

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

partement de Biologie animale

قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

Intitulé :

Etude de l'effet antitumoral et antioxydant de l'extrait aqueux de la plante *Teucrium polium* sur la formation des lésions précancéreuses (FCA) chez le rat.

Présenté et soutenu par :

Le 23/09/2021

- *ZITOUNI Maroua*
- *AMARI Ghada*

Jury d'évaluation :

Président(e) : Dr. *ARIBI Boutheina* (MCB- UFM Constantine 1).

Encadreur : Dr. *RAHMOUNE Houria* (MAA- UFM Constantine 1).

Examineur : Dr. *MECHATI Chahinez* (MAA- UFM Constantine 1).

Année universitaire
2020-2021

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à Mme **Rahmoune Houria***

pour avoir encadré et dirigé ce travail. Et qui nous a conseillé tout le long de ce mémoire. Pour sa disponibilité, sa patience et ses remarque avisées, Son soutien moral et ses qualités humaines qui m'on fait bénéficié de ses Vastes connaissances, ses encouragements et ses efforts immenses qui ont contribué dans la bonne marche de ce travail.

Nous tenons à remercier sincèrement les membres de jury :

Dr.MECHATI Chahinez et Dr.ARIBI Boutheyne

*pour leurs temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail et d'avoir aimablement accepté de présidence jury Nos remerciements s'étendent également à **Mr BEHRI Laaid***

Le responsable de l'animalerie de l'université Mentouri Constantine 1, pour son précieux aide, ces conseils et son soutien durant la réalisation de ce travail.

Toute ma gratitude à nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs

encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles. Enfin, Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous les membres de département de la biologie Animale biologie

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A ma chère mère, **Missi Saliha**, source de tendresse et d'amour pour son soutien tout au long de ma vie*

*A mon cher père, **Riad** qui m'a toujours soutenu et qui a fait tout son possible pour m'aider.*

*A mon adorable frère, **Bilel** et sa fiancée **Wissem**,
A ma chère sœur, **Samira** et son mari **Cherif** les mots ne peuvent résumer mon amour à votre égard.*

*A mon adorable neveu **Rassim***

A ma grand-mère

*A toute la famille **Amari** et **Missi***

*A ma très chère copine **Ikram Benmouhammed** merci d'être la meilleure amie, tu es toujours là pour moi, que cela soit dans les moments de joie ou de désespoir, merci d'être présente dans ma vie.*

A tous mes ami(e)s avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

A toute la promo d'immunologie 2021.

*A mon binôme que je raffole : **Maroua Zitouni** et à toute sa famille :Le meilleur pour la fin ...*

Je suis très émue en écrivant ces mots ...

Je me souviendrai toujours aux moments qu'on a passés ensemble en réalisant ce travail.

Je ne regretterai jamais de t'avoir choisi comme binôme.

Notre amitié est de plus en plus forte.

On n'est plus amies on est sœur.

Ghada.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A ma chère mère, **Nora Hadjerssi** source de tendresse et d'amour pour son soutien tout au long de ma vie.*

*A mon cher père, **Messaoude** qui m'a toujours soutenu et qui a fait tout son possible pour m'aider.*

*A mon adorable sœur, **Amina**. Et son mari, **Hamza***

*A mes frères **Ayoub** et **Mohammed** et sa fiancée **Ryma***

*A mes adorables nièces **Mimi** et la petite **Mayssem**.*

*A mes frères **Aymen** et **Rami***

*A ma grande mère **Rahima***

*A ma chère amie, ma sœur et mon binôme **Amari Ghada** Je ne regretterai jamais de t'avoir choisi comme binôme. Notre amitié est de plus en plus forte.*

*A ma très chère copine **Ikrame** merci d'être présente dans ma vie*

*A mes amies, mes soeurs, mes moitiés que je les aime beaucoup : **Mouna, Falah, Nada, Malak, Ibtihel et Nesrine***

A tous mes cousins et cousines

*Les mots ne peuvent résumer mon amour à votre égard dans toute ma vie ma famille **Zitouni**, **Hadjerssi** et **Amri***

A tous mes ami(e)s avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

Maroua

Sommaire

Abréviation.....	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	1
I. Généralités sur le tube digestif :	3
I.1 Gros intestin	4
I.1.1 Définition :	4
I.1.2 Aspect anatomique :	5
I.1.3 Histologie :	6
I.1.3.1 La muqueuse :	6
I.1.3.2 La sous muqueuse :	7
I.1.3.3 Musculeuse :	7
I.1.3.4 Séreuse :	7
I.1.4 Physiologie :	8
II. Généralité sur le cancer :	10
II.1 Epidémiologie	10
II.1.1 Dans le monde :	10
II.1.2 En Algérie	10
II.2 Carcinogénèse colorectal.....	11
II.2.1 Physiopathologie.....	11
II.2.2 Aspects morphologiques du développement de cancer colorectal :	11
II.3 Principaux mécanismes de carcinogénèse colorectale :	14
II.3.1 Mécanisme moléculaire :	14
II.3.1.1 L'instabilité chromosomique (CIN):	15
II.3.1.2 L'instabilité micro satellitaire (MSI) :	15
II.3.1.3 l'hyperméthylation aberrante:	15
II.4 Facteurs de risque :	16
II.4.1 Facteurs favorisants de CCR :	16
II.4.2 Facteurs protecteurs du CCR :	18
II.5 Symptômes :	18

II.6	Diagnostic et dépistage :	19
II.6.1	Coloscopie :	19
II.6.2	Recto-sigmoïdoscopie :	19
II.6.3	Dosage des marqueurs tumoraux :	20
II.6.4	La radiographie	20
II.7	Prévention :	20
II.7.1.	Prévention primaire.....	20
II.7.2.	Prévention secondaire	21
II.8	Traitement :	21
II.8.1	La chirurgie.....	21
II.8.2	La chimiothérapie	22
II.8.3	Radiothérapie	22
II.8.4	Thérapie ciblée.....	22
II.9	Stress oxydant.....	23
II.9.1	Radicaux libres et espèces réactives	23
II.9.1.1	Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS)	23
II.9.1.2	Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS).....	24.
II.9.2	Systèmes de défense.....	24
II.9.3	Pathologies liées au stress oxydatif	24
III.	<i>Teucrium polium</i>	26
III.1	Distribution géographique de la plante :	26
III.2	Description botanique de <i>Teucrium polium</i> :	26
III.3	Nom de la plante	27
III.4	Classification botanique.....	28
III.5	Les données thérapeutiques	29
III.5.1	Utilisation traditionnelle	29
III.6.	Données toxicologiques.....	30
III. 6.1.	Toxicité orale aiguë et subaiguë.....	30
III. 6.2.	Toxicité hépatorenale.....	30
III. 6.3.	Effet de l'extrait de plante <i>Teucrium polium</i> pendant l'embryogenèse.....	31

IV. Partie pratique	Error! Bookmark not defined.
IV.1 Matériels et méthodes :	32
IV.1.1 2.1 Matériels biologiques :	32
IV.1.2 2.2 Matériel végétal :	32
IV.2 Préparation de traitement (l'extrait aqueux sec) :	32
IV.3 Application des traitements	35
IV.4 Dissection et prélèvement des organes.....	37
IV.5 Coloration et lecture des lésions.....	38
IV.7 Evaluation de certains paramètres du stress oxydant :	40
IV.7.1 Préparation de l'homogénat	40
IV.7.2 Dosage du glutathion réduit.....	41
IV.7.3 Dosage des protéines :	43
IV.7.4 Dosage de malondialdéhyde (MDA)	45
IV.7.5 Dosage de catalase	47
V. Résultats	49
VI. discussion	60
VII. conclusion	64

Abréviations

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **APC** : Adenomatous polyposis coli.
- **ATP** : Adenosine triphosphate..
- **CAT**: Catalase
- **CCR** : Cancer colorectal.
- **CIMP**: CpG Island Methylation Phenotype
- **CIN** : Chromosomal instability.
- **CpG** : Cytosine-phosphate-Guanine
- **DMH**: 1,2 diméthylhydrazine.
- **DTNB** : Acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque
- **EGFR**: Epidermal Growth Factor Receptor
- **FCA** : Foyers de Cryptes Aberrantes.
- **GPX**: Glutathion peroxidase
- **GSH** : Glutathion réduit
- **GST** : Glutathione S-transferase.
- **H2O2** : Peroxyde d'hydrogène
- **HO** : Radical hydroxyle.
- **LOH** : Loss of Heterozygosity
- **MDA**: Malondialdehyde.
- **MLH-1**: MutL Homolog 1
- **MMR**: Mismatch Repair
- **MSH-2** : MutS Homolog 2
- **MSH3** : MutS Homolog 3
- **MSH6** : MutS Homolog 6
- **NO** : Monoxyde d'azote.
- **PMS1**: Postmeiotic Segregation 1 Gene
- **PMS2**: Postmeiotic Segregation 2 Gene
- **RNS** : Reactive nitrogen species
- **RONS** : Réactive Oxygen and Nitrogène Species.
- **ROS** : Reactive oxygen species
- **SMAD4** : mothers against decapentaplegic homolog 4.
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **TBA** : "2-Thiobarbituric acid": L'acide thiobarbiturique.
- **TCA** : Trichloroacetic Acid.
- **TP** : Teucrium polium.
- **TP53** : Tumor protein 53.
- **VEGF**: Vascular Endothelial Growth Factor.

Liste des illustrations

Liste des figures

Figure1 :L'appareille digestif.....	4
Figure 2 : Anatomie du colon.....	5
Figure3 : Les différentes couches de la paroi du côlon-rectum.....	7
Figure 4 : Aspect histo-pathologique des cellules cancéreuses du côlon (HE, x40)...	11
Figure5 : Lésions précancéreuses (HE, x40).....	12
Figure 6 : Lésions précancéreuses - adénome vilieux colorectal (HE, x40).....	12
Figure 7 : Les différentes phases de développement du cancer colique.....	13
Figure 8 : Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i>	27
Figure 9 : Protocole récapitulatif de l'extraction par décoction.....	31
Figure 10 : Préparation de l'extrait aqueux sec.....	32
Figure 11 :(1) Injection intra péritonéale des rats par le DMH Lot 2, Lot 3 et Lot 4 (2) Administration de l'extrait aqueux par gavage Lot 3 et Lot 4.....	34
Figure 12 : Mise en évidence du côlon après anesthésie et dissection du rat.....	35
Figure 13 : Coloration des fragments du colon.....	36
Figure 14 : Photographies de muqueuses coliques avant et après coloration.....	37
Figure 15 : Préparation de l'homogénat de foie et du colon par broyage.....	38
Figure 16 : Préparation de bleu de coomassie (agitation pendant 2h).....	41
Figure 17 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	41

Figure 18 : La gamme d'étalonnage utilisée par (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.....	42
Figure 19 : Coubre standard pour le calcul de MDA.....	43
Figure 20 : Effet du carcinogène et de l'extrait aqueux de <i>Teucrium polium</i> sur le nombre total des FCA.	51
Figure21 : Effet du carcinogène et de l'extrait aqueux de <i>Teucrium polium</i> sur le nombre de cryptes aberrantes par FCA (multiplicité).	51
Figure 22 : Muqueuses coliques de rats témoins (A), et traités par le DMH (B, C, D, E), montrant des foyers de cryptes aberrantes FCA observées au microscope optique (10x10), après coloration au bleu de méthylène.....	52
Figure 23 : Répartition des foyers de cryptes aberrantes par segment (colon proximal, moyen et distal) chez les rats traités par le carcinogène et l'extrait de <i>T.polium</i>	54
Figure24 :Effet du traitement sur le taux de MDA chez les rats témoins et traités...	55
Figure 25 : variation du taux de MDA chez les rats témoins et traités par le DMH et/ou l'extrait.....	56
Figure26 : Variations de lateneur en glutathion colique chez les rats témoins et traités (Dans le colon).....	57
Figure 27 : Variation de la teneur en glutathion colique chez les rats témoins et traités (Dans le foie).....	58
Figure28 : Activité enzymatique de la catalase dans le colon des rats témoins et traités par le DMH seul ou DMH+ l'extrait de <i>Teucrium polium</i> . (Dans le colon)...	59
Figure29 : Activité enzymatique de la catalase dans le foie des rats témoins et traités par le DMH seul ou DMH+ l'extrait de <i>Teucrium polium</i> . (Dans le foie)	60

Liste des tableaux

Tableau 1 : facteurs favorisants du CCR.....	15
Tableau 2 : facteurs protecteurs du CCR.....	17
Tableau 3 : Différents noms donnés au <i>Teucrium polium</i> à travers le monde.....	26
Tableau 4 : Classification de l'espèce <i>Teucrium polium</i> d'après NCBI.....	27
Tableau 5 : Répartition des lots et de différents traitements.....	33
Tableau 6 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité du CAT.....	44
Tableau 7 : Variation du poids corporel (g) des rats témoins et traités, après 8 semaines de traitement.....	49

Introduction

Introduction

L'homme vit dans des environnements complexes et il est exposé à un ensemble de maladies dangereuses et mortelles menaçant sa vie. Le cancer est l'un des maladies qui provoque une grande majorité de problèmes par sa fréquence et sa gravité (**Karp, 1998**).

Le cancer existe fort probablement depuis l'origine de la vie et reste la maladie jugée la plus grave, Les cancers digestifs représentent 20% des cancers diagnostiqués annuellement au niveau mondiale, ils constituent de ce fait une préoccupation majeure de la santé publique (**Faivre, 2001**).

Dans la population mondiale le cancer colique occupe la troisième place chez les deux sexes confondus. Le taux d'incidence et de mortalité varient considérablement selon les pays, il y a 10 fois plus de cancer colorectal aux USA qu'en Afrique. Ces différences sont la conséquence du rôle essentiel de l'alimentation dans la survenue de ce cancer. Le cancer colorectal est rare avant 45 ans et son incidence augmente très rapidement à partir de cet âge, aussi bien chez l'homme que chez la femme (**Hoerni, 2001**).

En Algérie, le cancer colorectal est classé en troisième position, après le cancer du poumon et de la vessie, chez l'homme et chez la femme il se place directement après le cancer de sein et du col utérus (**Bouزيد, 2013**).

Le développement du CCR est associé à plusieurs facteurs, y compris le mode de vie par la consommation élevée d'alcool, les viandes rouges, l'alimentation riche en graisses et pauvre en fibres, le tabagisme, le manque d'exercice physique), le vieillissement, l'obésité, le diabète, les maladies intestinales inflammatoires, les antécédents familiaux et certaines pathologies génétiques (**Afrin et al., 2016**).

Actuellement, l'usage des plantes médicinales soignent, parfois très rapidement, non seulement la fatigue, l'insomnie, les maux de tête, la grippe, la toux, les rhumatismes, mais aussi de très nombreuses maladies chroniques parmi lesquelles on cite le cancer, le diabète et la leishmaniose (**Ameenah, 2006**).

Introduction

Les molécules bioactives naturelles font l'objet de nombreuses recherches par l'exploitation des métabolites secondaires d'une manière générale et celle des huiles essentielles et des poly phénols en particulier, l'utilisation de ces derniers dans la thérapie maladies pernicieuses (cancer) plus que dans l'industrie agro-alimentaire.

Ces composés sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques, antioxydantes, antiallergiques, anti-inflammatoires et antibactériennes (**Harkati, 2011**).

Au vu de ces données, dans notre étude nous allons dans un premier temps dans la partie bibliographique présenter quelques connaissances sur le colon, le cancer colique et la plante de la famille Lamiaceae (*Teucrium polium*) appelée couramment Khayata, Puis dans la partie expérimentale, nous allons nous intéresser à évaluer, in vivo l'effet de la plante sur la formation et l'évolution des lésions pré-néoplasiques : les foyers de cryptes aberrantes ou FCA, dans la muqueuse colique, ainsi que l'exploration du statut antioxydant (GSH, catalase), et les biomarqueurs du stress oxydant (MDA) dans différents organes.

Partie Théorique

Chapitre 1 : LE GROS INTESTIN

I. Généralités sur le tube digestif

L'appareil digestif comprend un ensemble d'organes divisé en deux grands groupes : les organes de tube digestif et les organes digestifs annexes.

Les organes digestifs annexes (les dents, la langue et un certain nombre de grosse glandes digestives) concourent chacun à leur manière à la dégradation des aliments.

Le tube digestifs, aussi appelé canal alimentaire, est un tube musculueux continu qui serpente dans la cavité abdominale et il est le lieu où s'accomplissent toutes les fonctions de l'appareil : l'ingestion, la digestion, l'absorption et la défécation. (Marieb, 2008).

-Les organes de tube digestif comprennent :

- La bouche
- le pharynx
- l'œsophage
- l'estomac
- l'intestin grêle
- Le gros intestin : (côlon, rectum)
- Anus

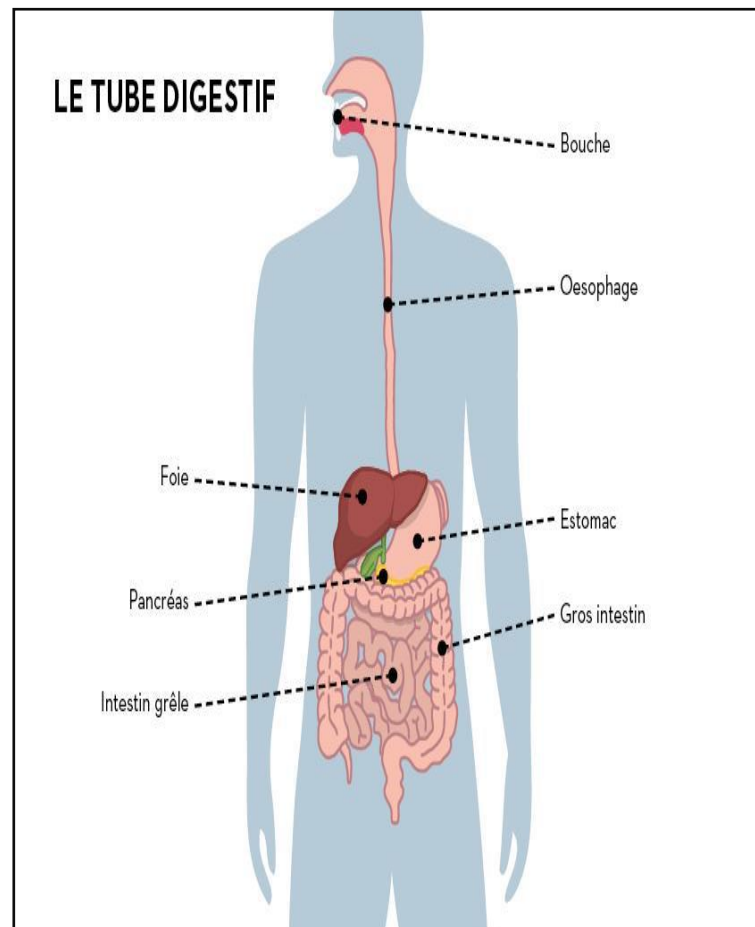


Figure 1 : L'appareil digestif (Fondation Alimentarium).

I.1 Gros intestin

I.1.1 Définition

Le colon est la partie du tube digestif qui s'étend depuis la fin de l'intestin grêle dans la fosse iliaque droite au niveau de la valvule iléo-caecale jusqu'à la jonction recto sigmoïdienne au niveau de la 3ème vertèbre sacrée.

Le côlon est la partie de l'intestin qui fait suite à l'intestin grêle, Il a une longueur d'environ 1 m 50 et comporte plusieurs parties : caecum, colon ascendant, colon transverse, colon descendant, sigmoïde rectum et anus, mais tous ses segments ont la même structure histologique (Marieb, 2008).

I.1.2 Aspect anatomique

Le côlon est le segment du tube digestif, mesure environ 1,5 m de long et 6,5 cm de diamètre, compris entre l'intestin grêle et le rectum, commençant à la valvule de Bauhi (fin de l'intestin grêle) et se terminant au rectum. C'est le synonyme de gros intestin qui comprend quatre grands segments :

- **Le côlon droit** : Comprend le caecum et l'appendice, situés dans la fosse iliaque droite, le côlon ascendant, l'angle hépatique placé sous la face inférieure du foie.
- **Le côlon transverse**: Fait suite le précédent traversant l'abdomen de droit à gauche, en avant de l'estomac.
- **Le côlon gauche**: Commence à l'angle splénique, sous la rate, se dirige vers le bas et se continue par le côlon lombo-iliaque et le côlon sigmoïde, qui aboutit au rectum.

(Domart et Bourneuf ,1976) ;(Totoro et Grabowski ,2002) ;(Morin ,2003).

- **Le rectum** : c'est la partie qui se situe au derniers 20 cm du tube digestif et se trouve devant le sacrum et le coccyx, l'extrémité de rectum environ 2-3 cm forment le canal anal.
- **L'an**us : un point de sortie de côlon, il est protégé par deux sphincter ; interne formé par un tissu musculaire lisse (involontaire) et externe composé par un muscle squelettique (volontaire) (Maqbool, 2013).

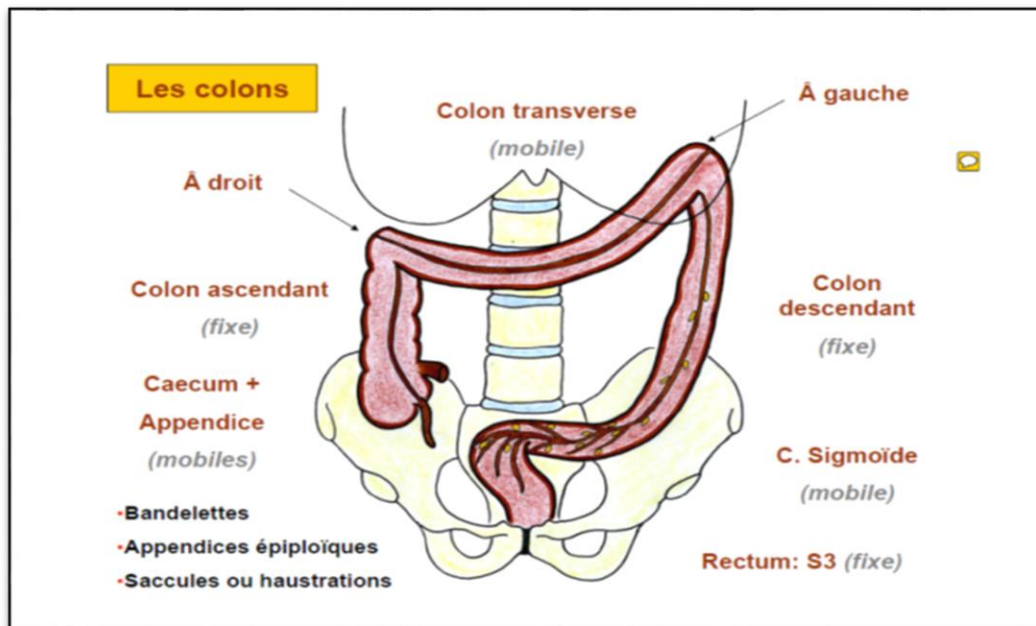


Figure 2 : Anatomie du colon (Passagia, 2011).

I.1.3 Histologie :

Sur une coupe transversale du gros intestin on distingue quatre couches qui sont de l'intérieur à l'extérieur : la muqueuse, la sous muqueuse, la musculuse externe et la séreuse.

I.1.3.1 La muqueuse

Elle comprend 3 couches :

- **L'épithélium**

Il est formé d'une seule couche de cellules reliées les unes des autres par les jonctions occlusives au niveau du bord de leur surface apicale, des cellules exocrines qui secrètent du mucus dans la lumière et des cellules endocrines qui libèrent des hormones dans le sang.

- **La lamina propria**

C'est une couche de tissu conjonctif lâche très riche en capillaires sanguins et lymphatiques, en leucocytes et autres cellules de système de défense contre les microorganismes qui sont susceptibles de traverser l'épithélium.

- **La muscularis mucosa**

Une couche fine et mince faite des fibres musculaires lisses. Son effraction au cours des adénocarcinomes définit le caractère invasif du cancer.

I.1.3.2 La sous muqueuse

Est une couche épaisse de tissu conjonctif responsable de l'élasticité du côlon semblable à celle du reste du tube digestif. Elle contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques qui envoient des branches collatérales en dedans vers la muqueuse et en dehors vers la musculature (**Sherwood, 2000**).

I.1.3.3 Musculaire

Est située juste après la sous muqueuse (**Levine, 1989**), comporte deux couches de tissus musculaires lisses qui assurent les mouvements permettant l'excrétion des matières fécales. Entre ces deux couches se situe le plexus nerveux d'Auerbach (**Schäffler et Menche, 2004**).

I.1.3.4 Séreuse

De petits sacs de péritoine viscéral remplis de graisses sont fixés aux bandelettes du colon et portent le nom d'appendices épiploïques (**Levine, 2002**). Est presque inexistante sur le rectum (**Levine, 1989**).

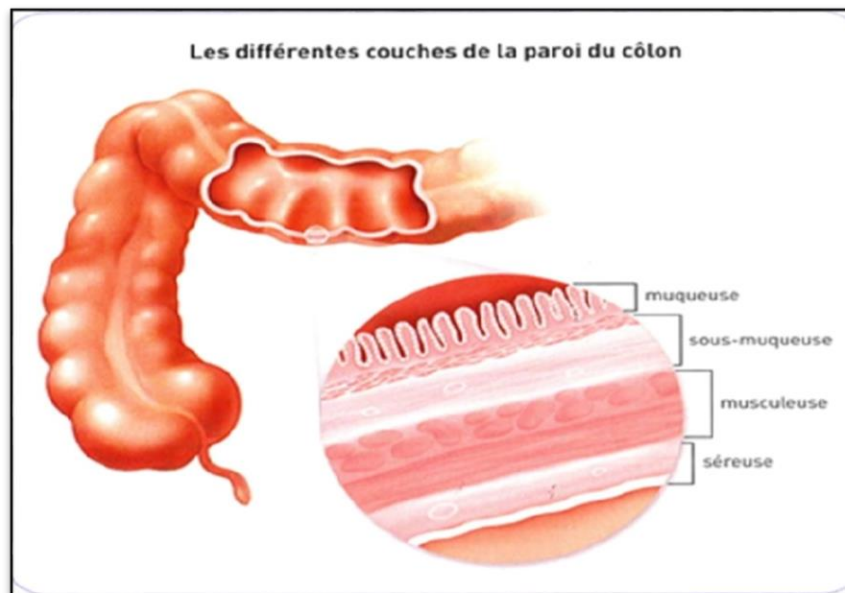


Figure 3 : Les différentes couches de la paroi du côlon-rectum

(I.N.Ca, 2010)

I.1.4 Physiologie

Le gros intestin possède au premier chef des fonctions de motricité mais il reste encore impliqué dans les digestions (absorption, sécrétion et dégradation des aliments).

- Ces principales fonctions :

- **Motricité** : celle -ci constitue surtout dans le stockage et le brassage des matières alimentaires et se traduit par des mouvements de contraction segmentaire.

- **Absorption**: il s'agit principalement de la réabsorption d'eau, des éléments minéraux, des vitamines et des sels minéraux.

- **Sécrétion** : la sécrétion exocrine concerne le mucus des cellules caliciformes qui permet la Protection de la muqueuse vis-à-vis de matières fécales formant ainsi de plus en plus solides.

- **Digestion**: la dégradation des matières alimentaires ayant échappées à l'absorption intestinale est assurée par flore bactérienne du côlon (**Hirayama, 1981**).

- Ces fonctions ont assurées grâce à trois types de mouvement fondamentaux :
 - **Les contractions hustrales:** brassent lentement le contenu du côlon ce qui favorise l'absorption additionnelle d'eau, et l'électrolyte (**Sherwood, 2000**).
 - **Péristaltisme :** déplace le contenu intestinal d'une haustrations à l'autre au moyen de contraction musculaire.
 - **Mouvement de masse :** Il s'agit d'une onde péristaltique puissante qui prend naissance à peu près au milieu du côlon transverse et en pousse rapidement le contenu dans le rectum (**Tortora et Grabowski, 2002**).

Chapitre 2: Cancer du côlon

II. Généralité sur le cancer

Un cancer est une pathologie caractérisée par la présence d'une ou de plusieurs tumeurs malignes formées à partir de la transformation par mutations ou instabilité génétique d'une cellule initialement normale. La transformation cellulaire tumorale se traduit par une perte de contrôle du cycle cellulaire, une insensibilité à l'apoptose et des anomalies de la réparation de l'ADN (**Marcotte et Quimet, 2013**).

Le cancer du côlon est l'ensemble des proliférations malignes développées en un point quelconque du côlon (**Kbsraoui, 1988**). La prolifération peut rester localisée (tumeur) ou se propager dans d'autres sites, soit par voie lymphatique (envahissement ganglionnaire), soit par voie sanguine (métastases) (**Cavenee et al., 1995**).

II.1 Epidémiologie

II.1.1 Dans le monde

Le cancer colorectal est la troisième cause de mortalité dans le monde, après les cancers du poumon chez l'homme et du sein chez la femme, avec plus de 600000 cas de décès soit 8% de l'ensemble des décès. Géographiquement, il a été constaté une grande variation de son incidence à travers le monde dont près de 55 des cas surviennent dans les pays les plus développés. Ainsi, les plus hauts taux sont observés en Australie / Nouvelle-Zélande (44.8 et 32.2 par 100.000 habitants chez les hommes et les femmes, respectivement), et les plus faibles en Afrique de l'Ouest (4.5 et 3.8 pour 100.000 habitants) (**Sedkaoui, 2015**).

II.1.2 En Algérie

En Algérie, le cancer colorectal est au deuxième rang, pour les deux sexes. Chez l'homme, la prévalence est de 1180 cas soit 7,1% après le cancer du poumon. Chez la femme, la prévalence a été de 1082 soit 7,1% après le cancer du sein et du col utérin (**Boundedjar et Smaili, 2012**).

II.2 Carcinogénèse colorectal

II.2.1 Physiopathologie

De nombreux événements carcinogènes vont agir avant la transformation maligne épithéliale. La stimulation de la prolifération épithéliale par certaines hormones ou facteurs de croissance conduit à l'accumulation des altérations génétiques qui va déclencher ensuite l'apparition d'un phénotype invasif et métastatique avec développement d'une néo-angiogénèse (Aparicio, 2007)

II.2.2 Aspects morphologiques du développement de cancer colorectal

Le cancer colorectal est un adénocarcinome, présente la majorité des cas (97 %), cela signifiant que c'est un cancer développé aux dépens de l'épithélium (revêtement superficiel) de la muqueuse colorectale, épithélium qui s'invagine pour former les glandes (ou cryptes) de Lieberkühn.

La première phase du développement du cancer colorectal est l'apparition d'une hyper prolifération de l'épithélium colique (Pretlow *et al.*, 1991). Sur le plan morphologique, la première anomalie décelable est :

A-Foyers de cryptes aberrantes (FCA)

Les foyers de cryptes aberrantes sont les premiers anomalies décelable au plan morphologique, FCA un terme équivalent au micro adénome défini comme grappes microscopiques, petit nombre de cryptes anormaux modifiés dans la muqueuse colique non encastrée et considérées comme les lésions très précoces du processus de tumorigénèse du côlon précédant la formation d'un adénome. les FCA sont histologiquement normaux, mais ils peuvent représenter des cryptes dysplasiques ou hyperplasiques ; les cryptes dysplasiques : sont celles qui sont converties en adénomes (Margetis *et al.*, 2017).

Ces cryptes aberrantes sont identifiées au microscope par des critères précis :

- Elles sont de plus grande taille ; deux à trois fois plus grandes.
- Elles ont un contour plus épais que les cryptes normales, une coloration plus profondément par le bleu de méthylène.

- Elles présentent une grande zone péricryptale.
- Elles peuvent être rassemblées en foyers comprenant de 1 à 100 cryptes.
- Elles peuvent être légèrement surélevées par rapport à la muqueuse les entourant
- Elles ont souvent une lumière ovale ou en forme de fente (**Cheng et Lai, 2003**).

B- Polypes

Les polypes sont des petites croissances localisées sur la paroi interne du côlon ou du rectum, réparties tout le long du côlon. Une majorité de ces polypes ne sont pas cancéreuses, mais quelques-uns ont le potentiel malin et peuvent se développer en cancer au fil du temps (**Bansal et al., 2018**). Les polypes adénomateux sont répartis selon une classification anatomo-pathologique en trois types se basant sur le contingent vilieux: adénomes tubuleux, adénomes tubulo-villeux et adénomes vilieux (**Pfotze, 2013**).

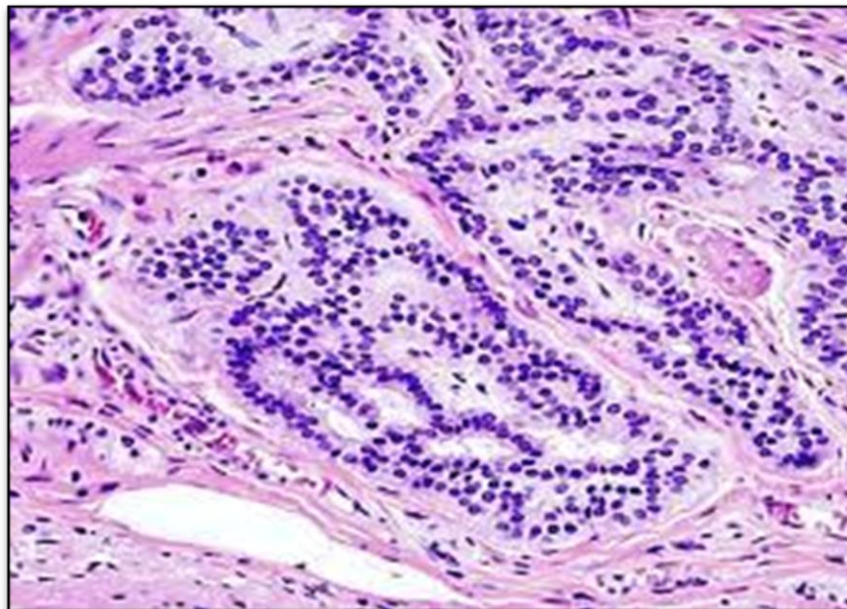


Figure 4 : aspect histo-pathologique de cellules cancéreuses du côlon (HE, x40) (**Geboes et Jouret, 1999**).

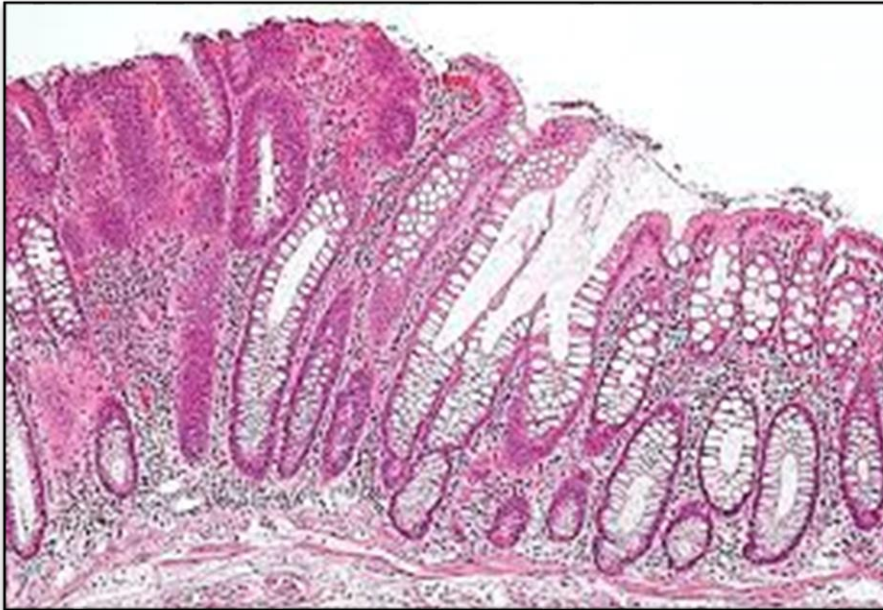


Figure 5 : Lésions précancéreuses (HE, x40)

Adénome tubulaire : à gauche de l'image, un type de polype du côlon et un précurseur du cancer colorectal : la muqueuse colorectale normale est visible à droite (Geboes et Jouret, 1999).

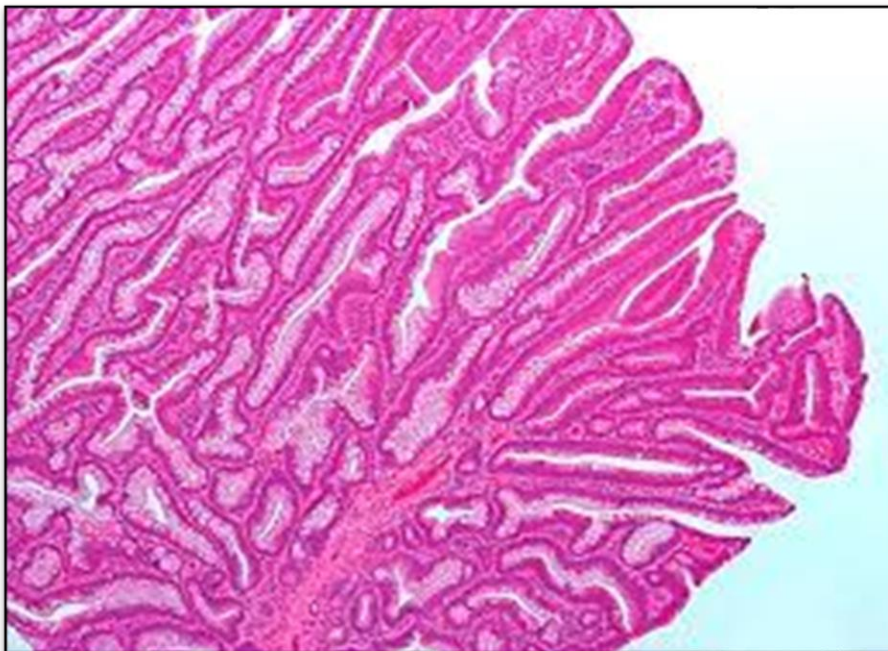


Figure 6 : Lésions précancéreuses - adénome vilieux colorectal (HE, x40)
(Geboes et Jouret, 1999).

C- Adénomes

Les adénomes colorectaux sont des lésions pré-malignes, la majorité des CCR se développent à partir d'adénomes préexistants, la probabilité qu'un adénome devienne malin dépend de sa morphologie, de sa taille et de son degré de dysplasie. La plupart des adénomes colorectaux surviennent sporadiquement. Néanmoins, il existe des syndromes de polyposes colorectales, dans lesquels les patients développent de multiples polypes à la suite d'une mutation génétique sous-jacente (**Short et Sampson, 2019**).

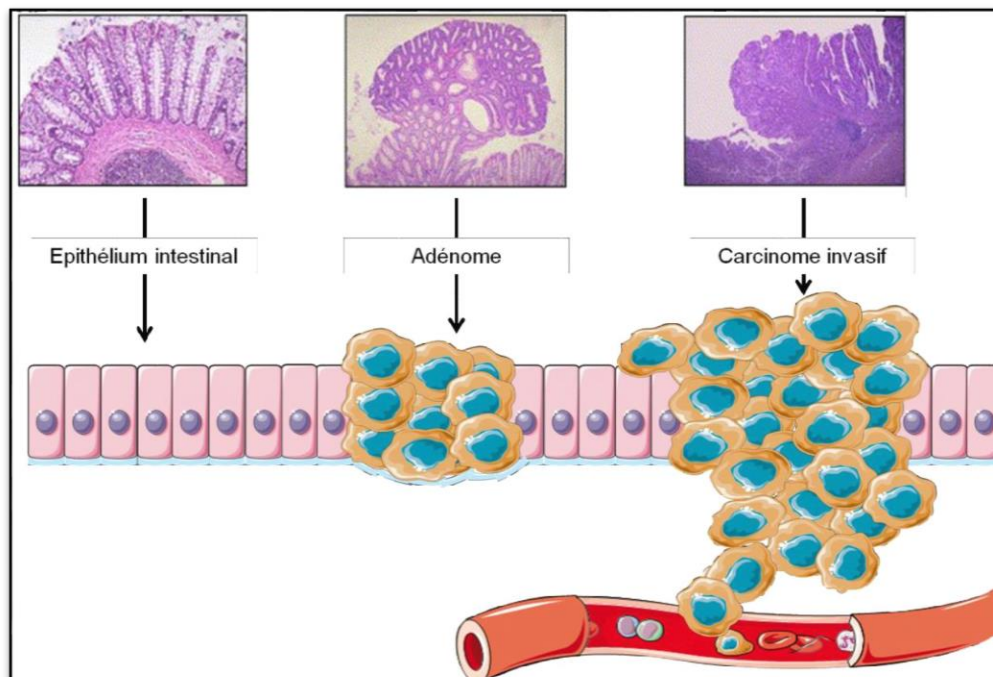


Figure 7 : Les différentes phases de développement du cancer colique

(Seigneur, 2013).

II.3 Principaux mécanismes de carcinogénèse colorectale

II.3.1 Mécanisme moléculaire

Le développement du CCR est un processus complexe et hétérogène. La transformation du tissu du côlon normal en une séquence CCR est connue pour être provoquée par plusieurs aberrations génétiques : telles que des mutations qui

inactivent la fonction du gène suppresseur de tumeur, l'instabilité chromosomique et l'altération de la méthylation de l'ADN (**Intarajak *et al.*, 2019**).

II.3.1.1 L'instabilité chromosomique(CIN)

Elle correspond au phénotype CIN ou aux cancers LOH ,c'est une voie caractérisée par des anomalies caryotypiques résultant d'une perte de la totalité ou d'une partie d'un chromosome ou d'un gain de matériel chromosomique, provoquant à la fois un changement du nombre de copie et de la structure chromosomiques, et contribue à l'inactivation de GST tels que APC, SMAD4, et TP53 (**Grady, 2004**).

II.3.1.2 L'instabilité micro satellitaire (MSI) :

Cette voie implique l'accumulation d'erreurs au cours de la réplication de l'ADN en raison de la présence de mutations dans les gènes responsables de la réparation (MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, MLH3, MSH3, PMS1 et EXO1). Ces erreurs s'accumulent principalement dans des fragments d'ADN répétitifs (microsatellites) dispersés dans le génome, entraînant des mutations dans divers gènes cibles.

Cette voie mutante ou instabilité microsatellite est impliquée dans le syndrome de Lynch et dans 15% à 20% des CRC sporadiques. Les tumeurs de la voie mutante sont plus fréquentes chez les femmes plus âgées et situées à proximité de l'angle splénique. Ces tumeurs sont histologiquement caractérisées par une infiltration lymphocytaire accrue (type Crohn), se sont des tumeurs mucineuses et mal différenciées (**Binefa *et al.*, 2014**).

II.3.1.3 L'hyperméthylation aberrante

Un mécanisme qui bloque la fonction des gènes. La méthylation des dinucléotides dans la région promotrice de nombreux gènes a été désignée sous le nom de phénotype méthylateur de l'île CpG (CIMP), Celui-ci provoque l'inactivation de nombreux gènes suppresseurs de tumeur par hyperméthylation de leurs promoteurs (**Ferron *et al.*, 2005**). Les tumeurs méthylantes se produisent plus fréquemment chez les femmes et les personnes âgées (**Binefa *et al.*, 2014**).

II.4 Facteurs de risque

II.4.1 Facteurs favorisant de CCR

Tableau 1 : facteurs favorisant du CCR

Facteurs	Risques
Obésité et calories	Un rapport calorique élevé, une obésité de type androïde ainsi que la sédentarité sont associés à un risque augmenté d'adénome ou de cancer colique.
Tabagisme	<p>Selon les données bibliographiques, le risque du CCR est accru chez les fumeurs et le taux de mortalité par CCR dans ce groupe est 25% plus élevé que chez les non fumeurs.</p> <p>Le tabac contient des substances cancérigènes qui sont censées créer des lésions génétiques irréversibles à la muqueuse colorectale, initiant la formation de polypes colorectaux. L'association tabagisme et risque de polypes est prédominante, avec un risque d'au moins deux à trois fois plus élevé des polypes chez les fumeurs.</p>
Age et sexe	Le risque de cancer colorectal augmente progressivement à partir de l'âge de 50 ans, les taux d'incidence sont faibles et proches entre les deux sexes puis augmentent avec l'âge, plus rapidement chez l'homme que chez la femme.
Viande rouge	L'augmentation du risque de CCR avec une forte consommation de viande rouge a été rapportée dans des études menées pour la plupart en Amérique du Nord mais cette relation est beaucoup moins nette dans les études européennes.
L'hérédité	Le risque d'avoir un cancer colorectal est plus élevé si un proche a eu un cancer colorectal. Le risque est d'autant plus fort qu'il y a plus des gens atteints dans la famille que ces cas sont proche (père, mère, frère et sœur) et que ces cas sont jeunes. On a identifié des familles à très haut risque où les gens ont une mutation spécifique qui les prédispose à ce cancer, Ces familles ne représentent cependant que 5% des cancers colorectaux.

Alcool	La consommation d'alcool est un facteur de risque probable pour les polypes colorectaux, mais le mécanisme par lequel il peut affecter ce risque n'est pas connu. Les données de l'étude Nurses Health, une cohorte prospective avec des questions répétées tous les quatre ans de 1984 à 2012, montrent que les femmes qui consomment au moins 30 g/jour d'alcool ont des probabilités de développer des polypes 1,8 fois plus élevées dans le côlon et le rectum distaux que chez celles qui en consomment moins.
Sucre et les hydrates de carbone raffinés	Une association positive a été trouvée entre la consommation de glucides et l'augmentation de risque d'adénome et de CCR. Les glucides impliqués sont les glucides à index glycémique élevé tels que le sucre et les féculents issus de céréales raffinées (maïs, blé, riz).
Manque de lumière naturelle	Il semble que les risques de contracter un cancer du côlon soient plus élevés dans les régions du monde où les gens sont moins exposés à la lumière naturelle. Selon une revue de recherches, une exposition régulière au soleil empêche la croissance de cellules cancéreuses dans le côlon et réduit substantiellement la mortalité associée au cancer du côlon.
Les maladies inflammatoires	Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin constituent un risque accru d'apparition du cancer digestif en particulier après 8 à 10 ans d'évolution. Parmi elles nous citons: -La maladie de Crohn -La rectocolite hémorragique (RCH).

II.4.2 Facteurs protecteurs du CCR

Tableau 2 : Facteurs protecteurs du CCR

légume	Un régime alimentaire apportant peu de graisses, beaucoup de légumes a un effet protecteur du CCR. Des études suggèrent que l'effet protecteur des légumes serait dû aux crucifères : choux, choux de Bruxelles, choux-fleurs, navets, brocolis. Plusieurs composants des légumes peuvent expliquer leur effet protecteur : ils sont riches en vitamines anti-oxydantes, en folates, en fibres alimentaires, en phytates et indoles. Ils jouent également un rôle de lest en diminuant la concentration de carcinogènes au niveau du bol fécal.
fibres	Les fibres alimentaires présentes dans les céréales complètes, les fruits, les légumes et les légumes secs ont un effet protecteur marqué pour le cancer du colon que pour le cancer du rectum.
Calcium et vitamines	<p>Les personnes prenant plus de vitamine D et de calcium présentent un risque plus faible de cancer du colon. Le calcium inhibait la carcinogenèse, en liant les acides biliaires aux acides gras dans la lumière intestinale ; ainsi il diminuerait la prolifération de l'épithélium colique.</p> <p>Les résultats de certaines études cas témoins ont suggéré que d'autres vitamines peuvent avoir un rôle protecteur : vitamine A, Vitamine c. ces vitamines pourraient réduire la mutagenèse fécale.</p>

II.5 Symptômes

Le CCR peut se développer longtemps de manière silencieuse, sans symptôme particulier. Néanmoins, certains signes peuvent être révélateurs d'un CCR (**Verret, 2014**). Notamment :

- Troubles de transit : constipation, diarrhée ou alternance des deux.
- Les douleurs abdominales inconnues et persistantes.

- Hémorragie digestive.
- Du sang dans ou sur les selles, qui les rend rouge ou noires (les selles noires peuvent être le signe d'un saignement du côlon droit).
- Anémie ferriprive par saignement occulte entraînant fatigue, pâleur.
- Une perte d'appétit et d'énergie.
- Une perte de poids inexplicée.
- Des ballonnements

II.6 Diagnostique et dépistage

Un pourcentage important de décès par CCR est dû à l'absence de dépistage, le développement des nombreux procédures de diagnostics ont contribué à réduire le nombre de cas des CCR (**Sur et al., 2019**). Le CCR se développe généralement lentement sur plusieurs années, la maladie peut être évitée si les adénomes sont détectés et éliminés avant qu'ils ne deviennent cancéreux. De plus, le cancer colorectal est généralement guérissable s'il est détecté à un stade précoce (**Kolligs, 2016**). Parmi les méthodes actuelles de dépistage des CCR les plus fréquents :

II.6.1 Coloscopie

Le but du diagnostic est de révéler la présence d'anomalies pré néoplasiques. Grâce à la coloscopie, la tumeur devient visible. Une portion de celle-ci est prélevée (biopsie) en vue d'une analyse. A partir de cet examen une stratégie thérapeutique et un suivi adapté seront mis en place.

Dans 30% des cas la coloscopie détecte un polype qui peut être retiré évitant ainsi qu'il ne devienne cancéreux un jour. Un cancer est découvert dans 10% des cas. Pour cette raison, le rôle de la coloscopie dans les tests de dépistage devient de plus en plus important dans la détection et la suppression des lésions néoplasiques et précancéreuses (**Kim et al., 2017**).

II.6.2 Recto-sigmoïdoscopie

Il a été proposé tous les 5 ans dans le dépistage du cancer colorectal et sa principale limite est évidemment l'exploration partielle du côlon (**Viguié, 2008**).

La recto-sigmoidoscopie est un examen endoscopique permettant de visualiser la muqueuse digestive du rectum et du colon gauche (**Macartain *et al.*, 2007**).

Elle a l'avantage d'être un examen rapide et peu invasif mais la procédure ne détecte pas les adénomes et le CCR du côlon droit Elle est considérée comme une approche de dépistage insuffisante (**Anca *et al.*, 2008**).

II.6.3 Dosage des marqueurs tumoraux

Les marqueurs tumoraux sont des substances, produites par les cellules tumorales malignes qui peuvent être détectés dans le sang périphérique et les autres liquides de l'organisme. Dans un sens plus restreint du terme, «les marqueurs tumoraux» sont des antigènes, des hormones, ou des enzymes solubles produits par des tumeurs solides. Les dosages des marqueurs tumoraux sont surtout employés pour du processus diagnostique du cancer colorectal (**Fournet, 2003**).

II.6.4 La radiographie

Après lavement au sulfate de baryum (appelé couramment lavement baryté) : le baryum, très lourd, est opaque aux rayons x, par contraste, on voit les contours du côlon, et on peut identifier les polypes sur les photos. Ce système moins invasif que la colonoscopie et aussi moins sensible. Il est très amélioré par l'utilisation de la tomodensitométrie (scanner appelle dans ce cas coloscanner) avec l'aide de l'ordinateur puissant qui permet une colonoscopie virtuelle où l'ensemble du côlon s'affiche en tridimensionnelle en haute définition, presque en temps réel.

Cette technique n'est toujours pas aussi sensible que la colonoscopie et ne permet pas d'enlever les polypes. Si un polype est détecté, on doit faire une colonoscopie pour l'enlever (**Céréales *et al.*, 2008**).

II.7 Prévention

Actuellement, deux stratégies de prévention principales du cancer colorectal sont en action :

II.7.1. Prévention primaire

Elle repose sur des mesures générales et certains facteurs de risque connus à ce jour.

L'alimentation joue un rôle, l'excès de viandes rouges, d'aliments riches en acides gras saturés et d'alcool. En revanche la consommation d'aliments riches en fibres (fruits, légumes, céréales à grains entiers) et pauvres en graisses est conseillée. L'obésité et la sédentarité paraissent néfastes. Elle sont combattues par l'activité physique régulière et la surveillance de l'apport calorique (**Ben Abdelghani et al., 2008**).

II.7.2 Prévention secondaire

visant à Dépister précocement des lésions pré néoplasiques ou néoplasiques dans le gros intestin, dans des populations à risque moyen ou accru, principalement en raison de: l'âge, les syndromes des CCR héréditaire ou les maladies inflammatoires. Quelques-uns d'entre eux ont obtenu des résultats solides et probants en termes de réduction de l'incidence et de la mortalité par CCR (**Roncucci et Mariani, 2015**).

II.8 Traitement

Le choix de traitement dépend des caractéristiques du cancer c'est-à-dire son degré d'extension : l'endroit où il est situé, son type et son stade.

Plusieurs techniques sont employées pour traiter les cancers coliques : la chirurgie les traitements médicamenteux : les thérapies ciblées, les chimiothérapies et la radiothérapie.

Ces traitements peuvent être utilisés seuls ou associés les uns aux autres.

Ils peuvent avoir pour objectifs (**Christel Rolling, 2010**) selon les cas :

- ❖ De supprimer la tumeur ou les métastases.
- ❖ De réduire le risque de récurrence.
- ❖ De ralentir le développement de la tumeur ou des métastases.

II.8.1 La chirurgie

La chirurgie est le traitement de première intention du cancer du côlon. Elle consiste à enlever la portion du côlon atteinte par la tumeur et le réseau de ganglions correspondant (curage ganglionnaire). Suivant la localisation et l'étendue de la tumeur, une portion plus ou moins grande du côlon est retirée. Le côlon n'étant pas un organe vital et possible de vivre normalement même si on en enlève une grande

partie, voire la totalité (traitement). L'intervention se déroule par **laparotomie** ou par **cœlioscopie**.

Elle commence par une phase d'observation pendant laquelle le chirurgien examine le côlon et la cavité abdominale afin de confirmer l'absence d'extension locorégionale de la tumeur et l'absence de métastase au niveau du foie (**Christel Rolling ,2010**).

II.8.2 La chimiothérapie

La chimiothérapie correspond à un traitement médicamenteux agisse sur les mécanismes de la survie cellulaire, la division cellulaire, l'angiogenèse et l'invasion d'une manière non spécifique. Elle peut avoir lieu avant la chirurgie ce qui aura pour effet de réduire la masse tumorale et ce que l'on appellera thérapie néo-adjuvante.

Administrée après intervention chirurgicale, une thérapie dite adjuvante sera administrée pour les cancers les plus avancés (métastatique) (**Mesange, 2014**).

II.8.3 Radiothérapie

La radiothérapie ou radio-chimiothérapie est un traitement moins toxique, plus efficace sur le contrôle local a pour but de détruire la tumeur ou des cellules cancéreuses à l'aide de rayons X ou à particules de haute énergie. Le bénéfice de la radiothérapie néo adjuvante a aussi été démontré chez les patients âgés. Elle permet un contrôle local en diminuant la fréquence des récurrences locales, y compris en cas d'exérèse complète du mésorectum (**Oguer, 2018**).

II.8.4 Thérapie ciblée

La thérapie ciblée utilise actuellement dans le traitement des cancers du côlon des médicaments qui font partie de la famille des anticorps monoclonaux qui ciblent spécifiquement les cellules cancéreuses. Ces médicaments ont été développés récemment, ciblent les voies de signalisation pour contrôler la division cellulaire et l'angiogenèse tumorale. Des inhibiteurs de l'angiogenèse, en particulier l'anticorps monoclonal anti-VEGF, appelé **l'évacizumab**, ont également été développés ces dernières années.

Le **panitumumab** est un anticorps monoclonal entièrement humain dirigé contre l'EGFR, été utilisé en association avec les meilleurs soins de soutien pour le

traitement métastatique du cancer colorectal. La combinaison de certains de ces traitements ciblés avec la chimiothérapie a montré une survie médiane de plus de 2 ans (*Gulbake et al., 2016*).

II.9 Stress oxydant

Le stress oxydatif est un grave déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène **ROS** (Reactive Oxygen Species), d'espèces réactives de l'azote **RNS** (Reactive Nitrogen Species) et les défenses antioxydantes (**Butterfield et Helliwe, 2019**). Autrement, défini comme un déséquilibre de la balance entre antioxydants/ et prooxydants, que ce soit par une augmentation de la production (surproduction) d'espèces oxygénées réactives et/ou par une diminution des défenses antioxydantes (**Halliwell et Whiteman, 2004**). Ceci conduit à l'apparition des endommagements.

II.9.1 Radicaux libres et espèces réactives

Un radical libre est défini comme toute molécule contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Diallo et al., 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne commence lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable et la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**kabouche et al., 2007**). cellulaires et tissulaires souvent irréversibles (**Sorg, 2004**).

II.9.1.1 Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS)

Les dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définis comme des molécules qui contiennent de l'oxygène, mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les **ERO** incluent les radicaux libres comme : l'anion superoxyde (**O₂ •-**), le radical hydroxyle (**•OH**) et des composés externe) comme : le peroxyde d'hydrogène (**H₂O₂**), l'oxygène singlet (**1O₂**) et l'ozone (**O₃**) (**Victor et al., 2009**).

II 9.1.2 Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS)

Ont été déterminées comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ($\text{NO}\bullet$). Cela a poussé certains auteurs à parler de **RONs** (Reactive Oxygen and Nitrogène Species) au lieu de **ROS** pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (**Mac Laren et al., 2007**).

II9.2Systèmes de défense

- ❖ Les vitamines : vitamine E (**Butterfield et Helliwell ,2019**), vitamine C (acide ascorbique), agissant comme un agent réducteur, en diminuant les métaux de transition (Fe^{3+} et Cu^{2+})
- ❖ Les Trois connus systèmes enzymatiques antioxydants qui sont: superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxyde d'hydrogène dismutase, glutathion
- ❖ (GSH), glutathion peroxydase (GPx ou GSH-Px) et la glutathion réductase (GR ou GSH-Rd) (**Teixeira et al., 2019**).
- ❖ Polyphénols (**Teixeira et al., 2019**) ;(**Butterfield et Helliwell, 2019**).

II9.3 Pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif joue comme un facteur déclencheur impliqué dans nombreuse pathologie (**Faiver, 2003**). Notre mode de vie : (alcoolisme ; tabagisme ;exercice physique intense ;obésités),pareillement nos mauvaises habitudes alimentaire augmente la production du ROS de façon anormale dans l'organisme. A long terme ceci conduit à l'apparition de diverses pathologies.

Le stress oxydatif est impliqué dans le développement des maladies telles que : les maladies cardiovasculaires, inflammatoires, diabète, neurodégénérative, les vieillissements cellulaire et spécialement le cancer (**Montagnier et al., 1998**) ; (**Faiver, 2003**) ; (**Valco et al., 2006**) ; (**Andrisic et al., 2018**).

L'association du stress oxydatif avec la cancérogenèse est bien connue, mais n'est pas bien comprise, tout comme la physiopathologie du stress oxydatif généré lors de divers types thérapeutiques anticancéreux.

La production excessive de ROS a été impliquée dans la tumorigenèse car le ROS est un cancérigène puissant qui induit des dommages à l'ADN, et des mutations génétiques, ce qui peut éventuellement conduire à l'induction de l'instabilité génomique et à la transformation cellulaire (**Andrisic *et al.*, 2018**). Ces dommages d'ADN induits par les ROS donnent naissance à des mutations impliquées dans des gènes suppresseurs de tumeurs (oncogènes). Si ces dommages ne peuvent pas être réparés correctement, des mutations de l'ADN se produiront et ce qui induira davantage le cancer à la fin (**Junior *et al.*, 2017**).

Chapitre 3:
Teucrium polium

III. Présentation de la plante *Teucrium polium*

III.1 Distribution géographique

Le genre *Teucrium* comprend plus de 300 espèces généralement aromatiques, elle pousse d'une manière spontanée dans diverses régions du globe. Il est présent largement dans le bassin méditerranéen (euro-méditerranéenne et plus particulièrement en Algérie où sont recensées respectivement 21 espèces. *Teucrium polium* est une plante à fleurs ; très abondante dans le bassin méditerranéen : l'Europe ; nord de l'Afrique et nord-ouest d'Asie (Andary, 1988)

III.2 Description botanique de *Teucrium polium*

Teucrium est le genre majeur des lamiacées, dénommé génériquement germandrées. Il est largement employé en médecine traditionnelle depuis plus de 2000 ans (Darapbour, 2010). Il englobe environ 340 espèces dont 20 représentées en Algérie (Kabouche *et al.*, 2007).

- *Teucrium polium* plante herbacée vivace a une odeur poivrée par frottement.
- Ces tiges sont de 10-30 cm de hauteur, blanches-tomenteuses portant des feuilles opposées ; sessiles, linéaires lancéolées ou oblongues, en coin et entières à la base et à dents arrondies en haut.
- Ces feuilles, blanches-tomenteuses sur les deux faces ont les bords enroulés.
- Ces fleurs forment des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrées (Figure 8) (Christodoulakis *et al.*, 2010)

III.3 Nom de la plante

Teucrium polium est connu par différents noms dont la synthèse est traitée dans le tableau 3.

Tableau 3: Différents noms donnés au *Teucrium polium* à travers le monde (Autore *et al.*, 1984) ; (Rasekh *et al.*, 2005).

Pays	Nomenclature
Nom Local	<i>Djaada ; jaad; Djaida; Katabet ledjrah.</i>
Nom arabe	<i>Khiyata</i>
Nom Amazigh	<i>Goutiba; Fel'la-Timzourin; Haida; Timtchich</i>
Nom latin	<i>Teucrium polium L, synonymes : Teucrium tomentosum Teucrium gnaphalodes, Teucrium chamaedrys et Teucrium capitatum</i>
Nom français	<i>Pouliot de Montagne ; germandrée tomenteuse ; germandrée blanc-grisâtre</i>
Nom Anglais	<i>mountain germander</i>
Nom Marocain	<i>Jaaida</i>
Nom Libanais	<i>Hachichet elrih</i>
Nom Yéménite	<i>Elgaslam et Elhela</i>

III.4 Classification botanique



Figure 8 : Aspect morphologique de *Teucrium polium*

Tableau 4 : Classification de l'espèce *Teucrium polium* d'après NCBI

Classification	<i>Teucrium polium</i>
<i>règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Sous-embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Astéridées</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Lamiidées</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Teucrium</i>
<i>Espèce</i>	<i>Polium</i>

III.5 Les données thérapeutiques

III.5.1 Utilisation traditionnelle

Le genre *Teucrium* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle depuis plus de 2000 ans dans de nombreuses régions du monde, par l'utilisation de ces feuilles en cuisine et à des fins médicinales, en particulier pour :

- ✓ le traitement des troubles intestinaux et gastriques.
- ✓ Le soulagement des douleurs viscérales et la diminution de la glycémie.
- ✓ L'utilisation comme dépuratif et remède des maladies du foie et de l'hypertension.
- ✓ Le traitement des ulcères gastéro - duodénaux et de l'hyperlipidémie (stella *et al.*, 2010).

En médecine traditionnelle africaine, cette plante est employée dans les périodes de stress, car il permet les bienfaits suivants :

- ✓ De se relaxer, de se détendre en augmentant la force et la relaxation des muscles,
- ✓ Elle entraîne également la diminution de l'anxiété et la lutte contre la fatigue et l'agressivité
- ✓ favorise le sommeil et permet également la stimulation de la mémoire,
- ✓ l'augmentation de la concentration et la lucidité.
- ✓ Elle possède également une action bénéfique sur la digestion.
- ✓ Ses permettent de lutter contre le vieillissement de la peau grâce à ses propriétés antistress et antioxydantes (**Lagnika et al., 2005**).

La médecine populaire confère au *Teucrium polium* de nombreuses propriétés pour traiter les inflammations et les rhumatismes. Son extrait a démontré des effets hypotenseurs (**Kamela et sandra, 1994**), antibactériens, antispasmodiques et antipyrétiques diaphorétiques, tonifiant, des effets analgésiques (**Kawashty et al., 1997**) et des effets antioxydants (**Hasani et al., 2007**) ; (**Bezić et al., 2011**).

L'extrait aqueux de *Teucrium polium* a longtemps été utilisé en Iran pour le traiter le diabète et possède des pouvoirs hypolipidémiques (**Rasekh, Khoshnood-Mansourkhani, et Kamalinejad, 2001**); (**Esmaceli et Yazdanparast, 2004**) (**Ricci et al., 2005**) ; (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**); (**Hasani et al., 2007**).

III.6. Données toxicologiques

III. 6.1. Toxicité orale aiguë et subaiguë

Les tests de toxicité aiguë et subaiguë ont montré que l'extrait de *Teucrium polium*, n'a produit aucun changement significatif chez les animaux testés. L'examen histopathologique du foie et des reins n'a révélé aucun changement nuisible ni altération morphologique (16 g / kg d'extrait de *T polium* pour la toxicité aiguë et 500 et 1000 mg / kg d'extrait de *T. polium* pour la toxicité sub-aiguë) (**Ghasemi et al., 2019**).

III. 6.2. Toxicité hépatorenale

Une étude montre que la *Teucrium Polium* à 3, 10, 30 et 100 mg / kg de poids corporel n'a pas affecté les caractéristiques fonctionnelles et structurelles dans les tissus hépatiques et rénaux. Cependant, à une dose supérieure à 200 mg / kg, la plante

a provoqué des dommages au niveau des tissus hépatiques et rénaux (**Ghasemi et al.,2019**).

III. 6.3.Effet de l'extrait de plante *Teucrium polium* pendant l'embryogenèse

Teucrium polium peut avoir des effets très toxiques à un stade précoce de l'embryon. Par conséquent, il est important d'alerter les femmes enceintes pour éviter la consommation de cette plante pendant la grossesse. Environ 95% des embryons exposés à *Teucrium polium* sont décédés après 1 à 3 jours de traitement. L'examen macroscopique n'a révélé aucune anomalie dans ces embryons. Cependant, l'analyse qPCR du facteur 3 de transcription d'activation, du lymphome B 2, de la caspase 8, de la sous-unité bêta A de l'inhibine, du facteur de croissance endothélial vasculaire C et des gènes Cadherin-6 de type 2 a révélé que ces gènes sont considérablement dérégulés dans le cœur et les tissus cérébraux d'embryons exposés à *Teucrium polium* par rapport à des tissus appariés provenant d'embryons non exposés (**Shaikha et al.,2018**).

Partie Pratique

Objectifs et intérêts de l'expérience

A partir des chapitres précédents la plante *Teucrium polium* présente plusieurs possibilités d'utilisation comme produits pharmaceutiques: anti tumoraux, antiviraux, hypotenseurs et antibactériens. Le but de notre étude était d'évaluer l'activité chimio-préventive de l'extrait aqueux sec de la plante *Teucrium polium* sur le cancer colique chez le rat induit par le carcinogène diméthylhydrazine (DMH).

1. Matériels et méthodes

1.1 Matériels biologiques

- **Elevage des rats**

Cette étude a été réalisée sur 22 rats femelles blanc *Rattus rattus* de la souche Wistar, pesant entre 140 à 189 g.

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de deux semaines au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, l'université Constantine 1 à une température de 22°C et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en plastique qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, ces cages ont été nettoyées chaque deux jours de façon à ne pas être mouillé pour assurer le bon état hygiénique des animaux jusqu'à la fin de l'expérimentation, elles ont accès libre à l'eau et l'aliment standard fourni par l'Office National des aliments de Bétails (ONAB) de Bejaia.

1.2. Matériel végétal

1.2.1. Préparation de la poudre

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *Teucrium polium* acheté au marché local. A l'aide d'un mixeur la plante a été transformée en poudre très fine, puis conservé dans des récipients hermétiques à une température ambiante jusqu'à la préparation de l'extrait aqueux sec.

1.2.2. Préparation de l'extrait aqueux sec

L'extrait aqueux sec de *Teucrium polium* a été obtenu par décoction de 20g de poudre de la plante dans 200 ml d'eau distillée.

Le mélange a été ensuite chauffé à ébullition et maintenu sous agitation pendant 30 min. Après refroidissement, le mélange est d'abord filtré sur du foulard, ensuite sur coton hydrophile, puis sur papier Wattman (n°1). Des aliquotes du filtrat sont placées dans une étuve à 40°C pendant 24 h pour évaporer.

L'extrait sec est pesé puis dissout dans de l'eau distillée afin d'obtenir les doses (200 et 100) mg/kg de poids corporel de rat.

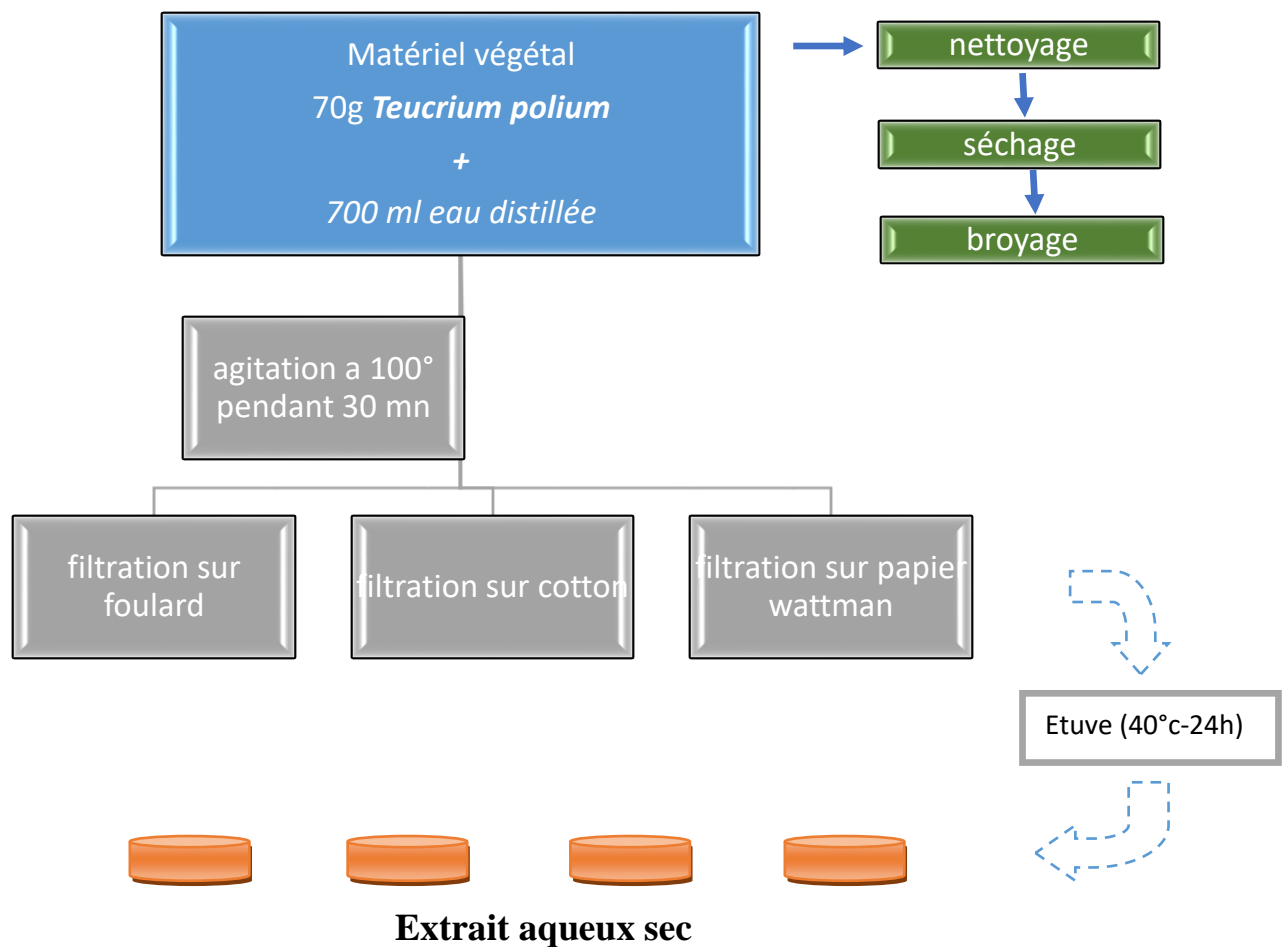


Figure 9 : protocole récapitulatif de l'extraction par décoction

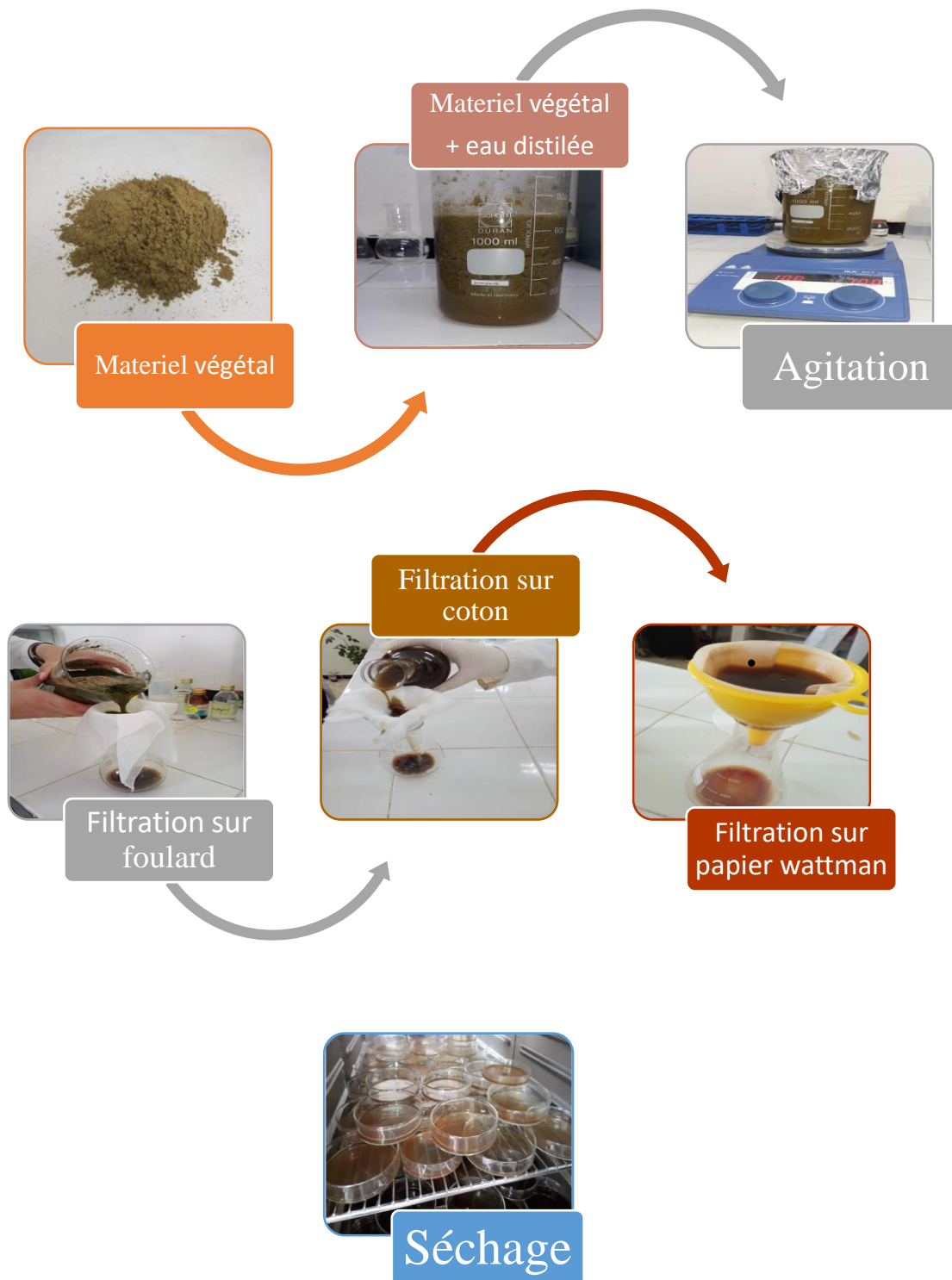


Figure 10: Préparation de l'extrait aqueux sec (photo originale)

1.3. Application des traitements

1.3.1. Induction des lésions précancéreuses ou FCA (Foyers de Cryptes Aberrantes)

Le cancer du côlon a été induit par le DMH (1,2-diméthylhydrazine), qui est un cancérigène spécifique du colon. L'initiation de la cancérogenèse colique a été estimée par le dénombrement des lésions pré-néoplasiques de type FCA et le nombre de cryptes qui les constituent.

Les FCA sont découverts par **Bird (1987)** qui considère ces FCA comme des lésions pré néoplasiques (prédictatrices de tumeurs) qui peuvent être utilisées dans les études de dépistage et de prévention du cancer du côlon. Ainsi, on a désiré mettre en évidence des changements morphologiques se produisant à un stade précoce de la cancérogenèse colique.

Tableau 5 : Répartition des lots et de différents traitements.

Lot 1 : Témoin	Rats témoin ont reçu une injection intra-péritonéale de l'eau physiologique 2 fois par semaine pendant 4 semaines et un gavage 3 fois par semaine pendant 10 semaines.
Lot 2 : DMH	Rats ont reçu une injection intrapéritonéale du carcinogène à raison de 35 mg/kg de poids corporel 1 fois par semaine pendant 4 semaines.
Lot3 : (DMH+TP200mg/kg)	Rats traités par le carcinogène (même protocole du lot 2), et l'extrait aqueux à raison de 200mg/kg, administré une semaine avant le DMH, par un gavage quotidien pendant 10 semaines.
Lot 4 : (DMH+TP100mg/kg)	Rats traités par le carcinogène (même protocole que le 2ème et le 3ème lot), et l'extrait aqueux à raison de 100mg/kg administré une semaine avant le DMH, par un gavage quotidien pendant 10 semaines.



(1)



(2)

Figure11: (1) injection intra péritonéale de DMH aux rats des lots (2, 3 et 4)

(2) administration de l'extrait par gavage aux rats des lots (3 et 4)

1.3.2. Dissection et prélèvement des organes

A la fin des traitements, les rats sont anesthésiés, avec du chloroforme pendant 2 à 3 minutes, après sacrifice les animaux sont fixés en décubitus dorsal sur une plaque en liège, une incision est pratiquée de l'orifice uro-génital jusqu'au cou. Les organes (foie, côlon) sont soigneusement prélevés immédiatement après dissection des animaux, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0.9% et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés.

Ensuite, les côlons sont ouverts longitudinalement, et coupés en 3 morceaux correspondants au trois segments coliques (proximal, moyen, et distal) soit 2 à 3 morceaux de côlon pour chaque rat. Puis ils sont fixés à plat dans du formol à 10% pendant 48h pour l'observation microscopique.

Un fragment de foie ou du colon sont conservés au congélateur à -20°C pour le dosage de paramètres du stress oxydant (GSH, CAT, MDA).



Figure 12 : Mise en évidence du côlon après anesthésie et dissection du rat

1.3.3. Coloration et lecture des lésions

Avant d'être observés au microscope, les côlons sont colorés au bleu de méthylène. Le côlon est d'abord rincé dans de l'eau distillée afin d'éliminer la formaline. Il est ensuite plongé muqueuse vers le haut dans un bain de BM à 0,2% pendant 10 minutes. Cette opération s'effectue au fur et à mesure de la lecture car les côlons se dessèchent vite. De plus le bleu de méthylène qui s'accumule dans les cellules et qui donne la sur coloration des cryptes aberrantes s'atténue après 15 minutes. Ils sont ensuite placés sur la lame, et lus au microscope (x10).

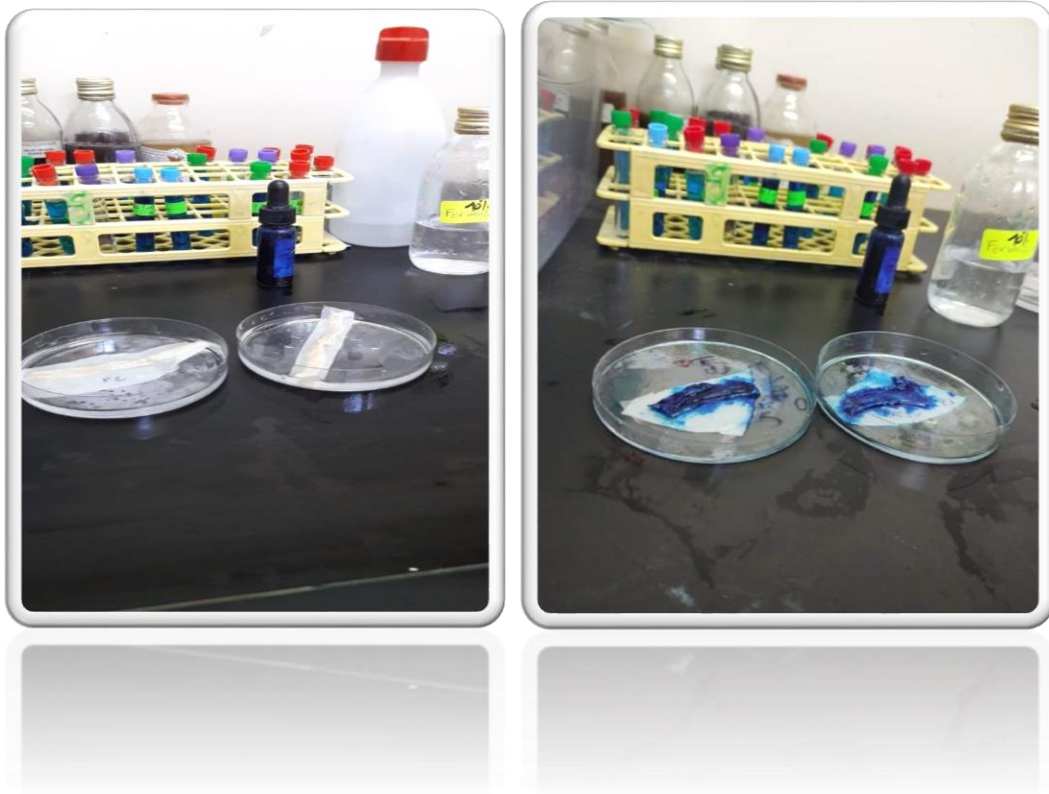


Figure 13 : Coloration des fragments du colon

1.4. Critères de sélection des FCA par rapport aux cryptes normales

Les FCA peuvent présenter différentes caractéristiques. Ils sont composés d'une ou plusieurs cryptes regroupées en foyer. Ils ont généralement une coloration plus foncée, une paroi plus épaisse, une taille 2 à 3 fois supérieure aux cryptes environnantes normales, une forme allongée (lumière des cryptes dilatée parfois tortueuse), une structure surélevée par rapport au reste des cryptes.

On décide de classer des cryptes comme FCA si elles possèdent au moins deux critères parmi les trois principaux suivants : une coloration plus foncée, une structure surélevée et une ouverture allongée



(A)

(B)

Figure 14 : Photographies de muqueuses coliques avant et après coloration

(A) Muqueuse colique ouverte longitudinalement puis rincée à l'eau physiologique

(B) Muqueuse colique fixée au formol à 10% et colorée au Bleu de Méthylène 0,2%.

2. Evaluation de certains paramètres du stress oxydant

2.1. Préparation de l'homogénat

0,5g de foie et colon sont broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 4 ml d'une solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), pour obtenir un homogénat. La suspension obtenu est centrifugée à (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservés à -20°C jusqu'au dosage.



Figure 15 : préparation de l'homogénat par broyage

2.2 Dosage du glutathion réduit

Le dosage du glutathion 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-mercaptopurique 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 du 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, pH 9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB)

à 0.01 M.

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 :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéine}}$$

- D0 : 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.

On note que la concentration du GSH est mesurée par apport à 1 mg de protéines.

Pour cela ce dosage doit être accompagné par un dosage des protéines

2.3. Dosage des protéines

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements Amines (–NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la Concentration des protéines).

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- 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) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.



Figure 16 : préparation de bleu de coomassie (agitation pendant 2h)

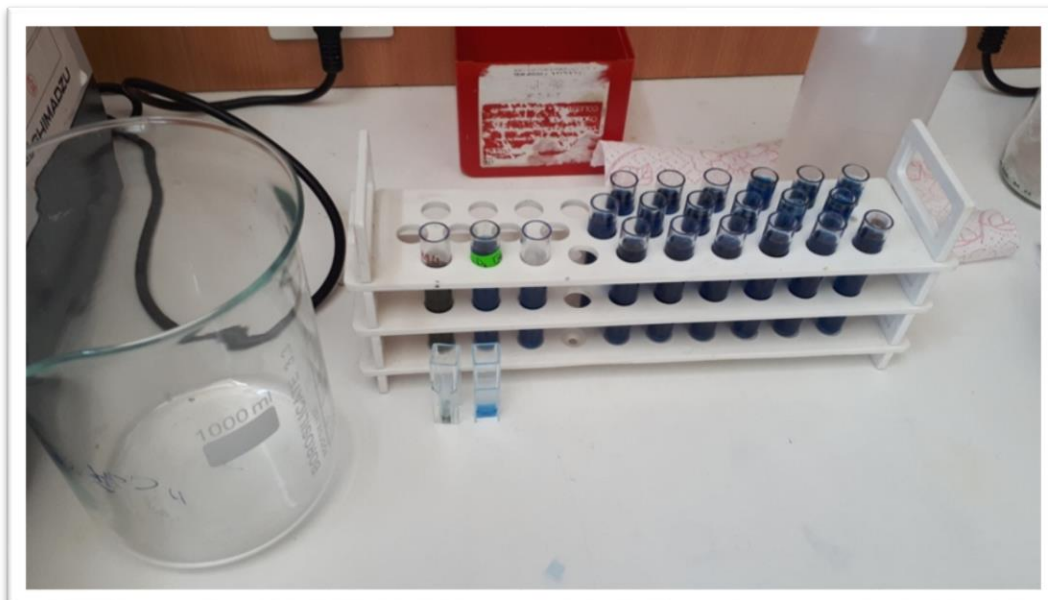


Figure17 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford

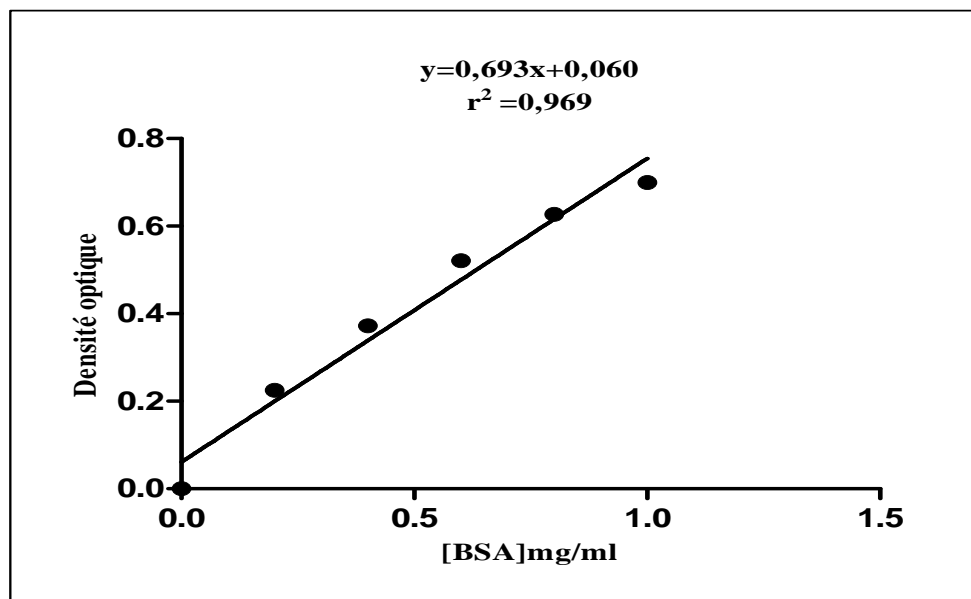


Figure 18 : La gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des Protéines.

2.4. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

a) Principe

Le MDA est un produit 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, les taux du MDA du foie et du colon ont été évalués selon la méthode d'**Ohkawa (1979)**. Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

La procédure expérimentale du dosage, est la suivante :

- Prélever 0.5ml de l'homogénat.
- Ajouter 0.5ml d'acide trichloracétique (TCA) 20%.
- Ajouter 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%

- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 C° durant 15 minutes.
- Refroidir et additionner 4ml de n-butanol.
- Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc

b) Calcul de la concentration du MDA

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en mol/gramme de tissu (foie ou poumon). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions.

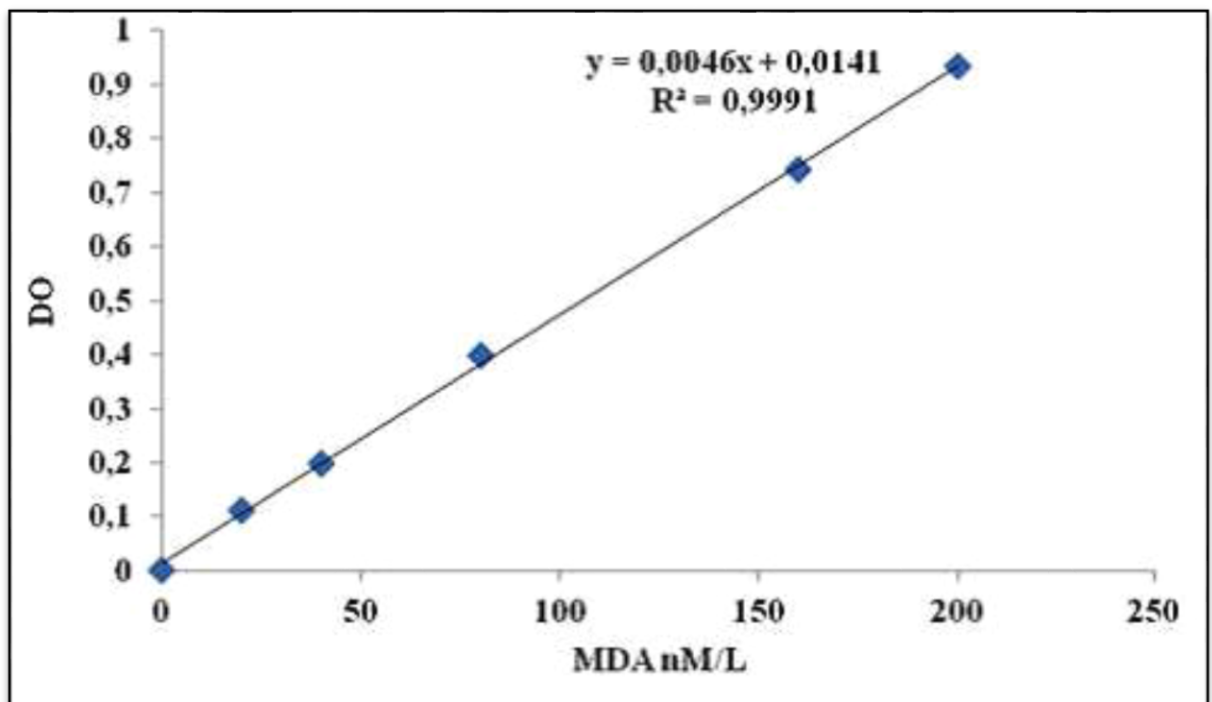


Figure 19 : Courbe standard pour le calcul de MDA

2.5 Mesure de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT)

Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

La catalase est une enzyme catalysant la décomposition de H₂O₂ en H₂O et O₂. Cette décomposition peut être suivie par diminution de l'absorbance à 240 nm. La détermination de l'activité de la catalase est effectuée selon le protocole décrit par **Aebi et ses collaborateurs (1974)**.

L'activité catalase (CAT) est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en faisant réagir dans 100 mM de tampon phosphate pendant 1 mn à pH 7.5, 100 µl de H₂O₂ 5500 mM sur 10 µl du surnageant, à une température d'incubation de 25°C. Les résultats ont été exprimés en µmole d'H₂O₂ par minute et par mg protéine.

Tableau 6 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité du CAT

Réactifs	ESSAI	BLANC µl
T. phosphate 100 Mm; pH= 7.5	780	800
H ₂ O ₂ 500 Mm	200	200
Homogénat	10	0

On note que la quantité d'homogénat doit être déterminée en fonction de la quantité des protéines qui est comprise entre 8 et 12 g/dl soit une quantité de 10 à 20 μ l d'homogénat. L'activité décroissant rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment où l'on place la cuve dans le spectrophotomètre.

La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure. L'activité CAT peut être calculée selon l'équation suivante:

$$\text{CAT} \cdot (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{protéine}) = \frac{\Delta \text{DO}}{\epsilon \times X \times L \times \text{Fd}}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.
- ϵ : Coefficient d'extinction du H₂O₂ = 0.04 Mm⁻¹. Cm⁻¹
- L : Longueur de la cuve = 1 Cm.
- X : Quantité de protéine en mg/ml.
- Fd : Facteur de dilution du H₂O₂ dans le tampon (0,02).

3 Analyse statistique des résultats :

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($M \pm SD$), Ces moyennes sont comparées par un test t de Student. L'analyse de variance est effectuée par le test d'ANOVA one way (univariée) suivie par le test Tukey pour les comparaisons multiples, en utilisant le logiciel Graph Pad. Prism.V5.00. Les différences sont considérées comme :

- _ Significatives lorsque (*P < 0,05).
- _ Hautement significative comparant au témoin (**P < 0,01).
- _ Très hautement significative comparant au témoin (**P < 0,001).

Avec P : Seuil de signification.

Résultats

1. Influence du traitement sur le poids corporel des rats

Nos résultats montrent une augmentation non significative du poids corporel, et une diminution du gain de poids chez les rats traités des lots DMH, **DMH+TP200mg/kg** et une perte de poids chez le lot **DMH+TP100mg/kg** par rapport au lot témoin.

De plus, nous avons constaté une diminution hautement significative ($P < 0,01$) du poids corporel chez les rats traité par le **DMH+TP100mg/kg** comparant aux groupes témoin et traité par le DMH.

Tableau 7 : Variation du poids corporel (g) des rats témoins et traités, après 8 semaines de traitement.

	Témoin	DMH	DMH+ TP200mg/kg	DMH+TP 100mg/kg
Poids initial(g)	213,4±21,62	219,8 ±21,18	193,0 ± 11,99	186,7 ±24,39
Poids final(g)	261,6 ±13,32	246,5±19,96	224,2 ±15,20	186,5 ± 37,11**
Gain de poids (g)	+ 48,2	+ 26,7	+31,15	- 0,2

**($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au groupe DMH et aux témoins.

2-influence des traitements sur l'induction et la multiplicité des lésions précancéreuses FCA (foyer de cryptes aberrantes) chez le rat :

Les résultats présentés par le tableau (7), figures (21) montrent, que l'incidence des lésions précancéreuses présente 100 % chez les animaux traités par le carcinogène, la dose **200mg/kg** et la dose **100mg/kg** de l'extrait aqueux de la plante. Nos résultats indiquent aussi, qu'il existe une baisse hautement significative ($P < 0,01$) du nombre total de foyers de cryptes aberrantes (FCA) chez les rats traités par le

carcinogène supplémenté au deux doses de l'extrait aqueux de la plante, en comparant au rats traités par le carcinogène seul (**tableau 7, figure21**).

Concernant l'effet de l'extrait sur le nombre de cryptes par foyer, on remarque que l'extrait aqueux a atténué la multiplicité des lésions précancéreuses, chez les rats traités par le DMH+ l'extrait par rapport à ceux traités par le DMH seul, cette est observée dans la diminution hautement significative ($P < 0,01$) des FCA à 02 cryptes (**figure 22**).

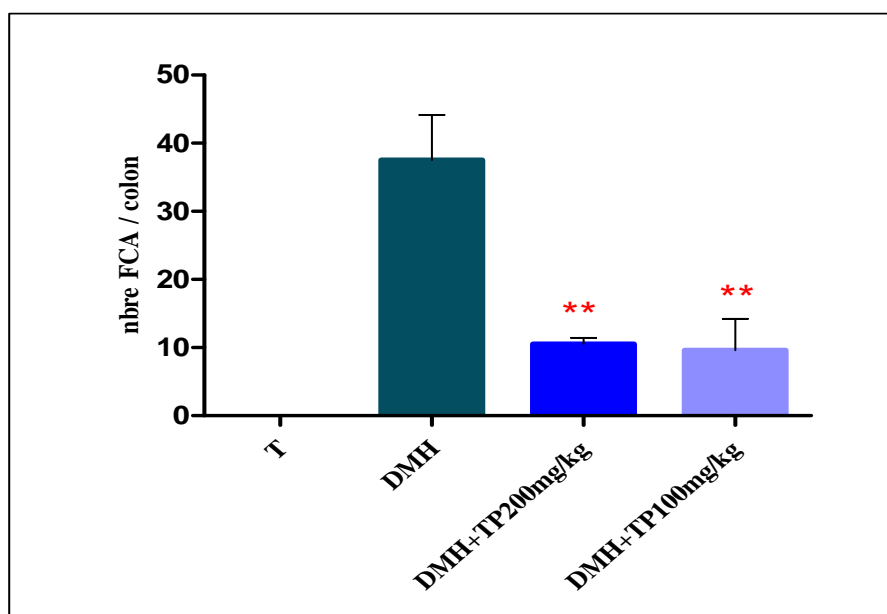


Figure 20: Effet du carcinogène et de l'extrait aqueux de *Teucrium polium* sur le nombre total des FCA.

* * ($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au groupe DMH.

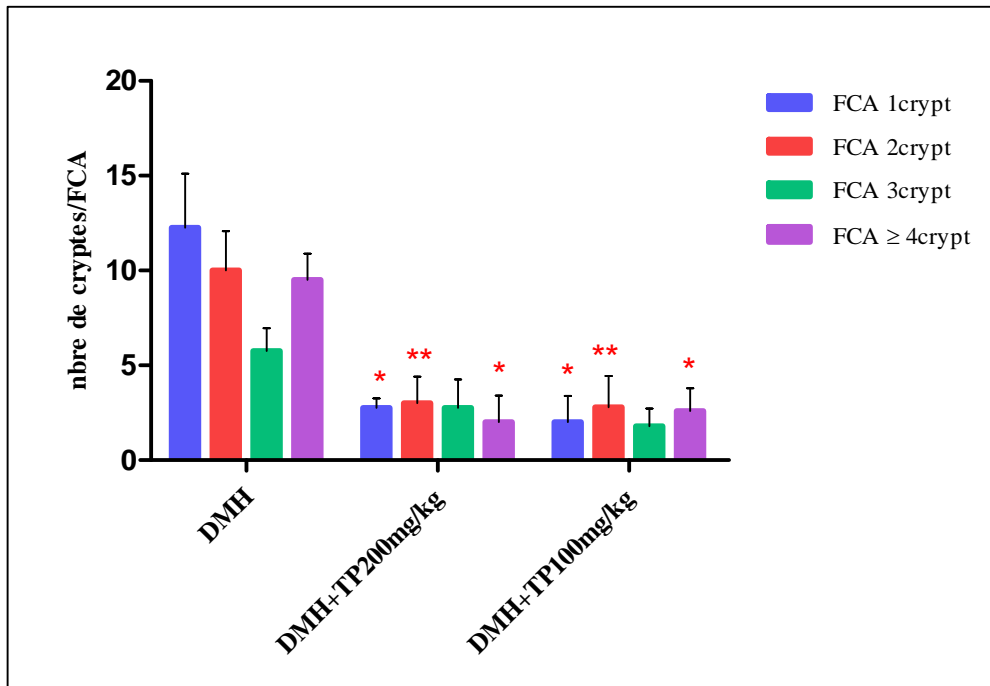


Figure21 : Effet du carcinogène et de l'extrait aqueux de *Teucrium polium* sur le nombre de cryptes aberrantes par FCA (multiplicité).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au lot DMH.

** ($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au groupe DMH.

3- Effet de différents traitements sur la muqueuse colique

Après lecture au microscope des côlons prélevés sur les rats, les rats témoins présentent une muqueuse colique avec des cryptes intestinales normales. Les rats ayant reçu le carcinogène ainsi que les rats traités par le DMH et l'extrait aqueux de la plante *Teucrium polium*, développent des FCA sur la muqueuse de leur côlons.

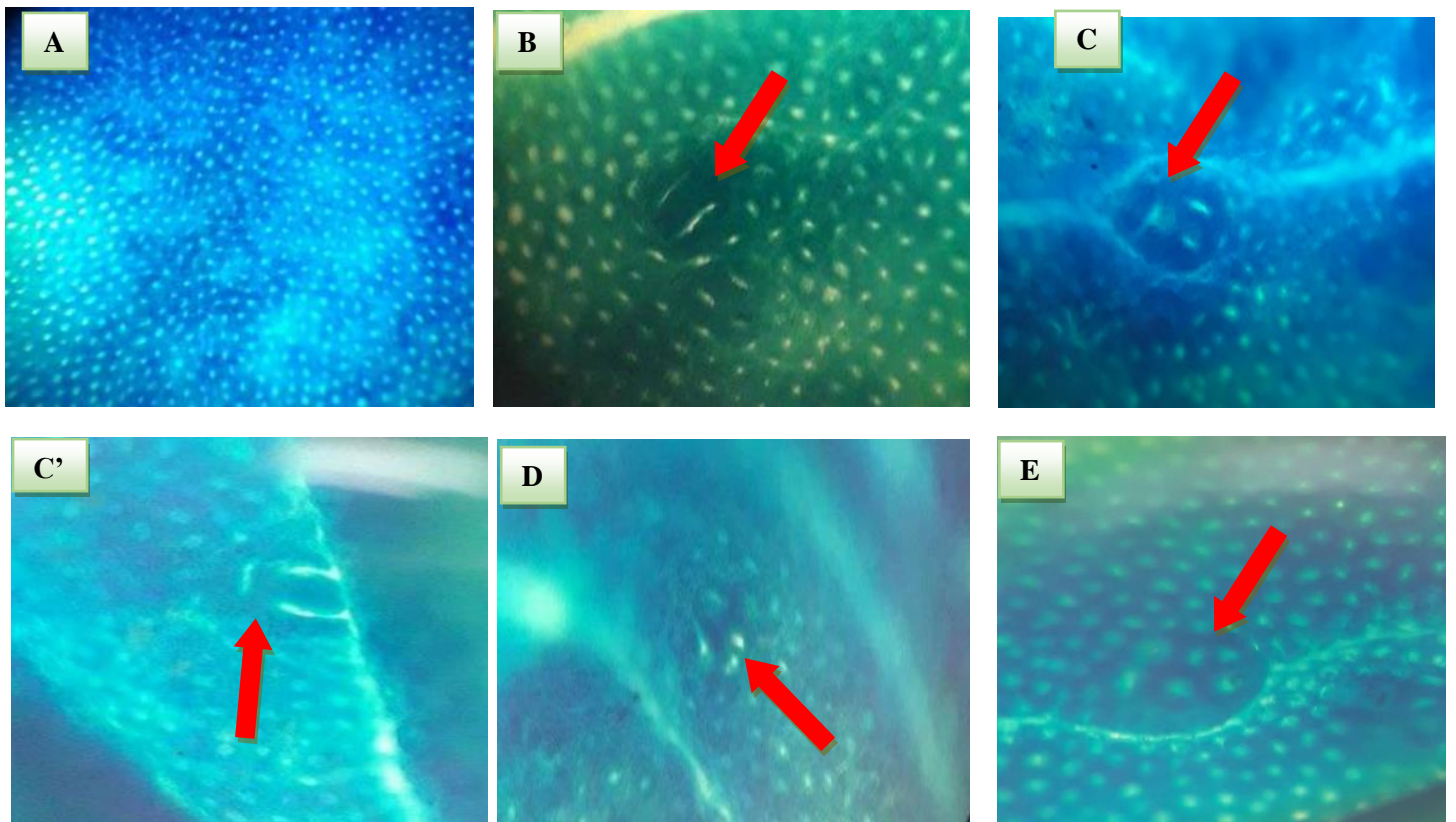


Figure 22 : Muqueuses coliques de rats témoins (A), et traités par le DMH (B, C, D, E), montrant des foyers de cryptes aberrantes FCA observées au microscope optique (10x10), après coloration au bleu de méthylène.

- (A) : Muqueuse colique avec des cryptes intestinales normales
- (B) : FCA à 2 cryptes aberrantes
- (C)(C') : FCA à 3 cryptes aberrantes
- (D) : FCA à 4 cryptes aberrantes
- (E) : FCA multicryptique

4. Localisation et répartition des FCA par segment (proximal, moyen et distal) chez les rats traités par le carcinogène et l'extrait de *T.polium*.

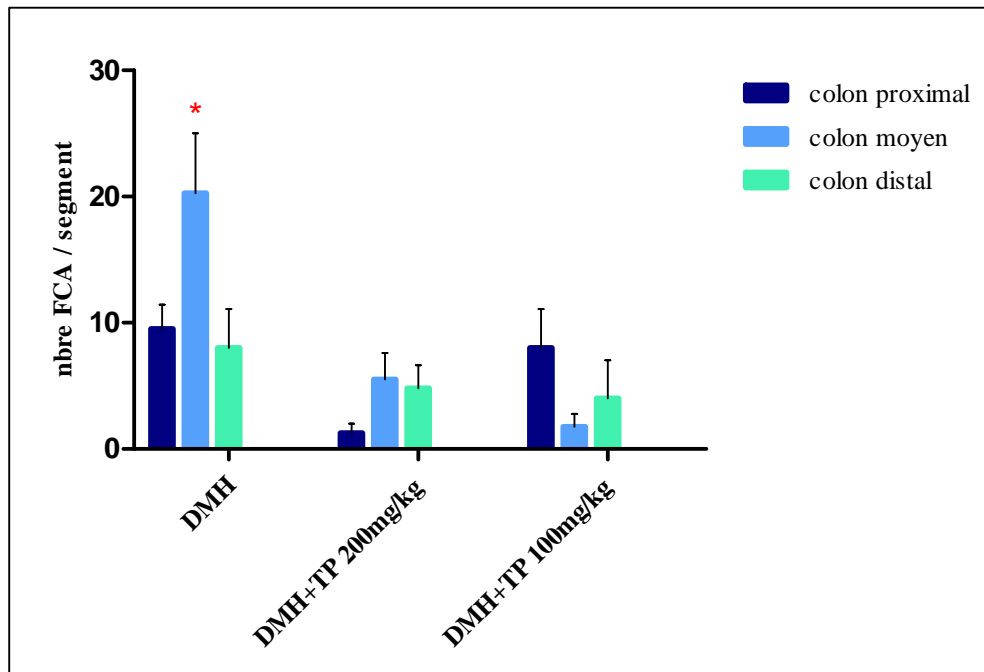


Figure23 : Répartition des foyers de cryptes aberrantes par segment (colon proximal, moyen et distal) chez les rats traités par le carcinogène et l'extrait de *T.polium*.

* $P < 0,05$: Différence significative comparant au colon proximal et distal.

D'après les résultats de la figure (23), on remarque que les FCA sont majoritairement présentes dans le segment moyen, nos résultats montrent qu'il existe une augmentation significative ($P < 0,05$) du nombre de FCA dans le colon moyen par rapport au colon proximal, et au côlon distal chez les rats traités par le DMH.

De plus, aucun changement significatif n'a été enregistré chez les rats supplémentés à l'extrait aqueux de *Teucrium polium*.

5. Influence du traitement sur les variations des paramètres du stress oxydant

Effet sur les taux de MDA, GSH tissulaires, et l'activité enzymatique de la catalase :

La variation des taux de MDA, GSH, et l'activité de la catalase dans le colon et le foie, des rats soumis à différents traitements sont montrés dans les figures :

5.1. Malondialdéhyde (MDA)

a) Dans le colon

Les résultats montrent que l'injection intrapéritonéale du carcinogène induit une élévation significative ($p < 0.05$) de la concentration du malondialdéhyde. Cependant, le prétraitement avec l'extrait de *T.polium* (200 mg/Kg) réduit de façon très hautement significative ($p < 0.001$) le taux du MDA en comparaison avec le groupe DMH. (figure 24).

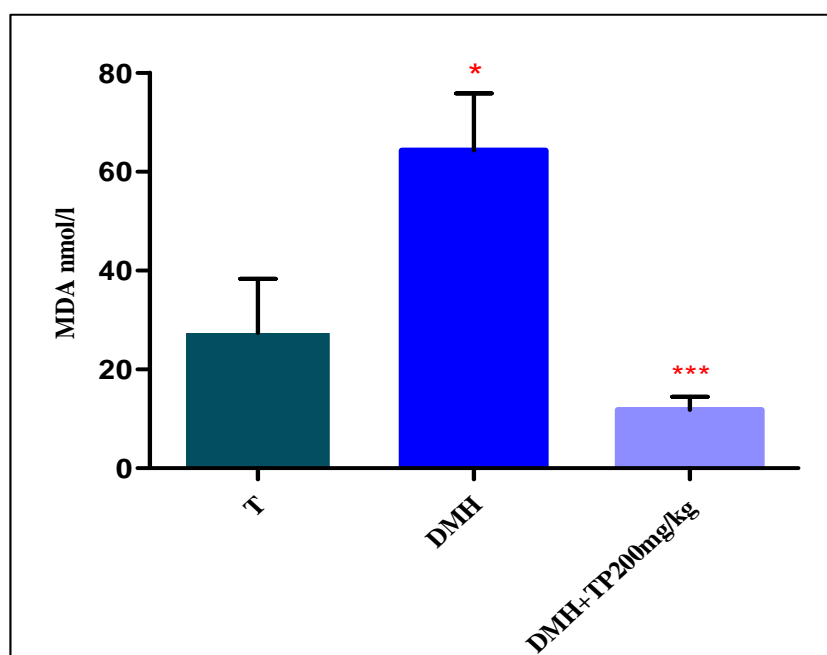


Figure 24 : Effet du traitement sur le taux de MDA chez les rats témoins et traités (Dans le colon)

*** ($P < 0,001$) : Différence très hautement significative comparant au lot DMH

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

b) Dans le foie

Dans notre travail on observe une augmentation significative ($P < 0,05$) du taux de MDA chez le groupe traité par le DMH comparant au groupe témoin, tandis que la supplémentation en extrait aqueux (**200mg/kg**) a diminué significativement ($P \leq 0,05$)

Ce taux. De plus, aucun changement significatif n'a été signalé pour le groupe (DMH+TP 100mg/kg)(figure 25).

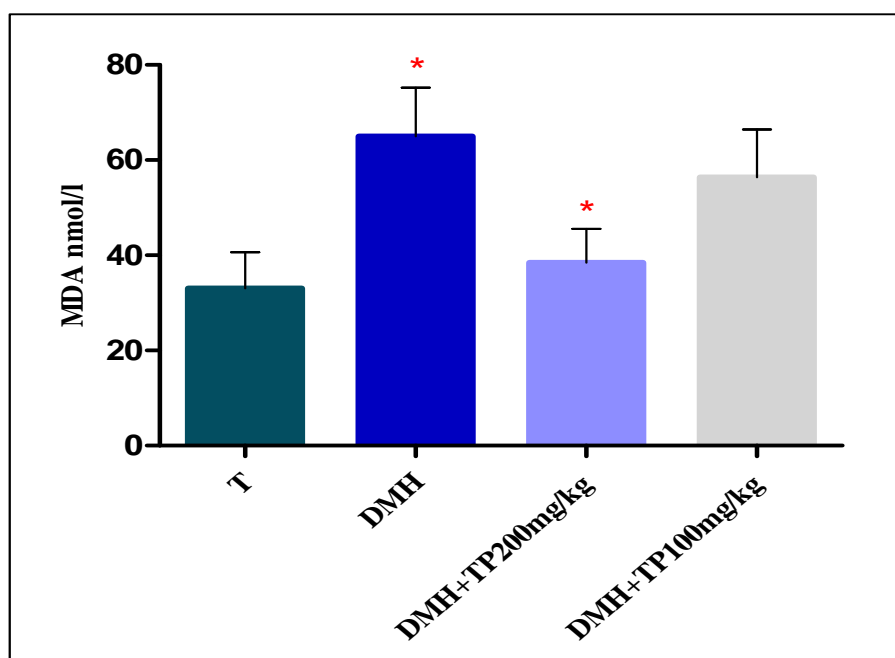


Figure 25 : variation du taux de MDA chez les rats témoins et traités par le DMH et/ou l'extrait (Dans le foie)

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au lot DMH.

5.2. Glutathion réduit (GSH)

a) Dans le colon

Le traitement des rats par le carcinogène, à une dose de 35mg/kg de poids corporel pendant 8 semaines, entraîne une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) de la teneur cellulaire en glutathion dans le colon par rapport aux témoins.

En revanche, chez les rats traités par la combinaison (**DMH+TP 200mg/kg**) on enregistre une élévation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la GSH en comparaison avec les groupes témoin et DMH (**figure 26**).

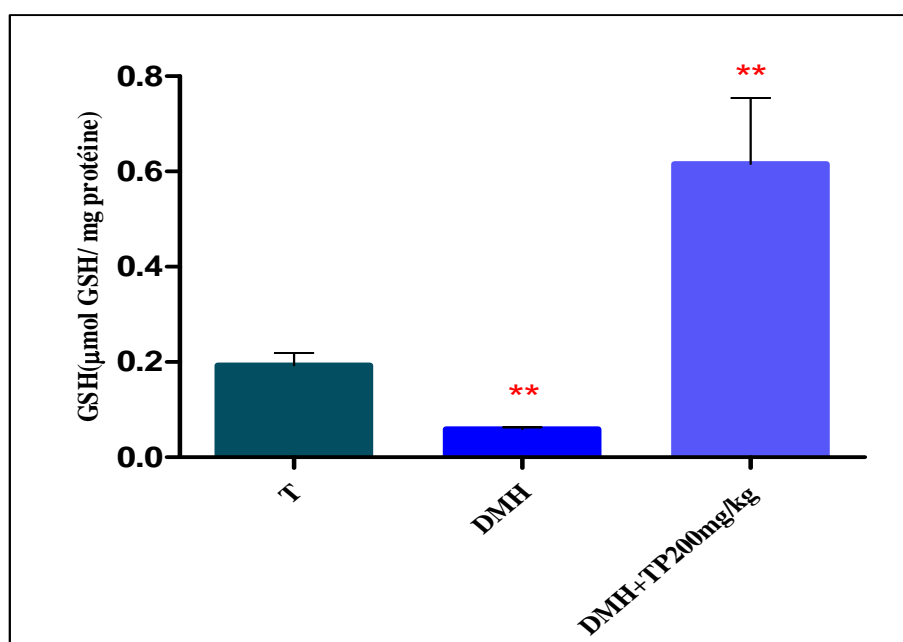


Figure 26 : Variations de la teneur en glutathion colique chez les rats témoins et traités (Dans le colon).

** ($P < 0,01$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au DMH.

b) Dans le foie

D'après les résultats obtenus (**figure 27**), on observe une baisse très hautement significative ($P < 0,001$) du taux de GSH hépatique chez les rats traités par le DMH comparant aux rats témoins. Parallèlement, le traitement par la combinaison (DMH+TP 200mg/kg) entraîne un rétablissement par une augmentation significative

($P < 0,05$) des taux en GSH à la normale. De plus, aucune différence significative n'est observée pour la dose 100mg/kg.

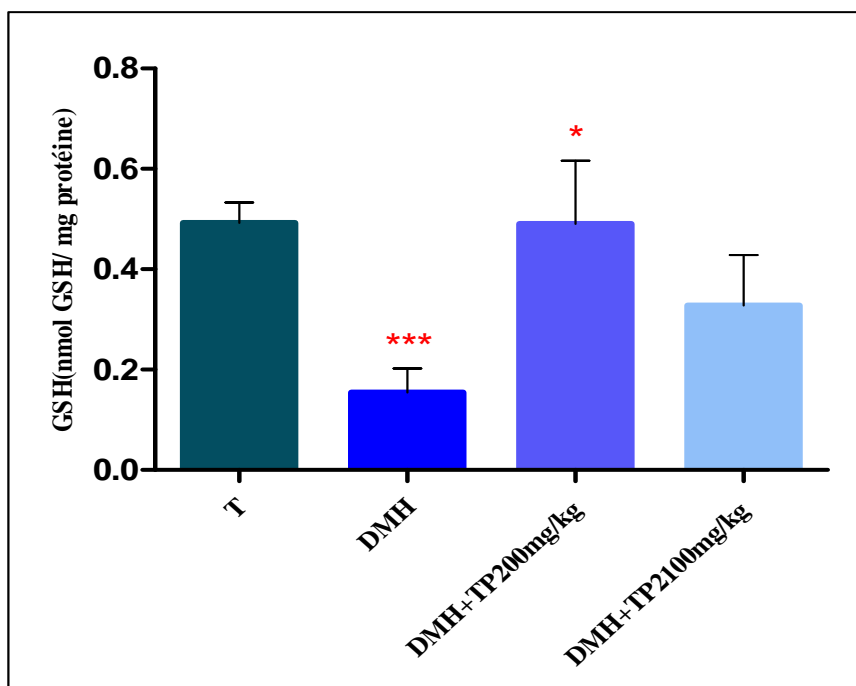


Figure 27 : Variation de la teneur en glutathion colique chez les rats témoins et traités (Dans le foie).

*** ($P < 0,001$) : Différence très hautement significative comparant au lot témoin

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au lot DMH

5.3 Activité de la catalase

a) Dans le colon

Le traitement des rats par le DMH provoque une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la catalase dans le colon comparant au groupe témoin. Par contre, on enregistre une amélioration par augmentation significative ($P \leq 0.05$) de l'activité enzymatique sous l'effet de la dose 200mg/kg de l'extrait aqueux de *Teucrium polium* (figure 28).

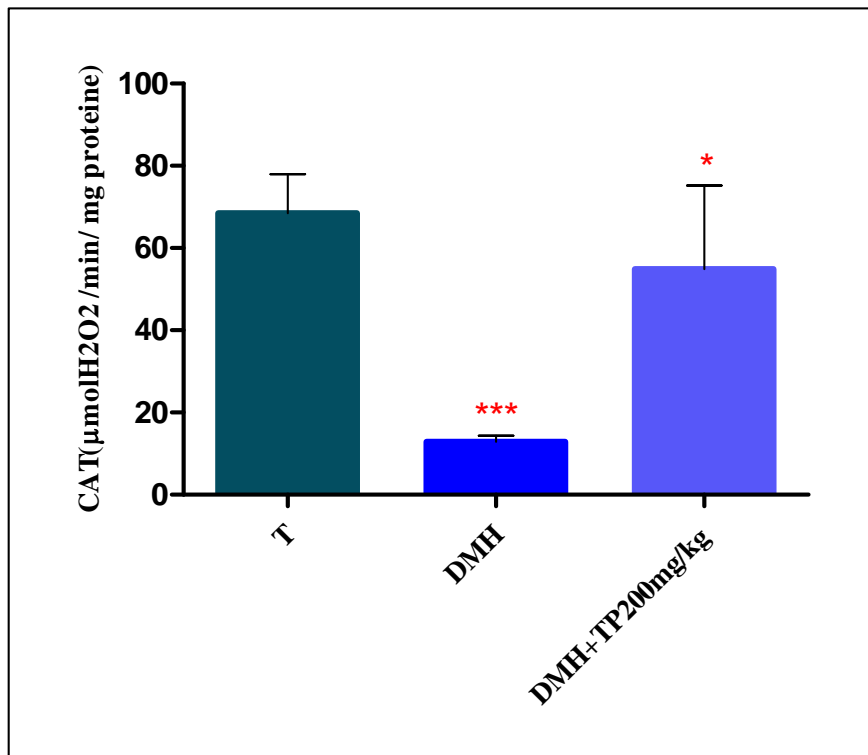


Figure 28 : Activité enzymatique de la catalase dans le colon des rats témoins et traités par le DMH seul ou DMH+ l'extrait de *Teucrium polium* (Dans le colon)

*** (P < 0,001) : Différence très hautement significative comparant au lot témoin

* (P < 0,05) : Différence significative comparant au lot DMH

b) Dans le foie

D'après la figure on constate que le traitement des rats par le DMH provoque une diminution significative ($P \leq 0,05$) de l'activité enzymatique de la catalase. En revanche, on n'enregistre aucune différence significative de l'activité de la catalase chez les rats traités par le carcinogène et les deux doses de l'extrait de la plante (**figure 29**).

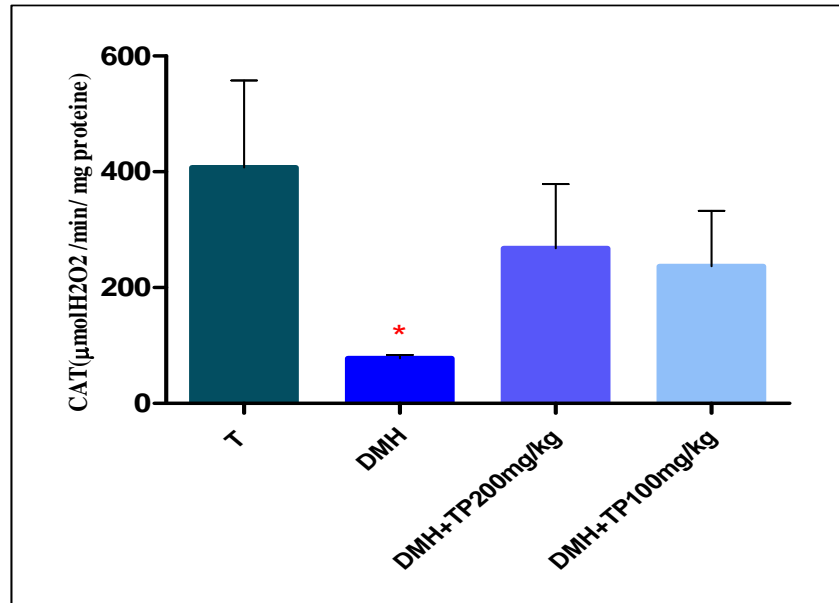


Figure29: Activité enzymatique de la catalase dans le foie des rats témoins et traités par le DMH seul ou DMH+ l'extrait de *Teucrium polium* (Dans le foie)

* (P < 0,05) : Différence significative comparant au lot témoin.

Discussion

Discussion

L'épithélium colique se renouvelle constamment selon un équilibre régulé entre prolifération et différenciation cellulaire. Cependant, des défauts dans la régulation de ces mécanismes conduisent à l'accumulation d'anomalies pouvant aboutir à un CCR.

Du tissu sain au carcinome, on décrit des lésions de différents stades. Il y a d'abord formation de lésions pré-néoplasiques, puis de polypes et d'adénomes pouvant évoluer en adénocarcinomes et métastaser.

Ces lésions pré-néoplasiques constituent la première anomalie décelable. Les lésions les plus étudiées sont les foyers de cryptes aberrantes (FCA) (Suzui *et al.*, 2013).

L'utilisation de *T. polium* pour le traitement des douleurs abdominales, l'indigestion, le rhume, le diabète et les maladies urogénitales, en médecine traditionnelle est connue depuis 2000 ans (Said *et al.*, 2002); (Rajabalian, 2008); (Bahramikia et Yazdanparast, 2012).

Les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration de DMH comme agent carcinogène, fait diminuer la croissance corporelle par rapport à celle des témoins, cette réduction du gain de poids corporel pourrait être due à la présence de lésions précancéreuses témoignant l'existence d'une inflammation dans la muqueuse colique. De plus, Il a été rapporté que le cancer du côlon est souvent associé à une perte de poids, une diminution de l'appétit, et du sang dans les selles (Malik et Kamath., 2011).

En effet, la perte de poids observée dans le lot DMH+100mg/kg suggère que cette dose n'a pas améliorée la croissance des rats, parallèlement, la supplémentation à la dose 200mg/kg a pu maintenir la croissance des rats normale révèle l'effet bénéfique de cette dose contre la carcinogénèse colique induit par le DMH.

Dans la présente étude, notre extrait n'a pas pu supprimer l'induction des foyers de cryptes aberrantes chez les rats traités par le DMH. Tous les rats traités par le carcinogène développent des foyers de cryptes aberrants (FCA) après 8 semaines de traitement. Par contre, le gavage des rats avec les doses (200mg/kg et 100mg/kg) de l'extrait aqueux a réduit significativement le nombre totale des FCA, ainsi que le

nombre de cryptes par FCA (ou la multiplicité), cette dernière apparaît clairement dans la diminution hautement significative des foyers à deux cryptes. Ces observations suggèrent que notre extrait aqueux possède une activité anticancéreuse.

Au cours de ce travail, nous avons constaté que la majorité des FCA se localisent dans le côlon moyen par rapport au côlon proximal et au côlon distal chez les rats traités par le DMH, en revanche, aucun changement significatif n'a été enregistré chez les rats supplémentés à l'extrait aqueux de la plante *Teucrium polium*. Cette interprétation est renforcée par des résultats obtenus par (Emilia Juan *et al.*, 2019), qui ont démontrés que le nombre des FCA est le plus élevé dans le colon moyen et le colon distal, et que les FCA sont absent dans le colon proximal. De même, d'autres chercheurs sont rapportés les mêmes résultats, chez des rats traités par le DMH et qui sont suggérés que les FCA sont présents tout au long du colon, principalement aux segments moyens et distaux (Bird et Good, 2000) ; (Raju,2008) ; (Perše et Cerar,2011).

Dans notre étude, l'absence de différence de distribution des foyers entre les trois segments chez les rats supplémentés à l'extrait aqueux de *Teucrium polium*, pourrait probablement être due à son activité antiproliférative, en atténuant le nombre et la multiplicité des FCA par rapport au groupe DMH.

En effet, plusieurs études ont montré que les extraits de plantes peuvent exercer des effets significatifs en diminuant l'incidence des ACF dans le colon et ont la capacité de contrôler les cellules cancéreuses *in vivo* et *in vitro* (Sriram *et al.*, 2008).

les espèces *Teucrium* sont considérées comme une source potentielle de diterpénoïdes, flavonoïdes, phénols, iridoïdes, stérols et terpénoïdes (Eskandary *et al.*, 2007; Rajabalian, 2008);(Bahramikia et Yazdanparast, 2012).

Les diterpénoïdes et les flavonoïdes sont généralement responsables des propriétés anticancéreuses des extraits de *Teucrium*. De plus, les flavonoïdes sont considérés comme des puissants inducteurs de l'apoptose (Haidara *et al.*, 2011). En parallèle, il est bien établi que les flavonoïdes ont des propriétés anticancéreuses et ils peuvent induire l'apoptose via p53 et d'autres régulateurs de l'apoptose cellulaire (Lin *et al.*.,2008).

Parallèlement, les flavonoïdes sont présents dans la plante TP (**Rizk et al.,1986**), en effet, (**Haïdara et al., 2011**) pensent que la mort cellulaire induite par l'extrait de TP pourrait être liée à l'activation de p53 ainsi qu'à d'autres régulateurs de la mort cellulaire et de l'apoptose. .

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) et la capacité des antioxydants à piéger les composés cytotoxiques (**Liu et al.,2017**). Par ailleurs, le foie joue un rôle primordial dans l'activation de DMH, ce qui entraîne un excès de production de ROS. En outre, l'augmentation du stress oxydatif dans le foie peut également refléter des changements dans la barrière intestinale (**Brenner et al.,2015**).

Plus précisément en termes de développement du CCR, l'inflammation chronique du côlon, ou les facteurs de stress environnementaux conduisent à un état de stress oxydatif qui devrait être réduit dans le stade précancéreux comme stratégie de thérapie anticancéreuse (**Takaki et al.,2019**) .

Nos résultats montrent que les concentrations du MDA hépatique et colique sont augmentées suite à l'administration du carcinogène. Cette augmentation témoigne l'installation d'un puissant stress oxydant qui conduit à des lésions tissulaires et une défaillance des mécanismes de défense antioxydante. Le MDA est considéré comme un marqueur de la peroxydation des lipides. Il peut pénétrer dans la bicouche lipidique membranaire, conduisant à l'endommagement ou à la perte de fonction de la membrane par durcissement. Ce durcissement réduit la fluidité et augmente la perméabilité de la membrane plasmique, induisant ainsi le gonflement et la nécrose cellulaire (**Su et al., 2016**). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (**Venkatachalam et al., 2010**) qui ont également rapportés que le traitement par le DMH augmente les niveaux de MDA chez les rats.

Notre étude montre que le taux de MDA hépatique et colique a diminué de façon significative par l'administration de l'extrait de *T.polium*. Les résultats suggèrent également que, la dose (**200mg/kg**) de l'extrait aqueux exerce un effet plus prononcé dans le colon que celui dans le foie. Ces résultats prouvent que notre extrait peut protéger le foie et le colon contre les endommagements induits par le DMH. Cette protection serait due probablement à l'inhibition de la peroxydation lipidique et

l'inhibition des réactions d'oxydation. En effet, des recherches in vitro ont montré que *T. polium* possède une activité antioxydante et une activité de piégeage des radicaux libres (Shahidi,1997) ;(Kadifkova Panovska et al., 2005).

Dans plusieurs études, l'effet de *T. polium* sur l'oxydation au niveau de divers tissus a été étudié et les effets inhibiteurs de l'extrait de la plante contre la peroxydation, a été prouvé. À cet égard, l'extrait méthanolique de **T. polium** protège les globules rouges contre la peroxydation lipidique induite par le peroxyde d'hydrogène (Suboh,2004).

L'élimination des radicaux libres dans les systèmes biologiques est assurée par des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, qui agissent comme des systèmes de défense majeurs contre les radicaux libres (Nandhakumar et al., 2012). Dans la présente étude, le niveau de GSH a été significativement réduit dans le côlon et le foie des rats traités avec le DMH en comparaison avec les rats non traités. De même (Hamiza et al.,2012) et Ahmad et Sultana (Ahmad et Sultana, 2012) ont rapportés les mêmes résultats. Cependant, le traitement des rats par l'extrait de *Teucrium polium* a restauré les niveaux de la GSH à la normale.

La déplétion de GSH dans le colon et du foie est expliqué par le fait que le DMH génère des radicaux libres qui sont piégés par le GSH et d'autres antioxydants enzymatiques comme la superoxyde dismutase et la catalase (Sengottuvelan et al., 2006).En conséquence, dans la présente étude, l'activité catalase est diminuée dans le tissu hépatique et colique des rats traités avec le DMH, le traitement avec l'extrait de *Teucrium polium* restaure l'activité de cette enzyme antioxydante.

Conclusion

Conclusion générale et perspectives

En conclusion, nos résultats montrent dans un premier temps que l'administration de DMH à 35mg/kg de poids corporel à raison d'une injection intrapéritonéale par semaine pendant 10 semaines a provoqué chez les rats :

- L'apparition des lésions précancéreuses au niveau de la muqueuse colique témoignant l'initiation de la cancérogénèse colique ;
- Un état de stress oxydatif caractérisé essentiellement par une augmentation du taux tissulaire de MDA, diminution de l'activité enzymatique de la CAT avec un effondrement du taux de glutathion dans les organes étudiés (colon et foie).

Dans un second temps, nos résultats montrent clairement que la supplémentation en extrait aqueux a engendrée :

- ✓ Une diminution du nombre des FCA, et la multiplicité des foyers à 2 cryptes ;
- ✓ Une baisse de la peroxydation lipidique dans le colon et le foie par la dose 200mg/kg, engendrant une protection contre les lésions des membranes cellulaires ;
- ✓ Une amélioration du statut antioxydant telles que la GSH au niveau hépatique et colique, et la catalase colique sous l'effet de la dose 200mg/kg .Par contre, la dose 100mg/kg n'a eu aucun effet antioxydant, par ailleurs elle a affecté la croissance corporelle des rats traités.

Il ressort que la plante exerce une activité antioxydante et protectrice contre la progression du cancer colique induit par DMH.

Il serait intéressant à l'avenir de :

- Tester l'effet curatif de différents fractions de la plante après le traitement par le carcinogène ;
- Prolonger la durée du traitement ;
- Tester l'activité antiinflammatoire de la plante par le dosage de certaines cytokines inflammatoires.

Références

Bibliographiques

Références

- **Aebi H.(1984).** Catalase in vitro. *Method Enzymol*, 105, 121-126.
- **Afrin, S., Giampieri, F., Gasparrini, M. (2016).** Chemopreventive and Therapeutic Effects of Edible Berries: A Focus on Colon Cancer Prevention and Treatment. *Molecules*, 21(2), 169.
- **Ahmad,S., Sultana,S .(2012).** Tannic acid mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Human & experimental toxicology*.**31**, 145-56.
- **Ameenah, G. F. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1-93.
- **Anca,A ., Frei ,A., Ali-El-Wafa, A., Kessler-Brondolo, V., Dorta, G.(2008).** Dépistage du cancer colorectal : surveillance après résection de polypes coliques ou d'un cancer colorectal. *Revue Médicale Suisse*. 224-229.
- **Andrisic, L., Dudzik, D., Barbas ,C., Milkovic, L., Grune ,T., Zarkovic, N. (2018).** Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. *Redox Biol* . 14:1.
- **Aparicio T.(2007).** Carcinogénese colique, données fondamentales. *Gastro-entérologie* ;1-13
- **Ardestani ., Yazdanparast,R. (2007).** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro. protein glycoxydation *Food and Chemical Toxicology*. 45 (12), 2402-2411.
- **Autore,G., Capasso,F., De Fusco,R., Fasulo,M.P., Lembo, M., Mascolo,N., Menghini,A. (1984).** Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.) *Pharmacol Res. Commun*. 1: 16p.
- **Bahramikia,S., Yazdanparast,R (2012).** Phytochemistry and medicinal properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytother Res* 26:1581-1593.
- **Bansal, M., Singh, N., Pal, S., Dev, I., Ansari, K. M. (2018).** Chemopreventive Role of Dietary Phytochemicals in Colorectal Cancer. In *Advances in Molecular Toxicology* (Vol. 12, pp. 69-121). Elsevier.
- **Ben Abdelghani, K., Chekili, S., Hajri,R., Laater,A., Zakraoui,L.(2008).** Colorectal cancer screening with colonoscopy. *In press* ,23: 837 - 840.
- **Bezić,N., Vuko,E., Dunkić,V., Ruščić,M., Blažević,I., Burčul,F.(2011).** Antiphytoviral Activity of Sesquiterpene-Rich Essential Oils from Four Croatian *Teucrium* Species. *Journal of molecules*. 16: 8119-8129.

Références

- **Binefa,G., Rodríguez-Moranta, F., Teule, À., Medina-Hayas, M.(2014).** Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine.WGJ, 20:6786-6808.
- **Bird R.P.(1987).** Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen : preliminary findings. *Cancer letter.* **37:** 147-151.
- **Bird, R.P., Good, C.K.(2000).** The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Toxicol. Lett.* 112–113, 395–402.
- **Boullard B. (2003).** Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Paris. pp. 1092-1107.
- **Bouedjar, A., Smaili,F.(2012).**GROS PLAN sur le cancer colorectal. *Santé – Mag ; 3 ;28*
- **Bouzid K. (2013).** Cancer des chiffres record pour l’Algérie. *Santé-MAG; 15 ;37.*
- **Brenner, D.A.,Paik, Y.H., Schnabl, B.(2015).** Role of Gut Microbiota in Liver Disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 49, S25–S27.
- **Butterfield, D. A., Halliwell, B.(2019).** Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience,* 20(3), 148-160.
- **Cavenee, W ., White, R. (1995).** Anomalies génétiques et cancers. *Pour la Science.* 211:60-68.
- **Céréales K et al.(2008).** Tumeur de l'appareil digestif: Maladie du côlon et du rectum.Wikimidia Foundation (Etats-Unis). 501© (3).
- **Cheng, L., Lai.(2003).** MD Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer *World J. Gastroenterol.* 9 (12): 2642-2649 .
- **Christel Rolling A .(2010).**Les traitements du cancer du côlon,Paris .10 .13.15 ;16 p
- **Christodoulakis,N.S., Kogia,D., Mavroeiidi,D., Fasseas,C. (2010).** Anatomical and histochemical investigation of the leaf of *Teucrium polium*. a pharmaceutical sub-shrub of the Geek phryganic formations.*J. Biol. Res. Thessalon.* 14:199-209.

Références

- **Darapbour,E., Motamedi,H., Mansour,S., Nejad,S.(2010).** Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Medicine.* 124-127.
- **Diallo,D., Sanogo R., Yasambou,H., Traore,A., Coulibaly,K., Maiza,A.(2004).**Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali, *C.R.Chimie*, 7:1073-1080. 6.
- **Domart, A., Bourneuf J.(1976).**Petit Larousse de médecin .Ed. Larousse, Italie.
- **Eskandry H, Rajabalian S, Yazdi T, Eskandari M, Fatehi K, Ganjooei N.A (2007).** Evaluation of cytotoxic effects of *Teucrium polium* on a new glioblastoma cell line (REYF-1)using MTT and soft agar clonogenic assays. *Int J Pharmacol* 3:435-437.
- **Esmaeili,AM., Yazdanparast,R.(2004).** Hypoglycaemic effects of *Teucrium Polium*: studies with rat pancreatic islets. *J. Ethnopharmacol* , 95 : 27–30.
- **Faiver A.(2003).** le stress oxydatif : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et le potentiel thérapeutique. mécanisme biochimique. *L’actualité Chimique.*108-115.
- **Faivre ,J., Vicari, F., Gay ,G.(2001).**Epidémiologie et prévention du cancer colorectal. *Springer digest* : 287-297.
- **Ferron ,M., Praz, F., Pocard, M.(2005).** Génétique du cancer colorectal. *Annales de chirurgie*;130 :602-607.
- **Fournet J. (2003).**Les cancers colorectaux (148), *Corpus Médical– Faculté de Médecine de Grenoble.* p : 3.
- *Free Radic Biol Med.* 32, 790-796.
- **Ghasemi1,T., Keshavarz,M., Parviz,M. (2019).** Acute Hepatorenal Dose Dependent Toxicity of *Teucrium Polium* Hydro Alcoholic Extract in Rat.*Int J Pediatr*, 7. 10099.
- **Geboes, K., & Jouret, A. (1999).**Aspects macroscopiques et microscopiques des maladies inflammatoires coliques chroniques idiopathiques (MICI). *Acta endoscopica*, 29(3), 175-188.
- **Grady W.M .(2004).** Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev*23(1-2):11-27.

Références

- **Gulbake, A., Jain, A., Jain, A., Jain, A., Jain, S. K. (2016).** Insight to drug delivery aspects for colorectal cancer. *World journal of gastroenterology*, 22(2), 582–599.
- **Haïdara,K., Alachkar,A., Al Moustafa,A. (2011).** Teucrium polium plant extract provokes significant cell death in human lung cancer cells.*Health 3. No.6, 366-369.*
- **Halliwell ,B., Whiteman, M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 142, 31-2.
- **Hamiza,O.O., Rehman,M.U., Tahir,M., et al .(2012).**Amelioration of 1, 2 Dimethylhydrazine (DMH) induced colon oxidative stress, inflammation and tumor promotion response by tannic acid in Wistar rats. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13, 4393-402.
- **Harkati B. (2011).** Valorisation Et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: Scorzonera Undulata.Doctorat En Sciences Université Mentouri-Constantine.
- **Hasani,P., Yasa,N., Vosough-Ghanbari,S., Mohammadirad. A., Dehghan ,G.,Abdollahi,M. (2007).** In vivo antioxidant potential of Teucrium polium, as compared to a-tocopherol. *Acta Pharm*, 57: 123–129.
- **Hirayama T.(1981).**A large - scale cohort study on the relationship between diet and selected cancer of the digestives organs en: gastrointestinal cancer, endogenous factors, New York, banbury report7 cold spring habor laboratory ; 409-429.
- **Hoerni B. (2001).**Cancérologie et hématologie. MASSON S.A,Paris. 144.
- **Intarajak, T., Udomchaiprasertkul, W., Bunyoo, C et al. (2019).**Genetic Aberration Analysis in Thai Colorectal Adenoma and Early-Stage Adenocarcinoma Patients by Whole-Exome Sequencing. *Cancers*, 11(7), 977
- **Jean-Guy PASSAGIA (2011/2012).** Anatomie de l'Abdomen. Université Joseph Fourier de Grenoble.32 p.
- **Junior, P.L., Câmara, D., Porcacchia, A.S ., Moreira Fonseca Doria Jorge, S., Pinheiro Araldi, R., Kleber Ferreira, A. (2017).** The Roles of ROS in Cancer Heterogeneity and Therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2467940.ces in colorectal cancer. *BMC cancer*. 11: 2.

Références

- **Kabouche, A ., Kabouche, Z., Ghannadi, A., Sajjadi ,S.E. (2007).** Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*.19: 44–46.
- **Kadifkova Panovska,T., Kulevanova,S., Stefova,M.(2005).** In vitro antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). *Acta Pharm.* 55:207–214.
- **Kamel,A., Sandra,P. (1994).** Gas Chromatography-Mass spectrometry analysis of the volatile oils of two *Teucrium polium* varieties. *Biochemical Systematic and Ecology*, 22(5): 529-532.
- **Karp G.(1998) .** Biologie cellulaire et moléculaire.Ed. De Boeck université, Belgique. 773 p.
- **Kawashty,S.A.,Gamal El-Din ,E.M., Saleh, NAM. (1997).**The favonoid chemosystematics of two *Teucrium* species from Southern Sinai. Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*. 27: 657-660.
- **Kbsroui H. (1998) .** Cancer du côlon .Résidence de médecine interne 5ème année, 12p.
- **Kim, J. H., Nam, K. S., Kwon, H. J., Choi, Y. J., Jung, K., Kim, S. E., Park, S. J. (2017).**Assessment of colon polyp morphology: Is education effective. *World journal of gastroenterology*,23(34), 6281.
- **Kolligs F.(2016).** Diagnostics and epidemiology of colorectal cancer.*Visc Med*;32:158-164.
- **Lagnika L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse Doctorat en Sciences. Université Louis Pasteur. Strasbourg.247 p.
- **Levine RL. (2002).** Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease.
- **Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H.M. (2008).** Luteo-lin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Current Cancer Drug Targets*, **8**, 634-646.
- **Liu, H., Liu, X., Zhang, C.,Zhu, H., Xu, Q., Bu, Y., Lei, Y.(2017).**Redox imbalance in the development of colorectal cancer. *J. Cancer* . 8, 1586.

Références

- **Mac Laren D. (2007).** Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.
- **MacArtain, P., Gill, C. I. R., Brooks M., Campbell R., Rowland, I.R. (2007).**Nutritional Value of EdibleSeaweeds .Nutrition Reviews.65: 535–543.
- **Malik, R., Kamath, N .(2011).** Anorectal mucinous adenocarcinoma in child: a case report. Eur J Pediatr, 170, 1461-3.
- **Maqbool A. (2013).**Structure and disorders encyclopedias of human1 :378-396
- **Marcotte, J ., QUIMET,R. (2013).** Le cancer. Lettes en main, 2éme Ed, Québec, 6-7.
- **Margetis,N., Kouloukoussa, M., Pavlou, K., Vrakas,S., Mariolis-Sapsakos,T. K.(2017).**ras mutations as the earliest driving force in a subset of colorectal carcinomas. In vivo;31:527-542.
- **Marieb E.N. (2008)** .le système digestif et le métabolisme. Principe d'anatomie et de physiologie. Ed du Renouveau Pédagogique Inc :495-435.
- **Mesange Paul. (2014).** Influence d'inhibiteurs tyrosine kinase sur la biologie et la survie de cellules de cancer colorectal. Thèse de doctorat : Pharmacologie. Paris : Université Paris Descartes, 148p.
- **Montagnier ,L., Olivier, R., Pasquier, C.(1998).**oxydative stress in cancer.AIDS ,and neurodegenerative diseases .Free Rad .Biol.Med .33(5):575-586.
- **Morin Y.(2003)** . Petit Larousse de la médecine .Ed. Larousse, France, 1087 p.
- **Nandhakumar,R., Salini,K., Devaraj,S.N. (2012).**Morin augments anticarcinogenic and antiproliferative efficacy against 7, 12-dimethylbenz (a)-anthracene induced experimental mammary carcinogenesis. Molecular and Cellular Biochemistry, **364**, 79-92.
- **Oguer M. (2018).** Résultats oncologiques de la prise en charge des cancers colorectaux chez les patients âgés dans le Finistère
- **Perše, M., Cerar, A.(2011).**Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. J. Biomed. Biotechnol. 473964–473978.

Références

- **Pfotzer A. (2013).** Education thérapeutique autour du xeloda® dans le cadre du cancer colorectal métastatique et mise en place d'un fichier de suivi personnalisé informatisé mutualisé. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Thèse pour le diplôme d'état De Docteur En Pharmacie. Université Toulouse III-Paul Sabatier ;121p.
- **Rajabalian S (2008).** Methanolic extract of *Teucrium polium* L. potentiates the cytotoxic and apoptotic effects of anticancer drugs of vincristine, vinblastine and doxorubicin against a panel of cancerous cell lines. *ExpOncol*; 30(2): 133-138.
- **Rajabalian S .(2008).** Methanolic extract of *Teucrium polium* L. potentiates the cytotoxic and apoptotic effects of anticancer drugs of vincristine, vinblastine and doxorubicin against a panel of cancerous cell lines. *Exp Oncol* 30:133-138.
- **Raju J.(2008).** Azoxymethane-induced rat aberrant crypt foci: relevance in studying chemoprevention of colon cancer. *World J. Gastroenterol.* 21, 6632–6635.
- **Rasekh,H.R., Yazdanpanah,H., Hosseinzadeh,L., Bazmohammadi,N., Kamalinejad. (2005):** M. Acute and subchronic toxicity of *Teucrium polium* total extract in rats .*Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 4: 245-249 p.
- **Rasekh,H.R.,khoshnood-Mansourkhani,MJ.,Kamalinejad,M.(2001).** Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia* 72, 937-939.
- **Ricci,D., Fraternal,D., Giamperi,L., Bucchini,A., Epifano,F., Burini,G., Curini,M.(2005).** Chemical composition. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology.*98: 195-200.
- **Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Rimpler, H., Kamel, A. (1986).** Iridoids and flavonoids of *Teucrium polium* herb1. *Planta Medica*, **52**, 87-88.
- **Roncucc, L., Mariani, F. (2015).** Prévention du cancer colorectal: combien avons-nous d'outils dans notre panier. *Revue européenne de médecine interne.* 26 (10), 752-756.
- **Schäffler, A., Menche, N.(2004).** Système digestif, nutrition et métabolisme. *Anatomie Physiologie.* Ed Maloine ,18:322-361.

Références

- **Sedkaoui C. (2015).**Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou. Faculté de Médecine ; 203.
- **Sengottuvelan,M., Senthilkumar,R., Nalini,N.(2006).** Modulatory influence of dietary resveratrol during different phases of 1, 2-dimethylhydrazine induced mucosal
- lipid-peroxidation, antioxidant status and aberrant crypt foci development in rat colon carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.*1760, 1175-83.
- **Shahidi,F.(1997).** Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications: The American Oil Chemists Society; Illinois, USA.
- **Shaikha,S., Al-Qahdi et al (2018).**Teucrium polium plant extract provokes substantial cytotoxicity at the early stage of embryonic development. *BJBMS.* 4. PP 67.
- **Sherwood L., (2000).** Physiologie humaine .Ed. De Boeck Université, Paris, 674 p.
- **Short, E., & Sampson, J. (2019).** The role of inherited genetic variants in colorectal polyposis syndromes. *Advances in genetics,* 103, 183-217.
- **Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies,* 327, 649-662.
- **Sriram, N., kalayarasan, S., Ashokkumar, P., Sureshkumar, A., Sudhandiran, G.(2008).** Diallyl sulfide induces apoptosis in colon 320 DM human colon cancer cells: involvement of caspase-3, NF-kB, and ERK-2. *Mol Cell Biochem.* **311:** 157-65.
- **Stella,S., Predrag,L., Arieh,B.(2010).** The Effect of an Aqueous Extract of Teucrium polium on Glutathione Homeostasis In Vitro: A Possible Mechanism of Its Hepatoprotectant Action. *Advances in Pharmacological Sciences.*10:1-7.
- **Su,JJ., Wang,X.Q., Song,W.J., Bai,X.L., Li,C.W.(2016).**Reducing oxidative stress and hepatoprotective effect of the water extracts from Pu-erh tea on rats fed with high-fat diet. *Food Sci Human Wellness,* **5,** 199-206.
- **Suboh,S., Bilito,Y., Aburjai,T.(2004).** Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res.* 18:280-284.

Références

- **Sur, D., Colceriu, M., Sur, G., Floca, E., Dascal, L., Irimie, A. (2019).** Cancer colorectal: évolution des stratégies de dépistage. *Clujul Medical*. 92(1), 21-24.
- **Suzui, M., Morika, T., Yoshimi, N. (2013).** Colon preneoplastic lesions in animal models. *J Toxicol Pathol* 26(4):335-41.
- **Takaki, A., Kawano, S., Uchida, D., Takahara, M., Hiraoka, S., Okada, H. (2019).** Paradoxical Roles of Oxidative Stress Response in the Digestive System before and after Carcinogenesis. *Cancers* .11, 213.
- **Teixeira, J. P., de Castro, A. A., Soares, F. V., da Cunha, E., Ramalho, T. C. (2019).** Future Therapeutic Perspectives into the Alzheimer's Disease Targeting the Oxidative Stress Hypothesis. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 24(23), 4410.
- **Tortora, G.J., Grabowski, S.R. (2002).** Principe d'anatomie et de physiologie. Ed. De Boeck Université, Canada, 1121p
- **Valco, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chimico-biological interaction* .160:1-40
- **Venkatachalam, K.K., Sreedharan, V., Namasivayam, N. (2010).** Inhibitory effect of morin on DMH-induced biochemical changes and aberrant crypt foci formation in experimental colon carcinogenesis. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29:50–57
- **Verret J. M. (2014).** Apport d'un capteur endoluminal pour l'observation de la paroi colorectale par imagerie et spectrométrie de résonance magnétique (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard Lyon 1).
- **Victor, V.M., Rocha, M., Banuls, C., Sanchez-Serrano, M., Sola, E., Hernandez-Mijares, A. (2009).** Mitochondrial complex I impairment in leukocytes from PCOS patients with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 94: 3505-3512.
- **Viguié J. (2008).** Mise en place du dépistage du cancer colorectal en France : état d'avancement et perspectives. *Hépatogastro*, 15:8-13.

Abstract

This study was carried out to evaluate the efficacy of aqueous extract of the plant *Teucrium polium* on the number of aberrant crypt foci (ACF) which are pre-cancerous lesions on the colonic mucosa, and on the oxidant status (MDA, GSH and catalase) in an animal model with chemically induced pre-neoplastic lesions by (DMH).

For that, 24 female Albino Wistar rats, were divided into 4 groups, the first serving as control, received an intraperitoneal injection of NaCl (0,9%), the groups (2, 3, and 4) received the carcinogen (DMH) by intraperitoneal injection once a week for 4 weeks at a dose of 35mg/kg, the groups (3 and 4) received the aqueous extract at a dose of (200mg/kg and 100mg/kg) respectively, administered orally one week before the DMH, daily for 8weeks. The results obtained showed that injection of DMH caused:

- The appearance of precancerous lesions in the colonic mucosa reflects the initiation of colonic carcinogenesis.
- A state of oxidative stress characterized essentially by an increase in lipid peroxydation (MDA), a decrease in enzymatic activity of CAT with a depletion of glutathione level in colon and liver. Our results clearly show that treatment with aqueous extract lead to:
 - A decrease in the number of aberrant crypts foci (ACF), and the multiplicity of 2 crypts ;
 - A reduction in lipid peroxidation (MDA) in colon and liver under 200mg/kg which protect cell membranes from lesions ;
 - An amelioration of the activities of the antioxidant enzymes GSH in the liver and colon, and colonic CAT under dose of the 200mg/kg;

On the other hand, there was no effect of the 100mg/kg dose on the antioxidant status, however it has an effect on body growth of treated rats.

This suggests that *Teucrium polium* may act as an effective chemopreventive agent against DMH-induced colon cancer.

Key words: *Teucrium polium*, 1,2 Dimethylhydrazine (DMH), FCA, Colon cancer, MDA, GSH, CAT.

المُلخَص

تم إجراء هذه الدراسة بهدف تقييم فعالية المستخلص المائي لنبات *Teucrium polium* على عدد بؤر الأقيبية المشوهة (FCA) أو ما يسمى بجروح ما قبل الأورام في غشاء القولون و على الحالة المؤكسدة (أكسدة الليبيدات MDA و أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة GSH , CAT) و ذلك على فئران في حالة جروح ما قبل الأورام مستحدثة كيميائياً بحقن مادة مسرطنة ميثيل ثنائي 2 ; 1 او (DMH) هيدرازين.

لهذا الغرض ، تم تقسيم 24 أنثى من جردان Albinos Wistar إلى 4 مجموعات مجموعة الشاهدة. تلقت حقنة داخل الصفاق من الماء الفيزيولوجي، المجموعات (2, 3 و 4) تم حقنها بمادة مسرطنة (DMH) داخل الصفاق مرة واحدة في الأسبوع لمدة 4 أسابيع بجرعة (35 مغ / كغ)، أما المجموعات (3 و 4) تمت معالجتها بالمستخلص النباتي المائي بجرعتين على التوالي (200 مغ / كغ) و (100 مغ / كغ) يوميا لمدة 8 أسابيع و ذلك قبل أسبوع واحد من حقن DMH .

النتائج المتحصل عليها أظهرت أن حقن المادة المسرطنة أدى إلى :

- ظهور جروح ما قبل الأورام في الغشاء المخاطي للقولون مما يدل على بداية التسرطن القولوني.
 - حالة من الإجهاد التأكسدي تميزت بشكل أساسي بزيادة أكسدة الليبيدات في الأنسجة (MDA) ، وانخفاض النشاط الأنزيمي لـ (CAT) مع انهيار مستوى الجلوتاثيون GSH في القولون والكبد. كما أظهرت نتائجنا أن المعالجة بالمستخلص النباتي المائي أدى إلى :
 - انخفاض في عدد البؤر الأقيبية المشوهة FCA، وتضاعف البؤر ب 2 أقيبية.
 - انخفاض في أكسدة الدهون في القولون والكبد تحت تأثير جرعة 200 مغ/كغ ، مما يؤدي إلى حماية أغشية الخلايا من التشوهات.
 - تحسن في فعالية أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة مثل GSH على مستوى الكبد والقولون ، و CAT في القولون تحت تأثير جرعة (200 مغ / كغ). من جهة أخرى ، لم يكن (لجرعة 100 مغ / كغ) أي تأثير مضاد للأكسدة ، بينما أثرت على نمو الفئران المعالجة.
- يشير هذا إلى أن *Teucrium polium* تستطيع ان تؤدي دور معالج كيميائي فعال ضد سرطان القولون.
- الكلمات المفتاحية : 1،2 ، *Teucrium polium* ثنائي ميثيل هيدرازين FCA ، (DMH) ، سرطان القولون ، CAT ، GSH ، MDA.

Année universitaire : 2020/2021	Présenté par : <i>Amari Ghada / Zitouni Maroua</i>
Mémoire présente en vue de l'obtention du diplôme de Master en	
Immunologie Moléculaire et Cellulaire	
Intitulé : Etude de l'effet antitumoral et antioxydant de l'extrait aqueux de la plante <i>Teucrium polium</i> sur la formation des lésions précancéreuses (FCA) chez le rat.	
<p>Résumé</p>	
<p>Cette étude a été accomplie dans le but d'évaluer l'efficacité de l'extrait aqueux de la plante <i>Teucrium polium</i> sur le nombre des foyers de cryptes aberrantes (FCA) ou ce qu'on appelle lésions précancéreuses, au niveau de la muqueuse colique, et sur le statut oxydatif (MDA, GSH et catalase) chez un modèle animal présentant des lésions préneoplasiques induit chimiquement par le carcinogène (DMH).</p>	
<p>Pour cela, 24 rats femelles Albinos Wistar, ont été répartis en 4 lots, le premier servant de témoin, a reçu une injection intrapéritonéale de NaCl (0,9 %), les lots (2, 3, et 4) ont reçu le carcinogène (DMH) par injection intrapéritonéale 1 fois par semaine pendant 4 semaines à raison de 35mg/kg, les lots (3 et 4) ont reçu l'extrait aqueux à raison de (200mg/kg et 100mg/kg) respectivement, administré une semaine avant le DMH, par un gavage quotidien pendant 10 semaines. Les résultats obtenus ont montré que l'administration de DMH a provoqué :</p>	
<p>- L'apparition des lésions précancéreuses au niveau de la muqueuse colique témoignant l'initiation de la cancérogénèse colique, un état de stress oxydatif caractérisé essentiellement par une augmentation du taux tissulaire de MDA, diminution de l'activité enzymatique de la CAT avec un effondrement du taux de glutathion dans les organes étudiés (colon et foie). Nos résultats montrent clairement que le traitement par l'extrait aqueux a engendré :</p>	
<p>- Une diminution du nombre des FCA, et la multiplicité des foyers à 2 cryptes, une baisse de la peroxydation lipidique dans le colon et le foie par la dose 200mg/kg, engendrant une protection contre les lésions des membranes cellulaires, et une amélioration du statut antioxydant telles que la GSH au niveau hépatique et colique, et la catalase colique sous l'effet de la dose 200mg/kg. Par contre, la dose 100mg/kg n'a eu aucun effet antioxydant, par ailleurs elle a affecté la croissance corporelle des rats traités.</p>	
<p>Ceci suggère que <i>Teucrium polium</i> peut agir en tant qu'agent chémo-préventif efficace contre le cancer du colon induit par le DMH.</p>	
<p>Mots clés : <i>Teucrium polium</i> , 1,2 Diméthylhydrazine (DMH), FCA, Cancer du colon, MDA, GSH, CAT.</p>	
<p>Sous la direction de: Dr. RAHMOUNE Houria</p>	
<p>Jury d'évaluation</p>	
Présidente de jury :	Dr. <i>ARIBI</i> Boutheyna (MCB- UFM Constantine 1).
Rapporteur :	Dr. <i>RAHMOUNE</i> Houria (MAA- UFM Constantine 1).
Examinatrice :	Dr. <i>MECHATI</i> Chahinez (MAA- UFM Constantine 1).
<p>Date de soutenance : 23.09.2021.</p>	