

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BadjiMokhtar Annaba University
Université BadjiMokhtar – Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie



جامعة باجي مختار –
عنابة
كلية العلوم
قسم البيولوجيا

Thèse

Présentée pour obtenir le diplôme de

Doctorat Troisième Cycle

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Santé environnementale

Par :

LOUAHEM Soumaya

Thème :

Etude préventive et curative d'un composé bioactif , de la famille des flavonoides, lutéoléine , chez un modèle animal cancéreux

Membre de jury :

N°	Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
01	Amrani Leila	Prof.	Université Badji Mokhtar -Annaba	Président
02	Ouali Kheireddine	Prof.	Université Badji Mokhtar -Annaba	Rapporteur
03	Lakbar Chanez	MCA	Université Badji Mokhtar -Annaba	Examineur
04	Khaldi Fadila	Prof.	Université Cherif Massaadia -Souk Ahras	Examineur
05	Baba Ahmed Fedia	MCA	Université Chadli benjedid-el Taref	Examineur

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Après avoir rendu grâce à DIEU,

Au terme de ce travail de thèse, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à sa réalisation.

*Mes premiers remerciements s'adressent à mon directeur de thèse, **Professeur, Ouali Kheireddine**, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, ses précieux conseils et la confiance qu'il m'a accordée tout au long de ce parcours de recherche. Son soutien scientifique et humain a été déterminant dans l'aboutissement de ce travail.*

*J'adresse également mes sincères remerciements **aux membres du jury** qui ont accepté d'évaluer cette thèse et d'y consacrer leur temps et leur expertise. Leurs remarques et suggestions contribueront à enrichir ce travail.*

*Je remercie chaleureusement l'ensemble des enseignants, chercheurs et personnels administratifs du département de biologie de **l'université de Badji Mokhtar Annaba**, pour leur accompagnement, leur disponibilité et les conditions de travail qu'ils ont mises à ma disposition.*

*Mes remerciements vont également à **mes collègues, amis et collaborateurs** qui ont partagé avec moi leurs connaissances, leurs encouragements et leurs conseils durant ces années de recherche.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **ma famille** pour son soutien inconditionnel, sa patience, ses sacrifices et ses encouragements constants. Leur confiance en moi a constitué une source de motivation essentielle dans les moments les plus exigeants de ce parcours.*

Enfin, une pensée particulière est adressée à toutes les personnes qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de cette thèse et à mon épanouissement personnel et professionnel.

الملخص :

أن التعديلات الغذائية يمكن أن تساعد في الحد من حدوث سرطان القولون والمستقيم. في هذا السياق، قِيمت الدراسة الحالية الإمكانيات الوقائية لمضاد الأكسدة لوتبولين، وهو فلافونويد غذائي، على تطور الآفات ما قبل السرطانية وعلى الإجهاد التأكسدي الناجم عن 1، 2-ثنائي ميثيلهيدرازين (DMH) لدى الفئران. قُسم أربعة وعشرون فأراً إلى أربع مجموعات: المجموعة الضابطة، ومجموعة DMH فقط، ومجموعة Lu + DMH، ومجموعة لوتبولين فقط. ولتحفيز نموذج سرطان القولون والمستقيم، أُعطيت حقنة أسبوعية تحت الجلد بجرعة 30 ملغ من DMH/كغ من وزن الجسم لمدة أربعة أسابيع. أُعطي لوتبولين (20 ملغ/كغ من وزن الجسم) يومياً عن طريق التغذية الأنبوبية قبل حقن DMH لمدة أربعة أسابيع. أدى إعطاء DMH إلى تغيرات مورفولوجية ونسجية في القولون، يتضح من خلال تكوين آفة ما قبل السرطان وبدء تسرطن القولون. وقد تأكد ذلك من خلال زيادة ملحوظة في مستضد السرطان الجنيني (CEA) واختلال في توازن الأكسدة والاختزال، والذي اتسم بارتفاع مستويات مالونديالدهيد (MDA) وانخفاض الجلوتاثيون (GSH) إلى جانب انخفاض نشاط إنزيمي الكاتالاز والجلوتاثيون بيروكسيداز. أدى إعطاء اللوتبولين الوقائي للحيوانات المعالجة بـ DMH إلى تقليل الآفات وتحسين توازن الأكسدة والاختزال ونسيج القولون. وتشير هذه النتائج مجتمعة إلى أن العلاج المسبق باللوتبولين يمكن أن يخفف بفعالية من تلف القولون الناتج عن DMH، كما يتضح من مستويات مستضد السرطان الجنيني (CEA)، وأكسدة الدهون، ونشاط إنزيمات مضادات الأكسدة.

«Etude préventive et curative d'un composé bioactif , de la famille des flavonoides, lutéoline , chez un modèle animal cancéreux »

Résumé :

Les rapports épidémiologiques établissent une relation entre l'alimentation et le cancer colorectal (CCR), suggérant que des modifications nutritionnelles pourraient contribuer à prévenir l'incidence du CCR. Dans cette optique, cette étude a été réalisée pour évaluer l'efficacité de la supplémentation d'un antioxydant la lutéoline ; flavonoïde alimentaire, sur le développement de lésions pré-néoplasiques et sur le stress oxydatif induits par la 1,2-diméthylhydrazine (DMH) chez le rat. Vingt-quatre rats ont été répartis en quatre groupes contrôle, DMH seul, Lu + DMH et lutéoline. Pour l'induction de CCR, une injection hebdomadaire à raison de 30 mg DMH/kg de poids corporel a été effectuée pendant quatre semaines. La lutéoline (20 mg/kg p.c.) a été administrée par gavage quotidiennement, en prévision des injections de DMH, pendant 4 semaines. Les résultats montrent que l'administration de DMH induit des modifications morphologiques et histologiques du côlon, reflétées par la présence d'une lésion précancéreuse et l'initiation de la carcinogenèse colique. Cela est corroboré par une augmentation significative de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) et par une perturbation de l'équilibre redox, caractérisée par des niveaux accrus de malondialdéhyde (MDA) et une diminution du glutathion (GSH) ainsi que de l'activité des enzymes catalase et glutathion peroxydase. L'administration préventive de lutéoline chez les animaux traités par DMH a réduit les lésions et amélioré l'équilibre redox ainsi que les aspects histologiques du côlon. Collectivement, ces résultats suggèrent que le prétraitement par lutéoline pourrait atténuer efficacement les dommages coliques induits par la DMH, comme en témoignent les niveaux d'ACE, les peroxydes lipidiques et les activités des enzymes

antioxydantes. Ceci suggère que la lutéoline peut agir en tant qu'agent chemo-préventif efficace contre le cancer colorectal via la diminution des attaques radicalaires au niveau de colon.

Mots clés : cancer colorectal ; la lutéoline ; 1, 2-Diméthylhydrazine ; stress oxydatif.

Abstract :

Epidemiological data indicate a relationship between diet and colorectal cancer (CRC), suggesting that nutritional modifications could help reduce CRC incidence. In this context, the present study evaluated the preventive potential of the antioxidant luteolin, a dietary flavonoid, on the development of precancerous lesions and on oxidative stress induced by 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in rats. Twenty-four rats were divided into four groups: Control, DMH only, Lu + DMH, and luteolin alone. To induce an CRC model, a weekly subcutaneous injection of 30 mg DMH/kg body weight was administered for four weeks. Luteolin (20 mg/kg body weight) was given daily by gavage prior to DMH injections for four weeks. DMH administration produced morphological and histological changes in the colon, evidenced by the formation of a precancerous lesion and initiation of colonic carcinogenesis. This was corroborated by a significant increase in carcinoembryonic antigen (CEA) and a disruption of redox balance, characterized by elevated malondialdehyde (MDA) levels and decreased glutathione (GSH) along with reduced activities of catalase and glutathione peroxidase.

Preventive luteolin administration in DMH-treated animals reduced lesions and improved both redox balance and colon histology. Collectively, these results suggest that pre-treatment with luteolin could effectively mitigate DMH-induced colonic damage, as reflected by CEA levels, lipid peroxidation, and antioxidant enzyme activities.

Luteolin may act as an effective chemopreventive agent against colorectal cancer by reducing oxidative stress and colonic damage at the DMH-induced stage.

Keywords: colorectal cancer; luteolin; 1,2-dimethylhydrazine; oxidative stress.

Table des matiere

RESUMÉ.....	I
ABSTRACT.....	II
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTE DES TABLEAUX.....	IV
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	V
INTRODUCTION.....	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
LE CANCER COLORECTAL	4
1.1. Définition.....	4
1.1.1. Aspects anatomiques et physiologiques.....	4
1.1.2 Cancérogénèse.....	5
• L’initiation.....	6
• La promotion.....	6
• La progression.....	7
1.1.3. Facteurs de la cancérogénèse.....	7
a) Facteur génétiques.....	8
b) Héritéité.....	9
c) Facteurs endocriniens.....	9
d) Facteurs immunologiques.....	9
e) Facteurs externes.....	9
f) Environnement.....	9
g) Nutrition.....	9
h) Le vieillissement.....	10

Le DMH(1,2-diméthylhydrazine)	12
1.Role et histoire du DMH.....	12
2. Métabolisme du DMH.....	13
LE STRESS OXYDATIF	16
1. Définition.....	16
2. Les radicaux libres biologiques.....	16
3. Les sources cellulaires des radicaux libres.....	17
4. Les effets du stress oxydatif sur les macromolécules biologiques.....	18
4.1. Peroxydation lipidique.....	18
4.2. L'oxydation des protéines.....	19
4.3. Les dommages oxydatifs de l'ADN.....	19
5. Les systèmes de défenses antioxydants.....	20
La lutéoléine	27
1.Occurrence naturelle.....	27
2. Teinture.....	27
3. Propriétés biomédicales	28
PARTIE EXPÉRIMENTALE	
MATERIEL ET METHODES	
1. Les produits chimiques.....	29
1.1 Etude in silico et propriétés pharmacocinétique et toxicologiques de la lutéoléine.....	29
2. Matériel Biologique.....	29
2.1. Présentation.....	29
2.2. conditions d'élevage.....	29
2.3. Répartition et traitement des rats.....	30
3. Sacrifices des animaux	30
4. Dosage des paramètres biochimiques.....	35

5. Dosage des paramètres du stress oxydatif.....	35
5.1. Préparation de l'homogénat tissulaire	35
5.2. Dosage des protéines.....	35
5.3. Dosage du glutathion.....	36
5.4. Détermination de la peroxydation lipidique par la mesure du taux du malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire	37
5.6. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX).....	38
5.7. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	38
6. Dosage immunologique du CEA.....	39
7. Techniques histologiques.....	40
7.1. Prélèvement.....	40
7.2. La fixation.....	41
7.3 Déshydratation.....	41
7.4 Inclusion.....	41
7.5 Coupe.....	41
7.6 Déparaffinage.....	41
8. Etude statistique.....	43
RESULTAT :	
1. Propriétés pharmacocinétique et toxicologiques de la lutéoline et DMH	47
2. Etude pondérale.....	48
2.1. Variation du poids corporel	48
3. Etude des paramètres biochimiques.....	48
3.1. Effet du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique	
• Protéines totales et l'albumine.....	48

•Transaminases(ASAT et ALAT)	48
4. Analyse du stress oxydant	48
4.1. Teneur en glutathion colique chez les rattes témoins et traités	49
4.2. Peroxydation lipidique.....	50
4.3. Activité de la catalase colique chez les rats témoins et traités.....	50
4.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase.....	50
6. Etude morphométrique.....	52
7. Histopathologie du colon.....	55
DISCUSSION.....	57
CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	62
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	64
ANNEXES.....	72

LISTE DES FIGURES :

Figure 1:	les différents segments du côlon (A) et du rectum (B).....	4
Figure 2:	Les différents syndromes du CCR héréditaire en fonction des gènes causaux et de la prévalence.....	8
Figure 3:	Graphique de l'analyse de l'ontologie génique des gènes 61.....	11
Figure 4 :	Transport de la DMH du site sous-cutané au côlon par glucuronidation...	13
Figure 5 :	Métabolisme du DMH.....	15
Figure 6 :	Les principaux sites cellulaires de productions des EROs.....	18
Figure7 :	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	23
Figure 8 :	La structure moléculaire de la lutéoline.....	27
Figure 9:	Cage polyéthylène.....	31
Figure10 :	Enceinte d'élevage des rats d'expérimentation.....	31
Figure 11 :	Prélèvement des organes.....	32
Figure12:	Schéma représentatif du protocole expérimental.....	34
Figure13:	Gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.....	36
Figure 14 :	les étapes de test pour l'Antigène Carcino-Embryonnaire (CEA).....	40
Figure 15 :	Radar de biodisponibilité pour la Lutéoline.....	46

Figure 16	Représentation de la structure chimique de la Lutéoléine.....	46
Figure 17:	Boiled-egg graph de la Lutéoléine.....	46
Figure 18 :	le lien entre le composé sélectionné et les activités prévues.....	47
Figure 19:	Antigène carcinoembryonnaire (ACE) dans le sérum de rats témoins et traités.....	51
Figure 20 :	Statut de la défense antioxydante dans le côlon des rats témoins et traités.....	52
Figure 21 :	Vue macroscopique des colons de rats traités par le DMH.....	53
Figure 22 :	Vue microscopique de colons colorés au bleu de méthylène selon Beurg....	53
Figure 23:	Sections longitudinales du côlon de rats colorés à l'Hématoxyline-Éosine....	56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Les principales espèces réactives radicalaires et non-radicalaires.....	17
Tableau 2 :	Les étapes depuis le prélèvement jusqu'au bloc (Richard et all, 2009).....	42
Tableau 3 :	Analyse des propriétés ADME.....	45
Tableau 4 :	Prédiction in silico des profils de toxicité de la lutéoléine.....	45
Tableau 5 :	action sur la croissance corporelle.....	48
Tableau 6 :	Les biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique chez les rats témoins et traités après 15 semaines du traitement.....	49
Tableau 7 :	Effets de DMH, Lu et de leur association (DMH + Lu) sur les niveaux de GSH et de MDA dans les rats témoins et traités.....	51
Tableau 8 :	Répartition des nodules tumoraux visibles et des scores dans le côlon.....	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Enzymes/ions/substances :

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartame aminotransférase

BSA : Albumine de sérum bovin

CAT : catalase

CDNB : 1-chloro, 2.4-dinitrobenzène

CRC: cancer colorectal

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque)

DMH : 1,2 diméthyle hydrazine

GSH : Glutathion réduit

GSH-Px : Glutathion peroxydase

GSH-R :Glutathion réductase

GSH-ST : Glutathion S-Transférases

GSSG :Glutathion oxydé

H & E : Hématoxyline-Eosine

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO₂• : Radical hydroperoxyde

MDA : Malondialdéhyde

LU : lutéoleine

Unités :

dl : Décilitre

G : Gramme

g/l :Gramme / litre

L : Litre

Mg : Milligramme

mg/dl :Milligramme / décilitre

min :Minute

mol :Mole

UI/l : Unité internationale / litre

µl :Microlitre

INTRODUCTION

En Algérie, au moment où l'on commence à enregistrer une diminution notable des maladies infectieuses grâce aux différents programmes nationaux instaurés lors des dernières décennies, on assiste à la transition épidémiologique qui est marquée par:

- La modification démographique avec une augmentation de l'espérance de vie.
- La transformation de l'environnement et le changement de mode de vie.

De cette situation sont apparus les nouvelles pathologies dont le cancer et les autres maladies chroniques non transmissibles qui s'inscrivent aujourd'hui parmi les nouveaux besoins prioritaires en santé publique (Mahnane *et al* ,2012).

Le CCR est aujourd'hui le troisième cancer le plus fréquent, et le deuxième le plus mortel à l'échelle mondiale. Son développement est souvent multifactoriel, et peut être causé par des mutations génétiques et héréditaires, faire suite à des pathologies chroniques comme les MICI, dépendre de facteurs individuels non corrigibles comme le vieillissement, être lié à l'hygiène de vie et certaines habitudes alimentaires ou encore provenir d'une dysbiose au niveau du microbiote intestinal causée par diverses étiologies (BAY Corentine,2023).

Le carcinome colorectal (CCR) est un grave problème de santé publique mondiale en raison de sa prévalence et de sa gravité. Il s'agit du troisième cancer le plus fréquent dans le monde, après le cancer du sein et le cancer du poumon (Bray et al., 2018 ; Sung et al., 2021).

). Bien que de nouvelles techniques telles que les techniques mini-invasives, les techniques chirurgicales améliorées et la radiothérapie aient été utilisées dans la prise en charge multidisciplinaire du CCR ces dernières années, les taux de mortalité et de morbidité sont encore élevés, soit 9,4% dans le monde en 2020 (Keum & Giovannucci, 2019) .

En Algérie, le cancer colorectal occupe la deuxième place après le cancer du sein et représente 50% de l'ensemble des cancers digestifs. et est le deuxième cancer le plus fréquemment diagnostiqué (L'étiologie du CCR est multifactorielle, impliquant des facteurs génétiques et environnementaux.

Les facteurs de risque non modifiables tels que les mutations héréditaires, le sexe, l'âge, la race, la taille et l'ethnicité. Cependant, les facteurs de risque modifiables comprennent l'obésité, l'alimentation, l'activité physique, le tabagisme et la consommation d'alcool (Murphy et al., 2019 ; Rawla et al., 2019). En outre, l'inflammation et le stress oxydatif font partie des facteurs impliqués dans la pathogenèse du cancer colorectal (Bardelčíková et al., 2023) .

INTRODUCTION

Le stress oxydatif survient lorsque l'équilibre redox est perturbé, les concentrations en espèces réactives augmentant constamment et la réponse antioxydante étant insuffisante pour les contrer, ce qui entraîne une perte de l'homéostasie redox (Mena et al., 2009). Ces conditions provoquent des lésions aux cellules du tube digestif, telles que des dommages à l'ADN, l'agrégation de protéines et la perturbation des membranes (Zińczuk et al., 2021 ; Bardelčíková et al., 2023).

De nombreuses approches ont été utilisées dans le traitement du cancer colorectal, telles que l'utilisation de formulations médicamenteuses synthétiques, qui se sont révélées efficaces mais qui ont des effets indésirables à court et à long terme tels que la néphropathie, la cardiotoxicité, les problèmes digestifs, la perte de cheveux, les problèmes sexuels et la perte de poids (Brianna et Lee, 2023). C'est pourquoi le recours aux médecines complémentaires et alternatives (MCA) chez les patients atteints de cancer est très répandu dans le monde. Les patients se tournent généralement vers les MCA pour traiter leur cancer, réduire les effets secondaires des traitements conventionnels et améliorer leur qualité de vie globale (Keene et al., 2019; Murat-Ringot et al., 2021) .

Divers composés phénoliques apparaissent comme des alternatives prometteuses aux traitements actuels, en particulier les flavonoïdes ; la lutéoline, le kaempférol et la quercétine inhibent nettement la lipogénèse dans les cellules cancéreuses (Prasher et al., 2022) , et sont également connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, immunomodulatrices et chimio-préventives (Kopustinskiene et al., 2020).

La lutéoline (3',4',5,7-tétrahydroxyflavone), un flavonoïde commun à de nombreuses plantes, présente de nombreuses activités biologiques, telles que des effets anti-inflammatoires, antiallergiques, anticancéreux et antioxydants biochimiques. Les propriétés anticancéreuses de la lutéoline sont attribuées à sa capacité à induire l'apoptose et à inhiber la prolifération des cellules cancéreuses, les métastases et l'angiogénèse (Prasher et al., 2022). C'est pourquoi la présente étude visait à évaluer l'effet protecteur de la lutéoline sur le modèle de cancer du côlon induit chez le rat par la 1,2-diméthylhydrazine (DMH), un carcinogène certain de l'épithélium colique qui induit les stades d'initiation et de promotion de la carcinogénèse colorectale. L'évaluation a porté sur les taux sanguins d'antigène carcinoembryonnaire (ACE), la détection du cancer colorectal (CCR), le statut antioxydant du côlon et les changements histopathologiques.

INTRODUCTION

Pour ce faire, nous avons réalisé une expérimentation : des rats blancs de la souche « Wistar » pubère et en période de croissance, ont été soumises à un traitement par lutéoline en présence et en absence du DMH administrés par injection intrapéritonéale et par voie orale.

Une analyse sur les effets des différents traitements a été effectuée par :

- L'évaluation de système pro/anti-oxydant par la détermination des activités enzymatiques ; de la glutathion et quelques éléments non enzymatiques comme le glutathion réduit.
- Dosage de paramètres immunologiques.
- Dosage de quelques paramètres biochimiques.
- Etude histopathologique.
- Une discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

1. LE CANCER COLORECTAL

1.1. Définition

1.1.1. Aspects anatomiques et physiologiques

Le cancer colorectal désigne une tumeur maligne de la muqueuse du côlon ou du rectum, qui constituent la dernière partie du tube digestif, ce qu'on appelle communément le « gros intestin ». Le côlon fait suite à l'intestin grêle et il est constitué de plusieurs parties lui donnant une forme de U inversé. Il comporte le caecum d'où part l'appendice, le côlon ascendant du côté droit, le côlon transverse, le côlon descendant du côté gauche et le côlon sigmoïde qui se poursuit par le rectum (Figure 1).

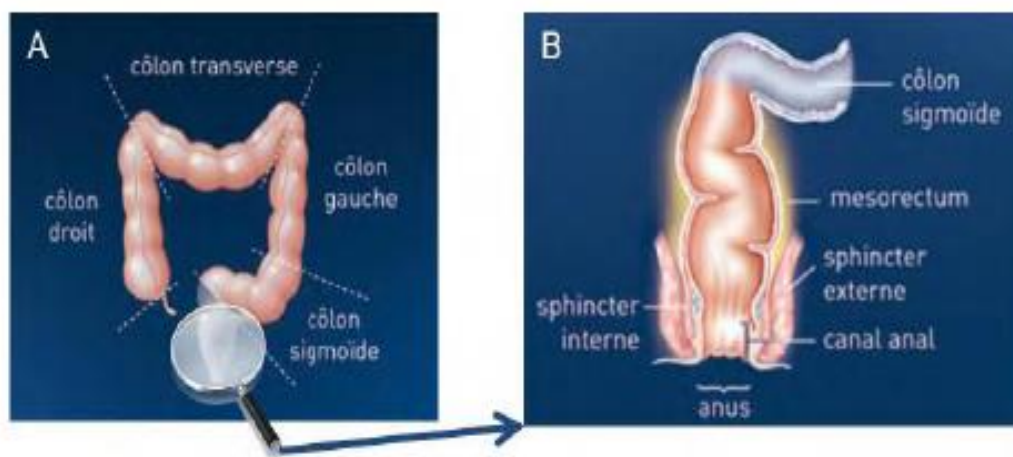


Figure 1: les différents segments du côlon (A) et du rectum (B).

Le tout mesure environ 1,5 mètre de long.

Le colon est constitué de plusieurs couches : de l'intérieur vers l'extérieur, il se compose de la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse (qui se définit par deux couches de fibres musculaires) et la séreuse qui fait partie du péritoine c'est-à-dire la membrane qui recouvre les organes de l'abdomen .

Sa fonction première est la fabrication des matières fécales. La digestion commence au niveau de la bouche par la mastication et la salive. L'œsophage du fait de ses mouvements de contraction amène le bol alimentaire à l'estomac dans lequel les aliments sont digérés et transformés en un liquide clair, le chyme. Le chyme stagne dans l'estomac de trois à sept heures puis il traverse l'intestin grêle où les nutriments sont absorbés. Le liquide passe ensuite dans le côlon qui absorbe peu à peu l'eau pour former des selles de plus en plus solides qui seront stockées dans le côlon sigmoïde puis poussées dans le rectum. C'est là qu'un signal sera déclenché pour leur évacuation par l'anus. Le colon possède également d'autres fonctions

portées notamment par le système immunitaire, le système nerveux entérique et le microbiote intestinal, fonctions qui seront abordées plus loin.

L'épidémiologie montre que des facteurs de l'alimentation tels que la quantité de lipides, de viande et d'alcool, ainsi que l'ingestion d'un excès de calories sont associés à un risque augmenté de cancer colique. D'autres facteurs comme les légumes, les fruits, le calcium et certains glucides, sont associés à un risque diminué. On a noté, par exemple, dans certaines études, que la mortalité par cancer du côlon est inversement proportionnelle à la consommation de blé et de céréales (Riboli, 1996). Les études expérimentales concordent en général avec les observations épidémiologiques, notamment les études sur les graisses, qui montrent que des régimes à haute teneur en graisse et en acide linoléique sont vus comme précurseurs de tumeur chez le rat, alors que des régimes similaires mais contenant de l'acide oléique n'agissent pas comme tels (Schwingshackl et al., 2018 ;Cohen, 1988 ;Corpet, 1989). Ces expériences aident à mieux comprendre certaines observations épidémiologiques, telles que la faible incidence du cancer du sein et du côlon chez les esquimaux du Groenland : ces populations ont une alimentation riche en graisses mais celles ci proviennent essentiellement de poissons et de mammifères marins (Verhaeghe, 2002)

1.1.2 Cancérogénèse

Le cancer est une pathologie provoquée par le dérèglement du programme d'une cellule initialement normale et fonctionnelle dont la conséquence est une production de cellules anormales qui prolifèrent de façon anarchique et forment une masse appelée tumeur. La cellule est l'unité de base des organismes vivants, c'est la plus petite unité qui fonctionne de manière autonome. Chaque cellule possède un noyau qui renferme le patrimoine génétique de chaque individu sous forme de 23 chromosomes eux-mêmes composés de molécules d'ADN sous forme de double hélice où se trouvent les gènes. Les gènes possèdent une information précise qui va contribuer au fonctionnement de chaque cellule. L'organisme humain qui contient plus ou moins 100 000 milliards de cellules fonctionne grâce à un équilibre constant entre la production de nouvelles cellules par le mécanisme du cycle cellulaire et la destruction des cellules anciennes ou abîmées via l'apoptose. Le cycle cellulaire comporte 5 phases :

- G0 : la phase de latence dans laquelle la cellule reçoit un signal de reproduction
- G1 : la première phase de croissance dans laquelle la cellule se prépare en synthétisant plus de protéines et d'ARN
- S : la phase de synthèse dans laquelle l'ADN de la cellule est répliqué
- G2 : la seconde phase de croissance dans laquelle la cellule continue de produire des protéines et de l'ARN

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

• M : la phase de division appelée mitose. Entre chaque phase du cycle, des points de contrôle sont programmés afin d'identifier d'éventuelles anomalies et les corriger. Si ces erreurs ne sont pas réparées, elles s'accumulent au fil des divisions et conduisent peu à peu à un cancer. Il s'agit le plus souvent de mutations au niveau de l'ADN (corentine, 2023).

Le cancer se développe en trois étapes majeures :

- **L'initiation**, c'est la lésion de l'ADN qui conduit à la formation d'une cellule modifiée possédant une anomalie

- La promotion, étape durant laquelle la cellule transformée se développe et prolifère en un groupe de cellules identiques qui forment un amas appelé tumeur

- **La progression**, qui se fait au cours d'un long processus qui peut durer des années, au cours duquel la cellule acquiert les caractéristiques de la cellule cancéreuse, c'est-à-dire la perte du caractère différencié de la cellule, la capacité à se diviser indéfiniment de manière anarchique et l'indépendance vis-à-vis des signaux qui régulent en temps normal les processus de croissance et de mort cellulaire.
 - o Les cellules cancéreuses parviennent à induire la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui permettent leur irrigation et alimentation en oxygène et nutriments et donc leur accroissement.
 - o Par le biais du système sanguin et lymphatique, les cellules cancéreuses sont capables de migrer dans l'organisme pour former des métastases. Ainsi, le cancer colorectal fait généralement suite à un polype, une tumeur bénigne constituée d'un amas de cellules proliférant sur la muqueuse du côlon ou du rectum, qui s'est développée en tumeur maligne.

Il existe de nombreux types de polypes du côlon et du rectum selon les cellules de la muqueuse à partir desquelles ils se développent. Cela leur confère un risque plus ou moins élevé de transformation en cancer. Les polypes à fort risque de cancer sont :

- Les polypes adénomateux, caractérisés par une prolifération des cellules des glandes situées dans la muqueuse du côlon et du rectum. Ils peuvent avoir différentes formes (polype sessile, pédiculé, plan...). Ce sont les plus fréquents, 2/3 des polypes sont des adénomes. On les classe selon leur degré de dysplasie, c'est-à-dire selon le nombre d'anomalies des cellules annonciatrices d'une transformation cancéreuse. S'ils évoluent, 3 sur 1000 deviennent des cancers colorectaux. Après ablation, ils ont tendance à récidiver, il faut impérativement les surveiller.

- Les polypes festonnés ou dentelés, des polypes adénomateux ayant un aspect festonné visible au microscope. Ces polypes sont responsables d'un nombre important des cancers du côlon d'intervalle (survenant entre deux coloscopies de contrôle) ce qui nécessite une surveillance rapprochée. Les polypes à faible risque de cancer sont :

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

- Les polypes hyperplasiques, caractérisés par une augmentation de volume et des modifications des glandes situées dans la muqueuse du côlon. Certains d'entre eux, en raison de leur taille ou de leur localisation, nécessitent une surveillance par coloscopie après leur ablation
- Les polypes hamartomateux, qui sont très peu fréquents et caractérisés par une croissance excessive de cellules normalement présentes mais désorganisant la structure de la muqueuse.

1.1.3. Facteurs de la cancerogénèse :

Il existe diverses étiologies pouvant aboutir à un cancer colorectal. Certains facteurs de risques sont individuels et non modifiables, il s'agit principalement de terrains génétiques favorables à l'instauration du cancer, de complications à la suite de pathologies, du vieillissement. De plus en plus de facteurs de risque non modifiables sont décrits et ils sont principalement liés à l'hygiène de vie, à la nutrition et également à la qualité du microbiote intestinal (Daca Alvarez et al., 2021).

a)Facteurs génétiques :

Le CCR précoce, diagnostiqué avant l'âge de cinquante ans, représente 10 à 12% de tous les nouveaux cas de diagnostics de CCR, et environ 28% de ces patients ont des antécédents familiaux de la maladie. Un certain nombre de syndromes héréditaires associés à la prédisposition au CCR sont établis, en fonction de l'altération des gènes mise en cause (figure 02) (Daca Alvarez et al., 2021).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

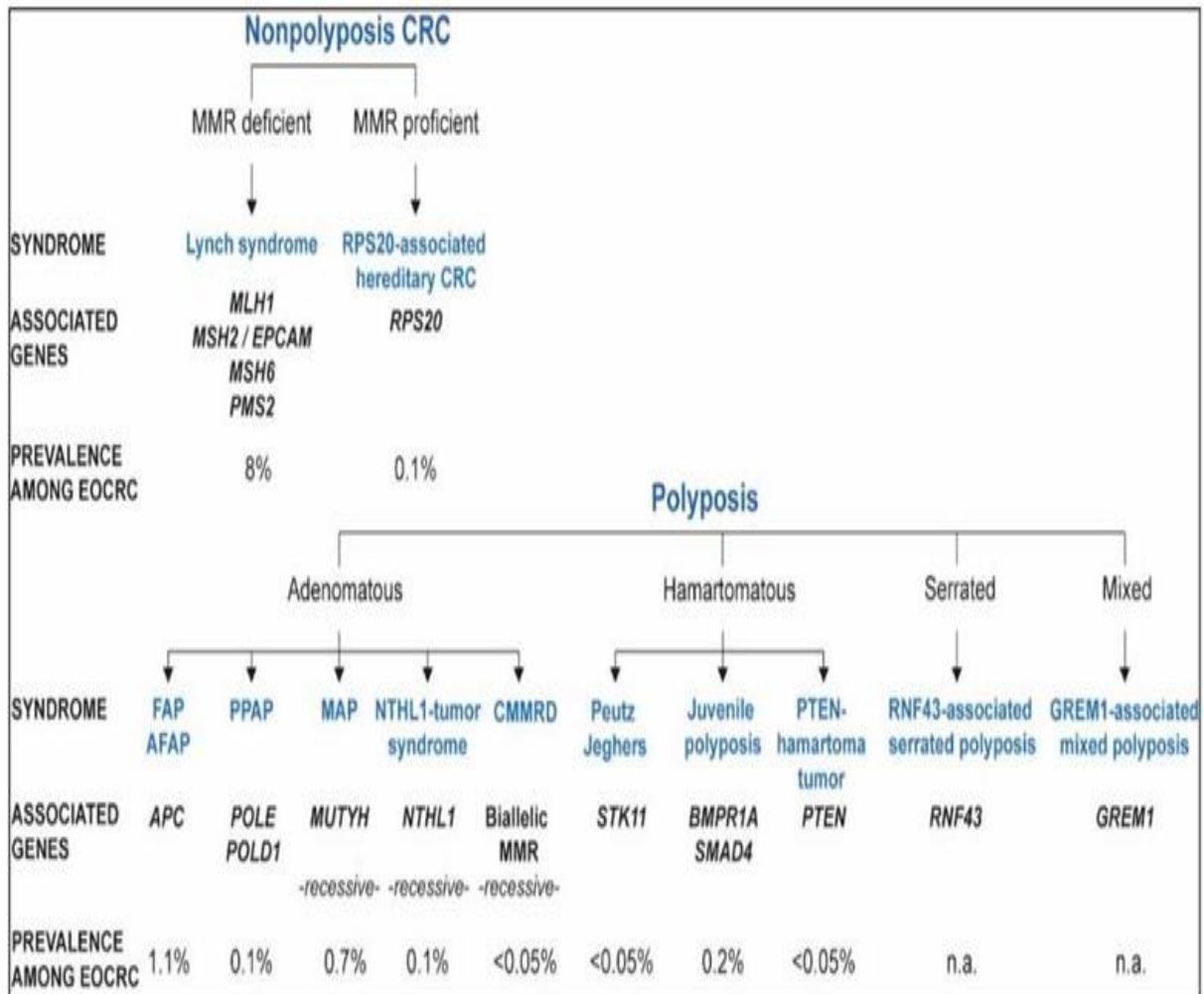


Figure 02: Les différents syndromes du CCR héréditaire en fonction des gènes causaux et de la prévalence (Daca et al., 2021)

b) Héritéité :

Un facteur héréditaire peut être soupçonné dans une famille où plusieurs sujets ont un cancer. Cette situation ne concerne en fait que les pathologies ayant un mode de transmission mendélien (dominant ou récessif), qui représentent 5 à 10% des cancers. Les pathologies héréditaires à transmission mendélienne sont rares. Le cancer peut soit être au centre du tableau clinique soit compliquer une maladie héréditaire sous-jacente (Riboli et al., 1996). Les pathologies héréditaires touchant des localisations communes, coliques ou mammaires sont moins rares. Notamment le syndrome sein ovaire et le syndrome de Li Fraumeni, où des tumeurs de localisations différentes sont associées chez un même sujet ou d'un membre à l'autre d'une famille (cancer du sein, sarcome, hémopathies malignes, etc.) (Potter et al., 1993).

c) Facteurs endocriniens :

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Les facteurs endocriniens sont dus à un déséquilibre provoquant une stimulation excessive de la division cellulaire. A titre d'exemple nous avons le cas des œstrogènes induisant le cancer du sein (Girgin et al., 2000).

d) Facteurs immunologiques :

Des études ont démontrées que certaines altérations et déficits de la réponse immunitaire ont une répercussion sur le développement du cancer ; il s'agit surtout des lymphomes et leucémies (Scotté, 2002).

e) Facteurs externes :

L'importance pratique des facteurs externes de la cancérogenèse est majeur, parce qu'il est plus facile de les influencer que de modifier la constitution génétique d'un individu. L'environnement joue un rôle important dans la cancérogenèse. Il existe certains facteurs de risque dans le développement du CCR qui sont liés au mode de vie de chacun et peuvent être modifiés. Il s'agit entre autres des habitudes alimentaires, de la consommation de tabac, de l'activité physique, de la qualité du microbiote (Carentine, 2023).

f) Environnement :

Il a été démontré que l'environnement de l'homme est parfois une cause de naissance de cellules cancéreuses. Les produits chimiques par exemple ont vu leurs responsabilités démontrée dans l'initiation de cancers, les plus connus étant le benzène (leucémies myéloïdes chroniques) et l'amiante (tumeurs de la plèvre), mais surtout le tabac (tumeurs bronchiques). Les rayonnements ionisants, qui lèsent le génome, ont provoqué des cancers à la suite de leur usage sans précaution aux débuts de la radiologie et de la radiothérapie, chez des 7 scientifiques et médecins. De plus l'exposition aux rayonnements ultraviolets par la pratique du bronzage, endommage l'ADN et jusqu'au gène P53 qui devrait contenir ce dommage provoquant ainsi le développement des cancers cutanés (Greenwald et al., 2002).

g) Nutrition :

L'alimentation est connue pour affecter le risque de CCR. De plus en plus d'études se sont intéressées à l'association entre les habitudes alimentaires et le risque de développement de CCR, et elles se rejoignent généralement pour regrouper les grandes classes alimentaires en deux groupes : les aliments « à risque de développement du CCR » et les aliments « protecteurs du CCR ». Dans une étude publiée en 2017 (Schwingshackl et al., 2018), une méta-analyse a été menée sur douze grands groupes d'aliments souvent cités dans les études antérieures, afin de résumer les données probantes sur la relation entre la consommation de ces aliments et le risque de développer un CCR, ainsi que fournir des valeurs seuil pour des apports alimentaires optimaux.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Le rôle de l'alimentation comme facteur de risque est un débat récurrent et passionnel. Selon les études, 10 à 70% des cancers seraient liés aux habitudes alimentaires (Scotté, 2002). Les acides biliaires et certains acides gras libres, dont la concentration fécale augmente lors de l'ingestion de lipides, induiraient une prolifération cellulaire dans la muqueuse colique, et seraient des promoteurs de tumeurs chez des animaux ayant reçus un initiateur (Corpet, 1989).

Facteurs individuels

h) Le vieillissement :

Des chercheurs se sont récemment penchés sur la question d'une signature de risque liée au vieillissement dans le CCR. En effet malgré le rajeunissement de l'âge d'apparition du CCR, passant d'un âge médian de 72 ans en 2001-2002 aux USA à un âge de 66 ans en 2015-2016, les nouveaux cas concernent majoritairement des personnes d'âge moyen et avancé. Pour les personnes de plus de 55 ans, le taux d'incidence augmente d'environ 30% pour chaque augmentation de 5 ans. ⁶⁰ Le vieillissement de la population est une caractéristique commune de nombreux pays développés, et l'association entre le vieillissement et le cancer devient de plus en plus évidente. C'est pourquoi une étude ⁶¹ menée par Yue et d'autres scientifiques et publiée en 2021 a démontré que le vieillissement est un facteur de risque de développer un CCR et que la signature liée au vieillissement est un modèle d'analyse pronostique fiable. On constate que chez les vertébrés d'une manière générale, le vieillissement entraîne des changements pathologiques dégénératifs et prolifératifs dont le plus mortel est le cancer. En se basant sur 3 ensembles de données indépendants issus de l'Atlas du Génome du Cancer (TCGA) et du Centre National de Biotechnologie (NCBI), une analyse d'enrichissement des ensembles de gènes a été effectuée sur les ensembles de gènes GO_AGING , GO_CELL_AGING et GO_CELLULAR_SENESCENCE.

Le constat est que les ensembles de gènes liés au vieillissement étaient significativement activés dans les tissus du CCR par rapport aux tissus normaux. Ces résultats montrent que le processus de vieillissement est impliqué dans le développement du CCR. Afin d'identifier les gènes liés au vieillissement, des recherches ont été menées au niveau de 49 ensembles de gènes dans la « molecular Signatures Databases v7.1 ». 1837 gènes ont été inclus dans cette étude. Grâce à l'outil en ligne des diagrammes de Venn, 1693 de ces gènes courants liés au vieillissement ont été passés au crible dans le TCGA et le NCBI. Parmi ces 1693 gènes, 258 exprimés différemment dans la TCGA en ont été extraits. Une analyse de l'ontologie des gènes a révélé que ces 258 gènes étaient principalement exprimés dans le vieillissement (Corentine, 2023).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

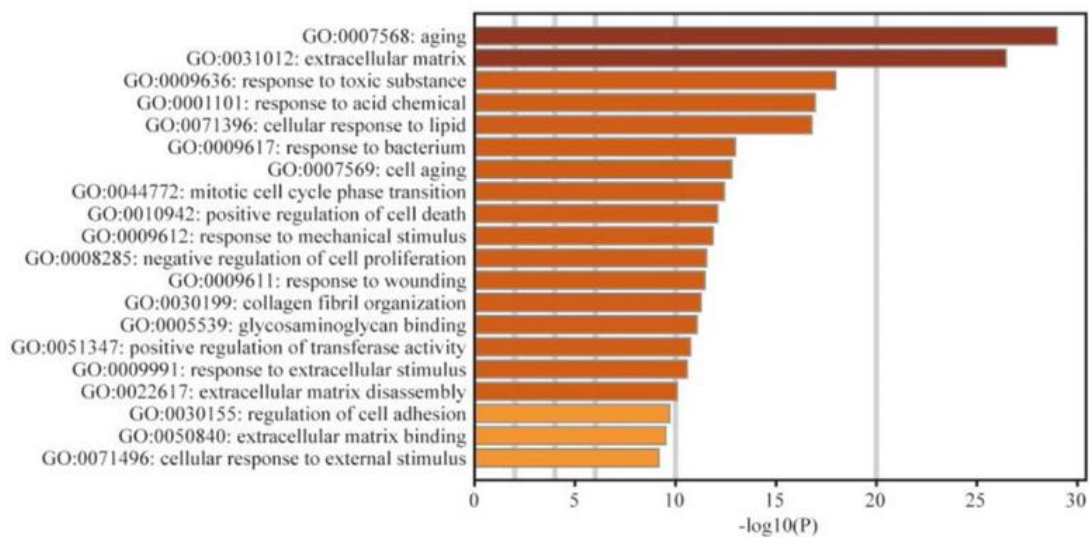


Figure 03: Graphique de l'analyse de l'ontologie génique des gènes 61

Le DMH (1,2-diméthylhydrazine)

1. Rôle et histoire du DMH

La diméthylhydrazine se présente sous forme d'isomères 1,2-diméthylhydrazine et 1,1 diméthylhydrazine. Ces deux composés sont des liquides clairs et incolores (Trochimowicz et al., 1994). La 1,1 diméthylhydrazine est utilisée comme carburant dans les fusées et les avions à réaction, ainsi que comme agent de contrôle de la croissance des plantes et comme matière première dans les synthèses chimiques.

Le DMH et son métabolite, l'azoxyméthane (AOM), sont des procarcinogènes qui nécessitent une activation métabolique pour former des produits réactifs à l'ADN. Les agents alkylants DMH et AOM commencent leur activité mutagène par la méthylation de la guanine dans l'ADN en position N-7. La guanine alkylée s'apparie à la thymidine plutôt qu'à la cytosine par don d'un proton, ce qui entraîne la modification des bases. Une réplication ultérieure, le mésappariement de la guanine à la thymine et de la cytosine à l'adénine, se produit, entraînant des mutations de l'ADN. Le métabolisme de ces composés procarcinogènes fait intervenir diverses enzymes métaboliques, notamment des enzymes métabolisant les xénobiotiques. Ces enzymes traitent plusieurs étapes d'oxydoréduction de l'azote, dont la formation du méthylazoxyméthanol (MAM), cancérigène ultime. Le MAM est un métabolite réactif du DMH et de l'AOM, qui produit facilement des ions méthyldiazonium capables d'alkyler les macromolécules dans le foie et le côlon (Fiala et al., 1987), comme le prouvent diverses études (Weisburger, 1971 ; Notman et al., 1982 ; Fiala et al., 1987).

Le MAM est un substrat de la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD)-dépendante déshydrogénase présente dans le côlon et le foie, ce qui suggère que le métabolite actif du MAM pourrait être l'aldéhyde correspondant (Zedeck et al., 1979 ; Sohn et al., 2001) que ces métabolites du CYP2E1 sont transportés vers le côlon par la bile ou la circulation sanguine. La principale voie implique la conversion hépatique du DMH en AOM et en azoxyméthanol, qui subit ensuite une conjugaison à l'acide glucuronique et une excrétion biliaire (Fiala, 1977) cependant, la toxicité des doses d'azoxyméthanol affecte le foie, les membranes cellulaires et d'autres organites, ce qui est soutenu par la libération d'aspartate et d'alanine amino transférases et de phosphatase alcaline (Parthasarathy et al., 1986 ; Skakun et al., 1992). Les glucuronides atteignent le côlon, où ils subissent ensuite une hydrolyse par des enzymes bactériennes pour produire un cancérigène actif dans la lumière colique (figure 4) (Weisburger, 1971).

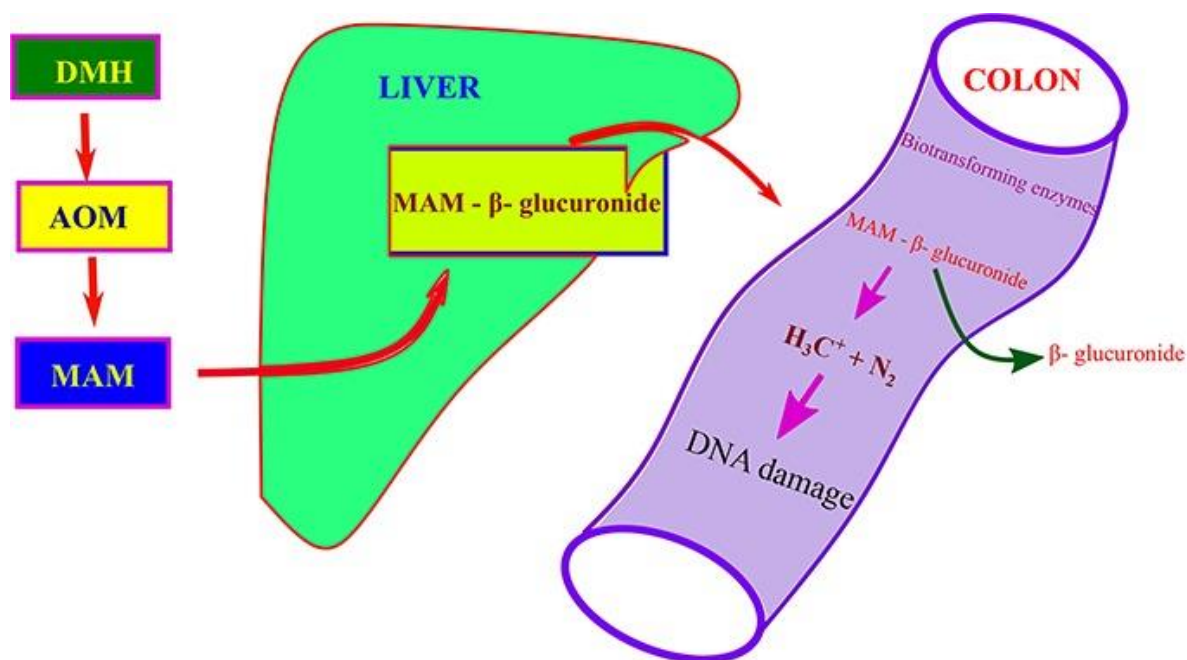


Figure 4 :Transport de la DMH du site sous-cutané au côlon par glucuronidation.

L'histoire du DMH débute vers 1965. Laquer (1965) étudie la neurotoxicité des graines de *Cycas circinalis L.* Des rats nourris avec un extrait brut de farine de cycas produisent des tumeurs dans divers organes, notamment l'intestin, le foie et les reins. Il découvre ensuite qu'un glycoside, la cycasine, et un β -D- glucosyloxyazoxyméthane isolés de la matière brute, ainsi que le premier métabolite de l'aglycone cycasine (MAM), sont responsables des tumeurs du tractus intestinal(Laqueur, 1965) .

Initialement, Fiala(Fiala et al., 1976) a étudié le métabolisme et le mode d'action du DMH, en analysant ses métabolites et en les séparant par chromatographie sur colonne. Il a ensuite mené une étude avec le DMH et l'AOM (Fiala, 1977), qui confirme que le cancérigène actif n'est pas transporté par les selles mais par le système circulatoire, ce qui a été prouvé par Campbell *et al.* et Wittig et Ziebarth (Campbell et al., 1975; Wittig et al., 1971).

2. Métabolisme du DMH

Une compréhension du cancérigène chimique et de son mécanisme d'action est nécessaire pour développer des procédures de diagnostic et, à terme, de prévention de la maladie.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Un certain nombre de dérivés de l'hydrazine sont présents dans l'environnement, l'industrie, l'agriculture et la médecine (Choudhary et Hansen, 1998). Le DMH, un cancérigène organotrope du côlon, est un agent alkylant largement utilisé pour induire des néoplasmes bénins et malins dans le côlon des rongeurs (Cooper et al., 1978).

Dans les études animales, l'exposition répétée au DMH produit des tumeurs du côlon, qui présentent des caractéristiques pathologiques similaires aux formes sporadiques du cancer du côlon humain (Maskens, 1976). Dans la plupart des études, le DMH cancérigène a été injecté par voie sous-cutanée. Le site sous-cutané des injections ne possède pas les enzymes capables de métaboliser ou de réagir avec le DMH. Par conséquent, le DMH administré par voie sous-cutanée est libéré lentement dans la circulation, puis atteint le foie et est métabolisé en divers intermédiaires (Fiala, 1977). L'activation métabolique du DMH est illustrée à la **Figure 05**.

La première étape d'oxydation du DMH implique son oxydation en azométhane, qui est converti en azoxyméthane (AOM) puis hydroxylé en méthylazoxyméthanol (MAM). L'hydroxylation se produit principalement dans le foie, probablement par la voie dépendante du cytochrome P450 et dans une moindre mesure dans la muqueuse colique (Weisburger, 1971). Le MAM peut atteindre l'intestin par la bile, la lumière intestinale directement et également par la circulation (Weisburger, 1971), sous forme de glucuronides et de glucosides dans une certaine mesure sous forme de sulfates. Ils sont clivés par les enzymes β -glucuronidase, β -glucosidase et sulfatase qui sont présentes à la fois dans les entérocytes et dans la microflore intestinale. Le MAM est chimiquement instable à la température du corps et se décompose spontanément en formaldéhyde, eau et azote (Fiala et al., 1976). Français Au cours de cette décomposition, l'ion méthyldiazonium, agent alkylant, est formé, ce qui génère un ion carbonium réactif capable d'alkyler les macromolécules (ADN, ARN ou protéines) par un processus enzymatique et non enzymatique dans le côlon. L'alkylation des atomes d'oxygène présents dans les bases azotées réduit la possibilité d'un mauvais appariement de l'ADN, ce qui a été suggéré comme étant critique dans la mutagenèse et la carcinogenèse (Hawks et Magee, 1974). Alternativement, le MAM s'est avéré être un substrat pour la déshydrogénase NAD^+ -dépendante du côlon et du foie, suggérant que le métabolite actif du MAM pourrait être l'aldéhyde correspondant

LE STRESS OXYDATIF

1. Définition

Dans le système biologique, il existe un équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui sont présentes à l'état basal en faible concentration et le système antioxydant qui contient notamment des enzymes, des vitamines, des oligoéléments (Favier, 2003).

Le stress oxydatif se définit classiquement comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des EROs, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre provient soit d'une surproduction d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense dans les cellules, un compartiment ou un organisme. Il peut avoir, une origine endogène, telle que la surproduction d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, ou une origine exogène : une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme le tabac, les médicaments, les rayons gamma, les rayons UV, les métaux lourds, les pesticides et les solvants industriels... etc(Pham-Huy et al., 2008 ; Phaniendra et al., 2015).

2. Les radicaux libres biologiques

Un radical libre se définit comme tout atome, groupes d'atomes, ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) sur l'orbital externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante vis-à-vis d'autres molécules plus stables, pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Carange, 2010). Dans certaines conditions métaboliques, la réduction de l'oxygène est incomplète et aboutit à la formation de radicaux libres. Actuellement, on utilise le terme d'espèces actives de l'oxygène (EROs) ou ReactiveOxygenSpecies (ROS) pour désigner un ensemble plus large de molécules. D'autres espèces dérivées de l'oxygène, dites espèces actives de l'oxygène comme l'oxygène singlet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EROs) (tableau 1).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1 : Les principales espèces réactives radicalaires et non-radicalaires (Poisson., 2013).

Espèces Radicalaires	Espèces non Radicalaires
Anion superoxyde (O ₂ .-)	oxygène singulet (¹ O ₂)
Radical hydroxyle (.OH)	Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)
Monoxyde d'azote (NO.)	Nitroperoxyde (ONOOH).
Grande instabilité : Stabilisation par réaction avec les constituants cellulaires.	Eléments de décomposition pour la détoxification par les systèmes

3. Les sources cellulaires des radicaux libres

Les EROs peuvent être produites à partir de sources endogènes ou exogènes. Les sources de EROs endogènes incluent différents organes cellulaires tels que les mitochondries, les peroxysomes et le réticulum endoplasmique, où la consommation d'oxygène est élevée. Les autres sources endogènes de EROs comprennent la synthèse de prostaglandine, l'auto-oxydation de l'adrénaline, les cellules phagocytaires, la riboflavine réduite, le cytochrome P 450, l'activation des cellules immunitaires, les inflammations, les infections, le cancer, le vieillissement, l'ischémie... etc (Engwa, 2018; Phaniendra et al., 2015). D'autre part, les EROs sont également produites dans les systèmes biologiques par diverses sources exogènes par exemple : la pollution de l'air et de l'eau, les pesticides, les solvants industriels, les métaux de transition - Cd, Hg, Pb, As- les métaux lourds - Fe, Cu, Co, Cr- les médicaments... etc(Pham-Huy et al., 2008)

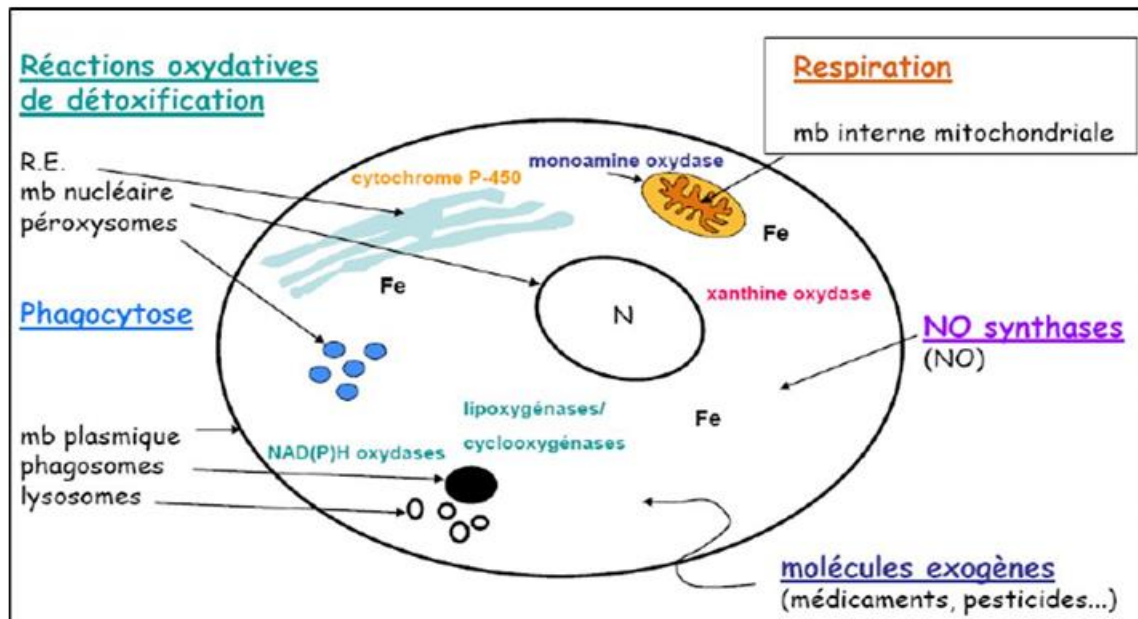


Figure 06. Les principaux sites cellulaires de productions des EROs.

4. Les effets du stress oxydatif sur les macromolécules biologiques

La surproduction de radicaux libres peut entraîner un stress oxydatif et un stress nitrosatif. Comme ces radicaux libres sont très réactifs, ils peuvent endommager les trois classes importantes de molécules biologiques, notamment les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

4.1. Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique (ou lipoperoxydation) est l'oxydation des lipides contenant une ou plusieurs doubles liaisons, carbone-carbone, en particulier des acides gras polyinsaturés (AGPI) tels que les acides linoléiques, linoléiques et arachidoniques. Elle est caractérisée par trois phases comprenant l'initiation, la propagation et la terminaison. - - Dans l'étape d'initiation, les pro-oxydants tels que les radicaux : hydroxyles, alcoxyles, peroxyles, l'oxygène singulet ou le péroxynitrite. Ces espèces sont capables d'arracher un atome d'hydrogène au niveau du groupement méthylène bis-allylique pour former un radical pentadienyl qui se combine ensuite avec l'oxygène pour former un radical peroxy. La phase de propagation débute lorsqu'une molécule d'O₂ attaque le radical acide gras (L●) pour former un radical peroxy (LOO●) qui peut arracher un H● d'une autre molécule lipidique générant un nouveau L● (qui poursuit la réaction en chaîne) et créer un nouveau radical, qui s'oxydera et ainsi de suite(Therond, 2006). La phase de terminaison correspond à la phase de formation de molécules plus stables non radicalaires obtenues le plus souvent par réaction entre deux radicaux libres ou grâce à l'action d'un antioxydant. Ces hydroperoxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques qui peuvent soit être réduits et neutralisés

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes soit se décomposent et libèrent de nombreux produits, tels que le malondialdéhyde (MDA), les isoprostanes et le 4-hydroxynonéal, qui sont considérés comme l'un des plus importants biomarqueurs du stress oxydatif dans les tissus (Singh et al., 2015; Yin et al., 2011 ; Haleng et al., 2007) .

4.2. L'oxydation des protéines

Les EROs sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leurs fonctions. Leur oxydation aboutit à la formation de produits carbonylés et hydroxylés. En effet les EROs les plus réactifs avec les protéines sont le radical hydroxyle HO° et le peroxynitrite ONOO^- . L'ion superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$ est le moins réactif des EROs mais est suffisamment fort pour oxyder les groupements thiols (-SH) de la cystéine. En outre les acides aminés soufrés dont la cystéine et la méthionine, les acides aminés basiques (arginine, leucine) et les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine semblent être les plus vulnérables (Halliwell et Guttridge, 2008). Les EROs peuvent modifier les protéines soit par :

Voie directe : c'est la fragmentation des protéines et la formation de produits carbonylés. En effet, les protéines peuvent être modifiées directement par les espèces réactives de l'oxygène conduisant ainsi à l'oxydation des acides aminés. Cette modification oxydative est réversible, traduite par la formation de disulfures, d'acide sulfénique et de méthionine sulfoxyde résultant de l'oxydation des chaînes latérales des résidus cystéine et méthionine, les plus sensibles à l'oxydation.

Voie indirecte : par la glyco-oxydation (qui résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhyde du glucose et les groupements amines des protéines) et de la peroxydation lipidique. Ces composés peuvent réagir avec les résidus lysine et arginine des protéines pour former deux classes de produits ; les AGE (produits de glycation avancée) et les ALE (produits de lipoxydation avancée) (Weiss et al., 2000;Stadtman, 2003). 18 Les résultats les plus fréquents de modifications oxydatives des protéines sont les changements dans la structure des protéines et un dépliement partiel de la protéine se traduisant par une diminution de l'activité enzymatique, une susceptibilité plus forte à la dégradation protéolytique, de la stabilité à la chaleur ce qui aboutit à la mort cellulaire par apoptose (Reeg et Grune, 2015).

4.3. Les dommages oxydatifs de l'ADN

Les EROs de sources endogènes ou environnementales ont le potentiel d'oxyder différentes macromolécules de la cellule notamment la molécule d'ADN nucléaire et mitochondrial qui

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

est la plus exposé aux attaques oxydantes à cause de sa proximité des sites de production des EROs et le manque de ressources de réparation (Wallace, 2008). En effet, les ROS peuvent réagir avec les acides nucléiques attaquant les bases azotées et la squelette sucre-phosphate, provoquant ainsi différents types de dommage de l'ADN comme : les cassures simple et double-brin, les lésions, l'instabilité de l'ADN qui comprend le blocage de la réplication et la transcription ainsi que des réarrangements chromosomiques (Evans et al., 2004;Gredilla, 2010). En outre, la présence de 8 OHdG (8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG ; un marqueur des dommages oxydatifs causés à l'ADN) dans les cellules peut entraîner une mutagenèse et jouer ainsi un rôle important dans la carcinogénèse (Cooke et al., 2003). Les dommages oxydatifs de l'ADN jouent un rôle majeur dans la pathogénèse de nombreuses maladies, y compris ; le cancer, les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires et les maladies inflammatoires chroniques (Thanan et al., 2015 ; Lima et al., 2019) .

5. Implication du stress oxydant dans les pathologies

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles (Rahman, 2007). La surproduction de radicaux libres peut causer des dommages oxydatifs aux biomolécules telles que, les lipides et les protéines, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN), altérant ainsi le statut redox normal et conduisant à un stress oxydatif accru. En effet le stress oxydatif induit par les radicaux libres serait impliqué dans plusieurs pathologies qui possèdent un caractère radicalaire comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution de plusieurs maladies, tant chroniques que dégénératives, ainsi l'accélération du processus de vieillissement du corps et l'apparition de pathologies, telles que ; le diabète sucré (Bashan et al., 2009;Uttara et al., 2009 ; Vanessa et al., 2013), aussi les troubles neurodégénératifs (maladie de Parkinson-PD, maladie d'Alzheimer-AD et sclérose en plaques-MS) (Uttara et al., 2009) , les maladies cardiovasculaires (athérosclérose et hypertension)(Ceriello, 2008 ; Cervantes et al., 2017), les maladies respiratoires (asthme, la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC)) (Caramori et Papi, 2004), le développement de la cataracte, la polyarthrite rhumatoïde et dans divers cancers (cancers colorectaux, de la prostate, du sein, du poumon et de la vessie) (Phaniendra et al., 2015 ; Pizzino et al., 2017)

En outre, Le stress oxydatif est impliqué dans les maladies qui affectent l'appareil rénal, telles que la néphrite interstitielle glomérulaire et tubulaire, l'insuffisance rénale, la protéinurie et l'urémie (Droge, 2002 ; Karam et Tuazon, 2013).

6. Les systèmes de défenses antioxydants

Les antioxydants au sens large représentent l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de neutraliser les EROs. Ces antioxydants peuvent agir en réduisant, dismutant et en piégeant les EROs afin de former un composé stable (Valko et al., 2007) Figure 6 .

Le système de défense des cellules fait intervenir différents acteurs ; les enzymes antioxydantes, les antioxydants non-enzymatiques et les facteurs de transcription. Leurs mécanismes sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition .En outre, certains facteurs de transcription permettent l'expression de gènes de défense antioxydante par exemple, l'augmentation modérée des EROs intracellulaires active de la voie de signalisation de Keap1(Kelch-like ECH-associatedprotein 1)-Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), lors de laquelle Nrf2 transloque au noyau et lie les éléments de la réponse antioxydante (AntioxidantResponseElements) sur l'ADN, ce qui permet la transcription de gènes comme la SOD et la CAT(Luczaj et al., 2017).

6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

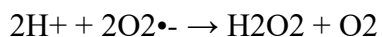
6.1.1 Les superoxydesdismutases (SOD EC 1.15.1.11)

Les SODs ce sont des métalloenzymes qui existent sous trois formes dans les tissus des mammifères et qui diffèrent par leurs cofacteurs, leurs emplacements sous-cellulaire et leurs distributions tissulaires.

- La superoxydedismutase de cuivre-zinc (CuZnSOD) est présente dans le cytoplasme et les organites de presque toutes les cellules de mammifère. (Laukkanen et al., 2016)
- La superoxydedismutase de manganèse (Mn-SOD) ou de Fer se trouve dans les mitochondries de presque toutes les cellules (Weisiger et Fridovich, 1973; Laukkanen, 2016) .
- La superoxydedismutase extracellulaire (ECSOD) est une SOD contenant du cuivre et du zinc. Elle a une grande affinité pour l'héparine et les sulfates d'héparine (Rahman, 2007 ; Marklund ,1982 ; Laukkanen et al., 2016). Ces enzymes sont la première ligne de défense contre le stress oxydatif en raison de sa capacité de convertir les radicaux superoxydes hautement réactifs en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Weisiger, 1973 ;

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Valko et al., 2006 ; Laukkanen, 2016), elles catalysent la dismutation de l'O₂ •- en H₂O₂ selon la réaction suivante :



6.1.2. La glutathion peroxydases (GPx :EC 1.11.1.9)

La glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine, formée de quatre sous-unités identiques contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. Elle est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (Rahman, 2007).

Des glutathion peroxydases à sélénium sont retrouvées dans le plasma (pGPx), dans le cytosol (cGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et on retrouve une isoenzyme qui est spécifique aux cellules digestives (GIGPx)(Ganther, 1999 ;Valko et al., 2007). La GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène ou du peroxyde organique (ROOH) en eau ou en alcool, ce processus se produit en présence de GSH qui est converti en GSSG (glutathion oxydé). Elle assure plus largement la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment de type ROOH, en alcools (ROH) (Valko et al., 2007).

6.1.3. Les Glutathion-S-Transférases (GST, EC 2.5.1.18)

Les GST sont des enzymes de détoxification de la phase II, qui catalysent la conjugaison du glutathion (GSH) à une grande variété de composés électrophiles endogènes et exogène telles que les espèces réactives de l'oxygène (EROs) ou les xénobiotiques et les cancérigènes environnementaux (Nissar et al., 2017). Ils sont divisés en deux groupes : microsomal liés à la membrane et cytosolique, les GST humaines sont répartis en 8 classes selon leurs propriétés structurales (similarité des séquences nucléotidiques). On distinguera ainsi les classes : Alpha (α), Kappa (κ), Mu (μ), Omega (Ω), Pi (π), Sigma (σ), Thêta (θ) et Zeta (ζ) (Board et al., 2000;Umasuthan et al., 2012; Saranya Revathy et al., 2012).

6.1.4. La catalases (CAT : EC 1.11.1.6)

Les Catalases sont des enzymes qui catalysent la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène. Ils se composent de quatre sous-unités protéiques, chacune contenant un groupe hème et une molécule de NADPH. La catalase est particulièrement concentrée dans le foie et les érythrocytes, mais se trouve aussi dans d'autres tissus. Dans la cellule, elle est majoritairement concentrée dans les peroxysomes où elle régule la production de H₂O₂ issue des enzymes oxydases et empêche ainsi sa diffusion hors de l'organite (Valko et al., 2007). Elle possède une activité peroxydase et capable d'utiliser une molécule d'H₂O₂ comme substance donneur d'électrons et une autre molécule d'H₂O₂ comme oxydant ou accepteur d'électrons (Murray et al., 2013). Leur fonction principale est de catalyser la décomposition

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

par dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène (Powers & Jakson, 2008). Elle catalyse ainsi la réaction suivante: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. Le mécanisme réactionnel met en jeu le Fer (III) de chaque groupement héminique. Celui-ci permet la rupture hétérolytique de la liaison entre les deux atomes d'oxygène de l' H_2O_2 . Au cours de cette réaction le Fer III est oxydé en Fer (IV)=O (1), puissant oxydant qui va dans une seconde étape oxyder une deuxième molécule d' H_2O_2 pour donner une molécule d'eau et une molécule de dioxygène (2) :

6.1.5. Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)

Le système thiorédoxine comprend la thiorédoxine (Trx), la thiorédoxine réductase (TrxR) et le NADPH. Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH), une fois oxydée, la thiorédoxine sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR), cette dernière possède un groupement sélénocystéine dans son site actif et elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène (Bouguerne, 2012).

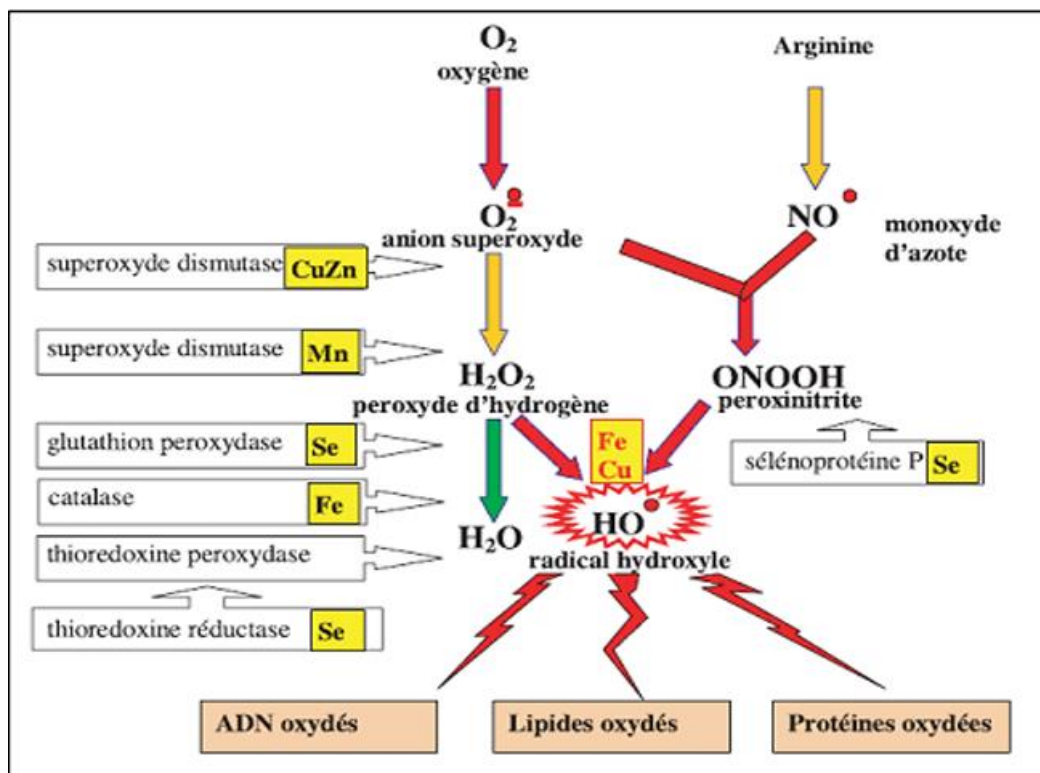


Figure07 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

6. 2. Les systèmes antioxydants non- enzymatiques

6.2.1. Le glutathion

Il s'agit d'un tripeptide qui joue un rôle à de divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion (GSH) peut interagir directement avec les espèces oxygénées activées mais il est principalement utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase qui assure l'élimination des lipides peroxydés. Il participe au transport des acides aminés à travers la membrane plasmique, piègeur direct du radical hydroxyle, de l'oxygène singulet et participe dans la régénération des vitamines C et E (Birk et al., 2013 ; Kurutas, 2016).

6.2.2. L'acide alpha-lipoïque

L'acide alpha-lipoïque est un acide soufré présent dans toutes les cellules du corps. C'est un puissant antioxydant capable de neutraliser plusieurs types de radicaux libres car l'acide alpha lipoïque est soluble dans l'eau (hydrosoluble) et dans les graisses (liposoluble). En tant qu'antioxydant, c'est un piègeur direct des radicaux libres, il chélate les ions de métaux de transition (par exemple, le Fer et le Cuivre), il augmente les niveaux de glutathion cytosolique et de vitamine C et prévient des toxicités associées à leur perte (Senoglu et al., 2009)

6.2.3. La mélatonine

La mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine) est un des principaux produits de sécrétion de la glande pinéale dans le cerveau, il reconnue pour sa fonction polyvalence. Dans des centaines d'études, la mélatonine a été documentée en tant que piègeur direct des radicaux libres et antioxydant indirect, ainsi qu'en tant qu'agent immun-modulateur important (Kurutas, 2016). **6.2.4. L'acide urique**

L'acide urique est formé suite à l'oxydation de l'hypo-xanthine et de la xanthine par la xanthine oxydase. Dans les conditions physiologiques, l'acide urique est majoritairement ionisé sous sa forme d'urate (UrH_2^-). Dans le plasma il possède une forte activité de piégeage des radicaux. C'est un puissant piègeur de radicaux $\bullet\text{OH}$, $\text{ROO}\bullet$ et $\text{NOO}\bullet$ (Haleng et al., 2007)

6.2.5. Le Coenzyme Q 10

Le coenzyme Q, également connu sous le nom Ubiquinone (UQ), synthétisé dans les cellules du corps ou peut également être obtenu à partir de l'alimentation est un puissant antioxydant qui neutralise les EROs et protège la muqueuse interne de la lymphe, des vaisseaux sanguins et de l'endothélium(Quinzii et al., 2007 ; Motohashi et al., 2017) .

6.2.6. L'acide ascorbique L'acide ascorbique, également appelé vitamine C, est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles, présent dans les fluides intra et extracellulaires. Ces activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur, agit principalement en piégeant directement et très efficacement les radicaux superoxydes et hydroxyles, il peut aussi recycler la vitamine E pour prévenir l'oxydation des lipides. Dans les conditions de pH

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

physiologiques la vitamine C existe principalement sous forme d'anion ascorbate (Camarena et Wang, 2016). *Figure 6.

6.2.7. La vitamine E (tocophérol)

La vitamine E regroupe la famille des tocophérols (alpha, bêta, gamma, delta) avec une activité antioxydante variable. L'alpha tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par le stress oxydatif (Joshi et Praticò, 2012 ; Stelmach et al., 2014 ; Gulcin, 2012).

6.2.8. Les oligo-éléments

Le sélénium (Se), le zinc (Zn), Le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), sont des éléments essentiels possédant des propriétés antioxydantes, ils interviennent comme cofacteurs d'enzymes. Le sélénium est un cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase et autres sélénoprotéine. Il est doué d'activités antioxydantes et anti- carcinogènes. Le zinc est un cofacteur de l'enzyme superoxydedismutase. Il fonctionne comme un antioxydant dans le corps via la régulation du métabolisme du glutathion et la modulation de l'expression de la métallothionéine. Le manganèse appartient à la superoxydedismutase (SOD) mitochondriale (Crozier et al., 2006 ; Marreiro et al., 2017 ; Tan et al., 2018).

6.2.9. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de plantes, se divisent en plusieurs classes (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes... etc.). Ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones . Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques. Tableau 3. Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006).
Nombre de carbones Squelette Classification
Exemple Structure de base 7 C6-C1 Acides phénols Acide gallique 8 C6-C2 Acétophénonnes Gallacétophénone 8 C6-C2 Acides hydroxycinamiques Acide ρ - hydroxy- phénylacétique 9 C6-C3 Acide phénylacétique Acide ρ -coumarique 9 C6-C3 Coumarines Esculitine 10 C6-C Naphthoquinones Juglone 13 C6-C1 -C6 Xanthones Mangiferine 14 C6-C2-C6 Stilbènes Resvératrol 15 C6-C3-C6 Flavonoïdes Naringénine

6.2.9.1. Les polyphénols et la santé humaine

Les polyphénols sont des micro-constituants végétaux abondants dans nos aliments. Ces composés sont reconnus pour leur forte bioactivité qui se traduit au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques, y compris la protection contre les dommages oxydatifs moléculaires et cellulaires induisant par diverses pathologies (cancers, diabète de

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

type 2, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives) (Ozcan et al., 2014 ; Shahidi& Yeo, 2018). Leurs effets protecteurs ont été mis en évidence tant d'un point de vue épidémiologique qu'expérimental (Gaston, 2016). Ils ont la capacité de réguler une diversité de processus cellulaires et moléculaires par interaction avec des cibles protéiques (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription), ce qui leur confère des propriétés anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti carcinogéniques et neuroprotectrices. Les polyphénols sont aussi capables de diminuer d'autres facteurs de risque des maladies cardiovasculaires impliqués dans le syndrome métabolique (hyperglycémie, taux de lipides élevé, insulino-résistance, obésité abdominale et hypertension artérielle) (Amiot et al., 2009). Ils peuvent agir comme des antioxydants de différentes manières via plusieurs mécanismes à savoir ; le piégeage direct des EROs, l'inhibition des enzymes génératrices d'EROs, la chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des EROs et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (Halliwell, 1994).

La lutéoléine

La lutéoline ou lutéolol est un composé chimique de la famille des flavonoïdes, et plus spécifiquement l'une des flavones les plus communes (Mann, 1987). Elle fut isolée pour la première fois par le chimiste français Michel-Eugène Chevreul à partir de la gaude (autre nom du réséda des teinturiers, une plante utilisée autrefois pour fabriquer de la teinture jaune)..

1. Occurrence naturelle

La lutéoléine, ou 3',4',5,7-tétrahydroxyflavone, est trouvée habituellement sous sa forme glycosylée dans une variété d'aliments à base de plantes comme le céleri, le persil, le brocoli, les feuilles d'oignon, les carottes, les poivrons, le chou, les pelures de pomme, les fleurs de chrysanthème, l'huile d'olives et encore plus (Lin et al., 2008).

La lutéoline est principalement présente dans les feuilles du réséda des teinturiers, mais elle est aussi présente dans le céleri, le thym, le pissenlit, l'écorce de fruits ou d'arbres, les fleurs de trèfle, et le pollen des Ambrosies (Mann, 1987). Elle a aussi été isolée à partir de la *Salviatomentosa* (Ulubelen et al., 1979). Dans l'alimentation, on la trouve dans le céleri, le poivron vert, le thym, la perilla, la camomille, les carottes, l'huile d'olive, la menthe poivrée, le romarin et l'origan (Kayoko et al., 1998 ; López-Lázaro, 2009).

Les concentrations de lutéoline dans les aliments sont généralement faibles par rapport à certains autres flavonols comme la quercétine ou le kaempférol. Les exemples de plantes contenant des quantités plus importantes de lutéoline sont les *Resedaluteola* L., les résédas et aussi les coques d'arachide (Seelinger et al., 2008).

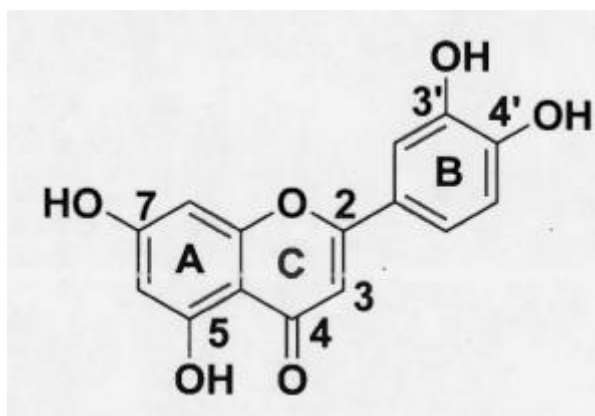


Figure 08 : La structure moléculaire de la lutéoléine. [Adaptée de Lin et al., 2008]

2. Teinture

La lutéoline peut aussi servir de teinture jaune. Elle est notamment présente dans la gaude qui sert depuis le Moyen Âge à teindre les tissus en jaune, teinture considérée comme l'une des meilleures. La gaude fut d'ailleurs surnommée « herbe des juifs », car c'est l'une des plantes

utilisée, du XIII^e siècle au XVIII^e siècle, par les juifs du Comtat Venaissin (qui était alors un domaine pontifical) pour teindre en jaune les chapeaux qu'ils étaient tenus de porter comme signe distinctif.

3. Propriétés biomédicales

On prête à la lutéoline un grand rôle dans le corps humain, comme antioxydant, destructeur de radicaux libres, agent préventif d'inflammation, comme composé aidant au métabolisme des glucides, et comme régulateur du système immunitaire. Ces caractéristiques laissent à penser qu'elle joue aussi un rôle important dans la prévention du cancer. De nombreuses recherches expérimentales décrivent la lutéoline comme un agent chimique qui réduit considérablement les inflammations (Jang et al., 2008) et les symptômes du choc septique.

La lutéoline a également été isolée à partir de deux plantes d'Asie traditionnellement utilisées en tant que médicaments anticancéreux, *Epimedium koreanum* et *Terminalia arjuna*, et il a été trouvé à inhiber la prolifération des cellules MCF-7 (cancer du sein) et HepG2 (cancer du foie) d'une manière dose dépendante (Pettit et al., 1996).

Les plantes riches en lutéoline ont été utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise pour aider à diminuer l'hypertension, les maladies inflammatoires et le cancer. Comme les autres flavonoïdes d'origine végétale, la lutéoline a une variété d'activités biologiques, y compris les propriétés bien connues anti-mutagènes et anti-tumorigènes (Ross et Kasum, 2002).

Il a été démontré dans des conditions de laboratoire que ce composé peut avoir des propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et anti-cancéreuses. Une nouvelle recherche publiée dans le revue de BioMed Central BMC Gastroenterology a montré que la lutéoline est capable d'inhiber l'activité des voies de signalisation cellulaire IGF et PI3K, connues être importantes pour la croissance de cellules cancéreuses du côlon.

D'autres recherches ont montré les effets inhibiteurs de la lutéoline sur l'expression des cytokines pro-inflammatoires dans la microglie. De plus, ce flavonoïde affecte plusieurs voies de signalisation conduisant à un phénotype anti-inflammatoire, anti-oxydant, et à des caractéristiques neuroprotectrices. La lutéoline présente également des activités anti-inflammatoires par l'inhibition du NF- κ B dans des cellules immunitaires. Les résultats des recherches publiées suggèrent que la lutéoline pourrait être un candidat prometteur dans le développement de traitements immuno-modulateurs et neuroprotecteurs pour des maladies neurodégénératives (Dirschnerl et al., 2010).

MATERIEL ET METHODES

1. Les produits chimiques

DMH (1,2 diméthyle hydrazine) .

lutéoline (3',4',5,7-tétrahydroxyflavone).

1.1 Etude in silico et propriétés pharmacocinétique et toxicologiques de la lutéoline et DMH (in silico and ADME study of luteolin and DMH) :

Une analyse de l'absorption, distribution, métabolisme et de l'excrétion (ADME) a été réalisée pour vérifier la similitude avec un médicament de la lutéoline. L'analyse ADME a été réalisée sur le site à l'aide des outils web en ligne SwissADME. Les propriétés similaires à celles des médicaments, telles que la règle des cinq de Lipinski (Lipinski et al., 2001) , Ghose(Ghose et al., 1999) et Veber

, ont été prises en compte, ainsi que le coefficient de partage octanol-eau (LogP), la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB) et d'autres propriétés de l'ADME.

2. Matériel Biologique

2.1. Présentation

L'ensemble des traitements et des protocoles expérimentaux ont été réalisés en conformité avec les principes et recommandations de santé animale (NIH publication No.85-23 révisée 1985). Le matériel biologique que nous avons choisi est le rat mal albinos *Rattusrattus* de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ces rats sont des mammifères nocturnes de l'ordre des rongeurs.

La puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes. Un rat peut vivre de 2 à 3 ans dépendant de la souche, du sexe, des conditions environnementales et d'autres variables (Baker *et al.* 1980).

Chaque rat était logé individuellement et une période d'acclimatations de 10 jours a été allouée aux rats avant le début des manipulations.

2.2. Conditions d'élevage

L'expérience a utilisé vingt-quatre rats mâles Wistar fournis par l'Institut Pasteur (Alger, Algérie).

Ils pesaient en moyenne 200 ± 20 grammes, Les rats ont été maintenus au sein de l'animalerie du département de Biologie, Université Badji Mokhtar – Annaba. Ils ont été acclimatés pendant 10 jours avant l'expérimentation dans des incubateurs, ces unités sont équipées de portes vitrées de contrôle, suggérant un environnement contrôlé (à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et une photopériode de 12 h/12 h) (figure 10).

Les rats étaient logés dans des cages en polyéthylène (figure 09) qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée une fois tous les deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2.3. Répartition et traitement des rats

A cet effet, nous avons disposé quatre lots distincts

Les rats ont été répartis en 4 groupes de six rats chacun, il s'agit de :

- **Lot 1** : Rats témoins recevaient quotidiennement par voie orale un volume de 1 ml d'eau de boisson.
- **Lot 2** : Rats recevaient quotidiennement par voie orale de la lutéoleine dissout dans l'eau distillée à raison 20 mg/kg de poids corporels pendant 30 jours.
- **Lot 3** : injection intra péritonéale hebdomadaire de DMH à raison de 30mg/kg de poids corporels pendant quatre semaines
- **Lot 4** : Injection de la DMH + administration de la lutéoleine .

3. Sacrifices des animaux :

A la fin de période de traitement (un mois), les animaux sont mis à jeun pendant une nuit, le poids des rats après le dernier jour du gavage est noté avant le sacrifice.

3.1. Prélèvement sanguin :

Les différents paramètres biochimiques ont été mesurés par la méthode spectrophotométrique à l'aide de kits prêts à l'emploi. Des boîtes Spinreact ont été utilisées pour la détermination des protéines totales (PT), de l'albumine (Alb), et des activités enzymatiques sériques de l'aspartateaminotransférase (AST), de l'alanine aminotransférase (ALT).

3.2. Prélèvement des organes

Après la dissection, le foie, et le colon sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 0.9% puis pesés. Ils ont été stockés selon deux méthodes : la moitié est stockée au congélateur pour la préparation ultérieure de l'homogénat qui a servi au dosage des paramètres du stress oxydant, l'autre moitié fixée dans la solution de formol à 10% afin de réaliser des coupes histologiques.



Figure 09: Cage polyéthylène.



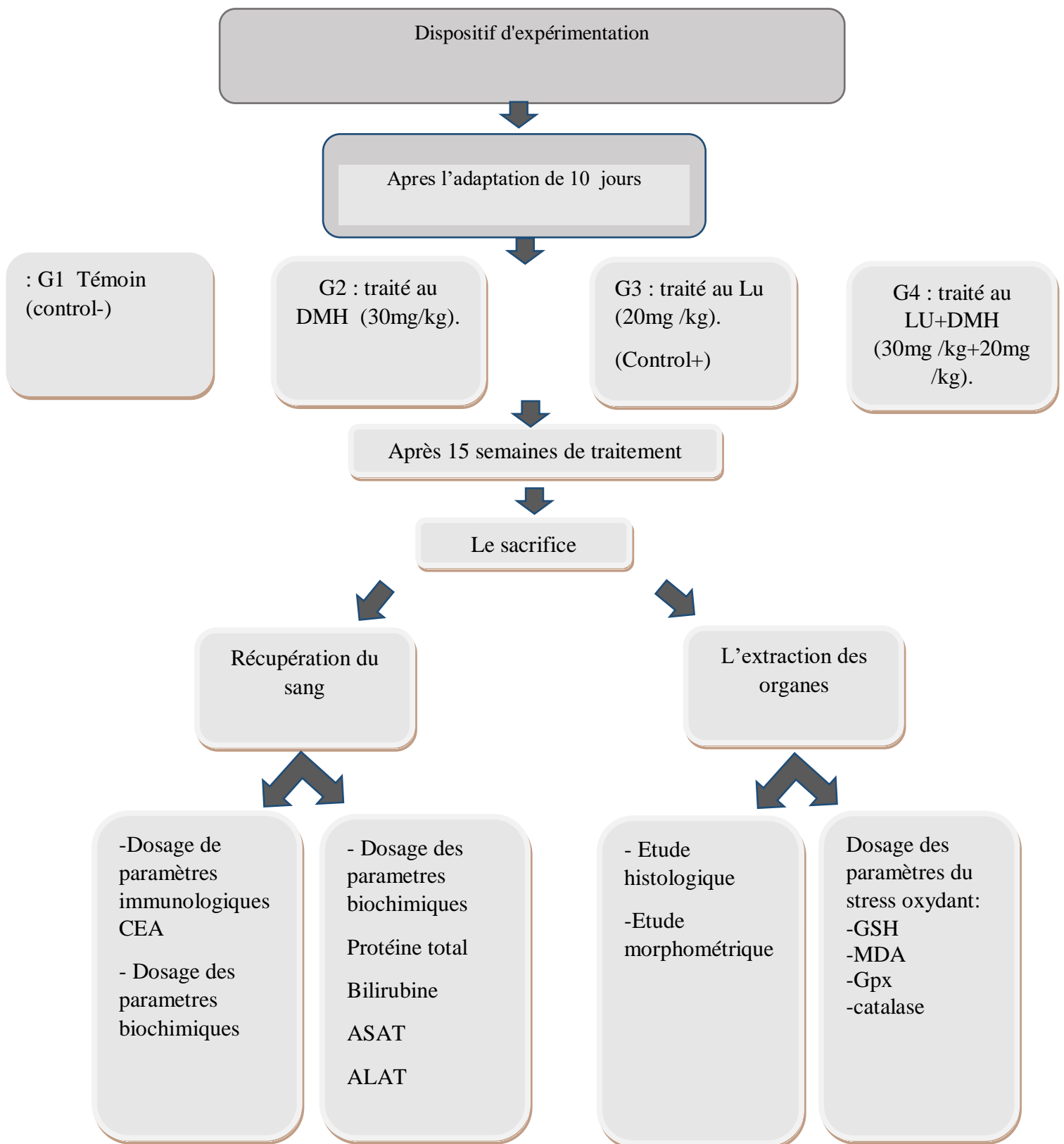
Figure10 : Enceinte d'élevage des rats d'expérimentation (armoire ventilée avec contrôle photoperiode, température et hygrométrie).



Figure 11 : Prélèvement des organes.

La figure ci-dessous schématise les différentes étapes de protocole réalisé dans notre expérimentation.

MATERIEL & METHODES



MATERIEL & METHODES

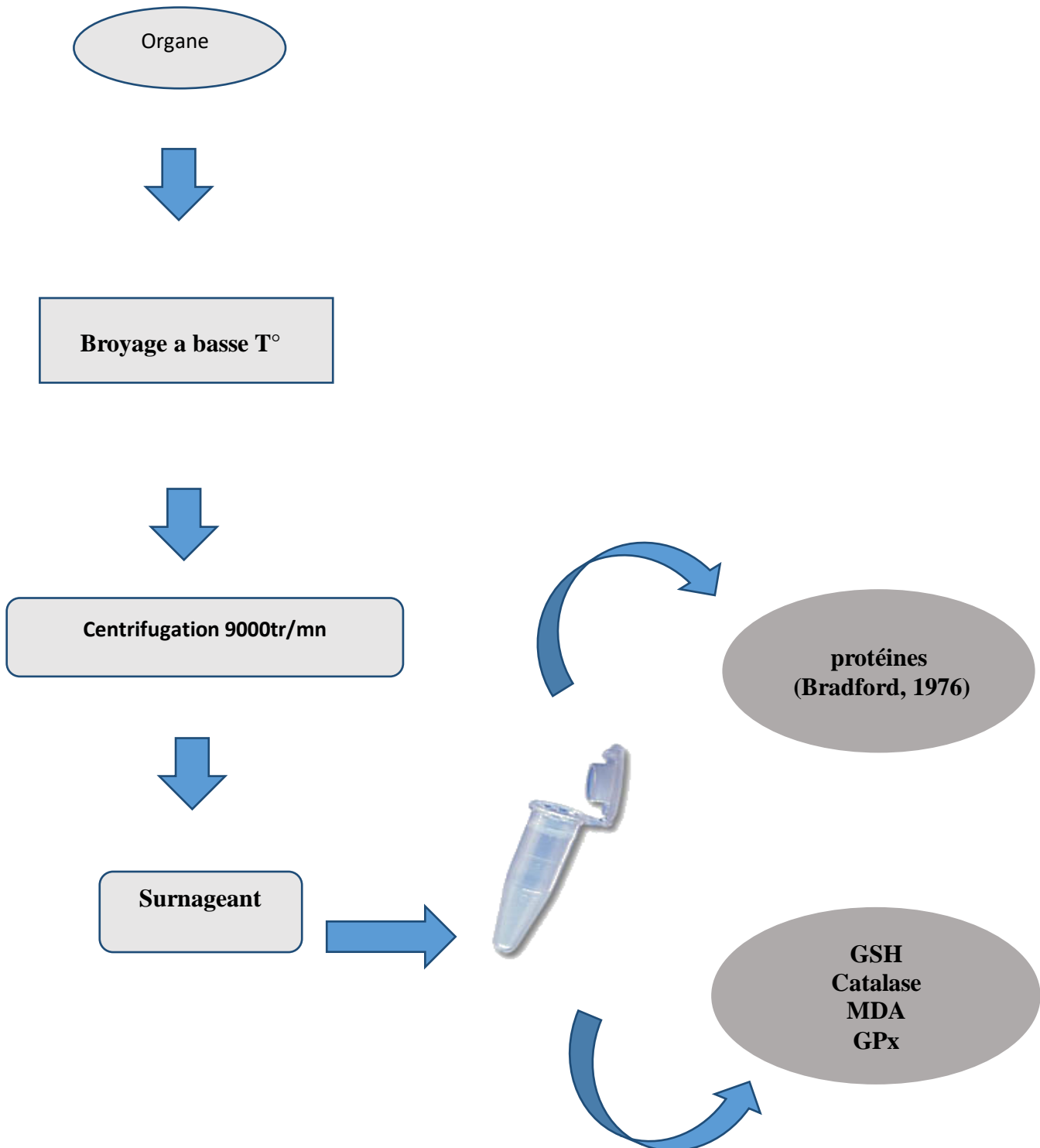


Figure12: Schéma représentatif du protocole expérimental

4. Dosage des paramètres biochimiques

Les différents paramètres biochimiques ont été mesurés par la méthode spectrophotométrique à l'aide de kits prêts à l'emploi. Des boîtes Spinreact ont été utilisées pour la détermination des protéines totales (PT), de l'albumine (Alb), et des activités enzymatiques sériques de l'aspartateaminotransférase (ASAT), de l'alanine aminotransférase (ALAT).

5. Dosage des paramètres du stress oxydatif

5.1. Préparation de l'homogénat tissulaire

Un gramme de colon de rats prélevé sur les quatre lots étudiés a été broyé. Après homogénéisation des tissus dans 2 mL de solution tampon phosphate (TBS: Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) à un rapport tissus/volume de 1:2 (P/V), la suspension cellulaire a été centrifugée (9000 g, 4 °C, 15 min). Le surnageant obtenu a été aliquoté dans des tubes Eppendorf et conservé à -20 °C en attendant les dosages des paramètres du stress oxydatif.

5.2. Dosage des protéines

La concentration en protéines est déterminée par la méthode de Bradford (1976), qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce réactif interagit avec les groupements amine des protéines pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation dans le milieu et l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines.

Pour cela, les étapes suivantes ont été effectuées :

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat ;
- Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie ;
- Agiter et laisser reposer 5 minutes ;
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) réalisée préalablement dans les mêmes conditions.

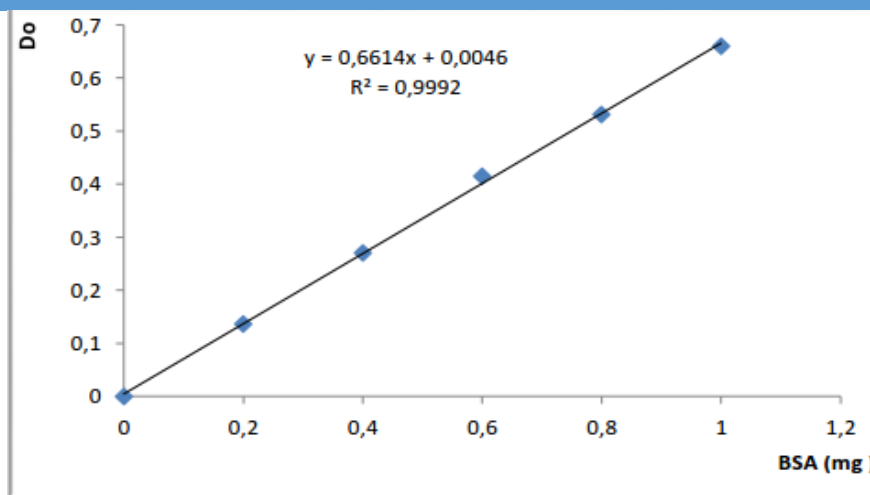


Figure13: Gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

5.3. Dosage du glutathion

Le dosage du glutathion (GSH) est réalisé selon la méthode de Weekbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage de glutathion est la suivante :

- Prélever 0.8 ml de l'homogénat ;
- 0.2 ml de la solution d'acide salicylique (0.25%) ;
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace ;
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min ;
- Prélever 0.5 ml du surnageant ;
- Ajouter 1 ml du tampon Tris- EDTA, pH 9.6 ;
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01M.
- Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protein)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- DO : Densité optique.

- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.
- 0.5 : Volume du surnageant.

5.4. Détermination de la peroxydation lipidique par la mesure du taux du malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire

Le MDA est l'un des produits des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène, générées par certains contaminants. Dans notre étude, le niveau de la peroxydation lipidique a été évaluée par le dosage des TBARS d'après la méthode de Buege et Aust (1978), dans le colon.

Principe : Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique, ce produit qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

Mode opératoire:

- Prélever 375 µl de l'homogénat.
- Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4)
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%).
- Agiter et centrifuger à 9000 g pendant 10 min à 4°C. Prélever 400 µl du surnageant
- Ajouter 80 µl du HCl (0.6 M)
- Ajouter 320 µl de la solution : Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM).
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.

Les densités optiques sont mesurées à 530 nm contre le blanc réactif. Calcul de la concentration du MDA : La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de protéine, Selon l'équation :

$$\text{MDA (nmol/mg protéines)} = \frac{\text{DO} \times 10^6}{\text{E} * \text{X} * \text{L} * \text{F}_d}$$

- C : Concentration en nmol/mg de protéines.
- DO : Densité optique lue à 530 nm.

- **E** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.
- **L** : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.
- **X** : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

5.5. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX)

Principe : L'activité de la GSH-Px est mesurée par la technique de Floche et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH). Ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$

Mode opératoire :

- Prélever 0,2 ml de l'homogénat (surnageant) ;
- Ajouter 0,4 ml de GSH (0,1 mM) ;
- Ajouter 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4)
- Incuber au bain marie à 25°C , pendant 5 min ;
- Ajouter 0,2ml de H_2O_2 (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 1 minutes ;
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction ; Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes ;
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes ; Prélever 0,48 ml du surnageant ;
- Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS ;
- Ajouter 0,32 ml de DTNB (1,0 mM) ;
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm

Calcul de l'activité enzymatique : L'activité enzymatique du GPx est exprimée en nano moles de GSH oxydé par milligramme de protéines (nmol GSH/mg prot.) selon l'équation :

$$\text{GPx } (\mu\text{mol/mg prot.}) = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0,04}{\text{DO étalon}} + \frac{5}{\text{mg prot.}}$$

- DO : Densité optique lue à 412 nm.
- 0.04: Concentration du substrat (GSH).

5.6. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

Principe : Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde

MATERIEL & METHODES

d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984). La réaction se fait en deux étapes.

La réaction bilan est : $H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2 H_2O + O_2$

L'activité de la CAT est mesurée à 240nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Mode opératoire : Le mode opératoire a été réalisé comme suit :

Réactifs	Zéro (µl)	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS) (100mM, pH 7.4)	1000	800	780
H₂O₂ (0.500 mM)	-----	200	200
Homogénat	-----	-----	20

6. Dosage immunologique du CEA

La Détermination quantitative de la concentration en CEA dans le plasma a été réalisée par le kit ELISA abcam (catalogue ab99992 CarcinoEmbryonic Germany).

Le kit ELISA (dosage immuno-enzymatique) pour l'AntigèneCarcino-Embryonnaire (CEA) humain d'Abcam est un test in vitro qui permet la mesure quantitative du CEA humain dans le sérum, le plasma et les surnageants de culture cellulaire.

Ce test utilise un anticorps spécifique du CEA humain fixé sur une plaque de 96 puits. Les étalons et les échantillons sont pipetés dans les puits, et le CEA présent dans un échantillon est lié aux puits par l'anticorps immobilisé. Les puits sont lavés et un anticorps anti-CEA humain biotinylé est ajouté. Après élimination de l'anticorps biotinylé non lié, de la streptovidine conjuguée à la HRP est pipetée dans les puits. Les puits sont à nouveau lavés, une solution de substrat TMB est ajoutée et la couleur se développe proportionnellement à la quantité de CEA liée. La solution d'arrêt change la couleur du bleu au jaune, et l'intensité de la couleur est mesurée à 450 nm .les étapes de test sont illustrées dans la figure 14.

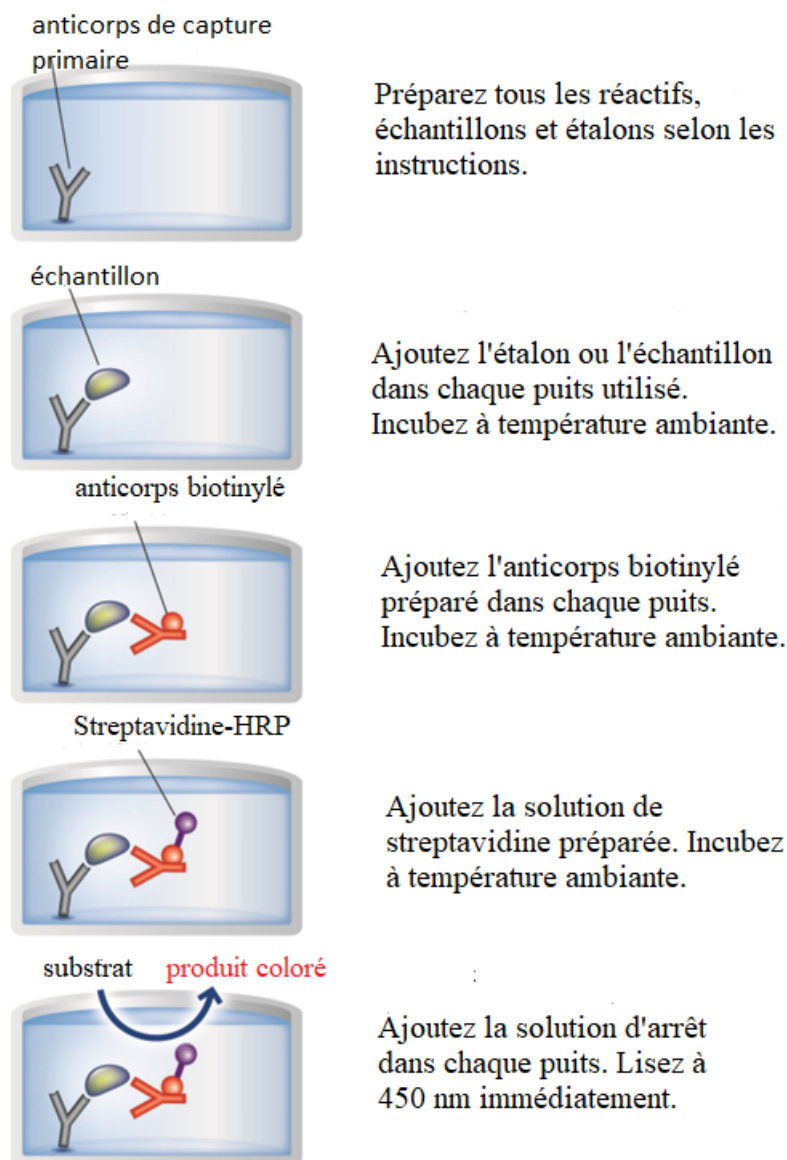


Figure 14 : les étapes de test pour l' Antigène Carcino-Embryonnaire (CEA).

7. Étude histologique

Des fragments de colon ont été rincés à l'eau physiologique et fixés dans une solution de Bouin pendant 24 h, puis des portions de colon ont été colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine (H&E) [49].

Les préparations ont ensuite été séchées et observées au microscope optique Leica M18.

Pour l'étude histologique, la préparation des coupes fines se fait en plusieurs étapes :

7.1. Prélèvement.

Après dissection des rats les 24 colons sont soigneusement prélevés, trois morceaux sont respectivement coupé, rectal, médian et proximal et d'amblé fixés dans du formol à 10%.

7.2. La fixation.

- La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces.
- Elle peut être réalisée par un liquide fixateur ou par congélation.
- Les liquides fixateurs les plus utilisés en pratique courante sont le formol et le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique).
- La durée de fixation et le volume du fixateur utilisé varient selon le volume des prélèvements. On recommande un volume de fixateur égal à 5 fois le volume du prélèvement. A pour buts la conservation des structures et le durcissement des tissus, Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion dans un fixateur le formaldéhyde à 10%.

7.3 Déshydratation

- Le but de la déshydratation est d'éliminer l'eau contenue dans l'échantillon.
- L'eau est retirée par un passage du prélèvement dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (de l'alcool à 50° jusqu'à l'alcool absolu 100°) puis dans des bains de xylène ou de toluène. Cette étape prépare l'inclusion, vu que la paraffine est hydrophobe.

7.4 Inclusion (Enrobage)

- Le but de l'inclusion est de rigidifier l'échantillon, afin de permettre la réalisation de coupes fines et régulières.
- Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine, qui permet une solidification de l'échantillon.
- Immerger la pièce dans la paraffine liquide maintenue dans une étuve à 56°
- Après 4heures d'inclusion, la paraffine liquide est coulée dans un petit moule en métal « barres de Leuckart ». Après refroidissement, on obtient un bloc de paraffine solide, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

7.5 Coupe (Microtomie)

- Les coupes du bloc de paraffine sont réalisées à l'aide d'un microtome permettant d'obtenir des tranches fines de 2 à 5 μm d'épaisseur, disposées en série régulières sous forme de rubans.
- Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

7.6 Déparaffinage

- Les lames de verre sont placées sur une plaque chauffante (à 45-60°C) pendant 15 min, afin de liquéfier la paraffine.

MATERIEL & METHODES

- Éliminer la paraffine en passant les lames dans des bains de toluène ou de xylène.

Tableau 2: Les étapes depuis le prélèvement jusqu'au bloc (Richard et al, 2009).

Etape	Réactif	Durée (Min)	Température (c°)
1	Fixateur	200	<40
2	Ethanol 50%	20	45
3	Ethanol	30	45
4	Ethanol	40	45
5	Ethanol	40	45
6	Ethanol	50	45
7	Ethanol 100%	50	45
8	Toluène	45	45
9	Toluène	45	45
10	Toluène	45	60
11	Paraffine	60	60
12	Paraffine	60	60
13	Paraffine	60	60
Etape	Réactif	Durée (Min)	Température (c°)
1	Fixateur	200	<40
2	Ethanol 50%	20	45
3	Ethanol	30	45
4	Ethanol	40	45
5	Ethanol	40	45
6	Ethanol	50	45
7	Ethanol 100%	50	45
8	Toluène	45	45
9	Toluène	45	45
10	Toluène	45	60
11	Paraffine	60	60
12	Paraffine	60	60
13	Paraffine	60	60

8. Etude statistique

Pour l'étude in vitro les données représentent la moyenne de trois répétitions (Triplicata) indépendantes \pm l'erreur type ($M \pm SEM$). Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne \pm l'erreur type ($M \pm SEM$). Avec $M = \Sigma x / n$; x signifiant la valeur du paramètre étudié et n c'est le nombre de valeurs. $SEM = \text{écart type} / \sqrt{n}$. La comparaison entre les différents lots sont effectuées après une analyse de la variance (ANOVA) suivie par le test post-hoc de Tukey pour la comparaison multiple (logiciel GraphPad Prisme 8 (Prism8, version 8.00, GraphPad Software, California USA). La différence est significative pour $P < 0.05$ (*). La différence est hautement significative pour $P < 0.01$ (**).

1. Propriétés pharmacocinétique et toxicologiques de la lutéoléine et DMH (in silico and ADME study of luteolin and DMH) :

Les molécules chez les humains se comportent en fonction des caractéristiques structurales d'un pharmacophore, englobant des aspects tels que la biodisponibilité, les propriétés de transport, l'affinité, la réactivité, la toxicité et la stabilité métabolique. La nature médicamenteuse de la lutéoléine a été réalisée en analysant leurs propriétés ADME à l'aide du serveur SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) qui se base sur la règle des 5 de Lipinski. Ces paramètres fondamentaux permettent de déterminer à la fois la similitude de la substance avec un médicament et son efficacité dans l'organisme.

Le site web ProTox-II (<https://tox.charite.de/protox3/>) a été utilisé pour analyser le profil de toxicité. Il calcule des prédictions basées sur de nombreuses caractéristiques, y compris la toxicité pour les organes (hépatotoxicité) et les paramètres toxicologiques (cytotoxicité, cancérogénicité et immunotoxicité).

D'après le tableau 3 La lutéoléine, correspond aux exigences de la règle de cinq de Lipinski. Elle a montré une bonne lipophilie, comme l'indique la valeur de LogP (soit 1.73). Elle montre un profil prometteur pour une administration par voie orale (GI absorption : High) en raison d'une absorption gastro-intestinale prédite satisfaisante et de propriétés physico-chimiques globalement favorables (drug-like). Toutefois, un inconvénient majeur de cette substance réside dans sa capacité élevée à interagir avec d'autres médicaments, en raison de son importante inhibition de trois cytochromes majeurs (CYP1A2, CYP2D6, CYP3A4) impliqués dans le métabolisme de divers médicaments.

Quant au DMH, il correspond aux exigences des règles de Lipinski et de Veber. Il a montré une hydrophilie marquée, comme l'indique sa valeur de LogP (soit -0.28) et il montre un profil moins prometteur pour une administration par voie orale (GI absorption : Low) en raison d'une absorption gastro-intestinale prédite faible. Le DMH a une faible capacité à interagir avec d'autres médicaments, en raison de sa non-inhibition de tous les cytochromes majeurs testés (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) impliqués dans le métabolisme de divers médicaments.

RESULTATS

Tableau 3 : Analyse des propriétés ADME

compounds	• Lutéoléine	• DMH
LogP	1.73	-0.28
TPSA Å²	111.13	24.06
nHBA	6	2
nHBD	4	2
GI absorption	High	low
BBB permeant	No	No
P-gp substrate	No	NO
CYP1A2 inhibitor	Yes	NO
CYP2C19 inhibitor	No	NO
CYP2C9 inhibitor	No	NO
CYP2D6 inhibitor	Yes	NO
CYP3A4 inhibitor	Yes	NO
Log K_p (skin permeation) cm/s	-6.25	-6.98
Lipinski	Yes	YES
Ghose	Yes	NO
Veber	Yes	YES

RESULTATS

Tableau 4 : Prédiction in silico des profils de toxicité de la lutéoléine et DMH

Compounds	Hepatotoxicity		Neurotoxicity		Nephrotoxicity		Cardiotoxicity		Carcinogenicity		Immunotoxicity		Cytotoxicity		Predicted LD50 (mg/kg)	Predicted Toxicity Class
	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb		
Lutéoléine	I	0.69	I	0.89	A	0.62	I	0.99	A	0.68	I	0.97	I	0.99	3919	5
DMH	A	0.59	I	0.58	I	0.73	I	0.75	A	0.90	I	0.99	I	0.73	26	2

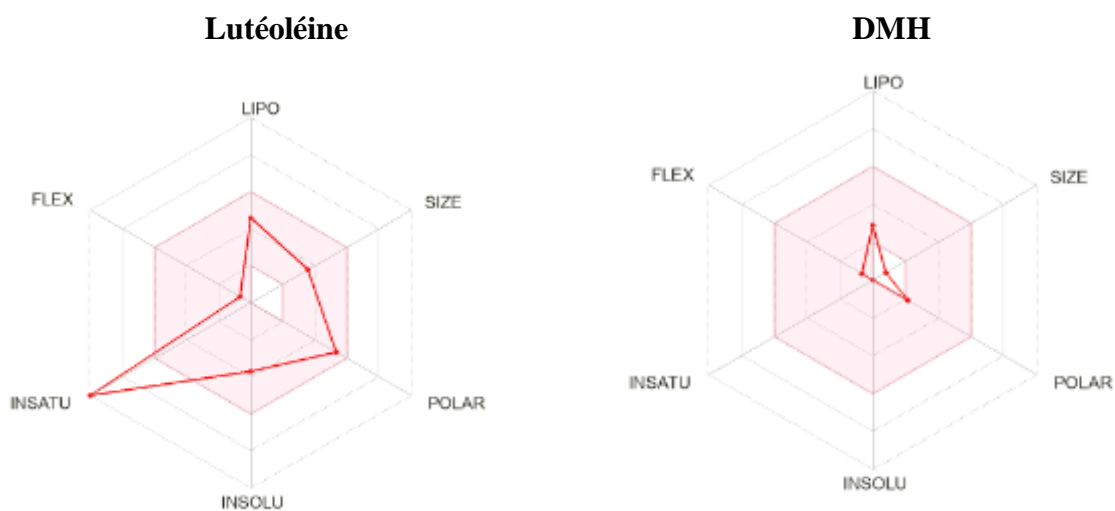
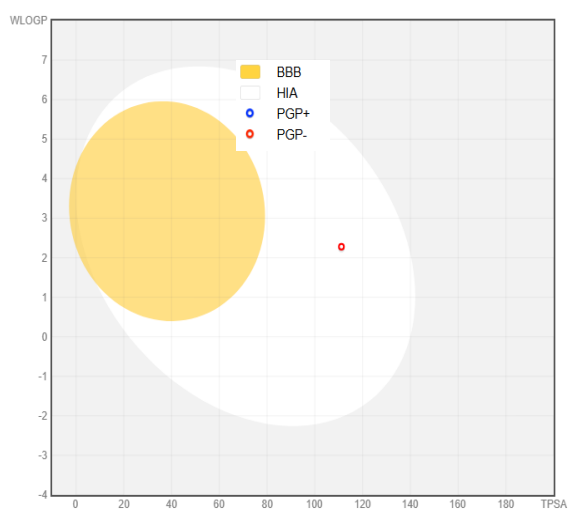


Figure 15: Radar de biodisponibilité pour la Lutéoléine et la DMH (la zone rose indique les propriétés de similitude avec les médicaments des composés sélectionnés).

RESULTATS

Lutéoline



DMH

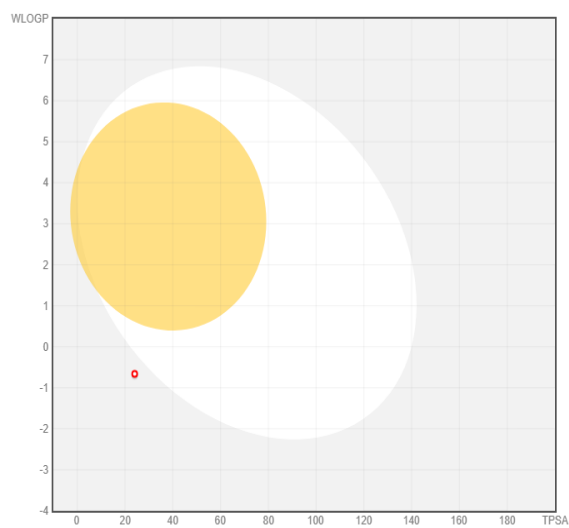


Figure 16 : Boiled-egg graph de la Lutéoline et DMH

RESULTATS

Lutéoline

DMH

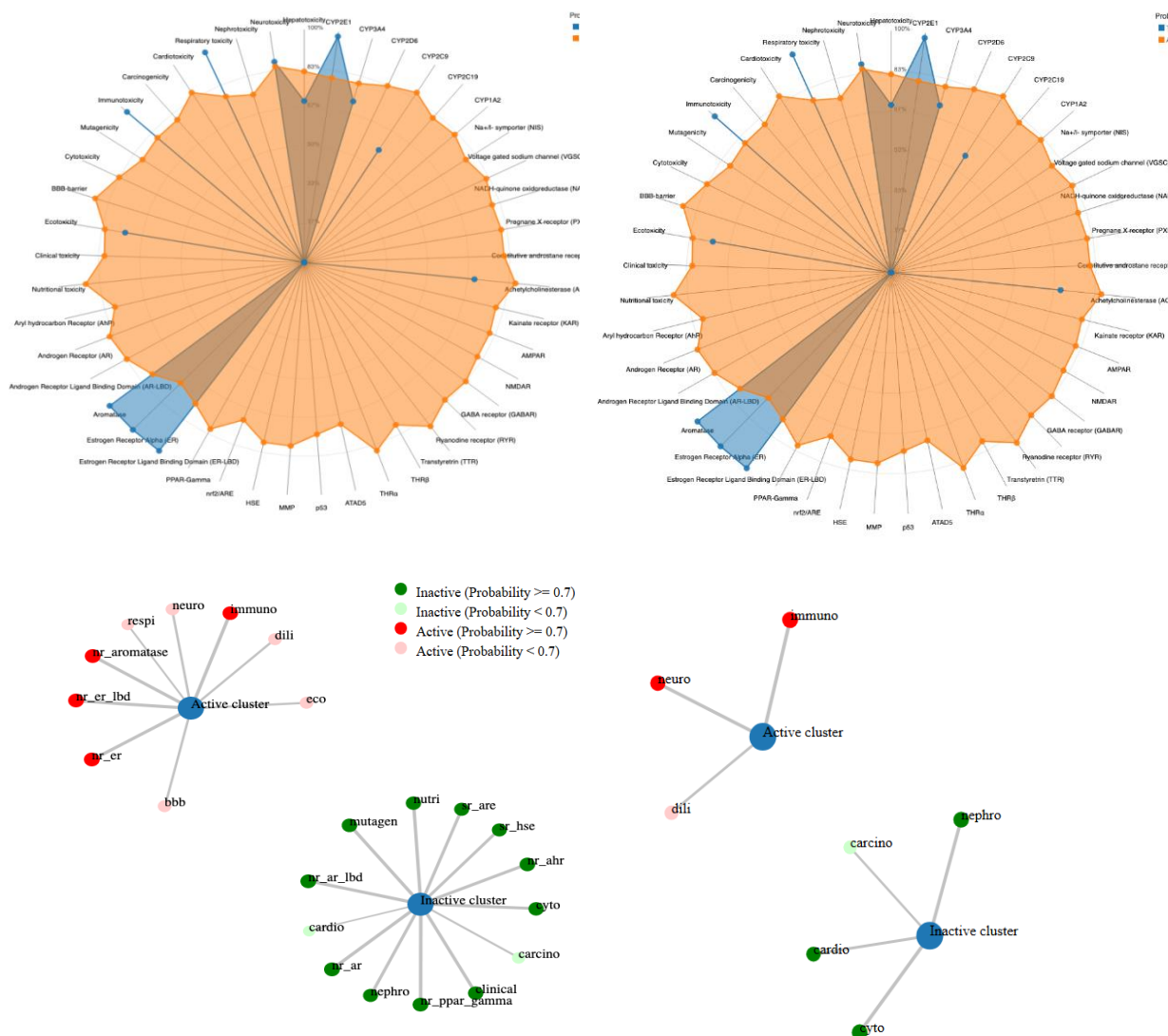


Figure 17 : le lien entre le composé sélectionné et les activités prévues.

2. Etude pondérale

2.1. Variation du poids corporel

Au cours de la présente étude, on note une augmentation progressive de poids corporel chez les rats témoins et traités par LU et une réduction de la prise pondérale chez les rats traités par le DMH, cette diminution du poids corporel est hautement significative chez les traités par le DMH ($P < 0.05$) et significative chez les rats traités par la combinaison Lu-DMH ($P < 0.01$) (tableau 5)

Tableau 5 : action sur la croissance corporelle.

Paramètres	Groupes			
	Témoins	DMH	DMH + Lu	Lu
Poids corporel en gramme	217.5 ± 7.59	$201.25 \pm 7.14^{**}$	$229.75 \pm 6.80^*$	238.25 ± 11.35

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 animaux) ;

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) comparativement aux rats témoins ;

3. Etude des paramètres biochimiques

Les résultats observés après le dosage sérique des paramètres biochimiques sont illustrés dans le tableau 6 . Ces résultats affirment l'existence d'une grande perturbation métabolique.

3.1. Effet du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique

- **Protéines totales et l'albumine** Les résultats de la présente étude révèlent que l'administration du DMH à 30 mg/kg de poids corporel chez les rats provoque une diminution significative ($P < 0,05$) de la teneur plasmatique en protéines totales et en albumine. Tandis que chez les rats traités uniquement par la lutéoléine, on n'enregistre aucune différence significative comparativement aux rats témoins (tableau 6).

- **Transaminases (ASAT et ALAT)**

RESULTATS

Les paramètres enzymatiques associés au métabolisme hépatique qui ont été mesurés chez les rats témoins et traités sont illustrés dans le tableau 6 . Nos résultats montrent que l'administration du DMH chez les rats a provoqué une augmentation hautement significative d'ASAT ($p < 0.01$) accompagnée d'une augmentation significative d'ALAT ($p < 0.05$) comparativement aux témoins. Cependant, la supplémentation de la lutéoleine aux rats traités par le DMH a restauré les niveaux des transaminases et de (ASAT, ALAT ;($p < 0.05$)).

Tableau 6 : Les biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique chez les rats témoins et traités après 15 semaines du traitement.

Paramètres	Traitements			
	Témoins	DMH	DMH+LU	LU
Total protein (g/L)	69.24 ± 5.48	52.18 ± 2.85*	58.17 ± 7.55	72.39 ± 4.61 [#]
Albumin (g/L)	47.16 ± 1.89	39.02 ± 2.84*	42.05 ± 3.19	45.72 ± 2.56 [#]
ASAT (IU/L)	140.17 ± 11.60	223.07 ± 9.43**	195.90 ± 7.63*	151 ± 8.01 [#]
ALAT (IU/L)	54.65 ± 7.52	90.01 ± 11.50*	77.53 ± 4.02	58.24 ± 7.34 [#]

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6 animaux) ;

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) comparativement aux rats témoins ;

([#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$) comparativement aux rats traités par le DMH ;

4. Analyse du stress oxydant

Après notre expérimentation, les paramètres enzymatiques et non enzymatiques relatifs à l'état du stress oxydatif (OSS) ont été quantifiés au niveau colique.

4.1. Teneur en glutathion colique chez les rattes témoins et traités.

Les résultats illustrent une diminution hautement significative de l'activité du GSH chez les rats du lot DMH comparativement aux lots témoin et Lutéoléine (DMH : 65.72 ± 3.25 vs T : 124.43 ± 2.39 . ; LU : $103.35.21 \pm 1.53$ $P < 0.01$). En revanche, l'administration de la lutéoléine chez les rats cancéreux augmente significativement la concentration du GSH (DMH+LU: $94.15. \pm 1.02$.vs DMH : 65.72 ± 3.25 , $P < 0.05$). (Tableau 7).

4.2. Peroxydation lipidique

La déplétion de la défense antioxydante colique a été associée par une peroxydation lipidique importante, révélée par une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) du taux MDA dans le colon chez les rats traités par le DMH comparativement au rats témoins (DMH : 4.15 ± 0.17 , témoin : 0.28 ± 0.04 , $p < 0,01$) En revanche, la Co-administration de la lutéoléine a réduit significativement l'augmentation de taux de MDA dans le colon (DMH + Lu: 1.36 ± 0.14 ; DMH : 4.15 ± 0.17 $p < 0,05$).

4.3. Activité de la catalase colique chez les rats témoins et traités.

L'activité de la catalase s'exprime par Une diminution très hautement significative chez les animaux présentant des néoplasies précancéreux par rapport aux témoins et ceux traités par la lutéoléine ($p < 0,001$) Cependant, l'administration de la lutéoléine à ces rats améliore d'une façon hautement significative l'activité de cette enzyme antioxydant $p < 0,01p$ (Figure a 19).

4.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase

D'après la figure b 20 on constate que le traitement des rats avec le DMH a provoqué une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) colique comparativement au lot témoin (figure b 19).En revanche, la co-administration du lutéoléine avec le DMH a augmenté significativement l'activité enzymatique de la GPx dans le colon($p < 0,05$).

Tableau 7: Effets de DMH, Lu et de leur association (DMH + Lu) sur les niveaux de GSH et de MDA dans les rats témoins et traités.

RESULTATS

Paramètres	Groupe Expérimentale			
	Témoins	DMH	DMH + Lu	Lu
GSH (nmol/mg prot)	124.43 ± 2.39	65.72 ± 3.25 ^{***}	94.15 ± 1.02 [*]	103.35 ± 1.53 ^{##}
MDA (nmol/mg prot)	0.28 ± 0.04	4.15 ± 0.17 ^{**}	1.36 ± 0.14 [*]	0.38 ± 0.04 [#]

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SEM, n = 6. DMH : 1,2-diméthylhydrazine. Lu : lutéoline. Différence significative : DMH, Lu + DMH, Lu par rapport au groupe témoin (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001) ; DMH, Lu par rapport au groupe DMH (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

5. Variation de l'expression du marqueur embryonnaire du cancer colorectal

L'analyse Par la méthode ELISA du plasma des rats témoins, cancéreux et ceux traités par la lutéoline révéla une expression très hautement significative de cet antigène chez les rats cancéreux comparativement aux rats témoins et ceux traités par la lutéoline (figure 18).

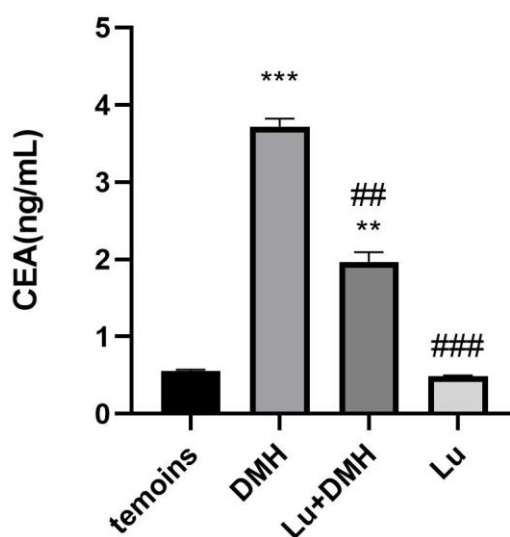


Figure 18: Antigène carcinoembryonnaire (ACE) dans le sérum de rats témoins et traités. ; DMH:1,2-diméthylhydrazine. Lu: lutéoline .

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SEM de six rats par groupe (n=6). ;

RESULTATS

Différence significative : DMH, Lu + DMH, Lu par rapport au groupe témoin.

(*p < 0.01, ***p < 0.001),

DMH, Lu par rapport au groupe DMH.

(##p < 0.01, ###p < 0.001)

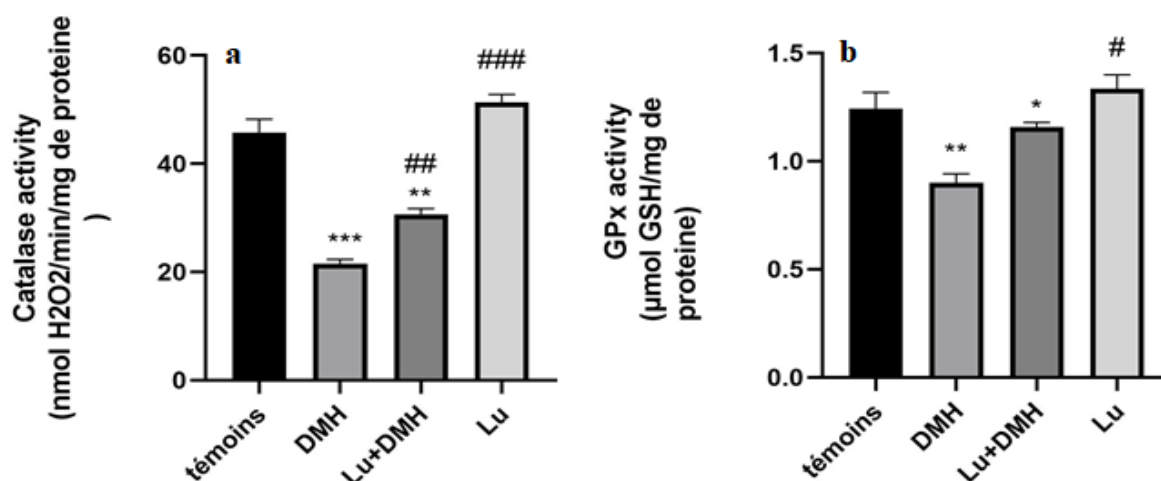


Figure 19 : Statut de la défense antioxydante dans le côlon des rats témoins et traités.

DMH : 1,2-diméthylhydrazine ; Lu : lutéoléine ; CAT : Catalase (a) et GPx : Peroxydase de glutathion (b) ; les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM de six rats par groupe (n=6). Différence significative : DMH, Lu + DMH, Lu par rapport au groupe témoin (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001) ; DMH, Lu par rapport au groupe DMH (#p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001).

6. Etude morphométrique.

Cette étude a été menée afin de mettre en évidence l'effet de l'adjuvant choisi, la Lutéoléine sur l'évolution du processus cancérigène relatif à l'apparition des altérations précancéreuses suite à l'injection de la DMH. Cette étude repose sur la quantification des foyers de cryptes aberrants (ACF) au niveau du colon selon la méthode utilisée par Bird (1987) . L'observation en microscopie optique des colons colorés au bleu de méthylène, se fait en aveugle (colon codés). Nous avons procédé au comptage du nombre d'ACF par colon et le nombre des cryptes par ACF. Les résultats sont présentés dans le tableau 07 et illustrés par les figures 20 et 21.

Table 8 : Répartition des nodules tumoraux visibles et des scores dans le côlon

RESULTATS

Rats	Traitement			
	Témoins	DMH	DMH + Lu	Lu
1	0	0	1	0
2	0	0	0	0
3	0	1	0	0
4	0	2	1	0
5	0	0	1	0
6	0	3	1	0
Scores total	0	6	4	0

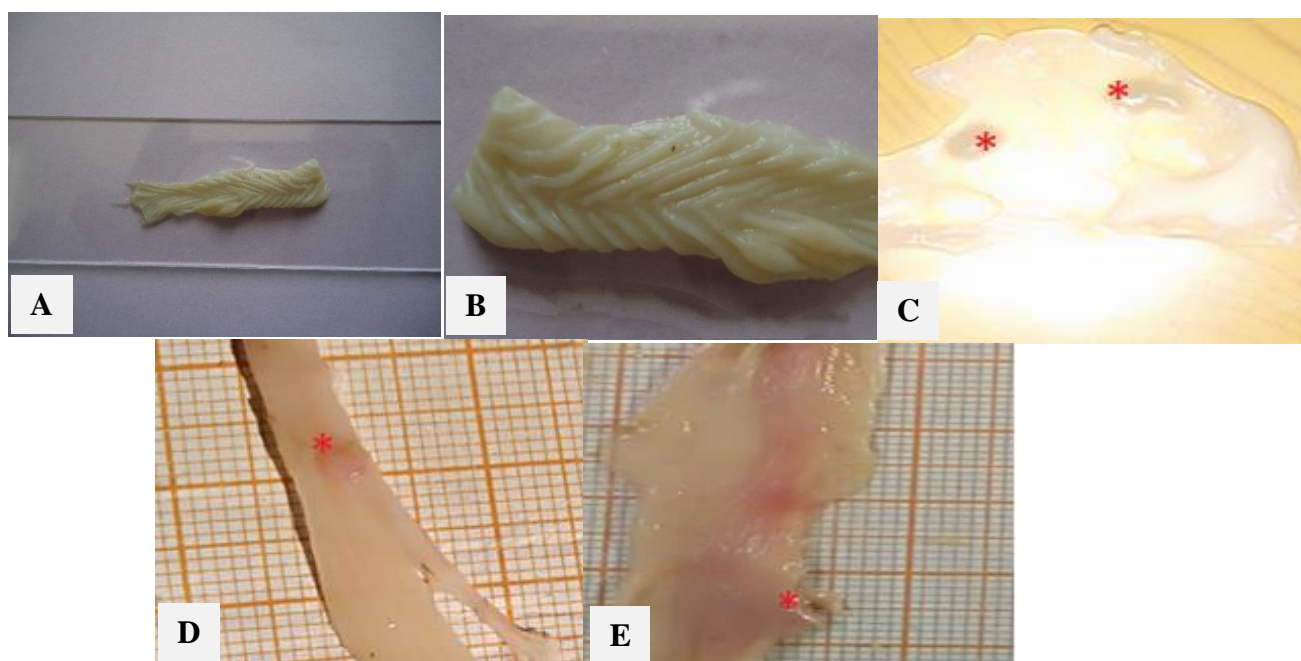


Figure 20: Vue macroscopique des colons de rats traités par le DMH (C.D.E) montrant une présence de tumeurs (indiquées par *) en comparaison avec le colon de rat témoin (A) et de rat témoin traité par la lutéoline (B).

RESULTATS

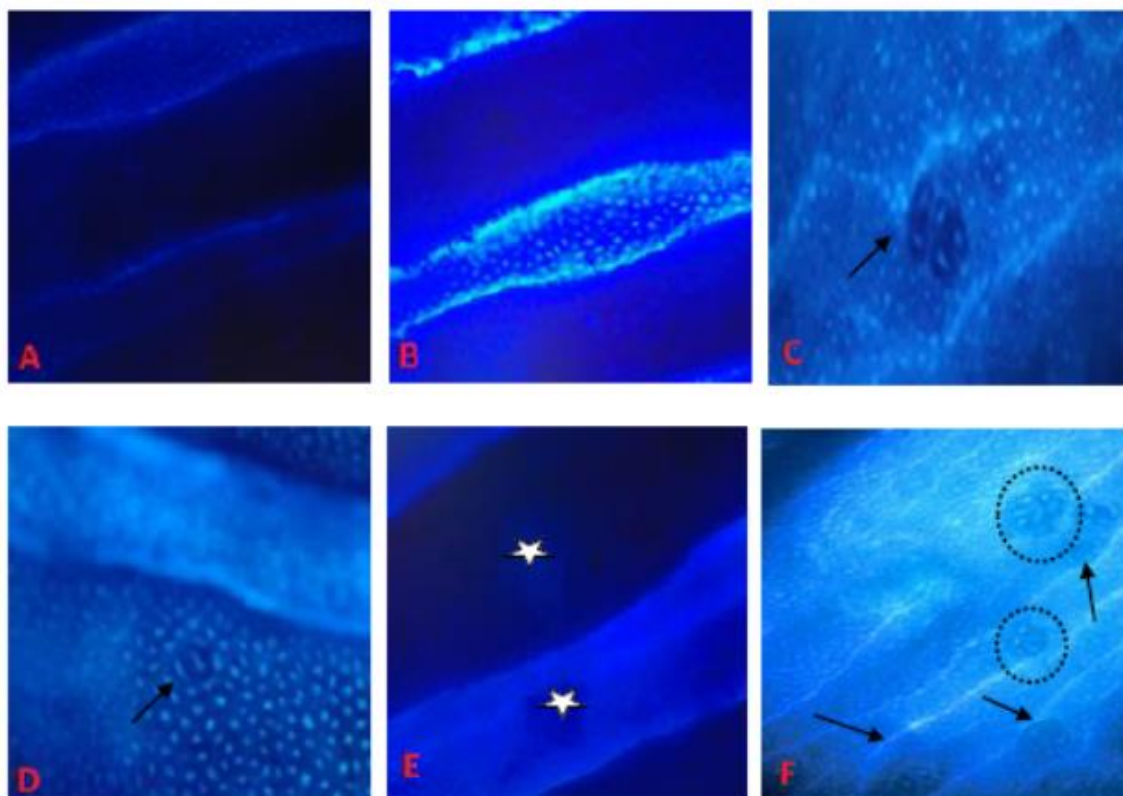


Figure 21 : Vue microscopique de colons colorés au bleu de méthylène selon Beurg, de rats traités par le DMH (C, D) montrant des foyers de cryptes aberrants ACF de 2 cryptes C et 3 cryptes D (flèche) (E) Adénome précoce (étoile). Foyers cryptiques aberrants multiples > 4 cryptes). (f) Foyers cryptiques aberrants multicryptiques du côlon traité au DMH (cercle), en comparaison aux colons témoin et ceux traités par la lutéoline (A, B).

7. Histopathologie du colon.

L'étude histologique menée sur des colons prélevés après 15 semaines chez les rats témoins et cancéreux a révélée des altérations structurales au niveau des couches cellulaires qui composent le colon. De plus les observations histopathologies vont de pair avec ceux de l'étude morphométrique qui révèlent des lésions précancéreuses par l'apparition des ACF et des hyperplasies tubulaires chez les lots DMH contrairement au lot témoin. Cependant, on observe une diminution de ces lésions précancéreuses chez les rats DMH traités par la lutéoléine.

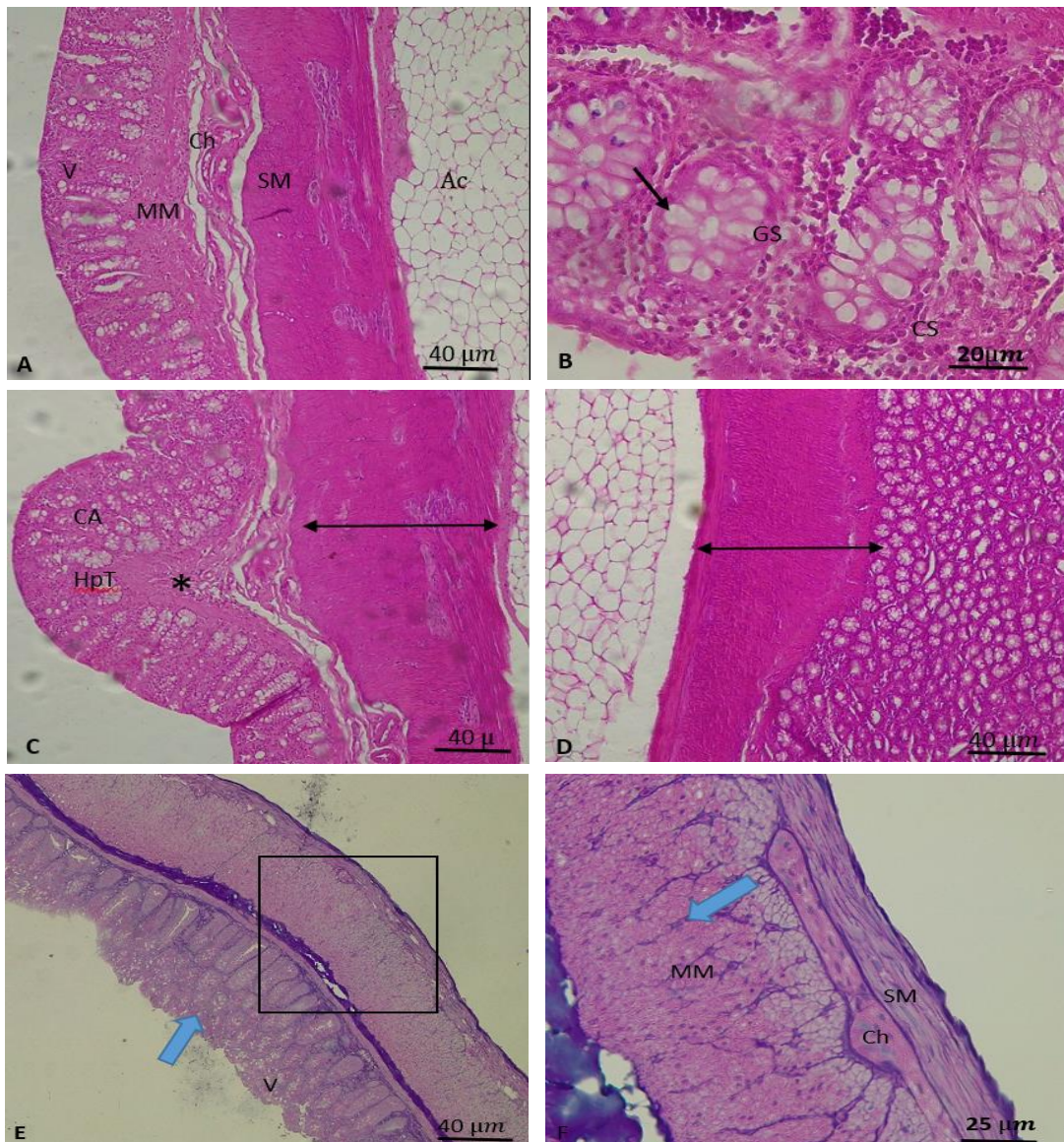


Figure 22: Sections longitudinales du côlon de rats colorés à l'Hématoxyline-Éosine

A : vue générale montrant les villosités (V) avec la présence du chorion (Ch) qui s'étend entre les cryptes (C) et forme l'axe central de chaque villosité. Les différentes couches, la musculaire muqueuse (MM) et la sous-muqueuse (MS) (150X). **B** : glandes séreuses (GS) et couche séreuse (CS) avec flèche noire indiquant les cellules caliciformes (300X). Dans DMH **C** et **D** rats cancéreux : apparition de plusieurs cryptes aberrantes (CA) et hyperplasie très marquée des deux couches, la musculaire muqueuse et la sous-muqueuse (flèches noires doubles) (150X). **C** : hyperplasie tubulaire qui est synonyme de lésion précancéreuse (HpT) et formation d'un axe conjunctivo-vasculaire (Astérisque) (300X). **E** et **F** : groupe de rats DMH traités avec du lutéoléine montrant une récupération de l'hyperplasie des couches MM et SM (150X).

Discussion :

Dans cette étude, nous avons examiné les effets préventifs de la lutéoline dans un modèle de cancer colorectal induit chez le rat par le DMH, un carcinogène de type hydrazine qui provoque des caractéristiques morphologiques et histologiques similaires à celles du cancer du côlon chez l'homme (Venkatachalam et al., 2020) . Ce modèle est couramment utilisé pour tester l'efficacité des agents chimiopréventifs (Perše & Cerar, 2011) .

Au cours de la phase évolutive, la perte de poids est la caractéristique commune du cancer du côlon, ce qui reflète l'agressivité de la maladie. La charge tumorale dans le côlon entraîne une diminution de l'apport alimentaire, diminuant ainsi la prise de poids ou augmentant la perte de poids. Les altérations du métabolisme du glucose et l'augmentation de la gluconéogenèse hépatique épuisent les sources d'énergie, ce qui entraîne une perte de poids significative (Venkatachalam et al., 2013). La cachexie (état clinique catabolique) peut être causée par une combinaison de troubles endocriniens et immunologiques résultant des interactions hôte-tumeur. Différents mécanismes interviennent dans la perte de poids due au jeûne et à l'état cancéreux. Pendant le jeûne, la perte de poids concerne principalement le tissu adipeux et une petite quantité des tissus, tandis qu'en cas de cancer, elle concerne à la fois le tissu adipeux et les muscles squelettiques. En cas de jeûne, des corps cétoniques sont produits à partir des graisses, qui remplacent le glucose, inhibant ainsi la perte de masse musculaire.

Nos résultats indiquent que l'administration de DMH à 30 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritoniale hebdomadaire pendant 4 semaines chez les rats a conduit au développement de 4 foyers cryptiques aberrants (ACFs) par côlon, identifiés par microscopie après coloration du côlon avec du bleu de méthylène, confirmant ainsi le début de la carcinogenèse colique.

Les ACF sont caractérisés par la présence d'une ou plusieurs cryptes aberrantes. Dans l'étude de Rodrigues et al. (2002), il a été rapporté que les ACF chez les rats traités au DMH se manifestaient principalement dans le côlon moyen et distal et augmentaient avec le temps. Après 4 semaines, 91,5 % des ACF étaient constitués d'une ou deux cryptes, tandis que 8,5 % en avaient trois ou plus. Après 30 semaines, cependant, la proportion d'ACF avec trois ou plus de cryptes a augmenté à 46,9 %. De plus, Adrianto et al. (2024) ont signalé que la formation d'ACF variait selon la durée d'exposition, avec des intervalles allant de 4 à 15 semaines après

DISCUSSION

l'exposition au DMH et consistant principalement en une ou deux cryptes. Dans cette expérience, nous avons enregistré une augmentation significative des niveaux d'antigène carcinoembryonnaire (ACE). L'élévation observée des niveaux d'ACE peut être attribuée à la progression du cancer colorectal (CRC) (Campos-da-Paz et al., 2018). En revanche, dans le groupe traité avec la lutéoline à 20 mg/kg de poids corporel pendant 4 semaines avant le traitement au DMH, les résultats ont montré une réduction du nombre d'ACF et des niveaux d'ACE. Cette réduction peut s'expliquer par la capacité de la lutéoline à moduler le nombre d'ACF en inhibant leur développement et leur prolifération (Ashokkumar & Sudhandiran, 2008).

Le développement des ACF était associé à une perte de cellules caliciformes. Un stress oxydatif intense était produit à ce stade de la carcinogénèse, pouvant entraîner des dommages oxydatifs impliquant des protéines cellulaires, des lipides, de l'ADN et d'autres molécules, d'une manière qui pourrait conduire à une fonction cellulaire anormale (Osman et al., 2015; Rytsyk et al., 2020 ; López-Mejía et al., 2021). Dans notre étude, il y avait une élévation significative des niveaux de MDA dans le tissu colique des rats recevant du DMH à 30 mg/kg par rapport aux rats témoins. Le MDA est le paramètre le plus utilisé pour évaluer les dommages oxydatifs des lipides. L'augmentation observée des niveaux de MDA peut s'expliquer par le fait que le métabolite réactif produit après le métabolisme du DMH induit des changements dans les tissus qui augmentent les niveaux de MDA (Osman et al., 2015) . Le MDA est un marqueur de dommages étendus, indiquant que le stress oxydatif se développe pendant la carcinogénèse colique, causé par une production accrue de ROS, qui perturbe l'équilibre redox (López-Mejía et al., 2021). Ces résultats corroborent des études précédentes montrant une augmentation du contenu en MDA durant la carcinogénèse colique (Osman et al., 2015 ; Jabbar et al., 2024). Le GSH est un thiol de faible poids moléculaire impliqué dans le système de défense cellulaire, agissant comme antioxydant et comme substrat pour les enzymes GPx et GST. Dans cette expérience, l'exposition au DMH a conduit à une baisse significative ($p < 0,01$) des niveaux de GSH dans le tissu colique, probablement due à son utilisation accrue par les cellules coliques pour neutraliser l'excès de ROS généré par l'électrophile actif du DMH.

De plus, il a été rapporté que la peroxydation lipidique des membranes n'apparaît qu'après l'épuisement du GSH (Abdel-Hamid et al., 2016). L'épuisement des niveaux de GSH dans notre étude est similaire à ceux rapportés par des études précédentes durant la carcinogénèse

DISCUSSION

colique dans un modèle de rat (Walia et al., 2018 ; Boeing et al., 2020 ; Jabbar et al., 2024). L'évaluation biochimique des systèmes d'enzymes antioxydantes a montré une baisse significative des activités de CAT et de GPx. Cette diminution reflète le degré de dommages cytotoxiques dans le tissu colique (Walia et al., 2018; López-Mejía et al., 2021). De plus, la CAT catalyse la décomposition du H₂O₂ en H₂O et O₂, une fonction partagée avec la GPx, qui utilise le GSH comme substrat, en plus de son rôle principal dans l'élimination des peroxydes lipidiques. La diminution observée des activités de CAT et de GPx peut résulter d'une production accrue de H₂O₂ et de peroxydes lipidiques pouvant dépasser les capacités antioxydantes des enzymes mentionnées, conduisant à une inhibition de leurs activités (Tichati et al., 2021) .

Le traitement préventif avec la lutéoline chez les rats exposés au DMH a significativement amélioré le contenu en GSH et les activités enzymatiques de CAT et de GPx, tout en réduisant le contenu en MDA. La protection observée peut être attribuée à la puissante capacité antioxydante de la lutéoline, qui réduit les dommages oxydatifs induits par le DMH grâce à son rôle dans l'augmentation des activités de CAT et de GPx (Osman et al., 2015 ; Boeing et al., 2019). De plus, l'élévation notée de l'activité des enzymes mentionnées favorise une élimination plus efficace des ROS, limitant ainsi leur toxicité et protégeant les cellules coliques contre le stress oxydatif (Boeing et al., 2019 ; Abdul-Aziz Ahmed et al., 2024).

Les activités pharmacologiques de la lutéoline pourraient être fonctionnellement liées les unes aux autres. Par exemple, l'effet anti-inflammatoire de la lutéoline peut être lié à sa fonction anti-cancéreuse. La propriété anti-cancéreuse de la lutéoline peut être associée à son pouvoir d'induction de l'apoptose, ce qui englobe la régulation d'oxydo réduction, des dommages de l'ADN et des protéines kinases impliquées dans la suppression de la prolifération, de la métastases et de l'angiogénèse des cellules cancéreuses (Lin et al., 2008)

Les résultats obtenus de d'autres expériences effectuées chez le rat après une seule administration orale de *Chrysanthemum morifolium* (200 mg 1 kg), une plante contenant de la lutéoline et de l'apigénine comme molécules actives ont montré une dose totale de récupération de 37,9% (6,6% dans l'urine; 31 ,3% dans les fèces) pour la Iutéoline et 45,2% (16,6% dal)s l'urine, de 28,6% dans les fèces) pour l'apigénine. La dose de la lutéoline excrétée dans la bile était de 2,05% de la dose initiale. La lutéoline a une phase d'élimination

DISCUSSION

lente, avec une absorption rapide, il est donc envisageable d'avoir une accumulation de ce flavonoïde dans le corps (Chen et al., 2007).

En général, on croit que la biodisponibilité orale de flavonoïdes est très faible. Mais, selon les résultats, la biodisponibilité de la lutéoline dérivée des plantes serait beaucoup plus élevée que celle de la lutéoline pure (Zhou et al., 2008). Des données relatives à la sécurité des flavonoïdes soutiennent leur utilisation comme complément alimentaire. Il a été documenté que la supplémentation diététique de 1 g/jour de la molécule la plus proche de la lutéoline, la quercétine, chez l'homme, est sécuritaire et sans effets cytotoxiques (Conquer et al., 1998). Une étude chez des rongeurs n'a montré aucune toxicité de la lutéoline jusqu'à 10 mg/kg (donnée IP) administrée quotidiennement pendant 18 jours (Fang et al., 2007). Les mesures sur la teneur totale en flavonoïdes dans le régime alimentaire des différentes populations ont révélé que l'apport moyen total en flavonoïdes est habituellement de l'ordre de 100 à 200 mg par jour: les flavonoles, avec la quercétine et le kaempférol comme principaux composants, contribueront entre 5-20 mg par jour, les flavones seulement environ 1 mg, ou moins, dont jusqu'à 90% de la fraction des flavones est représenté par l'apigénine, en laissant environ 0,1 mg par jour à la lutéoline (Seelinger et al., 2008). Des concentrations considérables de la lutéoline se trouvent dans quelques épices comme le thym, le persil, la sauge, et dans les carottes sauvages, mais les principales sources nutritionnelles de lutéoline sont cachées dans le céleri, les épinards, certaines variétés de poivrons et la laitue. Les attentes pour trouver des effets sur la santé des flavones (ou même de la lutéoline) en corrélation avec ces études épidémiologiques devraient donc être modérées (Seelinger et al., 2008).

La lutéoline exerce ses effets neuro-protecteurs par son action directe sur les cellules microgliales. Cette observation est cohérente avec le rôle bien documenté des médiateurs inflammatoires dans la progression des maladies neurodégénératives (Block et Hong, 2005). Ces rapports antérieurs ont incité à approfondir notre recherche sur les effets de la lutéoline. De plus, la lutéoline est perméable à la barrière hémato-encéphalique, la rendant applicable au traitement des maladies du système nerveux central, y compris le cancer du cerveau (Wruck et al., 2007).

L'intervention diététique est un moyen pratique de prévention ou de traitement des maladies, car elle n'est généralement pas accompagnée d'effets secondaires graves (Seelinger et al., 2008; Murakami et coll., 1996). Au moins un tiers de tous les cancers humains peuvent être

DISCUSSION

associés à l'alimentation et influencés par le mode de vie et l'exercice physique. Les facteurs nutritionnels ou diététiques ont suscité beaucoup d'intérêt en raison de leur capacité perçue à agir comme des agents chimiopréventifs très efficaces. Ainsi, les approches diététiques sont considérées comme une stratégie rationnelle de prévention.

Conclusion et perspective :

Cette présente étude a été réalisée dans le but d'évaluer les effets **chimiopréventifs** de la lutéoline, un flavonoïde naturel appartenant à la classe des antioxydants, chez des rats albinos mâles présentant un cancer colorectal induit expérimentalement par le DMH (1,2-diméthylhydrazine). La problématique principale de cette recherche repose sur le fait que l'administration intrapéritonéale de DMH à la dose de 30 mg/kg entraîne une perturbation métabolique profonde et induit un état de stress oxydatif, favorisant ainsi la carcinogénèse colique.

L'administration chronique de lutéoline a permis de réduire significativement la prolifération des cellules cancéreuses induite par le DMH, suggérant que cette molécule exerce un effet protecteur contre le cancer colorectal chez le rat. Cet effet protecteur est vraisemblablement médié par l'inhibition de la cascade d'événements responsables de l'installation d'un état de stress oxydatif et de dommages moléculaires.

En conclusion, ce travail de thèse a apporté une contribution importante à la compréhension du lien entre l'alimentation, le stress oxydatif et le risque de cancer colorectal. Il souligne l'intérêt potentiel de certains composés bioactifs d'origine naturelle, tels que la lutéoline, comme agents chimiopréventifs complémentaires.

À terme, ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes en matière de santé publique. L'objectif serait de proposer des stratégies nutritionnelles simples et accessibles permettant de réduire le risque de cancer colorectal, sans imposer au consommateur des recommandations trop restrictives ou difficilement applicables. Ce type d'approche intégrant à la fois les dimensions biologiques, sociales et économiques pourrait contribuer à une prévention plus efficace, acceptée et éthiquement responsable.

À partir de ces résultats, il serait pertinent de poursuivre nos investigations selon les axes de recherche suivants :

- **Génotoxicité** : évaluer la capacité de la lutéoline à prévenir ou réduire les mutations dans les cellules saines (Apc+/+), susceptibles de contribuer à l'initiation tumorale.
- **Cytotoxicité** : analyser la toxicité et le type de mort cellulaire induits, afin de comprendre les mécanismes de sélection des cellules précancéreuses.
- **Immunohistochimie** : suivre l'expression de biomarqueurs précoces du cancer colorectal pour préciser les cibles moléculaires modulées par la lutéoline.

CONCLUSION & PERSPECTIVE

- **Dosages immuno-enzymatiques** : quantifier les prostaglandines et les cyclooxygénases, ainsi que détecter d'autres marqueurs précoces de la tumorigenèse colique.
- **Profil des antioxydants non enzymatiques** : évaluer notamment les teneurs en vitamine E et en vitamine D, qui jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres et le maintien de l'équilibre redox.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abdel-Hamid, N. M., Wahid, A., Mohamed, E. M., Abdel-Aziz, M. A., Mohafez, O. M., & Bakar, S. (2016). New pathways driving the experimental hepatoprotective action of tempol (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) against acute hepatotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *79*, 215-221. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.016>

Abdul-Aziz Ahmed, K., Jabbar, A. A. J., Abdulla, M. A., Zuhair Alamri, Z., Ain Salehen, N., Abdel Aziz Ibrahim, I., Almaimani, G., Bamagous, G. A., Almaimani, R. A., Almasmoum, H. A., Ghaith, M. M., & Farrash, W. F. (2024). Mangiferin (mango) attenuates AOM-induced colorectal cancer in rat's colon by augmentation of apoptotic proteins and antioxidant mechanisms. *Scientific Reports*, *14*(1), 813. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50947-y>

Ashokkumar, P., & Sudhandiran, G. (2008). Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *62*(9), 590-597. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.06.031>

B

Baba-Ahmed F, Guedri K, Trea F, et al. Protective role of a melon superoxide dismutase combined with gliadin (GliSodin) on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *J Cancer Res Ther*. 2021;17(6):1445–1453. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_175_19

Barbosa de Freitas Lima, J. E., Xavier, D., & Sakamoto-Hojo, E. (2019). *Oxidative Stress, DNA Damage and Repair Pathways in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85438>

Bardelčíková, A., Šoltys, J., & Mojžiš, J. (2023). Oxidative Stress, Inflammation and Colorectal Cancer: An Overview. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *12*(4), 901. <https://doi.org/10.3390/antiox12040901>

Bashan, N., Kovsan, J., Kachko, I., Ovadia, H., & Rudich, A. (2009). Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiological Reviews*, *89*(1), 27-71. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2008>

Birk, J., Meyer, M., Aller, I., Hansen, H. G., Odermatt, A., Dick, T. P., Meyer, A. J., & Appenzeller-Herzog, C. (2013). Endoplasmic reticulum: Reduced and oxidized glutathione revisited. *Journal of Cell Science*, *126*(Pt 7), 1604-1617. <https://doi.org/10.1242/jcs.117218>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Board, P. G., Coggan, M., Chelvanayagam, G., Easteal, S., Jermiin, L. S., Schulte, G. K., Danley, D. E., Hoth, L. R., Griffor, M. C., Kamath, A. V., Rosner, M. H., Chrnyk, B. A., Perregaux, D. E., Gabel, C. A., Geoghegan, K. F., & Pandit, J. (2000). Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(32), 24798-24806. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001706200>

Bouguerne, B. (2012). *Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose)* [Thesis, Toulouse 3]. <https://theses.fr/2012TOU30010>

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018 : GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

Brianna, null, & Lee, S. H. (2023). Chemotherapy : How to reduce its adverse effects while maintaining the potency? *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 40(3), 88. <https://doi.org/10.1007/s12032-023-01954-6>

C

Campbell, R. L., Singh, D. V., & Nigro, N. D. (1975). Importance of the fecal stream on the induction of colon tumors by azoxymethane in rats. *Cancer Research*, 35(5), 1369-1371.

Campos-da-Paz, M., Dórea, J. G., Galdino, A. S., Lacava, Z. G. M., & de Fatima Menezes Almeida Santos, M. (2018). Carcinoembryonic Antigen (CEA) and Hepatic Metastasis in Colorectal Cancer : Update on Biomarker for Clinical and Biotechnological Approaches. *Recent Patents on Biotechnology*, 12(4), 269-279. <https://doi.org/10.2174/1872208312666180731104244>

Caramori, G., & Papi, A. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59(2), 170-173. <https://doi.org/10.1136/thorax.2002.002477>

Carange, J. (2010). *Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection?* [Masters, Université du Québec à Trois-Rivières]. <https://depot-e.uqtr.ca/id/eprint/1934/>

Ceriello, A. (2008). Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care*, 31 Suppl 2, S181-184. <https://doi.org/10.2337/dc08-s245>

Hansen, H. (1998). Human health perspective on environmental exposure to hydrazines : A review. *Chemosphere*, 37(5), 801-843. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(98\)00088-5](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(98)00088-5)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage : Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(10), 1195-1214. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0752rev>

Cooper, H. K., Buecheler, J., & Kleihues, P. (1978). DNA alkylation in mice with genetically different susceptibility to 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. *Cancer Research*, 38(9), 3063-3065.

Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006). *Plant secondary metabolites : Occurrence, structure and role in the human diet* (1st ed.). Blackwell Pub.

D

Daca Alvarez, M., Quintana, I., Terradas, M., Mur, P., Balaguer, F., & Valle, L. (2021). The Inherited and Familial Component of Early-Onset Colorectal Cancer. *Cells*, 10(3), 710. <https://doi.org/10.3390/cells10030710>

E

Engwa, G. A. (2018). Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases. In *Phytochemicals—Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76719>

Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Cooke, M. S. (2004). Oxidative DNA damage and disease : Induction, repair and significance. *Mutation Research*, 567(1), 1-61. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2003.11.001>

F

Fiala, E. S. (1977). Investigations into the metabolism and mode of action of the colon carcinogens 1,2-dimethylhydrazine and azoxymethane. *Cancer*, 40(5 Suppl), 2436-2445. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197711\)40:5+%253C2436::aid-cnrcr2820400908%253E3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197711)40:5+%253C2436::aid-cnrcr2820400908%253E3.0.co;2-u)

Fiala, E. S., Kulakis, C., Bobotas, G., & Weisburger, J. H. (1976). Detection and estimation of azomethane in expired air of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 56(6), 1271-1273. <https://doi.org/10.1093/jnci/56.6.1271>

Fiala, E. S., Sohn, O. S., Puz, C., & Czerniak, R. (1987). Differential effects of 4-iodopyrazole and 3-methylpyrazole on the metabolic activation of methylazoxymethanol to a DNA methylating species by rat liver and rat colon mucosa in vivo. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 113(2), 145-150. <https://doi.org/10.1007/BF00391436>

G

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ganther, H. E. (1999). Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: Complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*, 20(9), 1657-1666. <https://doi.org/10.1093/carcin/20.9.1657>

Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55-68. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>

Grab, D. J., & Zedeck, M. S. (1977). Organ-specific effects of the carcinogen methylazoxymethanol related to metabolism by nicotinamide adenine dinucleotide-dependent dehydrogenases. *Cancer Research*, 37(11), 4182-4189.

Gredilla, R. (2010). DNA Damage and Base Excision Repair in Mitochondria and Their Role in Aging. *Journal of Aging Research*, 2011, 257093. <https://doi.org/10.4061/2011/257093>

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10). <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8914>

J

Jabbar, A. A. J., Alamri, Z. Z., Abdulla, M. A., Salehen, N. A., Ibrahim, I. A. A., Hassan, R. R., Almainani, G., Bamagous, G. A., Almainani, R. A., Almasmoum, H. A., Ghaith, M. M., Farrash, W. F., & Almutawif, Y. A. (2024). Boric Acid (Boron) Attenuates AOM-Induced Colorectal Cancer in Rats by Augmentation of Apoptotic and Antioxidant Mechanisms. *Biological Trace Element Research*, 202(6), 2702-2719. <https://doi.org/10.1007/s12011-023-03864-0>

Jang, S., Kelley, K. W., & Johnson, R. W. (2008). Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(21), 7534-7539. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802865105>

Joshi, Y. B., & Praticò, D. (2012). Vitamin E in aging, dementia, and Alzheimer's disease. *BioFactors (Oxford, England)*, 38(2), 90-97. <https://doi.org/10.1002/biof.195>

K

Karam, Z., & Tuazon, J. (2013). Anatomic and physiologic changes of the aging kidney. *Clinics in Geriatric Medicine*, 29(3), 555-564. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.05.006>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Keene, M. R., Heslop, I. M., Sabesan, S. S., & Glass, B. D. (2019). Complementary and alternative medicine use in cancer : A systematic review. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 35, 33-47. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2019.01.004>

Keum, N., & Giovannucci, E. (2019). Global burden of colorectal cancer : Emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 16(12), 713-732. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0189-8>

Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2), 457. <https://doi.org/10.3390/nu12020457>

Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress : Current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>

L

Laqueur, G. L. (1965). The induction of intestinal neoplasms in rats with the glycoside cycasin and its aglycone. *Virchows Archiv Fur Pathologische Anatomie Und Physiologie Und Fur Klinische Medizin*, 340(2), 151-163. <https://doi.org/10.1007/BF00958669>

Laukkanen, M. O. (2016). Extracellular Superoxide Dismutase : Growth Promoter or Tumor Suppressor? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 3612589. <https://doi.org/10.1155/2016/3612589>

Lin, Y., Shi, R., Wang, X., & Shen, H.-M. (2008). Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 8(7), 634-646. <https://doi.org/10.2174/156800908786241050>

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)

López-Mejía, A., Ortega-Pérez, L. G., Magaña-Rodríguez, O. R., Ayala-Ruiz, L. A., Piñón-Simental, J. S., Hernández, D. G., & Rios-Chavez, P. (2021). Protective effect of Callistemon citrinus on oxidative stress in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 142, 112070. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112070>

M

Mann, J. (1987). *Secondary Metabolism*. Clarendon Press.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Maskens, A. P. (1976). Histogenesis and growth pattern of 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon adenocarcinoma. *Cancer Research*, 36(5), 1585-1592.

Motohashi, N., Gallagher, R., Vanam, A., & Gollapudi, R. (2017). Co-enzyme Q10 (Ubiquinone): It's Implication in Improving the Life Style of the Elderly. *Medical and Clinical Reviews*, 3. <https://doi.org/10.21767/2471-299X.1000052>

Murat-Ringot, A., Preau, M., & Piriou, V. (2021). [Complementary and alternative medicine in cancer patients and randomized controlled trials]. *Bulletin Du Cancer*, 108(1), 102-116. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2020.08.013>

Murphy, N., Moreno, V., Hughes, D. J., Vodicka, L., Vodicka, P., Aglago, E. K., Gunter, M. J., & Jenab, M. (2019). Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility. *Molecular Aspects of Medicine*, 69, 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.06.005>

N

Nissar, S., A, S., Rasool, R., Chowdri, N., & Rashid, F. (2017). Glutathione S Transferases : Biochemistry, Polymorphism and Role in Colorectal Carcinogenesis. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 08. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000287>

O

Osman, N. H. A., Said, U. Z., El-Waseef, A. M., & Ahmed, E. S. A. (2015). Luteolin supplementation adjacent to aspirin treatment reduced dimethylhydrazine-induced experimental colon carcinogenesis in rats. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(2), 1179-1190. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2678-2>

Ozcan, T., Akpınar Bayazit, A., Yılmaz-Ersan, L., & Delikanlı Kiyak, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5, 393-396. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416>

P

Parthasarathy, R., Sarma, G. R., Janardhanam, B., Ramachandran, P., Santha, T., Sivasubramanian, S., Somasundaram, P. R., & Tripathy, S. P. (1986). Hepatic toxicity in South Indian patients during treatment of tuberculosis with short-course regimens containing isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. *Tubercle*, 67(2), 99-108. [https://doi.org/10.1016/0041-3879\(86\)90003-6](https://doi.org/10.1016/0041-3879(86)90003-6)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Perše, M., & Cerar, A. (2011). Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2011, 473964. <https://doi.org/10.1155/2011/473964>
- Pettit, G. R., Hoard, M. S., Doubek, D. L., Schmidt, J. M., Pettit, R. K., Tackett, L. P., & Chapuis, J. C. (1996). Antineoplastic agents 338. The cancer cell growth inhibitory. Constituents of *Terminalia arjuna* (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 57-63. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(96\)01421-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(96)01421-3)
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 4(2), 89-96.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals : Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB*, 30(1), 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress : Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Potter, J. D., Slattery, M. L., Bostick, R. M., & Gapstur, S. M. (1993). Colon cancer : A review of the epidemiology. *Epidemiologic Reviews*, 15(2), 499-545. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036132>
- POWERS, S. K., & JACKSON, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress : Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological reviews*, 88(4), 1243-1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Prasher, P., Sharma, M., Singh, S. K., Gulati, M., Chellappan, D. K., Zacconi, F., De Rubis, G., Gupta, G., Sharifi-Rad, J., Cho, W. C., & Dua, K. (2022). Luteolin : A flavonoid with a multifaceted anticancer potential. *Cancer Cell International*, 22(1), 386. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02808-3>

Q

- Quinzii, C. M., DiMauro, S., & Hirano, M. (2007). Human coenzyme Q10 deficiency. *Neurochemical Research*, 32(4-5), 723-727. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9190-z>

R

- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219-236.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rawla, P., Sunkara, T., & Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer : Incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*, *14*(2), 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>

Reeg, S., & Grune, T. (2015). Protein Oxidation in Aging : Does It Play a Role in Aging Progression? *Antioxidants & Redox Signaling*, *23*(3), 239-255. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.6062>

Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids : Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, *22*, 19-34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>

S

Saranya Revathy, K., Umasuthan, N., Lee, Y., Choi, C. Y., Whang, I., & Lee, J. (2012). First molluscan theta-class Glutathione S-Transferase : Identification, cloning, characterization and transcriptional analysis post immune challenges. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, *162*(1-3), 10-23. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2012.02.004>

Schwingshackl, L., Schwedhelm, C., Hoffmann, G., Knüppel, S., Laure Preterre, A., Iqbal, K., Bechthold, A., De Henauw, S., Michels, N., Devleeschauwer, B., Boeing, H., & Schlesinger, S. (2018). Food groups and risk of colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, *142*(9), 1748-1758. <https://doi.org/10.1002/ijc.31198>

Seelinger, G., Merfort, I., & Schempp, C. M. (2008). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Medica*, *74*(14), 1667-1677. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088314>

Senoglu, M., Nacitarhan, V., Kurutas, E. B., Senoglu, N., Altun, I., Atli, Y., & Ozbag, D. (2009). Intraperitoneal Alpha-Lipoic Acid to prevent neural damage after crush injury to the rat sciatic nerve. *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury*, *4*, 22. <https://doi.org/10.1186/1749-7221-4-22>

Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of Phenolics by Focusing on Suppression of Chronic Diseases : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(6), 1573. <https://doi.org/10.3390/ijms19061573>

Singh, M., Kapoor, A., & Bhatnagar, A. (2015). Oxidative and reductive metabolism of lipid-peroxidation derived carbonyls. *Chemico-Biological Interactions*, *234*, 261-273. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.12.028>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 207-218. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0011-2>

Stelmach, I., Grzelewski, T., Bobrowska-Korzeniowska, M., Kopka, M., Majak, P., Jerzynska, J., Stelmach, W., Polańska, K., Sobala, W., Gromadzińska, J., Wąsowicz, W., & Hanke, W. (2014). The role of zinc, copper, plasma glutathione peroxidase enzyme, and vitamins in the development of allergic diseases in early childhood : The Polish mother and child cohort study. *Allergy and Asthma Proceedings*, 35(3), 227-232. <https://doi.org/10.2500/aap.2014.35.3748>

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

T

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W.-P.-P., & Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and Oxidative Stress : A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1162. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>

Thanan, R., Oikawa, S., & Hiraku, Y. (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International Journal OfMolecular Sciences*, 16, 193-217.

Therond, P. (2006). [Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA)]. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 64(6), 383-389. [https://doi.org/10.1016/s0003-4509\(06\)75333-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4509(06)75333-0)

Tichati, L., Trea, F., & Ouali, K. (2021). The antioxidant study proprieties of Thymus munbyanus aqueous extract and its beneficial effect on 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid - induced hepatic oxidative stress in albino Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(3), 212-223. <https://doi.org/10.1080/15376516.2020.1870183>

U

Umasuthan, N., Revathy, K. S., Lee, Y., Whang, I., Choi, C. Y., & Lee, J. (2012). A novel molluscan sigma-like glutathione S-transferase from Manila clam, *Ruditapes philippinarum* : Cloning, characterization and transcriptional profiling. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP*, 155(4), 539-550. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.01.001>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases : A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 7(1), 65-74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

Venkatachalam, K., Gunasekaran, S., Jesudoss, V. A. S., & Namasivayam, N. (2013). The effect of rosmarinic acid on 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis. *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, 65(4), 409-418. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.12.005>

Venkatachalam, K., Vinayagam, R., Arokia Vijaya Anand, M., Isa, N. M., & Ponnaiyan, R. (2020). Biochemical and molecular aspects of 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon carcinogenesis : A review. *Toxicology Research*, 9(1), 2-18. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa004>

Verhaeghe, E. (s. d.). *Carraghénanes et cancer du colon : Étude expérimentale chez des rats à flore humaine. Mécanismes d'action.*

W

Walia, S., Kamal, R., Dhawan, D. K., & Kanwar, S. S. (2018). Chemoprevention by Probiotics During 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Carcinogenesis in Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 63(4), 900-909. <https://doi.org/10.1007/s10620-018-4949-z>

Wallace, D. C. (2008). Mitochondria as Chi. *Genetics*, 179(2), 727-735. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.91769>

Weisburger, J. H. (1971). Colon carcinogens : Their metabolism and mode of action. *Cancer*, 28(1), 60-70. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197107\)28:1%253C60::aid-cnrcr2820280113%253E3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197107)28:1%253C60::aid-cnrcr2820280113%253E3.0.co;2-u)

Weiss, M. F., Erhard, P., Kader-Attia, F. A., Wu, Y. C., Deoreo, P. B., Araki, A., Glomb, M. A., & Monnier, V. M. (2000). Mechanisms for the formation of glycoxidation products in end-stage renal disease. *Kidney International*, 57(6), 2571-2585. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00117.x>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wittig, G., Wildner, G. P., & Ziebarth, D. (1971). [Effect of ingesta on the carcinogenesis in the rat colon by dimethylhydrazine]. *Archiv Fur Geschwulstforschung*, 37(2), 105-115.

Wruck, C. J., Claussen, M., Fuhrmann, G., Römer, L., Schulz, A., Pufe, T., Waetzig, V., Peipp, M., Herdegen, T., & Götz, M. E. (2007). Luteolin protects rat PC12 and C6 cells against MPP+ induced toxicity via an ERK dependent Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 72, 57-67. https://doi.org/10.1007/978-3-211-73574-9_9

Y

Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation : Mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944-5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>

Z

Zińczuk, J., Zaręba, K., Kamińska, J., Koper-Lenkiewicz, O. M., Dymicka-Piekarska, V., Pryczynicz, A., Guzińska-Ustymowicz, K., Kędra, B., Matowicka-Karna, J., Żendzian-Piotrowska, M., Zalewska, A., & Maciejczyk, M. (2021). Association of Tumour Microenvironment with Protein Glycooxidation, DNA Damage, and Nitrosative Stress in Colorectal Cancer. *Cancer Management and Research*, 13, 6329-6348. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S31494>

Les Annex :

Préparation des solutions.

Dosage des protéines par la méthode de Bradford BSA (1 mg/ml) :
Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.

Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95%). Agiter par pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution). Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

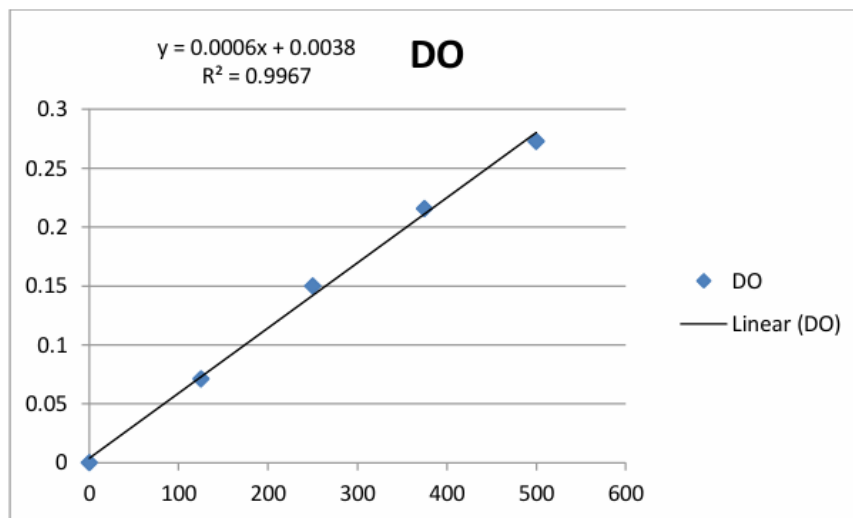


Figure : La gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère de BSA

2. Dosage de MDA

La solution du tampon TBS : Tris (50mM), NaCl (150mM) : pH 7,4 0,6057g de Tris (50 mM) dans 100 ml de Na Cl (150 mM). La solution d'H Cl (0,6 M) : 51,569 ml de H Cl 36% dans 1L d'eau.

La solution de Tris - TBA : 0,173g de TBA (120 mM) dans 10ml de Tris (26 mM). La solution de TCA – BHT : 1g de BHT (Butyl hydroxytoluène) dans 100 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%

3. Dosage du glutathion :

Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M) : pH 9,6 : Dissoudre 12,114 g Tris et 1,871 g EDTA dans 250 ml d'eau distillée et ajuster le pH à 9,6.

EDTA (0,02 M) : Dissoudre 5,613 g EDTA dans 750 ml d'eau distillée.

DTNB (0,01 M) : Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

L'acide salicylique (0,25%) : Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée.

4. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

GSH (0.1 mM) : Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

TCA (1%) : Dissoudre 1 g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

DTNB (1,0 mM) : Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.

5. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) :

Tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4) :

Solution **A**, dissoudre 6,24 g NaH₂PO₄ (2 H₂O) dans 200 ml d'eau distillée.

Solution **B**, dissoudre 14.32 g Na₂HPO₄ (12 H₂O) dans 200 ml d'eau distillée.

Mélanger 16 ml de la solution A avec 84 ml de la solution B

Publications & Communications scientifiques

LISTE DES COMMUNICATIONS

Publications

Louahem Soumaya, Trea Fouzia, Tichati Lazhari & Kheireddine Ouali (2025) Preventive potential of luteolin against DMH-Induced colonic pre-neoplastic lesions and oxidative damage in rats, Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 12:1, 261-273, DOI: 10.1080/2314808X.2025.2529709

Communication internationale affichée

Louahem, S., Trea, F., Ouali, K. (2019). chemopreventive effect of luteolin on 1,2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis, the international conference bioscience -2019-biothechnologie and cancer ,7-8 december Oran, Algeria.

Louahem, S., Trea, F., Ouali, K. (2020). chemopreventive effect of luteolin on 1,2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis .the third international symposium medicinal plants and materiels., february , 25 to 27 ,2020, Tebessa . Algeria.

Louahem, S., Trea, F., Ouali, K. (2024). Étude préventive d'un composé bioactif lutéoléine chez un modèle animal cancéreux. 1st international seminar to wards sustainable agriculture : optimizing production chains, 18-19 decembre 2024, Annaba. Algeria.

Communication nationale affichée

Louahem, S., Trea, F., Ouali, K. (2019). Étude préventive et curative d'un composé bioactif de la famille des flavonoides ,lutéoléine , chez un modèle animal cancéreux.séminaire national de biodiversité, biologie médicale et ecotoxicologie environnementale, 30-31 octobre 2019, Skikda. Algeria.

Louahem, S., Trea, F., Ouali, K. (2020). Étude préventive d'un composé bioactif de la famille des flavonoides, lutéoléine , chez un modèle animal cancéreux. Première Journée Scientifique sur la biologie des plantes médicinales, 20 janvier 2020, Tebessa. Algeria.

