, vous protéger, vous accorder santé et longue vie afin que je puisse vous rendre un minimum de ce que je vous dois et faire en sorte que jamais je ne vous déçois.

A mes chers frères Massi et Yasmina, vous savez que l'affection et l'amour fraternel que je vous porte sont sans limite. Je vous dédie ce travail en témoignage de cet amour et de la tendresse que j'ai à votre reçu de vous. J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur et vous aide à réaliser tous vos vœux.

A ma belle sœur Sabiha et mon beau frère AHCEN, j'espère que vous trouverez dans ce travail le témoignage de mon affection, que Dieu vous comble de ses bienfaits.

A mon adorable neveu Yani, ta joie et ta gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu te garder, éclairer, ta route et t'aider à réaliser tes vœux les plus chers.

A la mémoire de mes grand-parents, puissent vos âmes reposer en paix ! Que Dieu, le tout puissant, vous couvre de sa sainte miséricorde et vous accueille dans son éternel paradis.

A mon binôme Chahinez, pour ton soutien, ta compréhension et ta patience.

A tous mes ami(e)s de toujours : Siham, Assia, Narimen, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Je vous dédie ce travail tout en vous souhaitant une vie pleine de bonheur et d'espoir. Que notre amitié dure pour toujours.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer mais que je n'ai pas oublié et à tous ceux qui feront partie de ma vie...

*Linda*



## *Je dédie ce modeste travail ...*

A mon père, l'épaule solide et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

A ma mère, la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

Vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux vous offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je vous porte. En témoignage, je vous offre ce modeste travail pour vous remercier pour vos sacrifices et pour l'affection dont vous m'aviez toujours entourée. Aucune dédicace ne saurait mes sentiments, que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.

A mes frère Nabil, Réda, Hocine et mon adorable petit Yanis

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance je vous remercie pour votre soutien indéfectible. Vous m'avez prêté main forte durant la réalisation de ce travail. Je sais pertinemment que je peux toujours compter sur vous.

Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance pour vos dévouements.

A mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines,

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Je vous remercie pour vos encouragements et je vous souhaite bonheur santé et prospérité.

A mes chères amies Siham, Samia, Souad, Safia, chadia, Katia, Zouza, Nina, et Warda

En témoignage de l'amitié qui nous unit et les souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail.

A ma chère amie, binôme Linda qui m'a tant écouté, pris de mes idées et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail,

Je tiens à vous remercier de tout cœur pour votre aide, vos conseils et vos encouragements.

*Chahinez*



# *Table des matières*

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<b>Introduction</b> .....	1
<b>I. Contexte bibliographique : Physiologie et physiopathologie du côlon</b> .....	2
I.1. Anatomie.....	2
I.2. Histologie.....	2
I.3. Rôle physiologique .....	3
I.4. La rectocolite ulcéro-hémorragique : Définition et anatomopathologie .....	6
I.5. Etiologie et pathogénie .....	7
I.5.1. Les facteurs environnementaux .....	7
I.5.2. Les facteurs génétiques .....	8
I.5.3. Les facteurs immunologiques .....	9
I.5.4. Le stress oxydant .....	10
I.6. Symptômes et complications .....	11
I.7. Approches thérapeutiques de la colite ulcéreuse .....	11
I.7.1. Approche médicamenteuse .....	11
I.7.2. Approche chirurgicale.....	12
I.7.3. La phytothérapie .....	12
<b>II. matériel et méthodes</b> .....	15
II.1. Matériel animal.....	15
II.2. Méthode d'induction de la rectocolite ulcéro-hémorragique.....	15
II.3. Analyse macroscopique .....	17
II.4. Evaluation de l'activité de la myeloperoxydase in vitro.....	18
II.5. Analyse microscopique .....	19
II.6. Analyse statistique.....	22
<b>III. Résultats et discussion</b> .....	23
III.1. Observations macroscopiques .....	23
III.2. Observations microscopiques.....	28
III. 3. Effet de l'induction de la RCUH sur l'activité enzymatique de la myeloperoxydase .....	32
<b>Conclusion</b> et perspectives .....	36
<b>Références bibliographiques</b> .....	37
<b>Glossaire</b>	
<b>Résumé</b>	

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b> : Les différentes formes de la RCUH.....	7
<b>Tableau II</b> : Liste limitée de gènes associés à la rectocolite ulcéro-hémorragique.....	8
<b>Tableau III</b> : La nature et la durée des traitements reçue par les différents lots .....	16
<b>Tableau IV</b> : Modèle d'évaluation du score macroscopique .....	18
<b>Tableau V</b> : Le programme de circulation selon la méthode ajustée par le Laboratoire d'Histopathologie de la Faculté de médecine .....	20

## *Liste des Figures*

<b>Figure 1:</b> Anatomie du côlon.....	2
<b>Figure 2:</b> Organisation de l'épithélium intestinal .....	4
<b>Figure 3 :</b> Intervention de quelques cellules dans la protection de la muqueuse intestinale contre l'invasion des bactéries .....	5
<b>Figure 4 :</b> Localisation des atteintes intestinales de la MC et la RCUH .....	6
<b>Figure 5 :</b> Les différentes cellules qui interviennent dans la synthèse des cytokines inflammatoires lors de la réponse immunitaire innée et adaptative .....	10
<b>Figure 6 :</b> Structure de base des polyphénols .....	13
<b>Figure 7 :</b> Classification des polyphénols ( originale).....	13
<b>Figure 8 :</b> Hydrolyse et libération de l'acide gallique et du glucose à partir de l'acide tannique par la tannase .....	14
<b>Figure 9:</b> Elevage des souris au sein de l'animalerie ( photographies originales).....	15
<b>Figure 10 :</b> Préparation du matériel animal pour l'expérimentation .....	17
<b>Figure 11 :</b> Détermination de la longueur du côlon et du score macroscopique des lésions (photographies originales).....	17
<b>Figure 12 :</b> Représentation des principales étapes de l'étude histologique (photographies originales).....	21
<b>Figure 13 :</b> Observations macroscopiques de la paroi interne du côlon.....	25
<b>Figure 14 :</b> Score macroscopique des différents lots.....	27
<b>Figure 15 :</b> Effet de l'administration de l'acide acétique sur la longueur du côlon.....	28
<b>Figure 16 :</b> Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris du contrôle négatif, colorée avec Hématoxyline/ Eosine .....	29
<b>Figure 17 :</b> Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique, colorée avec Hématoxyline/ Eosine .....	30
<b>Figure 18 :</b> Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétiques et traitées avec la sulfasalazine (100mg/kg), colorée avec Hématoxyline /Eosine .....	31
<b>Figure 19 :</b> Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolites ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétiques et traitées avec l'acide tannique (10mg/ kg), colorée avec Hématoxyline/ Eosine.....	32

**Figure20** : Effet de l'administration orale de la solution véhicule ( CMC 0.8%), de la sulfasalazine (100 mg/ Kg) sur l'activité enzymatique de la myéloperoxydase durant la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique ..... 34

## *Liste des abréviations*

**5-ASA** : Acide 5-aminosalicylique.

**CMC** : Carboxyméthyl cellulose.

**GALT** : Tissus lymphoïde associé à l'intestin.

**HTAB** : Hexadecyl trimethyl ammonium bromide.

**IgA** : Immunoglobuline A.

**IL 1-2-6-8-10-13-17** : Interleukines.

**JAK** : Janus kinase.

**LB** : Lymphocyte B.

**LT** : Lymphocyte T.

**MAPK** : Les protéines kinases activées par des mitogènes.

**MC** : Maladie de Crohn.

**MICI** : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

**MPO** : Myéloperoxydase.

**NFκB** : Nuclear factor-Kappa B.

**NK** : Cellules tueuses naturelles.

**PAMP** : Motif moléculaire associé aux pathogènes.

**PBS** : Le tampon phosphate salin.

**PPARγ** : Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxisomes γ.

**RCUH** : Rectocolite ulcéro-hémorragique.

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.

**SEM** : Erreur standard sur la moyenne.

**STAT3** : Signal transducer and activator of transcription 3.

**TLR** : Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires.

**TNF α** : Facteur de nécrose tumorale alpha.



## Introduction

---

L'inflammation est un processus homéostatique dont le but est de limiter les affections tissulaires, détruire l'agent causal et activer le processus de réparation tissulaire. Elle peut se manifester de manière aiguë ou chronique (**Parke et Parke 1995 ; Ferguson 2010**).

De nombreuses pathologies peuvent être liées à cette dernière. C'est le cas des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin connues sous l'acronyme MICI. Elles affectent l'être humain depuis des siècles, elles ont été décrites dès le deuxième siècle après J.-C. par les médecins grecs Soranus et Aretaeus de Cappadocia (**Kirsner, 1988**).

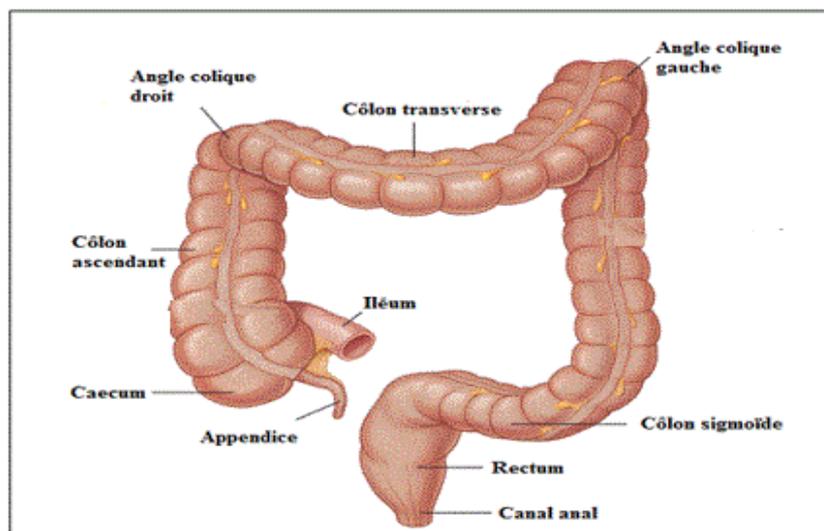
Les MICI est un groupe d'affections idiopathiques incluant la rectocolite ulcéro-hémorragique (RCUH) et la maladie de Crohn (MC) retrouvé particulièrement chez l'adulte jeune (**Louis et al., 2012**). Elles ne cessent d'augmenter au cours de ces 20 dernières années, L'incidence annuelle de la RCUH est estimée de 24,3 et 258,6/100000 habitants et une prévalence de 505 et 248,6 /100000 habitants en nord de l'Europe et en Amérique du Nord respectivement (**Molodecky et al., 2012**). En Algérie, on ne dispose pas de statistiques globales à l'heure actuelle. Les chiffres disponibles ne concernent que certaines populations algériennes. A Alger par exemple, la prévalence évaluée sur la période 2003–2006, a été estimée, en moyenne, à 20,7 /100.000 habitants. Ces résultats traduisent une prévalence faible (**Balamane et al., 2013**).

A l'heure actuelle, la physiopathologie de la RCUH est imparfaitement connue, il semble qu'une interaction entre le microbiote intestinal et le système immunitaire de l'hôte chez des patients génétiquement prédisposés et sous l'influence de facteurs environnementaux (**Fiocchi, 1998**).

Afin de mettre fin à le handicap fonctionnel qu'elle engendre, Plusieurs stratégies thérapeutiques ont été adoptées : l'acide 5-aminosalicylique, les corticoïdes, les immunosuppresseurs et les thérapies biologiques représentées par l'infliximab (**Kornbluth et Sachar, 2010**). Cependant, considérant le fait que ces approches thérapeutiques engendrent des effets indésirables et des complications plus ou moins sévères à long terme (**Liu et al., 2012 ; Mishra et al., 2012**) la recherche de nouvelles molécules d'origine naturelle appartenant au règne des polyphénols continue . C'est la raison pour laquelle nous nous sommes-attelés à tester l'effet préventif de l'acide tannique sur la rectocolite ulcéro-hémorragique induite dans un modèle animal.

## I.1. Anatomie

Le côlon est un tube musculaire et muqueux situé dans l'abdomen et mesure environ 1,5 m de longueur. C'est la partie du tube digestif comprise entre la fin de l'intestin grêle et le rectum (**figure 1**).



**Figure 1** : Anatomie du côlon humain (Belon et Lacour, 2015).

Il est constitué de quatre parties : la partie ascendante qui monte verticalement sous forme d'un côlon ascendant jusqu'en dessous du foie, la partie transversale qui s'appuie sur la rate et la partie descendante qui pénètre dans le petit bassin sous forme d'un S pour former le côlon sigmoïde. Celui-ci est ancré dans la paroi abdominale et se prolonge jusqu'au rectum. Ce dernier comprend une région gonflée de 12 à 15 cm appelée ampoule rectale. Il est composé de deux parties, une partie supérieure qui vient juste après le côlon sigmoïde et une partie sous-jacente : le canal anal (Belon et Lacour, 2015).

## I.2. Histologie

La paroi du côlon et du rectum comporte de la profondeur vers la superficie quatre couches cellulaires qui sont : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse.

La muqueuse intestinale colique à une structure repliée et des invaginations profondes appelées les cryptes. Ils constituent le compartiment prolifératif de l'épithélium grâce aux cellules souches présentes dans sa partie inférieure. La muqueuse est en contact direct avec la lumière intestinale, elle repose sur un tissu conjonctif appelé « *lamina propria* ».

Celui-ci comporte des cellules du système adaptatif formant le GALT (gut-associated lymphoid tissue) comprenant une grande variété de cellules lymphocytaires, dendritiques et phagocytaires (Sanz et De palma, 2009).

A la surface des cryptes on trouve les cellules épithéliales qui absorbent l'eau et les électrolytes. En plus de ces cellules absorbatives, on retrouve également des cellules dites caliciformes qui s'intercalent entre celles-ci. Elles assurent la production d'une substance visqueuse, le mucus. La sous-muqueuse quant à elle, est formée d'un tissu conjonctivo-vasculaire dans lequel on trouve des fibroblastes, quelques macrophages et polynucléaires. La couche musculuse se divise en couche musculuse longitudinale externe qui permet la progression du chyme, et la couche circulaire interne qui permet d'augmenter la surface d'échange. Celle-ci est entourée d'une couche conjonctive externe : la séreuse (Eckert *et al.*, 1999).

### I.3. Rôle physiologique

Le gros intestin joue un rôle fondamental dans le contrôle du volume et la composition ionique finale des selles. Il permet la résorption d'eau et des électrolytes (Belon et Lacour, 2015).

Il est caractérisé par la présence d'une flore bactérienne qui vit en accord avec l'hôte, c'est ce qu'on appelle aussi le microbiote (Artis, 2008). Ce dernier présente plusieurs avantages dont l'amélioration de l'efficacité digestive (Duerkop *et al.*, 2009), la fermentation ainsi que la production de variétés différentes de vitamines telles que la vitamine K, la vitamine B12, et l'acide folique (Lotz *et al.*, 2007). Les microbes tirent également profit de cette relation symbiotique grâce aux éléments nutritifs et l'environnement protecteur que l'hôte lui confère (Duerkop *et al.*, 2009). Il faut donc que l'organisme trouve un compromis entre une relation symbiotique avec la flore commensale et une protection vis-à-vis des agents pathogènes afin de maintenir l'hémostasie intestinale (Wells *et al.*, 2010). Pour cela plusieurs mécanismes sont impliqués :

- **Limitation du contact direct avec la flore commensale**

La barrière épithéliale constitue un isoloir entre la lumière intestinale potentiellement pathogène et le milieu interne représenté par la *lamina propria* (Gibson, 1993).

Les cellules épithéliales reconnaissent les autres cellules voisines, s'adhèrent entre elles et forment des jonctions intercellulaires comprenant les desmosomes, les jonctions adhérentes et les jonctions serrées (Farquhar et Palade, 1963). Ces dernières sont associées au cytosquelette, ce qui renforce l'adhésion intercellulaire et contribue à l'imperméabilité de l'épithélium (Zahraoui *et al.*, 2000 ; Matter et Balda, 2003). La couche du mucus qui tapisse les cellules épithéliales participe également dans le phénomène de limitation de contact du fait que ce dernier limite l'exposition des bactéries lumineales aux récepteurs des cellules épithéliales (figure 2) (Rakoff-Nahoum *et al.*, 2004).

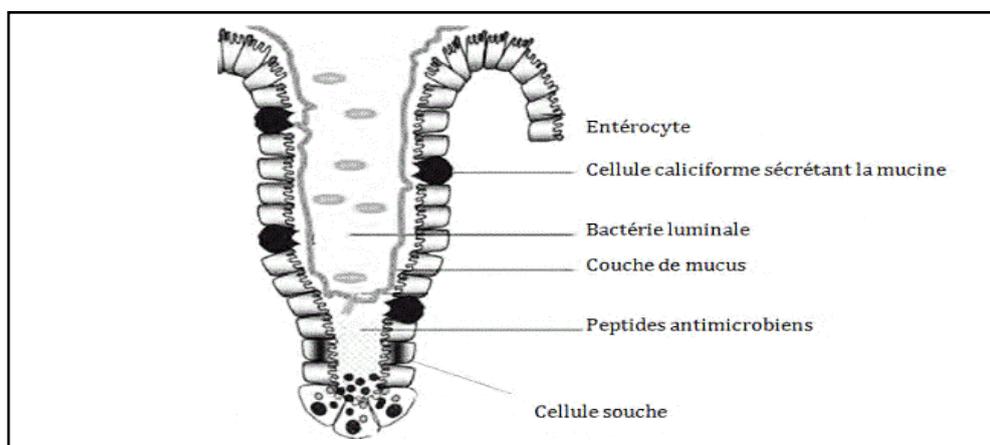
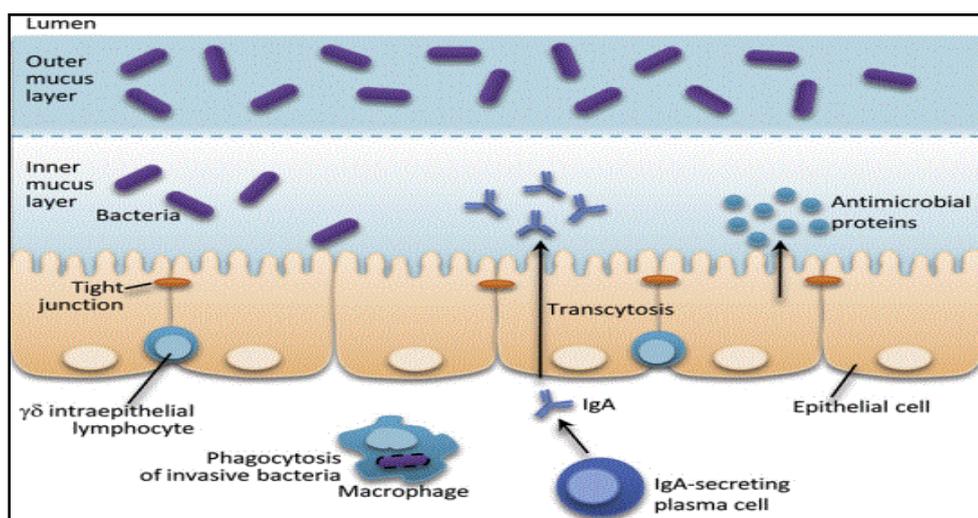


Figure 2 : Organisation de l'épithélium intestinal (Lotz *et al.*, 2007).

Les cellules épithéliales elles-mêmes forment une autre barrière physique contre l'invasion bactérienne en sécrétant des peptides antimicrobiens qui ciblent la paroi cellulaire bactérienne. Les cellules plasmatiques (différenciées des cellules B) sécrètent l'Immunoglobuline A (IgA) transloqués à partir de la surface apicale des cellules épithéliales (Suzuki et Fagarasan, 2008), aident à la capture des bactéries par le phénomène d'opsonisation. Ce mécanisme limite les possibilités pour la flore commensale d'activer les cellules inflammatoires au niveau de la *lamina propria*. Il existe également des lymphocytes intra-épithéliaux qui s'intercalent entre les cellules épithéliales intestinales et qui répondent à une lésion épithéliale en sécrétant les facteurs de croissance qui favorisent la réparation épithéliale (Chen *et al.*, 2002) et produisent des facteurs pro-inflammatoires et antimicrobiens qui protègent contre la pénétration bactérienne dans les épithéliums endommagés (Ismail *et al.*, 2009). Tous ces mécanismes ont pour but de préserver l'homéostasie intestinale (figure 3).



**Figure 3 :** Intervention de quelques cellules dans la protection de la muqueuse intestinale contre l'invasion des bactéries (Duerkop *et al.*, 2009).

- **Expression et compartimentation des récepteurs impliqués dans la réponse inflammatoire**

La suppression ou encore la diminution de l'expression de quelques récepteurs tels que les TLR (Toll-like receptors) au niveau de l'épithélium intestinal diminue les réponses immunitaires. Leur taux est beaucoup plus marqué pour ceux retrouvés au niveau des cellules souches intestinales par rapport à ceux présents au niveau des cellules matures (Wells *et al.*, 2010). Ils sont donc positionnés de manière à ne déclencher une réponse que dans le cas d'une violation de la barrière épithéliale par les bactéries (Duerkop *et al.*, 2009). Il a été également démontré que les TLR induisent, suite à leur activation par les structures bactériennes, des réponses différentes selon le compartiment épithélial où ils se trouvent (Lee *et al.*, 2006). En plus, il existe un autre mécanisme qui met en place un haut niveau d'expression de régulateurs comme le PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator Activated receptor  $\gamma$ ) ce qui permet de contrôler l'ampleur et la durée de la signalisation induite par les TLR (Cario, 2005 ; Shibolet et Podolsky, 2007).

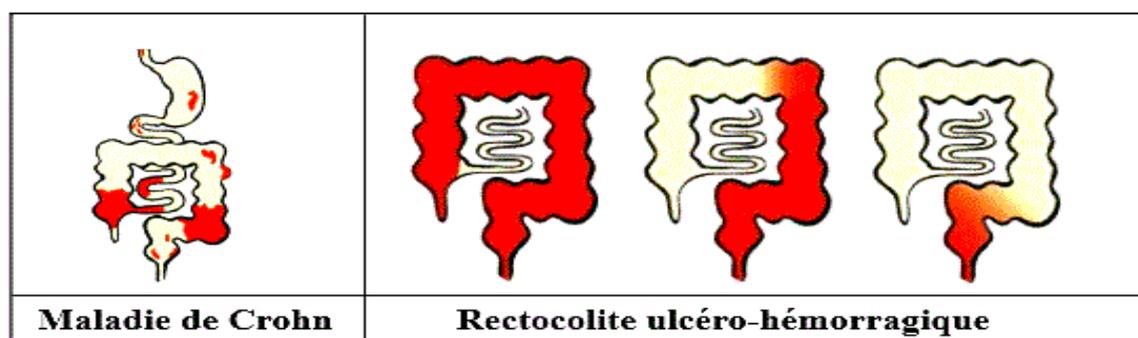
- **Développement des mécanismes de régulation de la réponse inflammatoire par les bactéries commensales**

Les bactéries commensales ont développé des mécanismes qui leur permettent d'éviter le déclenchement d'une réponse immunitaire et donc la protection contre une inflammation digestive inadaptée. Ceci est possible grâce à la capacité des bactéries et de leurs produits de fermentation à inhiber ou à activer des voies de transduction de signal intracellulaires (Cario, 2005 ; Wells *et al.*, 2010).

Au niveau de l'intestin, la tolérance est indispensable pour garantir une réactivité réduite vis-à-vis les bactéries commensales inoffensives. En effet, la mise en place de réponses inflammatoires en l'absence de bactéries pathogènes, serait dangereuse pour l'organisme. C'est notamment le cas des personnes atteintes d'inflammations chroniques intestinales telles que la rectocolite ulcéro-hémorragique (Cario, 2005).

#### **I.4. La rectocolite ulcéro-hémorragique : Définition et anatomopathologie**

La rectocolite ulcéro-hémorragique est une affection inflammatoire qui évolue par poussées survenant après des périodes de rémission plus ou moins longues (Louis *et al.*, 2012). Elle se caractérise cliniquement par des ulcérations chroniques récurrentes et superficielles de la muqueuse qui affecte de manière continue et homogène les parties inférieures du tube digestif (Allison *et al.*, 2008), contrairement à la maladie de Crohn qui touche la totalité du tube digestif de façon segmentaire et asymétrique avec des lésions beaucoup plus profondes (figure 4) (Mary et Modigliani, 1989).



**Figure 4 :** Localisation des atteintes intestinales de la MC et la RCUH (Rasenack, 2010).

Selon l'extension anatomique des lésions au niveau de la muqueuse recto-colique, on distingue schématiquement quatre formes représentées dans le tableau I ci-dessous :

**Tableau I :** Les différentes formes de la RCUH (**Baumgart et Sandborn, 2007**).

Formes	Régions atteintes
Rectite	Rectum
Recto-sigmoïdites	Rectum et le sigmoïde
Colite distale	Rectum jusqu'au haut du colon descendant
Pancolite	Totalité du côlon

## I.5. Etiologie et pathogénie

L'étiopathogénèse de la RCUH demeure largement controversée mais les manifestations cliniques et les données épidémiologiques étant allogènes, cela plaide en faveur d'une étiologie multifactorielle mettant en jeu aussi bien des facteurs environnementaux, génétiques ou encore immunologiques (**Fiocchi, 1998**).

### I.5.1. Les facteurs environnementaux

De nombreux facteurs environnementaux pourraient contribuer à la survenue d'une RCUH ou encore influencer son profil évolutif. On retrouve :

- **Tabagisme et appendicectomie**

L'appendicectomie et le tabagisme sont connus pour leurs effets protecteurs contre la rectocolite ulcéro-hémorragique. Le mécanisme par lequel l'appendicectomie exerce son effet protecteur reste inconnu mais il semble que l'ablation de l'appendice pourrait modifier la réponse du système immunitaire muqueux intestinal (**Koutroubakis et al., 2002**). L'effet préventif du tabac quant à lui, est assuré grâce à l'action immunosuppressive de la nicotine rentrant dans sa composition. Elle agit principalement par la réduction de quelques cytokines pro-inflammatoires tels les interleukines (IL-2, IL-8, IL-12) et le facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ) (**Cosnes, 2004**).

- **Les habitudes alimentaires**

Les habitudes alimentaires peuvent également favoriser l'apparition de la RCUH tels que la consommation de sucres raffinés et les produits industrialisés ; ce qui explique, en partie, la plus grande prévalence de la maladie dans les pays riches et dans les milieux urbains (**Ekbom et Montgomery, 2004**).

- **Les facteurs psychologiques**

Les facteurs psychologiques tels que le stress ne semblent pas avoir de rôle précis, mais leur excès favorise le déclenchement et la sévérité des poussées (**Vidal et al., 2006**).

### **I.5.2. Les facteurs génétiques**

Les chercheurs ont identifié plusieurs gènes pouvant contribuer, en présence de facteurs exogènes, à la prédisposition de la RCUH. Cependant la susceptibilité génétique ne peut à elle seule tout expliquer car le taux de concordance chez les jumeaux monozygotes n'est pas de 100% mais uniquement de 6% pour la RCUH (**Cortot et al., 2008**). La plupart des variantes génétiques de susceptibilité à la RCUH touche des gènes impliqués dans la réponse immunitaire innée et acquise contre des agents bactériens tels qu'il est mentionné dans le tableau II ci-dessous (**Louis et al., 2012**), en plus de la réduction de l'expression de MUC2 (n'est pas cité dans le tableau II) qui se traduit ainsi par la diminution du nombre de cellules caliciformes et une baisse de mucus (**Van der Sluis et al., 2006**).

**Tableau II** : Liste limitée de gènes associés à la rectocolite ulcéro-hémorragique (**Louis et al., 2012**).

<b>Chromosome</b>	<b>Gène</b>	<b>Fonction</b>
1p31	IL-23 receptor	Réponse immunitaire
5q33	IL-12b (p40)	Réponse immunitaire
9p24	JAK2	Messager intra-cellulaire
17q21	STAT3	Facteur de transcription
12q12	MUC19	Intégrité épithéliale
1q32	IL-10	Régulation immune

### I.5.3. Les facteurs immunologiques

L'inflammation intestinale est le résultat d'une altération entre la flore intestinale et les cellules de la *lamina propria*, dans un contexte de polymorphisme génétique affectant la fonction de la barrière épithéliale, ainsi que la réponse immunitaire innée et adaptative (Vaishnava *et al.*, 2008).

La réponse inflammatoire excessive au cours de la RCUH peut être expliqué par :

- **La dysbiose intestinale**

La dysbiose intestinale est définie comme étant un déséquilibre entre les bactéries protectrices et délétères qui composent le microbiote intestinal. Ce déséquilibre influence l'évolution vers la rectocolite ulcéro-hémorragique (Frank *et al.*, 2011 ; Klotz *et al.*, 2015).

- **Modification de la barrière épithéliale**

L'altération de la barrière épithéliale intestinale par diminution de la sécrétion du mucus et la dégradation des jonctions intra épithéliales est associée à une augmentation de la perméabilité cellulaire ; ce qui permet l'entrée du contenu luminal au niveau des cellules immunitaires de la *lamina propria* et participe ainsi à l'aggravation de l'inflammation (Welcker *et al.*, 2004).

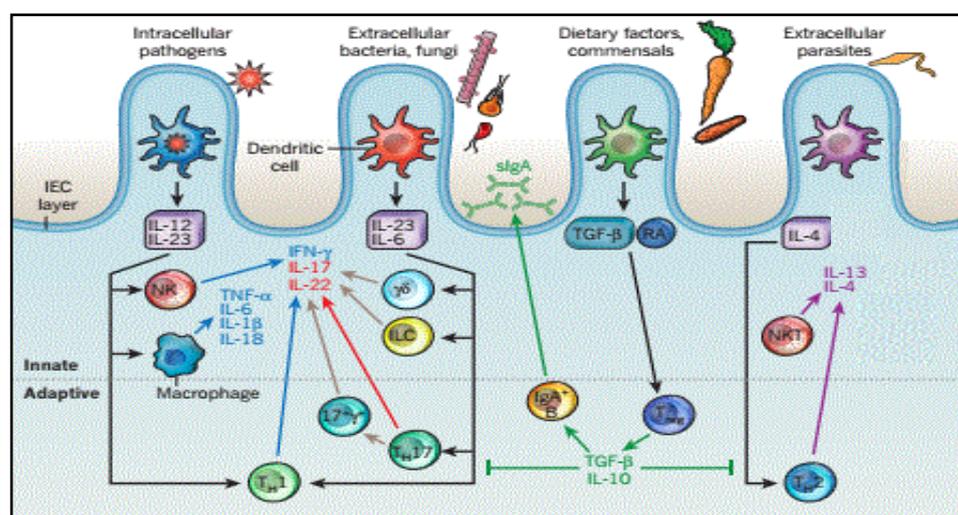
C'est le cas retrouvé dans la forme pathologique de la RCUH où une baisse de la quantité du mucus et ainsi de la perméabilité de l'épithélium est augmentée (Khor *et al.*, 2011 ; Maloy et Powrie, 2011).

- **Dérégulation de la réponse immunitaire**

En conditions normales, comme on l'a vu précédemment, la muqueuse intestinale fonctionne avec un équilibre délicat des cellules inflammatoires afin de préserver l'homéostasie alors que lors des pathologies intestinales, la réponse immune est dérégulée face aux antigènes des bactéries commensales, ce qui mène à un déséquilibre du profil de production des cytokines aux différents stades de la maladie (Pizarro et Cominelli, 2007).

Le contact direct entre les molécules appartenant aux structures pathogènes PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns) et les TLRs à la surface des cellules

présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques et les macrophages) existant au niveau de la *lamina propria*, va engendrer des réponses immunitaires (**figure 5**). L'expression prolongée de ces réponses peut contribuer à la RCUH (**Maloy et Powrie, 2011**), cela par la production excessive de cytokines et des interleukines IL-13, IL 17, IL 6 et IL 8 ce qui aura pour conséquence le recrutement massive des neutrophiles ; le TNF  $\alpha$  qui est une importante cytokine pro-inflammatoire est impliquée également dans la genèse de la maladie (**Ordás et al., 2012**). La réponse immunitaire non contrôlée au cours de la colite ulcéreuse est aussi la résultante d'un déséquilibre de la balance entre les lymphocytes T effecteurs et régulateurs (**Targan et al., 2005**).



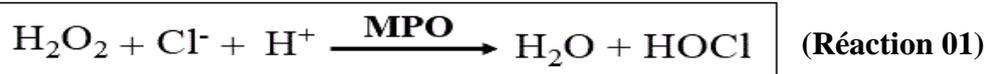
**Figure 5** : Les différentes cellules qui interviennent dans la synthèse des cytokines inflammatoires lors de la réponse immunitaire innée et adaptative (**Maloy et Powrie, 2011**).

#### I.5.4. Le stress oxydant

Des signes indiquent qu'il existe un lien entre la rectocolite ulcéro-hémorragique et le stress oxydatif (**Prabhu et Guruvayoorappan, 2014**). La génération des espèces réactives de l'oxygène résulte de l'activation des cellules du système immunitaire y compris les neutrophiles ce qui peut avoir un impact important sur la promotion d'évènements inflammatoires qui contribuent à des défenses immunitaires, mais aussi à des dommages de tissus (**Lih-Brody et al., 1996**).

Lors d'une inflammation, plusieurs mécanismes enclenchent l'activation et le recrutement des neutrophiles tels que la cascade du complément, IL8, TNF $\alpha$  et l'IL1 (**Sampson, 2000**). L'envahissement des neutrophiles vers le côlon enflammé est l'une des caractéristiques de

la colite ulcéreuse (**Kannan et Guruvayoorappan, 2013**) où leur infiltration est accompagnée par la libération d'une enzyme : la myéloperoxydase (MPO), appartenant à la superfamille des peroxydases (**Malle et al., 2007 ; Schindhelm et al., 2009**). Le gène codant pour la MPO est situé sur le bras long du chromosome 17 (**Weil et al., 1988**). La MPO est l'élément le plus abondant des granules azurophiles de leucocytes (**Rausch et al., 1978**), elle est sécrétée par les neutrophiles et les monocytes lors d'une réaction innée vis-à-vis de l'hôte (**Schultz et Kaminker, 1962 ; Sugiyama et al., 2001**). L'action de cette enzyme repose essentiellement sur la capacité d'utiliser le chlorure en tant que substrat avec le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pour générer l'acide hypochloreux (**réaction 1**), espèce réactive d'oxygène extrêmement pro-oxydante qui conduit à des lésions (**Garrity-Park et al., 2012**) et endommage les cellules épithéliales de l'intestin avec la destruction de l'intégrité de la muqueuse et aboutit ainsi à une colite ulcéreuse grave (**Kannan et Guruvayoorappan, 2013**).



## I.6. Symptômes et complications

La RCUH est caractérisée par l'apparition de plusieurs symptômes tels qu'une rectorragie accompagnée d'émission de glaires, de diarrhées, de douleurs abdominales et de fièvre (**Klotz et al., 2015**). Certains patients développent également des manifestations extradiigestives cutanées et ostéo-articulaires (**Bouhnik, 2006**).

Les complications les plus redoutables de la RCUH sont : la survenue d'une colectasie (**Jalan et al., 1969**), et le développement d'un cancer colorectal (**Jess et al., 2012**).

## I.7. Approches thérapeutiques de la colite ulcéreuse

Les stratégies thérapeutiques de la RCUH regroupent des produits pharmacologiques et des interventions chirurgicales. Elles sont adaptées aux malades selon l'étendue des lésions et la sévérité des poussées.

### I.7.1. Approche médicamenteuse

Plusieurs molécules ont été proposées dans le traitement de la RCUH dont les effets sont suspensifs et non curatifs (**Colombel et al., 2010**). La première approche implique les anti-

inflammatoires représentés par les salicylés traitant les formes légères de la colite ulcéreuse (**Marteau *et al.*, 2004**). Le plus souvent prescrit est la salazopyrine® (sulfasalazine).

Cependant, de multiples effets indésirables lui sont associés tels que : des insuffisances rénales, des vomissements, des diarrhées, des troubles hématologiques et même des effets sur la fonction sexuelle (**DeMichele *et al.*, 2012**).

Dans les formes les plus sévères, l'inflammation peut être contrôlée par des corticoïdes (**Elliott *et al.*, 1980**). En cas d'une cortico-résistance ou une cortico-dépendance, un traitement à activité immuno-modulatrice (l'azathioprine) pourrait être envisagé (**Khan *et al.*, 2011**). D'autres traitements biologiques tels que les anticorps dirigés contre le TNF $\alpha$  représentent la nouvelle vague thérapeutique la plus efficace et la plus coûteuse (**Allez, 2008**).

### **I.7.2. Approche chirurgicale**

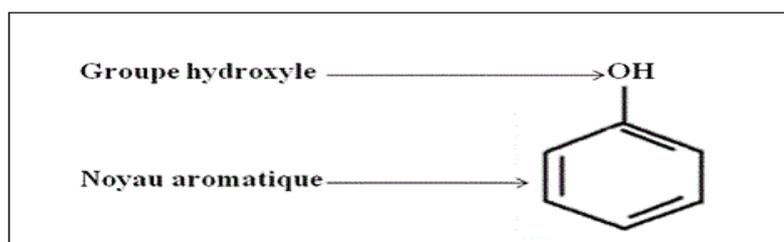
Le traitement chirurgical est proposé en dernière intention chez les patients en cas de complication ou de résistance au traitement médical, d'une colite aigue grave, ou encore lors d'un risque accru d'un cancer colorectal (**Hanauer et Present, 2002**). Son principe repose sur l'ablation d'une partie du côlon et/ou du rectum malade ou susceptible de le devenir (**Parkes *et al.*, 2007**).

Les limites d'utilisation et les effets secondaires rencontrés lors de ces approches constituent un problème majeur de santé publique (**Liu *et al.*, 2012 ; Mishra *et al.*, 2012**), ce qui a orienté les chercheurs vers un autre angle que les préparations à base de substances chimiques, et les a amenés à faire plutôt recours aux substances naturelles : la « phytothérapie ».

### **I.7.3. La phytothérapie**

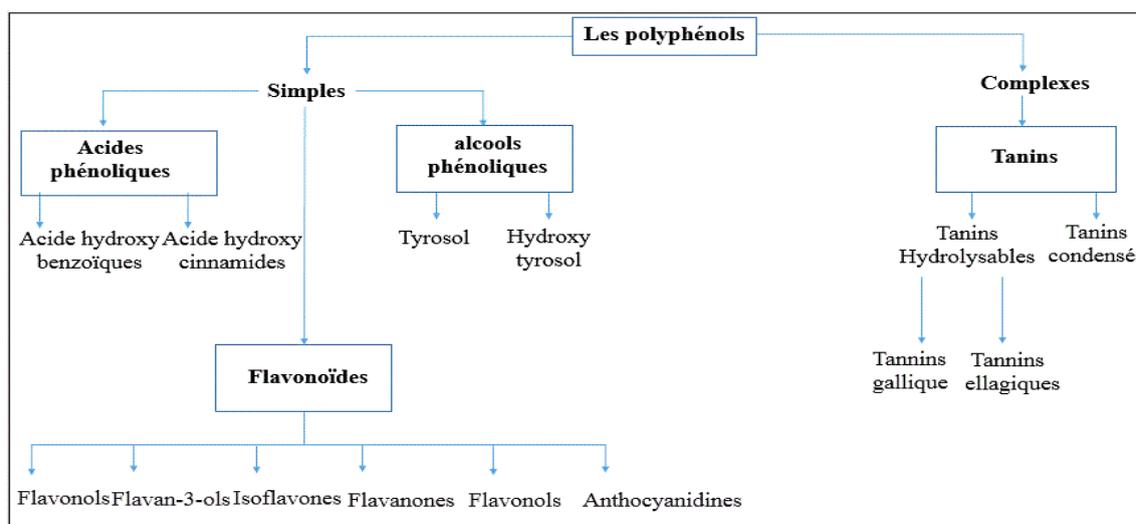
Dans le monde végétal, deux grandes catégories de molécules sont synthétisées naturellement par les plantes : des métabolites primaires, et des métabolites secondaires tels que les polyphénols qui sont des composés phytochimiques, trouvés en abondance dans les sources alimentaires végétales qui ont des propriétés antioxydants (plantes médicinales, légumes, fruits, huile d'olive, thé... etc.) (**Scalbert *et al.*, 2005 ; Spencer *et al.*, 2008**). Leur rôle dans la plante consiste à la défense contre le rayonnement ultraviolet

et l'agression par les agents pathogènes (**Beckman, 2000**). Ces composés comportent au moins un cycle aromatique à 6 carbones (**figure 6**), portant un ou plusieurs groupe(s) hydroxyle(s) (OH) libre(s) ou engagé(s) dans une autre fonction : éther ou ester (**Balasundram et al., 2006**).



**Figure 6 :** Structure de base des polyphénols (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

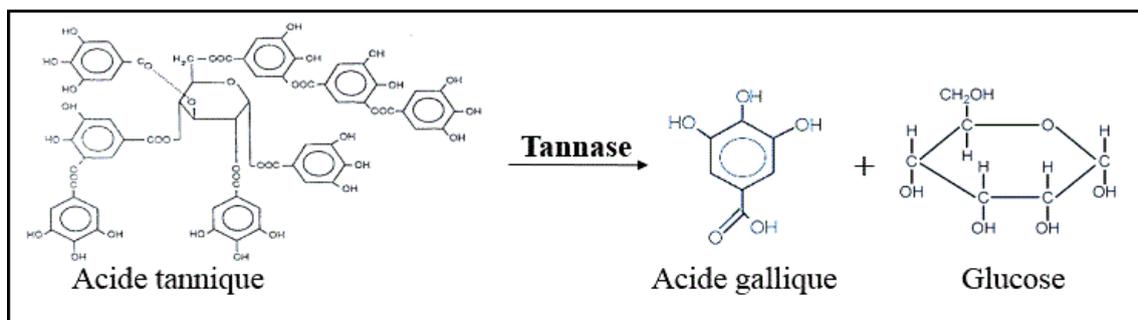
Selon la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient les noyaux, les polyphénols sont subdivisés en composés phénoliques simples et complexes (**figure 7**) (**Clifford, 1999 ; D Archivio et al., 2007**).



**Figure 7 :** Classification des polyphénols (originale).

Dans le domaine thérapeutique, l'effet des polyphénols dans la protection contre le développement de diverses pathologies a été validé telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le diabète et divers cancers (**Scalbert et al., 2005**). C'est notamment le cas de l'acide gallique appartenant à la gamme des tanins hydrolysables, exerce des effets antiallergiques et anti-inflammatoires (**Kim et al., 2006**). Celui-ci est libéré après clivage de l'acide tannique au niveau du côlon, en glucose

et en acide gallique grâce à l'action de la tannase (**figure 8**) : enzyme produite par différents types de moisissures et bactéries, appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Streptococcus* et *Enterobacter* (Osawa et Walsh, 1993 ; Murugan *et al.*, 2007 ; Costa *et al.*, 2008).



**Figure 8** : Hydrolyse et liberation de l'acide gallique et du glucose à partir de l'acide tannique par la tannase (originale) .



### II.1. Matériel animal

Dans le but d'évaluer l'effet anti-rectocolite de l'acide tannique et de la salazopyrine® *in vivo*, des souris mâles (6±2 semaines) de type albinos ont été choisies, dont le poids corporel varie entre 25 et 35g.

Les souris proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, elles ont été mises dans des cages de polystyrène avec un accès libre à la nourriture (aliment à bouchon) et à l'eau (**figure 9**). Elles ont été acclimatées aux conditions de l'animalerie de l'université de Bejaia : une température ambiante et un cycle nyctéméral qui correspond à 12h de lumière par 12h d'obscurité.



**Figure 9** : Elevage des souris au sein de l'animalerie (photographies originales).

### II.2. Méthode d'induction de la rectocolite ulcéro-hémorragique

L'évaluation de l'activité anti-ulcéreuse de l'acide tannique nécessite le développement, chez un modèle animal, d'une forme de pathologie telle qu'elle est retrouvée chez l'humain.

L'ulcération intestinale a été provoquée selon la méthode décrite par **Prabhu et Guruvayoorappan (2014)** avec quelques modifications. Elle consiste en l'introduction intra-rectale d'un agent ulcérogène : l'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  à 3%. Un volume de 0,5 ml de celui-ci a été infusé lentement à l'aide d'un cathéter en plastique flexible d'une longueur de 4 cm dans le côlon des souris à travers l'anus. Elles ont été ensuite maintenues en position basse pendant 30 secondes pour limiter l'expulsion de la solution. Les souris ont été pesées, marquées et réparties en quatre lots (n=8).

Le tableau III ci-dessous illustre la répartition des souris en différents lots selon la solution administrée.

**Tableau III :** La nature et la durée des traitements reçus par les différents lots.

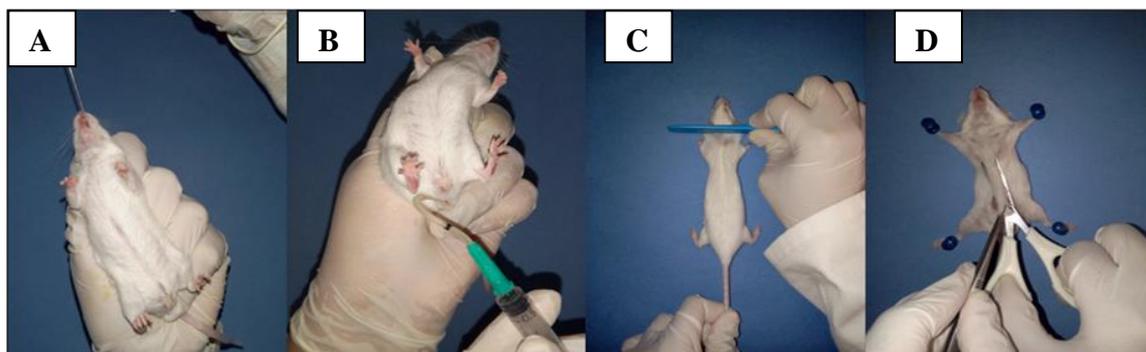
N° de lot	I	II	III	IV
Solution administrée	Eau physiologique/ CMC	Eau physiologique/ CMC	Sulfasalazine/ CMC	Acide tannique/ CMC
Induction d'ulcère (une heure après)	-	+	+	+

+ : Ulcère induit /- : Ulcère non induit

Le lot I recevant de l'eau physiologique mais prétraité avec une solution de CMC (0,8%) est considéré le lot témoin qui servira d'un modèle montrant le côlon dans son état physiologique. Les trois lots (II, III, IV) prétraités respectivement avec du CMC (0,8%), le médicament la salazopyrine® (sulfasalazine 100mg/Kg) considéré comme molécule de référence et l'acide tannique (10mg/Kg).

L'administration des différentes solutions (CMC 0,8 %, la sulfasalazine et l'acide tannique) a été effectuée par un gavage intra-gastrique grâce à une sonde gastro-œsophagienne. Cette procédure a été répétée quotidiennement pendant 4 jours, puis tous les lots ont été mis à jeun pendant 12h. Une fois les douze heures achevées, ils ont été intubés par la solution qui leur est destinée pour finalement procéder, 1 heure après à l'induction de l'ulcère.

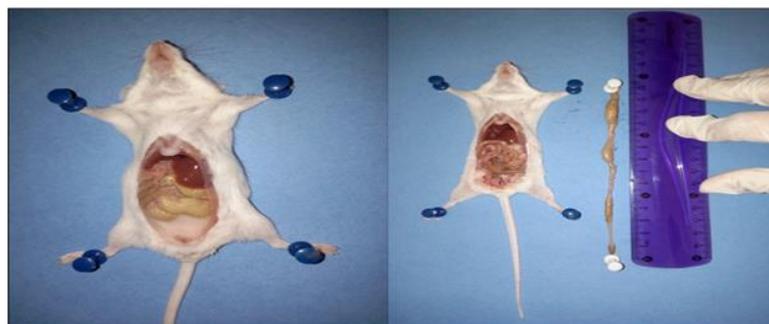
Huit heures après, le sacrifice des animaux a été effectuée d'abord par leur anesthésie avec du chloroforme puis par dislocation cervicale. Le côlon et le rectum ont été isolés ensuite grâce à une incision ventrale (**figure 10**).



**Figure 10** : Préparation du matériel animal pour l'expérimentation. A : Gavage ; B : Induction d'ulcère ; C : Dislocation cervicale ; D : Incision ventrale (photographies originales).

### II.3. Analyse macroscopique

Les côlons ont été retirés, coupés longitudinalement et lavés avec une solution saline pour éliminer les résidus de matière fécale. La longueur des côlons a été mesurée à partir de la jonction iléo-caecale jusqu'au bord anal (**figure 11**).



**Figure 11** : Détermination de la longueur du côlon et du score macroscopique des lésions (photographies originales).

Un score d'inflammation macroscopique leur a été attribué suivant le tableau IV ci-dessous après observation sous une loupe (G×8) (**Prabhu et Guruvayooppa, 2014**) :

**Tableau IV** : Modèle d'évaluation du score macroscopique (**Prabhu et Guruvayooppa, 2014**).

le score macroscopique	Observations
0	Pas d'ulcération
1-2	Rougeur avec ou sans écoulement d'eau
3	Ulcération avec inflammation à un site
4	Ulcération avec inflammation à deux sites
5	1 cm d'ulcère
6	2 cm d'ulcère
7	3 cm d'ulcère
8	4 cm d'ulcère
9	5 cm d'ulcère
10	6 cm d'ulcère (gonflement et saignement)

Après avoir noté ces paramètres, les échantillons destinés à l'évaluation de l'activité enzymatique de la myéloperoxydase ont été conservés à - 80°C, alors que ceux prévus pour l'étude histologique ont été directement, après l'incision ventrale et le lavage avec la solution saline, conservés dans du formol à 10%.

#### **II.4. Evaluation de l'activité de la myéloperoxydase *in vitro***

L'activité de la myéloperoxydase (MPO) est un bon révélateur du degré d'inflammation causée par l'ulcération intestinale. Pour ceci, les côlons conservés à -80°C ont été retirés, homogénéisés dans une solution de HTAB (0,005% dans le PBS 20 mM à un Ph= 6) afin de provoquer la lyse des membranes cellulaires et libérer la myéloperoxydase. Les homogénats de côlon ont été ensuite centrifugés à 12,500 rpm pendant 5 minutes à 4°C pour récupérer le surnageant qui renferme l'enzyme et se débarrasser des débris tissulaires.

L'activité de la MPO dans les surnageants récupérés a été ensuite testée suivant le protocole de **Rodriguez-Palacios et Cominelli (2015)** avec quelques modifications :

Pour cela, une solution a été préparée en mélangeant 100 µl de surnageant de chaque échantillon avec une solution de 0,635 mM d'O-dianisidine. En finalité, une solution de

peroxyde d'hydrogène à 1% leur a été additionnée. Le peroxyde d'hydrogène sert de substrat à la myéloperoxydase et conduit à l'oxydation de l'O-dianisidine en un produit coloré (**réaction 2**) qui va permettre de visualiser l'activité enzymatique de la MPO de sorte que l'intensité de la coloration est proportionnelle à l'activité enzymatique de la MPO présente dans l'échantillon (**Keston, 1956**).



A température ambiante, 20µl des solutions préparées ont été déposées sur une microplaque. En utilisant un spectrophotomètre à microplaques, la cinétique de l'enzyme a été suivie à une longueur d'onde de 450 nm chaque 30 secondes pendant 5 minutes.

## II.5. Analyse microscopique

### - Etude histologique

L'histologie a pour but l'obtention des coupes fines colorées d'un tissu biologique observable au microscope optique (**Venton et Velot, 2010**). Dans notre cas, le tissu biologique concerne le gros intestin des souris préalablement conservé au formol à 10%. Pour une bonne observation au microscope, celui-ci va d'abord subir différents traitements cités ci-dessous adopté selon la méthode décrite par **Hould (1984)** ajustée par le Laboratoire d'Histopathologie de la faculté de médecine.

#### ▪ La fixation

La fixation est la première étape indispensable à la bonne conservation des constituants cellulaires et tissulaires. Elle permet d'avantage d'éviter l'autolyse et de garder la structure dans un état aussi proche que possible de celui de l'organisme vivant (**Venton et Velot, 2010**). La fixation a été effectuée juste après la dissection où les côlons des différents lots ont été fixés au formol à 10% puis mis dans des histo-cassettes.

▪ **Déshydratation, éclaircissement et inclusion**

Ces étapes sont assurées par un automate de déshydratation de type Leica où les histocassettes contenant les échantillons sont trempées dans des bains d'éthanol de concentration croissante puis dans des bains de xylène afin d'assurer un bon éclaircissement, pour en finir et assurer l'inclusion, des bains de paraffine sont nécessaires.

Le tableau V ci-dessous présente le programme de circulation selon la méthode de **Hould (1984)** ajustée par le laboratoire d'Histopathologie de la faculté de médecine :

**Tableau V** : Le programme de circulation ajustée par le Laboratoire d'Histopathologie de la faculté de médecine.

Opération	Bain	Durée du séjour (min)
<b>Déshydratation</b>	N°1 : Ethanol 70%	45
	N°2 : Ethanol 75%	45
	N°3 : Ethanol 80%	45
	N°4 : Ethanol 85%	45
	N°5 : Ethanol 90%	45
	N°6 : Ethanol 95%	45
	N°7 : Ethanol 96%	45
	N°8 : Ethanol 100%	45
<b>Eclaircissement</b>	N°1 : Xylène	30
	N°2 : Xylène	30
<b>Inclusion</b>	N°1 : Paraffine	90
	N°2 : Paraffine	90

▪ **Enrobage**

L'étape d'enrobage suit celle de la circulation. Elle consiste à enrober les prélèvements déshydratés par la paraffine pure en utilisant des moules en inox. On a eu pour finalité un bloc rempli de paraffine qui, une fois durci, sera démoulé et taillé afin d'avoir des bords parallèles.

▪ **Les coupes (microtomie)**

Le bloc taillé a été placé dans un microtome de type Leica. Celui-ci a permis de réaliser des tranches d'une épaisseur de 3µm. Les coupes sont ensuite recueillies sur des lames en verre.

- **Déparaffinage et hydratation**

Les coupes doivent être déparaffinées dans l'étuve pendant une heure puis pendant 30 minutes dans un bac à xylène pur afin d'éliminer toute trace de paraffine puis réhydratées dans un bain d'alcool à concentration 70% avant coloration.

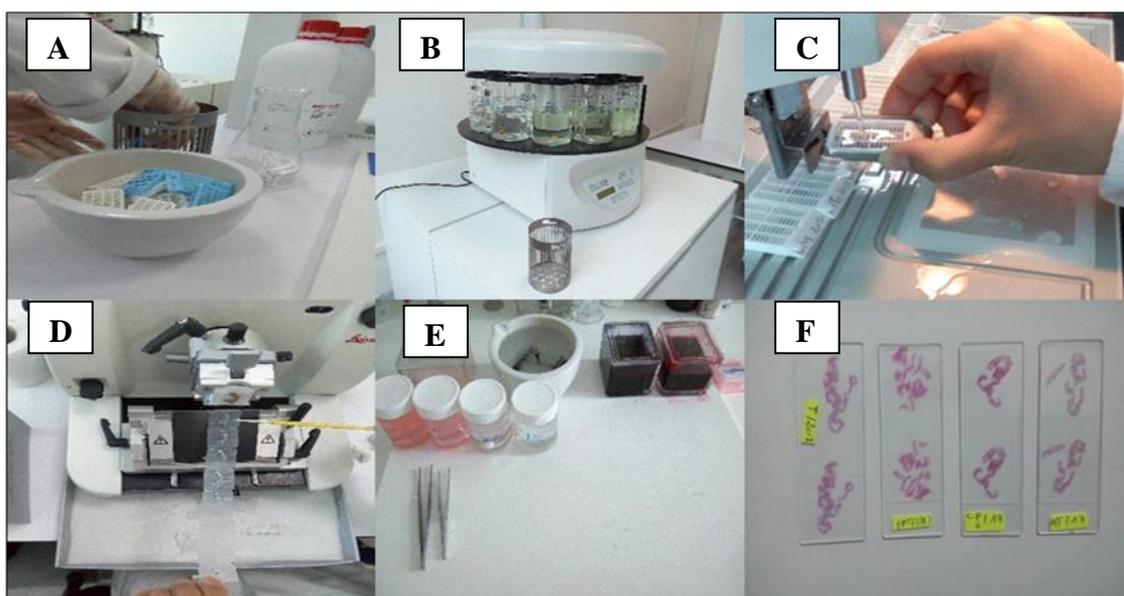
- **Coloration à l'Hématoxyline/Eosine (HE)**

Les lames ont été mises dans un bac d'eau courante, puis dans l'hématoxyline pendant 10 minutes suivies d'un rinçage à l'eau courante. Elles ont été ensuite immergées dans l'éosine 1% pendant 5 minutes et rincées à l'eau courante.

Cette étape permet d'accentuer les contrastes pour mieux reconnaître et visualiser les différents éléments de la préparation.

- **Montage à l'Eukitt**

Les coupes colorées ont été montées entre lame et lamelle à l'Eukitt. Une goutte de celui-ci a été déposée sur la lamelle puis placée soigneusement sur la lame afin d'éviter la formation des bulles d'air. Finalement les lames ont été laissées à température ambiante pour sécher (**Figure 12**).



**Figure 12 : Représentation des principales étapes de l'étude histologique (photographies originales).** A : Fixation ; B : Circuit de déshydratation ; C : Inclusion ; D : Microtomie ; E : Coloration, F : Montage.

## II.6. Analyse statistique

L'étude statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graph Pad Prism suivie par une analyse de la variance à sens unique (One way ANOVA) en utilisant le test de Dunnett pour comparer les valeurs des groupes testés par rapport au contrôle positif. Les différences sont considérées significatives à  $*p < 0,05$ , hautement significatives à  $**p < 0,01$ , et très hautement significatives à  $***p < 0,001$ .

L'étiologie de la rectocolite ulcéro-hémorragique reste obscure, mais il semble qu'elle résulte d'un dérèglement du système immunitaire (**Fiocchi, 1998**). De nombreux agents thérapeutiques sont prescrits dont le succès repose sur leur capacité à inhiber et à moduler l'expression des gènes codant pour les cytokines impliquées dans la réponse inflammatoire. En revanche, ces médicaments ne sont pas dépourvus d'effets secondaires, surtout lorsqu'ils sont pris pendant des périodes de temps prolongées. Par conséquent, une option thérapeutique alternative d'origine végétale pourrait éviter les effets indésirables associés aux traitements synthétiques (**Singh et al., 2012 ; Weizman et al., 2012**).

C'est dans cette perspective que nous avons tenté d'évaluer l'effet préventif de l'acide tannique, sur la recto-colite induite par l'acide acétique. Cet effet a été comparé à la salazopyrine®, un médicament connu pour le traitement de cette maladie. La gravité de l'ulcération a été évaluée d'une part par des observations macroscopiques et microscopiques (analyse histologique) du côlon, et d'autre part par une étude biochimique (activité enzymatique de la myéloperoxydase).

### III.1. Observations macroscopiques

#### III.1.1. Effet de l'acide tannique sur la morphologie du côlon et le score macroscopique

L'administration de l'acide acétique aux souris pour induire la RCUH est un modèle bien établi et hautement reproductible, qui ressemble phénotypiquement à l'inflammation du côlon humain (**Hartmann et al., 2012**). Il agit comme destructeur de la surface de la muqueuse du côlon sans pour autant atteindre les couches les plus profondes. Il engendre aussi une augmentation des taux des médiateurs inflammatoires et aggrave ainsi l'inflammation (**Thippeswamy et al., 2011; Rise et al., 2012**).

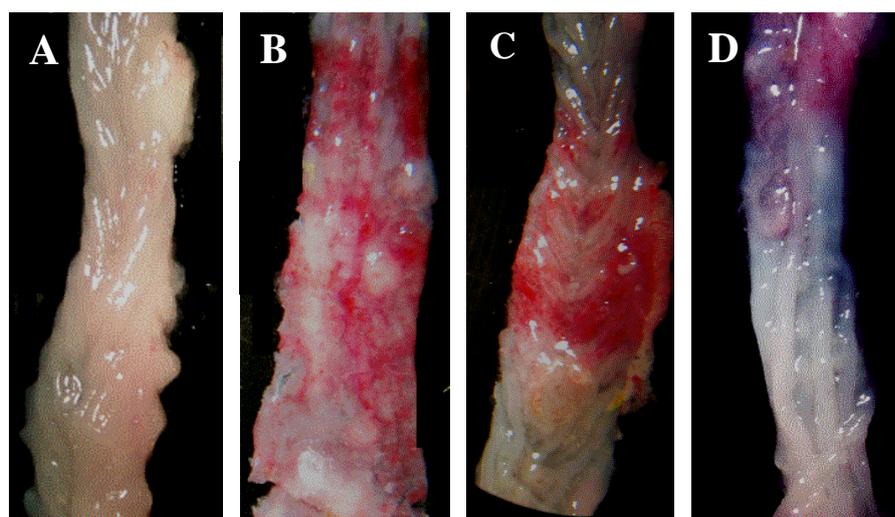
Les observations macroscopiques des côlons prélevés des souris du groupe contrôle (Lot II) ont révélé des saignements rectaux dus à une hémorragie de la partie inférieure du tube digestif (rectorragie). Ceci est probablement dû aux lésions provoquées par l'acide acétique comme le montre la **figure 13B**. Ces lésions ont déclenché une réaction inflammatoire débutée par un signal d'alarme, notamment la dilatation des vaisseaux sanguins au niveau

de la zone lésée, de façon à permettre un apport massif de globules blancs nécessaires à la défense immunitaire (Stevens *et al.*, 2004).

Une diarrhée a été également observée chez ce groupe, résultant probablement de l'érosion et de l'altération de la muqueuse et l'apoptose des cellules épithéliales du côlon dont le rôle principal est la réabsorption d'eau. Cette fonction physiologique n'est plus assurée, l'eau et les électrolytes ne sont plus absorbés ; ce qui se traduit par l'évacuation permanente des selles et la modification de leur consistance (diarrhée) (Schulzke *et al.*, 2006).

Ces caractéristiques et ces symptômes (diarrhée et rectorragie) retrouvés chez le groupe contrôle s'apparentent fortement à ceux observés chez des patients atteints de la rectocolite ulcéro-hémorragique. Par contre, chez le groupe témoin (lot I), qui n'a pas été traité par l'acide acétique, aucune de ces caractéristiques n'a été retrouvée. L'aspect colique de ce dernier était sain, la muqueuse ne présentait aucune lésion visible (**figure 13A**) ; ce qui prouve que les ulcérations retrouvées chez le groupe contrôle ont été bien induites. Aussi, le prétraitement des souris avec l'acide tannique (10 mg/Kg) (lot III) a réduit considérablement la diarrhée et le sang retrouvés chez le groupe contrôle. Ces observations sont combinées aux observations macroscopiques (**figure 13D**) qui montrent une baisse significative des surfaces lésées.

Comparé à l'acide tannique, le traitement par la sulfasalazine (100 mg /Kg) n'a pas pu réduire autant les symptômes de diarrhées hémorragiques confirmées par l'aspect partiellement hémorragique et érodé de la paroi muqueuse intestinale du côlon (**figure 13C**). Ceci est peut-être dû aux effets hémolytiques défavorables du médicament (Stein *et Hanauer*, 2000).



**Figure 13 : Observations macroscopiques de la paroi interne du côlon.** A) contrôle négatif (lot I) ; B) Groupe contrôle (lot II) ; C) Contrôle positif (sulfasalazine) (lot III) ; D) Groupe test (acide tannique) (lot IV).

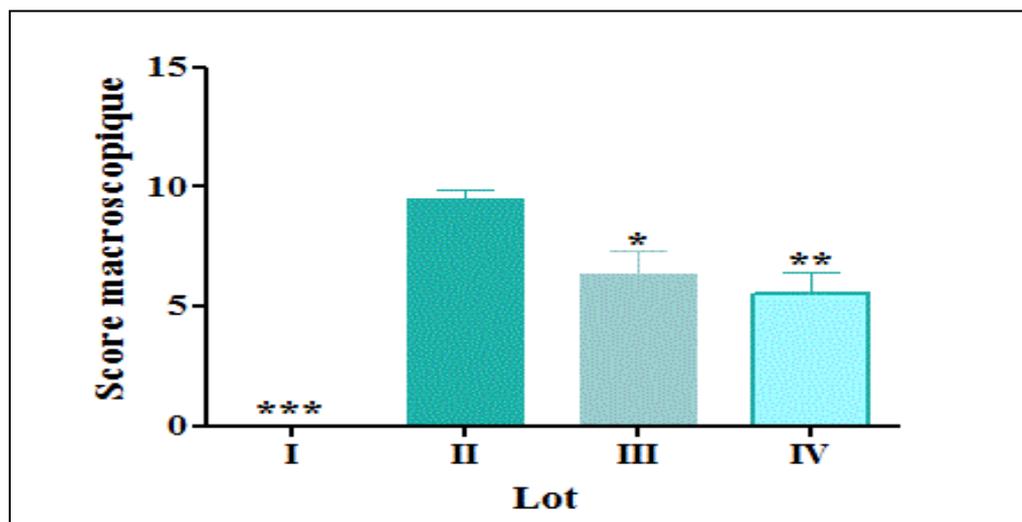
Aussi, ce dernier induit une apoptose sur les cellules épithéliales coliques (**Reinacher-Schick et al., 2000 ; Brown et al., 2010**) ; ce qui maintient l'incapacité du côlon à réabsorber l'eau. Une persistance de la diarrhée chez ce groupe est donc notée comme pour les patients atteints de la rectocolite ulcéro-hémorragique.

L'évaluation statistique du score macroscopique a démontré que le traitement par la molécule de référence (la sulfasalazine 100mg/kg) a considérablement réduit ( $p < 0,05$ ) l'étendue des lésions hémorragiques ( $6,33 \pm 0,98$ ). L'atténuation de l'inflammation et la réduction des lésions par la sulfasalazine sont dues sans doute à l'action anti-inflammatoire qu'exerce son métabolite actif le 5-ASA (5-aminosalicylate) après sa décomposition par la flore bactérienne sur la muqueuse colique. L'efficacité thérapeutique du 5-ASA réside principalement dans sa capacité à moduler l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le processus inflammatoire. Plus particulièrement, le 5-ASA a le potentiel de bloquer le facteur de transcription NF $\kappa$ B responsable de l'activation et le maintien de la cascade inflammatoire lors de la rectocolite ulcéro-hémorragique (**Wahl et al., 1998**). L'activation du récepteur nucléaire (PPAR $\gamma$ ) impliqué dans le contrôle de l'inflammation et de la prolifération cellulaire est aussi un autre mécanisme stimulé par le 5-ASA. Le PPAR $\gamma$  est fortement exprimé au niveau des entérocytes et au niveau de nombreuses cellules de l'inflammation et de l'immunité non spécifique comme les monocytes, les macrophages, les cellules T et les cellules NK. Son activation par des agonistes inhibe la prolifération

cellulaire et la production des cytokines pro-inflammatoires (**Gibson et Jewell, 1985 ; Dubuquoy et al., 2003**). Le traitement par la sulfasalazine n'a pas pu donner une différence très significative et une réduction importante des lésions coliques vis-à-vis du groupe contrôle. En effet, la sulfasalazine peut entraîner un stress oxydatif supplémentaire par la diminution des enzymes antioxydantes endogènes : la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase (**Alonso et al., 2009; Linares et al., 2009**). C'est d'ailleurs la cause pour laquelle les malades traités avec ce médicament souffrent d'une néphropathie et d'une hépatotoxicité suite à la réduction de ces enzymes au niveau rénal et hépatique (**Alonso et al., 2009; Linares et al., 2009**). Une réduction beaucoup plus marquée ( $p < 0,001$ ) avec un score de  $5,5 \pm 0,92$  a été observée chez le groupe prétraité par l'acide tannique (lot IV) par rapport au groupe contrôle (II) où le score macroscopique a atteint son maximum ( $9,5 \pm 0,34$ ).

Conformément à ces résultats, l'administration de l'acide tannique (10 mg/Kg) a pu améliorer les paramètres pathologiques (score et l'aspect du côlon) par rapport au modèle de la colite induite par l'acide acétique (lot II) (**figure 14**). Ceci est peut-être dû à l'effet anti-diarrhéique qu'exerce l'acide tannique par imperméabilisation des couches superficielles de la muqueuse et la limitation de la perte en fluide, ou encore grâce à son effet antiseptique qui crée un environnement propice à la cicatrisation de la zone lésée (**Okuda et al., 1983 ; Bruneton, 1999**).

En outre, l'inflammation générée par les lésions produit l'infiltration des neutrophiles qui produisent des espèces réactives oxygénées aggravant ainsi les lésions en attaquant la muqueuse de l'intestin (**Lih-Brody et al., 1996**). De ce fait, l'effet antioxydant de l'acide tannique permet le piégeage et la neutralisation de ces radicaux libres (**Frutos et al., 2004**). Il est intéressant de noter que les tanins ont des propriétés antioxydantes 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (**Frutos et al., 2004**). L'acide tannique a notamment la capacité, grâce à ses nombreux groupements hydroxyles sur les noyaux phénoliques, de former des complexes insolubles avec les ions métalliques (complexe chélate) (**Chung et al., 1998**). Ces derniers (Fe et Cu) sont responsables, par la réaction de Fenton, de la production du radical hydroxyle  $\text{OH}\cdot$ , très délétère. Donc, le remplacement des ions de fer ou de cuivre par une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante (**Mladěnka et al., 2011**).

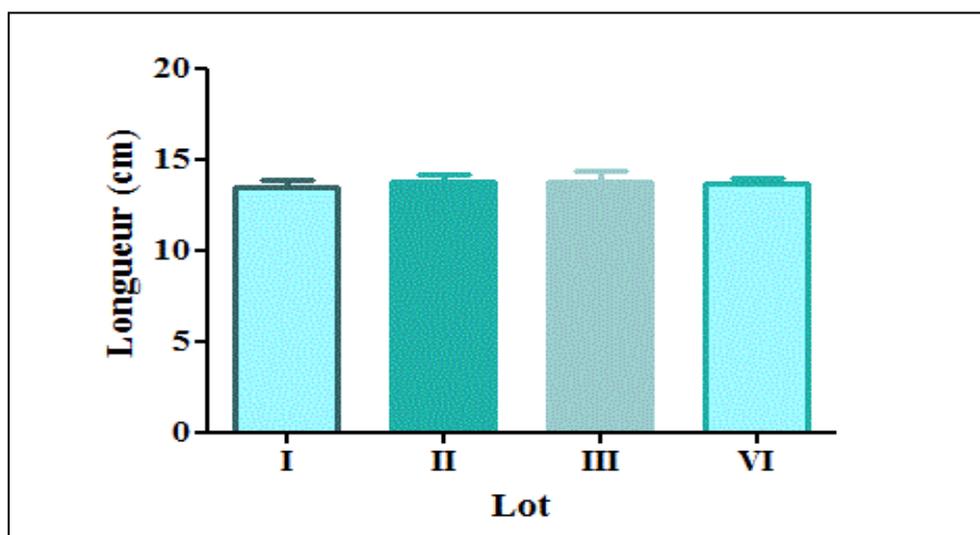


**Figure 14 : Score macroscopique des différents lots.** Lot I : Contrôle négatif ; Lot II : Groupe contrôle ; Lot III : Sulfasalazine (100mg/kg) ; Lot IV : Acide tannique (10mg/kg). Les valeurs sont exprimées en moyenne (n=6) ± SEM. \*p<0,05, \*\*p<0,01 et \*\*\*p<0,001 significativement différents du groupe contrôle II.

### III.1.2. Effet de l'acide tannique et la sulfasalazine sur la longueur du côlon

La longueur du côlon est un autre paramètre affecté lors de la rectocolite ulcéro-hémorragique. Le passage à la chronicité de la maladie entraîne un raccourcissement du côlon suite à l'apoptose des cellules épithéliales et l'altération de leur fonction proliférative (Topcu-Tarladacalisir *et al.*, 2013).

D'après la **figure 15**, l'administration de l'acide acétique n'a pas conduit à un raccourcissement significatif de la longueur du côlon chez le groupe contrôle (lot II) par rapport au contrôle négatif (lot I). La longueur moyenne du côlon était de (13,41 ± 0,47 cm ; 13,78 ± 0,38 cm ; 13,75 ± 0,65 cm ; 13,66 ± 0,30 dans les lots I, II, III, VI respectivement. Ces résultats sont en accord avec les études qui lient le raccourcissement du côlon à la chronicité de la maladie (Topcu-Tarladacalisir *et al.*, 2013). En fait, dans notre étude, la RCUH induite est aiguë (8h) et n'a pas eu le temps de provoquer une apoptose considérable des cellules épithéliales et par conséquent un raccourcissement du côlon.

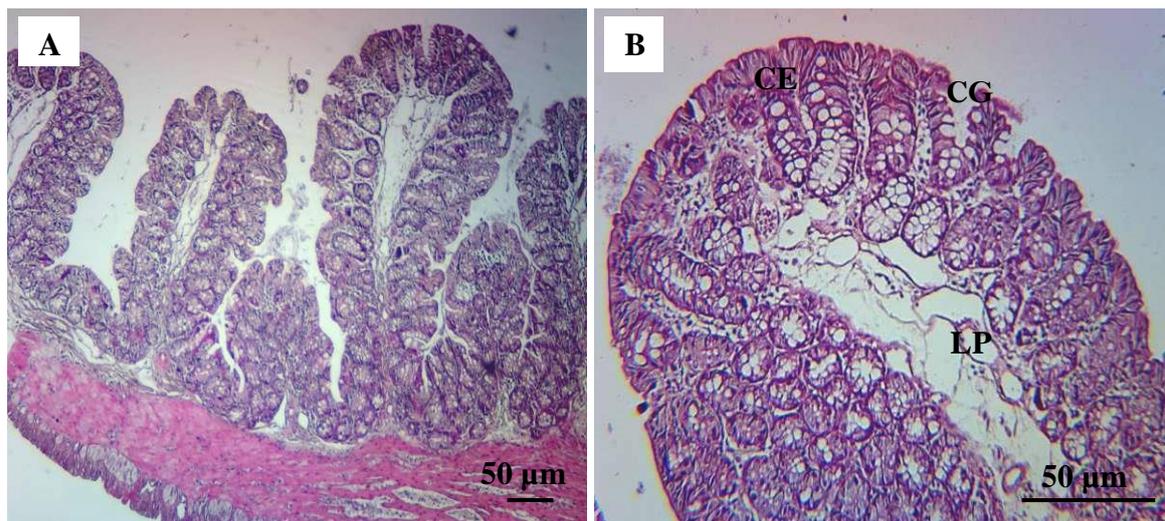


**Figure 15 : Effet de l'administration de l'acide acétique sur la longueur du côlon.** Lot I: Contrôle négatif ; Lot II: Groupe contrôle ; Lot III: Sulfasalazine (100mg/kg) ; Lot IV : Acide tannique (10mg/kg). Les valeurs sont exprimées en moyenne ( $n = 6$ )  $\pm$  SEM.

### III.2. Observations microscopiques

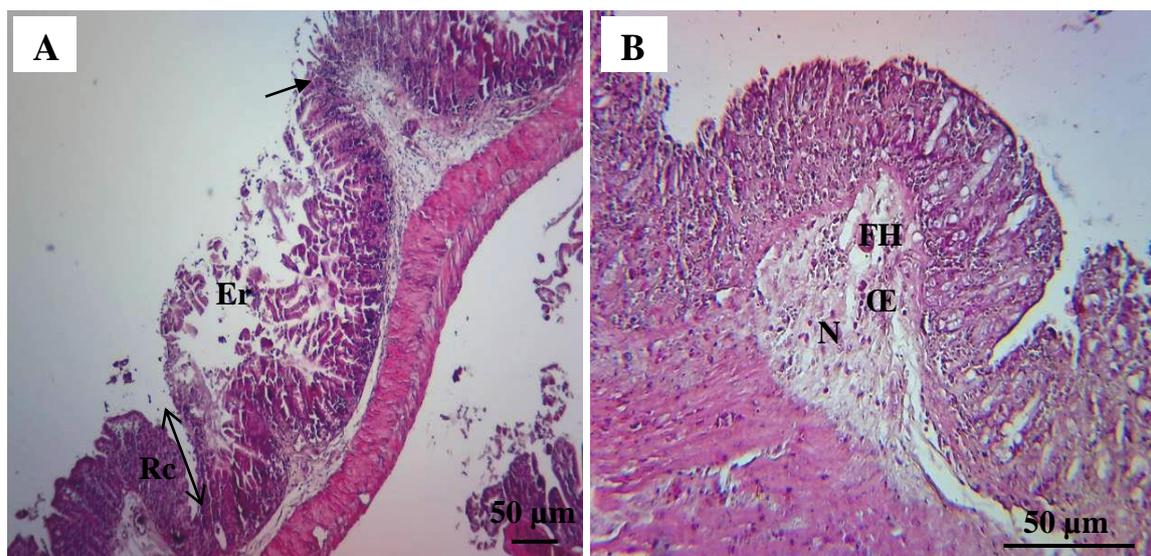
Dans le but de confirmer les résultats obtenus lors des observations macroscopiques des côlons, une étude histologique réalisée sur les échantillons prélevés a permis de mieux évaluer l'activité anti-rectocolite de l'acide tannique, comparée à celle du médicament, molécule de référence. Cette évaluation s'est basée sur le changement architectural de la muqueuse, l'infiltration des neutrophiles, la destruction des cryptes et la présence d'ulcérations.

La **figure 16A** a montré que, chez le contrôle négatif (lot I), aucun dommage histologique n'a été révélé. La paroi colique était intacte, bien régulière, bien différenciée et les signes d'inflammation ou de nécrose n'ont pas été observés.



**Figure 16 :** Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris du contrôle négatif, colorée avec Hématoxyline / Eosine. A) G×40. B) G×100, CG : Cellules de Gobelet ; CE : Cellules épithéliales ; LP : *Lamina Propria*.

En revanche, une RCUH active et diffuse a été retrouvée chez le groupe ulcéré n'ayant reçu aucun prétraitement (lot II). Des changements pathologiques représentés par une désorientation morphologique étendue et une paroi colique largement abimée sont notés (**figure 17A**). Aussi, des foyers hémorragiques dus à la vasodilatation et l'augmentation de l'afflux sanguin local, des œdèmes sous muqueux causent l'augmentation de la pression sanguine et la perméabilité des capillaires (**Stevens et al., 2004**). Ces observations sont en accord avec l'étude de **Ghasemi-Pirbaluti et al (2017)** ; On a aussi observé des cryptes anormalement courtes et moins nombreuses, une érosion de l'épithélium associé à un épuisement sévère des glandes mucifères. Une infiltration des cellules immunitaires principalement les neutrophiles a été également retrouvé au niveau de la *lamina propria* (**figure 17B**). Cette infiltration est la résultante de la libération des médiateurs de l'inflammation (histamine, sérotonine...) qui activent l'endothélium vasculaire ce qui induit l'augmentation de la capacité adhésive des neutrophiles et facilite leur migration vers le site lésionnel (**Stevens et al., 2004**). Ceci est causé par l'effet pro-inflammatoire qu'entraîne l'acide acétique au niveau de la muqueuse colique et a pour conséquence la génération des espèces réactives de l'oxygène qui à leur tour, activent le phénomène de peroxydation lipidique et aboutissent à la destruction de la muqueuse (**Thippeswamy et al., 2011 ; Rise et al., 2012**).



**Figure 17 : Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique, colorée avec Hématoxyline / Eosine.** A) G×40, Rc : Raccourcissement des cryptes ; Er : Erosion de l'épithélium ; Flèche : Perte des cellules de Goblet. B) G×100, CE : Œdème sous muqueux ; N : Infiltration des neutrophiles ; FH : Foyer hémorragique.

Par ailleurs, le traitement avec la sulfasalazine n'a pas montré une réduction significative de la gravité des dommages mais seulement une récupération discrète de la surface de la muqueuse colique et une infiltration modérée des cellules inflammatoires. Les cryptes sont toujours de forme raccourcie et moins nombreuses (**figure 18A**). Aussi, la présence de foyers hémorragiques et de vaisseaux sanguins congestifs presque similaires à ceux observés chez le contrôle positif est notée (**figure 18B**). La raison probable du fait que le traitement par la sulfasalazine n'a pas été efficace et l'effet pro-apoptotique de son métabolite actif (5-ASA) (**Reinacher-Schick *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2010**). En effet, son activité anti-inflammatoire bénéfique est contrecarrée par un effet délétère qui se résume par l'induction de l'apoptose des cellules épithéliales intestinales et l'inhibition de la régénération de la muqueuse colique (**Reinacher-Schick *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2010**). Ceci fournit une preuve que la sulfasalazine ne traite pas d'une manière efficace l'origine de la maladie mais agit uniquement par l'atténuation des symptômes.



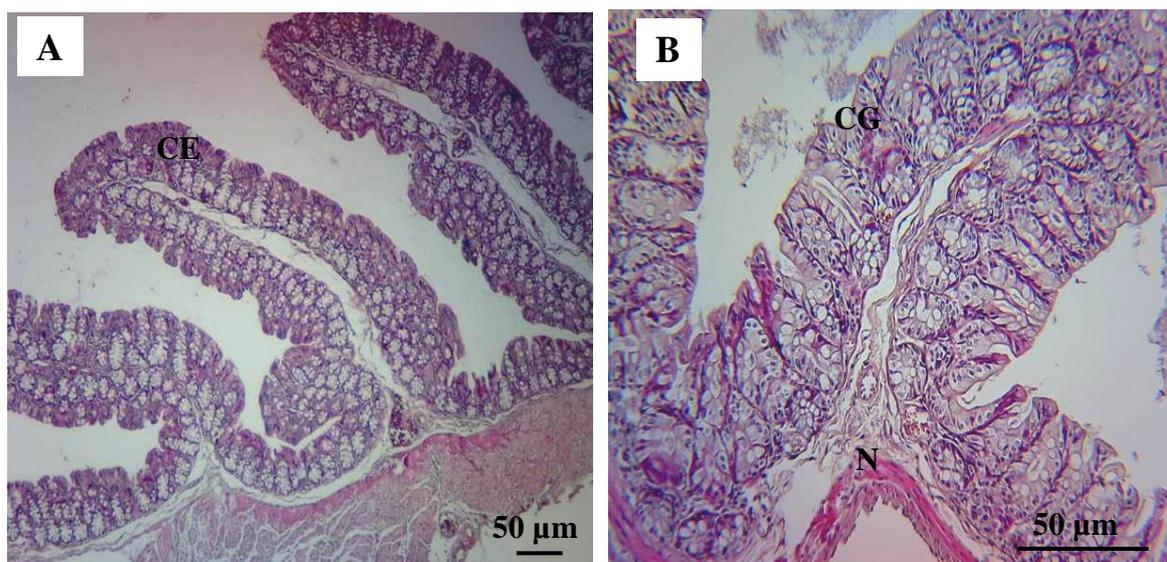
**Figure 18 : Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique et traitées avec la sulfasalazine (100 mg/Kg), colorée avec Hématoxyline / Eosine. A) G×40 : N : Infiltration des neutrophiles. Rc : Raccourcissement des cryptes. B) G×100 : FH : Foyer hémorragique.**

Par contre, la **figure 19** a révélé que le groupe prétraité par l'acide tannique (lot IV) a révélé une régénération prononcée du tissu colique avec moins de lésions par rapport au contrôle (lot II) et au groupe traité par la sulfasalazine (lot III). En effet, le traitement par l'acide tannique a minimisé les dommages coliques. Le tissu a gardé un aspect régulier, bien différencié, semblable à l'aspect normal de la paroi colique retrouvé chez le contrôle négatif (lot I) non traité avec l'acide acétique. De plus, les cellules caliciformes, le nombre et la forme des cryptes ont été apparemment reconstitués (**Figure 19A**).

En outre, l'amélioration de l'histologie colique s'est accompagnée d'une infiltration inflammatoire légère et discrète des neutrophiles (**Figure 19B**).

Ces résultats correspondent étroitement aux résultats obtenus dans l'observation morphologique et l'évaluation des scores. Ceci est probablement dû au fait que les tannins sont de puissants antioxydants capables de prévenir efficacement la peroxydation lipidique (**Maestre et al., 2013**). L'activité chélatrice de l'acide tannique est très importante du fait qu'elle réduit la concentration des métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique. En effet, le fer peut accélérer également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxy et alcoxy qui peuvent à leur tour entretenir la réaction de peroxydation lipidique (**Elmastaş et al., 2006**).

L'acide gallique, en tant que métabolite de l'acide tannique est impliqué dans l'inhibition de la réponse inflammatoire comme indiqué ci-dessus. L'étude de **Kim *et al.* (2006)** a également démontré que l'acide gallique inhibe la libération de l'histamine par les mastocytes en augmentant de de l'AMPc grâce à l'inhibition de l'AMPc phosphodiesterase. Ceci va avoir un impact direct sur l'activation de l'endothélium et l'expression de ses molécules d'adhésion ; ce qui diminuera l'adhésion des neutrophiles et leur dégranulation (**Stevens *et al.*, 2004**).



**Figure 19 : Microphotographie de la section histologique du fragment du côlon des souris atteintes de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique et traitées avec l'acide tannique (10mg/Kg), colorée avec Hématoxyline / Eosine. A) G×40 : CE : Cellules épithéliales ; B) G×100 : CG : Cellules de Gobelet ; N : Infiltration des neutrophiles.**

### **III. 3. Effet de l'induction de la RCUH sur l'activité enzymatique de la myéloperoxydase**

Il est bien connu que l'inflammation progressive causée par la RCUH active l'infiltration des neutrophiles (**Topcu-Tarlacalisir *et al.*, 2013**). Ces derniers sécrètent principalement la myéloperoxydase qui est considérée comme un indice d'inflammation. Dans notre étude, la détermination de l'activité de la myéloperoxydase s'est basée sur l'augmentation de son activité dans les conditions pathologiques de la RCUH. Dans la présente étude, notre intérêt s'est porté sur l'inhibition de la myéloperoxydase par l'acide

tannique. Plusieurs produits naturels ont été étudiés et se sont révélés comme de bons inhibiteurs de la MPO ; notamment les dérivés de tryptamine (Soubhye *et al.*, 2010).

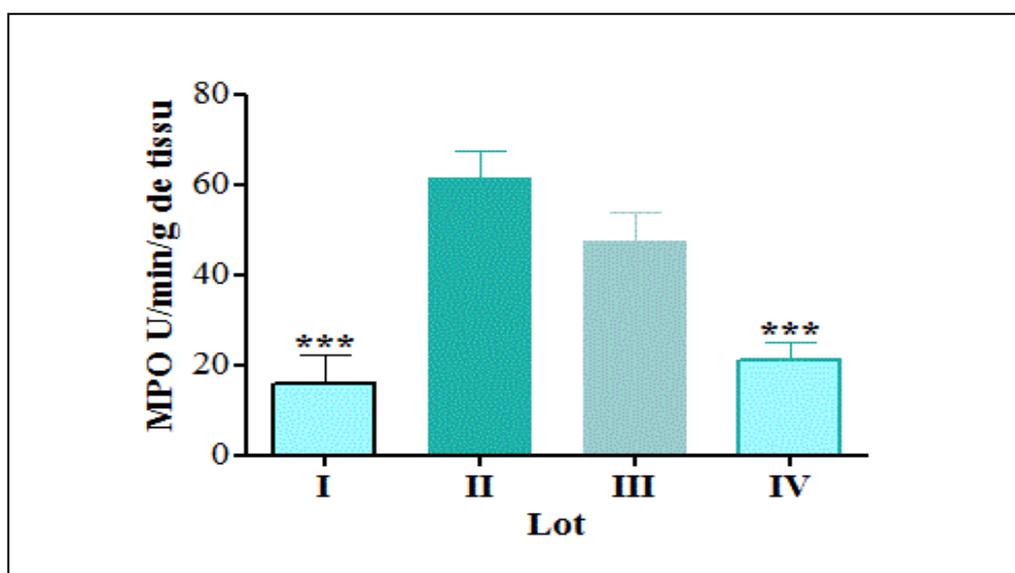
Dans cette étude, la mesure de l'activité de cette enzyme a été choisie comme étant un indice fiable de l'infiltration de neutrophiles et donc un marqueur significatif de l'inflammation.

L'effet bénéfique de l'acide tannique démontré macroscopiquement et histologiquement est confirmé après l'évaluation biochimique de l'activité de la myéloperoxydase. Après avoir mené le test pour déterminer l'activité de cette enzyme dans les homogénats des côlons prélevés, on a observé (**figure 20**) que le niveau de l'activité enzymatique de la myéloperoxydase est faible dans les tissus coliques du lot I ( $16,004 \pm 6,35$  U/min/g de tissu) alors que l'instillation rectale de l'acide acétique a nettement accru ( $p < 0,001$ ) son activité chez le lot II ( $61,33 \pm 6,07$  U/min/g de tissu) indiquant ainsi l'infiltration massive des neutrophiles au niveau du côlon enflammé. Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par **Prabhu et Guruvayoorappan (2014)**. Par contre, l'augmentation de l'activité de la myéloperoxydase chez les souris ulcérées a été fortement réduite ( $p < 0,001$ ) après l'administration de l'acide tannique ( $20,90 \pm 4,22$  U/min/g de tissu) comparé au groupe II. En revanche, la réduction de l'activité de la myéloperoxydase n'a pas été statistiquement significative après traitement par la molécule de référence ( $47,62 \pm 6,14$  U/min/g de tissu) (**figure 20**). Cette récupération modérée confirme les résultats des observations macroscopiques et l'analyse histologique qui ont montré une protection partielle du médicament contre les lésions causées par l'acide acétique.

La réduction du taux de la myéloperoxydase par l'acide tannique indique une réduction hautement significative des neutrophiles dans la muqueuse du côlon associé à un taux très faible de dommages oxydatifs, de cytotoxicité et d'inflammation colique comme on l'a vu précédemment dans l'étude histologique. Ceci est probablement attribué, grâce à la structure de l'acide tannique riche en groupements hydroxyles, à la capacité de complexer et d'inhiber la myéloperoxydase en jouant le rôle d'un substrat compétitif, et d'empêcher la production du HOCl ; ce qui aura pour conséquence la réduction de son activité (**Chung *et al.*, 1998**). L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques est un mécanisme important d'effet antioxydant pour les polyphénols. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet. Cette action est mise en évidence dans le cas de la

xanthine oxydase, enzyme du foie impliquée dans la maladie de la goutte, considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde (Cos *et al.*, 1998).

La baisse de l'activité de la myéloperoxydase lors du traitement avec l'acide tannique peut également être expliquée par le fait que celui-ci a réduit l'inflammation comme démontré dans l'étude macroscopique et l'évaluation des scores, baissant ainsi le recrutement et la dégranulation des neutrophiles au niveau du côlon enflammé qui corrèle directement avec la diminution de la libération de la myéloperoxydase.



**Figure 20 : Effet de l'administration orale de la solution véhicule (CMC 0,8 %), de la sulfasalazine (100 mg/Kg) et de l'acide tannique (10mg/Kg) sur l'activité enzymatique de la myéloperoxydase durant la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique.** Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM pour N = 6. (\*\*\*) p < 0,001) différence hautement significative comparée avec le contrôle.

A notre connaissance, l'effet antioxydant et anti-inflammatoire de l'acide tannique n'a pas été examiné précédemment dans les modèles de la rectocolite ulcéro-hémorragique. Cependant, l'efficacité de certaines plantes médicinales telles que *Pistacia lentiscus* connue pour ses vertus thérapeutiques contre l'inflammation intestinale a été validée (Palevits et Yaniv, 2000). Cette plante est une source riche en tannins (Mehenni *et al.*, 2016) qui sont, en partie responsable de l'inhibition de la synthèse des médiateurs inflammatoires telle que l'inhibition des prostaglandines et des leucotriènes (Narendra Sharath Chandra *et al.*, 2007; Da Silva *et al.*, 2008). L'acide tannique qui appartient à la classe des tannins hydrolysables, peut également participer dans l'activité anti-

inflammatoire qu'exerce *Pistacia lentiscus* suite à la libération de l'acide gallique, après ingestion, par la tannase (**figure 8**). Ce dernier, comme l'a montré **Kim et ses collaborateurs (2006)**, est responsable de l'inhibition de l'activation de p38 MAPK, et du facteur de transcription NFκB, essentiels pour l'expression des molécules et des cytokines pro-inflammatoires tels que l'histamine, TNF-α et IL-6. Aussi, une étude a démontré la capacité de tannins condensés de canneberge à maintenir l'homéostasie intestinale (**Pierre et al., 2013**). Ceci est dû à leur capacité d'atténuer l'inflammation en stimulant le niveau de mucines secrétées par les cellules de Goblet, nécessaires pour le maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale (**Pierre et al., 2013**).

Actuellement, aucune alternative thérapeutique mis à part les préparations chimiques n'est utilisée dans le traitement de la RCUH (**Zorilla et al., 2014**).

Les résultats obtenus lors de la présente étude suggère des avantages potentiels de l'acide tannique dans la prévention de la rectocolite ulcéro-hémorragique expérimentale induite par l'acide acétique. Ceci a été déduit de sa capacité à réduire les lésions intestinales, à rétablir la morphologie saine du côlon, à inhiber l'activité enzymatique de la myéloperoxydase et donc à inhiber l'infiltration des leucocytes dans le tissu colique comme montré lors de l'étude histologique. Les propriétés cicatrisantes de l'acide tannique peut aussi jouer un rôle essentiel dans la régénération des cellules épithéliales (**Okuda et al., 1983 ; Bruneton, 1999**).

La rectocolite ulcéro-hémorragique est une maladie qui affecte la qualité de vie des malades. Son étiologie n'est pas encore connue avec précision ; ce qui rend difficile d'établir un traitement de base, fixe et permanent. Bien que de nombreux agents thérapeutiques soient disponibles, ils ne sont pas dépourvus d'effets néfastes. C'est pour cela qu'une option thérapeutique alternative à base de nouvelles molécules d'origine végétale est nécessaire.

Notre choix sur l'acide tannique, un polyphénol qui fait partie de la classe des tannins s'est basé sur ses propriétés guérissantes des blessures et des muqueuses enflammées. Cependant, son activité préventive sur la physiopathologie de la rectocolite ulcéreuse n'a pas encore été testée.

L'étude comparative entre l'acide tannique et la molécule de référence : la sulfasalazine a démontré que l'acide tannique a réduit l'étendue des lésions intestinales avec un score macroscopique de  $(5,5 \pm 0,92)$  comparé à celui trouvé chez le groupe contrôle  $(9,5 \pm 0,34)$ . Pour la sulfasalazine, les résultats obtenus ont été moyennement faibles  $(6,33 \pm 0,98)$ .

L'étude histologique a également confirmé l'efficacité de l'acide tannique qui était supérieure à celle de la sulfasalazine.

Les résultats obtenus de l'activité de la MPO permettent de conclure que l'acide tannique a permis de réduire de façon considérable l'activité de cette enzyme à un pourcentage égale à 65% alors que la sulfasalazine la réduit que de 22%.

Cependant, cela reste une étude préliminaire qui nécessite des études complémentaires et approfondies dont de nombreuses perspectives peuvent être envisagées. Ces perspectives se résument par l'examen du mécanisme d'action de l'acide tannique en étudiant :

- son effet sur le radical NO qui est impliqué dans le processus inflammatoire ;
- son effet cicatrisant sur les cellules de Goblet ;
- son manque de toxicité dans un modèle de RCUH chronique ;
- son effet combiné à celui de la sulfasalazine ;
- son effet sur la peroxydation lipidique au niveau de la paroi colique.



### A

- Allez, M. (2008). Utilisation pratique des anticorps monoclonaux anti-TNF au cours des maladies inflammatoires de l'intestin. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 32, 467-477.
- Allison, J., Herrinton, L. J., Liu, L., Yu, J., & Lowder, J. (2008). Natural history of severe ulcerative colitis in a community-based health plan. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 6(9), 999-1003.
- Alonso, V., Linares, V., Bellés, M., Albina, M. L., Sirvent, J. J., Domingo, J. L., & Sánchez, D. J. (2009). Sulfasalazine induced oxidative stress: a possible mechanism of male infertility. *Reproductive Toxicology*, 27(1), 35-40.
- Artis, D. (2008). Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nature Reviews Immunology*, 8(6), 411-420.

### B

- Balamane, A., Smail, N., & Benhabyles, A. (2013). Quelques données épidémiologiques de la maladie de Crohn à Alger : Réunion de Consensus sur la Maladie de Crohn, 25 -26/09/2013, Algérie, 26-27.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Baumgart, D. C. et Sandborn, W. J. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects of established and evolving therapies. *The Lancet*, 369(9573), 1641-1657.
- Beckman, C. H. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants?. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57(3), 101-110.
- Belon, J. P. et Lacour, B. (2015). Physiologie. *Edition Elsevier Masson*, Italie. 254-255.
- Bouhnik, Y. (2006). Manifestations extradigestives des maladies inflammatoires chroniques intestinales. *La Revue de Médecine Interne*, 27, 51-53.
- Brown, J. B., Lee, G., Managlia, E., Grimm, G. R., Dirisina, R., Goretsky, T., Goretsky, T., Cheresch, P., Blatner, N.R., Khazaie, K., Yang, G.Y., & Li, L. (2010).

Mesalamine inhibits epithelial  $\beta$ -catenin activation in chronic ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 138(2), 595-605.

- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc, Paris, 658-666.



- Cario, E. (2005). Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. *Gut*, 54(8), 1182-1193.
- Chen, Y., Chou, K., Fuchs, E., Havran, W. L., & Boismenu, R. (2002). Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial  $\gamma\delta$  T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(22), 14338-14343.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., & Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421-464.
- Clifford, M. N. (1999). Appendix1. A Nomenclature for Phenols with Special Reference to Tea, *Washington*, 41, 393-397.
- Colombel, J. F., Sandborn, W. J., Reinisch, W., Mantzaris, G. J., Kornbluth, A., Rachmilewitz, D., Lichtiger, S., D'haens, G., Diamond, R. H., Broussard, D. L., Tang, K. L., Vander-Woude, C. J., & Rutgeerts, P. (2010). Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *New England Journal of Medicine*, 362(15), 1383-1395.
- Cortot, A., Pineton, D. C. G., Vernier-Massouille, G., Vigneron, B., & Gower, R. C. (2008). Inflammatory bowel disease: genetic or environmental diseases?. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 33(8-9), 681-691.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A. J., & Berghe, D. V. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61(1), 71-76.
- Cosnes, J. (2004). Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(3), 481-496.

- Costa, A. M., Ribeiro, W. X., Kato, E., Monteiro, A. R. G., & Peralta, R. M. (2008). Production of tannase by *Aspergillus tamarii* in submerged cultures. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(2), 399-404.



- D Archivio, D.M., Filesi, C., Di Benedetto, R.Di., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348-361.
- Da Silva, S. L., Calgarotto, A. K., Chaar, J. S., & Marangoni, S. (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA 2 activity. *Toxicon*, 52(6), 655-666.
- DeMichele, J., Rezaizadeh, H., & Goldstein, J. I. (2012). Sulfasalazine crystalluria-induced anuric renal failure. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(2), 32.
- Dubuquoy, L., Jansson, E. Å., Deeb, S., Rakotobe, S., Karoui, M., Colombel, J. F., Auwerx, J., Pettersson, S., & Desreumaux, P. (2003). Impaired expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 124(5), 1265-1276.
- Duerkop, B. A., Vaishnava, S., & Hooper, L. V. (2009). Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity*, 31(3), 368-376.



- Eckert, R., Randall, D., Burggren, W., & French, K. (1999). Équilibre ionique et osmotique. Physiologie animale. Mécanismes et adaptation», *De Boeck Université, Bruxelles, Paris*, 571-626.
- Ekbohm, A. et Montgomery, S. M. (2004). Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): critical analysis of old and new hypotheses. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(3), 497-508.
- Elliott, P. R., Powell-Tuck, J., Gillespie, P. E., Laidlow, J. M., Lennard-Jones, J. E., English, J., Chakraborty, J., & Marks, V. (1980). Prednisolone absorption in acute colitis. *Gut*, 21(1), 49-51.

- Elmastaş, M., Gülçin, I., Işildak, Ö., Küfrevioğlu, Ö. İ., İbaoglu, K., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of Iranian Chemical Society- Springer*, 3, 258-266.



- Farquhar, M. G. et Palade, G. E. (1963). Junctional complexes in various epithelia. *The Journal of Cell Biology*, 17(2), 375-412.
- Ferguson, L. R. (2010). Chronic inflammation and mutagenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 690(1), 3-11.
- Fiocchi, C. (1998). Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, 115(1), 182-205.
- Frank, D. N., Robertson, C. E., Hamm, C. M., Kpadeh, Z., Zhang, T., Chen, H., Zhu, W., Sartor, R. B., Boedeker, E., Harpaz, N., & Pace, N. R. (2011). Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(1), 179-184.
- Frutos, P., Hervas, G., Giráldez, F. J., & Mantecón, A. R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202.



- Garrity-Park, M., Loftus, E. V., Sandborn, W. J., & Smyrk, T. C. (2012). Myeloperoxidase immunohistochemistry as a measure of disease activity in ulcerative colitis: Association with ulcerative colitis-colorectal cancer, tumor necrosis factor polymorphism and RUNX3 methylation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(2), 275-283.
- Ghasemi-Pirbaluti, M., Motaghi, E., Najafi, A., & Hosseini, M. J. (2017). The effect of theophylline on acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 153-159.
- Gibson, P. (1993). Anomalies cellulaires de l'épithélium au cours des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. *Médecine Sciences*, 9(8-9), 860-867.
- Gibson, P. R. et Jewell, D. P. (1985). Sulphasalazine and derivatives, natural killer activity and ulcerative colitis. *Clinical Science*, 69(2), 177-184.

### H

- Hanauer, S. B. et Present, D. H. (2002). The state of the art in the management of inflammatory bowel disease. *Reviews in Gastroenterological Disorders*, 3(2), 81-92.
- Hartmann, R. M., Martins, M. I. M., Tieppo, J., Fillmann, H. S., & Marroni, N. P. (2012). Effect of *Boswellia serrata* on antioxidant status in an experimental model of colitis rats induced by acetic acid. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(8), 2038-2044.
- Hould, R. (1984). Techniques d'histopathologie et cytologie. *Edition Maloine*, Paris, Canada, 400.

### I

- Ismail, A. S., Behrendt, C. L., & Hooper, L. V. (2009). Reciprocal interactions between commensal bacteria and  $\gamma\delta$  intraepithelial lymphocytes during mucosal injury. *The Journal of Immunology*, 182(5), 3047-3054.

### J

- Jalan, K. N., Sircus, W., Card, W. I., Falconer, C. W., Bruce, C. B., Crean, G. P., McManus, J. P., Small, W. P., & Smith, A. N. (1969). An experience of ulcerative colitis. I. Toxic dilation in 55 cases. *Gastroenterology*, 57(1), 68-82.
- Jess, T., Rungoe, C., & Peyrin-Biroulet, L. (2012). Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(6), 639-645.

### K

- Kannan, N. et Guruvayoorappan, C. (2013). Protective effect of *Bauhinia tomentosa* on acetic acid induced ulcerative colitis by regulating antioxidant and inflammatory mediators. *International Immunopharmacology*, 16(1), 57-66.
- Keston, A. S. (1956). Specific colorimetric enzymatic analytical reagents for glucose. In *papers, 129th Meeting of the American Chemical Society, Dallas, TX, USA*, 31.
- Khan, K. J., Dubinsky, M. C., Ford, A. C., Ullman, T. A., Talley, N. J., & Moayyedi, P. (2011). Efficacy of immunosuppressive therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 106(4), 630-642.

- Khor, B., Gardet, A., & Xavier, R. J. (2011). Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), 307-317.
- Kim, S. H., Jun, C. D., Suk, K., Choi, B. J., Lim, H., Park, S., Lee, S. H., Shin, H.Y., Kim, D. K., & Shin, T. Y. (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicological Sciences*, 91(1), 123-131.
- Kirsner, J. B. (1988). Historical aspects of inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 10(3), 286-297.
- Klotz, C., Barret, M., Dhooge, M., Oudjit, A., Chaussade, S., Coriat, R., & Abitbol, V. (2015). Rectocolite hémorragique: conduite diagnostique et prise en charge thérapeutique. *La Presse Médicale*, 44(2), 144-149.
- Kornbluth, A. et Sachar, D. B. (2010). Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American college of gastroenterology, practice parameters committee. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(3), 501-523.
- Koutroubakis, I. E., Vlachonikolis, I. G., & Kouroumalis, E. A. (2002). Role of appendicitis and appendectomy in the pathogenesis of ulcerative colitis: a critical review. *Inflammatory Bowel Diseases*, 8(4), 277-286.



- Lee, J., Mo, J. H., Katakura, K., Alkalay, I., Rucker, A. N., Liu, Y. T., Lee, H.K., Shen, C., Cojocar, G., Shenouda, S., Kagnoff, M., Eckmann, L., Ben-Neriah, Y., et Raz, E., & Kagnoff, M. (2006). Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nature Cell Biology*, 8(12), 1327-1336.
- Lih-Brody, L., Powell, S. R., Collier, K. P., Reddy, G. M., Cerchia, R., Kahn, E., Weissman, G.S., Katz, S., Floyd, R.A., Mckinley, M.J., Fisher, S.E., & Mullin, G. E. (1996). Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 41(10), 2078-2086.
- Linares, V., Alonso, V., Albina, M. L., Bellés, M., Sirvent, J. J., Domingo, J. L., & Sánchez, D. J. (2009). Lipid peroxidation and antioxidant status in kidney and liver of rats treated with sulfasalazine. *Toxicology*, 256(3), 152-156.
- Liu, D. Y., Guan, Y. M., Zhao, H. M., Yan, D. M., Tong, W. T., Wan, P. T., Zhu, W. F., Liu, H. N., & Liang, X. L. (2012). The protective and healing effects of Si Shen

Wan in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 435-440.

- Lotz, M., Ménard, S., & Hornef, M. (2007). Innate immune recognition on the intestinal mucosa. *International Journal of Medical Microbiology*, 297(5), 379-392.
- Louis, E., Van Kemseke, C., Latour, P., Belaiche, J., & Reenaers, C. (2012). Génétique et environnement dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Revue Médicale de Liège*, 67(5-6), 298-304.



- Maestre, R., Douglass, J. D., Kodukula, S., Medina, I., & Storch, J. (2013). Alterations in the intestinal assimilation of oxidized PUFAs are ameliorated by a polyphenol-rich grape seed extract in an in vitro model and Caco-2 cells. *The Journal of Nutrition*, 143(3), 295-301.
- Malle, E., Furtmüller, P. G., Sattler, W., & Obinger, C. (2007). Myeloperoxidase: a target for new drug development?. *British journal of Pharmacology*, 152(6), 838-854.
- Maloy, K. J. et Powrie, F. (2011). Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), 298-306.
- Marteau, P., Seksik, P., Beaugerie, L., Bouhnik, Y., Reimund, J. M., Gambiez, L., Flourié, B., & Godeberge, P. (2004). Recommandations pour la pratique clinique dans le traitement de la rectocolite ulcéro-hémorragique. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 28(10), 955-960.
- Mary, J. Y. et Modigliani, R. (1989). Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut*, 30(7), 983-989.
- Matter, K., & Balda, M. S. (2003). Signalling to and from tight junctions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(3), 225-237.
- Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 653-669.
- Mishra, S. K., Kang, J. H., Kim, D. K., Oh, S. H., & Kim, M. K. (2012). Orally administered aqueous extract of *Inonotus obliquus* ameliorates acute inflammation in

dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 524-532.

- Mladěnka, P., Macáková, K., Filipský, T., Zatloukalová, L., Jahodář, L., Bovicelli, P., Ilria, P. S., Radomir, H., & Saso, L. (2011). In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105(5), 693-701.
- Molodecky, N. A., Soon, S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H. W., & Kaplan, G. G. (2012). Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142(1), 46-54.
- Murugan, K., Saravanababu, S., & Arunachalam, M. (2007). Screening of tannin acyl hydrolase (EC 3.1. 1.20) producing tannery effluent fungal isolates using simple agar plate and SmF process. *Bioresource Technology*, 98(4), 946-949.



- Narendra Sharath Chandra, J. N., Ponnappa, K. C., Sadashiva, C. T., Priya, B. S., Nanda, B. L., Veerabasappa Gowda, T., Vishwanath, B.S & Rangappa, K. S. (2007). Chemistry and structural evaluation of different phospholipase A2 inhibitors in arachidonic acid pathway mediated inflammation and snake venom toxicity. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7(8), 787-800.



- Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H., & Arichi, S. (1983). Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(5), 1625-1631.
- Ordás I., Eckmann L., Talamini M., Baumgart DC., & Sandborn W. (2012). «Ulcerative colitis. » *Lancet (london, England)*, 380(9853) :1606-1619.
- Osawa, R. et Walsh, T. P. (1993). Visual reading method for detection of bacterial tannase. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4), 1251-1252.



- Palevits, D. et Yaniv, Z. (2000). Medicinal plants of the Holy Land. *Edition Modan*, 358.
- Parke, A. et Parke, D. V. (1995). The pathogenesis of inflammatory disease: Surgical shock and multiple system organfailure. *Inflammopharmacology*, 3, 149-168.
- Parkes, M., Barrett, J. C., Prescott, N. J., Tremelling, M., Anderson, C. A., Fisher, S. A., Roberts, R. G., Nimmo, E. R., Cummings, F. R., Soars, D., Drummond, H., Lees, C. W., Khawaja, S. A., Bagnall, R., Burke, D. A., Todhunter, C. E., Ahmad, T., Onnie, C. M., McArdle, W., Strachan, D., Bethel, G., Bryan, C., Lewis, C. M., Deloukas, P., Forbes, A., Sanderson, J., Jewell, D. P., Satsangi, J., Mansfield, J. C. The Wellcome Trust Control Consortium., Cardon L., & Mathew CG (2007). Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nature Genetics*, 39(7), 830-832.
- Pierre, J. F., Heneghan, A. F., Feliciano, R. P., Shanmuganayagam, D., Roenneburg, D. A., Krueger, C. G., Reed, J. D., & Kudsk, K. A. (2013). Cranberry proanthocyanidins improve the gut mucous layer morphology and function in mice receiving elemental enteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 37(3), 401-409.
- Pizarro, T. T. et Cominelli, F. (2007). Cytokine therapy for Crohn's disease: advances in translationalresearch. *Annual Review of Medicine*, 58, 433-444.
- Prabhu, V. et Guruvayoorappan, C. (2014). Protective effect of marine mangrove *Rhizophora apiculata* on acetic acid induced experimental colitis by regulating antioxidant enzymes, inflammatory mediators and nuclear factor-kappa B subunits. *International Immunopharmacology*, 18(1), 124-134.



- Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, 118(2), 229-241.
- Rasenack, J. (2010). Practice manuel, bowel disease. *Falk Pharm*.
- Rausch, P. G., Pryzwansky, K. B., & Spitznagel, J. K. (1978). Immunocytochemical identification of azurophilic and specific granule markers in the giant granules of Chediak-Higashi neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 298(13), 693-698.

- Reinacher-Schick, A., Seidensticker, F., Petrasch, S., Reiser, M., Philippou, S., Theegarten, D., & Schmiegel, W. (2000). Mesalazine changes apoptosis and proliferation in normal mucosa of patients with sporadic polyps of the large bowel. *Endoscopy*, 32(03), 245-254.
- Rise, C. V., Prabhu, V. V., & Guruvayoorappan, C. (2012). Effect of Marine Mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh Against Acetic Acid- Induced Ulcerative Colitis in Experimental Mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 31(2), 179-192.
- Rodriguez-Palacios, A. et Cominelli, F. (2015). Stereomicroscopy and 3D-target myeloperoxidase intestinal phenotyping following a fecal flora homogenization protocol. *Protocol Exchange*, 65, 6-11.



- Sampson, A. P. (2000). The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. *Clinical and Experimental Allergy*, 30, 22-27.
- Sanz, Y. et De Palma, G. (2009). Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. *International Reviews of Immunology*, 28(6), 397-413.
- Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Edition Lavoisier / Tec & Doc*, 1-3.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287-306.
- Schindhelm, R. K., van der Zwan, L. P., Teerlink, T., & Scheffer, P. G. (2009). Myeloperoxidase: a useful biomarker for cardiovascular disease risk stratification?. *Clinical Chemistry*, 55(8), 1462-1470.
- Schultz, J. et Kaminker, K. (1962). Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 96(3), 465-467.
- Schulzke, J. D., Bojarski, C., Zeissig, S., Heller, F., Gitter, A. H., & Fromm, M. (2006). Disrupted barrier function through epithelial cell apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1072(1), 288-299.

- Shibolet, O., & Podolsky, D. K. (2007). TLRs in the Gut. IV. Negative regulation of Toll-like receptors and intestinal homeostasis: addition by subtraction. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(6), 1469-1473.
- Singh, U. P., Singh, N. P., Busbee, B., Guan, H., Singh, B., Price, R. L., Taub, D.D., Mishra, M. k., & Nagarkatti, P. S. (2012). Alternative medicines as emerging therapies for inflammatory bowel diseases. *International Reviews of Immunology*, 31(1), 66-84.
- Soubhye, J., Prévost, M., Van Antwerpen, P., Zouaoui Boudjeltia, K., Rousseau, A., Furtmüller, P. G., Obinger, C., Vanhaeverbeek, M., Neve, J., Gelbcke, M., & Dufrasne, F. O. (2010). Structure-based design, synthesis, and pharmacological evaluation of 3-(aminoalkyl)-5-fluoroindoles as myeloperoxidase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(24), 8747-8759.
- Spencer, J. P., El Mohsen, M. M. A., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, 99(01), 12-22.
- Stein, R. B., & Hanauer, S. B. (2000). Comparative tolerability of treatments for inflammatory bowel disease. *Drug Safety*, 23(5), 429-448.
- Stevens, A., Lowe, J., & Young, B. (2004). Anatomie pathologique. 4<sup>ème</sup> édition, *De Boeck Supérieur*. 10-11.
- Sugiyama, S., Okada, Y., Sukhova, G. K., Virmani, R., Heinecke, J. W., & Libby, P. (2001). Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *The American Journal of Pathology*, 158(3), 879-891.
- Suzuki, K. et Fagarasan, S. (2008). How host-bacterial interactions lead to IgA synthesis in the gut. *Trends in Immunology*, 29(11), 523-531.



- Targan, S. R. et Karp, L. C. (2005). Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunological Reviews*, 206(1), 296-305.
- Thippeswamy, B. S., Mahendran, S., Biradar, M. I., Raj, P., Srivastava, K., Badami, S., & Veerapur, V. P. (2011). Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 654(1), 100-105.
- Topcu-Tarladacalisir, Y., Akpolat, M., Uz, Y. H., Kizilay, G., Sapmaz-Metin, M., Cerkezkayabekir, A., & Omurlu, I. K. (2013). Effects of Curcumin on Apoptosis and

Oxidoinflammatory Regulation in a Rat Model of Acetic Acid–Induced Colitis: The Roles of c-Jun N-Terminal Kinase and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase. *Journal of Medicinal Food*, 16(4), 296-305.



- Vaishnava, S., Behrendt, C. L., Ismail, A. S., Eckmann, L., & Hooper, L. V. (2008). Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(52), 20858-20863.
- Van der Sluis, M., De Koning, B. A., De Bruijn, A. C., Velcich, A., Meijerink, J. P., Van Goudoever, J. B., Buller, H.A., Dekker, J., Van Seuningen, I., Benes, B.I., & Einerhand, A. W. (2006). Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*, 131(1), 117-129.
- Venteo, L. et Velot, E. (2010). L'importance de la fixation en histochimie. *Association Française d'Histotechnologie*, 23(1), 25-32.
- Vidal, A., Gómez-Gil, E., Sans, M., Portella, M. J., Salamero, M., Piqué, J. M., & Panés, J. (2006). Life events and inflammatory bowel disease relapse: a prospective study of patients enrolled in remission. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(4), 775-781.



- Wahl, C., Liptay, S., Adler, G., & Schmid, R. M. (1998). Sulfasalazine: a potent and specific inhibitor of nuclear factor kappa B. *Journal of Clinical Investigation*, 101(5), 1163-1174.
- Weil, S. C., Rosner, G. L., Reid, M. S., Chisholm, R. L., Lemons, R. S., Swanson, M. S., & Le Beau, M. M. (1988). Translocation and rearrangement of myeloperoxidase gene in acute promyelocytic leukemia. *Science*, 240(4853), 790-793.
- Weizman, A. V., Ahn, E., Thanabalan, R., Leung, W., Croitoru, K., Silverberg, M. S., Steinhart, A.H., & Nguyen, G. C. (2012). Characterisation of complementary and alternative medicine use and its impact on medication adherence in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 35(3), 342-349.

- Welcker, K., Martin, A., Kolle, P., Siebeck, M., & Gross, M. (2004). Augmentation de la perméabilité intestinale chez les patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin. *European Journal of Medical Research*, 9, 456-460.
- Wells, J. M., Loonen, L. M., & Karczewski, J. M. (2010). The role of innate signaling in the homeostasis of tolerance and immunity in the intestine. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1), 41-48.



- Zahraoui, A., Louvard, D., & Galli, T. (2000). Tight junction, a platform for trafficking and signaling protein complexes. *The Journal of Cell Biology*, 151(5), 31-36.
- Zorrilla, P., Rodriguez-Nogales, A., Algieri, F., Garrido-Mesa, N., Olivares, M., Rondón, D., Zarzuelo, A., Utrilla, M. P., Galvez, J., & Rodriguez-Cabezas, M. E. (2014). Intestinal anti-inflammatory activity of the polyphenolic-enriched extract Amanda® in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Journal of Functional Foods*, 11, 449-459.

## *Glossaire*

**Appendicectomie** : est un acte chirurgical consistant en l'ablation de l'appendice iléo-cæcal, essentiellement au cours d'une appendicite.

**Cancer colorectal** : terme qui regroupe le cancer du côlon et du rectum. Il se développe à partir de la muqueuse du côlon sigmoïde.

**Colestasie** : est une dilatation massive (Augmentation du diamètre) du côlon gauche ou transverse.

**Homéostasie intestinale** : est la capacité à l'épithélium de s'adapter à son environnement et aux différentes situations de stress en participant aux défenses antibactériennes, en contrôlant la composition de la flore intestinale et la réponse immunitaire.

**Insuffisance rénale** : est une maladie grave qui entraîne une détérioration graduelle et irréversible de la capacité des reins à filtrer le sang et à excréter certaines hormones.

**Oponisation** : est un processus biochimique par lequel une molécule recouvre la membrane d'une cellule du corps infectée par un agent infectieux pour favoriser sa phagocytose.

## Résumé

La rectocolite est une maladie répandue avec une étiologie hétérogène (génétique et immunologique). Elle est traitée par des médicaments comme la salazopyrine® qui, à long terme peut causer des effets secondaires. Pour cela, la valorisation des ressources naturelles pour combattre ce type de maladie est la préoccupation des chercheurs. Le but de notre étude a été de tester l'effet anti-rectocolite de l'acide tannique qui appartient à la gamme des polyphénols complexes. La rectocolite a été induite chez des souris albinos par l'acide acétique (3%). Les souris ont été séparées en quatre groupes : le contrôle négatif (non traité et non ulcéré), le groupe contrôle (ulcéré), le contrôle positif ulcéré et traité avec la salazopyrine® (100mg/kg), et le groupe test ulcéré et traité par l'acide tannique (10mg/kg). L'efficacité de l'acide tannique a été évaluée par un score après observation macroscopique, par analyses histologique et biochimique, cette dernière reposant sur l'estimation de l'activité de la myéloperoxydase. Les observations macroscopiques ont démontré que l'acide tannique a réduit de façon très significative les dommages de la muqueuse du côlon causés par l'acide acétique avec un score de (5,5 ± 0,92) par rapport à ceux du contrôle positif qui a réduit de façon moindre l'ulcère (6,33 ± 0,98). L'analyse microscopique (histologie) a pu valider l'effet de l'acide tannique évalué par la diminution de l'infiltration des neutrophiles dans le côlon qui est directement corrélée avec l'activité enzymatique de la MPO. Un pourcentage de réduction de 65 % et de 22% de celle-ci a été trouvé après traitement par l'acide tannique et la salazopyrine® respectivement. Ces résultats fournissent une preuve que l'acide tannique a un effet protecteur dans la colite ulcéreuse qui pourrait être dû à ses activités antioxydantes, anti-inflammatoires et cicatrisantes.

**Mots clés :** Rectocolite, polyphénols, anti-ulcère, acide tannique, salazopyrine®, anti-inflammatoire.

## Abstract

Rectocolitis is a widespread disease with a heterogeneous etiology (genetic and immunologic). It is treated by medicines such as salazopyrine® that is toxic in the long term and may cause secondary effects. That is why the validation of natural resources to combat this type of diseases is a matter of concern for many researchers. The purpose of our study was to test the anti-rectocolitis effect of tannic acid that belongs to the range of complex polyphenols. To evaluate the anti-ulcer activity induced by acetic acid (3%), albino mice were separated into 4 groups: negative control (untreated and non-ulcerated), normal control (ulcerated and untreated), positive control ulcerated and treated with salazopyrine® (100mg/kg) as a reference molecule, and the group ulcerated and treated with tannic acid (10mg/kg). The efficiency of tannic acid was evaluated macroscopically by a score, histological and biochemical analysis, the latter by the estimation of myeloperoxidase activity. Macroscopic observations have demonstrated that tannic acid significantly reduced damage caused by acetic acid, with highly significant results (5.5 ± 0.92) by comparison with those of the positive control, and with a value of (9.33 ± 0.98) for salazopyrine® which decreased in a significantly way the ulcer. Microscopic analysis (histology) was also able to validate the effect of tannic acid by the decrease in neutrophil infiltration in the colon, which was proportional to the low levels of MPO. A reduction percentage of 65% and 22% were found after treatment with tannic acid and salazopyrine®, respectively. These results provide evidence that tannic acid has a protective effect in ulcerative colitis that could be due to its antioxidant, anti-inflammatory and healing activities.

**Keywords:** Colitis, polyphenols, anti-ulcer, tannic acid, salazopyrine®, anti-inflammatory.

## ملخص

التهاب القولون هو مرض شائع مع اسباب (متعددة جينية ومناعية). يتم علاجه بالأدوية مثل سلازيبيرين® والذي على المدى الطويل يسبب آثار جانبية. لهذا، للجوء الي تنمية الموارد الطبيعية لمكافحة هذا النوع من المرض هو اهتمام الباحثين. الهدف من دراستنا هو اختبار تأثير مضاد للالتهاب القولون حمض التانيك الذي ينتمي إلى مجموعة من البوليفينول المعقدة. التهاب القولون سبب لدى الفئران بواسطة حمض الاسيتيك (3%). تم فصل الفئران إلى أربع مجموعات: مجموعة سلبية (غير معالجة و غير منقرحة)، مجموعة شاهدة (منقرحة)، مجموعة ايجابية معالجة بسلازيبيرين® (100 مغ / كغ) ومجموعة اختبار تعامل مع حمض التانيك (10 مغ / كغ). تم تقييم فعالية حمض التانيك بعد المراقبة بالعين المجردة والنسجية والتحليلات الكيميائية، هذه الأخيرة تقوم على تقدير نشاط الميلوبروكسيداز. أظهرت النتائج ان حمض التانيك قلل بشكل كبير الأضرار التي لحقت بطانة القولون الناجم عن حمض الخليك، الملاحظات الميكروسكوبية للقولون اعطت نتائج مهمة للغاية (5.5 ± 0.92) مقارنة مع نتائج المجموعة الإيجابية التي خفضت إلى حد أقل القرحة (9.33 ± 0.98). التحليل المجهرى (الأنسجة) أكد من صحة تأثير حمض التانيك الذي يقوم بتخفيض في تسلسل خلايا النيوتروفيل في الانسجة الذي يرتبط مباشرة مع النشاط الأنزيمي ل MPO. حيث اظهر فعاليتيه بتخفيض نسبة هذه الاخيرة ب 65% و 22% بعد العلاج ب حمض التانيك و سلازيبيرين®، على التوالي. هذه النتائج تقدم دليلا على أن حمض التانيك له تأثير وقائي في التهاب القولون التقرحي الذي قد يكون عائدا لمضادات الأوكسدة، المضادة للالتهابات وتضميد الجراح.

**الكلمات الرئيسية:** التهاب القولون، البوليفينول، مضاد للقرحة، حمض التانيك، سلازيبيرين®، المضادة للالتهابات.

