



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم

**UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM**

**THESE DE DOCTORAT LMD 3<sup>ème</sup> Cycle (Doctorat LMD)**

**DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Alimentaires**

**Spécialité : Nutrition et pathologie**

**THEME**

## **Modulation nutritionnelle de l'inflammation intestinale par les pharmaconutriments**

Présentée par **Melle BOUHEND Abba**

Devant le jury :

Présidente :	Pr. M. Y. Boufadi	Univ	Mostaganem
Rapporteur :	Pr. S. Keddari	Univ	Mostaganem
Co-rapporteur :	Dr. I. Yahla	Univ	Mostaganem
Examinatrice :	Pr. M. Mokhtar	Univ	Mostaganem
Examinatrice :	Pr. H. Kaddouri	Univ	Oran
Examinatrice :	Pr. S. Meziani	Univ	Sidi Bel Abbés

**Année universitaire 2023-2024**

## *DEDICACE*

*Je dédie cette thèse à :*

*A ma mère, mon amour éternel,*

*A mon père, mon guide bien-aimé,*

*A ma sœur, mon inspiration précieuse,*

*A mes frères, mes complices chéris,*

*A mes collègues et à toutes les âmes bienveillantes qui m'ont tendu la main, Chacun de vous a été la lumière de mon chemin, le cœur de mon voyage. Votre soutien a fait de cette thèse une réalité. Merci pour tout.*

*Sans oublier la promotion de Nutrition et pathologie 2019/2020*

*Avec tout mon amour*

*BOUHEND ABLA*

## **REMERCIEMENTS**

Je souhaite débiter ces mots de gratitude en rendant chaleureusement un hommage à toutes les personnes dont le soutien constant et les précieuses contributions ont été des éléments déterminants dans la réussite de cette thèse. Ce travail représente le fruit de plusieurs années d'efforts, de dévouement, et de travail en équipe, et il est difficile d'exprimer pleinement ma reconnaissance envers tous ceux qui ont joué un rôle significatif dans cette aventure.

Je tiens à exprimer toute ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, **Pr. S. Keddari**. C'est avec une grande délicatesse que je souhaite la remercier pour l'ensemble de ses contributions exceptionnelles à mon parcours académique. Ses précieuses orientations, ses conseils judicieux, son expertise véritablement inestimable, et par-dessus tout, son dévouement rigoureux à la recherche scientifique, a été les piliers incontestables de mon cheminement vers la réalisation de cette thèse. Sa disponibilité et son soutien inconditionnel ont été bien plus que de simple encouragements. Ils ont été une source d'inspiration constante dans les moments de doute et de difficulté.

Je remercie grandement **Mme Yahla Imène**, maître de conférence à l'université de Mostaganem, pour son co-encadrement de cette thèse.

Je souhaite aussi exprimer ma profonde gratitude envers les membres du jury qui auront un rôle essentiel dans l'évaluation de ma thèse. Tout d'abord je tiens à remercier sincèrement :

**Mme Y. M. Boufadi**, professeur à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté la responsabilité honorifique de présider ma thèse.

Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à **Mme M. Mokhtar**, professeur à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté d'examiner attentivement cette thèse. Votre intérêt pour ce travail est inestimable, et je vous suis reconnaissante.

Je remercie **Mme H. Kaddouri**, Professeur à l'université Ahmed Ben Bella d'Oran, pour avoir accepté la tâche d'évaluer ce travail.

Enfin je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers **Mme S. Meziani**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbés pour son contribution à évaluer ce travail.

Je désire exprimer, mes vifs remerciements à Mr M. Tahri, biologiste au laboratoire d'anapathologie de centre hospitalier universitaire de Mostaganem, pour sa précieuse aide dans l'analyse histologique de mes échantillons.

Je souhaite exprimer ma gratitude particulière envers Mr M. Bououdina professeur à l'université Prince sultan pour l'aide précieuse qu'il m'a apporté.

Sans oublier Mr H. Hamoum pour son précieux soutien et l'attention qu'il m'a accordée.

Je souhaite remercier D. Hamed, K. Bentaiba et A. Tahlayti pour leur amitié, leur aide et leur encouragement.

Du fond du cœur, je remercie la famille Selam pour leur accueil chaleureux et leur soutien. Vous êtes une famille extraordinaire, et je suis contente de votre connaissance.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers tous ceux qui ont apporté leur soutien tout au long de mon parcours de recherche. Il m'est impossible de nommer chacun individuellement, mais que ce soit par discussions stimulantes, des conseils précieux, des encouragements, des ressources partagées, ou même simplement votre présence à mes côtés. Votre impact est inoubliable, et je vous suis reconnaissante à tous égards.

## Résumé

L'inflammation intestinale représente une composante essentielle dans les troubles gastro-intestinaux, notamment la colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (MC). Elle suscite un intérêt grandissant quant à son éventuelle modulation au moyen de substances bioactives présentes dans diverses sources alimentaires.

L'objectif central de cette thèse réside dans l'évaluation et la comparaison des activités biologiques *in vitro* et la modulation de la CU *in vivo*, de quatre substances naturelles distinctes, à savoir les peptides bioactifs extraits du thon rouge (*Thunnus thynnus*) par le biais d'une hydrolyse enzymatique du muscle, les peptides bioactifs issus de l'hydrolyse aqueuse du poulpe (*octopus vulgaris*), l'huile de thon rouge obtenue par délipidation de la farine de thon, et enfin, la glutamine.

La première étape de cette recherche se focalise sur les activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des différents pharmaco-nutriments testées *in vitro*. La deuxième étape se consacre à l'évaluation des effets bénéfiques potentiels de deux différentes doses de peptides de thon rouge et de poulpe (100 et 400 mg/Kg), d'huile de thon (100 et 260 mg/Kg) et de glutamine (400 et 1000 mg/Kg) en tant que traitements préventifs et curatifs, sur un modèle expérimental de CU induite par l'administration intrarectale d'une monodose de l'acide acétique (5%,) chez des rats Wistar.

Les résultats obtenus mettent en lumière l'effet significatif des substances bioactives testées, à la fois en tant qu'agents anti-radicalaire et en tant que modulateurs de l'inflammation. La restauration de divers paramètres examinés, notamment la perte de poids, l'indice de l'activité de la maladie (IAM), ainsi que les ulcérations coliques, chez les rats soumis à des traitements préventifs et curatifs par les substances étudiées, démontre de manière concluante que ces traitements exercent un effet protecteur et curatif considérable contre la CU. En outre, les niveaux de glutathion total (GSH), l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), le taux de malondialdéhyde (MDA) et l'activité de la catalase (CAT) ont été significativement rétablis dans les groupes ayant reçu ces substances. Par conséquent, il est envisageable que les substances bioactives d'origine marine puissent être explorées à l'avenir comme des candidats prometteurs pour le développement de traitements potentiels de la CU.

**Mots clés :** substances bioactives-Thon - Poulpe - inflammation intestinale- *in vitro*- *in vivo*

## Abstract

Intestinal inflammation plays a pivotal role in the development and progression of various gastrointestinal disorders, with particular emphasis on conditions such as ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). The recognition of this phenomenon has garnered increasing attention due to its potential modulation through the utilization of bioactive substances derived from different dietary sources.

The primary objective of this thesis is centered around the assessment and comparison of the biological activities observed *in vitro* and the modulation of these activities *in vivo* by four distinct natural substances. These substances include bioactive peptides that have been extracted from the muscle of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) through enzymatic hydrolysis, bioactive peptides that have been derived from the aqueous hydrolysis of octopus (*Octopus vulgaris*), bluefin tuna oil obtained by removing lipids from the tuna, and glutamine.

The initial phase of this research focuses on the assessment of the antioxidant and anti-inflammatory properties of various pharmaconutrients *in vitro*. This involves conducting experiments to determine the extent to which these substances can counteract oxidative stress and reduce inflammation. The subsequent phase of the study is dedicated to exploring the potential therapeutic benefits of two different doses of bluefin tuna and octopus peptides, namely 100 mg/Kg and 400 mg/Kg. Additionally, the effects of bluefin tuna oil at doses of 100 mg/Kg and 260 mg/Kg, as well as glutamine at doses of 400 mg/Kg and 1000 mg/Kg, are investigated as both preventive and curative treatments. These treatments have been evaluated using an experimental model of UC induced by a single intrarectal dose of acetic acid (5%) in Wistar rats.

The findings of this study underscore the noteworthy impact of the bioactive substances that were tested. These substances not only act as radical scavengers but also serve as regulators of inflammation. The results clearly demonstrate a significant improvement in various parameters, such as weight loss, disease activity index (DAI), and colonic ulcerations in rats that were subjected to both preventive and curative treatments with these substances. Additionally, the levels of total glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD) activity, malondialdehyde (MDA) levels, and catalase (CAT) activity were significantly restored in the groups that received these substances. Therefore, it is conceivable that bioactive substances of marine origin may be explored in the future as promising candidates for the development of potential treatments for ulcerative colitis (UC).

**Keywords :** bioactive substances- bluefin tuna- octopus- intestinal inflammation- *in vitro*- *in vivo*

## الملخص

التهاب الأمعاء يمثل عنصرا أساسيا في اضطرابات الجهاز الهضمي، بما في ذلك التهاب القولون التقرحي ومرض التهاب القولون الناحي (كرون). شهدت الأبحاث في كنف هذه الأمراض اهتماما زائدا من حيثية التحكم في أعراضه ومنع الانتكاسات وهذا من خلال المركبات البيولوجية النشطة الموجودة في مصادر غذائية مختلفة.

الهدف الرئيسي لهذه الدراسة يتمثل في تقييم ومقارنة الأنشطة البيولوجية لهذه المركبات في بيئة مخبرية وتنظيم مفعولها في التهاب القولون التقرحي في بيئة حيوية و هذا باستخدام أربع مواد طبيعية مختلفة، و هي البيبتيدات البيولوجية النشطة المستخرجة من التونة زرقاء الزعنفة، من خلال تحليل هذه الأخيرة باستعمال الانزيمات، و البيبتيدات البيولوجية النشطة المستخرجة من الاخطبوط، و الزيت المستخرج من التون، و في الأخير الغلوتامين.

المرحلة الأولى من الدراسة تركز على الأنشطة المضادة للأكسدة و المضادة للالتهابات الموجودة في المركبات الغذائية الطبية المختلفة التي تم اختيارها، بينما تخصص المرحلة الثانية لتقييم التأثير المحتمل لجرعتين مختلفتين من البيبتيدات المستخرجة من التونة و الاخطبوط (100 و 400 ملغ/كغ)، و زيت التونة (100 و 260 ملغ/كغ)، و الغلوتامين (400 و 1000 ملغ/كغ) كمركبات وقائية و من جهة أخرى علاجية، باستعمال نموذج تجريبي لالتهاب القولون التقرحي الذي تم تحفيزه عن طريق حقن حمض الخل بتركيز 5% داخل المستقيم الفئران التجارب ويستار

النتائج التي تم الحصول عليها سلطت الضوء على التأثير الملحوظ للمركبات البيولوجية النشطة المختبرة، سواء كعوامل مضادة للأكسدة الحرة أو كضبط للالتهابات. وفي ذلك تظهر استعادة تحسن مجموعة متنوعة من المؤشرات المدروسة بوضوح، بما في ذلك تحسن فقدان الوزن ومؤشر نشاط المرض وتحسن التقرحات المعوية، في الفئران التي خضعت للمركبات الوقائية والدوائية المعالجة المذكورة سالفا، مما يظهر وبوضوح أن هذه العلاجات تمارس تأثيرا وقائيا وعلاجيا كبير ضد التهابات القولون التقرحي. بالإضافة إلى ذلك، تم استعادة مستويات الجلوتاثيون الإجمالي ونشاط السوبر أكسيد ديسموتاز ومستويات المالونديالدهيد ونشاط الكاتالاز بشكل ملحوظ في المجموعات التي تلقت هذه المركبات. وبناء على ذلك، يمكن ان تكون المركبات البيولوجية النشطة المستخلصة من مصادر بحرية مرشحة واعدة لتطوير علاجات محتملة لالتهاب القولون التقرحي في المستقبل.

**والكلمات المفتاحية:** المركبات الحيوية النشطة- التونة- الاخطبوط -الالتهاب المعوي- بيئة مخبرية- بيئة حيوية

# *Liste des Tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	Diagnostic différentiel de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique.....	<b>09</b>
<b>Tableau 02</b>	Score d'indice de l'activité de la maladie (IAM).....	<b>35</b>
<b>Tableau 03</b>	Composition des acides gras de l'huile de thon déterminé par GC-MS	<b>45</b>
<b>Tableau 04</b>	Différents isomères de la vitamine E de l'huile de thon .....	<b>46</b>
<b>Tableau 05</b>	Les scores de la consistance des selles et de saignements chez les différents groupes traités .....	<b>56</b>
<b>Tableau 06</b>	Les paramètres sanguins des différents groupes expérimentaux .....	<b>66</b>
<b>Tableau 07</b>	Taux de paramètres oxydatifs coliques chez les différents groupes expérimentaux.....	<b>68</b>
<b>Tableau 08</b>	Taux de paramètres oxydatifs sériques chez les différents groupes expérimentaux.....	<b>70</b>

# *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b>	Schéma illustrative des voies de signalisation induites par l'oxydation .....	<b>5</b>
<b>Figure 02</b>	Mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse inflammatoire de la muqueuse dans la CU .....	<b>10</b>
<b>Figure 03</b>	Facteurs environnementaux .....	<b>12</b>
<b>Figure 04</b>	Mécanismes potentiels des avantages pour la santé de la consommation de poisson et de leurs constituants bioactifs correspondants .....	<b>19</b>
<b>Figure 05</b>	Processus de l'Extraction et produit final de l'huile de thon .....	<b>24</b>
<b>Figure 06</b>	Hydrolyse enzymatique de la farine de muscle de thon par l'enzyme Alcalase .....	<b>25</b>
<b>Figure 07</b>	Produit fini de l'hydrolyse enzymatique des peptides de thon .....	<b>28</b>
<b>Figure 08</b>	Extraction aqueuse des peptides bioactifs à partir de poulpe .....	<b>28</b>
<b>Figure 09</b>	Technique d'induction de la colite intestinale chez les rats .....	<b>33</b>
<b>Figure 10</b>	Schéma illustratif de la période expérimentale de l'induction et traitement de la colite chez les rats Wistar conventionnels .....	<b>34</b>
<b>Figure 11</b>	Prélèvement de sang par le sinus de l'œil (A) et par ponction cardiaque (B) .....	<b>36</b>
<b>Figure 12</b>	Fixation dans le formol et mise en cassette .....	<b>38</b>
<b>Figure 13</b>	A) automate de la circulation (déshydratation), B) l'inclusion, C) la microtomie .....	<b>39</b>
<b>Figure 14</b>	A) la coloration, B) montage des lames .....	<b>40</b>
<b>Figure 15</b>	Courbe de progression de l'hydrolyse enzymatique exprimée par degré d'hydrolyse en fonction du temps .....	<b>42</b>
<b>Figure 16</b>	Composition de Tochophérol vitamine E contenu dans l'huile de thon .....	<b>46</b>
<b>Figure 17</b>	Effet anti-radicalaire de l'huile de thon, de peptides de poulpe, de peptides de thon et de glutamine sur la réduction du DPPH comparé avec l'EDTA (n= 3).....	<b>47</b>
<b>Figure 18</b>	Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par les différents substrats (huile de thon, peptides de thon, peptides de poulpe, glutamine et le Diclofenac) .....	<b>50</b>
<b>Figure 19</b>	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par les différents substrats (huiles de thon, peptides de thon, peptides de poulpe, glutamine et le Diclofenac) .....	<b>51</b>
<b>Figure 20</b>	Perte de poids des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (T-) et témoin positif (+) .....	<b>55</b>
<b>Figure 21</b>	Indice de l'activité de la maladie (IAM) des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (-) et témoin positif (+) .....	<b>58</b>
<b>Figure 22</b>	Différence macroscopique entre colon du rat témoin négatif (Lot 1) et colon du rat témoin positif (Lot 2) .....	<b>59</b>

<b>Figure 23</b>	Rapport poids/longueur du colon des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (T-) et témoin positif (T+) .....	<b>63</b>
<b>Figure 24</b>	Rapport poids/longueur de la rate des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (T-) et témoin positif (T+) .....	<b>64</b>
<b>Figure 25</b>	Effet des pharmaco-nutriments à différentes doses sur les changements histologiques des tissus du colon colorés avec le H&E chez des rats atteints de colite induite par AA (100X). Lot 1 : Témoin négatif, Lot 2 : témoin positive ; Lot 3 : traitement sulfazalazine 500mg/KG) .....	<b>74</b>
<b>Figure 26</b>	Effet des pharmaco-nutriments à différentes doses sur les changements histologiques des tissus du colon colorés avec le H&E chez des rats atteints de colite induite par AA (100X), avec traitements curatifs (Lot 4 : PT 100mg/Kg ; Lot 5 : PT 400mg/Kg ; Lot 6 : PP 100mg/KG ; Lot 7 : PP 400mg/Kg ; Lot 8 : HT 100mg/Kg, Lot 9 : HT 260mg/Kg ; Lot 10 : Glu 400mg/Kg ; Lot 11 : Glu 1000mg/KG) .....	<b>75</b>
<b>Figure 27</b>	Effet des pharmaco-nutriments à différentes doses sur les changements histologiques des tissus du colon colorés avec le H&E chez des rats atteints de colite induite par AA (100X), avec traitements préventifs (Lot 12 : PT 100mg/Kg ; Lot 13 : PT 400mg/Kg ; Lot 14 : PP 100mg/KG ; Lot 15 : PP 400mg/Kg ; Lot 16 : HT 100mg/Kg, Lot 17 : HT 260mg/Kg ; Lot 18 : Glu 400mg/Kg ; Lot 19 : Glu 1000mg/KG) .....	<b>76</b>

## Liste des abréviations

- AA** : Acide acétique
- AChE** : Acétylcholinestérase
- ADCY7** : Adénylate cyclase 7
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AGCC** : Acides gras à chaîne courte
- AGMC** : Acides gras à chaîne moyenne
- AGPI** : Acide gras polyinsaturés
- AGPI-LC** : Acide gras polyinsaturé à longue chaîne
- AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- Ala** : Alanine
- AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique
- ARA** : Acide arachidonique
- Arg** : Argénine
- ATP** : Adénosine triphosphate
- CAT** : Catalase
- CBM** : Composés bioactifs marins
- CD T** : Clusters de différenciation
- CD1d** : Cluster de différenciation 1d
- CO** : Oxazolone
- COX** : Cyclooxygénase
- CU** : Colite ulcéreuse
- DH** : Degré d'hydrolyse
- DHA** : Acide docosahexaénoïque
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- DPPH** : 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle
- DSS** : Dextran sulfate de sodium
- EDTA** : Ethylène diamine tétra acétique
- EPA** : Acide eicosapentaénoïque

**GC-MS:** Chromatographie en phase gazeuse

**Gln :** Glutamine

**Glu :** Glutamine

**Gly :** Glycine

**GPx :** Glutathions peroxydases

**GRed :** Glutathion réductase

**GSH :** Glutathionylation

**GSSG :** Disulfure de glutathion

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Peroxyde d'hydrogène

**HLA :** Antigène leucocytaire humain

**HPLC :** Chromatographie en phase liquide à haute performance

**HRBC :** Membrane des globules rouges humaines

**HRSA :** Activité de piégeage des radicaux hydroxyle

**HT :** Huile de thon

**IAM :** Indice d'activité de la maladie

**IFN-  $\gamma$  :** Interféron

**IL-13 :** Interleukine

**Leu :** Leucine

**LOX :** Lipoxygénase

**MA :** Maladie d'Alzheimer

**MC :** Maladie de Crohn

**MDA :** Malondialdéhyde

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

**MP :** Maladie de Parkinson

**NADPH :** Adénine dinucléotide phosphate

**NaOH :** Hydroxyde de sodium

**NO :** Monoxyde d'azote

**PAMP :** Moléculaires associés aux agents pathogènes

**PBS :** Solution tampon phosphate salin

**Phe :** Phénylalanine

**EP** : Extrait de poulpe

**PRDX2** : Peroxiredoxine 2

**Pro** : Proline

**PT** : Peptides de thon

**ROH** : Hydroperoxyde

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

**Ser** : Sérine

**SOD** : Superoxyde dismutases

**SPM** : Surnageant post-mitochondrial

**Th2** : Lymphocytes T auxiliaires de type 2

**TNBS** : Acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique

**TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha

**Try** : Tryptophane

**Xle** : N-méthyl-leucine

## **Table des matières**

Remerciements.....	
Dédicace .....	
ملخص .....	
Résumé .....	
Abstract.....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des abréviations .....	
Introduction générale .....	1
<b>CHAPITRE I : MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'INTESTIN</b>	
I.1 Généralité .....	4
I.2. Inflammation et stress oxydatif .....	4
I.2.1. La mitochondrie, site du stress oxydatif et de l'inflammation .....	5
I.2.2. Le système antioxydant enzymatique .....	6
I.2.3. Les systèmes antioxydants non-enzymatiques .....	7
I.2.4. Autres antioxydants non enzymatiques .....	8
I.3. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) .....	8
I.3.1. Les caractéristiques cliniques de la colite ulcéreuse et de la maladie de Cohn .....	9
I.4. Manifestation caractéristique de la colite ulcéreuse .....	10
I.4.1. Etiologie de la pathogenèse de la CU .....	10
I.4.1.1. Facteurs génétique .....	10
I.4.1.2. Facteurs environnementaux .....	11
I.4.1.3. Facteur microbiote intestinal .....	13
I.4.2. Dysfonctionnement épithélial .....	13
I.4.2.1. Réponse immunitaire anormale .....	14
I.4.2.2. Réponse immunitaire anormale : adaptative .....	15
I.5. Colite induite par les produits chimiques .....	15
I.6. Les bioactives et leurs bénéfiques sur la santé .....	17
I.6.1. Les composants bioactifs .....	17
I.6.2. Les peptides bioactifs .....	17
I.6.3. Les huiles de poisson .....	18
I.6.4. Effets biologiques de poisson sur la santé humaine .....	18
I.6.4.1. Effet antioxydant .....	18
I.6.4.2. Effet antimicrobien .....	19
I.6.4.3. Effet anti inflammatoire .....	20
I.6.4.4. Effet neuroprotecteur .....	21
I.6.4.5. Effet cardio-protecteur .....	22
I.6.4.6. Effets sur la peau .....	23
<b>CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES</b>	
II.1. Matériel biologique .....	24
II.2. Préparation de la farine de muscle de thon rouge .....	24
II.2.1. Extraction de l'huile de thon .....	24
II.2.2. Hydrolyse enzymatique de la farine du muscle de thon .....	26
II.2.3. Préparation de l'hydrolysate de protéines .....	26
II.2.4. Calcul du degré d'hydrolyse .....	26
II.3. Préparation de l'extrait aqueux de pulpe .....	28
II.4. Analyse des acides gras d'huile de thon par chromatographie en phase gazeuse GC-MS. ....	29
II. 5. Analyse de Tocophérol présent dans l'huile de thon par HPLC .....	29

II. 6. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques des différents substrats .....	29
II. 6. 1. Détermination de l'activité antioxydante .....	29
II. 6. 2. Détermination de l'activité anti inflammatoire .....	30
II.6.2.1. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humaines (HRBC) ....	30
II. 6. 2. 2. Méthode d'inhibition de la dénaturation protéique .....	31
II.7. Expérimentation <i>in vivo</i> des effets préventifs de produits bioactifs sur la colite Intestinale .....	31
II.7.1. Conception de l'étude .....	31
II.7.1.1. Les lots témoins .....	31
II.7.1.2. Les lots du traitement curatif de la colite intestinale .....	32
II.7.1.3. Traitement préventif de la colite intestinale .....	32
II.7.2. Induction de la colite .....	33
II.7.3. Paramètres contrôlés .....	35
II.7. 3.1. Score de l'indice de l'activité de la maladie .....	35
II.7.3.2. Sacrifices des animaux et prélèvement du sang et des organes .....	35
II.7.3.3. Evaluation macroscopique des lésions coliques .....	36
II.7.3.4. Détermination biochimique de l'inflammation dans le sérum .....	36
II.7.3.5. Détermination biochimique de l'inflammation du colon .....	36
II.7.3.6. Evaluation des niveaux d'antioxydant .....	37
II.7.4. Evaluation microscopique de la RCH .....	38
II.8. Etude statistique .....	41
<b>CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSIONS</b>	
III.1. Hydrolyse enzymatique de la farine du muscle de thon .....	42
III.2. La teneur en matière grasse totale .....	43
III.3. Caractérisation des acides gras d'huile de thon rouge par GC-MS .....	43
III.4. Analyse de Tocophérol présent dans l'huile de thon par HPLC .....	46
III.5. Détermination de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	46
III.6. Détermination de l'activité anti-inflammatoire .....	49
III.6.1. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humaines .....	49
III.6.2. Méthode d'inhibition de la dénaturation protéique .....	50
III.7. Etude <i>in vivo</i> .....	52
III.7.1. Observation générale .....	53
III.7.2. Indice de l'activité de la maladie .....	57
III.7.3. Score macroscopique .....	59
III.7.4. Paramètres hématologiques .....	65
III.7.5. Stress oxydatif .....	66
III.7.5.1. Statut antioxydant du tissu du colon .....	67
III.7.5.2. Statut antioxydant sérique .....	69
III.7.6. Scores histologiques .....	73
Conclusion .....	74

## Annexe

# ***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) représentent un ensemble de troubles complexes et hétérogènes qui se caractérisent par une inflammation chronique et récurrente du tractus gastro-intestinal. Malgré des décennies de recherche, les causes exactes de ces maladies demeurent partiellement élucidées, mais il est largement admis qu'elles résultent d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques, des éléments du système immunitaire de l'organisme et des influences environnementales ([Zhang et al., 2022](#)).

Les MICI se présentent sous deux principales formes cliniques, à savoir la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU), qui se distinguent par leurs symptômes, la localisation des lésions et les caractéristiques histopathologiques. La CU se caractérise par une inflammation persistante et une atteinte superficielle du colon, tandis que la MC est une maladie transmurale fréquemment associée à la formation de granulomes, et peut toucher n'importe quelle portion du système gastro-intestinal ([Ho et al., 2020](#)).

Les conséquences des MICI peuvent être graves, pouvant aller jusqu'à des complications potentiellement mortelles telles que le développement de cancer du côlon ([Ananthkrishnan, 2015](#)). Il est important de noter que ces maladies peuvent survenir à tout âge. Les MICI se caractérisent par des phases alternées de rémission clinique et d'exacerbation des symptômes.

Pour assurer une prise en charge efficace des MICI et prévenir les résultats cliniques défavorables tels que les rechutes, les hospitalisations et les colectomies, il est impératif que les patients maintiennent leur traitement de manière continue tout au long de leur vie, cette approche thérapeutique ininterrompue s'avère cruciale pour favoriser la stabilité de la maladie, améliorer la qualité de vie des patients et minimiser les complications potentielles associées aux MICI ([Lasa et al., 2022](#); [Matsuoka et al., 2023](#)).

A l'heure actuelle, quatre principales catégories de traitements sont utilisées pour la CU : les acides aminosalicyliques, les glucocorticoïdes, les médicaments immunomodulateurs, et les médicaments biologiques. Néanmoins, des défis subsistent, tels que la dépendance aux corticoïdes, les réactions indésirables et la résistance médicamenteuse, et l'objectif de mettre au point un traitement à la fois sûr et efficace demeure un défi majeur. De surcroît, le coût élevé des traitements demeure un enjeu non résolu. Par conséquent, il est impératif de chercher activement de nouvelles stratégies thérapeutiques ([Liu et al., 2022](#)).

Face à ce défi, de nombreux chercheurs se sont penchés sur le développement de nouvelles approches thérapeutiques visant à trouver des méthodes de traitement plus efficaces à l'aide de substances bioactives pour l'inflammation intestinale. Simultanément, un aliment fonctionnel est constitué de composés bioactifs qui ont une activité biologique et physiologique et qui offrent des avantages pour la santé au-delà de leurs simples qualités nutritionnelles de base (Banwo et al., 2021).

Les organismes marins, produisent une multitude de substances bioactives en raison de la forte compétition à laquelle ils sont confrontés pour occuper des environnements de vie uniques caractérisés par des concentrations élevées de sels, une haute pression et de faibles niveaux d'oxygène ( De Domenico et al., 2019; Batool et al., 2022 ). Par ailleurs, de nombreuses études ont porté sur les composés bioactifs marins (CBM) comprenant notamment des peptides, des collagènes, des polysaccharides et des huiles, et ont exploré leurs activités thérapeutiques et pharmacologiques telles que leurs propriétés antibactériennes, antibiofilm, antimicrobiennes, anti oxydantes et anti inflammatoires ( Heo et al., 2018; Chandika et al., 2021 ). En raison de leur vaste gamme d'activités biologiques les CBM attirent de plus en plus l'attention en tant qu'agents thérapeutiques et pharmaceutiques pour des maladies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, la fibrose pulmonaire idiopathique, l'ostéoporose et beaucoup d'autres maladies.

Notre recherche s'articule autour de deux axes majeurs, chacun reflétant une phase essentielle de notre étude. Dans une première phase *in vitro*, nous avons entrepris d'extraire les composés bioactifs issus de deux sources marines distinctes, à savoir le thon rouge et le poulpe de la région méditerranéenne. Cette étape cruciale a impliqué des procédures méticuleuses visant à isoler ces composants naturels et à évaluer leur potentiel bénéfique. Nous nous sommes particulièrement penché sur l'étude de leur activité anti-oxydante et anti-inflammatoire.

La deuxième phase de notre étude, menée *in vivo*, avait pour objectif de démontrer l'effet thérapeutique de ces substrats bioactifs dans le contexte de l'inflammation colique. A travers des expériences où nous avons exploré comment ces extraits marins pouvaient potentiellement atténuer l'inflammation au niveau colique, à la fois sur le plan macroscopique et microscopique.

Ce manuscrit est organisé en trois chapitres dont le premier est un recueil bibliographique avec une description de la pathologie ciblée et les vertus des différentes substances bioactives marines sur la santé, le second chapitre aborde les matériels et les méthodes utilisées au cours

de l'expérimentation et en dernier lieu le troisième chapitre est consacré à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus suivis d'une conclusion avec des perspectives.

# ***CHAPITRE I***

Partie Bibliographique

## **CHAPITRE I : MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'INTESTIN**

### **I.1. Généralité**

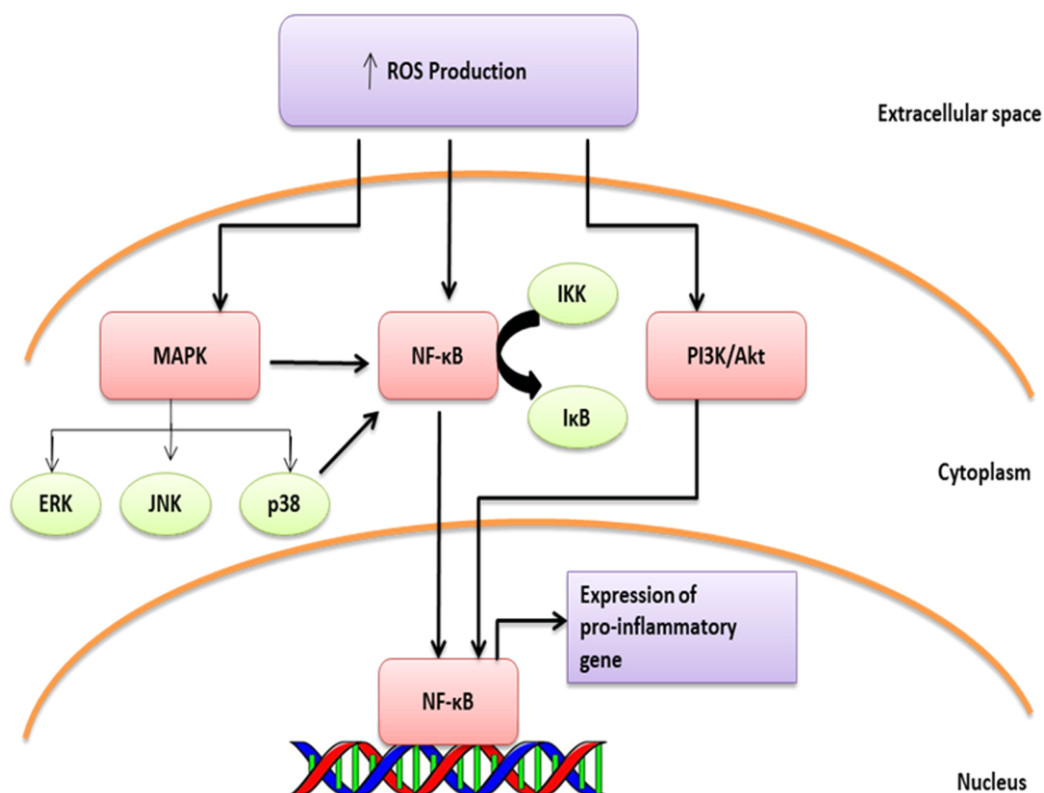
La maladie intestinale inflammatoire touche des sujets de tous âges, mais elle débute habituellement avant l'âge de 30 ans, avec un pic d'incidence entre 14 et 24 ans. Les maladies intestinales inflammatoires peuvent avoir un second pic moins important d'incidence entre 50 et 70 ans; cependant, ce pic tardif pourrait inclure des cas de colite ischémique. (Walfish et Companioni, 2022).

La maladie intestinale inflammatoire est plus fréquente chez les sujets originaires du Nord de l'Europe et des pays anglo-saxons. L'incidence est plus basse en Europe centrale et du Nord et encore plus basse en Amérique du Sud, en Asie et en Afrique. Cependant, l'incidence est en augmentation chez les Noirs et les Sud-Américains vivant en Amérique du Nord. Les 2 sexes sont touchés de manière égale. Les parents au premier degré d'un patient qui présente une maladie intestinale inflammatoire ont un risque augmenté de 4 à 20 fois ; et leur risque absolu peut aller jusqu'à 7%. (Walfish et Companioni, 2022).

### **I.2. Inflammation et stress oxydatif**

Le bon fonctionnement de l'organisme peut être perturbé par de nombreux facteurs. D'entre eux est le déséquilibre entre la quantité d'oxydants et la production d'antioxydants. L'état caractérisé par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est appelé stress oxydatif, cependant, il peut également être causé par un système antioxydant insuffisant (Sarniak et al., 2016). L'augmentation du stress oxydatif entraîne une intensification de la défense antioxydante, mais elle ne suffit pas pour inactiver les ROS. La prédominance des ROS entraîne des dommages à l'acide désoxyribonucléique (ADN), aux protéines et aux lipides, conduisant à une dégradation des cellules et des tissus (Li et al., 2016; Kim et al., 2017). Les ROS sont des dérivés de l'oxygène moléculaire, et certains d'entre eux, appelés radicaux libres, contiennent au moins un électron non apparié, ce qui contribue à leur grande réactivité. Parmi les ROS, on peut distinguer des formes réactives telles que le superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singlet, les radicaux hydroxyle, les radicaux peroxy, les radicaux alcoyle, le peroxy-nitrite, l'acide hypochloreux et l'ozone.

En outre, l'oxydation des protéines conduit à la libération de la peroxyredoxine 2 (PRDX2) qui peut agir comme un signal inflammatoire. La stimulation inflammatoire induit la libération de PRDX2, qui stimule en outre les macrophages à libérer des cytokines pro-inflammatoires comme le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ). La glutathionylation de la protéine (GSH) liée par oxydation à PRDX2 a lieu avant ou pendant la libération de PRDX2 (Fig. 01) (Salzano et al., 2014).



**Figure 01** : Schéma illustratif des voies de signalisation induites par l'oxydation. (Behl et al., 2022)

### I.2.1. La mitochondrie, site du stress oxydatif et de l'inflammation

Les mitochondries sont les organites cellulaires les plus importants impliqués dans l'homéostasie énergétique et génèrent plus de 90 % de l'énergie cellulaire par le biais de la chaîne de transport des électrons. Elles sont la principale source de ROS dans les cellules au repos et le principal site des processus apoptotiques et nécrotiques (Murphy, 2009). Pendant les situations normales, les mitochondries sont protégées des dommages dus aux ROS grâce à divers mécanismes antioxydants en interaction. Cependant, le stress oxydatif induit des dommages à l'ADN mitochondrial, ce qui conduit à la production excessive de ROS. Dans un état ischémique, lorsque l'adénosine triphosphate (ATP) est rapidement épuisée, la pompe

ionique cesse de fonctionner, ce qui entraîne la production de  $\text{Ca}^{2+}$ , ce qui accélère encore l'épuisement de l'ATP. L'augmentation du  $\text{Ca}^{2+}$  pendant l'ischémie et la perfusion conduit à l'accumulation de  $\text{Ca}^{2+}$  mitochondrial, en particulier après la réintroduction d'oxygène. Cela entraîne la production d'ATP, mais la perturbation de la chaîne de transport d'électrons peut entraîner une production accrue de ROS par les mitochondries.

La production de ROS mitochondriale cause des dommages à la membrane mitochondriale, aux protéines, et l'ADN et interfère avec la production d'ATP et d'autres fonctions de base. Les dommages mitochondriaux dus au stress oxydatif favorisent également la libération cytoplasmique du cytochrome à travers les membranes de la mitochondrie et entraîne l'apoptose (Behl et al., 2022). La libération des protéines transmembranaires et leur transport dans le noyau provoquent une fragmentation de l'ADN nucléaire. Collectivement, ces actions induisent la mort cellulaire par le processus de nécrose.

Certaines découvertes ont montré que les mitochondries jouent un rôle modulateur dans plusieurs conditions pathologiques, y compris les tumeurs, les infections et les inflammations. Des dysfonctionnements des mitochondries et le stress oxydatif ont été trouvés dans des modèles animaux et chez des patients de septicémie (Behl et al., 2022).

## **I.2.2. Le système antioxydant enzymatique**

### **a) - Les superoxyde dismutases**

Les superoxyde dismutases (SOD) sont les premières enzymes impliquées dans la réponse antioxydante. Ces enzymes catalysent la dismutation de  $\text{O}_2$  en une forme moins réactive. Il existe trois isoformes de SOD dans les cellules eucaryotes, ils diffèrent par leur localisation et les métaux de transition présent dans leur structure. La SOD à cuivre et à zinc (SOD1) est la forme la plus dominante, elle se situe dans le cytosol. Au niveau de la matrice mitochondriale se trouve une autre isoforme, la SOD à manganèse (SOD2). La troisième isoforme est la SOD à cuivre et zinc (SOD3), elle se situe dans l'espace inter-membranaire (Younus, 2018).

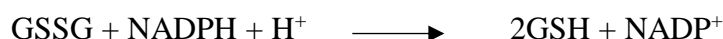
### **b) - Les glutathions peroxydases et le glutathion réductases**

Les glutathions peroxydases (GPx) catalysent la détoxification de l'hydroperoxyde en présence de glutathion réduit pour former des produits de réduction de disulfure de glutathion (GSSG) et d'hydroperoxyde (ROH):



Les glutathions peroxydases et la SOD agissent en synergie, car elles accélèrent la dismutation de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Leur rôle principal est d'éliminer les peroxydes lipidiques produits par l'action du stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés (AGPI).

La glutathion réductase (GRed), a pour but de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) qui est un donneur d'électrons. En outre, la concentration de glutathion dans la cellule est limitée, en conséquence, il est indispensable de produire de glutathion constamment pour que la GPx maintienne sa fonction



En raison de la capacité de la GRed à régénérer le glutathion réduit joue un rôle important dans le mécanisme antioxydant du glutathion et prévient la déplétion des thiols cellulaires ([Geremia et al., 2014](#)).

### **c) - La catalase**

Le rôle de la catalase (CAT) est de transformer l' $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ . Cette enzyme est très abondante dans les globules rouges et le foie, elle est préférentiellement dans les peroxysomes et en petite quantité dans le cytosol. La catalase est l'enzyme la plus efficace, puisqu'elle n'est saturable par aucune concentration d' $\text{H}_2\text{O}_2$ , une molécule de catalase (CAT) peut convertir six millions de molécules d' $\text{H}_2\text{O}_2$  par minute ([Xu et al., 2022](#))



### **I.2.3. Les systèmes antioxydants non-enzymatiques**

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont endogènes : glutathion, bilirubine, acide urique, coenzyme Q. les antioxydants exogènes sont rapportés par l'alimentation qui doit être riche en vitamine C et E, caroténoïdes...

#### **a) - Le glutathion**

Le glutathion (GSH) est un tripeptide intracellulaire impliqué dans la prévention de l'oxydation des groupements thiols, il est considéré au niveau intracellulaire comme le thiol majoritaire où

il est présent sous forme réduite. Le rapport glutathion réduit/ glutathion oxydé est souvent considéré comme un marqueur de stress oxydant, puisque plus la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est importante, plus le GSH est consommé et le GSSG est augmenté. Le GSH a la capacité de régénérer certaines vitamines, comme la vitamine C et E, il a un effet protecteur de la cellule de l'apoptose et réparateur des atteintes oxydatives à l'ADN (Lv et al., 2019).

#### **b) - Les vitamines**

Certains antioxydants comme la vitamine C ou acide ascorbique agissent principalement dans un environnement hydrophile, où elle capte directement l'O<sub>2</sub> et l'OH<sup>+</sup>. D'autre comme la vitamine E dont la forme la plus active est l'α-tocophérol agissent dans un environnement hydrophobe. La vitamine E est le principal antioxydant dans le plasma et les érythrocytes. Elle est située dans les lipoprotéines et les membranes, et a pour but de séquestrer les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. Les sources principales de la vitamine E sont l'huile de poisson, les huiles végétales, les germes de blé, les noix et certains légumes à feuilles vertes. L'α-tocophérol peut être régénéré lors de la réduction du radical tocophéryle par la vitamine C (Pawlowska et al., 2019).

#### **I.2.4. Autres antioxydants non enzymatiques**

L'ubiquinol est la forme réduite du coenzyme Q, est un facteur important dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons. Le coenzyme Q se trouve dans les membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines. Il protège les membranes de la peroxydation lipidique par diminution de la formation et la propagation de radicaux peroxy.

L'urate est la forme ionisée de l'acide urique. Il est présent à de fortes concentrations intra et extracellulaires. L'urate est le produit final excrété du métabolisme des purines où la xanthine-oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique. L'urate a un rôle protecteur des acides gras insaturés contre l'oxydation et les protéines de la nitration en réagissant avec le peroxy-nitrite NOO<sup>-</sup>.

#### **I.3. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) :**

La colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (MC) sont des affections chroniques à médiation immunitaire dont la prévalence est élevée dans les pays développés, avec une augmentation rapide de l'incidence dans les pays nouvellement industrialisés (une variation annuelle de +14%) (Ng et al., 2017). Selon les prévisions, la prévalence mondiale devrait toucher jusqu'à

30 millions d'individus d'ici 2053 (Jones et al., 2019). Ce sont des maladies récidivantes caractérisées par une inflammation chronique de différents sites du tube digestif, qui entraînent une diarrhée et des douleurs abdominales (Walfish & Companioni, 2022).

Les caractéristiques cliniques incluent l'implication presque universelle du rectum comme premier site où l'inflammation se termine par une démarcation abrupte et une transition vers la muqueuse normale du colon. Environ la moitié des patients peuvent développer une évolution plus compliquée de la maladie, parfois en ne répondant pas aux traitements médicamenteux. En raison de l'absence de réponse aux traitements médicamenteux (Singh et al., 2018).

### **I.3.1. Les caractéristiques cliniques de la colite ulcéreuse et de la maladie de Crohn**

Bien que la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique possèdent des caractères communs, elles peuvent être différenciées dans la plupart des cas (Tab. 01).

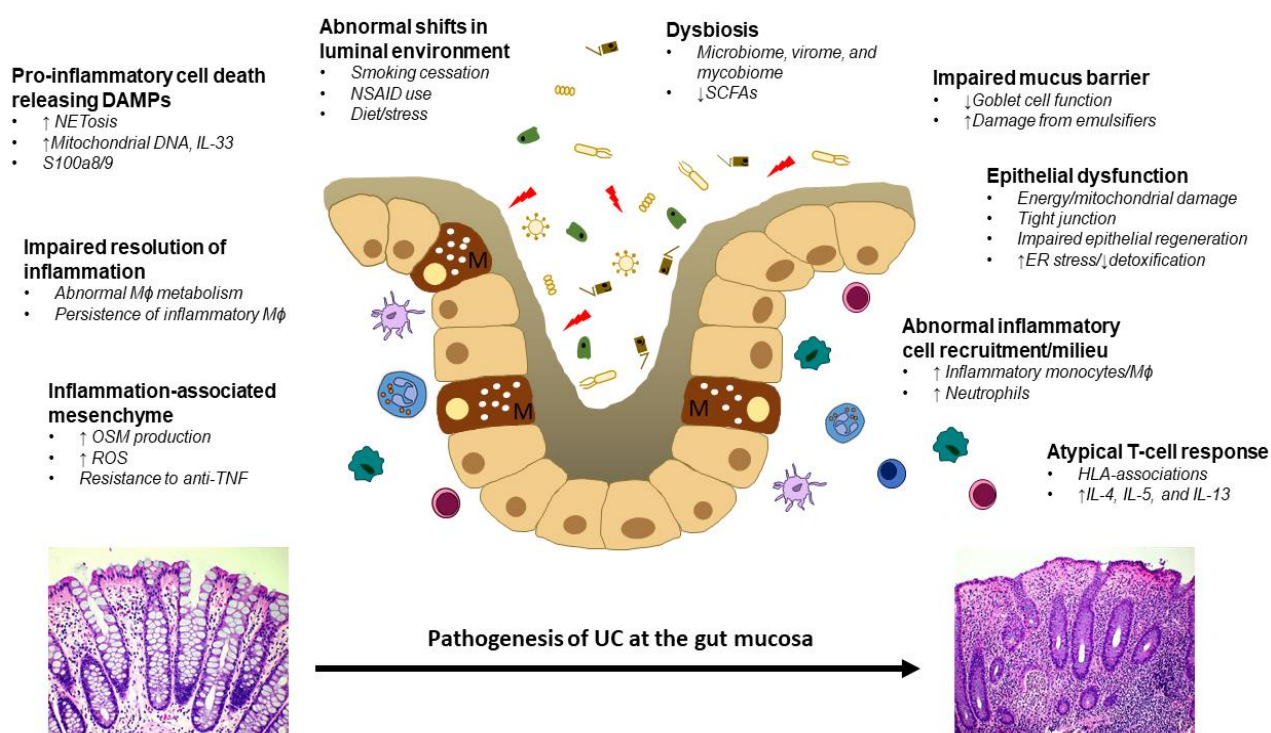
**Tableau 01** : Diagnostic différentiel de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique (Ho et al., 2020)

Maladie de Crohn	Rectocolite hémorragique
L'intestin grêle est atteint dans 80% des cas.	La maladie ne touche que le côlon.
Le rectum est souvent épargné; l'atteinte colique est habituellement droite.	Le rectum est toujours atteint; ainsi habituellement que le côlon gauche.
Les rectorragies sont rares, sauf en cas de Crohn colique où on les retrouve dans 75 à 85% des cas	Les rectorragies sont constamment retrouvées.
Les fistules et les abcès sont fréquents.	Il n'existe pas de fistule.
Des lésions anopérinéales sont retrouvées dans 25 à 35% des cas.	Il n'existe pas de lésion anopérinéale spécifique.
La paroi intestinale est atteinte de façon asymétrique et segmentaire, avec des zones saines entre les segments atteints.	La paroi intestinale est touchée de façon symétrique et sans interruption à partir du rectum.

## I.4. Manifestation caractéristique de la colite ulcéreuse

### I.4.1. Etiologie de la pathogenèse de la CU

Il existe une contribution complexe des facteurs environnementaux et de facteurs liés à l'hôte qui augmentent la susceptibilité de développer une CU. L'apparition de la maladie est déclenchée par des événements qui perturbent la barrière muqueuse, altèrent l'équilibre du microbiote intestinal et simulent anormalement les réponses immunitaires intestinales (Porter et al., 2020) (Fig. 02)



**Figure 02** : Mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse inflammatoire de la muqueuse dans la CU. (Ho et al., 2020)

#### I.4.1.1. Facteurs génétique

Les facteurs génétiques jouent un rôle important dans la pathogenèse de CU. Elle est considérée comme une maladie polygénique complexe, les gènes responsables codent à la fois pour les voies immunitaires innées et adaptatives (Jostins et al., 2012). Un grand nombre de ces gènes (70%) sont également partagés avec d'autres maladies auto-immunes telles que l'ankylose.

Les signes génétiques les plus forts au sein des loci spécifiques de la CU sont associés à la région de l'antigène leucocytaire humain (HLA). Seize associations alléliques HLA (principalement classe II) sont décrites pour la CU, pour l'implication colique des MICI sur une cartographie génétique fine plus profonde (Goyette et al., 2015 ; Cleynen et al., 2016).

Il a été mis en évidence que près de 2000 patients atteints de CU ont permis d'identifier une rare variante dans le gène de l'adénylate cyclase 7 (ADCY7) qui double le risque de CU (Luo et al., 2017). En dehors de la région HLA, le gène ADCY7 présente la plus forte association génétique observée avec le CU. ADCY7 fait partie d'une famille de 10 enzymes qui convertissent l'ATP en second messager omniprésent, l' adénosine monophosphate cyclique (AMPC).

De plus, de nombreux gènes spécifiques de la CU sont impliqués dans la régulation de la fonction de barrière épithéliale. Malgré l'identification de nombreux loci de susceptibilité, la génétique n'explique que 19% de l'héritabilité de la maladie dans la CU (Chen et al., 2014). Globalement, les facteurs génétiques confèrent une augmentation faible mais certaine de la susceptibilité à la CU.

Cependant, de nombreux individus ne présentent aucune prédisposition génétique lorsqu'ils sont évalués par un score de risque polygénique qui tient compte de tous les loci de susceptibilité ( Lee & Cleynen, 2019). Cela suggère un rôle clé des réponses immunitaires adaptatives aberrantes et du dysfonctionnement de la barrière épithéliale dans la pathogénie de la CU.

#### **I.4.1.2. Facteurs environnementaux**

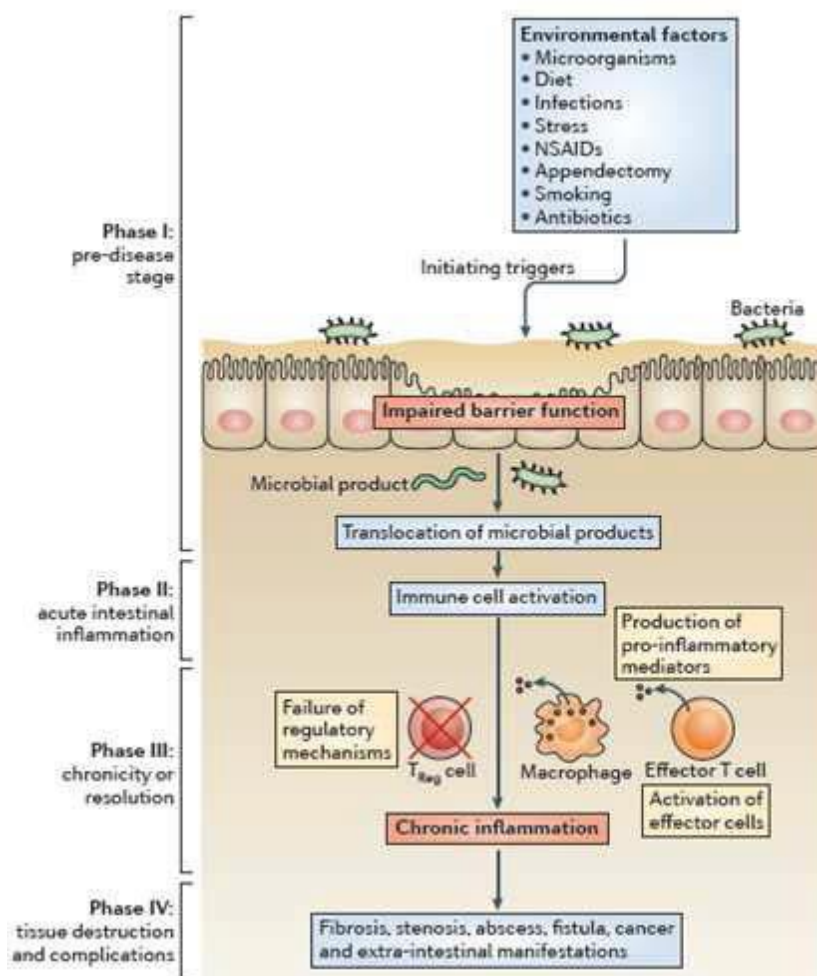
L'augmentation rapide de l'incidence de la CU dans les pays nouvellement industrialisés suggère que les facteurs environnementaux sont importants (Fig. 03). Cette évolution est parallèle à celle observée dans le monde occidental au début du XXe siècle. L'occidentalisation s'accompagne d'un nouveau mode de vie urbain, l'exposition à la pollution, le changement de régime alimentaire, l'accès aux antibiotiques, l'amélioration de l'hygiène et la diminution des infections, tous considérés comme des facteurs contributifs généraux.

Toutefois, des facteurs environnementaux plus spécifiques associés à la colite connus depuis un certain temps. L'exemple le plus probant est celui de l'effet protecteur du tabagisme et de

l'observation notable de l'apparition de nouveaux cas de CU (Kaplan & Ng, 2017). Les schémas mondiaux du tabagisme et des MICI sont en train de changer.

Une population d'anciens fumeurs atteints de CU de plus en plus importante en chine est le signe d'une expansion rapide de la population à risque. L'effet anti-inflammatoire conféré par le tabagisme dans la CU est intrigant et pourrait être médié par le monoxyde de carbone (Thomas et al., 2019).

L'indice de cette maladie est associé aussi à l'âge avancé chez l'homme, plus récemment, l'association curieuse avec la maladie de Parkinson (une autre affection associée à l'absence de tabagisme et à la vieillesse) (Villumsen et al., 2019). Tous ces éléments fournissent un éclairage étiologique plus spécifique sur le développement de la CU.



**Figure 03 :** Facteurs environnementaux (Neurath, 2014)

#### **I.4.1.3. Facteur microbiote intestinal**

Le microbiote intestinal des MICI est nettement moins diversifié et stable dans le temps (Villumsen et al., 2019 ; Lloyd-Price et al., 2019), l'épuisement de bactéries protectrices telles que les *Ruminococcaceae* et les *Lachnospiraceae* produisant des acides gras à chaîne courte (AGCC), qui coïncide avec une expansion des microbes pro-inflammatoires comme les *Enterobacteriaceae*, y compris *Escherichia coli*, et les *Fusobacteriaceae*. Ces changements, cependant sont moins évidents dans la CU par rapport au MC. On ne sait pas si la dysbiose est une conséquence de l'inflammation intestinale, ou joue un rôle causal dans la CU. A cet égard, le virome et les mycobiome sont également moins diversifiés dans la CU (Norman et al., 2015).

Sur le plan thérapeutique, toutefois, la transplantation microbienne fécale (FMT) à partir de donneurs sains peut traiter la CU (Paramsothy et al., 2017), et induit à la restauration de la diversité microbienne, y compris les espèces bactériennes responsables de la production d'acides gras saturés dans les selles du donneur (Paramsothy et al., 2019).

Par conséquent, l'un des principaux effets de la dysbiose dans la CU est susceptible d'être une réduction de la santé épithéliale ou un état de dysfonctionnement épithélial qui renforce la susceptibilité innée à la CU. A l'appui de cette hypothèse, le détournement des matières fécales hors du rectum aggrave l'inflammation, donnant lieu à la colite de déviation dans la CU (Paramsothy et al., 2019).

#### **I.4.2. Dysfonctionnement épithélial**

Avec l'observation histologique d'une inflammation sous-épithéliale, de nombreuses études impliquent une altération de la barrière épithéliale en tant que facteur pathogène de la CU. Cela se traduit par une altération ou une peptides antimicrobiennes, de motifs moléculaires associés à des lésions ou de mucus, ou de défauts physiques (ex : la perturbation des jonctions serrées épithéliales ou par une régénération ou une détoxification (McCauley et Guasch, 2015). Il existe un phénotype inné « à risque » ou l'exposition à des stimuli nuisibles supplémentaires tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Klein & Eliakim, 2010) (qui réduisent la synthèse des prostaglandines protectrices) et les composants alimentaires tels que les émulsifiants (qui réduisent l'épaisseur de la couche de mucus) (Chassaing et al., 2015) peuvent être le second déclencheur de la colite.

La dysbiose entraîne la perte de la production d'AGCC (Lloyd-Price et al., 2019), qui est essentielle à l'apport d'énergie épithéliale, la production de mucus et la prolifération dans le colon. C'est pourquoi des essais cliniques portant sur le butyrate, l'acide propionique, les prébiotiques (Benjamin et al., 2011), les acides gras essentiels, et de L-carnitine (Mikhailova et al., 2011), qui facilitent le transport des AGCC ont démontré une certaine efficacité dans le traitement de la CU (Hallert et al., 2003).

Au cours de la CU active, des cytokines pro-inflammatoires clés telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), l'interféron (IFN-  $\gamma$ ) et l'interleukine (IL-13) ont des effets délétères directs sur l'intégrité de la barrière épithéliale (Heller et al., 2008).

#### **I.4.2.1. Réponse immunitaire anormale**

Dans la CU active, il existe un milieu inflammatoire complexe de cellules immunitaires innées et adaptatives infiltrant la lamina propria. Les neutrophiles, premières cellules répondantes à court terme de vie, sont recrutés en abondance, avec l'histologie caractéristique des abcès de crypte dans la CU, où les neutrophiles transmigrent à travers l'épithélium du colon et meurent dans les cryptes du colon (Park et al., 2016).

L'environnement inflammatoire de la CU favorise la survie des neutrophiles (Taylor & Colgan, 2017). Cette survie intensifie son action inflammatoire et les dommages tissulaires par de nombreux moyens, dont la libération de dérivés et de protéases matricielles, d'espèces réactives de l'oxygène et de cytokines pro-inflammatoires (Angelidou et al., 2018). Le site fortement peuplé par les neutrophiles subit un processus de mort cellulaire pro-inflammatoire qui échappe à tout contrôle (nécrose, nécroptose), intensifiant ainsi l'environnement propice à l'inflammation (Dinallo et al., 2019).

Ceci est corroboré par des niveaux élevés de protéines s100a8/9 ou de calprotectine, habituellement présentes dans les neutrophiles, qui sont libérées dans le sang et dans les selles (D'Haens et al., 2012) et une réponse sérologique importante à l'auto anticorps cytoplasmiques périmucléaires, anti-p-neutrophiles dans la CU. Ces indicateurs indirects suggèrent probablement la mort incontrôlée des cellules neutrophiles (Kalla et al., 2016).

Les pièges extracellulaires des neutrophiles peuvent agir comme pour les molécules immunogènes qui soutiennent la réponse inflammatoire (Dinallo et al., 2019). Par conséquent, il existe un paradigme rationnel selon lequel, après l'initiation de la maladie, la vague

précédente de neutrophiles et de monocytes (avec leur répertoire de cytokines pro-inflammatoires, par ex la famille IL-1, IL-6 et TNF- $\alpha$ ) crée un environnement inflammatoire (nutritionnel, métabolique et cytokinique) qui favorise une réponse immunitaire adaptative pathologique (probablement des cellules T) (Friedrich et al., 2019).

Un tel milieu peut également façonner les monocytes inflammatoires qui viennent d'arriver, la fonction monocytes-macrophage, leur survie et leur phénotype. Et d'autres facteurs qui influencent la capacité de l'hôte à résoudre l'inflammation, à restaurer l'homéostasie et à réparer la muqueuse de la CU (Mowat et al., 2017).

#### **I.4.2.2. Réponse immunitaire anormale : adaptative**

Traditionnellement, la CU est associée à une réponse des lymphocytes T auxiliaires de type 2 (Th2) avec des taux élevés d'interleukine IL-4, IL-5 et IL-13, alors que la MC présente une réponse Th1/Th17 plus dominante. Des études antérieures qui montrent une diminution de l'IL-4 dans la CU, avec des cellules T tueuses naturelles limitées par le cluster de différenciation 1d (CD1d) produisant de l'IL-13, indiquent que la CU est une réponse Th2 (Teng et al., 2015).

Certains développements récents ont dépassé ce domaine. Il s'agit notamment de l'identification de l'IL-23 et ses gènes apparentés (Jostins et al., 2012), et la présence de cellules Th17 dans la CU (Kobayashi et al., 2008).

L'exemple du traitement anti-TNF d'abord utilisé dans MC et ensuite montré pour être également efficace dans CU, démontre qu'une approche transrationnelle sur profil Th-cytokine pur peut être trop simplifié (Smillie et al., 2019). En outre, bien que les clusters de différenciation 4 (CD4 T) soient considérées comme plus importantes dans les MICI pathogénèse, ce sont des signatures transcriptomiques de cellules T CD8 qui CU et CD adoptent une approche plus évoluée de la maladie agressive (Lee et al., 2011).

### **I.5. Colite induite par les produits chimiques**

#### **a) Colite à l'oxazolone**

La colite à l'oxazolone (CO) est induite par l'administration intrarectale d'un agent haptène connu sous le nom d'oxazolone haptène (4-éthoxyméthylène-2-phényl-2-oxazolin-5-one) dans de l'éthanol. Deux méthodes d'induction de l'CO sont actuellement employées pour susciter une réponse auto-résolutive aigüe ou chronique. La première est obtenue par l'administration

unique d'un lavement de CO, tandis que la seconde est précédée d'une sensibilisation cutanée cinq jours avant l'administration d'un lavement de CO, conduisant à une CO chronique.

La CO aigue et chronique chez la souris se caractérise par une inflammation superficielle de la muqueuse distale du colon, un volume élevé d'infiltrat inflammatoire (neutrophiles, macrophages, et lymphocytes), une déplétion des cellules gobelets, la formation d'œdèmes, une perte de cellules épithéliales, une hémorragie et une dilatation vasculaire. Ces caractéristiques histologiques, ainsi que la distribution du CO, ressemblent à la RCH humaine (Kasaian et al., 2014).

### **b) Colite induite par le TNBS**

Ce modèle préclinique utilise également l'administration intra-rectale d'un agent haptène dans l'éthanol : l'acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique (TNBS) à des souris entraîne une colite chronique, caractérisé par une diarrhée, perte de poids et prolapsus rectal, elle imite certaines caractéristiques de la MC chez l'homme. Bien que l'administration de TNBS entraîne des lésions chimiques aiguës de l'épithélium intestinal. Des réponses variantes sont apparentes chez les souris dans ce modèle de colite aigue, cette variance dépend de plusieurs facteurs, dont l'âge, la génétique, et la dose de TNBS (Fichtner-Feigl et al., 2005).

### **c) Colite induite par le dextran sulfate de sodium**

La colite induite par le dextran sulfate de sodium (DSS) est le modèle expérimental de colite le plus largement utilisé, établi par Okayasu et al. (1990), par l'administration de DSS d'un poids moléculaire de 40- 50 KDa dans l'eau potable. Les chercheurs pensent que le DSS forme des vésicules nano-lipidiques avec des acides gras à chaîne moyenne (AGMC) dans le colon, qui fusionnent avec les membranes des colonocytes, et augmentent les cytokines inflammatoires.

Un régime riche en graisses et en AGMC a entraîné la perte de poids, l'expression des cytokines inflammatoires et le raccourcissement du colon dans ce modèle (Laroui et al., 2012). Un jour après l'administration, les particules de DSS se trouvent systémiques dans les cellules de Kupffer du foie, dans les macrophages du ganglion lymphatique mésentérique et dans la lamina propria du gros intestin. L'administration de DSS se caractérise également par une érosion de l'épithélium intestinal, une infiltration inflammatoire du gros intestin et une dysbiose du microbiome intestinal (Randhawa et al., 2014). Bien que ces caractéristiques soient similaires à celles observées chez l'homme, l'inflammation transmurale apparente dans la colite est

absente dans ce modèle. La réponse inflammatoire dans la colite du DSS est caractérisée par une expression accrue de l'IL-1, de l'IL-6 et du facteur de nécrose tumorale (TNF) dans le colon (Kim et al., 2021).

#### **d) Colite induite par l'acide acétique**

La colite induite par l'acide acétique est un modèle couramment employé et facilement inductible. Elle présente un modèle de MICI qui ressemble aux MICI humaine en terme de pathogénèse, de caractéristiques histopathologies et du profil des médiateurs inflammatoires.

Elle est installée par une administration intra-rectal d'une solution d'acide acétique, provoquant une inflammation caractérisée par une infiltration accrue de neutrophiles dans le tissu intestinal, une nécrose des couches muqueuses et sous muqueuses, une dilatation vasculaire, œdème et une ulcération qui sont des caractéristiques symptomatiques de la colite chez l'homme.

Il a été prouvé que la forme protonée de l'acide libère des protons dans l'espace intracellulaire, ce qui induit une acidification intracellulaire importante en entraînant d'immenses dommages épithéliaux (da Costa Melo et al., 2021).

### **I.6. Les bioactives et leurs bénéfiques sur la santé**

#### **I.6.1. Les composants bioactifs**

Un aliment fonctionnel est constitué de composés qui sont biologiquement et physiologiquement actifs, ce qui procure des bénéfices pour la santé au-delà des capacités nutritionnelles (Ramakrishna et al., 2019). Les constituants de ces aliments qui sont responsables de leur fonctionnalité ont généralement été appelés « composés bioactifs ». Les composés bioactifs ont la capacité d'interagir avec un ou plusieurs composants en fournissant un large éventail d'effets potentiels et sont dérivés de sources végétales, animales ou autres, comme les micro-organismes (Shetty & Sarkar, 2019).

#### **I.6.2. Les peptides bioactifs**

La plupart des protéines de base alimentaire sont biologiquement inactives. Elles doivent être défragmentées en une séquence peptidique spécifique pour libérer leur potentiel biologique bioactif. Les peptides bioactifs sont constitués de 2 à 20 acides aminés et beaucoup d'entre eux

ont une masse moléculaire inférieure à 6000 Da. Ils ont des avantages dans les différentes fonctions physiologiques du corps humain, y compris antioxydant, anti-amnésique, immunomodulatrice et antithrombotique (Abdel-Hamid et al., 2017).

Les peptides bioactifs restent inactifs dans leur protéine précurseur. Ces peptides peuvent être libérés par des enzymes protéolytiques, exerçant des activités biologiques qui peuvent influencer la fonction physiologique de l'organisme (Mohanty et al., 2016).

De nombreux facteurs influencent la bioactivité des peptides, notamment la composition en acides aminés, qui contiennent généralement 3 à 20 résidus d'acides, la taille, la configuration et la masse moléculaire des séquences, ainsi que les conditions de traitement (Deniz et al., 2016).

### **I.6.3. Les huiles de poisson**

Les huiles de poisson sont une source importante d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI), dont l'acide eicosapentaénoïque (EPA ; 20 :5, n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA ; 22 :6, n-3) sont particulièrement pertinents en raison de leur importance en tant que composants structurels des membranes synaptiques du cerveau et de la rétine et de leur rôle dans le maintien de la santé de l'homme (Valenzuela et al., 2020). La composition en acides gras des poissons varie d'une espèce à l'autre, et est affectée par des facteurs tels que l'environnement et l'alimentation (Marsol-Vall et al., 2022).

### **I.6.4. Effets biologiques de poisson sur la santé humaine**

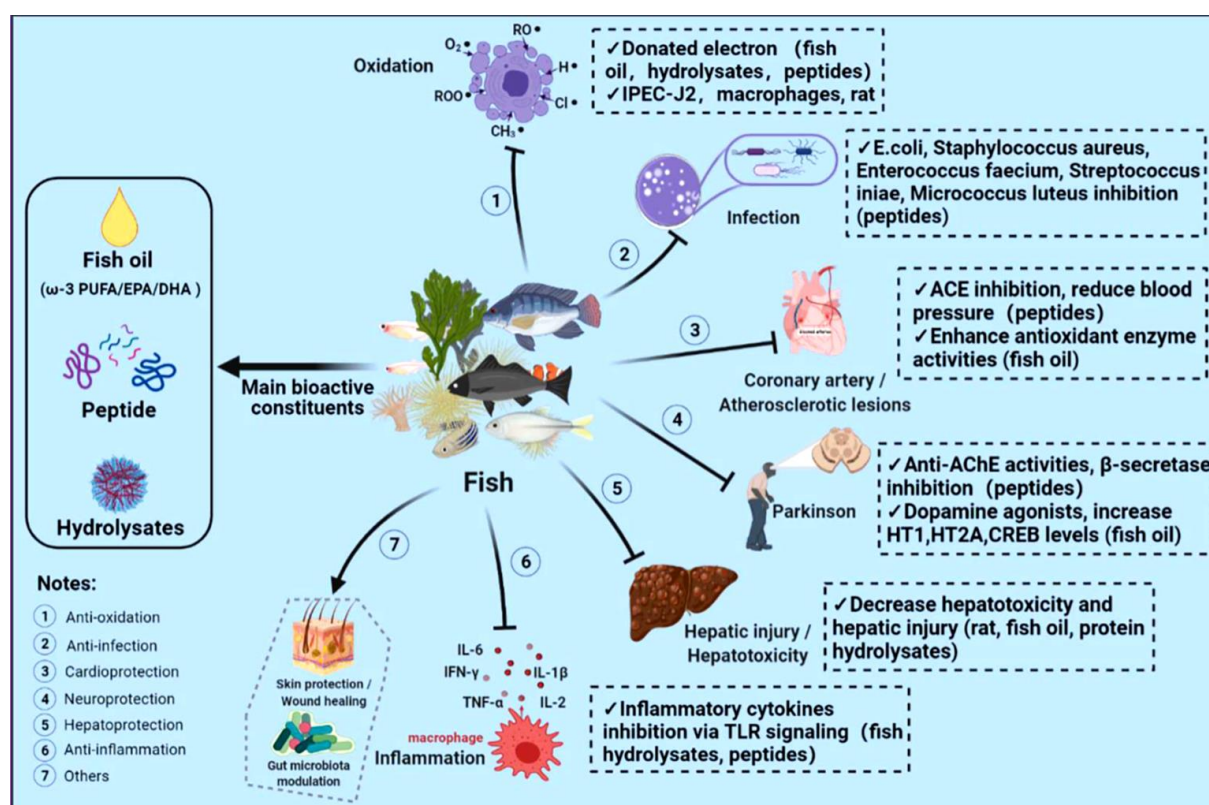
#### **I.6.4.1. Effet antioxydant**

L'évaluation des activités antioxydantes du poisson a été fréquemment étudiée par la méthode colorimétrique, y compris l'activité de piégeage des radicaux hydroxyle (HRSA), l'activité de piégeage du radical 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH), l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-1 et l'inhibition de la peroxydation lipidique (You et al., 2010).

De nombreuses études ont indiqué que les protéines extraites du poisson possédaient des activités antioxydantes. (Chi et al., 2015) ont indiqué que les activités antioxydantes ont été trouvées dans les hydrolysats de protéines de muscle noir du thon listao (*Katsuwonus pelamis*). Ainsi que, les hydrolysats de protéines de la chair de la loche (*Misgurnus anguillicaudatus*) possèdent des propriétés antioxydantes. Les activités enzymatiques antioxydantes des macrophages

pouvaient être augmentées par une supplémentation en huile de poisson. Zheng et al.(2018), ont découvert que l'hydrolysate isolé à partir de la gélatine de la peau du tilapia du Nil présentait une activité antioxydante efficace. Ces activités sont principalement apparues dans la partie comestible de la viande comme dans la partie des coproduits du poisson (Sila & Bougatef, 2016).

Jusqu'à présent, l'industrie alimentaire et les consommateurs sont davantage concentrés sur les antioxydants naturels dans l'espoir de remplacer les additifs synthétiques, les antioxydants de source naturelle semblent plus sûrs pour l'organisme humain et présentent des avantages pour la santé (Caleja et al., 2017) (Fig. 04).



**Figure 04 :** Mécanismes potentiels des avantages pour la santé de la consommation de poisson et de leurs constituants bioactifs correspondants. (Chen et al., 2022)

#### I.6.4.2. Effet antimicrobien

Les préoccupations liées à l'évolution des microorganismes résistants aux antibiotiques ont suscité un intérêt accru pour l'exploration de l'utilisation de peptides antimicrobiens dans la formulation de produits alimentaires fonctionnels et de médicaments. Néanmoins, de graves

maladies et infections sont souvent déclenchées par l'exposition à des bactéries pathogènes. La résistance aux médicaments antimicrobiens est devenue un problème d'envergure mondiale, suscitant des inquiétudes majeures à l'échelle internationale (Kajumbula et al., 2018).

Les poissons se sont avérés posséder une activité antimicrobienne à large spectre pour tuer les bactéries pathogènes. Des études ont démontré que le poisson était un agent thérapeutique moléculaire promoteur pour les activités antimicrobiennes et activités anti-infectieuses (Shabir et al., 2018).

De plus, les poissons vivent dans un environnement ouvert, avec une exposition directe aux agents pathogènes potentiels. Dans cette optique, la peau des poissons constitue donc une première ligne de défense essentielle contre de nombreux agents pathogènes présents dans l'environnement. De nombreux types de recherches ont également porté sur les activités antimicrobiennes des peptides isolés de la peau de poisson.

Seo et al. (2014), ont évalué l'effet du peptide avec séquence Ser-Xle-Gly-Ala-Pro isolée du thon listao (*Katsuwonus pelamis*) sur l'inhibition de l'infection de la peau de poisson. Ainsi que l'anchois, la sole, et la crevette contiennent des peptides antimicrobiens. Ces peptides contiennent généralement de 12 à 100 acides aminés, une petite taille et ont une charge nette positive, comme ils sont plus petits de taille, ils sont sécrétés plus rapidement à l'extérieur des cellules, ce qui favorise la résistance immédiate aux microbes pathogènes (Wang et Wang, 2004).

Les peptides issus de l'hydrolyse de poisson présentent aussi un comportement microbicide contre les bactéries, les parasites, et les champignons en détruisant la membrane protectrice. De plus, ils favorisent la croissance des monocytes, des lymphocytes, les lymphocytes T et des cellules dendritiques, ce qui contribue à l'immunité adaptative (Abd-Talib et al., 2022).

#### **I.6.4.3. Effet anti inflammatoire**

L'inflammation est une sorte de réaction de défense en réponse stimuli. En général, elle apparaît dans le corps lorsque les cellules ou les tissus subissent des lésions. Les monocytes et les macrophages sont un élément essentiel du système immunitaire inné (Liu et al., 2017). Par conséquent. Cependant, à ce jour, peu d'études ont fait état des activités anti-inflammatoires du poisson. De nombreuses études ont noté que le poisson possède des effets positifs sur les activités antioxydantes. De plus de nombreux chercheurs ont signalé que les activités

antioxydantes s'accompagnaient d'activités anti-inflammatoires (Chen et al., 2022). Des études *in vitro* ont évalué l'effet anti-inflammatoires, parmi eux une étude a montré que les hydrolysats du jus de cuisson du thon présentaient une activité anti-inflammatoire, cette activité a été évaluée en déterminant la sécrétion des cytokines IL-2, TNF- $\alpha$ , et TNF- $\gamma$  (Chen et al., 2021).

De plus, les poissons diététiques riches en acides gras ont été identifiés pour avoir potentiel en matière de propriétés anti-inflammatoires (Wall et al., 2010). Des recherches approfondies ont été menées sur une large gamme de protéines alimentaires ayant des propriétés anti-inflammatoires.

Les peptides des protéines de poisson peuvent atténuer la production de monoxyde d'azote (NO) et de prostaglandine, supprimant ainsi l'expression protéique de l'enzyme synthase de l'oxyde nitrique inductible et cyclooxygénase-2.

En outre, les peptides obtenus à partir de protéines végétales comme le blé, ont été associés à des propriétés anti-inflammatoires. Cependant, certains peptides, comme par exemple, la Lunasin (Oyama et al., 2017), un peptide de 43 acides aminés, s'est avéré avoir de puissants effets anti-inflammatoires contre l'inflammation induite par des produits chimiques dans les entérocytes, les macrophages et les hépatocytes (Fernández-Tomé et al., 2014).

Des résultats similaires ont été enregistrés sur des cellules humaines (Kératinocyte, ostéoblaste, et chondrocyte) en utilisant un hydrolysat de collagène de poisson et d'hippocampe (*Hippocampus kuda*). Une diminution de l'expression des gènes TNF- $\alpha$  et IL-6, associée à une diminution de l'infiltration de macrophages M1 a été remarquée dans les tissus adipeux chez des souris obèses (diète HFHS) supplémentées par un hydrolysat de saumon (Chen et al., 2022).

Le poisson a une efficacité thérapeutique potentielle en tant que médecine complémentaire. De nombreuses études ont suggéré que le poisson et les produits dérivés du poisson pourraient être un candidat promoteur pour de nombreux effets bénéfiques pour la santé (Parolini, 2019). Des chercheurs ont montré que la consommation de poisson pourrait avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine.

#### **I.6.4.4. Effet neuroprotecteur**

Le système nerveux central est la partie essentielle du système nerveux, principalement dans la moelle épinière et le cerveau, fonctionnant généralement dans l'apprentissage, la mémoire et le contrôle du comportement. La maladie de Parkinson (MP) et la maladie d'Alzheimer (MA) sont deux types de maladies neurodégénératives liées au vieillissement du système nerveux central.

De nombreuses recherches indiquent que le poisson possède un potentiel thérapeutique diététique dans le traitement de la MP et de la MA. [Xu et al. \(2015\)](#) ont rapporté que les peptides de collagène marin provenant du saumon avaient une action anti-acétylcholinestérase (AChE) dans l'hippocampe des rats atteints d'asphyxie périnatale. AChE est un type d'enzyme qui joue un rôle dans la neurotransmission. Il a été rapporté que les inhibiteurs d'AChE pourraient être considérés comme une sorte de thérapie d'Alzheimer ([Singh et al., 2013](#)).

Une autre recherche a également évalué que les peptides Gln-Gly-Try-Arg-Pro-Leu-Arg-Gly-Pro-Glu-Phe-Leu avec un poids moléculaire de 1391 Da et le térapeptide Pro-Glu-Phe-Leu isolé à partir de raie (*Raja kenoei*), ont présenté une forte activité inhibitrice de la  $\beta$ -sécrétase. La Bêta-amyloïde joue un rôle critique précoce dans la pathogénèse de la MA ([Vassar, 2016](#)).

#### **I.6.4.5. Effet cardio-protecteur**

Les maladies cardiovasculaires sont l'une des principales causes de décès dans le monde, notamment les maladies coronariennes, les crises cardiaques, les maladies artérielles et l'athérosclérose ([Tørris et al., 2018](#)). L'apport en acides gras polyinsaturés à longue chaîne oméga-3 isolés à partir d'huile de poisson peut améliorer le risque cardiovasculaire ([Zeng et al., 2017](#)), dans une autre étude, ont également démontré que la consommation de poisson est associée à un risque réduit d'accident vasculaire cérébral et de maladie coronarienne ([Bonaccio et al., 2017](#)).

Les maladies cardiovasculaires s'accompagnent généralement d'une hypertension ([Lafeber et al., 2016](#)). Le peptide inhibiteur (Gly-Leu) isolé du saumon (*Oncorhynchus keta*) pouvait diminuer significativement la pression sanguine systolique chez des rats spontanément hypertendus ([Lee et al., 2014](#)). Beaucoup de chercheurs ont suggéré que les peptides et les huiles isolées du poisson ont une fonction cardioprotectrice bénéfique pour le traitement des maladies cardiovasculaires en tant qu'aliments fonctionnels ou produits pharmaceutiques.

#### **I.6.4.6. Effets sur la peau**

Les poissons présentent de nombreux d'autres avantages pour la santé, tels que la cicatrisation des plaies de la peau (Chen et al., 2019). Des études ont montré que l'arginine et les acides gras polyinsaturés oméga-3 présents dans le poisson ont démontré une intense efficacité sur les infections et la cicatrisation des plaies (Sahid et al., 2018).

Le poisson est riche en AGPI, et les principaux mécanismes des AGPI pour atténuer l'inflammation cutanée sont l'antagonisme avec l'acide arachidonique inflammatoire et la suppression de la production d'eicosanoïdes pro-inflammatoires. En particulier, les acides gras présents dans le poisson ont montré divers avantages pour la peau, tels que la fonction de barrière de la peau, la réduction de l'hyperpigmentation, l'amélioration de la cicatrisation et la dermatite (Huang et al., 2018).

# ***CHAPITRE II***

## ***Matériels et Méthodes***

## **CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **II. 1. Matériel biologique**

Le thon rouge de la Méditerranée (*Thunnus thynnus*) et le poulpe (*octopus vulgaris*) ont fait l'objet de cette étude. Les poissons sont pêchés au niveau des côtes Algériennes et nos échantillons ont été achetés du marché de la ville de Mostaganem, entre le mois juillet et Aout pour le thon rouge, et le mois d'Octobre pour le poulpe, pendant l'année 2020. Ensuite, ils ont été transportés au laboratoire dans des conditions réfrigérées.

### **II. 2. Préparation de la farine de muscle de thon rouge**

Au niveau du laboratoire, les échantillons de thon ont été fraîchement décortiqués dont l'os et la peau ont été enlevés, et le muscle a été lavé puis les filets ont été récupérés, et broyés à l'aide d'un mixeur industriel Moulinex (Modèle DPA141, 1000 W) à vitesse moyenne à température ambiante. Le muscle broyé a été séché dans l'étuve à 80°C pendant 20 min (Azizi Khesal et al. 2020), pour permettre la libération des huiles et de l'eau. Après l'écoulement de cette période le mélange est immédiatement pressé pour éliminer la partie liquide de la partie solide. L'échantillon solide est réintroduit dans l'étuve à une température de 45°C pendant 24h puis broyé à l'aide d'un blinder pour obtenir la farine de muscle de thon ( Guérard et al., 2002; Khelladi et al., 2018)

#### **II.2.1. Extraction de l'huile de thon**

L'extraction soxhlet représente la méthode d'extraction la plus fréquemment employée en laboratoire, se basant sur le principe de l'extraction solide-liquide. Elle implique généralement plusieurs phases, à savoir le prétraitement des matières premières, l'extraction de l'huile, le processus de lavage, et enfin la désolvation. Les solvants organiques utilisés dans cette technique sont généralement des solvants apolaires, notamment l'hexane (Adeoti et al., 2014).

L'huile a été extraite de la farine de thon rouge à l'aide de dispositif soxhlet, en utilisant l'hexane comme réactif d'extraction à 50°C pendant 6 heures. 25g de farine de thon ont été introduites dans chaque cartouche filtrante de dispositif, puis placées dans les siphons de l'appareil (Figure 05). Des ballons de 250ml d'hexane sont placés sur la plaque chauffante. La température est ajustée à 100°C, et une fois que l'hexane est atteint son point d'ébullition, la

température est baissée à 50°C, et l'extraction dure environ 6 heures, jusqu'à ce que le solvant qui se trouve dans les siphons devient transparent (Alara et al., 2019).

Après récupération des ballons, et refroidissement à température ambiante, la matière grasse est récupérée par évaporation de l'hexane à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C pendant 20 minutes. Une fois refroidi, les ballons contenant la matière grasse sont pesés, et le produit final est conservé dans des flacons en plastiques.

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Matière grasse}\% = [(M2 - M0) / M1] \times 100$$

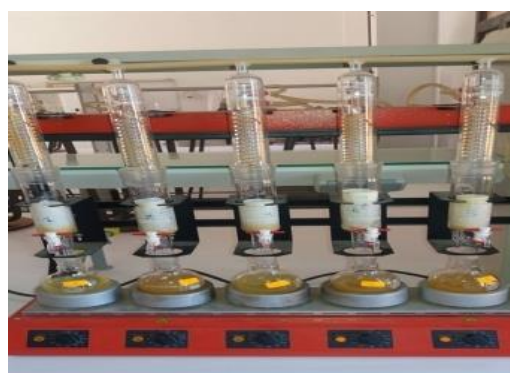
M0= Masse en gramme du ballon vide

M1= Masse en gramme de la prise d'essai

M2= Masse en gramme de ballon après extraction et séchage



**Farine  
de poisson**



**Délipidation de la  
farine**



**Huile de thon**

**Figure 05** : Processus de l'Extraction et produit final de l'huile de thon

## **II.2.2. Hydrolyse enzymatique de la farine du muscle de thon**

Le but de cette étape est de cliver les protéines contenant dans le muscle de poisson par le biais d'une enzyme protéolytique afin de libérer les peptides bioactifs. Comme il est important de travailler dans des conditions de températures et de pH adaptées et bien contrôlées à l'enzyme utilisée, la méthode pH-stat développée par [Adler-Nissen \(1986\)](#) est utilisée dans cette étude, pour réaliser l'hydrolyse enzymatique. Elle consiste à maintenir le pH constant par l'ajout de l'hydroxyde de sodium (NaOH) lors de l'hydrolyse enzymatique, et la quantité de soude consommée permet de calculer le degré d'hydrolyse.

L'enzyme utilisée dans ce travail est l'Alcalase 2.4L (Sigma Aldrich, Danemark). Cette enzyme est produite par la fermentation d'une souche *Bacillus licheniformis*. C'est une protéase alcaline de type sérine dont le principal constituant est la subtilisine A, cette endo-peptidase a une activité stéréosélective d'aminocésures importante. Les conditions optimales pour l'utilisation de l'Alcalase sont définies comme suit : une température comprise entre 55°C et 70°C, l'échelle du pH varie de 7 à 10 dont l'optimum est un pH de 8. A la fin de l'hydrolyse, l'enzyme est inactivée par un chauffage à 80°C pendant 5 minutes.

### **II.2.2.1. Préparation de l'hydrolysate de protéines**

La farine délipidée de thon rouge est solubilisée dans l'eau distillée (V/3V), dans un appareil à double paroi et à réservoir agité, le substrat est homogénéisé par l'agitation à 7000 tours/min. Dès que la température atteint 55°C, le pH initial de la solution est ajusté, à un pH de 8, avec l'ajout d'une solution de NaOH à 1N. Après stabilisation du système aux conditions optimales pour l'action de l'enzyme, l'hydrolyse enzymatique est initiée par l'ajout de l'Alcalase 0,1% (V/V), le pH doit être contrôlé et maintenu (Fig. 06). La quantité de soude dépend de la concentration des protons H<sup>+</sup> libérés pendant le déroulement de la réaction enzymatique. Pour l'inactivation de l'enzyme après 6 heures de réaction, la température est augmentée à 80°C pendant 5 minutes, les hydrolysats sont par la suite centrifugés à 6000xg pendant 30 minutes à 4°C pour séparer les fractions insolubles et solubles, cette dernière est lyophilisée et stockée à -20°C pour une utilisation ultérieure (fig. 07).

### **II. 2.2.2. Calcul du degré d'hydrolyse**

Le degré d'hydrolyse (DH) exprime le taux d'hydrolyse, il est déterminé par le nombre de liaisons peptidiques clivées du nombre total de liaisons peptidiques. L'hydrolyse complète

d'une protéine en acides aminés libre à une valeur DH de 100%, tandis qu'une protéine intacte a un DH de 0%.

Le degré d'hydrolyse est déterminé selon Adler-Nissen (1986), par une équation définie comme étant le nombre de liaisons peptidiques hydrolysées sur le nombre de liaisons peptidiques par unité de masse :

$$DH = [(V \cdot N_B) / (M_P \cdot \alpha \cdot h_{tot})] \cdot 100$$

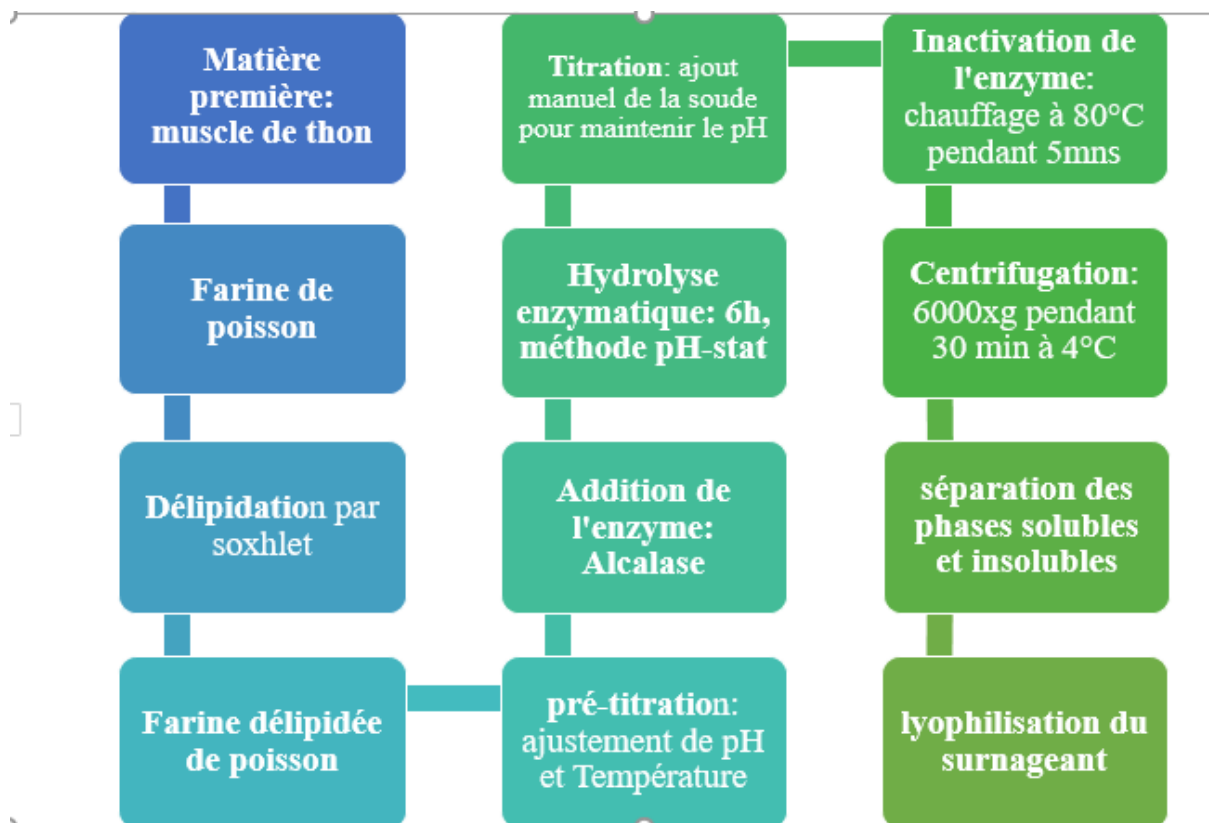
V : volume de soude consommé durant l'hydrolyse (ml)

N<sub>B</sub> : Normalité de la soude (mM)

α : Facteur de dissociation des groupements α-NH<sub>2</sub>

M<sub>p</sub> : Masse protéique dans la matière fraîche (g) déterminée par la teneur en azote total (% N) x 6,25

h<sub>tot</sub> : nombre total de liaisons peptidiques dans la protéine (éq.g.kg<sup>-1</sup>)



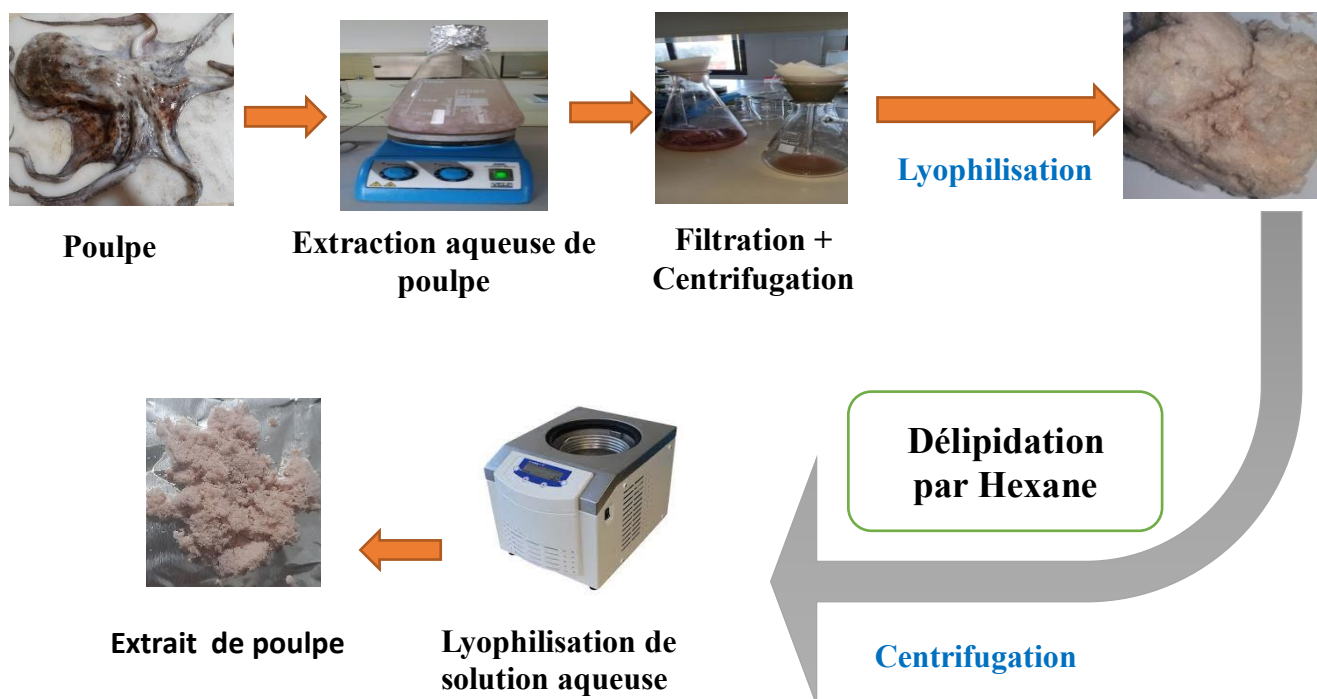
**Figure 06** : Hydrolyse enzymatique de la farine de muscle de thon par l'enzyme Alcalase



**Figure 07** : Produit fini de l'hydrolyse enzymatique des peptides de thon

### II. 3. Préparation de l'extrait aqueux de poulpe

200g de poulpe lavés préalablement sont broyés, ensuite ajouter à 500 ml d'eau distillée, ce mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures. Après l'écoulement du temps, le mélange du poulpe et d'eau distillée est récupéré et filtré par un papier filtre Wattman n°1, le filtrat qui contient l'hydrolysate de poulpe est centrifugé à 4000xg pendant 15 minutes, le surnageant est récupéré puis lyophilisé pendant 72 heures. Pour la délipidation, l'extrait lyophilisé est dissous dans l'eau distillée (150 ml), un volume adéquat d'hexane est ajouté, le tout est agité puis centrifugé à 10000 x g pendant 5 minutes à température ambiante. Le surnageant est éliminé, et la solution aqueuse est lyophilisée (Maselli et al. 2020) (fig. 08).



**Figure 08** : Extraction aqueuse à partir de poulpe

## **II. 4. Analyse des acides gras d'huile de thon par chromatographie en phase gazeuse GC-MS couplée à la spectrométrie de masse**

L'analyse de l'échantillon lipidique a été réalisée au niveau de centre de recherche pour analyse physico-chimique de Ouargla, l'appareil utilisé est un chromatographe (TQ8040NX) couplé à un spectrophotomètre de masse, l'échantillon a été séparé sur une colonne capillaire (30 mètres, 0,25 mm ID, 0,25µm) garnie de 5% diphenyle, 95% dimethyl polysiloxane. Les températures de l'injecteur et de détecteur sont fixées à 260°C (Song et al. 2019).

## **II. 5. Analyse de Tocophérol présent dans l'huile de thon par HPLC**

Pour la détermination de tocophérol présent dans l'huile de thon rouge, un système HPLC, équipé d'une colonne Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6X250mm ; 5µ) PN : 959990-902, la phase mobile utilisée était du (A) : N-Heptane et de (B) : Propanol2 (95/ 5%: A/B). Volumes d'injection était de 05µl, le débit était de 0,8ml/min, et la température de four était de 40°C. Les résultats ont été enregistrés par un détecteur FLD. α, β, γ et δ Tocopherol- synthetic, ≥ 96% (HPLC) ont été utilisés comme standard (Huang et al. 2021).

## **II. 6. Evaluation *in vitro* des activités biologiques des différents substrats**

### **II. 6. 1. Détermination de l'activité antioxydante**

Le DPPH (2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène. DPPH radical scavenging assay est déterminé selon la méthode de (Memarpoor-Yazdi et al., 2012), des dilution ont été préparées à partir de la solution mère, 2 mg de chaque échantillon (peptides de thon, extrait de poulpe et glutamine) dans 2ml d'eau distillée. Tandis que pour l'huile de thon, 2 mg ont été dissous dans 2 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO). 200 µl de chaque échantillon ont été mélangés avec 600 µl de méthanol et 200 µl de solution DPPH préparés en avance (0.15mM dans le méthanol), le mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance de mélange a été déterminée à 517nm par un spectrophotomètre UV-visible. L'échantillon de contrôle est réalisé avec 800µl de méthanol et 200µl de DPPH (0.15mM). Pour valider les résultats, chaque essai est répété trois fois. On a pris éthylène diamine tétra acétique (EDTA) comme témoin. Les résultats d'absorbance obtenus ont été convertis en taux de pouvoir anti-radicalaire (RSA %) de DPPH selon l'équation suivante :

$$\text{RSA} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

IC50 est défini comme la concentration nécessaire de chaque substrat pour réduire 50% des radicaux DPPH. La valeur d'IC50 de chaque substrat a été déterminée à partir de tracé graphique de l'activité par rapport à différentes concentrations des substrats testés.

## **II. 6. 2. Détermination de l'activité anti inflammatoire**

### **II. 6. 2. 1. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humaines (HRBC)**

L'activité anti inflammatoire *in vitro* de la stabilisation de HRBC de chaque substrat étudié a été effectuée selon la méthode de (Chirumamilla et al. 2022).

Le sang a été prélevé d'un volontaire humain en bonne santé et qui n'avait pas pris d'AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien) pendant deux semaines avant l'expérience. Il a été additionné à un volume égal de solution Alsever stérilisé (2% dextrose, 0.8 sodium citrate, 0.05% acide citrique, et 0.42% chlorure de sodium dans 100 ml d'eau distillée, et le pH de la solution a été ajusté à 6 et 7). Après une légère agitation, le mélange a été centrifugé à 3000rpm pendant 10 min, puis les cellules emballées ont été lavées avec une solution saline 0.9%. Une suspension de HRBC 10% (V/V) dans une solution iso saline est préparée et utilisée ultérieurement.

La solution d'essai est composée de 1ml tampon phosphate salin (PBS), 2 ml d'eau physiologique 0.36%, 0.5 ml de la suspension HRBC et 1ml de solution de concentrations variées de différents substrats (0.37, 0.75, 1, 1.5, 2 et 3mg/ml).

Le test contrôle est composé de 1ml de tampon phosphate et 2ml d'eau et 0.5ml de HRBC. Le diclofenac sodique a été utilisé comme médicament de référence avec les mêmes concentrations.

Tous les mélanges d'essai ont été incubés à 37°C pendant 30 min, puis centrifugés à 3000rpm pendant 30 minutes. L'hémoglobine présent dans le liquide surnageant a été estimée par un spectrophotomètre à 560 nm. Le pourcentage d'hémolyse a été estimé en supposant que l'hémolyse produite dans le contenu était 100%. Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane a été calculé en utilisant la formule suivante

$$\text{Pourcentage de protection} = [100 - (\text{densité optique de l'échantillon} / \text{densité optique du contrôle})] \times 100$$

## **II. 6. 2. 2. Méthode d'inhibition de la dénaturation protéique**

Une série de dilution a été préparée à partir d'une solution mère de 12.5mg de différents substrats (Peptides de thon, extrait de poulpe et glutamine) dans 5ml d'eau distillée ou bien DMSO pour l'huile de thon afin d'obtenir des concentrations de 2.5, 1.2, 0.6, 0.3, 0.15 et 0.05 (mg/ml)., Dans des tubes à essais, 2 ml de chaque échantillon ont été mélangés avec 200µl de blanc d'œuf et 2.8 ml PBS d'un pH 6.4. Cette étape a été succédée par l'incubation des tubes à 37°C pendant 15 min et par chauffage au bain marie pendant 5 min à 70°C. Après refroidissement des solutions, la densité optique est mesurée à 660nm. Le diclofenac est considéré dans cette expérience comme test de contrôle (Mirke et al., 2020).

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = 100 \times (V_t/V_c - 1)$$

$V_t$ : absorbance d'échantillon

$V_c$ : absorbance de contrôle

## **II. 7. Expérimentation *in vivo* des effets préventifs de produits bioactifs sur la colite intestinale**

L'étude a été réalisée sur des rats males albinos Wistar issues de l'institut Pasteur d'Alger, pesant entre 80 et 100g lors de la réception. Les rats ont été logés dans des cages en polypropylène en raison de cinq rats par cage, et ils ont été soumis à une période d'adaptation de 7 jours dans des conditions de laboratoire standard, à une température de (25 ± 2°C), et un cycle de lumière-obscurité de 12 heures. Les animaux ont reçu un régime alimentaire standard et l'eau *ad libitum* pendant toute la période d'expérimentation.

### **II.7.1. Conception de l'étude**

Après la période d'adaptation, les animaux ont été pesés et 19 lots ont été mis en place comme suit (Fig.10) :

#### **II.7.1.1. Les lots témoins**

- **Lot 1 (témoin négatif)** : les rats ont reçu que de l'eau distillée
- **Lot 2 (témoin positif)** : Introduction rectale d'une monodose de 1ml d'acide acétique (AA) à 5% (V/V) par rat afin d'induire la colite intestinale.

### **II.7.1.2. Les lots du traitement curatif de la colite intestinale**

Tous les rats des différents lots de traitement curatif sont soumis à une induction de la colite intestinale par l'introduction d'une monodose de 1ml d'acide acétique (5%) par voie rectale le premier jour de l'expérience puis traités par les différentes doses de traitement explorés dans cette étude à savoir (Hydrolysats de peptides de thon, huile de thon, extrait de poulpe, glutamine, et sulfasalazine) durant 7 jours successives.

- **Lot 3 :** les rats de ce lot, sont traités par un médicament pharmaceutique (sulfasalazine 500mg/Kg) par gavage quotidien pendant 7 jours ([Rafeeq et al., 2021](#)).
- **Lots 4 et 5 :** la colite a été induite tout d'abord chez les rats, Par la suite, ils reçoivent le traitement sous forme de peptides de thon (PT) par gavage à des doses de 100mg/Kg et 400mg/Kg, respectivement ([Ben Slama-Ben Salem et al., 2018](#)).
- **Lots 6 et 7 :** Après l'induction de la colite, un traitement de doses différentes de l'extrait de poulpe (PP) (100mg/Kg et 400mg/Kg, respectivement) a été établi ([Ben Slama-Ben Salem et al. 2018](#)).
- **Lots 8 et 9 :** Les rats ont été traités de la colite par l'huile de thon (HT) à deux doses différentes (100mg/Kg et 260mg/Kg respectivement) pendant 7 jours ([Zhang et al., 2020](#)).
- **Lots 10 et 11 :** Un traitement de deux doses différentes de glutamine (Glu) (400mg/Kg et 1000mg/Kg) pendant 7 jours ,a été introduit par gavage chez les rats atteints de colite ([de Oliveira Santos et al., 2021](#)).

### **II.7.1.3. Traitement préventif de la colite intestinale**

Les rats sont dopés par les différents traitements testés dans cette expérimentation (Hydrolysats de peptides de thon, huile de thon, peptides de poulpe et glutamine), pendant 7 jours, le dernier jour la colite intestinale a été induite par la monodose rectale de 1ml d'acide acétique.

- **Lots 12 et 13 :** les rats reçoivent des doses de peptides de thon (100mg/Kg et 400mg/Kg respectivement) par gavage pendant 7 jours successives, puis ils subissent une injection d'acide acétique (J7)
- **Lots 14 et 15 :** les rats ont reçu le prétraitement avec deux doses différentes de l'extrait de poulpes (100mg/Kg et 400mg/Kg, respectivement) pendant 7 jours, puis la colite a été induite le dernier jour.

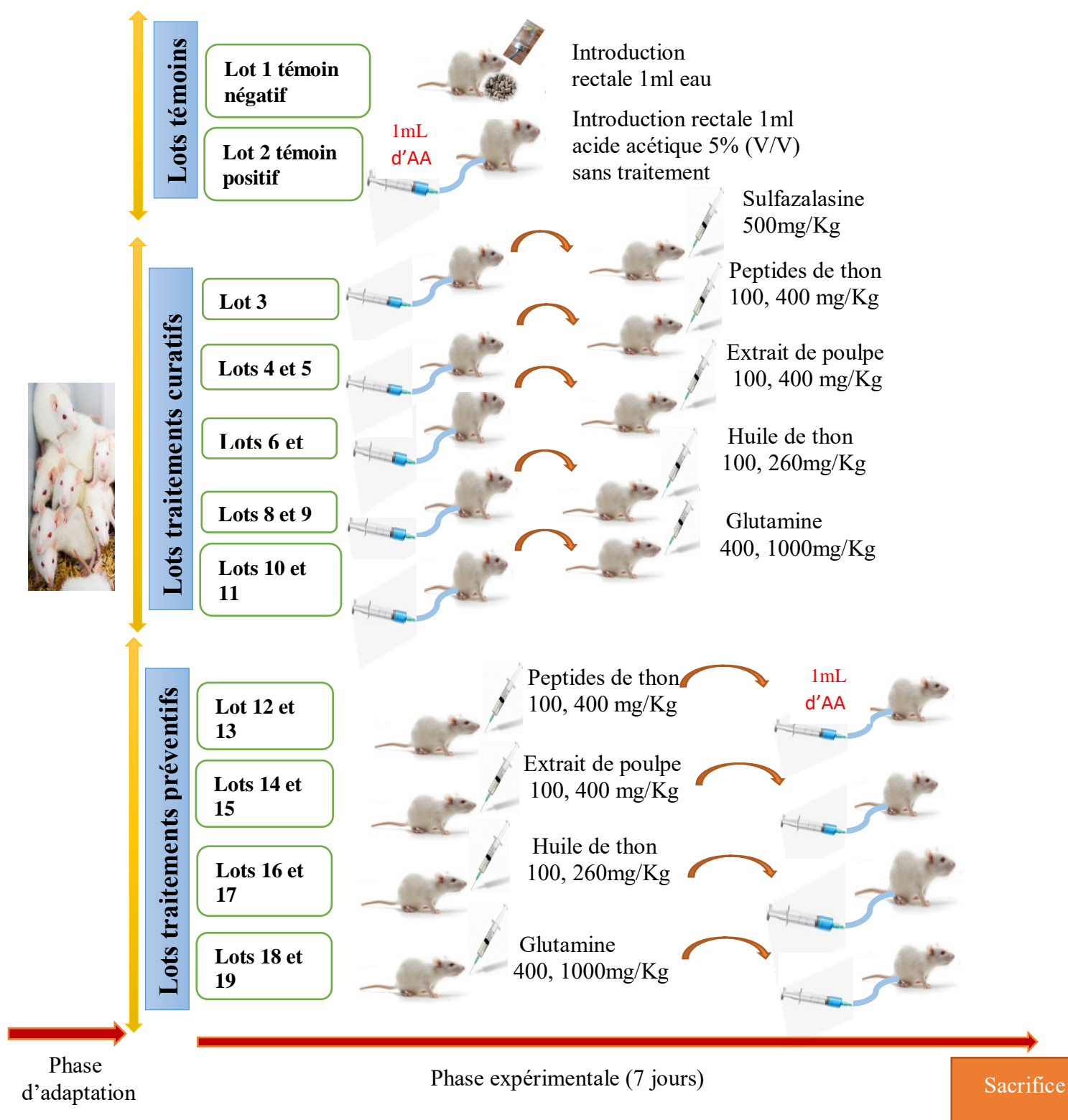
- **Lots 16 et 17** : les rats ont reçu un prétraitement de deux doses différentes de l'huile de thon (100mg/Kg et 260mg/Kg, respectivement) pendant 7 jours, avant de provoquer la maladie.
- **Lots 18 et 19** : un prétraitement de deux doses différentes de glutamine (400mg/Kg et 1000mg/Kg, respectivement) a été administré aux rats pendant 7 jours avant l'installation de la maladie.

## **II. 7. 2. Induction de la colite**

Chaque rat des groupes de traitements a été mis à jeune pendant 16 heures puis anesthésié avec le chlorhydrate de kétamine chlorure (150mg/Kg poids corporel) par voie intra-péritonéale, la colite intestinale a été induite par l'administration intra rectale de 1ml de l'AA à (5% V/V) (Ansari et al., 2021), à cette fin une sonde intra-rectale lubrifiée a été introduite soigneusement dans le rectum de chaque rat mis à jeune d'une façon de pénétrer jusqu'à 6-8 cm dans l'anus après avoir fixé le rat en position de Trendelenburg. Les animaux ont été maintenus par la suite, pendant 30 secondes en position renversée afin d'éviter l'expulsion rectale de l'AA. En fin de manipulation chaque rat a été lavé avec une solution saline pour neutraliser la sévérité de l'AA (fig. 09).



**Figure 09** : Technique d'induction de la colite intestinale chez les rats



**Figure 10 :** Schéma illustratif de la période expérimentale de l'induction et traitement de la colite chez les rats Wistar conventionnels.

### **II.7.3. Paramètres contrôlés**

Le paramètre d'indice d'activité de la maladie (IAM) a été évalué pour chaque rat dès le début de l'expérimentation.

A la fin de traitement et de la période d'expérimentation, le sang de chaque rat a été prélevé et le sérum est conservé à -80°C afin d'estimer les indicateurs liés au stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH) et le catalase (CAT) et peroxyde dismutase (SOD). Ensuite à l'aide de chloroforme les animaux ont été euthanasiés, le colon a été isolé attentivement et rincé avec de l'eau physiologique glacée 3 fois, ensuite sa longueur et son poids ont été mesurés, en plus de l'analyse macroscopique et microscopique des colons isolés, les paramètres du stress oxydatif colique (CAT, GSH, SOD et MDA) ont été évalués.

#### **II .7. 3.1. Score de l'indice de l'activité de la maladie**

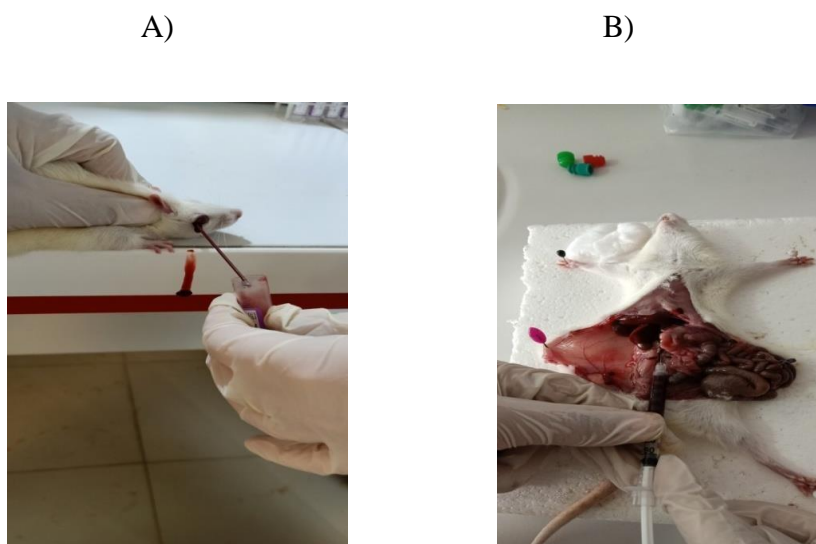
Le poids corporel, la consistance et l'état de la matière fécale des animaux, la présence ou absence de sang dans le rectum, entre le moment de l'induction de la colite et l'euthanasie ont été évalués (Xiang et al., 2021). Afin d'estimer l'IAM, la valeur moyenne des paramètres ci-dessus a été prise en compte, les critères spécifiques ont été présentés dans le tableau 02.

**Table 02** : Score d'indice de l'activité de la maladie (IAM). (Xiang et al., 2021)

Score IAM	Score Perte de poids	Score consistance des selles	Score des saignements
0	0	Normale	Pas de saignement
1	1-5	Selles molles	Saignement léger
2	5-10	-	-
3	10-15	diarrhée	Saignement brut important
4	>15	-	-

#### **II. 7. 3.2. Sacrifices des animaux et prélèvement du sang et des organes**

En fin de période d'expérimentation, les rats ont été mis à jeun pendant une nuit. Ils étaient sacrifiés par décapitation. Le sang a été recueilli dans des tubes d'EDTA destiné au dosage des paramètres hématologiques, et des tubes héparine pour le dosage des paramètres biochimiques de l'inflammation. Ensuite, le colon a été prélevé, rincé avec l'eau physiologique et conservé dans du formol, la rate a été récupérée, sa taille et son poids ont été mesurés (Fig. 11).



**Figure 11** : Prélèvement de sang par le sinus de l'œil (A) et par ponction cardiaque (B)

### **II.7.3.3. Evaluation macroscopique des lésions coliques**

Evaluation des lésions macroscopiques coliques telles que le raccourcissement, l'épaississement, l'œdème, le saignement, l'hyperémie, les érosions et la nécrose de la muqueuse ont été effectuées. Ces lésions ont été classées comme normales, légères, modérées et sévères. Ainsi la détermination du rapport poids/longueur du colon et de la rate a été enregistrée ( Morris et al., 1989 ; Millar et al., 1996 ).

### **II.7. 3.4. Détermination biochimique de l'inflammation dans le sérum**

Le sang a été prélevé dans des tubes spécifiques, puis ils ont été centrifugé (4°C) à 3000 tours/minute, le sérum a été récupéré (Rafeeq et al., 2021). Les taux du MDA, SOD, CAT et GSH sériques ont été mesuré à l'aide des Kits de dosage immuno-enzymatique (ELISA) (Cell Biolabs, San Diego, CA, USA) conformément aux instructions du fabricant.

### **II. 7. 3.5. Détermination biochimique de l'inflammation du colon**

#### **A.Préparation d'homogénats tissulaires**

Les tissus du colon excisés dans tous les groupes de traitement des animaux ont été homogénéisés avec un tampon phosphate réfrigéré (0,1M ; pH 7,4), ensuite ces homogénats de tissus ont été centrifugés à 700 g à 4°C pendant 10 minutes pour séparer les débris nucléaires.

Les surnageants obtenus ont été centrifugés à 9000 g à 4°C pendant 20 minutes pour isoler le surnageant post-mitochondrial (SPM) (Imam et al., 2016).

Le niveau de glutathion total (GSH), d'activité enzymatique de la catalase (CAT) et superoxyde dismutase (SOD) des tissus a été évalué dans les SPM de l'homogénat du colon de l'ensemble des rats expérimentaux.

## **B. Evaluation de l'activité de peroxydation des lipides**

Pour évaluer les niveaux de malondialdéhyde colique (MDA), un volume de 0,25 ml d'homogénat a été incubé pendant 1h à 37°C, additionné à 0,5 ml de TCA refroidi à 5% (p/v) et 0,5 ml d'acide thiobarbiturique à 0,67 %, le tout est centrifugé (1000 tours, 15 minutes), le surnageant obtenu a été placé dans un bain mari bouillant pendant 10 min, l'absorbance de la couleur rose développée a été mesurée à 535 nm (Esterbauer et al., 1990).

### **II. 7. 3. 6. Evaluation des niveaux d'antioxydant**

L'évaluation de GSH a été faite selon la méthode de Jollow et al. (1974), 1 ml de GSH a été précipité avec 1ml d'acide sulfosalicylique (4%), ensuite incubé à 4°C pendant 1h. Les échantillons ont été centrifugés (1200 tours pendant 15 min à 4°C), le mélange de l'essai contenait 0,1 ml de surnageant, 1ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) et 0,2 ml d'acide dithio-bis-2-nitrobenzoïque (0,4 %) dans un tampon phosphate, 0,1 M, pH 7,4 dans un volume total de 2 ml. L'absorbance a été lue à 412 nm dans les 5 minutes après l'ajout de DTNB aux mélanges réactionnels.

En présence de catalase, la décomposition de peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Pour déterminer les niveaux de CAT, le milieu réactionnel contient 1,95 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4), 1 ml de peroxydase d'hydrogène (0,019 M) et 0,05 ml de SPM, l'absorbance a été suivie chaque minute pendant 5 minutes à 240 nm (Ain et al., 2019).

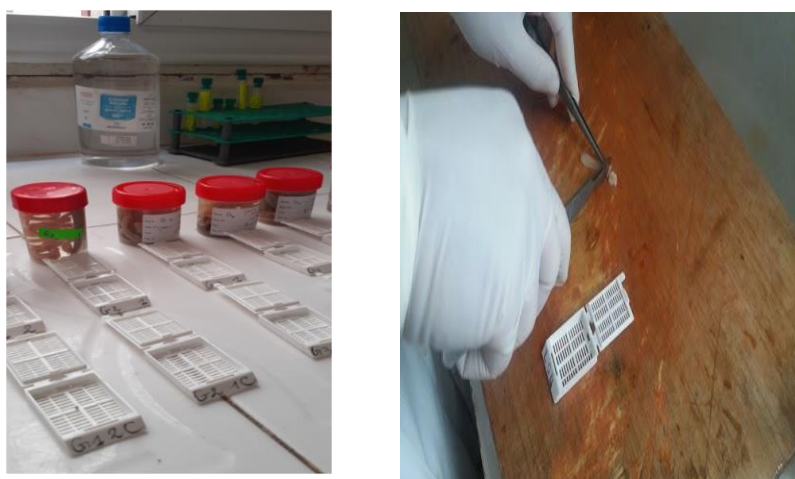
L'activité superoxyde dismutase (SOD) a été mesurée en utilisant un sel de tétrazolium pour la détection des radicaux superoxydes générés par la xanthine oxydase et l'hypoxanthine, et la lecture a été faite à 340nm (Bastaki et al., 2022).

## **II. 7. 4. Evaluation microscopique de la RCH**

L'étude histologique a été réalisée au sein du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital « Cheguivara » de Mostaganem, et elle est représentée par les différentes étapes suivantes :

- **Fixation** : juste après le prélèvement, la fixation est réalisée pour éviter toute décomposition (altération microbienne) ou autolyse (dégradation tissulaire due aux enzymes) des tissus, préservant ainsi autant que possible leur état d'origine. Le volume du fixateur est maintenu entre 20 et 50 fois celui du prélèvement. Les fixateurs couramment utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin. Les organes restent dans le fixateur pendant 24 à 48 heures, totalement immergés. Dans notre cas, nous avons utilisé du formol à 10%, cette technique nous permet de conserver nos échantillons pendant plusieurs semaines.

- **Mise en cassette** : Chaque échantillon est placé dans une cassette. Elles sont ensuite immergées dans une solution de formol à 10%. Cette méthode méticuleuse de mise en cassette assure une organisation efficace des échantillons en vue des analyses ultérieures (fig.12).



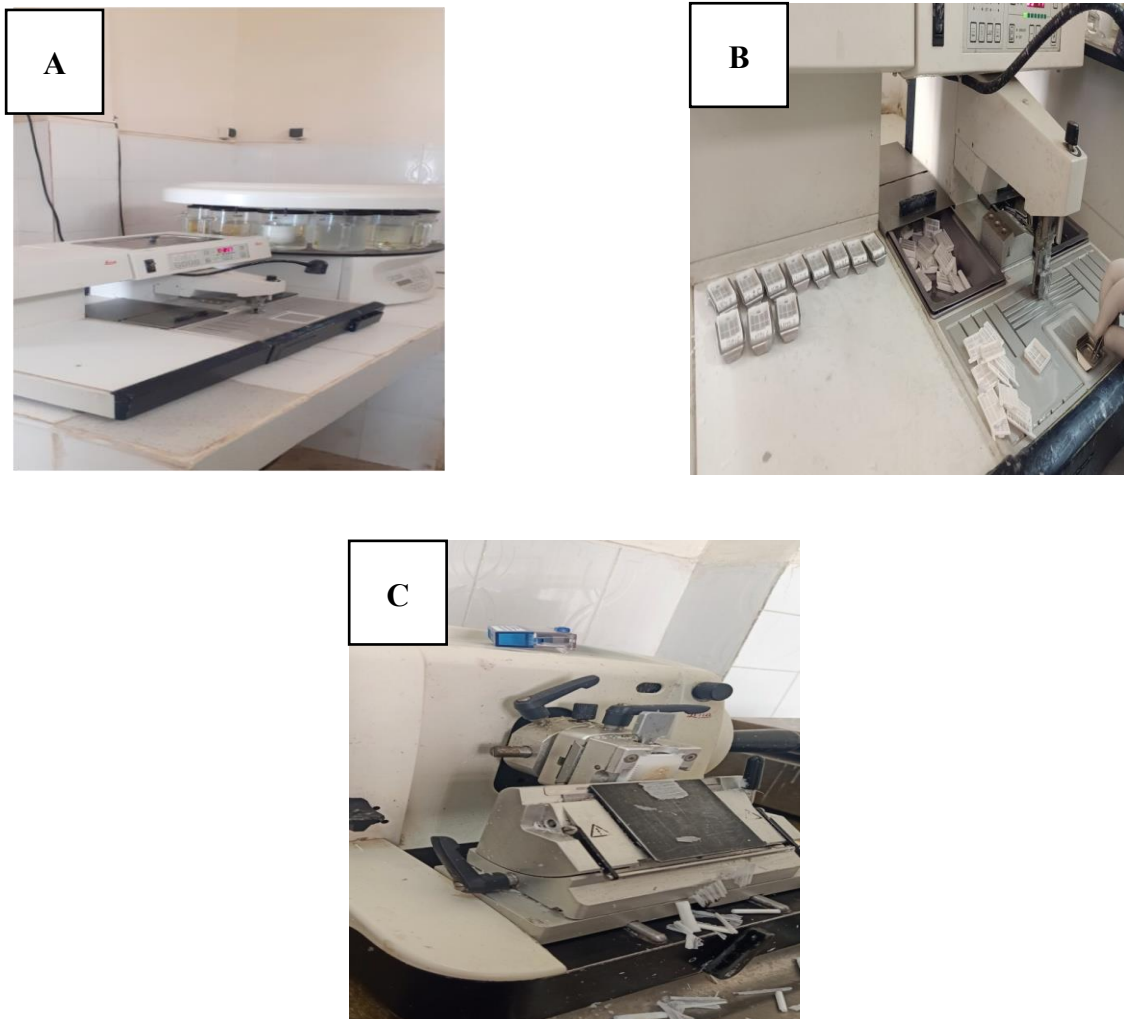
**Figure 12** : Fixation dans le formol et mise en cassette

- **Déshydratation** : la déshydratation est essentielle pour éliminer l'eau des organes. Elle consiste à immerger les organes dans de l'alcool à des degrés croissants : alcool à 70° (acétone I) pendant 45 minutes, alcool 90° pendant 45 minutes, et alcool absolu à 100° pendant 45 minutes. Toutes ces opérations se déroulent dans des bacs hermétiquement fermés, sauf lors du paraffinage à 56°C, suivi du refroidissement des blocs au congélateur.

- **Clarification** : après la déshydratation, un solvant de paraffine est utilisé pour éliminer l'alcool par trois bains successifs de toluène ou de xylène à 40°C pendant 2 heures.

▪ **Inclusion** : L'ensemble de processus d'inclusion dure 24 à 48 heures. Après le dernier bain de paraffine, l'échantillon est placé dans de la paraffine fondue et coulé dans des cassettes d'inclusion. Ensuite la paraffine est refroidie dans le congélateur, solidifiant ainsi en bloc prêt à être coupé.

▪ **La microtomie** : le microtome est utilisé pour obtenir des coupes d'une épaisseur de 3 à 5  $\mu\text{m}$ . La coupe est obtenue en passant régulièrement la pièce à couper devant la lame du microtome. Les coupes obtenues sont ensuite déposées sur les lames (Fig. 13).



**Figure 13** : A) automate de la circulation (déshydratation), B) l'inclusion, C) la microtomie

- **Étalement des coupes sur les lames** : les coupes sont délicatement étalées sur les lames, puis elles sont numérotées pour identification à l'aide d'un crayon diamanté. Ensuite, les lames sont chauffées à 37°C sur une plaque chauffante pendant deux heures, puis elles sont placées dans une étuve à 56°C pendant deux heures supplémentaires pour favoriser l'étalement.
- **Déparaffinage et hydratation** : la paraffine étant hydrophobe et les colorants étant hydrophiles, une étape de déparaffinage est nécessaire. Cela implique une série de bains, d'abord dans des solvants permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) pendant 10 minutes à chaque bain, suivis de bains dans des alcools (éthanol) de degré décroissant, de 95° à 50°, suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 1 minute pour l'hydratation finale.
- **Coloration des lames** : afin de renforcer le contraste et mettre en évidence les différents constituants cellulaires et tissulaires, une coloration des coupes est appliquée. Pour ce faire, les lames sont trempées de manière successive dans des bains d'hématoxyline, carbonate de lithium, avec des rinçages intermédiaires à l'eau.
- **Déshydratation** : pour préparer les coupes au montage, une déshydratation inverse est réalisée en plongeant les lames dans deux bains, d'abord dans du xylène, puis dans l'alcool éthylique, pendant 15 minutes à chaque bain, afin d'éliminer l'eau résiduelle. Après la coloration, une goutte de colle EUKITT de montage est déposée sur les coupes, suivie de l'application d'une lamelle de manière à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de manipulation, il est essentiel d'éviter l'entrée des bulles d'air entre la lame et la lamelle (fig. 14).



**Figure 14** : A) la coloration, B) montage des lames

Pour l'évaluation qualitative de tout changement histologique, toutes les lames préparées antérieurement ont été examinées par un pathologiste en aveugle au microscope optique. Les photos ont été prises par un appareil photo numérique fixé au microscope afin de détecter les lésions de la muqueuse, les ulcérations, les érosions, les hémorragies et les nécrose, et pour évaluer les éventuels effets protecteurs des substrats étudiés.

## **II.8. Etude statistique**

Chaque expérience a été reproduite en trois répétitions, et l'analyse statistique, y compris l'évaluation des effets des variables et de leurs interactions, a été réalisée à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA). La signification statistique a été établie pour un seuil de probabilité de  $p < 0,05$ .

# ***CHAPITRE III***

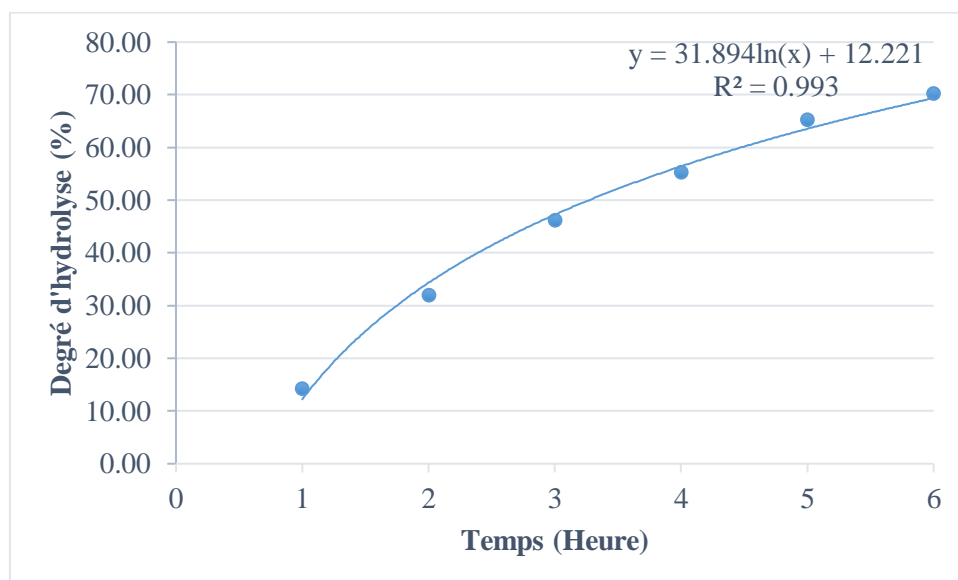
## **RESULTATS ET DISCUSSION**

## **CHAPITRE III: Résultats et Discussion**

### **III.1. Hydrolyse enzymatique de la farine du muscle de thon**

Pour suivre l'évolution de l'hydrolyse enzymatique de la farine du muscle de thon, le pourcentage du degré d'hydrolyse (DH %) en fonction du temps a été mesuré par la méthode pH-stat, en appliquant les conditions optimales (55 °C et pH = 8) (Fig. 15).

Après extraction et centrifugation, l'échantillon hydrolysé a montré une séparation en deux couches, le surnageant et le culot présent au fond. Le surnageant contenant les protéines et peptides bioactifs a été recueilli à l'aide d'une pipette et lyophilisé. Le lyophilisat collecté est conservé pour des analyses ultérieures.



**Figure 15 :** Courbe de progression de l'hydrolyse enzymatique exprimée par degré d'hydrolyse en fonction du temps.

Afin de produire des hydrolysats avec une bio-activité anti-inflammatoire, l'Alcalase s'est avérée être l'une des protéases les plus efficaces pour ces sources de protéines. Cette protéase produit des hydrolysats à activité anti-inflammatoire importante à partir d'œufs et de produits laitiers, ainsi que d'animaux terrestres et marins (Rivera-Jiménez, et al., 2022).

Des expériences sur la viande et les œufs de requin (*Arctoscopus japonicus*) ont montré que l'hydrolysate d'Alcalase avait une activité inhibitrice d'oxyde nitrique synthase (NO) *in vitro* plus élevée que les produits fabriqués par Flavorzyme et Neutrase (Jang et al., 2017).

De plus, dans une autre étude, l'hydrolysate enzymatique alcalin du jus de cuisson du thon, a montré des effets inhibiteurs plus puissants sur les médiateurs inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$  et l'IFN- $\gamma$  dans les macrophages par rapport à l'hydrolysate produit par Flavorzyme (Cheng et al., 2015).

Ainsi, que l'hydrolysate de muscle noir de listao (*Katsuwonus pelamis*), dans lequel l'hydrolysate produit par Alcalase avait une meilleure activité anti-inflammatoire en inhibant TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  et NO par rapport à l'hydrolysate de Flavorzyme *in vitro* (Chansuwan, & Chinachoti, 2019).

Cependant, l'hydrolysate de l'espèce du thon listao a également été produit en utilisant de la pepsine en combinaison avec une protéase animale d'origine inconnue et a montré une bonne activité anti-inflammatoire contre la production de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  et NO *in vivo* (Xiang et al., 2021).

### **III.2. La teneur en matière grasse totale**

La moyenne de la valeur nutritionnelle a été évaluée en utilisant des échantillons de muscle de thon rouge. Pour déterminer la teneur totale en lipide, une méthode d'extraction continue a été appliquée, méthode de Soxhlet.

On a enregistré un pourcentage de  $15.32 \pm 0,8\%$  pour la teneur en matière grasse totale de l'échantillon.

Cette teneur relativement élevée en matière grasse indique que le thon rouge est une source importante d'acide gras (Lakmini et al., 2022). Cependant, il est important de noter que la teneur en matière grasse peut varier en fonction de divers facteurs tels que l'âge du poisson, son alimentation et son habitat. Par conséquent, il est essentiel de prendre en compte ces variables lors de l'analyse de la composition nutritionnelle du thon rouge (Messina et al., 2022).

### **III.3. Caractérisation des acides gras d'huile de thon rouge par GC-MS couplée au spectrométrie de masse**

La composition de l'huile de thon rouge analysée par GC-MS couplée au spectrométrie de masse est illustrée dans le tableau 03. Environ 15 acides gras identifiés dans cette huile extraite de thon, les principaux acides gras décelés sont l'acide palmétique (C16 :0), acide oléique (18:1

cis-9) et l'acide docosahexaénoïque (omega 3, DHA). L'acide palmétique a été détecté avec des niveaux plus au moins élevés dans l'huile de thon avec un pourcentage d'environ 23,6 %, ceci concorde avec les résultats des travaux établis par [Renuka et al. \(2016\)](#), où l'acide palmétique est le principal acide monoinsaturé présent dans l'huile de thon étudié et qui est d'un seuil de 17, 12%. Cette analyse a montré que l'huile de thon est une bonne source d'oméga 3 représentée par l'acide linoléique (2, 35%), l'acide Eicosapentaénoïque EPA (1,1%) et l'acide Docohéxaénoïque DHA (6,05%), la somme des ratios d'acides gras polyinsaturés n-3 était plus élevée par rapport à celles des acides gras n-6. Chez le thon à yeux jaunes, un résultat similaire a été établi dont le ratio de DHA/EPA et n3/n6 était de 8.97/ 5,25. ([Renuka et al., 2016](#))

Le thon rouge est riche en acides gras polyinsaturés tels que l'EPA et le DHA, ainsi qu'en acide arachidonique, qui sont essentiels à la santé et sont fournis exclusivement par les aliments consommés. Ces acides gras sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et leur capacité à atténuer divers troubles métaboliques et neurologiques ([Ain et al., 2019](#)).

De nombreuses études épidémiologiques et cliniques, ont prouvé que la consommation d'huile de poisson a un effet préventif contre les maladies cardiovasculaires, d'hypertension, de diabète et d'autres troubles inflammatoires ([Innes & Calder, 2018](#), [Jiang et al., 2022](#)), ce qui est considéré comme associé aux acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) n-3, principalement l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) ([AbuMweis et al., 2018](#)).

Par conséquent, les AGPI-LC n-3, en particulier l'EPA et le DHA, sont largement utilisés dans les produits de soins de santé. L'huile de thon, une source naturelle d'AGPI-LC n-3 sous forme de triacylglycérols (TAG), contient du DHA et d'EPA ([Zhang et al., 2018](#)). Bien que sa teneur en AGPI-LC n-3 soit plus élevée que celle des autres huiles de poisson, l'utilisation des AGPI-LC n-3 en tant qu'ingrédient fonctionnel dans les aliments industriels ou composés actifs en pharmacologie nécessite une étape de purification supplémentaire sous une forme chimique qui est facilement métabolisée avec une bonne stabilité contre l'oxydation.

**Tableau 03** : Composition des acides gras de l'huile de thon déterminé par GC-MS

Acides gras	R.T (min)	area (%)
Phénol, 2,4-bis(1,1-diméthyléthyl)	12.37	0.59
Acide tridécanoïque	14.796	0.66
Acide 9-hexadécénoïque ester méthyle (acide palmitoléique)	16.762	1.26
Acide hexadécanoïque ester méthyle	16.976	21.15
Acide 6-hexadécénoïque, 7-méthylé ester méthyle (acide palmitoléique)	17.581	0.85
Acide hexadécénoïque, 15-méthyl, méthyl ester	18.047	1.08
Acide 9-octadécénoïque ester méthylé (acide oléique)	18.852	2.49
Acide 9-octadécénoïque ester méthylé (Z,Z)	18.919	10.77
Acide 9,12-octadécadiénoïque ester méthylé (Z,Z) (acide linoléique)	18.986	2.35
Acide heptadécanoïque ester méthylé (acide margarique)	19.225	9.3
Acide eicosatétraénoïque	21.302	1.21
Acide eicosapentaénoïque (EPA)	21.434	1.1
Acide 11-eicosénoïque (oméga-9)	22.057	1.49
Acide docosahexaénoïque (DHA)	25.505	6.05
Acide hexdécanoïque (acide palmitique)	35.819	23.6
Méthyl 14-méthyl-eicosanoate	18.7	
(Z)-1-(2,6,6-triméthyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-buten-1-one	12.13	

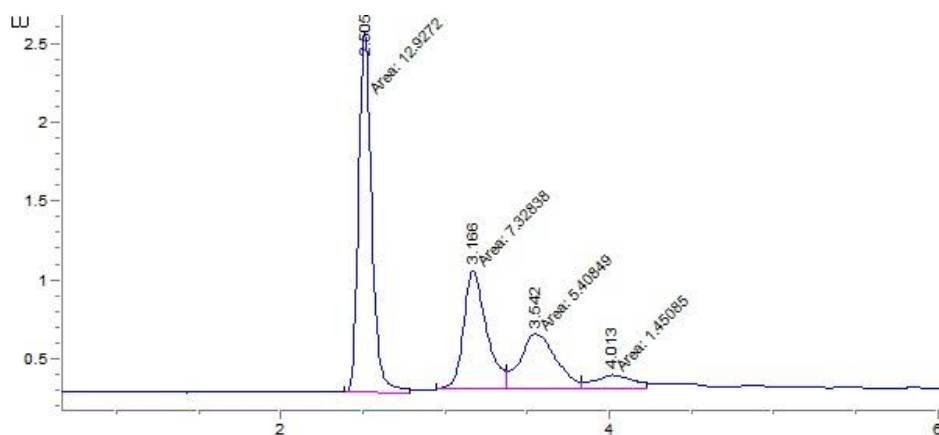
#### III.4. Analyse de Tocophérol présent dans l'huile de thon par HPLC

HPLC phase normale est considérée comme la meilleur méthode pour l'analyse de la vitamine. E, elle permet la séparation totale des isomères, des tocophérols et tocotriénols. Son but est la séparation sélective des isomères bêta et gamma.

Les résultats de l'analyse de l'échantillon d'huile de thon rouge par HPLC sont représentés en tableau 04. Les résultats ont révélé que l'huile de thon renferme 4 isomères, le plus abondant est l'isomère alpha avec une concentration de 38.77ppm, suivi par beta tocopherol avec une

quantité de 22,71 ppm. Après quatre minutes, l'isomère delta a été identifié avec une faible teneur de 2,78 ppm (Fig. 16).

L'échantillon d'huile a été comparé aux spectres d'absorption standard des alfa-tocophérol, bêta-Tocophérol, gamma-tocophérol et delta-tocophérol, avec des temps de rétention de 2.50, 3.166, 3.542 et 4.013 respectivement. L'analyse de HPLC en phase normal a montré un taux plus au moins important de gamma-tocophérol avec une valeur de 14,25 ppm



**Figure 16 :** Composition de Tocophérol vitamine E contenu dans l'huile de thon

**Tableau 04:** Différents isomères de la vitamine E de l'huile de thon.

Composés	Temps de rétention (min)	Quantité (ppm)
$\alpha$ -Tocophérol	2.500	38.77
$\beta$ -tocophérol	3.166	22.71
$\gamma$ -tocophérol	3.542	14.25
$\delta$ -tocophérol	4.013	2.78

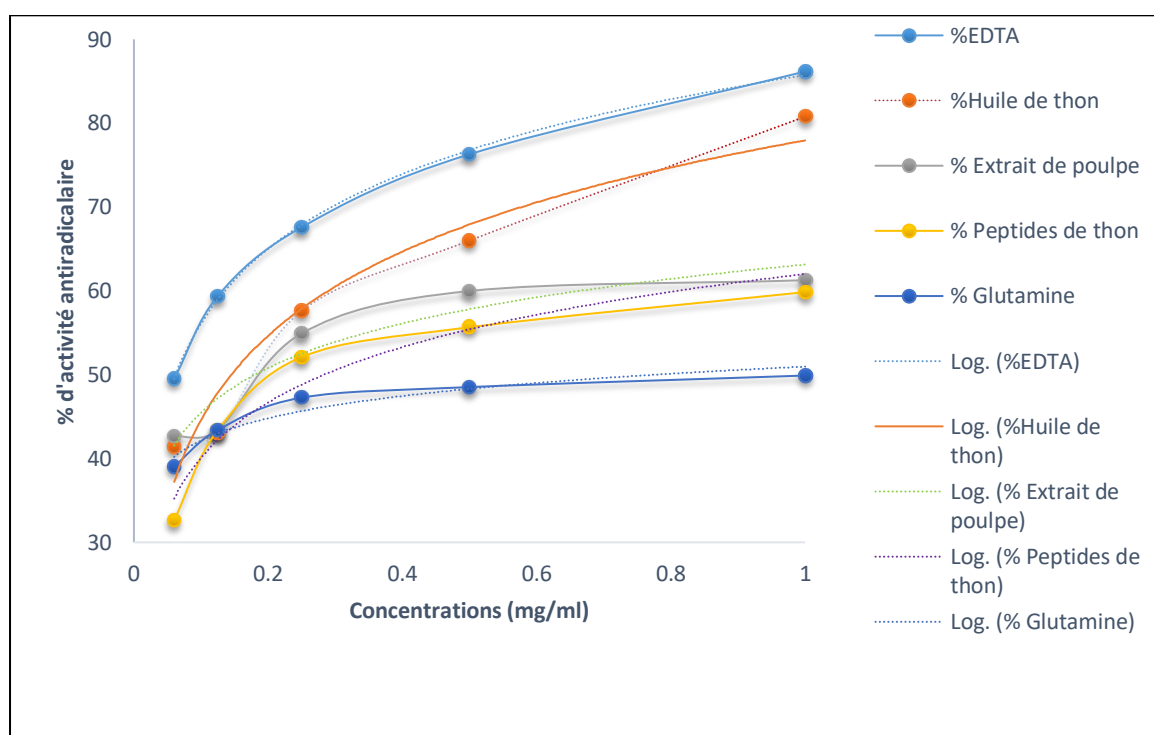
Le tocophérol est un micronutriment primordial au bon fonctionnement global de l'organisme humain, cette vitamine est contenue dans l'huile de thon avec une quantité satisfaisante. La présence des quatre isomères ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) dont  $\alpha$  tocophérol est la plus abondante, est la forme la plus fréquente de la vitamine E confère à l'huile de thon plusieurs vertus. La vitamine E constitue un anti-inflammatoire et un antioxydant efficace. Dans certaines études, le traitement par cette vitamine dotée de propriétés anti-inflammatoires s'associait à une réduction significative du score histologique et donc de la sévérité de la colite chez des rat enflammés

(Grar et al., 2017). En outre, les isomères  $\alpha$  et  $\gamma$  tocophérol ont empêché l'altération de l'épithélium intestinal induite par les cytokines (Bastaki et al., 2022).

### III.5. Détermination de l'activité antioxydante *in vitro*

#### ❖ DPPH radical scavenging assay

La capacité d'absorption des radicaux libres des différents substrats étudiés a été évaluée par la réduction de l'absorbance causée par le radical DPPH. La figure 17 illustre respectivement l'activité de piégeage des radicaux DPPH des substrats étudiés (huile de thon, peptides de thon, peptides, extrait de poulpe, la glutamine, et l'EDTA comme standard), traduite par le pourcentage d'inhibition (%) en fonction des différentes concentrations.



**Figure 17 :** Effet anti-radicalaire de l'huile de thon, glutamine, extrait de poulpe et de thon sur la réduction du DPPH comparé avec l'EDTA (n= 3).

Toutes les concentrations de l'hydrolysate étaient significatives ( $P < 0,05$ ). Les résultats indiquent clairement que l'huile de thon a une activité anti radicalaire importante parmi les substrats étudiés, il a enregistré une valeur de  $80,78 \pm 0,05\%$ , suivi par 'extrait de poulpes avec une valeur de  $61,27 \pm 0,84\%$ , les peptides de thon et la glutamine ont enregistré un pourcentage de pouvoir

réducteur de  $59,85 \pm 0,20\%$  et  $49,90 \pm 0,88\%$  respectivement par contre le standard EDTA tend vers  $86,15 \pm 0,07\%$  à une concentration de 1mg/ml.

Les résultats sont aussi exprimés en termes d'IC50 (la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres). Cette valeur a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations exprimées en mg/ml.

L'IC50 est défini comme étant la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, il est utilisé comme paramètre pour mesurer l'activité de l'extrait de piéger le radical libre. La valeur d'IC50 des différents substrats a été estimée par régression linéaire des pourcentages d'inhibitions calculées en fonction de cinq concentrations différentes des substrats étudiés et est exprimé en mg/ml. L'activité anti radicalaire de l'huile de thon est importante, cela est confirmé par la valeur d'IC50 qui est de 0.15mg/ml, tandis que l'EDTA a enregistré une valeur d'IC50 de 0.06mg/ml, l'évaluation d'IC50 de l'extrait de poulpe, de peptides de thon et de glutamine révèle une fourchette de 0,17, 0,25 à 0.79mg/ml respectivement.

La détermination de l'activité de piégeage du radical DPPH est la première méthode d'évaluation des propriétés antioxydantes potentielles d'une molécule. Le peroxyde d'hydrogène est l'un des principaux types d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), et la détermination de son activité de piégeage est largement utilisée et constitue une méthode pratique pour confirmer l'activité antioxydante (He et al., 2018 ; Kim et al., 2023).

Les médicaments antioxydants synthétiques sur le marché ont certains effets secondaires, qui ne sont pas propices à une utilisation à long terme. C'est pourquoi on s'intéresse de plus en plus aux antioxydants naturels, qui sont plus sûrs que ceux synthétisés chimiquement, et dont certains peuvent être plus efficaces que les médicaments de synthèse (Derbel et al., 2023). Par conséquent, cette étude a examiné le potentiel antioxydant des peptides bioactifs dérivés du poisson et d'huile de poisson par un test de neutralisation des radicaux libres DPPH.

L'activité antioxydante du DPPH s'est avérée augmenter proportionnellement à la concentration de tous les échantillons testés. L'étude de Alzahrani et al. (2018), a montré que l'hydrolyse enzymatique ne pouvait pas augmenter l'activité antioxydante, si le peptide spécifique à activité antioxydante n'était pas libéré ou si le peptide actif était inactivé par digestion.

Une autre étude a démontré que l'effet de l'activité antioxydante protéolytique semble dépendre du degré d'hydrolyse et du type d'enzyme utilisé (Sbroggio et al., 2016). D'autre part, des études réalisées sur les microalgues *Porphyra columbina* (Cian et al., 2012) et *Palmaria palmadas* (Park et al., 2012) ont montré une activité antioxydante accrue des peptides.

Ainsi, ces résultats obtenus sont également similaires à ceux observés avec différentes concentrations d'hydrolysats d'huître (*Saccostrea cucullata*) (Sui et al., 2019), de roussette (*Mustelus Mustelus*) et d'hydrolysats de sardine (*Sardinella aurita*) (Meijer et Wijffels, 1998). De plus, de nombreux chercheurs ont rapporté que l'activité antioxydante s'accompagne d'une activité anti-inflammatoire (Drira et al., 2021 ; Derbel et al., 2023)

### **III.6. Détermination de l'activité anti inflammatoire**

#### **III.6.1. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humaines**

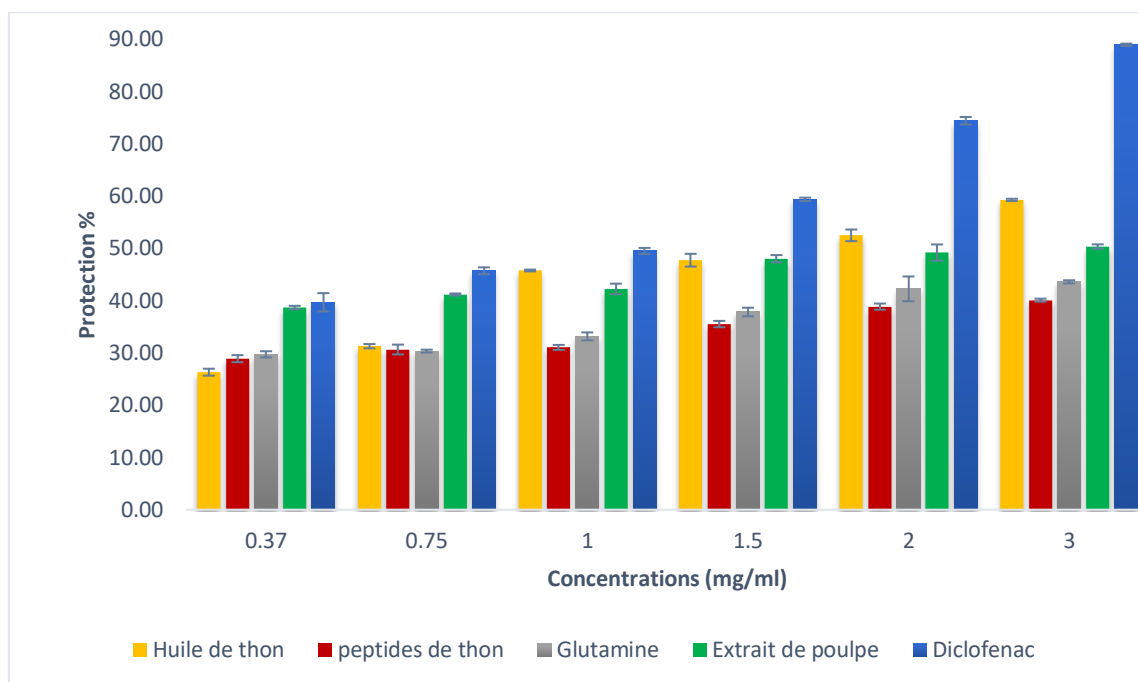
La figure 18 illustre l'effet protecteur de l'huile de thon, des peptides de thon, de l'extrait de poulpe ainsi que la glutamine comparée avec l'effet de l'anti-inflammatoire Diclofenac contre l'hémolyse des globules rouges induite par la chaleur. Les résultats indiquent que ces substrats présentent une inhibition hautement significative ( $p < 0.05$ ) de l'hémolyse des globules rouges.

L'inhibition maximale a été enregistrée chez l'huile de thon avec un pourcentage de protection maximal de  $59.22 \pm 0.22\%$ , suivi par l'extrait de poulpe à une valeur de  $50,32 \pm 0,41\%$ . Par ailleurs, les peptides de thon et la glutamine ont enregistré un pourcentage de protection moyen de  $40,05 \pm 0,29\%$ , et de  $43.56 \pm 0.30\%$  respectivement, à la dose de 3mg/ml. L'anti-inflammatoire synthétique le Diclofenac, pris dans cette étude comme témoin positif présente une inhibition très élevée de  $88.89 \pm 0,22\%$  à la même concentration. On a constaté aussi que l'augmentation de l'effet inhibiteur de l'hémolyse des globules rouges est en corrélation avec l'augmentation des concentrations. L'huile de thon exerce un effet anti inflammatoire important, ce qui rend sa possibilité de l'utiliser comme un traitement alternatif dans la protection de l'inflammation.

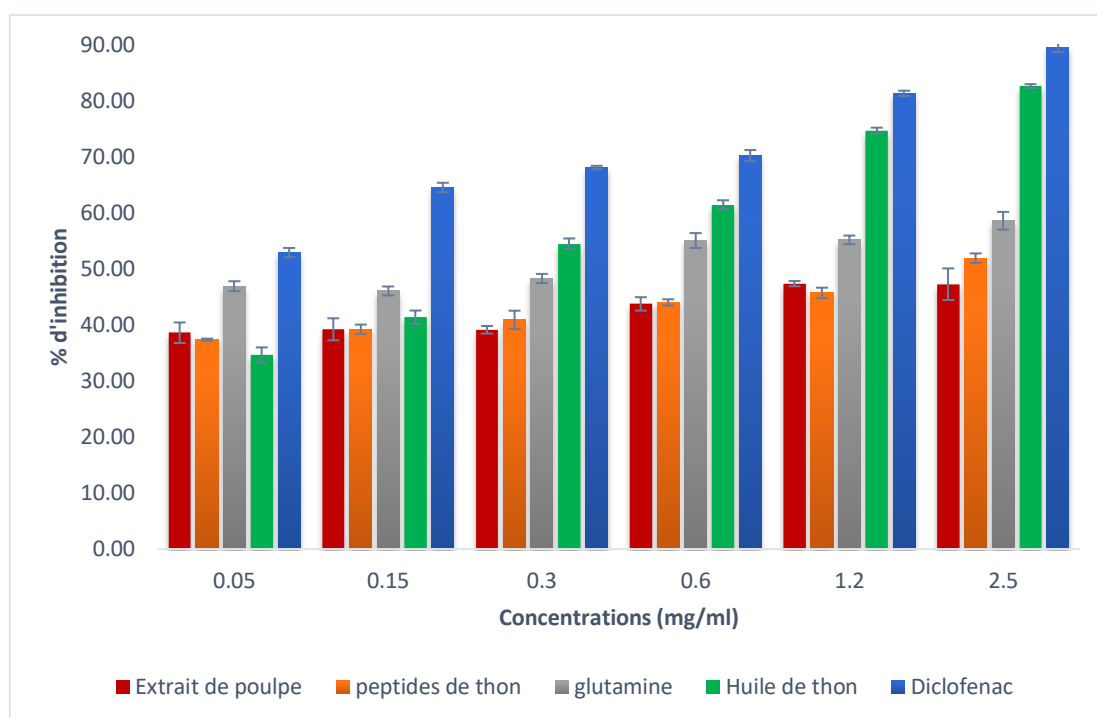
#### **III.6.2. Méthode d'inhibition de la dénaturation protéique**

Les résultats de l'inhibition de la dénaturation des substrats étudiés ont été démontrés par la figure 19. On remarque que l'huile de thon a présenté une meilleure inhibition, d'une valeur de  $82,53 \pm 0.97\%$ , enregistrée à la concentration de 2,5 mg/ml, semblable aux résultats obtenus avec le médicament anti inflammatoire le Diclofenac dont son inhibition maximale est de

89,50±0,90% à la même concentration. Le pourcentage d'inhibition relevé par la glutamine et les peptides de thon sont estimés respectivement de 58,54±1,58% et 51,88±0,85%, alors que les peptides de poulpe ont la plus basse inhibition de 47,23±2,82%, toujours à la concentration de 2,5mg/ml.



**Figure 18:** Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par les différents substrats (huile de thon, peptides de thon, extrait de poulpe, glutamine et le Diclofenac) n=3.



**Figure 19 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par les différents substrats (huiles de thon, peptides de thon, extrait de poulpe, glutamine et le Diclofenac) n=3.

Dans cette recherche, on a étudié les effets anti-inflammatoires susceptibles liés à ces substrats. Cet effet peut être démontré par la méthode de stabilisation de la membrane induite par la chaleur et la méthode d'anti-dénaturation de l'ovalbumine. Il s'agit d'un processus dépendant de la concentration, il y a une corrélation proportionnelle entre la protection et l'augmentation de la concentration de l'échantillon.

Au cours de l'inflammation, dans le cadre de leur rôle défensif, les leucocytes libèrent leurs enzymes lysosomales, y compris les protéases, ce qui provoque des lésions tissulaires supplémentaires et une inflammation ultérieure (Gunathilake et al., 2018). Les dommages causés aux membranes cellulaires rendent la cellule plus vulnérable aux dommages secondaires par le biais de la peroxydation des lipides induite par les radicaux libres (Umapathy et al., 2010).

La régulation du volume et de la teneur en eau des cellules peut se faire, par l'intermédiaire des protéines membranaires, en contrôlant le mouvement des ions sodium et potassium, et les dommages causés à la membrane affecteront cette fonction (Gunathilake et al., 2018). Il est noté que, la membrane érythrocytaire est similaire à la membrane lysosomale (Gautam, et al.,

2013 ; Kumar, et al., 2018) différents paramètres nocifs tels que la chaleur et le milieu hypotonique entraînent la lyse de La membrane des globules rouges (Hossain, 2014).

La stabilisation de ces membranes cellulaires peut retarder ou inhiber la lyse et la libération subséquente du contenu cytoplasmique qui, à son tour, minimise les dommages tissulaires et, par conséquent, la réponse inflammatoire. Par ailleurs, les substances qui contribuent de manière significative à la protection de la membrane cellulaire contre les substances nocives sont importantes pour inhiber la progression de l'inflammation. Les substrats testés stabilisant cette membrane, peuvent aussi stabiliser les membranes lysosomales (Gautam, 2013).

Lorsque les protéines sont exposées à des facteurs de stress externes ou à des substances telles que des acides et des bases fortes, des sels concentrés, des solvants organiques ou la chaleur, elles perdent leur structure tertiaire et secondaire. La dégradation des protéines biologiques conduit à l'arrêt de leurs fonctions biologiques. La cause la plus fréquente d'inflammation est la dénaturation des protéines (Derbel et al., 2023)

La régulation de l'inflammation repose sur la stabilisation lysosomale en inhibant la libération de composants lysosomiques des neutrophiles actifs, y compris les protéases et les enzymes bactéricides, à partir des neutrophiles activés, induisant ainsi une inflammation tissulaire supplémentaire et endommageant la libération extracellulaire. Nos substrats peuvent inhiber les processus susceptibles d'augmenter ou d'accélérer les composants intracellulaires (Chen et al., 2022). Selon les résultats des tests *in vitro*, les peptides bioactifs et l'huile de poisson ont montré une activité anti-inflammatoire significative par rapport au témoin (Gunathilake et al., 2018).

### **III.7. Etude *in vivo***

Après une semaine d'adaptation, les rats Wistar âgés de 4 semaines ayant un poids de 80-100g, ont été répartis aléatoirement en 19 lots, chaque cage contenait 5 rats. Tous les groupes ont reçu un régime commercial standard, les rats de chaque groupe ont reçu un des pharmaco-nutriments comme substrats étudiés, avec une dose déterminée.

La moitié des groupes des rats ont reçu l'acide acétique (5%, V/V) pour induire la colite ulcéreuse deux heures avant la première prise de substrats étudiés par gavage, le traitement a été pris chaque jour pendant toute la période de l'expérimentation (traitement curatif) . L'autre moitié des groupes ont reçu les doses des différents pharmaco-nutriments testés durant toute la

période d'expérimentation, et la colite a été induite le dernier jour de l'expérimentation (traitement préventif).

Pendant toute cette période, la prise de poids corporel des animaux a été suivie quotidiennement, ainsi que le taux d'inflammation colique a été évalué à l'aide du score de l'indice de la maladie (IAM).

A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés, et des prélèvements sanguins et coliques ont été effectués. L'effet de ces pharmaco-nutriments étudié sur la colite ulcéreuse induite par l'acide acétique a été évalué par l'étude histologique, et par la détermination des marqueurs antioxydants.

### **III.7.1. Observation générale :**

Les observations à l'œil nu ont révélé que les groupes des rats recevant l'acide acétique ont présenté des symptômes de diarrhée et chez certains rats des diarrhées sanglante, perte de poids corporel, une diminution de la consommation de nourriture et un saignement à partir de l'anus (rectorragie). Tandis que les rats du groupe témoin négatif étaient en bonne santé. Ces symptômes de colite induite par l'agent ulcérogène sont similaires à ceux remarqué chez la CU humaine, et cela reflète que le modèle de la colite ulcéreuse choisi a été établi avec succès.

La colite ulcéreuse est une maladie chronique inflammatoire de l'intestin marqué par la perte de poids. Dans notre présent travail, une perte de poids importante a été observé chez tous les rats des groupes recevant l'acide acétique par rapport aux rats de groupe témoin négatif. La perte de l'appétit qui induit à une diminution de la consommation de la nourriture est corrélée à la perte de poids enregistré chez les rats.

Le pourcentage de perte de poids de tous les groupes de rats étudiés sont illustrés dans la figure 20. Les rats atteints de la colite induite par l'acide acétique ont enregistré une perte de poids hautement significative par rapport au témoin normal, ils ont enregistré un pourcentage de  $14,17 \pm 2,81\%$  et  $-17,24 \pm 3,26\%$  respectivement, alors que les prétraitements et traitements par les différentes doses de pharmaco-nutriments et le médicament sulfazalazine chez les rats atteints de colite ont montré une diminution de la perte de poids hautement significative par rapport au groupe de rats atteints de colite. Le traitement par le sulfazalazine a diminué la perte de poids des rats à un pourcentage de  $0,63 \pm 0,16\%$ .

Les diminutions importantes ont été enregistrées chez les groupes de rats recevant les traitements préventifs, cela était observé chez les groupes recevant la glutamine avec les deux doses 400 et 1000mg/Kg, dont ils ont enregistré des pertes de  $-13,25 \pm 1,20\%$  et  $-10,66 \pm 1,19\%$  respectivement, suivi par le prétraitement d'huile de thon des deux doses avec une valeur de  $-11,46 \pm 1,94\%$  pour la dose 260mg/Kg et  $-9,66 \pm 1,38\%$  pour la dose minimale 100mg/Kg.

Tandis que les groupes recevant les traitements curatifs ont enregistré une diminution de la perte de poids corporel moins importante que celle observée chez les groupes recevant les traitements préventifs, les traitements de glutamine ont marqué une diminution de  $-3,53 \pm 1,28\%$  pour la dose de 1000mg/Kg et  $-1,20 \pm 0,58\%$  pour la dose de 400mg/Kg, les pertes enregistrées par le traitement à l'huile de thon sont  $-1,31 \pm 2,15\%$  pour la dose élevée et  $0,14 \pm 1,76\%$ .

En ce qui concerne les deux types de peptides de thon et de poulpe la diminution de la perte de poids des rats était similaires, dont les rats ont eu une réduction de poids de  $-0,52 \pm 1,4$  pour la dose 400mg/Kg alors qu'à la dose 100mg/Kg on a enregistré une valeur de  $0,69 \pm 0,97\%$ .

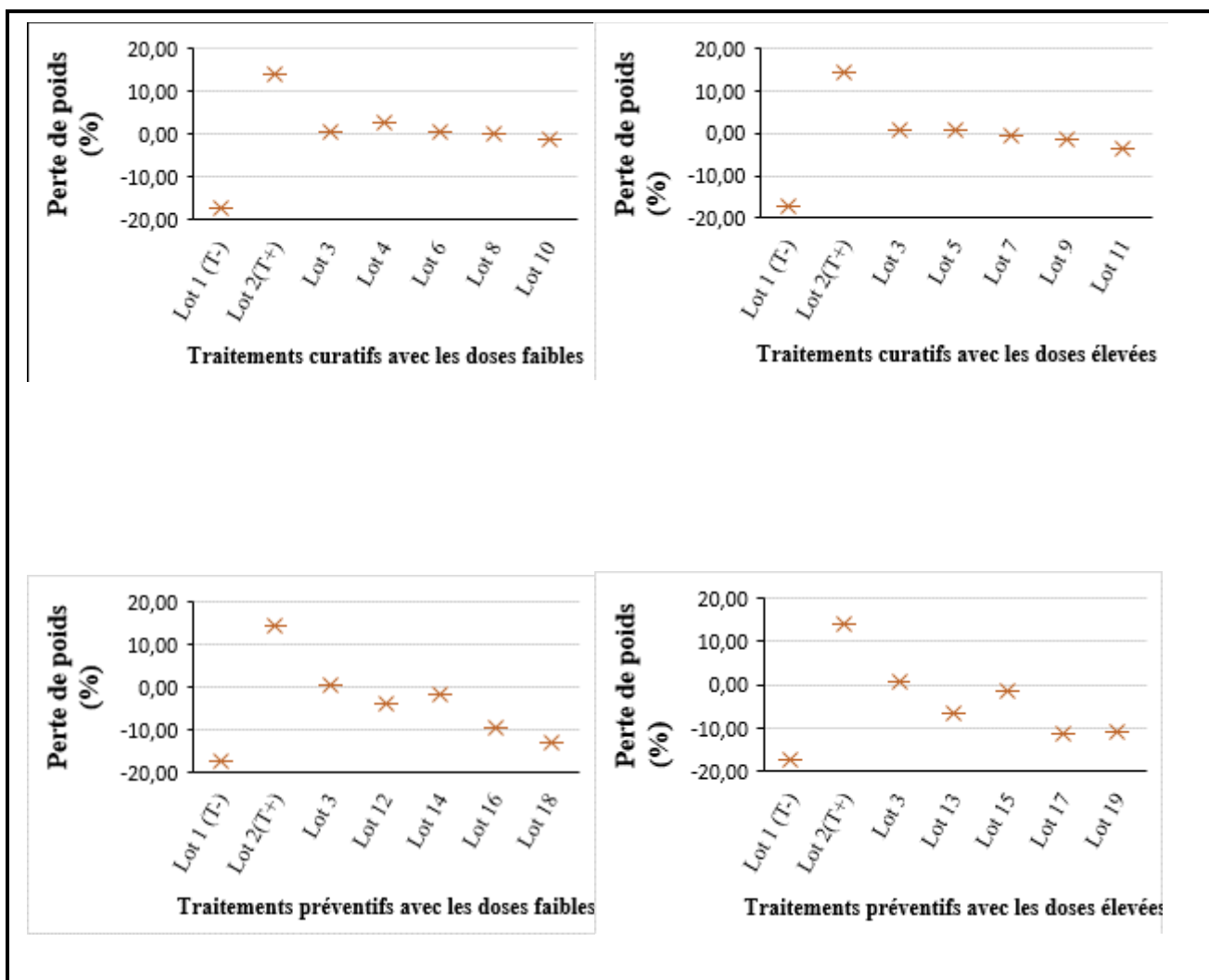
Après l'induction de la colite par l'administration de l'acide acétique chez les rats, une modification de la consistance des selles a été observée allant des selles normales vers une diarrhée sévère, par contre aucun changement n'a été observé chez les rats du groupe témoin négatif. Cependant ces diarrhées ont été modérées chez les rats recevant les différents pharmaco-nutriments à savoir, l'huile de thon, peptides de thon, l'extrait de poulpe et glutamine avec les différentes doses après l'induction de la colite. Par ailleurs, on a remarqué que les selles des rats recevant les différentes doses de pharmaco-nutriments comme prétraitements, sont transformés en selles molles après l'administration de l'acide acétique.

Durant l'expérimentation les rats présentaient une diarrhée sanglante fréquente avec l'émission du mucus, ceci est dû aux effets dommageables de l'acide sur la paroi intestinale, et aux altérations de la fonction épithéliale causées par les produits des mastocytes activés libérés.

Des saignements ont été remarqués au niveau de l'anus (rectorragie), chez les rats atteints de colite ulcéreuse et non traités, cela a provoqué la vasodilatation des vaisseaux sanguins, induisant une augmentation de débit sanguin. Les rats de groupe témoin négatif ne présentaient aucun des signes cités ultérieurement. Alors que la rectorragie s'est atténuée chez l'ensemble des rats recevant les différents traitements exploités dans cette étude (Pharmaco-nutriments et le médicament anti-inflammatoire). Des saignements très légers, voir absents ont été remarqués

chez les groupes de rats traités par les pharmaco-nutriments avec les différentes doses avant l'induction de colite (Tab. 05).

Ces symptômes de diarrhée et des selles sanglantes remarqués chez les rats de groupe atteint de colite, ont augmenté d'une façon significative.



**Figure 20 :** Perte de poids des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (G1) et témoin positif (G2). n=5

**Lot 3 :** sulfazalazine 500mg/Kg; groupes curatifs (**Lot 4 :** PT 100mg/kg ; **Lot 5 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 6 :** EP 100mg/Kg, **Lot 7 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 8 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 9 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 10 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 11 :** Glu 1000mg/Kg) ; groupes préventifs (**Lot 12 :** PT 100mg/kg ; **Lot 13 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 14 :** EP 100mg/Kg, **Lot 15 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 16 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 17 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 18 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 19 :** Glu 1000mg/Kg)

Cette perte du poids corporel a augmenté après l'administration d'AA, et cela pourrait être dû soit à une diminution de l'apport alimentaire, soit à une malabsorption, ainsi que la perte importante de liquide par diarrhée et saignement rectal (Gonzalez–Rey et al., 2006). La perte de poids corporel est un indicateur de la gravité de l'inflammation intestinale et est dépendante des changements histopathologiques de la maladie (Ansari et al., 2021). Selon des recherches précédentes, la diminution du poids corporel est dû à la libération de neuropeptides suppresseurs d'appétit, suite à l'augmentation des niveaux de cytokines pro-inflammatoires (Gonzalez–Rey et al., 2006).

**Tableau 05:** Les scores de la consistance des selles et de saignements chez les différents groupes traités.

Groupes	Score de la consistance des selles			Score des saignements		
	Selles normales	Selles molles	Diarrhée	Pas de saignement	saignement léger	saignement important
Témoin négatif	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Témoin positif (non traité)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
sulfasalazine traitement (500mg/Kg)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
AA+ Peptides thon 100mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA+ Peptides thon 400mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA+ extrait de poulpe 100mg/KG	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA+ extrait de poulpe 400mg/KG	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA + Huile de thon 100mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA + Huile de thon 260mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA + Glutamine 400mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
AA + Glutamine 1000mg/Kg	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
Peptides thon 100mg/Kg +AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Peptides thon 400mg/Kg +AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
extrait de poulpe 100mg/Kg+ AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
extrait de poulpe 400mg/Kg+ AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Huile de thon 100mg/Kg + AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Huile de thon 260mg/Kg + AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Glutamine 400mg/Kg +AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Glutamine 1000mg/Kg +AA	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)

(+) : Présence ; (-) : Absence ; n =5

La colite induite par l'acide acétique chez les modèles animaux est une méthode représente une pathologie similaire à la CU humaine, y compris une augmentation des médiateurs inflammatoires et des dommages à l'épithélium (Elson et al., 1995). Ces symptômes étaient comparables à ceux des patients atteints de colite, tels que diarrhée, sang dans les selles, perte de poids et raccourcissement de la longueur du colon, ce qui a corrodé les recherches précédentes (Soliman et al., 2016 ; Ansari et al., 2021).

### **III.7.2. Indice de l'activité de la maladie**

L'indice de l'activité de la maladie est un paramètre clinique qui représente la gravité et l'évolution de la maladie, en observant la perte de poids, les saignements et la consistance des selles.

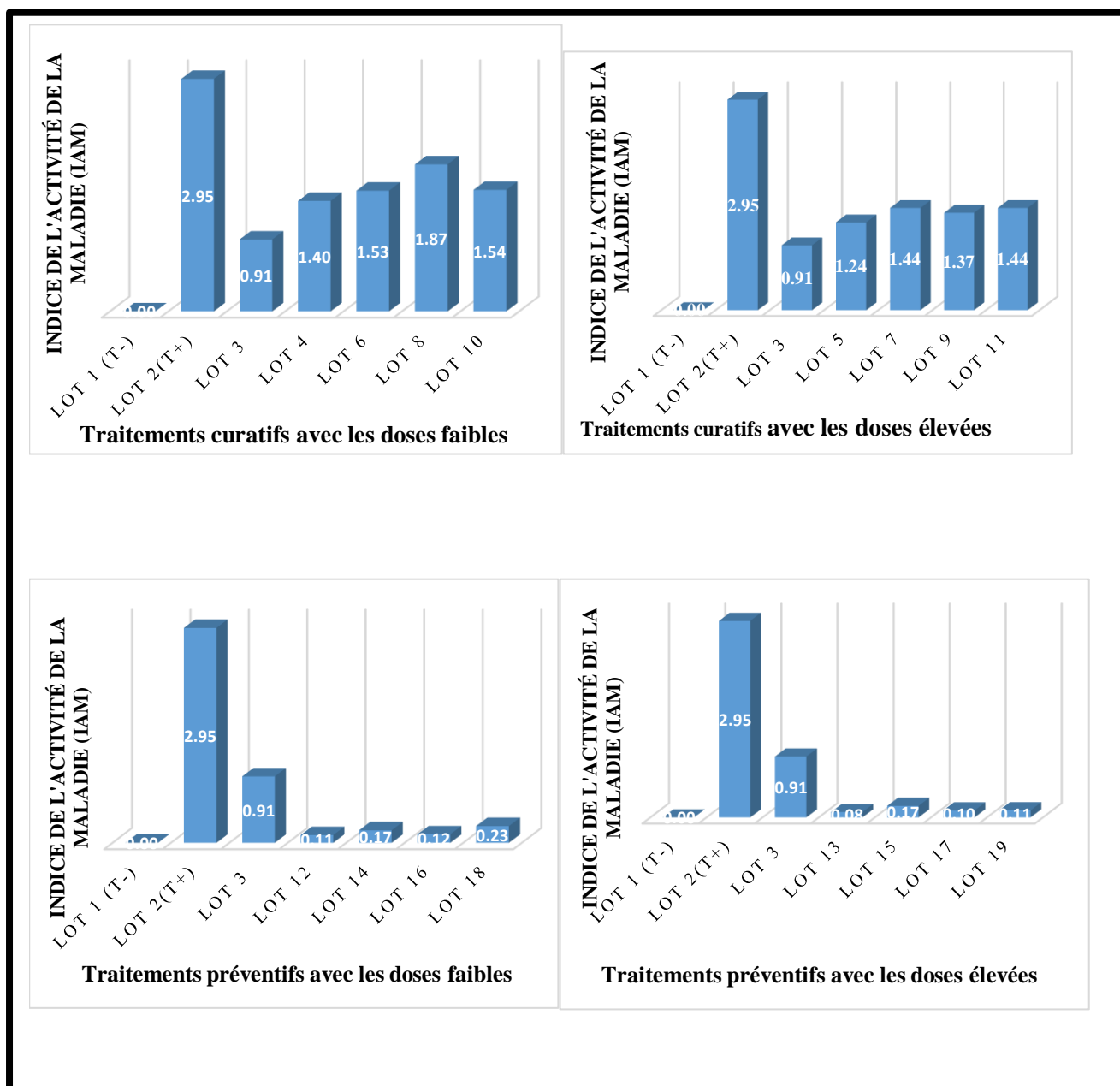
D'après les résultats de la perte de poids (fig. 21), des saignements et de la diarrhée illustrés en avant, ce qui permet de conclure que la maladie provoquée par l'administration anale de l'acide acétique a été installée avec succès chez l'ensemble des animaux de cette expérimentation, indiquant le bon choix de l'agent ulcérogène.

Les groupes de rats traités par l'anti-inflammatoire galénique, le sulfazalazine et les différents pharmaco-nutriments (huile de thon, peptide de thon, extrait de poulpe, glutamine) ont montré une atténuation de la gravité de la maladie, les symptômes de la maladie étaient moins sévères à la fin de l'expérimentation. Alors, que les lots recevant les pharmaco-nutriments comme traitement préventif, ont montré un IAM très faible par rapport au lot témoin positif, après l'induction de la colite, ce qui indique que ces substrats ont joué un rôle protecteur contre cette maladie.

Les processus physiologiques et biochimiques de la CU ont été étudiés à plusieurs reprises à l'aide du modèle de colite ulcéreuse induite par l'acide acétique chez le rat, car il fournit une image holistique des options thérapeutiques potentielles (Li et al., 2018). Les changements de poids corporel et la présence de symptômes de diarrhée et de sang dans les selles ont été utilisés pour mesurer l'IAM. Plusieurs études ont rapporté que la colite induite par l'acide acétique présentait un poids corporel réduit, des régions coliques raccourcies, une diarrhée et une augmentation de IAM.

Nous avons observé que l'utilisation de l'acide acétique chez les rats produisait des effets délétères, tels que des réductions significatives des changements de poids corporel, et des

augmentations de l'IAM, ces résultats sont en corrélation avec ceux de plusieurs études (Wang et al., 2022). Cependant, dans la présente étude, les groupes de rats recevant les différents traitements à des doses différentes, ont eu une diminution significative de score IAM.



**Figure 21 :** Indice d'activité de la maladie (IAM) des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (G1) et témoin positif (G2). n=5

**Lot 3 :** sulfazalazine 500mg/Kg; groupes curatifs (**Lot 4 :** PT 100mg/kg ; **Lot 5 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 6 :** EP 100mg/Kg, **Lot 7 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 8 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 9 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 10 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 11 :** Glu 1000mg/Kg) ; groupes préventifs (**Lot 12 :** PT 100mg/kg ; **Lot 13 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 14 :** EP 100mg/Kg, **Lot 15 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 16 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 17 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 18 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 19 :** Glu 1000mg/Kg)

### **III.7.3. Score macroscopique**

Le score des dommages macroscopiques était parmi les principaux paramètres pour évaluer le niveau de l'inflammation du colon dans les maladies inflammatoires de l'intestin.

Après l'instillation intrarectale de l'acide acétique chez les rats, le rapport entre le poids humide et la longueur du colon et de la rate des rats a été déterminé. L'augmentation du poids du colon indique l'installation de l'inflammation et la présence d'un œdème. Ce modèle a été réalisé par plusieurs auteurs qui ont induit la CU par l'acide acétique. Selon l'étude statistique une différence significative ( $p < 0.05$ ) a été enregistrée entre le rapport poids/longueur de colon et de la rate des rats du groupe témoin positif et rats du groupe de référence (groupe traité avec 500mg/Kg de sulfazalazine), en parallèle aucune différence significative n'a été enregistrée entre ce rapport du colon et de la rate des rats des groupes expérimentaux de différents traitements et les rats du groupe de référence.

Ces résultats démontrent que l'instillation intrarectale d'acide acétique chez les rats provoque des inflammations œdémateuses macroscopiques très grave et un raccourcissement du colon dû à une nécrose (fig. 22).



**Figure 22** : : Différence macroscopique entre le colon du rat témoin négatif (lot 1) et colon du rat témoin négatif (lot 2)

La figure 23 démontre le rapport poids/longueur du colon des différents groupes expérimentaux traités avec les pharmaco-nutriments, le groupe témoin négatif a enregistré un rapport poids/longueur de  $0,08 \pm 0,01$  g/cm, suivi par le groupe de rats traités par le médicament sulfazalazine dont son rapport se rapproche de celui indiqué chez le groupe témoin négatif avec une valeur de  $0,09 \pm 0,01$  g/cm. Par contre, le rapport le plus élevé a été enregistré chez le groupe témoin positif avec un seuil de  $0,25 \pm 0,03$  g/cm. Tandis que les différents groupes qui ont reçu les divers traitements curatifs et préventifs des pharmaco-nutriments (huile de thon, peptides de thon, l'extrait de poulpe et glutamine) ont montré une différence hautement significative entre ces groupes et le groupe témoin positive, alors qu'il n'y a aucune différence significative entre les différents traitements.

En ce qui concerne les traitements préventifs, l'ensemble des pharmaco-nutriments (huile de thon, peptides de thon, l'extrait de poulpe, et le glutamine) ont obtenu des scores macroscopiques similaires, que ce soit pour les doses faibles ou élevées. L'huile de thon a enregistré un score de  $0,11 \pm 0,02$  g/cm à la dose faible et  $0,11 \pm 0,01$  g/cm à la dose élevée. Les peptides de thon ont noté un score de  $0,12 \pm 0,01$  g/cm à la dose faible et  $0,10 \pm 0,04$  g/cm à la dose élevée, tandis que l'extrait de poulpe ont relevé un score de  $0,13 \pm 0,02$  g/cm à la dose faible et  $0,10 \pm 0,01$  g/cm à la dose élevée.

En ce qui concerne les traitements curatifs, les doses élevées se sont avérées plus efficaces que les doses faibles. Comme, l'huile de thon qui a enregistré des scores de  $0,17 \pm 0,04$  g/cm à la dose faible et  $0,11 \pm 0,01$  g/cm à la dose élevée. Les peptides de thon ont retenu des scores de  $0,13 \pm 0,07$  g/cm à la dose faible et  $0,10 \pm 0,02$  g/cm à la dose élevée, tandis que l'extrait de poulpe ont enregistré des taux de  $0,14 \pm 0,02$  g/cm à la dose faible et  $0,12 \pm 0,01$  g/cm à la dose élevée.

Il convient de noter que les traitements préventifs ont abouti à de meilleurs résultats, tandis que les traitements curatifs ont montré une amélioration de l'efficacité à des doses plus élevées.

Dans les groupes de traitements, les résultats du rapport poids/longueur de la rate sont illustrés dans la figure 24. Le groupe traité par le médicament sulfazalazine a enregistré une valeur de ce rapport de  $0,10 \pm 0,00$  g/cm, qui se rapproche de celle de groupe témoin négatif qui est de  $0,09 \pm 0,01$  g/cm, alors que le groupe témoin positif a révélé un score médiocre d'un ratio de  $0,27 \pm 0,03$  g/cm. Les groupes de rats qui ont reçu les peptides de thon comme traitement préventif ont mentionné un bon score macroscopique de  $0,12 \pm 0,03$  g/cm pour les deux doses,

les groupes recevant les doses élevées de 'extrait de poulpe, d'huile de thon et de glutamine ont révélé les valeurs suivantes  $0,12\pm 0,01$  g/cm,  $0,15\pm 0,02$  g/cm et  $0,13\pm 0,04$  g/cm respectivement.

En ce qui concerne le traitement curatif, l'administration des doses élevées de pharmaco-nutriments a généré les résultats suivants :  $0,10\pm 0,02$  g/cm pour les peptides de thon,  $0,16\pm 0,02$  g/cm pour l'extrait de poulpe,  $0,15\pm 0,03$ g/cm pour l'huile de thon, et  $0,13\pm 0,04$  g/cm pour la glutamine. Par ailleurs, il convient de noter que l'effet des doses élevées et faibles n'a pas divergé de manière significative, car le traitement par faibles doses a également engendré une amélioration du rapport poids/longueur de la rate, affichant des valeurs de  $0,13\pm 0,02$  g/cm pour les peptides de thon,  $0,17\pm 0,02$  g/cm pour l'extrait de poulpe,  $0,16\pm 0,03$  g/cm pour l'huile de thon, et  $0,12\pm 0,02$  g/cm pour la glutamine.

Pour cela, tous les pharmaco-nutriments (huile de thon, peptides de thon, extrait de poulpe et glutamine), qu'ils aient été administrés à des doses élevées ou faibles, que ce soit en tant que traitement préventif ou curatif, ont engendré une amélioration significative du score par rapport au groupe témoin positif. De plus, aucune distinction statistiquement significative n'a été observée entre les différents types de pharmaco-nutriments et leurs doses respectives, ce qui suggère que tous les traitements ont suscité une réaction anti-inflammatoire substantielle.

Le rapport poids / longueur de colon et de la rate et l'histopathologie sont des révélateurs de la gravité de la colite. L'augmentation du rapport poids/longueur de colon et de la rate observée chez les animaux modèles de CU est dû à un œdème sévère, une nécrose et à une infiltration des cellules inflammatoires. L'effet des différents traitements pris en amont ou en aval de l'installation de la maladie est en corrélation avec l'effet de traitement pharmaceutique sulfasalazine. Ces différents remèdes nutraceutiques ont restauré d'une manière significative l'histopathologie des tissus de colon endommagés, ainsi que les lésions de la muqueuse, la nécrose, la dégénérescence et l'infiltration des cellules inflammatoires par rapport aux rats atteints de colite.

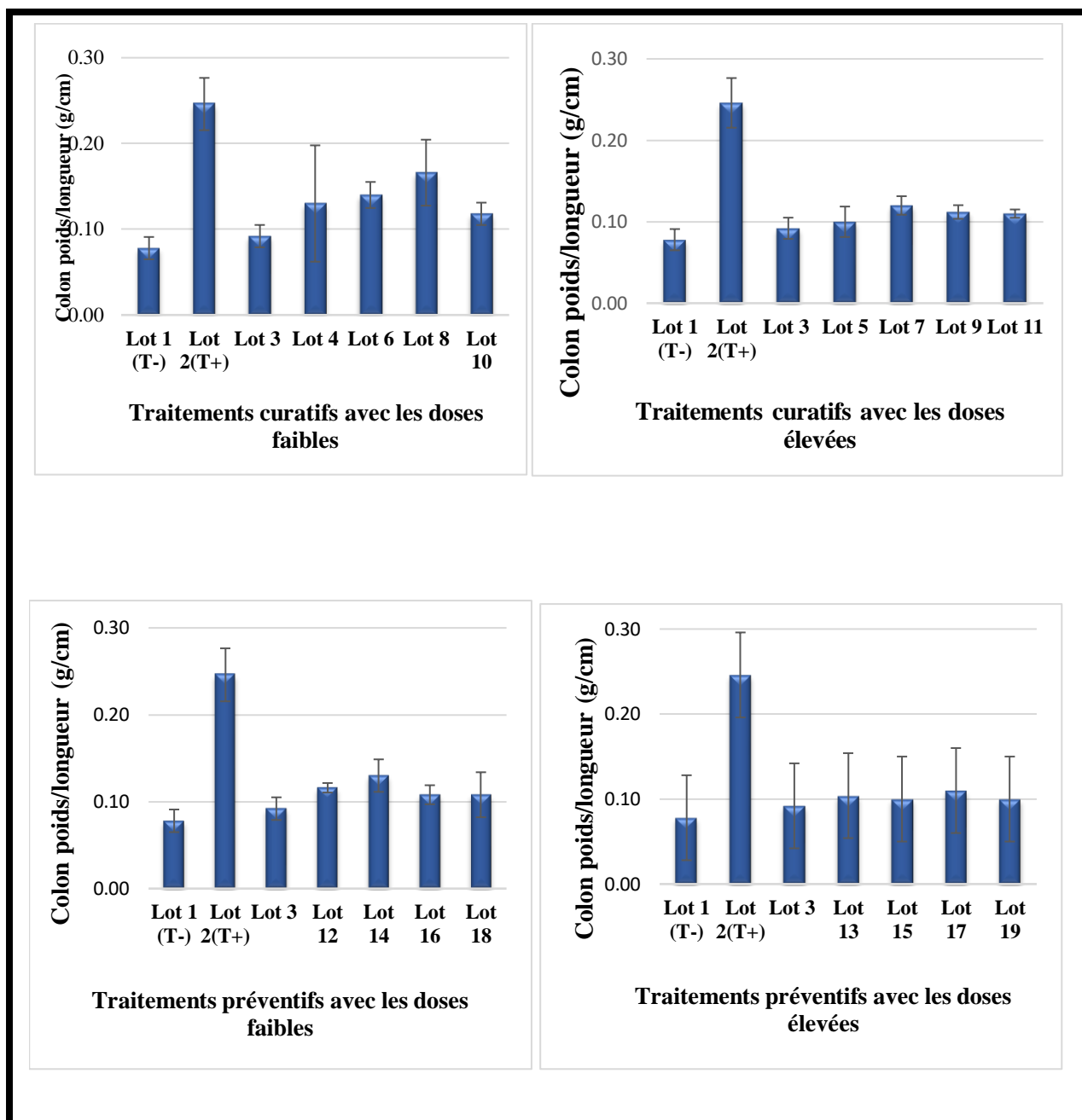
La rate comprend environ 25% du tissu lymphoïde totale qui joue un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie immunitaire et la protection contre l'invasion d'agents pathogènes en régulant les réponses immunitaires innées et adaptatives (Bronte & Pittet, 2013; Samal et al., 2018). En règle générale, l'immunité innée sert de réponse cellulaire fondamentale et rapide contre les attaques d'agents pathogènes en ciblant spécifiquement les composants pathogènes étrangers tels que les modèles moléculaires associés aux agents pathogènes

(PAMP) (Akira et al., 2006). Les PAMP sont reconnus par l'hôte par le biais de récepteurs de reconnaissance d'agents pathogènes codés par la lignée germinale (PRR), qui mobilisent ensuite les cellules immunitaires innées et sécrètent des molécules effectrices, telles que des cytokines, des chimiokines et des interférons de type I, pour éliminer les agents pathogènes ou réduire les risques (Kumar et al., 2011).

Dans la rate, les cellules dendritiques classiques (cDC) comprennent principalement trois sous-ensembles de cDC résidents, appelés cDC CD8a +, cDC EsamhiCD11b + et cDC EsamloCD11b +, qui aident à la médiation du croisement avec les cellules T en tant que dialogue des cellules présentatrices (Jiang et al., 2017). Plus précisément, plusieurs régions de la rate abritent plusieurs sous-ensembles de macrophages qui répondent aux agents pathogènes circulants, aux cellules sénescents et à divers débris apoptotiques. De plus, il existe d'autres cellules immunitaires innées, telles que les cellules NK et les monocytes, impliquées dans la fonction immunitaire de la rate.

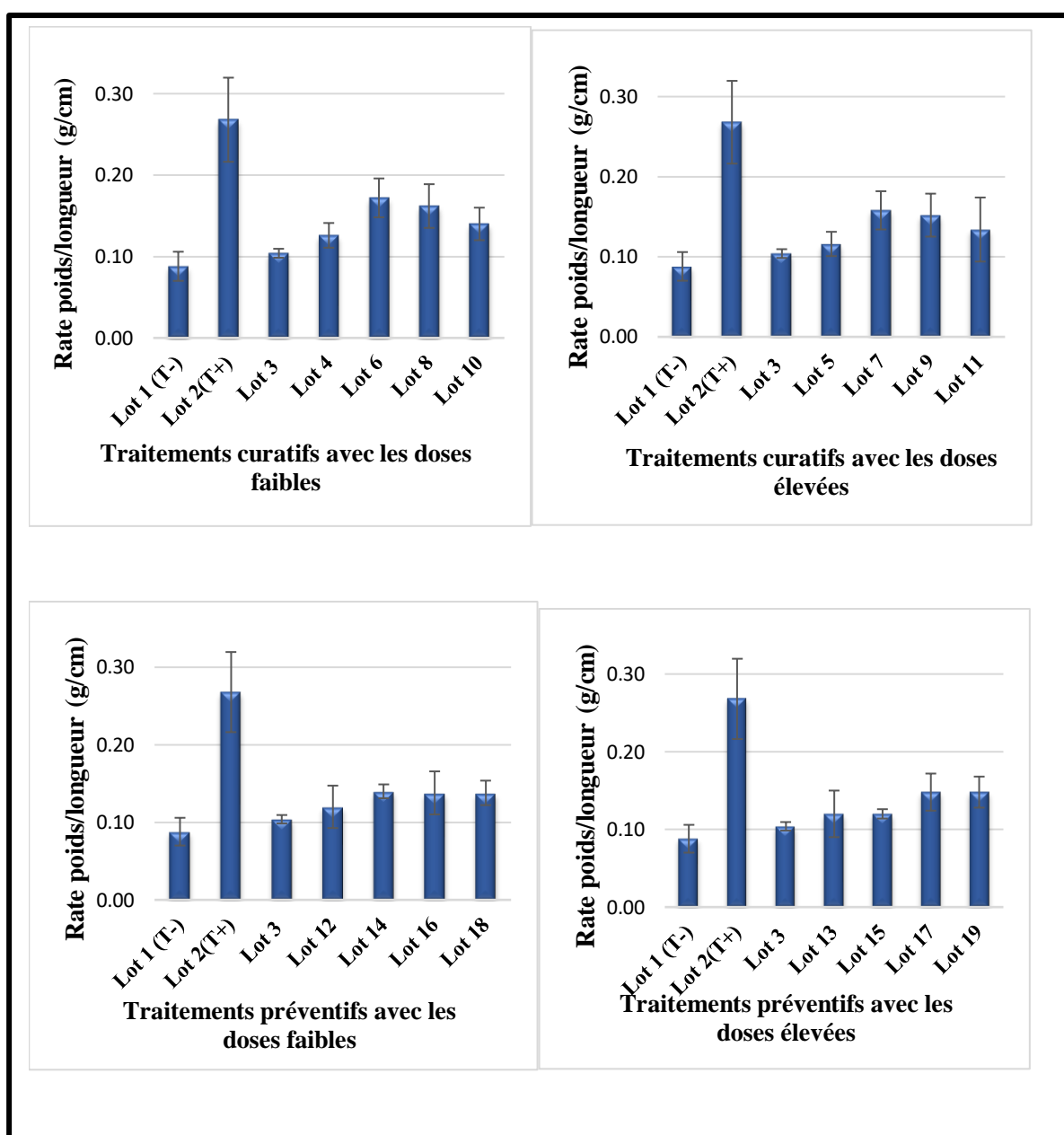
D'après des études antérieures, de nombreuses maladies associées à une hypofonction splénique, telles que la drépanocytose, la maladie cœliaque, les MICI et le lupus érythémateux disséminé, la fonction splénique se modifie en fonction de l'activité de la maladie sous-jacente. (De Porto et al., 2010)

Les MICI s'accompagnent d'une diminution de la fonction splénique et le TNF- $\alpha$  (la principale cytokine de MICI) endommage la zone marginale splénique (Kawashima et al., 2022). En ce qui concerne le dysfonctionnement splénique dans les MICI, les érythrocytes capitonnés, reflétant la fonction réticulo-endothéliale dans la RCH, étaient plus abondants dans les MICI en utilisant la microscopie à contraste interférentiel différentiel. Il a été rapporté que les cellules B mémoire de l'immunoglobuline M associées à la fonction splénique étaient réduites dans les MICI (Di Sabatino et al., 2005). Cependant, l'association entre le volume de la rate et l'activité de la maladie immunitaire n'a pas été établie. En particulier, une étude pense que la réponse immunitaire dans la MICI entraîne un gonflement de la rate et une augmentation du nombre de plaquettes en raison d'une diminution de la fonction de la rate. Le mécanisme détaillé n'est pas clair. (Kawashima et al., 2022)



**Figure 23 :** Rapport poids/longueur du colon des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (G1) et témoin positif (G2). N=5

**Lot 3 :** sulfazalazine 500mg/Kg; groupes curatifs (**Lot 4 :** PT 100mg/kg ; **Lot 5 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 6 :** EP 100mg/Kg, **Lot 7 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 8 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 9 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 10 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 11 :** Glu 1000mg/Kg) ; groupes préventifs (**Lot 12 :** PT 100mg/kg ; **Lot 13 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 14 :** EP 100mg/Kg, **Lot 15 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 16 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 17 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 18 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 19 :** Glu 1000mg/Kg)



**Figure 24 :** Rapport poids/longueur de la rate des rats de groupes curatifs et préventifs comparés aux témoin négatif (G1) et témoin positif (G2). n=5

**Lot 3 :** sulfazalazine 500mg/Kg; groupes curatifs (Lot 4 : PT 100mg/kg ; **Lot 5 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 6 :** EP 100mg/Kg, **Lot 7 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 8 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 9 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 10 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 11 :** Glu 1000mg/Kg) ; groupes préventifs (**Lot 12 :** PT 100mg/kg ; **Lot 13 :** PT 400mg/Kg ; Lot 14 : EP 100mg/Kg, **Lot 15 :** EP 400mg/Kg ; Lot : **16 :** HT 100mg/Kg ; **Lot 17 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 18 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 19 :** Glu 1000mg/Kg)

### **III.7.4. Paramètres hématologiques**

Les globules blancs, neutrophiles et lymphocytes jouent un rôle primordial dans le déclenchement de l'inflammation. Le tableau 6, illustre le taux de ces facteurs chez les rats témoins et les rats recevant les différentes substances avec doses faibles ou élevées, avant et après l'induction de la colite.

On remarque que chez les rats ayant reçu l'acide acétique sans être traités, une augmentation des globules blancs et des neutrophiles par rapport aux rats qui ont été traités par les divers pharmaco-nutriments testés. Cependant, les taux des globules blancs et des neutrophiles de différents prétraitements et traitements ont été élevés d'une manière significative ( $p < 0,05$ ) par rapport à ceux enregistrés chez le contrôle normal, par contre il n'y a aucune différence significative entre les différents traitements soit en amont ou en aval et les doses distincts.

L'immunité adaptative est un processus déclenché par les immunoglobulines G (IgG) exprimées par les lymphocytes B et les récepteurs des lymphocytes T (TCR). Ces molécules permettent une reconnaissance plus diversifiée des antigènes grâce à une réorganisation enzymatique des segments de gènes de la lignée germinale, notamment les régions de variabilité, de diversité et de jonction (Bonilla & Oettgen, 2010).

La réponse immunitaire adaptative démarre au niveau de la pulpe blanche de la rate, où se trouve une zone lymphoïde hautement organisée, séparée pour les lymphocytes B et les lymphocytes T (Lewis et al., 2019). Les cellules immunitaires innées telles que les macrophages et les cellules dendritiques nécessitent souvent l'activation des cellules B et T pour présenter efficacement les antigènes et initier des réponses immunitaires adaptatives (Iwasaki & Medzhitov, 2015).

De plus, les lymphocytes B sont organisés en lymphocytes B folliculaires qui peuvent produire des anticorps de manière dépendante ou indépendante des lymphocytes T, contribuant ainsi au maintien de la réponse immunitaire humorale dans la rate (Lewis et al., 2019 ; Seifert & Offner, 2018). Les cellules T, notamment les cellules T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup>, jouent un rôle crucial en tant que médiateurs dans la réponse immunitaire adaptative. Elles suivent un modèle de migration périvasculaire unidirectionnelle dans la rate, ce qui permet d'améliorer la charge cellulaire et la présentation de l'antigène pour une activation efficace et robuste des cellules T (Wei et al., 2022).

**Tableau 06** : Les paramètres sanguins des différents groupes expérimentaux.

	Groupes	Globules blanc g/l	Neutrophiles g/l	Lymphocytes g/l	
	G1	Témoin normal	6607,21 ±3,70	10,66 ±3,44	65,06 ±2,99
	G2	Témoin positif	19136 ±3,16	19,402 ±0,60	79,224 ±0,20
	G3	traitement sulfasalazine (500mg/Kg)	7008,2 ±3,42	8,372 ±0,53	70,366 ±0,53
Traitements curatifs	G4	AA+ Peptides thon 100mg/Kg	5697,162 ±3,54	18,7 ±0,94	74,1 ±1,26
	G5	AA+ Peptides thon 400mg/Kg	2898,702 ±1,71	0,76 ±0,03	79,21 ±3,08
	G6	AA+ extrait de poulpe 100mg/KG	6803,64 ±3,12	2,48 ±0,50	76,33 ±1,49
	G7	AA+ extrait de poulpe 400mg/KG	7695,582 ±3,78	5,758 ±1,08	86,326 ±2,72
	G8	AA + huile de thon 100mg/Kg	5999,498 ±2,35	34,275 ±3,15	53,66 ±3,42
	G9	AA + huile de thon 260mg/Kg	7998,412 ±2,72	11,392 ±3,08	57,517 ±2,71
	G10	AA + Glutamine 400mg/Kg	8452,2 ±2,58	3,12 ±0,08	78,98 ±0,90
	G11	AA + Glutamine 1000mg/Kg	7999,04 ±2,73	1,064 ±0,35	79,486 ±1,48
Traitements préventifs	G12	Peptides thon 100mg/Kg +AA	15997,8 ±3,19	1,39 ±0,53	78,64 ±2,29
	G13	Peptides thon 400mg/Kg +AA	11988,8 ±3,03	1,01 ±1,8	94,67 ±3,35
	G14	extrait de poulpe 100mg/Kg+ AA	6799,4 ±3,50	3,156 ±0,09	81,006 ±1,05
	G15	extrait de poulpe 400mg/Kg+ AA	5996 ±3,16	2,44 ±0,42	79,28 ±1,18
	G16	huile de thon 100mg/Kg + AA	8001,404 ±3,40	0,75 ±0,19	57,144 ±2,88
	G17	huile de thon 260mg/Kg + AA	7998,874 ±2,63	6,525 ±2,10	60,888 ±3,06
	G18	Glutamine 400mg/Kg +AA	12699 ±2,00	0,966 ±0,40	93,42 ±3,86
	G19	Glutamine 1000mg/Kg +AA	14050,95 ±3,43	0,7 ±0,00	98,8 ±0,00

Les valeurs représentent la moyenne de 5 déterminations ± SEM (n=5)

### III.7.5. Stress oxydatif

### **III.7.5.1. Statut antioxydant du tissu du colon**

Le tableau 7 montre l'effet des différents traitements préventifs et curatifs des pharmaco-nutriments sur l'activité anti-oxydante dans les PMS, du tissu du colon des rats de différents groupes expérimentaux.

Les résultats issus de cette expérimentation révèlent que les rats du groupe témoin positif G2 (colite provoquée sans traitement) ont une forte concentration en malondialdéhyde (MDA) méthochondriale colique allant jusqu'à 33, 18 nmol/mg en comparant avec les rats seins (témoin négatif G1) où on a enregistré un taux faible de 0.96 nmol/mg.

Une diminution très significative ( $p < 0.05$ ) du MDA a été observée chez l'ensemble des rats traités par les différents pharmaco-nutriments soit en traitement préventif, soit en traitement curatif avec un taux d'amélioration différent. On constate également que les peptides de thon à une dose de 100mg/kg ont un effet similaire que le médicament sulfasalazine pris à 500 mg/kg. Alors que l'apport de peptides avec une ration plus élevée (400 mg/kg) aux rats stabilise le niveau de MDA à la norme en comparaison avec les rats du groupe témoin positif.

Dans cette étude, les résultats obtenus indiquent que les concentrations en superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion (GSH) au niveau du colon sont significativement réduites ( $p < 0.05$ ) chez le groupe G2 avec des taux respectifs de 3.97, 17.59 et 20.07 U/g, par rapport au groupe témoin G1.

L'activité de ces enzymes anti-oxydantes au niveau du colon a été nettement améliorée chez les rats traités avec les différentes biomolécules testées dans cette étude autant que traitement préventif et curatif. Une augmentation très significative des trois enzymes a été constatée notamment chez les rats traités par les peptides de thon et l'extrait de poulpe (400mg/kg) et l'huile de thon (260mg/kg), où on a enregistré une élévation de GSH (95.67 82.67 et 96.79 U/g), et de CAT (72 ,52.67 et 48) respectivement. Ce résultat très satisfaisant reflète l'efficacité des pharmaco-nutriments proposés dans cette étude en comparaison avec le traitement galénique réputé comme un anti-inflammatoire efficace contre la colite ulcéreuse où on enregistre une augmentation similaire des concentrations de GSH (98.33), CAT (54.73) et de SOD (60.67) chez les animaux du groupe G3 traités par la sulfasalazine. Il n'y a pas eu une différence significative ( $p > 0.05$ ) des taux de ces paramètres entre les groupes de différents traitements par rapport à celui traité avec la sulfasalazine (500mg/Kg).

**Tableau 07** : Taux de paramètres oxydatifs coliques chez les différents groupes expérimentaux

	Groupes		Paramètres (Moyenne ± Ecart type)			
			Colique MDA (nmol/mg)	Colique GSH(U/g)	Colique CAT (U/mg)	Colique SOD (U/cg)
	G1	Témoin négatif	0,96±0,17	155,00±1,00	124,00±1,00	80,00±1,00
	G2	Témoin positif (non traité)	33,18±1,71	20,07±1,10	17,59±1,65	3,97±1,06
	G3	sulfasalazine traitement (500mg/Kg)	2,55±0,30	98,33±0,58	54,73±1,10	60,67±2,08
Traitements curatifs	G4	AA+ Peptides thon 100mg/Kg	2,55±0,42	37,33±1,15	44,82±0,65	18,33±0,58
	G5	AA+ Peptides thon 400mg/Kg	1,88±0,47	40,00±1,00	50,67±0,58	24,33±0,58
	G6	AA+ extrait de poulpe 100mg/KG	12,45±2,66	31,44±0,76	21,19±2,30	19,11±1,84
	G7	AA+ extrait de poulpe 400mg/KG	8,45±0,45	37,33±0,58	31,29±3,00	31,07±4,10
	G8	AA + Huile de thon 100mg/Kg	13,85±1,43	38,77±1,08	36,76±0,67	15,26±0,86
	G9	AA + Huile de thon 260mg/Kg	8,36±0,52	43,43±1,25	50,33±1,15	14,52±1,01
	G10	AA + Glutamine 400mg/Kg	8,33±1,50	17,79±1,58	21,45±0,51	32±1,00
	G11	AA + Glutamine 1000mg/Kg	4,63±0,60	49,5±1,80	36,28±0,63	38,33±0,58
Traitements préventifs	G12	Peptides thon 100mg/Kg +AA	4,63±0,67	53,33±0,58	66,00±1,00	34,67±0,58
	G13	Peptides thon 400mg/Kg +AA	3,20±0,23	95,67±0,58	72,00±1,00	44,00±3,00
	G14	extrait de poulpe 100mg/Kg+ AA	11,06±1,21	43,33±0,58	44,33±0,58	25,27±0,37
	G15	extrait de poulpe 400mg/Kg+ AA	7,41±0,87	82,67±1,15	52,67±1,15	30,23±1,00
	G16	Huile de thon 100mg/Kg + AA	4,00±0,51	86,22±1,82	39±1,73	11,16±2,26
	G17	Huile de thon 260mg/Kg + AA	5,74±0,88	96,79±1,58	48±1,00	30,66±1,16
	G18	Glutamine 400mg/Kg +AA	6,80±1,07	30,00±1,00	26,1±0,85	23,7±0,52
	G19	Glutamine 1000mg/Kg +AA	8,44±1,14	42,33±0,58	36,38±0,54	45,69±0,42
		<b>P</b>		0,00001	0,00001	0,00001

Les valeurs représentent la moyenne de 5 déterminations ± SEM (n=5)

En parcourant les résultats obtenus, on peut déduire que l'apport des différents pharmaco-nutriments pour atténuer le stress oxydatif colique autant que traitement préventif est plus efficace qu'on traitement curatif.

### **III.7.5.2. Statut antioxydant sérique**

L'effet des différents traitements préventifs et curatifs des pharmaco-nutriments étudiés sur l'activité anti oxydante sérique chez les rats de différents groupes expérimentaux sont illustrés dans le tableau 8.

Dans les sérums collectés des rats, les résultats indiquent que, chez le groupe témoin positif G2 les taux des paramètres sériques enregistrés de CAT, de glutathion total GSH, et de superoxyde dismutase SOD, ont été significativement inverses à ceux évalués chez les animaux sains G1, en enregistrant des valeurs de  $23,19 \pm 1,56$  U/mg,  $32,76 \pm 1,47$  U/mg et  $6,35 \pm 1,78$  U/cg respectivement en comparaison avec le contrôle sain où des concentrations sériques élevées de CAT ( $102,67 \pm 2,08$  U/mg), de GSH ( $114,19 \pm 2,50$  U/mg), et de SOD ( $84,43 \pm 1,5$  U/cg) ont été soulevés

Les peptides bioactifs de thon à une dose de 400mg/kg et l'huile de thon (260mg/kg) ont pu stabiliser le stress oxydatif chez les rats qui l'ont après l'installation de la maladie, dont les taux des enzymes passent en moyenne à 68, 57 et 37,5 respectivement pour GSH CAT et SOD. Le traitement préventif avec les peptides de thon à la concentration de 400mg/Kg a enregistré la meilleure amélioration.

En comparant les paramètres coliques et sériques du statut oxydatif obtenus dans cette recherche chez les rats des différents groupes recevant des traitements et prétraitements en pharmaco-nutriments (peptide de thon, extrait de poulpe, huile de thon et glutamine) avec différentes doses, les paramètres recherchés ont augmenté similairement par rapport aux rats atteints de colite, Ainsi il n'y a aucune différence significative des taux de ces paramètres entre les groupes de différents traitements avec celui de groupe référence traité avec la sulfasalazine (500mg/Kg), ce dernier a enregistré des valeurs de  $80,07 \pm 0,90$ U/mg pour CAT,  $88,47 \pm 1,29$  U/mg pour GSH et  $68,14 \pm 1,03$  U/cg pour SOD.

**Tableau 08** : Taux de paramètres oxydatifs sériques chez les différents groupes expérimentaux

	Groupes	Paramètres (Moyenne ± Ecart type)				
		Sérique MDA (nmol/mg)	Sérique GSH(U/g)	Sérique CAT (U/mg)	Sérique SOD (U/cg)	
	G1	Témoin négatif	1,09±0,14	114,19±2,50	102,67±2,08	84,43±1,5
	G2	Témoin positif (non traité)	17,55±2,24	32,76±1,47	23,19±1,56	6,35±1,78
	G3	sulfasalazine traitement (500mg/Kg)	2,03±0,41	88,47±1,29	80,07±0,90	68,14±1,03
Traitements curatifs	G4	AA+ Peptides thon 100mg/Kg	4,15±0,17	51,00±1,00	39,28±1,15	29,34±0,35
	G5	AA+ Peptides thon 400mg/Kg	3,26±0,26	69,07±1,62	58,67±0,58	34,65±0,84
	G6	AA+ extrait de poulpe 100mg/KG	4,40±0,22	49,00±1,73	33,81±0,74	26,47±0,47
	G7	AA+ extrait de poulpe 400mg/KG	3,96±0,13	57,67±0,58	45,46±0,50	32,87±0,51
	G8	AA + Huile de thon 100mg/Kg	3,48±0,25	53,83±1,36	34,08±0,54	32,81±1,39
	G9	AA + Huile de thon 260mg/Kg	3,39±0,40	67,10±1,85	57,21±1,21	41,77±0,68
	G10	AA + Glutamine 400mg/Kg	5,13±0,16	33,45±0,48	35,03±1,04	14,90±1,35
	G11	AA + Glutamine 1000mg/Kg	2,95±0,13	52,74±1,99	49,98±2,00	30,05±1,04
Traitements préventifs	G12	Peptides thon 100mg/Kg +AA	4,33±0,30	59,11±0,85	50,67±1,15	48,14±1,15
	G13	Peptides thon 400mg/Kg +AA	1,85±0,25	85,67±0,58	74,17±0,76	68,77±0,68
	G14	extrait de poulpe 100mg/Kg+ AA	4,63±0,38	48,00±1,73	37,73±1,22	42,17±0,85
	G15	extrait de poulpe 400mg/Kg+ AA	3,71±0,14	50,00±1,00	43,06±1,94	46,70±1,92
	G16	Huile de thon 100mg/Kg + AA	4,00±0,51	77±2,65	34,75±1,42	26,10±1,54
	G17	Huile de thon 260mg/Kg + AA	2,41±0,35	86,00±2,65	73,73±1,42	58,50±0,70
	G18	Glutamine 400mg/Kg +AA	2,41±0,68	24,02±1,19	21,41±2,63	14,79±0,51
	G19	Glutamine 1000mg/Kg +AA	5,26±0,33	64,46±1,87	50,56±2,22	46,15±0,79
		<b>P</b>		0,00002	0,00001	0,00001

Les valeurs représentent la moyenne de 5 déterminations ± SEM (n=5)

Les taux de paramètre sérique MDA, de groupe traité par Sulfazalazine a été significativement réduit par rapport au témoin positif avec des valeurs de  $2,03 \pm 0,41$  nmol/mg et  $17,55 \pm 2,24$  nmol/mg respectivement, alors qu'il n'y a pas une différence entre les groupes de référence, des traitements préventifs des peptides de thon et de l'huile de thon avec la dose élevée ( $1,85 \pm 0,25$  nmol/mg,  $2,41 \pm 0,35$  nmol/mg) et celui du contrôle normal, dont le taux ne dépasse pas  $1,09 \pm 0,14$  nmol/mg. Ceci confirme la fiabilité des pharmaco-nutriments à prévenir la colite ulcéreuse.

Les lésions de la barrière muqueuse intestinale sont un symptôme typique des patients atteints de RCH, et la manifestation pathologique est une augmentation de la perméabilité intestinale. Avec l'augmentation de cette dernière, des substances nocives telles que les bactéries et les endotoxines peuvent pénétrer dans l'organisme et affecter la santé humaine. La prévention des lésions de la muqueuse ou la promotion d'une régénération efficace des cellules de la muqueuse est l'un des moyens de soulager la RCH (Jing et al., 2022)

Les peptides bioactifs constituent une classe importante d'ingrédients alimentaires fonctionnels susceptibles d'affecter la santé humaine et leur valeur nutritionnelle, y compris les propriétés antihypertensives, anti-inflammatoires, antioxydantes, chimiopréventives et antidiabétiques (Hernández-Ledesma et al., 2022). Plusieurs peptides bioactifs provenant de diverses sources ont été étudiés comme anti-inflammatoires dans des modèles animaux. Cela permet d'évaluer les effets de ces composés dans des conditions physiologiques plus complexes que les études *in vitro* (Rivera-Jiménez, et al., 2022). En s'investissant pour prévenir l'inflammation et le dysfonctionnement de l'endothélium et de réduire le stress oxydatif, montrant ainsi un effet adjuvant sur la réduction du risque athérogène. En outre, il a été prouvé que l'hydrolysate de protéines de coproduit de thon bioactifs augmentait le niveau d'expression génétique de la protéine TJ dans le tissu du côlon. Une autre étude a montré un effet anti-inflammatoire en réduisant l'activité de la MPO, l'expression génétique des cytokines pro-inflammatoires TNF-, IL-6, IL-1, et IL-17 dans le côlon, en améliorant l'histologie du côlon et en réduisant les symptômes de la colite induite par le sulfate de sodium de Dextran (DSS) et la perte de poids *in vivo* dans un modèle murin de colite (Kovacs-Nolan et al., 2012 ; Tawalbeh et al., 2023).

La présence de certains acides aminés et leur position dans la séquence peptidique ont un effet important sur leur activité antioxydante (Aluko, 2015). Les acides aminés aromatiques, tels que la tyrosine, l'histidine, le tryptophane et la phénylalanine, et les acides aminés hydrophobes, tels que la valine, la leucine, la méthionine, la glycine et l'alanine, sont essentiels pour le rôle

antioxydant du peptide. L'oxydation plus élevée des peptides par rapport aux acides aminés libres est attribuée à leurs propriétés chimiques et physiques uniques par la séquence d'acides aminés elle-même. Dans une étude, le peptide antioxydant His-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-Lue, la présence de deux séquences répliquées, Gly-Pro, et le placement de Leu en position carboxylique et de His à l'extrémité amine ont augmenté la propriété de piégeage des radicaux libres (Mendis et al., 2005).

La présence d'acides aminés hydrophiles tels que la proline, l'alanine, la valine et la leucine en position N et les acides aminés tyrosine, valine, méthionine, leucine, isoleucine, glutamine et tryptophane en position C-terminale a été associée aux propriétés antioxydantes des peptides (Giri & Ohshima, 2012). En outre, les radicaux libres liposolubles (radicaux peroxy) produits au cours du processus d'oxydation des acides gras insaturés sont neutralisés par les acides aminés hydrophobes tels que la leucine, la valine, l'alanine et la proline.

Les acides aminés tels que l'histidine, la tyrosine, la méthionine et la cystéine inactivent les radicaux libres en leur donnant des protons. Les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane et tyrosine) convertissent les radicaux libres en molécules stables en leur donnant des électrons (Akbarian et al., 2022).

Les acides EPA et DHA, présents dans la composition des oméga-3, ont un rôle important dans la régulation de l'inflammation et de l'anti-inflammation de l'homéostasie corporelle, modulée par les eicosanoïdes (Dennis & Norris, 2015). L'oxydation des acides gras à 20 carbones  $\omega$ -6 acide arachidonique (ARA ; C20:4n-6) entraîne la formation de dérivés connus sous le nom d'eicosanoïdes, qui sont générés par les actions enzymatiques de la cyclooxygénase (COX) et de la lipoxygénase (LOX) (Bonafini & Fava, 2017; Shibabaw, 2021). La voie COX (COX-1/-2/-3) génère des prostaglandines (PGs) et des thromboxanes (TXBs), tandis que la voie LOX (5-/12-/15-LOX) génère des acides hydroxyeicosatétraénoïques (HETEs), des lipoxines (LXs), des leucotriènes (LTs), et d'autres dérivés oxydatifs (Sundaram et al., 2022 ; Sherratt et al., 2023). Une étude a mentionné que les eicosanoïdes pro-inflammatoires dérivés de l'ARA affectent le microbiote intestinal, détruisent la barrière intestinale et jouent un rôle central dans la pathogenèse des MICI (Sugihara et al., 2019).

Les AINS agissent en inhibant l'ARA et ses dérivés, principalement dans la voie COX. D'autres études ont démontré que la production d'eicosanoïdes dérivés de l'ARA est réduite par une supplémentation en EPA ou en DHA. Il a été rapporté qu'un apport élevé en acides gras n-3

marins réduit la quantité d'ARA dans les phospholipides membranaires des cellules impliquées dans l'inflammation, ce qui entraîne une réduction de la production de médiateurs dérivés de l'ARA (Calder, 2015).

Par ailleurs, des études animales ont montré que l'EPA et le DHA inhibent le métabolisme de l'ARA et réduisent la production d'eicosanoïdes, tels que les PG. Cependant, les molécules d'EPA telles que les résolvines de série E RvEs et les molécules de DHA telles que les résolvines de série D RvDs, les marésines (MaRs) et les protectines (PDs) sont des antagonistes de l'inflammation (Sundaram et al., 2022). Ces molécules inhibent l'inflammation en éliminant les débris inflammatoires et stimulent la défense antimicrobienne pour l'homéostasie intestinale. En combinaison avec ces effets, elles peuvent limiter la génération et l'activité des médiateurs inflammatoires, y compris les protéines kinases, les chimiokines du facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) et les cytokines (Feng et al., 2021 ; Velasque et al., 2023). Cependant, les AGPI  $\omega$ -3 ont un effet anti-inflammatoire plus puissant que les AGPI  $\omega$ -6. Cela peut être dû à la différence d'étendue de l'action des eicosanoïdes impliqués dans la phase de résolution (Sundaram et al., 2022).

### **III.7.6. Scores histologiques**

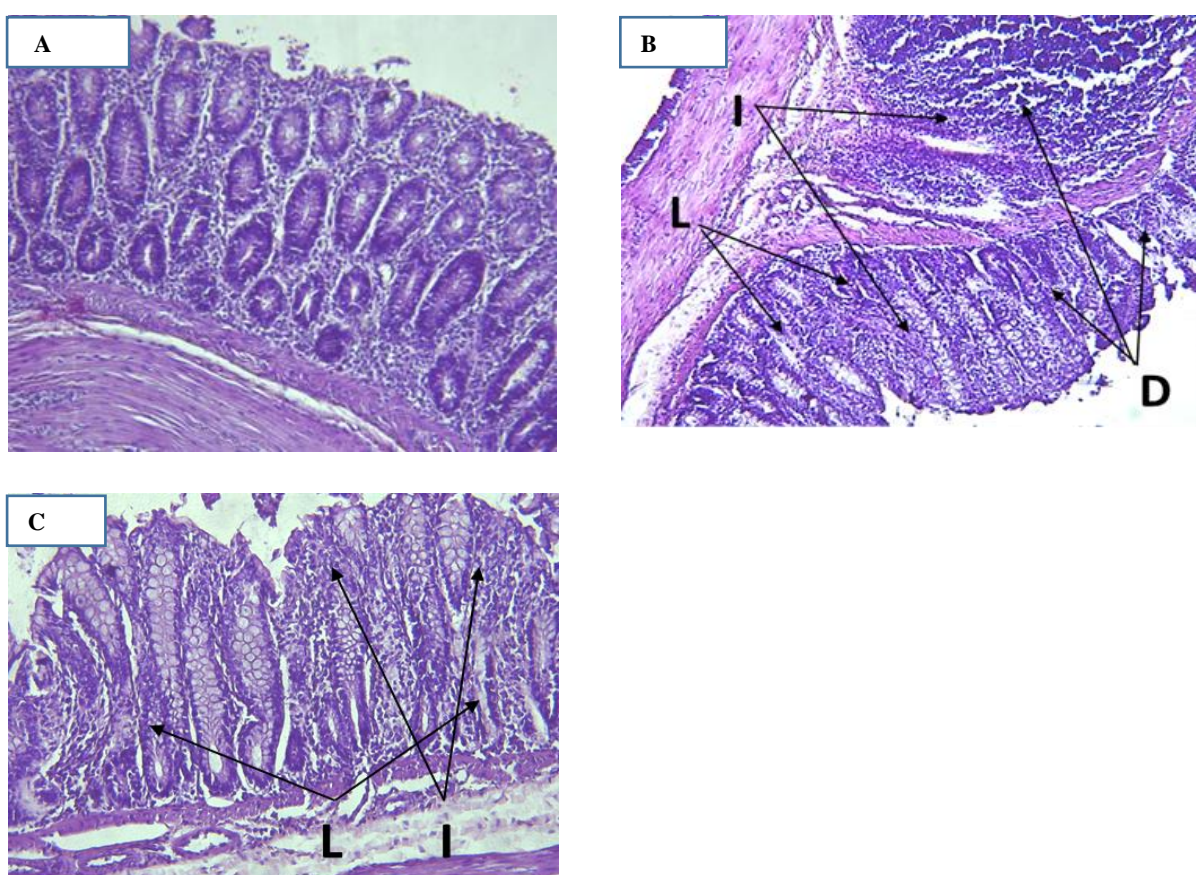
Les images regroupées en figure 25, 26 et 27 représentent les sections de tissu du colon extraites des groupes respectifs de rats traitées avec une coloration standard (H & E) afin de révéler les anomalies par un examen histologique. Chez l'ensemble des rats du groupe témoin négatif, aucune altération morphologique de la structure des échantillons du colon n'a été révélée, absence d'atrophie des cellules gobelets, une muqueuse d'apparence normale et une sous muqueuse saine sans inflammation.

Tandis que, les échantillons de colon des rats de groupe témoin positif G2, présentent des tissus endommagés, des couches muqueuses et sous muqueuse altérées, des ulcérations, une atrophie de la muqueuse, une dégénérescence importante, une nécrose, une infiltration des cellules inflammatoires ainsi qu'une perte de la plupart des cellules gobelets.

Cependant, les rats dopés avant l'installation de la maladie par les différentes doses de peptides de thon, extrait de poulpe, huile de thon et glutamine ont montré une muqueuse presque préservée avec une inflammation insignifiante, une hyperplasie des cellules de gobelets et du mucus, une infiltration légère des cellules inflammatoires dans la muqueuse et sous muqueuse. Pour les tissus du colon des rats traités par les différents pharmaco-nutriments, on a observé

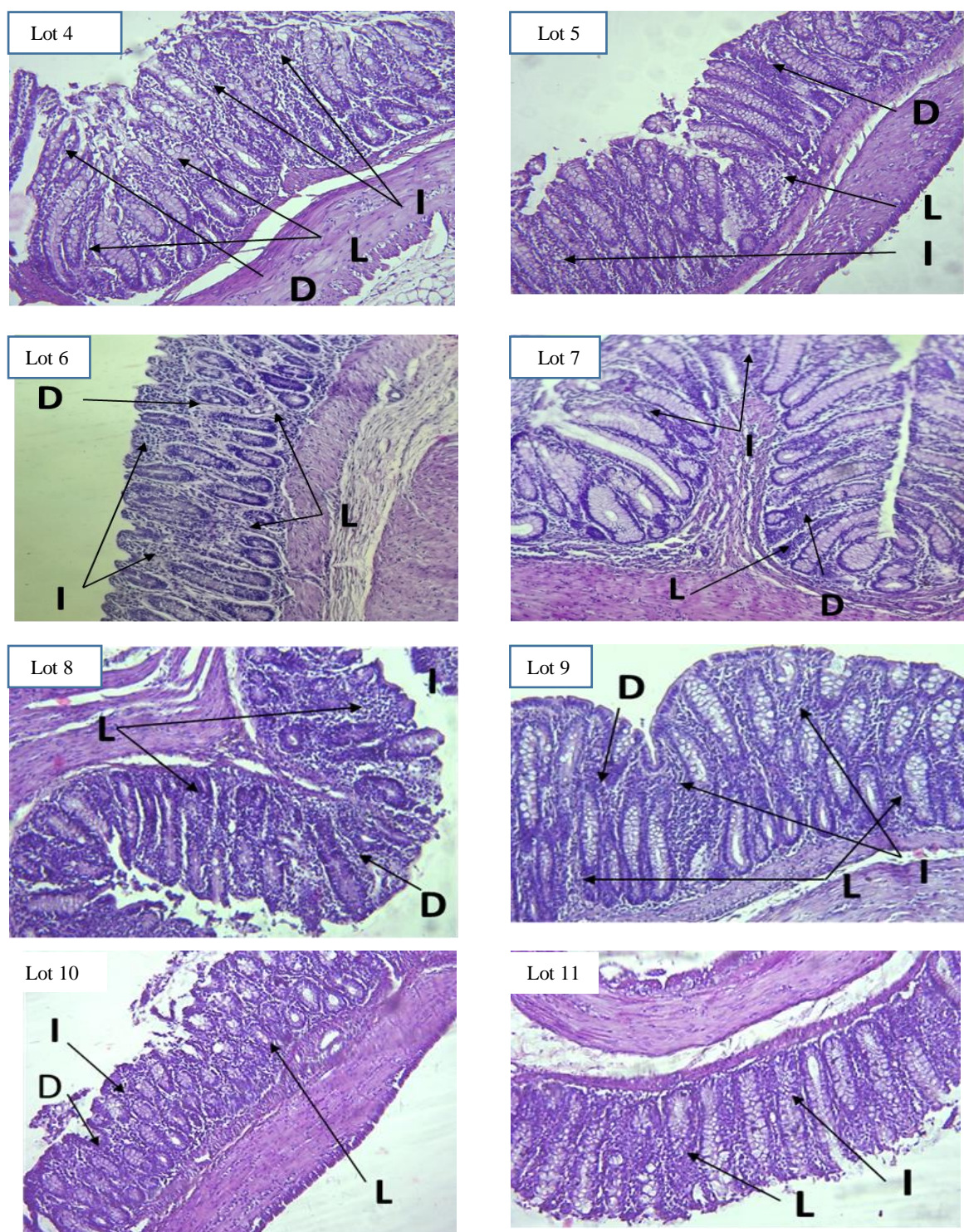
une amélioration des tissus coliques, un certain nombre de cryptes sont infiltrés des cellules inflammatoires, une dégénérescence également présente dans la muqueuse et sous muqueuse, il y a une perte de quelques cellules gobelets, la dose élevée des pharmaco-nutriments a montré une meilleure amélioration.

Cette amélioration est observée aussi chez les rats de groupe recevant le traitement avec le médicament sulfazalazine à une dose de 500mg/Kg. En revanche, des dommages tissulaires modérés étaient encore présents chez les rats de ce groupe, sous forme de nécrose tissulaire, de dégénérescence, d'obstruction des vaisseaux sanguins et d'infiltration de la muqueuse et de sous muqueuse, ainsi qu'une perte des cellules gobelets.



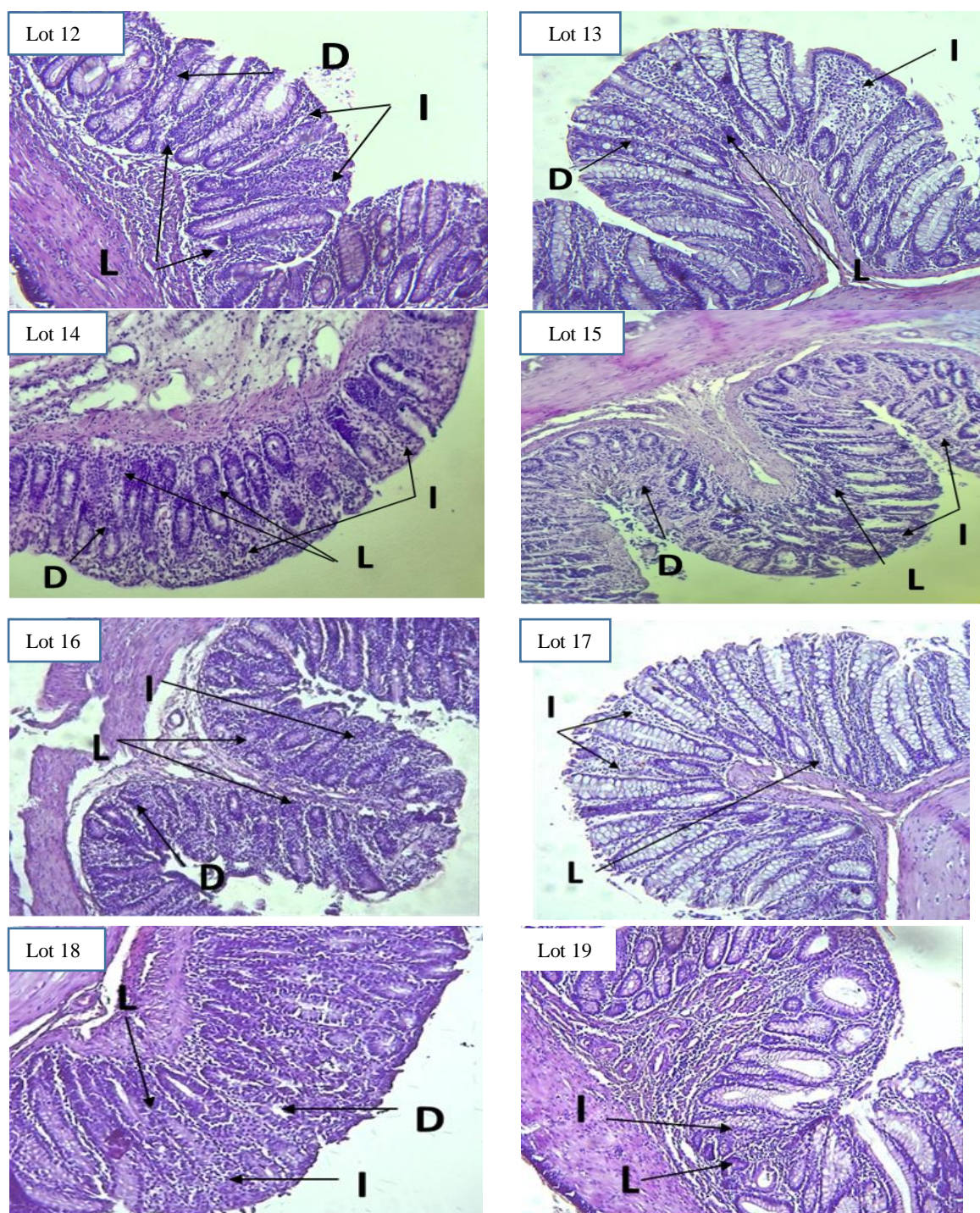
**Figure 25 :** Effet des pharmaco-nutriments sur les changements histologiques des tissus du colon colorés avec le H&E dans les lots témoins (**A**: témoin négatif, **B** : témoin positif ; **C** : sulfazalazine 500mg/KG) chez des rats atteints de colite induite par AA (100X).

Les rats du groupe témoin négatif présentent une morphologie normale. Le groupe témoin positif montre une grave lésion tissulaire dans les couches muqueuses et sous-muqueuses du colon, avec une perte de cellules caliciformes (**L**), une dégénérescence (**D**) et une infiltration de cellules inflammatoires dans les couches muqueuses et sous muqueuses (**I**).



**Figure 26 :** Effet des traitements curatifs sur les changements histologiques des tissus du colon colorés chez des rats atteints de colite induite (100X)

(**Lot 4 :** PT 100mg/Kg ; **Lot 5 :** PT 400mg/Kg ; **Lot 6 :** EP 100mg/KG ; **Lot 7 :** EP 400mg/Kg ; **Lot 8 :** HT 100mg/Kg, **Lot 9 :** HT 260mg/Kg ; **Lot 10 :** Glu 400mg/Kg ; **Lot 11 :** Glu 1000mg/KG). Perte de cellules caliciformes (L), dégénérescence (D) et infiltration de cellules inflammatoires dans les couches muqueuses et sous muqueuses (I).



**Figure 27 :** Effet des traitements préventifs sur les changements histologiques des tissus du colon colorés chez des rats atteints de colite induite (100X)

(Lot 12 : PT 100mg/Kg ; Lot 13 : PT 400mg/Kg ; Lot 14 : EP 100mg/KG ; Lot 15 : EP 400mg/Kg ; Lot 16 : HT 100mg/Kg, Lot 17 : HT 260mg/Kg ; Lot 18 : Glu 400mg/Kg ; Lot 19 : Glu 1000mg/KG). Perte de cellules caliciformes (L), dégénérescence (D) et infiltration de cellules inflammatoires dans les couches muqueuses et sous muqueuses (I).

Nos résultats correspondent bien à ceux d'une étude menée pour déterminer l'effet de l'administration d'huile de poisson sur l'inflammation et les dommages oxydatifs dans les tissus coliques de rats atteints de colite induite par l'acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique (TNBS). Il a été observé que l'administration intra-rectale d'huile de poisson diminue l'inflammation dans la muqueuse intestinale des animaux atteints de colite, et que les niveaux de nitrite/nitrate dans le sérum et les tissus sont augmentés dans le groupe atteint de colite. En outre, l'administration d'huile de poisson réduit de manière significative les niveaux sériques plus élevés (Yorulmaz et al., 2019).

Dans une autre étude, les effets protecteurs du traitement à l'huile de krill antarctique (KO) ont été étudiés chez des souris atteintes de colite ulcéreuse induite par le DSS. Les résultats obtenus indiquent que l'huile de krill améliore efficacement les symptômes de la colite, réduit la production excessive de cytokines inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ ) et inhibe l'activation de la voie de signalisation NF- $\kappa$ B (Zhou et al., 2021). Par ailleurs, une étude a examiné la colite induite par des produits chimiques chez des souris fat-1, qui ont provoqué significativement moins de lésions coliques et d'inflammation chez les souris fat-1 que chez les souris de type sauvage. Cela a été associé à un changement marqué de la réponse des médiateurs inflammatoires dans le tissu colique (Calder, 2015).

Ces résultats sont très similaires à ceux rapportés dans plusieurs études dans lesquelles des extraits d'*Otostegia fruticosa* (Ansari et al., 2021), de feuilles de *Cordia vignei* (Owusu et al., 2020), de graines de basilic, de gomme arabique (Bejeshk et al., 2022), de polypeptides de *Rhopilema esculentum* (Wang et al., 2023) et de peptides bioactifs de thon (Xiang et al., 2021) ont atténué la colite ulcéreuse induite par l'acide acétique chez les rats en inhibant divers marqueurs physiques, hématologiques et biochimiques tels que la perte de poids corporel, la densité du côlon et le stress oxydatif. Des recherches menées chez l'homme ont également montré que les acides gras marins n-3 administrés par voie orale réduisaient la production d'eicosanoïdes dérivés de l'ARA (Calder, 2015).

# *Conclusion*

## **Conclusion**

Dans le cadre de cette étude, des composés bioactifs ont été méticuleusement extraits de sources alimentaires d'origine marine. L'huile a été extraite par la méthode de Soxhlet, tandis que les peptides bioactifs ont été obtenus par le biais d'une hydrolyse enzymatique faisant usage de l'enzyme endo-protéase Alcalase, à partir du muscle du thon rouge. De plus, d'autres peptides ont été isolés du poulpe, également par une hydrolyse aqueuse, pour élargir la palette de substances étudiées. Cette procédure d'extraction a été exécutée avec une rigueur scientifique pour garantir la pureté et la qualité des composés bioactifs ainsi obtenus, formant ainsi la base essentielle de notre recherche.

Notre étude avait pour objectif d'évaluer l'effet antioxydant des substances testées, à l'aide du test DPPH. Les résultats de cette évaluation ont révélé que l'huile de thon, ainsi que les peptides bioactifs issus de deux sources distinctes, tout comme la glutamine, affichaient une capacité significative à neutraliser les radicaux libres du DPPH. En d'autres termes, ces composés étaient aptes à capturer efficacement les radicaux DPPH, témoignant ainsi de leur potentiel antioxydant.

Notre recherche a mis en question leur impact sur la protection de la membrane des globules humains, ainsi que leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines. Ces résultats ont une importance significative, car elles soulignent la capacité de ces substances à préserver l'intégrité cellulaire et à maintenir la stabilité des protéines, des caractéristiques essentielles pour la santé et le fonctionnement normal de l'organisme. En somme, cette étude confirme de manière convaincante les propriétés anti-inflammatoires de ces composés, suggérant leur pertinence potentielle dans divers contextes liés à la protection cellulaire et à la santé humaine.

La colite est une condition caractérisée par des altérations de la consistance des selles, pouvant évoluer jusqu'à la diarrhée hémorragique, ainsi que par l'apparition de saignement rectaux. Elle s'accompagne généralement d'une diminution de la consommation alimentaire chez des sujets affectés, entraînant une perte de poids corporel significative, ainsi qu'un déclin de leur état général de santé.

Dans le but d'évaluer l'effet modulateur des substances bioactives sélectionnées sur l'inflammation intestinale, nous avons opté pour l'utilisation d'un modèle animal de colite chez le rat conventionnel. Cette colite ulcéreuse (CU) a été induite par l'administration intrarectale

d'une solution d'acide acétique à 5%. Les rats ainsi induits ont ensuite été soumis à différents traitements, comprenant deux doses distinctes de chaque substance étudiée, à la fois en prévention avant l'installation de la maladie et en traitement curatif après la confirmation de la CU.

Les résultats de notre recherche ont révélé que le traitement des rats par les différentes substances, à diverses doses, a permis d'atténuer de manière significative les signes cliniques de la colite. En outre, la CU s'est traduite par l'apparition des dommages tissulaires, des lésions macroscopiques, comprenant des œdèmes, une hyperémie, des hémorragies, des érosions et des ulcérations, ainsi qu'un raccourcissement de la longueur du colon. Cependant, le traitement administré aux animaux atteints de colite a contribué à réduire les paramètres susmentionnés.

Les molécules bioactives marines (Peptides de thon et poulpe, Huile de thon) semblent ainsi exercer un potentiel anti-inflammatoire notable contre la CU. Cet effet anti-inflammatoire peut être médié par plusieurs mécanismes, notamment l'inhibition de la détérioration des lésions intestinales, l'atténuation des dommages tissulaires engendrés par la réaction inflammatoire, la restauration de l'intégrité de la barrière colique, ainsi que la répression de la migration des cellules immunitaires inflammatoires, telles que les leucocytes, les macrophages et les monocytes.

Ces découvertes éclairent la voie vers une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents à l'action des substances bioactives dans le contexte de la rectocolite hémorragique (RCH), ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le développement de stratégies thérapeutiques innovantes visant à atténuer l'inflammation intestinale chez les patients affectés.

L'étude suggère la nécessité de mener des recherches approfondies pour comprendre comment l'huile et les peptides bioactifs de poisson affectent le microbiote intestinal. La comparaison des effets des hydrolysats de peptides de thon et de poulpe sur le microbiote par des analyses moléculaires avancées est fortement souhaitée. Ces études approfondies pourraient offrir des perspectives importantes pour le développement de traitements ciblés des troubles gastro-intestinaux et ouvrir des nouvelles opportunités en médecine personnalisée.

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références Bibliographiques

-A-

- Abd-Talib, N., Yaji, E. L. A., Wahab, N. S. A., Razali, N., Len, K. Y. T., Roslan, J., Saari, N., & Pa'ee, K. F. (2022). Bioactive Peptides and Its Alternative Processes: A Review. In *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 27, (3). <https://doi.org/10.1007/s12257-021-0160-8>
- Abdel-Hamid, M., Otte, J., De Gobba, C., Osman, A., & Hamad, E. (2017). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and antioxidant capacity of bioactive peptides derived from enzymatic hydrolysis of buffalo milk proteins. *International Dairy Journal*, 66, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.006>
- AbuMweis, S., Jew, S., Tayyem, R., & Agraib, L. (2018). Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid containing supplements modulate risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis of randomised placebo-control human clinical trials. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 31(1), 67–84. <https://doi.org/10.1111/jhn.12493>
- Adeoti, I. A., & Hawboldt, K. (2014). A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Biomass and Bioenergy*, 63, 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.02.011>
- Adler-Nissen, J. (1986). *Enzymic hydrolysis of food proteins*. Elsevier applied science publishers.
- Ain, Q. T., Haq, S. H., Alshammari, A., Al-Mutlaq, M. A., & Anjum, M. N. (2019). The systemic effect of PEG-nGO-induced oxidative stress in vivo in a rodent model. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 10, 901–911. <https://doi.org/10.3762/BJNANO.10.91>
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>
- Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4), 783–801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>

- Alara, O. R., & Abdurahman, N. H. (2019). Kinetics studies on effects of extraction techniques on bioactive compounds from Vernonia cinerea leaf. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 580–588. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3512-4>
- Aluko, R. E. (2015). Amino acids, peptides, and proteins as antioxidants for food preservation. In *Handbook of antioxidants for food preservation*, 105–140. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7-00005>
- Alzahrani, M. A. J., Perera, C. O., & Hemar, Y. (2018). Production of bioactive proteins and peptides from the diatom Nitzschia laevis and comparison of their in vitro antioxidant activities with those from Spirulina platensis and Chlorella vulgaris. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(3), 676–682. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13642>
- Ananthakrishnan, A. N. (2015). Epidemiology and risk factors for IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(4), 205–217.
- Angelidou, I., Chrysanthopoulou, A., Mitsios, A., Arelaki, S., Arampatzioglou, A., Kambas, K., Ritis, D., Tsironidou, V., Moschos, I., & Dalla, V. (2018). REDD1/autophagy pathway is associated with neutrophil-driven IL-1 $\beta$  inflammatory response in active ulcerative colitis. *The Journal of Immunology*, 200(12), 3950–3961. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701643>
- Ansari, M. N., Rehman, N. U., Karim, A., Soliman, G. A., Ganaie, M. A., Raish, M., & Hamad, A. M. (2021). Role of oxidative stress and inflammatory cytokines (Tnf- $\alpha$  and il-6) in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats: Ameliorated by otostegia fruticosa. *Life*, 11(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/life11030195>
- Azizi Khesal, M., Sharifan, A., Hoseini, E., & Ghavami, A. (2020). Optimization of Enzymatic Hydrolysis Conditions of Caspian kutum (Rutilus frisii kutum) By-product for Production of Bioactive Peptides with Antioxidative Properties. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(4), 1829–1838. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09981-6>

**-B-**

- Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., Singh, S., Patel, A. R., Gupta, A. K., Aguilar, C. N., & Utama, G. L. (2021). Functional

- importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. *Food Bioscience*, 43, 101320. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101320>
- Bastaki, S. M. A., Amir, N., Adeghate, E., & Ojha, S. (2022). Lycopodium Mitigates Oxidative Stress and Inflammation in the Colonic Mucosa of Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Molecules*, 27(9). <https://doi.org/10.3390/molecules27092774>
- Batool, F., Petit, C., Stutz, C., Özçelik, H., Gegout, P., Benkirane-Jessel, N., Delpy, E., Zal, F., Leize-Zal, E., & Huck, O. (2022). M101, a therapeutic oxygen carrier derived from *Arenicola marina*, decreased *Porphyromonas gingivalis*-induced hypoxia and improved periodontal healing. *Journal of Periodontology*, 93(11), 1712–1724.  
<https://doi.org/10.1002/JPER.22-0006>
- Behl, T., Rana, T., Alotaibi, G. H., Shamsuzzaman, M., Naqvi, M., Sehgal, A., Singh, S., Sharma, N., Almoshari, Y., Abdellatif, A. A. H., Iqbal, M. S., Bhatia, S., Al-Harrasi, A., & Bungau, S. (2022). Polyphenols inhibiting MAPK signalling pathway mediated oxidative stress and inflammation in depression. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 146, 112545. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112545>
- Bejeshk, M. A., Aminizadeh, A. H., Rajizadeh, M. A., Khaksari, M., Lashkarizadeh, M., Shahrokhi, N., Zahedi, M. J., & Azimi, M. (2022). The effect of combining basil seeds and gum Arabic on the healing process of experimental acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 12(6), 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2022.08.001>
- Ben Slama-Ben Salem, R., Ktari, N., Bkhairia, I., Nasri, R., Mora, L., Kallel, R., Hamdi, S., Jamoussi, K., Boudaouara, T., El-Feki, A., Toldrá, F., & Nasri, M. (2018). In vitro and in vivo anti-diabetic and anti-hyperlipidemic effects of protein hydrolysates from *Octopus vulgaris* in alloxanic rats. *Food Research International*, 106, 952–963. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.068>
- Benjamin, J. L., Hedin, C. R. H., Koutsoumpas, A., Ng, S. C., McCarthy, N. E., Hart, A. L., Kamm, M. A., Sanderson, J. D., Knight, S. C., & Forbes, A. (2011). Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructo-oligosaccharides in active Crohn's disease. *Gut*, 60(7), 923–929.
- Bonaccio, M., Ruggiero, E., Di Castelnuovo, A., Costanzo, S., Persichillo, M., De Curtis, A., Cerletti, C., Donati, M. B., De Gaetano, G., & Iacoviello, L. (2017). Fish intake is

associated with lower cardiovascular risk in a Mediterranean population: prospective results from the Moli-sani study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 27(10), 865–873. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.08.004>

Bonafini, S., & Fava, C. (2017). Omega-3 fatty acids and cytochrome P450-derived eicosanoids in cardiovascular diseases: Which actions and interactions modulate hemodynamics? *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 128–129, 34–42.

<https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2017.01.004>

Bonilla, F. A., & Oettgen, H. C. (2010). Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S33–S40. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>

Bronte, V., & Pittet, M. J. (2013). The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity*, 39(5), 806–818. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.10.010>

-C-

Calder, P. C. (2015). Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), 469–484. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.08.010>

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. *Food Chemistry*, 216, 342–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.075>

Chandika, P., Oh, G.-W., Heo, S.-Y., Kim, S.-C., Kim, T.-H., Kim, M.-S., & Jung, W.-K. (2021). Electrospun porous bilayer nano-fibrous fish collagen/PCL bio-composite scaffolds with covalently cross-linked chitooligosaccharides for full-thickness wound-healing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 121, 111871.

<https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111871>

Chansuwan, W., Upunqui, C. T., & Chinachoti, P. (2019). Anti-inflammatory and anti-allergic activities of Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) dark muscle hydrolysates evaluated in cell culture model. *Functional Foods in Health and Disease*, 9(7), 446–465.

<https://doi.org/10.31989/ffhd.v9i7.618>

Chassaing, B., Koren, O., Goodrich, J. K., Poole, A. C., Srinivasan, S., Ley, R. E., & Gewirtz,

- A. T. (2015). Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*, *519*(7541), 92–96.
- Chen, G.-B., Lee, S. H., Brion, M.-J. A., Montgomery, G. W., Wray, N. R., Radford-Smith, G. L., Visscher, P. M., & Consortium, I. I. B. D. G. (2014). Estimation and partitioning of (co) heritability of inflammatory bowel disease from GWAS and immunoChip data. *Human Molecular Genetics*, *23*(17), 4710–4720. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu174>
- Chen, J., Bai, W., Cai, D., Yu, Z., & Xu, B. (2021). Characterization and identification of novel anti-inflammatory peptides from Baijiao sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *LWT*, *147*, 111521. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111521>
- Chen, J., Jayachandran, M., Bai, W., & Xu, B. (2022). A critical review on the health benefits of fish consumption and its bioactive constituents. *Food Chemistry*, *369*(August 2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130874>
- Chen, J., Jayachandran, M., Xu, B., & Yu, Z. (2019). Sea bass (*Lateolabrax maculatus*) accelerates wound healing: A transition from inflammation to proliferation. *Journal of Ethnopharmacology*, *236*, 263–276. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.012>
- Cheng, M. L., Wang, H. C., Hsu, K. C., & Hwang, J. S. (2015). Anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysates of tuna cooking juice. *Food and Agricultural Immunology*, *26*(6), 770–781. <https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1036352>
- Chi, C.-F., Hu, F.-Y., Wang, B., Li, Z.-R., & Luo, H.-Y. (2015). Influence of amino acid compositions and peptide profiles on antioxidant capacities of two protein hydrolysates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) dark muscle. *Marine Drugs*, *13*(5), 2580–2601. <https://doi.org/10.3390/md13052580x>
- Chirumamilla, P., Vankudoth, S., Dharavath, S. B., Dasari, R., & Taduri, S. (2022). In vitro anti-inflammatory activity of green synthesized silver nanoparticles and leaf methanolic extract of *Solanum khasianum* Clarke. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 1–7.
- Cian, R. E., Martínez-Augustin, O., & Drago, S. R. (2012). Bioactive properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis from protein byproducts of *Porphyra columbina*. *Food Research International*, *49*(1), 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.003>
- Cleynen, I., Boucher, G., Jostins, L., Schumm, L. P., Zeissig, S., Ahmad, T., Andersen, V.,

Andrews, J. M., Annese, V., & Brand, S. (2016). Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: a genetic association study. *The Lancet*, 387(10014), 156–167.

-D-

D'Haens, G., Ferrante, M., Vermeire, S., Baert, F., Noman, M., Moortgat, L., Geens, P., Iwens, D., Aerden, I., & Van Assche, G. (2012). Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(12), 2218–2224. <https://doi.org/10.1002/ibd.22917>

da Costa Melo, N. M., Almeida, M. V. S., de Oliveira Campos, D. M., de Oliveira, C. B. S., & Oliveira, J. I. N. (2021). Animal models for inducing inflammatory bowel diseases: integrative review. *Revista Ciências Em Saúde*, 11(1), 80–87. <https://doi.org/10.21876/rcshci.v11i1.1056>

De Domenico, S., De Rinaldis, G., Paulmery, M., Piraino, S., & Leone, A. (2019). Barrel jellyfish (*Rhizostoma pulmo*) as source of antioxidant peptides. *Marine Drugs*, 17(2), 134. <https://doi.org/10.3390/md17020134>

de Oliveira Santos, R., da Silva Cardoso, G., da Costa Lima, L., de Sousa Cavalcante, M. L., Silva, M. S., Cavalcante, A. K. M., Severo, J. S., de Melo Sousa, F. B., Pacheco, G., & Alves, E. H. P. (2021). L-Glutamine and physical exercise prevent intestinal inflammation and oxidative stress without improving gastric dysmotility in rats with ulcerative colitis. *Inflammation*, 44(2), 617–632.

De Porto, A. P. N. A., Lammers, A. J. J., Bennink, R. J., Ten Berge, I. J. M., Speelman, P., & Hoekstra, J. B. L. (2010). Assessment of splenic function. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 29(12), 1465–1473. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-1049-1>

Deniz, E., Mora, L., Aristoy, M.-C., Candoğan, K., & Toldrá, F. (2016). Free amino acids and bioactive peptides profile of Pastırma during its processing. *Food Research International*, 89, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.025>

Dennis, E. A., & Norris, P. C. (2015). Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 15(8), 511–523.

Derbel, H., Elleuch, J., Mahfoudh, W., Michaud, P., & Fendri, I. (2023). *applied sciences In Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Bioactive Proteins and Peptides from Rhodomonas sp . 13(5)*, 3202. <https://doi.org/10.3390/app13053202>

Di Sabatino, A., Rosado, M. M., Ciccocioppo, R., Cazzola, P., Morera, R., Corazza, G. R., & Carsetti, R. (2005). Depletion of immunoglobulin M memory B cells is associated with splenic hypofunction in inflammatory bowel disease. *Official Journal of the American College of Gastroenterology/ ACG*, *100(8)*, 1788–1795.

Dinallo, V., Marafini, I., Di Fusco, D., Laudisi, F., Franzè, E., Di Grazia, A., Figliuzzi, M. M., Caprioli, F., Stolfi, C., & Monteleone, I. (2019). Neutrophil extracellular traps sustain inflammatory signals in ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*, *13(6)*, 772–784. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy215>

Drira, M., Elleuch, J., Ben Hlima, H., Hentati, F., Gardarin, C., Rihouey, C., Le Cerf, D., Michaud, P., Abdelkafi, S., & Fendri, I. (2021). Optimization of exopolysaccharides production by *Porphyridium sordidum* and their potential to induce defense responses in *Arabidopsis thaliana* against *Fusarium oxysporum*. *Biomolecules*, *11(2)*, 282. <https://doi.org/10.3390/biom11020282>

### **-E-**

Elson, C. O., Sartor, R. B., Tennyson, G. S., & Riddell, R. H. (1995). Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, *109(4)*, 1344–1367.

[https://doi.org/10.1016/0016-5085\(95\)90599-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(95)90599-5)

Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H. (1990). [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In *Methods in enzymology*, 186, 407–421. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86134-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86134-H)

### **-F-**

Feng, J., Wang, Q., Yang, W., Liu, J., & Gao, M. Q. (2021). Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorated inflammatory response of mammary epithelial cells and mammary gland induced by lipopolysaccharide. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, *53(9)*, 1142–1153. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmab100>

Fernández-Tomé, S., Ramos, S., Cordero-Herrera, I., Recio, I., Goya, L., & Hernández-

Ledesma, B. (2014). In vitro chemo-protective effect of bioactive peptide lunasin against oxidative stress in human HepG2 cells. *Food Research International*, 62, 793–800.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.054>

Fichtner-Feigl, S., Fuss, I. J., Preiss, J. C., Strober, W., & Kitani, A. (2005). Treatment of murine Th1-and Th2-mediated inflammatory bowel disease with NF-κB decoy oligonucleotides. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(11), 3057–3071.

Friedrich, M., Pohin, M., & Powrie, F. (2019). Cytokine networks in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Immunity*, 50(4), 992–1006.

<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.017>

-G-

Gautam, R. K., Sharma, S., and Sharma, K. (2013) Comparative evaluation of anti-arthritis activity of *Pongamia pinnata* (Linn.) Pierre and *Punica granatum* Linn.: An in vitro study. *Int J Pharm Pharm Sci*. 5, 721–724.

Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G. R., & Di Sabatino, A. (2014). Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity Reviews*, 13(1), 3–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.06.004>

Giri, A., & Ohshima, T. (2012). Bioactive marine peptides: Nutraceutical value and novel approaches. *Advances in Food and Nutrition Research*, 65, 73–105.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00005-6>

Gonzalez–Rey, E., Chorny, A., & Delgado, M. (2006). Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology*, 130(6), 1707–1720.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.01.041>

Goyette, P., Boucher, G., Mallon, D., Ellinghaus, E., Jostins, L., Huang, H., Ripke, S., Gusareva, E. S., Annese, V., & Hauser, S. L. (2015). High-density mapping of the MHC identifies a shared role for HLA-DRB1\* 01: 03 in inflammatory bowel diseases and heterozygous advantage in ulcerative colitis. *Nature Genetics*, 47(2), 172–179.

Grar, H., Dib, W., Gourine, H., Bekkaddour Benattia, S., Kheroua, O., Saidi, D. (2017). La vitamine E protège la muqueuse intestinale des lésions histologiques induites par la

sensibilisation à la  $\beta$ -lactoglobuline. *Revue française d'allergologie*, 57(3), 280.  
<https://doi.org/10.1016/j.reval.2017.02.211>

Guérard, F., Guimas, L., & Binet, A. (2002). Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19, 489–498. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(02\)00203-5](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(02)00203-5)

Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). In vitro anti-inflammatory properties of selected green leafy vegetables. *Biomedicines*, 6(4), 1–10.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines6040107>

-H-

Hallert, C., Björck, I., Nyman, M., Pousette, A., Grännö, C., & Svensson, H. (2003). Increasing fecal butyrate in ulcerative colitis patients by diet: controlled pilot study. *Inflammatory Bowel Diseases*, 9(2), 116–121. <https://doi.org/10.1097/00054725-200303000-00005>

He, J., Xu, L., Yang, L., & Wang, X. (2018). Epigallocatechin gallate is the most effective catechin against antioxidant stress via hydrogen peroxide and radical scavenging activity. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 8198-8206. <https://doi.org/10.12659/MSM.911175>

Heller, F., Fromm, A., Gitter, A. H., Mankertz, J., & Schulzke, J. D. (2008). Epithelial apoptosis is a prominent feature of the epithelial barrier disturbance in intestinal inflammation: effect of pro-inflammatory interleukin-13 on epithelial cell function. *Mucosal Immunology*, 1(1), S58–S61. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.46>

Heo, S., Ko, S., Nam, S. Y., Oh, J., Kim, Y., Kim, J., Kim, N., Yi, M., & Jung, W. (2018). Fish bone peptide promotes osteogenic differentiation of MC3T3-E1 pre-osteoblasts through upregulation of MAPKs and Smad pathways activated BMP-2 receptor. *Cell Biochemistry and Function*, 36(3), 137–146. <https://doi.org/10.1002/cbf.3325>

Hernández-Ledesma, B., Fernández-Tomé, S., & Amigo, L. (2022). Bioactive peptides against inflammatory intestinal disorders and obesity. In *Bioactive Food Components Activity in Mechanistic Approach*, 155–183. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823569-0.00010-2>

Ho, G. T., Porter, R. J., & Kalla, R. (2020). Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Research*, 9.

<https://doi.org/10.12688/f1000research.20805.1>

Hossain, M. M., Ahamed, S. K., Dewan, S. M. R., Hassan, M. M., Istiaq, A., Islam, M. S., and Moghal, M. M. R. (2014) In vivo antipyretic, antiemetic, in vitro membrane stabilization, antimicrobial, and cytotoxic activities of different extracts from *Spilanthes paniculata* leaves. *Biol. Res.* 47, 1–9.

Huang, L., Li, J., Bi, Y., Xu, Y., Wang, Y., Wang, J., & Peng, D. (2021). Simultaneous determination of  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol,  $\delta$ -tocopherol, sesamin, sesamol, and asarinin in sesame oil by normal-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 104(May), 104132. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104132>

Huang, T.-H., Wang, P.-W., Yang, S.-C., Chou, W.-L., & Fang, J.-Y. (2018). Cosmetic and therapeutic applications of fish oil's fatty acids on the skin. *Marine Drugs*, 16(8), 256. <https://doi.org/10.1016/10.3390/md16080256>

**-J-**

Imam, F., Al-Harbi, N. O., Al-Harbi, M. M., Ansari, M. A., Almutairi, M. M., Alshammari, M., Almukhlafi, T. S., Ansari, M. N., Algerian, K., & Ahmad, S. F. (2016). Apremilast reversed carfilzomib-induced cardiotoxicity through inhibition of oxidative stress, NF- $\kappa$ B and MAPK signaling in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(9), 700–708. <https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1236425>

Innes, J. K., & Calder, P. C. (2018). The differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiometabolic risk factors: A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2). <https://doi.org/10.3390/ijms19020532>

Iwasaki, A., & Medzhitov, R. (2015). Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nature Immunology*, 16(4), 343–353. Huang, L., Li, J., Bi, Y., Xu, Y., Wang, Y., Wang, J., & Peng, D. (2021). Simultaneous determination of  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol,  $\delta$ -tocopherol, sesamin, sesamol, and asarinin in sesame oil by normal-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 104(May), 104132. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104132>

**-J--**

- Jang, H. L., Liceaga, A. M., & Yoon, K. Y. (2017). Isolation and characteristics of anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysates of sandfish (*Arctoscopus japonicus*) protein. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(2), 234–244. <https://doi.org/10.80/10498850.2016.1221015>
- Jiang, H., Wang, L., Wang, D., Yan, N., Li, C., Wu, M., Wang, F., Mi, B., Chen, F., & Jia, W. (2022). Omega-3 polyunsaturated fatty acid biomarkers and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, cancer, and mortality. *Clinical Nutrition*, 41(8), 1798–1807. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.06.034>
- Jiang, W., Li, Y., Sun, J., Li, L., Li, J., Zhang, C., Huang, C., Yang, J., Kong, G., & Li, Z. (2017). Spleen contributes to restraint stress induced changes in blood leukocytes distribution. *Scientific Reports*, 7(1), 6501.
- Jing, Y., Liu, X., Wang, J., Ma, Y., & Zheng, X. (2022). Production of Corn Protein Hydrolysate with Glutamine-Rich Peptides and Its Antagonistic Function in Ulcerative Colitis In Vivo. *Foods*, 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213359>
- Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Zampaglione, N., and Gillette, J. R. (1974) Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology*. 11, 151–169.
- Jones, G.-R., Lyons, M., Plevris, N., Jenkinson, P. W., Bisset, C., Burgess, C., Din, S., Fulforth, J., Henderson, P., & Ho, G.-T. (2019). IBD prevalence in Lothian, Scotland, derived by capture–recapture methodology. *Gut*, 68(11), 1953–1960. <https://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318936>
- Jostins, L., Ripke, S., Weersma, R. K., Duerr, R. H., McGovern, D. P., Hui, K. Y., Lee, J. C., Philip Schumm, L., Sharma, Y., & Anderson, C. A. (2012). Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, 491(7422), 119–124.
- K-
- Kajumbula, H., Fujita, A. W., Mbabazi, O., Najjuka, C., Izale, C., Akampurira, A., Aisu, S., Lamorde, M., Walwema, R., & Bahr, N. C. (2018). Antimicrobial drug resistance in blood culture isolates at a tertiary hospital, Uganda. *Emerging Infectious Diseases*, 24(1), 174. <https://doi.org/10.3201/eid2401.171112>

- Kalla, R., Kennedy, N. A., Ventham, N. T., Boyapati, R. K., Adams, A. T., Nimmo, E. R., Visconti, M. R., Drummond, H., Ho, G.-T., & Pattenden, R. J. (2016). Serum calprotectin: a novel diagnostic and prognostic marker in inflammatory bowel diseases. *Official Journal of the American College of Gastroenterology/ ACG*, *111*(12), 1796–1805.  
<https://doi.org/10.1038/ajg.2016.342>
- Kaplan, G. G., & Ng, S. C. (2017). Understanding and preventing the global increase of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, *152*(2), 313–321.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.10.020>
- Kasaian, M. T., Page, K. M., Fish, S., Brennan, A., Cook, T. A., Moreira, K., Zhang, M., Jesson, M., Marquette, K., & Agostinelli, R. (2014). Therapeutic activity of an interleukin-4/interleukin-13 dual antagonist on oxazolone-induced colitis in mice. *Immunology*, *143*(3), 416–427. <https://doi.org/10.1111/imm.12319>
- Kawashima, K., Onizawa, M., Fujiwara, T., Gunji, N., Imamura, H., Katakura, K., & Ohira, H. (2022). Evaluation of the relationship between the spleen volume and the disease activity in ulcerative colitis and Crohn disease. *Medicine (United States)*, *101*(1), E28515.  
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000028515>
- Khelladi, H. M., Krouf, D., & Taleb-Dida, N. (2018). Sardine proteins (*Sardina pilchardus*) combined with green lemon zest (*Citrus latifolia*) improve blood pressure, lipid profile and redox status in diabetic hypertensive rats. *Nutrition and Food Science*, *48*(4), 654–668.  
<https://doi.org/10.1108/NFS-10-2017-0218>
- Kim, E., Kang, N., Heo, S., Oh, J., Lee, S., Cha, S., Kim, W., & Heo, S. (2023). *Antioxidant, Antiviral, and Anti-Inflammatory Activities of Lutein-Enriched Extract of Tetraselmis Species*. *21*(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/md21070369>
- Kim, H. J., Han, S. J., Kim, D. J., Jang, H. C., Lim, S., Choi, S. H., Kim, Y. H., Shin, D. H., Kim, S. H., & Kim, T. H. (2017). Effects of valsartan and amlodipine on oxidative stress in type 2 diabetic patients with hypertension: a randomized, multicenter study. *The Korean Journal of Internal Medicine*, *32*(3), 497. <https://doi.org/10.3904/Kjim.2015.404>
- Kim, S. H., Kwon, D., Son, S. W., Jeong, T. Bin, Lee, S., Kwak, J.-H., Cho, J.-Y., Hwang, D. Y., Seo, M.-S., & Kim, K. S. (2021). Inflammatory responses of C57BL/6N<sup>Korl</sup> mice to dextran sulfate sodium-induced colitis: comparison between three C57BL/6 N sub-strains. *Laboratory Animal Research*, *37*(1), 1–7.

- Klein, A., & Eliakim, R. (2010). Non steroidal anti-inflammatory drugs and inflammatory bowel disease. *Pharmaceuticals*, 3(4), 1084–1092. <https://doi.org/10.3390/ph3041084>
- Kobayashi, T., Okamoto, S., Hisamatsu, T., Kamada, N., Chinen, H., Saito, R., Kitazume, M. T., Nakazawa, A., Sugita, A., Koganei, K., Isobe, K., & Hibi, T. (2008). IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*, 57(12), 1682–1689. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.135053>
- Kovacs-Nolan, J., Zhang, H., Ibuki, M., Nakamori, T., Yoshiura, K., Turner, P. V., Matsui, T., & Mine, Y. (2012). The PepT1-transportable soy tripeptide VPY reduces intestinal inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(11), 1753–1763. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.07.007>
- Kumar, H., Kawai, T., & Akira, S. (2011). Pathogen recognition by the innate immune system. *International Reviews of Immunology*, 30(1), 16–34.
- Kumar, L. V., Shakila, R. J., and Jeyasekaran, G. (2018) In vitro anti-cancer, anti-diabetic, anti-inflammation and wound healing properties of collagen peptides derived from unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) at different hydrolysis. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 19, 551–560

-L-

- Lafeber, M., Spiering, W., Visseren, F. L. J., & Grobbee, D. E. (2016). Multifactorial prevention of cardiovascular disease in patients with hypertension: the cardiovascular polypill. *Current Hypertension Reports*, 18(5), 1–7.
- Lakmini, K. P. C., Gonapinuwala, S. T., Senarath, H. P. S., Fernando, C. A. N., Wijesekara, I., & De Croos, M. D. S. T. (2022). Effect of autoclaving as a pre-treatment in the wet reduction process for extracting fish oil from yellowfin tuna heads. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 27(1), 44. <https://doi.org/10.4038/sljas.v27i1.7596>
- Laroui, H., Ingersoll, S. A., Liu, H. C., Baker, M. T., Ayyadurai, S., Charania, M. A., Laroui, F., Yan, Y., Sitaraman, S. V., & Merlin, D. (2012). Dextran sodium sulfate (DSS) induces colitis in mice by forming nano-lipocomplexes with medium-chain-length fatty acids in the colon. *PloS One*, 7(3), e32084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032084>
- Lasa, J. S., Olivera, P. A., Danese, S., & Peyrin-Biroulet, L. (2022). Efficacy and safety of biologics and small molecule drugs for patients with moderate-to-severe ulcerative colitis:

- a systematic review and network meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 7(2), 161–170. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(21\)00377-0](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(21)00377-0)
- Lee, H.-S., & Cleynen, I. (2019). Molecular profiling of inflammatory bowel disease: is it ready for use in clinical decision-making? *Cells*, 8(6), 535. <https://doi.org/10.3390/cells8060535>
- Lee, J. C., Lyons, P. A., McKinney, E. F., Sowerby, J. M., Carr, E. J., Bredin, F., Rickman, H. M., Ratlamwala, H., Hatton, A., Rayner, T. F., Parkes, M., & Smith, K. G. C. (2011). Gene expression profiling of CD8 + T cells predicts prognosis in patients with Crohn disease and ulcerative colitis. *Journal of Clinical Investigation*, 121(10), 4170–4179. <https://doi.org/10.1172/JCI59255>
- Lee, J. K., Jeon, J.-K., & Byun, H.-G. (2014). Antihypertensive effect of novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) skin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods*, 7, 381–389. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.01.021>
- Lewis, S. M., Williams, A., & Eisenbarth, S. C. (2019). Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*, 4(33), eaau6085.
- Li, R., Jia, Z., & Trush, M. A. (2016). Defining ROS in biology and medicine. *Reactive Oxygen Species (Apex, NC)*, 1(1), 9. <https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>
- Li, Y., Adam, R., Colombel, J.-F., & Bian, Z. (2018). A characterization of pro-inflammatory cytokines in dextran sulfate sodium-induced chronic relapsing colitis mice model. *International Immunopharmacology*, 60, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.05.001>
- Liu, J.-R., Xu, G.-M., Shi, X.-M., & Zhang, G.-J. (2017). Low temperature plasma promoting fibroblast proliferation by activating the NF-κB pathway and increasing cyclinD1 expression. *Scientific Reports*, 7(1), 1–12.
- Liu, Y., Li, B.-G., Su, Y.-H., Zhao, R.-X., Song, P., Li, H., Cui, X.-H., Gao, H.-M., Zhai, R.-X., & Fu, X.-J. (2022). Potential activity of traditional Chinese medicine against ulcerative colitis: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 289, 115084. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115084>
- Lloyd-Price, J., Arze, C., Ananthakrishnan, A. N., Schirmer, M., Avila-Pacheco, J., Poon, T.

- W., Andrews, E., Ajami, N. J., Bonham, K. S., & Brislawn, C. J. (2019). Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature*, *569*(7758), 655–662.
- Luo, Y., De Lange, K. M., Jostins, L., Moutsianas, L., Randall, J., Kennedy, N. A., Lamb, C. A., McCarthy, S., Ahmad, T., & Edwards, C. (2017). Exploring the genetic architecture of inflammatory bowel disease by whole-genome sequencing identifies association at *ADCY7*. *Nature Genetics*, *49*(2), 186–192.
- Lv, H., Zhen, C., Liu, J., Yang, P., Hu, L., & Shang, P. (2019). Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3150145>

-M-

- Marsol-Vall, A., Aitta, E., Guo, Z., & Yang, B. (2022). Green technologies for production of oils rich in n-3 polyunsaturated fatty acids from aquatic sources. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(11), 2942–2962.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1861426>
- Maselli, V., Galdiero, E., Salzano, A. M., Scaloni, A., Maione, A., Falanga, A., Naviglio, D., Guida, M., Di Cosmo, A., & Galdiero, S. (2020). OctoPartenopin: Identification and preliminary characterization of a novel antimicrobial peptide from the suckers of octopus vulgaris. *Marine Drugs*, *18*(8). <https://doi.org/10.3390/MD18080380>
- Matsuoka, K., Yamazaki, H., Nagahori, M., Kobayashi, T., Omori, T., Mikami, Y., Fujii, T., Shinzaki, S., Saruta, M., Matsuura, M., Yamamoto, T., Motoya, S., Hibi, T., Watanabe, M., Fernandez, J., Fukuhara, S., & Hisamatsu, T. (2023). Association of ulcerative colitis symptom severity and proctocolectomy with multidimensional patient-reported outcomes: a cross-sectional study. *Journal of Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1007/s00535-023-02005-7>
- McCauley, H. A., & Guasch, G. (2015). Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia. *Trends in Molecular Medicine*, *21*(8), 492–503.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.06.003>
- Meijer, E. A., & Wijffels, R. H. (1998). Development of a fast, reproducible and effective method for the extraction and quantification of proteins of micro-algae. *Biotechnology Techniques*, *12*, 353–358.

- Memarpoor-Yazdi, M., Asoodeh, A., & Chamani, J. (2012). A novel antioxidant and antimicrobial peptide from hen egg white lysozyme hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 278–286. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.12.004>
- Mendis, E., Rajapakse, N., & Kim, S.-K. (2005). Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 581–587. <https://doi.org/10.1021/jf048877v>
- Messina, C. M., Arena, R., Manuguerra, S., La Barbera, L., Curcuraci, E., Renda, G., & Santulli, A. (2022). Valorization of Side Stream Products from Sea Cage Fattened Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*): Production and In Vitro Bioactivity Evaluation of Enriched  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Marine Drugs*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/md20050309>
- Mikhailova, T. L., Sishkova, E., Poniewierka, E., Zhidkov, K. P., Bakulin, I. G., Kupcinskas, L., Lesniakowski, K., Grinevich, V. B., Malecka-Panas, E., & Ardizzone, S. (2011). Randomised clinical trial: the efficacy and safety of propionyl-L-carnitine therapy in patients with ulcerative colitis receiving stable oral treatment. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 34(9), 1088–1097. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04844.x>
- Millar, A. D., Rampton, D. S., Chander, C. L., Claxson, A. W., Blades, S., Coumbe, A., Panetta, J., Morris, C. J., & Blake, D. R. (1996). Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut*, 39(3), 407–415.
- Mirke, N. B., Shelke, P. S., Malavdkar, P. R., & Jagtap, P. N. (2020). In vitro protein denaturation inhibition assay of Eucalyptus globulus and Glycine max for potential antiinflammatory activity. *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*, 8(2), 28.
- Mohanty, D. P., Mohapatra, S., Misra, S., & Sahu, P. S. (2016). Milk derived bioactive peptides and their impact on human health—A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.005>
- Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S., Depew, W. T., Szewczuk, M. R., & Wallace, J. L. (1989). Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96(2), 795–803. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(89\)80079-4](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(89)80079-4)
- Mowat, A. M., Scott, C. L. and Bain, C. C. (2017). barrier-tissue macrophages: functional adaptation to environmental challenges. *Nature Medicine*, 23(11), 1258–1270.

Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 417(1), 1–13.

**-N-**

Neurath, M. F. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 329–342.

Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J. C. Y., & Chan, F. K. L. (2017). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*, 390(10114), 2769–2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)

Norman, J. M., Handley, S. A., Baldridge, M. T., Droit, L., Liu, C. Y., Keller, B. C., Kambal, A., Monaco, C. L., Zhao, G., & Fleshner, P. (2015). Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*, 160(3), 447–460. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.002>

**-O-**

Okayasu, I., Hatakeyama, S., Yamada, M., Ohkusa, T., Inagaki, Y., & Nakaya, R. (1990). A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology*, 98(3), 694–702. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(90\)90290-H](https://doi.org/10.1016/0016-5085(90)90290-H)

Owusu, G., Obiri, D. D., Ainooson, G. K., Osafo, N., Antwi, A. O., Duduyemi, B. M., & Ansah, C. (2020). Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Sprague Dawley Rats Is Suppressed by Hydroethanolic Extract of *Cordia vignei* Leaves through Reduced Serum Levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. *International Journal of Chronic Diseases*, 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8785497>

Oyama, M., Van Hung, T., Yoda, K., He, F., & Suzuki, T. (2017). A novel whey tetrapeptide IPAV reduces interleukin-8 production induced by TNF- $\alpha$  in human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Functional Foods*, 35, 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.001>

**-P-**

- Paramsothy, S., Kamm, M. A., Kaakoush, N. O., Walsh, A. J., van den Bogaerde, J., Samuel, D., Leong, R. W. L., Connor, S., Ng, W., & Paramsothy, R. (2017). Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*, 389(10075), 1218–1228. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30182-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30182-4)
- Paramsothy, S., Nielsen, S., Kamm, M. A., Deshpande, N. P., Faith, J. J., Clemente, J. C., Paramsothy, R., Walsh, A. J., van den Bogaerde, J., & Samuel, D. (2019). Specific bacteria and metabolites associated with response to fecal microbiota transplantation in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 156(5), 1440–1454. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.001>
- Park, E. Y., Imazu, H., Matsumura, Y., Nakamura, Y., & Sato, K. (2012). Effects of peptide fractions with different isoelectric points from wheat gluten hydrolysates on lipid oxidation in pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7483–7488.
- Park, S., Abdi, T., Gentry, M., & Laine, L. (2016). Histological disease activity as a predictor of clinical relapse among patients with ulcerative colitis: systematic review and meta-analysis. *Official Journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 111(12), 1692–1701. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016/418>
- Parolini, C. (2019). Effects of fish n-3 PUFAs on intestinal microbiota and immune system. *Marine Drugs*, 17(6), 374. <https://doi.org/10.3390/md17060374>
- Pawlowska, E., Szczepanska, J., & Blasiak, J. (2019). Pro- and antioxidant effects of vitamin C in cancer in correspondence to its dietary and pharmacological concentrations. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7286737>
- R-**
- Rafeeq, M., Murad, H. A. S., Abdallah, H. M., & El-Halawany, A. M. (2021). Protective effect of 6-paradol in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 1–10.
- Ramakrishna, R., Sarkar, D., & Shetty, K. (2019). Functional bioactives from barley for human health benefits. In *Functional Foods and Biotechnology*, 61–85.

- Randhawa, P. K., Singh, K., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2014). A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 18(4), 279–288. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.4.279>
- Renuka, V., Anandan, R., Suseela, M., Ravishankar, C. N., & Sivaraman, K. (2016). Fatty Acid Profile of Yellowfin Tuna Eye (*Thunnusalbacares*) and Oil Sardine Muscle (*Sardinella longiceps*). *Fishery Technology*, 53, 151–154.
- Rivera-Jiménez, J., Berraquero-García, C., Pérez-Gálvez, R., García-Moreno, P. J., Espejo-Carpio, F. J., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2022). Peptides and protein hydrolysates exhibiting anti-inflammatory activity: Sources, structural features and modulation mechanisms. *Food & Function*, 13(24), 12510–12540.
- <https://doi.org/10.1039/D2FO02223K>

-S-

- Sahid, N. A., Hayati, F., Rao, C. V., Ramely, R., Sani, I., Dzulkarnaen, A., Zakaria, Z., Hassan, S., Zahari, A., & Ali, A. A. (2018). Snakehead consumption enhances wound healing? From tradition to modern clinical practice: A prospective randomized controlled trial. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
- <https://doi.org/10.1155/2018/3032790>
- Salzano, S., Checconi, P., Hanschmann, E.-M., Lillig, C. H., Bowler, L. D., Chan, P., Vaudry, D., Mengozzi, M., Coppo, L., & Sacre, S. (2014). Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(33), 12157–12162.
- <https://doi.org/10.1073/pnas.1401712111>
- Samal, J., Kelly, S., Na-Shatal, A., Elhakiem, A., Das, A., Ding, M., Sanyal, A., Gupta, P., Melody, K., & Roland, B. (2018). Human immunodeficiency virus infection induces lymphoid fibrosis in the BM-liver-thymus-spleen humanized mouse model. *JCI Insight*, 3(18). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.120430>
- Sarniak, A., Lipińska, J., Tytman, K., & Lipińska, S. (2016). Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, 70, 1150–1165. <https://doi.org/10.5604/17322693.1224259>

- Sbroggio, M. F., Montilha, M. S., FIGUEIREDO, V. R. G. de, Georgetti, S. R., & Kurozawa, L. E. (2016). Influence of the degree of hydrolysis and type of enzyme on antioxidant activity of okara protein hydrolysates. *Food Science and Technology*, *36*, 375–381. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.000216>
- Seifert, H. A., & Offner, H. (2018). The splenic response to stroke: from rodents to stroke subjects. *Journal of Neuroinflammation*, *15*(1), 1–7.
- Seo, J.-K., Lee, M. J., Go, H.-J., Kim, Y. J., & Park, N. G. (2014). Antimicrobial function of the GAPDH-related antimicrobial peptide in the skin of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*. *Fish & Shellfish Immunology*, *36*(2), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.01.003>
- Shabir, U., Ali, S., Magray, A. R., Ganai, B. A., Firdous, P., Hassan, T., & Nazir, R. (2018). Fish antimicrobial peptides (AMP's) as essential and promising molecular therapeutic agents: a review. *Microbial Pathogenesis*, *114*, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.039>
- Sherratt, S. C. R., Libby, P., Budoff, M. J., Bhatt, D. L., & Mason, R. P. (2023). Role of Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease: the Debate Continues. *Current Atherosclerosis Reports*, *25*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11883-022-01075-x>
- Shetty, K., & Sarkar, D. (2019). Introduction: Metabolic-Driven Ecological Rationale to Advance Biotechnological Approaches for Functional Foods. In *Functional Foods and Biotechnology*, 1–4.
- Shibabaw, T. (2021). Omega-3 polyunsaturated fatty acids: anti-inflammatory and anti-hypertriglyceridemia mechanisms in cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *476*(2), 993–1003. <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03965-7>
- Sila, A., & Bougatef, A. (2016). Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review. *Journal of Functional Foods*, *21*, 10–26. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.007>
- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O., & Singh, D. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *70*, 165–188.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.050>

Singh, S., George, J., Boland, B. S., Vande Casteele, N., & Sandborn, W. J. (2018). Primary non-response to tumor necrosis factor antagonists is associated with inferior response to second-line biologics in patients with inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Crohn's and Colitis*, 12(6), 635–643.

<https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy004>

Smillie, C. S., Biton, M., Ordovas-Montanes, J., Sullivan, K. M., Burgin, G., Graham, D. B., Herbst, R. H., Rogel, N., Slyper, M., Waldman, J., Sud, M., Andrews, E., Velonias, G., Haber, A. L., Jagadeesh, K., Vickovic, S., Yao, J., Stevens, C., Dionne, D., ... Regev, A. (2019). Intra- and Inter-cellular Rewiring of the Human Colon during Ulcerative Colitis. *Cell*, 178(3), 714-730.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.029>

Soliman, G. A., Gabr, G. A., Al-Saikhan, F. I., Ansari, M. N., Khan, T. H., Ganaie, M. A., Abdulaziz, S. S., & Alankuş-Çalışkan, Ö. (2016). Protective effects of two *Astragalus* species on ulcerative colitis in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(10), 2155–2163. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i10.14>

Song, G., Zhang, M., Zhang, Y., Wang, H., Chen, K., Dai, Z., & Shen, Q. (2019). Development of a 450 nm Laser Irradiation Desorption Method for Fast Headspace Solid-Phase Microextraction of Volatiles from Krill Oil (*Euphausia superba*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(4), 1–9. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800446>

Sugihara, K., Morhardt, T. L., & Kamada, N. (2019). The role of dietary nutrients in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Immunology*, 10(JAN), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03183>

Sui, Y., Muys, M., Van de Waal, D. B., D'Adamo, S., Vermeir, P., Fernandes, T. V., & Vlaeminck, S. E. (2019). Enhancement of co-production of nutritional protein and carotenoids in *Dunaliella salina* using a two-phase cultivation assisted by nitrogen level and light intensity. *Bioresource Technology*, 287, 121398.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121398>

Sundaram, T. S., Giromini, C., Rebucci, R., Pistl, J., Bhide, M., & Baldi, A. (2022). Role-of-omega3-polyunsaturated-fatty-acids-citrus-pectin-and-milkderived-exosomes-on-intestinal-barrier-integrity-and-immunity-in-animals. *Journal of Animal Science and*

Biotechnology.pdf. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7, 1–22.

-T-

Tawalbeh, D., Al-u, M. H., Amir, W., Wan, N., Ahmad, F., & Sarbon, N. M. (2023). Recent Advances in In Vitro and In Vivo Studies of Antioxidant, ACE-Inhibitory and Anti-Inflammatory Peptides from Legume Protein. *Molecules*.

<https://doi.org/10.3390/molecules28062423>

Taylor, C. T., & Colgan, S. P. (2017). Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches. *Nature Reviews Immunology*, 17(12), 774–785.

Teng, M. W. L., Bowman, E. P., McElwee, J. J., Smyth, M. J., Casanova, J. L., Cooper, A. M., & Cua, D. J. (2015). IL-12 and IL-23 cytokines: From discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nature Medicine*, 21(7), 719–729.

<https://doi.org/10.1038/nm.3895>

Thomas, T., Chandan, J. S., Li, V. S. W., Lai, C. Y., Tang, W., Bhala, N., Kaplan, G. G., Ng, S. C., & Ghosh, S. (2019). Global smoking trends in inflammatory bowel disease: A systematic review of inception cohorts. *PloS One*, 14(9), e0221961.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.00221961>

Tørris, C., Småstuen, M. C., & Molin, M. (2018). Nutrients in fish and possible associations with cardiovascular disease risk factors in metabolic syndrome. *Nutrients*, 10(7), 952.

<https://doi.org/10.3390/nu10070952>

-U-

Umopathy, E., Ndebia, E. J., Meeme, A., Adam, B., Menziwa, P., Nkeh-Chungag, B. N., & Iputo, J. E. (2010). An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plants Res*, 4(9), 789–795. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.56>

-V-

Valenzuela, R., Ortiz, M., Hernández-Rodas, M. C., Echeverría, F., & Videla, L. A. (2020). Targeting n-3 polyunsaturated fatty acids in non-alcoholic fatty liver disease. *Current Medicinal Chemistry*, 27(31), 5250–5272.

<https://doi.org/10.2174/0929867326666190410121716>

Vassar, R. (2016).  $\beta$ -Secretase inhibition. In *Developing therapeutics for Alzheimer's disease*, 39–62. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802173-6.00003-4>

Velasque, M. J. S. G., Branchini, G., Catarina, A. V, Bettoni, L., Fernandes, R. S., Da Silva, A. F., Dorneles, G. P., da Silva, I. M., Santos, M. A., & Sumiensi, J. (2023). Fish oil-omega-3 exerts protective effect in oxidative stress and liver dysfunctions resulting from experimental sepsis. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 13(1), 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2022.07.001>

Villumsen, M., Aznar, S., Pakkenberg, B., Jess, T., & Brudek, T. (2019). Inflammatory bowel disease increases the risk of Parkinson's disease: a Danish nationwide cohort study 1977–2014. *Gut*, 68(1), 18–24. <https://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315666>

-W-

Wall, R., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2010). Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Reviews*, 68(5), 280–289. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00287.x>

Walfish, A. E., Ching Companioni, R. A. (2022). Revue générale des maladies intestinales inflammatoires chroniques. *Le manuel MSD*.

Wang, Z., Shi, Q., Feng, Y., Han, J., Lu, C., Zhou, J., Wang, Z., & Su, X. (2023). Targeted screening of an anti-inflammatory polypeptide from *Rhopilema esculentum* &nbsp;Kishinouye cnidoblasts and elucidation of its mechanism in alleviating ulcerative colitis based on an analysis of the gut microbiota and metabolites . *Food Science and Human Wellness*, 13(August 2022). <https://doi.org/10.26599/fshw.2022.9250112>

Wang, Z., & Wang, G. (2004). APD: the antimicrobial peptide database. *Nucleic Acids Research*, 32, D590–D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh025>

Wang, Z., Yang, L., Tang, H., Zhang, K., Chen, Q., Liu, C., Guo, Y., Li, M., Guo, Z., & Li, B. (2022). In vivo evidence of the prevents DSS-induced colitis of *Lactiplantibacillus plantarum* L15. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1028919>

Wei, Y., Wang, T., Liao, L., Fan, X., Chang, L., & Hashimoto, K. (2022). Brain-spleen axis in

health and diseases: A review and future perspective. *Brain Research Bulletin*, 182, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.008>

-X-

Xiang, X.-W., Zhou, X.-L., Wang, R., Shu, C.-H., Zhou, Y.-F., Ying, X.-G., & Zheng, B. (2021). Protective effect of tuna bioactive peptide on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Marine Drugs*, 19(3), 127. <https://doi.org/10.3390/md19030127>

Xu, L., Dong, W., Zhao, J., & Xu, Y. (2015). Effect of marine collagen peptides on physiological and neurobehavioral development of male rats with perinatal asphyxia. *Marine Drugs*, 13(6), 3653–3671. <https://doi.org/10.3390/md13063653>

Xu, D., Wu, L., Yao, H., & Zhao, L. (2022). Catalase-Like Nanozymes: Classification, Catalytic Mechanisms, and Their Applications. *Small*, 18, 2203400. <https://doi.org/10.1002/sml.202203400>

-Y-

Yorulmaz, E., Yorulmaz, H., Gökmen, E. S., Altınay, S., Küçük, S. H., Zengi, O., Çelik, D. S., & Şit, D. (2019). Therapeutic effectiveness of rectally administered fish oil and mesalazine in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109247>

You, L., Zhao, M., Regenstein, J. M., & Ren, J. (2010). Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Research International*, 43(4), 1167–1173. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.009>

Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*, 12(3), 88.

-Z-

Zeng, Q., Dong, S.-Y., Liu, Y.-P., Fu, J., Shuai, P., Zhao, Z.-M., & Li, T.-X. (2017). Effects of fish oil-derived fatty acids on suboptimal cardiovascular health: A multicenter,

randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 27(11), 964–970.

<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.09.004>

Zhang, H., Shen, Y., Zhang, Y., Li, L., & Wang, X. (2018). Regiospecific Analysis of Fatty Acids and Calculation of Triglyceride Molecular Species in Marine Fish Oils. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9016840>

Zhang, J., Yi, C., Han, J., Ming, T., Zhou, J., Lu, C., Li, Y., & Su, X. (2020). Novel high-docosahexaenoic-acid tuna oil supplementation modulates gut microbiota and alleviates obesity in high-fat diet mice. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6513–6527. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1941>

Zhang, Z., Zhang, H., Chen, T., Shi, L., Wang, D., & Tang, D. (2022). Regulatory role of short-chain fatty acids in inflammatory bowel disease. *Cell Communication and Signaling*, 20(1), 1–10.

Zheng, L., Yu, H., Wei, H., Xing, Q., Zou, Y., Zhou, Y., & Peng, J. (2018). Antioxidative peptides of hydrolysate prepared from fish skin gelatin using ginger protease activate antioxidant response element-mediated gene transcription in IPEC-J2 cells. *Journal of Functional Foods*, 51, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.033>

Zhou, X., Xiang, X., Zhou, Y., Zhou, T., Deng, S., Zheng, B., & Zheng, P. (2021). Protective effects of Antarctic krill oil in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis mice. Zhou, X., Xiang, X., Zhou, Y., Zhou, T., Deng, S., Zheng, B., and Zheng, P. (2021) Protective effects of Antarctic krill oil in dextran sulfate sodium-in. *Journal of Functional Foods*, 79, 104394. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104394>

# ***ANNEXE***

## Annexe 01 :

### Composition de la nourriture des rats

La nourriture fournie aux rats est composée de dérivés d'origine végétale, céréales, graines, fruits à coque. **Constituants analytiques** :Protéine brute (14%), matières grasses brutes (10%), cellulose brute (13%), cendres brutes (3.6%), phosphore (0.4%), calcium (0.4%), sodium (0.1%).**Additifs nutritionnels/Kg** : 4410 I.E. vitamine A, 677 I.E. vitamine D3, 56 mg vitamine E, 43 mg fer (E1), 0.1 mg iode (E2), 0.1 mg cobalt (E3), 3 mg cuivre (E4), 11 mg manganèse (E5), 8 mg zinc (E6), 0.1 mg sélénium (E8), colorants, antioxydants.

## Annexe 02 :

Peak #	R.Time	LTime	F.Time	Area	Area%	Height	Height %	A/H	Mark Name
1	12.370	12.335	12.410	230271	0.59	140842	1.09	1.63	V
2	14.796	14.755	14.830	260123	0.66	169762	1.32	1.53	
3	15.887	15.850	16.335	277093	0.71	153823	1.20	1.80	SV
4	16.762	16.735	16.830	493125	1.26	226428	1.76	2.18	V
5	16.976	16.900	17.100	8295040	21.15	4578347	35.57	1.81	V
6	17.581	17.540	17.620	331602	0.85	176298	1.37	1.88	V
7	18.047	17.980	18.095	421836	1.08	221461	1.72	1.90	V
8	18.852	18.805	18.880	974874	2.49	490535	3.81	1.99	V
9	18.919	18.880	18.960	4220008	10.76	2004003	15.57	2.11	V
10	18.986	18.960	19.065	922466	2.35	401811	3.12	2.30	V
11	19.225	19.145	19.345	3647208	9.30	1655089	12.86	2.20	V
12	21.302	21.220	21.375	476004	1.21	140713	1.09	3.38	V
13	21.434	21.375	21.520	431417	1.10	120232	0.93	3.59	V
14	22.057	22.000	22.150	584038	1.49	145007	1.13	4.03	V
15	24.828	24.735	24.900	266481	0.68	64757	0.50	4.12	V
16	25.333	25.245	25.425	435589	1.11	72219	0.56	6.03	V
17	25.505	25.425	25.590	2374460	6.05	644958	5.01	3.68	V
18	34.086	33.970	34.320	4239388	10.81	737998	5.73	5.74	V
19	35.419	35.350	35.460	269841	0.69	43323	0.34	6.23	V
20	35.819	35.460	36.225	9254118	23.60	426042	3.31	21.72	V
21	36.235	36.225	36.280	318904	0.81	102480	0.80	3.11	V
22	36.330	36.320	36.365	217567	0.55	84314	0.66	2.58	V
23	36.457	36.445	36.515	276904	0.71	69568	0.54	3.98	V
				39218357	100.00	12870010	100.00		

