.REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Immunologie des Maladies Infectieuses

Par : Mlle. BENKESSIRAT Fouzia

Thème :

CARACTÉRISATION IN-SITU DE L'EFFET DE L'ENCAPSULATION DU CÉLÉCOXIB SUR L'ÉTAT INFLAMMATOIRE D'UN MODÈLE MURIN D'INFLAMMATION CÔLIQUE

Soutenue publiquement le : 25 /06 /2023, Devant le jury composé de :

Mme. KADI Amina	**MCA**	Université Yahia Farès, Médéa	Président
Mr. Benhafri Nadir	**MAA**	Université Yahia Farès, Médéa	Examinateur
Mme. MEZIANE Warda	**MCB**	Université Yahia Farès, Médéa	Encadreur
Mme. GASMI Sara	**MCA**	Université Yahia Farès, Médéa	Co-Encadreur

Résumé

Introduction : La réponse inflammatoire est une stimulation contrôlée et coordonnée des voies de signalisation régulant les niveaux de médiateurs impliqués dans l'inflammation au niveau des tissus et recrutant des cellules inflammatoires dans le sang pour maintenir l'homéostasie des tissus. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) se caractérisent par une réponse inflammatoire excessive à la flore microbienne de la lumière intestinale. Le statut immunitaire a un effet crucial sur l'augmentation de la perméabilité intestinale et l'altération de la fonction de barrière intestinale. Le Célécoxib, à son tour, est un anti-inflammatoire de la classe des inhibiteurs sélectifs de la COX-2, dont la surexpression est associée à un mauvais pronostic dans plusieurs types d'affections malignes. L'encapsulation de médicaments dans des émulsions faits de polymères chimiques, constitue une nouvelle façon d'administration des molécules thérapeutique, dans le but d'améliorer leur efficacité et réduire leurs effets indésirables en réduisant leurs doses habituelles, et en ciblant les tissus à atteindre.

Objectifs : Évaluation des taux de quelques paramètres sérologiques et immunologiques pour caractériser l'état inflammatoire systémique de lots comparés de modèles murins avec colite ; traités au célécoxib formulés chimiquement dans des micelles polymériques ou non, afin d'améliorer sa fonction thérapeutique et limiter ses effets secondaires.

But : Ce travail a pour but d'étudier l'effet de l'encapsulation du Célécoxib sur sa fonction antiinflammatoire avérée dans un modèle d'inflammation du côlon provoquée chez les murins et cet in-situ sur le colon intégral**,** mais aussi au niveau de deux parties distinctes du colon.

Matériels et méthodes : Trente (30) souris ont été suivis dans cette étude. Le modèle expérimental de in-vivo a été induit chez les souris BALB/c males qui sont divisées en 6 lots : Lot 01 : Souris sains, Témoins négatives traités avec PBS ; Lot 02 : Colite induite par AA ; Lot 03 : PBS + Encapsulation vide ; Lot 04 : Colite induite par AA + Encapsulation vide ; Lot 05 : Colite induite par AA + Principe active (Celecoxib) ; Lot 06 : Colite induite par AA + Encapsulation complète. Les souris sont matchées pour l'Age, le sexe et le poids. n=5/Groupes, sexe ; mâles, âge ; 21 jours, Ont été soumis à une étude rétrospective cas/témoins.

Résultats : Nous avons remarqué des différences non significatives ($p < 0.1$) entre les lots de Protéines, NOx et Urée respectivement, au niveau du colon intégral. Nous avons remarqué aussi, des variations mais toutefois sans signification révélée les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, au niveau de la partie distale du colon, uniquement. Nous avons remarqué d'une autre part, des différences non significatives entre les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, au niveau de la partie proximale du colon, ($p < 0.1$). La Par contre, on mentionne qu'il y a une augmentation très élevée de la concentration de l'activité de NOx chez le groupe traité par le Célécoxib encapsulé comparant par les autres groupes et le contrôle. Cependant ; aucune signification n'a été révélé statistiquement) ($p < 0.1$). D'après nos résultats on observe qu'il n'y a une augmentation non significative du taux de l'Urée en comparant les six groupes étudiés, au niveau du colon proximal mais sans signification soulignée, ($p < 0.1$). Nous avons remarqué des variations non significatives entre les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, de la partie distale en comparaison avec la partie proximale chez les six lots étudiés. Enfin, le rapport (Ratio) des concentrations de Nox/Urée sur l'homogénat du côlon distal comparé au côlon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots.

Conclusions : Beaucoup de facteurs pourraient influencer l'augmentation et la diminution des concentrations sériques du NO et de protéine sérique et de l'Urée pendants l'administration du traitements encapsuler et non encapsulé, permet les une toxicité de polymère oui bien une interaction polymère/médicament qui induit a une toxicité qui va influencer par la suite l'inflammation

Mots clés : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin MICI ; Colite, Célécoxib, Anti-inflammatoire, Encapsulation, Émulsion, colon distal, colon proximal, homogénat du colon

Abstract

Introduction: The inflammatory response is a controlled and coordinated stimulation of signalling pathways regulating the levels of mediators involved in inflammation at tissue level and recruiting inflammatory cells into the bloodstream to maintain tissue homeostasis. Chronic inflammatory bowel disease (IBD) is characterised by an excessive inflammatory response to the microbial flora of the intestinal lumen. Immune status has a crucial effect on increasing intestinal permeability and altering intestinal barrier function.celecoxib, in turn, is an anti-inflammatory drug in the class of selective COX-2 inhibitors, overexpression of which is associated with a poor prognosis in several types of malignancy. The encapsulation of drugs in emulsions made from chemical polymers represents a new way of administering therapeutic molecules, with the aim of improving their efficacy and reducing their undesirable effects by reducing their usual doses and targeting the tissues to be reached.

Objectives: Evaluation of the levels of a number of serological and immunological parameters to characterise the systemic inflammatory state of comparative batches of murine models with colitis; treated with celicoxib chemically formulated in polymeric micelles or not, in order to improve its therapeutic function and mimic its side effects.

Aim: The aim of this work is to study the effect of the encapsulation of Celecoxib on its proven anti-inflammatory function in a murine model of inflammation of the colon, in-situ on the whole colon, but also on two distinct parts of the colon.

Materials and methods: Thirty (30) mice were followed in this study. The in-vivo experimental model was induced in male BALB/c mice which are divided into 6 batches: Batch 01: Healthy mice, Negative controls treated with PBS; Batch 02: AA-induced colitis; Batch 03: PBS + Empty encapsulation; Batch 04: AA-induced colitis + Empty encapsulation; Batch 05: AA-induced colitis + Active principle (Celecoxib); Batch 06: AA-induced colitis + Complete encapsulation. Mice were matched for age, sex and weight. n=5/Groups, sex; males, age; 21 days, were subjected to a retrospective case-control study.

Results: We observed non-significant differences ($p < 0.1$) between batches of Protein, NOx and Urea respectively, in the integral colon. We also noted variations, but without significance, between batches of Protein, NOx and Urea activity respectively, in the distal part of the colon only. We also noted non-significant differences between batches of Protein, NOx and Urea activity respectively, in the proximal part of the colon, ($p < 0.1$). On the other hand, there was a very high increase in the concentration of NOx activity in the group treated with encapsulated Celecoxib compared with the other groups and the control. However; no significance was revealed statistically) ($p < 0.1$). From our results we observe that there is a non-significant increase in the level of Urea when comparing the six groups studied, at the level of the proximal colon but without significance highlighted, ($p < 0.1$). We noted non-significant variations between batches in the activity of Protein, NOx and Urea respectively, in the distal part compared with the proximal part in the six batches studied. Finally, the ratio (Ratio) of Nox/Urea concentrations on the homogenate of the distal colon compared to the proximal colon in mice treated with encapsulated or non-encapsulated celecoxib and compared to the other batches.

Conclusions : Many factors could influence the increase and decrease of serum concentrations of NO and serum protein and Urea during the administration of encapsulated and non-encapsulated treatment, allows a successful polymer or polymer/drug interaction that induces knowledge that will subsequently influence inflammation.

Keywords: Inflammatory bowel disease IBD Colitis, Celecoxib, Anti-inflammatory, Encapsulation, Emulsion, distal colon, proximal colon, colon homogenate

ملخص

مقدمة: الاستجابة الالتهابية عبارة عن تحفيز منظم ومنسق لمسارات الإشارات التي تنظم مستويات الوسطاء المتورطين في الالتهاب على مستوى الأنسجة وتجنيد الخلايا الالتهابية في مجرى الدم للحفاظ على توازن الأنسجة. يتميز مرض التهاب الأمعاء المزمن بالاستجابة الالتهابية المفرطة للنباتات الميكروبية في تجويف الأمعاء. الحالة المناعية لها تأثير حاسم على زيادة نفاذية (IBD) الانتقائية ، COX-2 الأمعاء وتغيير وظيفة الحاجز المعوي. السيليكوكسيب ، بدوره ، هو دواء مضاد للالتهابات في فئة مثبطات والتي يرتبط الإفراط في التعبير عنها بسوء التشخيص في عدة أنواع من خباثة. يمثل تغليف الأدوية في مستحلبات مصنوعة من البوليمرات الكيميائية طريقة جديدة لإدارة الجزيئات العلاجية ، بهدف تحسين فعاليتها وتقليل آثارها غير المرغوب فيها عن طريق تقليل جرعاتها المعتادة واستهداف الأنسجة المراد تحقيقها.

الأهداف: تقييم مستويات عدد من البارامترات المصلية والمناعية لتوصيف الحالة الالتهابية الجهازية للدفعات المقارنة لنماذج الفئران المصابة بالتهاب القولون. يعالج بالسيليكوكسيب المركب كيميائياً في مذيلات بوليمرية أم لا ، من أجل تحسين وظيفته العلاجية وتقليد آثاره الجانبية

الهدف: الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير تغليف سيليكوكسيب على وظيفته المضادة للالتهابات المثبتة في نموذج الفئران لالتهاب القولون ، في الموقع على القولون بأكمله ، ولكن أيضًا على جزأين متميزين من القولون.

المواد والطرق: تم اتباع ثلاثين (30) فأراً في هذه الدراسة. تم إحداث النموذج التجريبي في الجسم الحي في ذكور فئران BALB/c والتي تم تقسيمها إلى 6 دفعات: دفعة 01: فئران سليمة ، ضوابط سلبية عولجت ببرنامج تلفزيوني ؛ الدفعة 02: التهاب القولون الناجم عن PBS + الدفعة 03: تغليف فارغ .AA تغليف فارغ ؛ الدفعة + AA ؛ الدفعة 04: التهاب القولون الناجم عن (Celecoxib) مبدأ نشط + AA 05: التهاب القولون الناجم عن تغليف كامل. + AA ؛ الدفعة 06: التهاب القولون الناجم عن تمت مطابقة الفئران حسب العمر والجنس والوزن. ن = 5 / مجموعة ، الجنس ؛ الذكور ، العمر 21 يومًا ، تم إخضاعهم لدراسة الحالات والشواهد بأثر رجعي.

النتائج: لاحظنا اختلافات غير معنوية ($p <0.1$) بين دفعات من البروتين وأكاسيد النيتروجين واليوريا على التوالي في القولون المتكامل. لاحظنا أيضًا اختلافات ، ولكن دون أهمية ، بين مجموعات نشاط البروتين وأكاسيد النيتروجين واليوريا على التوالي ، في الجزء البعيد من القولون فقط. لاحظنا أيضًا اختلافات غير مهمة بين دفعات نشاط البروتين وأكاسيد النيتروجين واليوريا على التوالي من ناحية أخرى ، كانت هناك زيادة عالية جدًا في تركيز نشاط أكاسيد النيتروجين في ($p <0.1$)، في الجزء القريب من القولون ، المغلف مقارنة بالمجموعات الأخرى والمجموعة الضابطة. لكن؛ لم يتم الكشف عن دلالة Celecoxib المجموعة المعالجة بـ من نتائجنا نلاحظ أن هناك زيادة غير معنوية في مستوى اليوريا عند مقارنة المجموعات الست المدروسة ، ($p <0.1$) (إحصائية لاحظنا اختلافات غير معنوية بين الدُفعات في نشاط البروتين ($p <0.1$)على مستوى القولون القريب ولكن دون إبراز أهمية ، وأكاسيد النيتروجين واليوريا على التوالي في الجزء البعيد مقارنة بالجزء القريب في الدُفعات الست المدروسة. أخيرًا ، نسبة (نسبة) تركيزات أكاسيد النيتروجين / اليوريا على تجانس القولون البعيد مقارنة بالقولون القريب في الفئران المعالجة بسيليكوكسيب مغلف أو غير مغلف ومقارنة بالدفعات الأخرى.

الاستنتاجات

وبروتين المصل واليوريا أثناء تناول العلاج NO يمكن أن تؤثر العديد من العوامل على زيادة وانخفاض تركيزات المصل من المغلف وغير المغلف ، مما يسمح بتفاعل بوليمر أو بوليمر / دوائي ناجح يحفز المعرفة التي ستؤثر لاحقًا على الالتهاب

الكلمات المفتاحية : مرض التهاب الأمعاء ؛ التهاب القولون ، سيليكوكسيب ، مضاد للالتهابات ، تغليف ، مستحلب ، القولون ,IBD البعيد ، القولون القريب ، تجانس القولون

AVANT-PROPOS

Je présente mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier ma promotrice Docteure MEZIANE Warda et ma Co-promotrice Docteure Sara GASMI pour leur disponibilité leurs conseils pertinents qui ont aidé de façon très significative à la réalisation ce mémoire.

Je souhaite remercier les membres du jury pour leur ferveur et dévotion, ainsi que leur honorable présence et temps accordé.

- Docteur Benhafri Nadir, Président
- Docteure Kadi Amina, examinatrice

Nous souhaitons adresser de très chaleureux remerciements aux personnes suivantes, pour leur disponibilité, pour tout ce qu'ils nous ont apporté, et pour avoir accepté de nous consacrer un peu de leur temps précieux :

- Professeur Karine BENACHOUR – Directrice du Laboratoire de Recherche en Biologie et Pharmacologie Expérimentales, Médéa, de nous avoir admise à travailler dans ledit Laboratoire.
- Professeur Mustapha OUMOUNA – Responsable de la Spécialité Immunologie / Immunologie et Maladies infectieuse à l'université de Médéa.
- PhD. Student. Bahria Karima, pour son aide inégalée et précieuse accordée durant toute l'année.
- L'Ensemble des Doctorants (es), Ingénieure et personnels du Laboratoire de Recherche Biologie et Pharmacologie Expérimentales, d'avoir répondu à nos questions et leur aide tout au long de l'élaboration de ce projet.

Ce travail a pour but d'étudier l'effet de l'encapsulation du Célécoxib **in-situ**, au niveau du colon sur sa fonction antiinflammatoire avérée dans un modèle d'inflammation du côlon provoquée chez les murins. Il a pour but aussi, de caractériser les différences probables qu'il pourrait y avoir entre ces paramètres évalués, au niveau de deux parties distinctes du colon (partie distale et partie proximale).

Il a été réalisé au Laboratoire de Recherche de Biologie et Pharmacologie Expérimentales, Université de Médéa ; sous la direction du docteur Warda MEZIANE et du co-encadrement du Docteur Sara Gasmi. Qu'elles soient persuadées de mes vives reconnaissances. Le présent mémoire est structuré en six chapitres : Revues de la littérature, Matériels et méthodes, Résultats et interprétation, Discussion, Conclusions et Perspectives, Bibliographie. Il s'inscrit dans le cadre de ma formation universitaire pour l'obtention du grade de Master II en sciences biologiques (SNV), Spatialité : Immunologie des maladies infectieuses.

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donnée la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

En guise de reconnaissance, je tiens à remercier, très sincèrement, le Professeur **OUMOUNA Mustapha**, Responsable de la Spécialité Immunologie, j'ai eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences, de ses précieux conseils et de son suivi tout au long de notre parcours académique.

Mes remerciements s'adressent particulièrement au Docteur **MEZIANE Warda**, pour son encadrement de qualité, sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et sa patience ainsi pour le temps qu'il a consacré à la réalisation de ce travail.

Je remercie ma Co-promotrice Docteur **GASMI Sara Nawal** qui m'a aidée, dirigée et encouragée pour la réussite de ce travail.

Je présente également ma gratitude à Mme **BAHRIA Karima** pour son aide précieuse tout au long de séjour au laboratoire pour son soutien constant, sa disponibilité, et sa confiance.

A Monsieur **BENHAFRI Nadir**, qui m'a guidée, et m'a donnée de son temps pour apporter son aide.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire de recherche de biologie et pharmacologie et expérimentales à l'université YAHIA Farès Médéa, pour leurs contributions pour bien accomplir ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail.

De peur d'en avoir oublié, je souhaite remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail ainsi qu'à la réussite de ce parcours universitaire.

B. FOUZIA

Je dédie ce travail à :

À mes très chers ***parents****,*

Mes piliers, mes exemples, mes premiers supporteurs et ma plus grande force. Merci pour votre présence, votre soutien, votre aide, et surtout votre amour, merci de n'avoir jamais douté de moi.

Tout ce que j'espère, c'est que vous soyez fiers de moi aujourd'hui.

Maman *Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me porter depuis mon enfance, Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux formulé, bien que je ne vous acquitte jamais assez.*

Puisse Dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mon cher frère ***Anwar*** *et à ma meilleure sœur* ***Bouchera****, qui font de mon univers une merveille, je leurs souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

À ***l'amour*** *de ma vie.*

À mon chat ***Grizmo,*** *Tu es mon tout, tu résumes ma vie, JE T'AIME pour toujours.*

À ma cousine ***Fatiha*** *que je considère comme une deuxième sœur, son mari* ***Zohir****, et ses enfants :* ***Farah****,* ***Yanis****, et* ***Firas*** *pour leur sympathie, et leur bienveillance, que dieu les protège.*

À mon âme sœur et ma meilleure amie ***Khaoula****, qui depuis des années m'encourage, me comprend et a toujours été à mes côtés, que dieu lui donne du bonheur, santé et réussite.*

À ma grand-mère ***Hamida*** *pour son affection et son amour sincère pour moi, Que dieu t'accorde encore longue vie.*

À mes oncles ***Belkacem****, Bellatreche* ***Mohamed Amine****,* ***Bobaker Sedik*** *et* ***Djalil****, ma tante* ***Nadia*** *pour leur soutien et leur tendresse.*

À toutes mes cousines ***Malia, Sirine, Samer, Nihad, Dina, Randa*** *et* ***Rayhanna****….pour leur gentillesse.*

À l'âme de mes grands-parents Baba ***Abd El-Kader****, Jadou* ***Benyoucef*** *et Yemma* ***Ghania****, ma tante* ***Rafia*** *que dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*À tous mes collègues, chers ami (e)s (****Rafik, Ramila, Tarek, Manar*** *et* ***Fella****), pour tout ce qu'on a partagé ensemble.*

Et tous ceux qui me sont chers…

BENKESSIRAT Fouzia

TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstract

ملخص

Avant-propos

Remerciment

Dédicace

Table des matiéres

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Introduction 1

1 Chapitre 1. Revue de la littérature 3

1.1 La réaction inflammatoire 3

1.1.1 Définition 3

1.1.2 Classification de l'inflammation 4

1.1.2.1 Inflammation aiguë 5

1.1.2.1.1 Aspect clinique 5

1.1.2.2 L'inflammation chronique 6

1.1.2.2.1 Biomarqueurs de l'inflammation chronique dans le développement pathologique 7

1.1.3 Mécanisme moléculaires de la réponse inflammatoire 8

1.1.3.1 Activation des récepteurs de reconnaissance 9

1.1.3.2 Activation des voies de signalisation intracellulaires 10

1.1.3.2.1 La voie NF-κB 10

1.1.3.2.2 Voie des MAPK 11

1.1.3.2.3 Voie JAK-STAT 12

1.1.3.3 Les biomarqueurs inflammatoires 13

1.1.3.3.1 Les médiateurs dérivés des lipides 13

1.1.3.3.2 Les cytokines inflammatoires 14

1.1.3.3.3 Les médiateurs vasoactifs 15

1.1.3.3.4 Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) 15

1.1.3.3.5 Les espèces réactives de l'azote et sécrétion du NO 15

1.1.3.3.5.1 Immunobiologie de l'oxyde nitrique (NO) 15
1.1.3.3.6 Le système du complément 17
1.1.3.4 Les type des cellules dans les réponses inflammatoires 17
1.1.3.4.1 Les cellules épithéliales / endothéliales 17
1.1.3.4.2 Les monocytes 17
1.1.3.4.3 Les neutrophiles 17
1.1.3.4.4 Les macrophages 18
1.1.3.4.4.1 Activité de l'arginase au niveau des Mφs 19
1.1.3.4.5 Les mastocytes 20
1.1.3.4.6 Les plaquettes 20
1.1.4 L'inflammation du tractus intestinal 20
1.1.4.1 La colite ulcéreuse (CU) 21
1.1.4.1.1 La physiopathologie de la CU 22
1.2 La résolution de l'inflammation 24
1.2.1 Thérapeutique anti-inflammatoire et résolution de l'inflammation 24
1.2.1.1 Les anti-inflammatoire 24
1.2.1.1.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens 25
1.2.1.1.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) 25
1.2.1.2 Classification des AINS 26
1.2.1.3 Le rôle des AINS sélectifs de la COX-2 dans le cancer colorectal 27
1.2.1.4 Le Celecoxib 27
1.2.1.4.1 La pharmacocinétique du Celecoxib 29
1.3 Les nanoparticules pour l'administration de médicaments 30
1.3.1 La nanotechnologie 30
1.3.2 Les nanomédicaments 30
1.3.3 Les nanoparticules 31
1.3.3.1 Les nanoparticules organiques 32
1.3.4 La nanoencapsulation de médicaments 33
1.3.5 L'encapsulation de molécules pharmaceutiques communes par un procédé d'évaporation de solvant en double émulsion 33
1.3.5.1 La double émulsion 33
1.3.6 Polymères couramment utilisés dans les préparations des doubles émulsions 34
1.3.6.1 La gomme adragante polymère 34
2 Chapitre 2. Matériels et méthodes 36
2.1 Partie Galénique 36

2.1.1 Préparation de formulation d'encapsulation (Emulsion) 36
2.1.1.1 Emulsion Primaire 36
2.1.1.2 Emulsion Secondaire 38
2.1.1.3 Lavage et Agitation 39
2.2 Partie immunologique 40
2.2.1 Sujets étudiés 40
2.2.1.1 Condition d'élevage 41
2.2.1.2 Constitution des lots 42
2.2.2 Préparation des injections 43
2.2.3 Pesée 43
2.2.4 Méthodes expérimentales 43
2.2.4.1 Gavage 43
2.2.4.2 Injection intra-rectal 44
2.2.4.3 Prélèvement sanguin 45
2.2.4.4 Sacrifice et prélèvement des organes 45
2.2.4.4.1 Préparation d'homogénat 47
2.2.5 Méthodes d'analyse 49
2.2.5.1 Dosage de NOx par la méthode de Griess sur homogénat 49
2.2.5.2 Dosage des protéines totales sur homogénat par la réaction du Bradford 50
2.2.5.3 Dosage de l'urée sur homogénat 51
2.2.6 Analyses statistiques 53
3 Chapitre 3. Résultats et interprétation 54
4 Chapitre 4. Discussion 62
5 Chapitre 5. Conclusions et perspectives 65
6 Chapitre 6. Bibliographie 66
7 Annexe 74

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Chronologie et caractéristiques de la réaction inflammatoire. 4
Figure 1.2. Classification de l'inflammation en fonction de la durée et des fonctions immunitaires (Arulselvan et al., 2016). 4
Figure 1.3. La réponse immunitaire de l'inflammation aigue et chronique. 5
Figure 1.4. Voies de l'inflammation aigue et leur processus d'activation (Arulselvan et al., 2016) 6
Figure 1.5. Etapes impliquées dans les processus inflammatoires chroniques et leurs conséquences (Arulselvan et al., 2016). 7
Figure 1.6. L'IC est associée à des réponses physiologiques persistantes de bas grade qui peuvent conduire à des lésions tissulaires dégénérescence et diverses maladies. 8
Figure 1.7. Signalisation des TLR. Les voies dépendantes de MyD88 et dépendantes de TRIF sont représentées. La signalisation par les TLR active des cascades de signalisation intracellulaire qui conduisent à la translocation nucléaire de AP-1 et NF-κB ou IRF3, qui régulent la réponse inflammatoire (Chen et al., 2018). 9
Figure 1.8. La voie NF-kB. Cette voie est déclenchée par les TLR et les cytokines inflammatoires, telles que le TNF et l'IL-1, ce qui entraîne l'activation des complexes RelA/p50 qui régulent l'expression des cytokines inflammatoires. La signalisation NF-κB nécessite des sous-unités IKK, qui régulent l'activation de la voie par la phosphorylation de l'IκB (Chen et al., 2018). 11
Figure 1.9. La voie MAPK. Cette voie assure la médiation de la signalisation intracellulaire déclenchée par des stimuli extracellulaires, tels que le stress et les cytokines. Les MAPKKK phosphorylent et activent les MAPKK, qui à leur tour phosphorylent et activent les MAPK. La famille des MAPK de mammifères comprend Erk, JNK et p38. Dans la voie Erk, Erk est activé par MKK1/2, qui est activé par Raf. Dans la voie JNK, JNK est activée par MKK4/7, qui est activée par MEKK. Dans la voie p38, p38 est activée par MKK3/6, qui est activée par TAK. Les MAPK activées phosphorylent diverses protéines, y compris des facteurs de transcription, ce qui entraîne une régulation des réponses inflammatoires (Chen et al., 2018). 12
Figure 1.10. La voie JAK-STAT. Après la liaison de l'IL-6, le signal est transduit par un récepteur pour activer les JAK, qui activent ensuite les STAT. Les STAT sont déphosphorylés dans le noyau, ce qui entraîne l'activation des cytokines en amont (Chen et al., 2018). 13
Figure 1.11. La voie de l'acide arachidonique dans l'inflammation (Stables and Gilroy, 2011). 14
Figure 1.12. Mécanismes transcriptionnels et post-traductionnels qui controlent l'expression et la fonction iNOS. La transcription iNOS est induite de manière synergique par une combinaison de cytokines et /ou LPS conduisant à l'activation de multiples facteurs de transcription. L'expression iNOS est également régulée après la transcription par des facteurs cellulaires qui affectent l'ARNm et la stabilité des protéines. Les facteurs cellulaires affectent aussi la fonction de iNOS en régulant la disponibilité des substrats / cofacteurs et la dimérisation des enzymes (Kloc, 2017). 17
Figure 1.13. Interaction des neutrophiles avec les cellules de la circulation (Herrero-Cervera et al., 2022). 18
Figure 1.14. Polarisation du macrophage en deux sous populations (Meziane, 2019). 19

Figure 1.15. Différents types de maladies inflammatoires de l'intestin. (A) Colite ulcéreuse : proctite, colite gauche et colite étendue ; (B) Maladie de Crohn : Maladie de Crohn iléo-cæcale, colite de Crohn et maladie de Crohn fistulisante. Le rouge indique la zone d'inflammation (Yeshi et al., 2020). 21
Figure 1.16. L'étendue de la maladie de la colite ulcéreuse. 22
Figure 1.17. Physiopathologie de la colite ulcéreuse (Yeshi et al., 2020). 24
Figure 1.18. Les voies de formation des prostanoïdes (Mitchell and Warner, 2006). 25
Figure 1.19. Mécanisme général des AINS. 26
Figure 1.20. La structure chimique du célécoxib (Kim et al., 2017). 28
Figure 1.21. Le mécanisme de célécoxib. Le célécoxib et ses dérivés bloquent sélectivement la voie de la COX-2. Inhibant la douleur, l'inflammation et la fièvre sans avoir d'impact sur l'agrégation plaquettaire (Vinton et al., 2023). 28
Figure 1.22. La voie métabolique du célécoxib chez l'humain (Kim et al., 2017). 29
Figure 1.23. Le métabolisme hépatique du célécoxib (Gong et al., 2012a). 30
Figure 1.24. Exemple des nanoparticules organiques et inorganiques les plus utilisés pour une application intelligente dans l'administration de médicaments (Lombardo et al., 2019).. 32
Figure 1.25. L'encapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles par des techniques. d'émulsion double (Iqbal et al., 2015) 34
Figure 2.1. La cire d'abeille. 37
Figure 2.2. La gomme tragacanthe. 37
Figure 2.3. L'émulsion primaire. 38
Figure 2.4. L'émulsion secondaire. 39
Figure 2.5. Lavage et agitation. 39
Figure 2.6. Double émulsion après la centrifugation. 40
Figure 2.7. Souri BALB/c. 41
Figure 2.8. Les cages des souris. 41
Figure 2.9. Méthode du gavage. 44
Figure 2.10. Injection intra-rectal. 45
Figure 2.11. Prélèvement sanguin par la veine caudal. 45
Figure 2.12. Lecture FNS. 45
Figure 2.13. La dissection. 46
Figure 2.14. Prélèvement du colon. 47
Figure 2.15. Préparation d'homogénat. 48
Figure 2.16. Dosage du NOx. 50
Figure 2.17. Dosage de l'urée. 53
Figure 3.1. Concentrations de protéines totales des homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) ($p > 0.1$). 55
Figure 3.2. Concentration du NOx sur les homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparé. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . NO: Monoxyde d'azote 55
Figure 3.3. Concentrations de l'urée sur les homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . NO: Monoxyde d'azote 56
Figure 3.4. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon distal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . ($p > 0.1$) 56
Figure 3.5. Concentrations de Monoxyde d'azote sur l'homogénat du colon distal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . ($p > 0.1$) 57
Figure 3.6. Concentrations de l'urée sur l'homogénat du colon distal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . ($p > 0.1$) 57

Figure 3.7. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon proximal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1) 58
Figure 3.8. Concentrations de Monoxyde d'azote sur l'homogénat du colon proximal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1) 58
Figure 3.9. Concentrations de l'urée sur l'homogénat du colon proximal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1) 59
Figure 3.10. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1) 59
Figure 3.11. Concentrations du NOx sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxibe encapsulé ou non et comparé aux autres lots. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1) 60
Figure 3.12. Concentrations de l'urée sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus). (p > 0.1) 60
Figure 3.13. Ratio des concentrations de NOx/Urée sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitée avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus). (p > 0.1) 61

LISTE DES ABREVIATIONS

IL	**L'interleukine**
TNF	**Facteur de nécrose tumorale**
L'IC	**L'inflammation chronique**
PAMPs	**Motifs moléculaires associés aux pathogènes**
DAMPs	**Motifs moléculaires associés au danger**
PRR	**Récepteurs de reconnaissance de motifs**
TLR	**Récepteurs Toll-like**
AP-1	**La protéine activatrice 1**
IRF3	**Le facteur de régulation de l'interféron 3**
MAPK	**La protéine kinase activée par les mitogènes**
NF-kB	**Le facteurs nucléaire kappa-B**
STAT	**Les voies de transduction et d'activation de la transcription**
JAK	**La Janus kinase**
CSF	**Le facteur de stimulation des colonies**
TGF	**Le facteur de croissance transformant**
COX	**La cyclooxygénase**
COX-2	**La cyclooxygénase 2**
iNOS	**L'oxyde nitrique synthase inductible**
PLA2	**La phospholipase A2**
AA	**L'acide arachidonique**
PG	**Les prostaglandines**
LOX	**La lipoxygénase**
LT	**Les leucotriènes**
LX	**Les lipoxines**
INF	**L'interféron**
ROS	**Les espèces réactives de l'oxygène**
NO	**L'oxyde nitrique**
ADN	**L'acide désoxyribonucléique**
O2	**Oxygène**
Cellule NK	**Cellule naturel killer**
LB	**Lymphocyte B**
LT	**Lymphocyte T**
CD	**Cellule dendritique**
Mφs	**Les macrophages**
MICI	**Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**
CU	**La colite ulcéreuse**
CD	**La maladie de Crohn**
AINS	**Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**
AIS	**Les anti-inflammatoires stéroïdiens**
NP	**Les nanoparticules**
DE	**Double émulsion**
GA	**La gomme adragante**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Résumé des cytokines inflammatoires et de leurs fonctions (Chen et al., 2018). 15
Tableau 2.1. Répartition des lots. 42
Tableau 3.1. Tableau représentatif des différents groupes de souris étudiés. 55

Introduction

Les réponses inflammatoires résultent de l'exposition des tissus ou des organes à des stimuli nocifs tels qu'une blessure, des produits chimiques toxiques ou des micro-organismes pathogènes (Megha et al, 2021 ; Patil et al., 2019). Les réponses inflammatoires sont principalement composées d'une cascade complexe d'interactions entre les médiateurs pro- et anti-inflammatoires (Cavaillon and Adib-Conquy, 2002 ; Megha et al, 2021). Elles sont déclenchées par le recrutement de leucocytes sanguins, l'activation des macrophages tissulaires et la production d'une série de médiateurs tels que (IL-1, IL-6, TNF-α) (Megha et al., 2021). L'inflammation pourrait évoluer progressivement vers une inflammation aiguë puis chronique (Arulselvan et al., 2016; Hamidzadeh et al., 2017; Megha et al., 2021).

La réponse inflammatoire est une stimulation contrôlée et coordonnée des voies de signalisation régulant les niveaux de médiateurs impliqués dans l'inflammation au niveau des tissus et recrutant des cellules inflammatoires dans le sang pour maintenir l'homéostasie des tissus (Chen et al., 2018; Megha et al., 2021; Patil et al., 2019). Elle modifie ainsi la localisation physique des leucocytes, du plasma et des fluides vers le site de l'inflammation, un ensemble de médiateurs et de molécules de signalisation (histamines, prostaglandines, radicaux libres générés par l'azote et l'oxygène, sérotonine et leucotriènes) sont libérés principalement par les cellules immunitaires pour déclencher les événements de l'inflammation (Megha et al., 2021).

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) se caractérisent par une réponse inflammatoire excessive à la flore microbienne de la lumière intestinale (McGuckin et al., 2009). (Chen et al, 2018). Les MICI comprennent principalement la colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (CD) (Nardone et al., 2023). La colite ulcéreuse (CU) est une maladie qui affecte principalement le rectum et le côlon (Nascimento et al., 2020). L'inflammation de la muqueuse du côlon joue un rôle essentiel dans la pathogenèse de la CU, qui conduit à la formation d'ulcères (Porter et al., 2020; Teigen et al., 2019). Le statut immunitaire a un effet crucial sur l'augmentation de la perméabilité intestinale et l'altération de la fonction de barrière intestinale, qui pourrait être une conséquence de la dysbiose et de la perturbation microbiennes ou facteurs environnementaux (Kałużna et al., 2022; R. D. P. D. Nascimento et al., 2020).

Les anti-inflammatoires permettent de lutter contre l'inflammation quelle que soit la cause de cette inflammation. Ce sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation mais seulement sa conséquence. Ils ont une action également sur la douleur (Vane and Botting, 1998).

Le Célécoxib est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), est le premier inhibiteur spécifique de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) à avoir été développé en tant qu'un AINS moins toxique pour le tractus gastro-intestinal approuvé pour le traitement des patients souffrant de rhumatismes et d'arthrose et de la douleur aiguë (Davies et al., 2000; Gong et al., 2012a; Kim et al., 2017; Subhahar et al., 2019)

La nanomédecine et les nanosystèmes d'administration sont une science utilisés pour délivrer des agents thérapeutiques à des sites ciblés de manière contrôlée (Lombardo et al., 2019; Patra et al., 2018). Les nanomédicaments sont devenus bien appréciées ces derniers temps, car les nanostructures peuvent être utilisées comme agents d'administration en encapsulant des médicaments ou en fixant des médicaments thérapeutiques et les délivrer aux tissus cibles avec plus de précision et une libération contrôlée (Jahangirian et al., 2017).

Certains médicaments pharmaceutiques courants encapsulés dans des particules par le processus d'émulsion double, tels que les médicaments anticancéreux, les anti-inflammatoires et les antibiotiques (Iqbal et al., 2015). L'émulsion double permet de préparer des particules polymères, qui permettent la libération contrôlée d'ingrédients actifs solubles dans la phase aqueuse interne ou dispersés dans la matrice polymère. Sa fonction principale est considérée comme un réservoir interne qui permet d'emprisonner les ingrédients actifs de votre choix dans l'espace intérieur fermé, qui peut protéger l'ingrédient sensible piégé contre la lumière, la dégradation enzymatique et l'oxydation (Benichou et al., 2004; Iqbal et al., 2015).

Les mots clés : Inflammation ; les maladies chronique de l’intestin ; la colite ulcéreuse ; Célécoxib ; nanomédicaments.

1 Chapitre 1. Revue de la littérature

1.1 La réaction inflammatoire

1.1.1 Définition

Les réponses inflammatoires résultent de l'exposition des tissus ou des organes à des stimuli nocifs tels qu'une blessure, des produits chimiques toxiques ou des micro-organismes pathogènes (Megha et al., 2021; Patil et al., 2019). Le processus d'inflammation est une réponse vitale nécessaire à la guérison d'une blessure, d'un traumatisme (chirurgical), d'une septicémie et d'une infection (Megha et al., 2021).

Les réponses inflammatoires sont principalement composées d'une cascade complexe d'interactions entre les médiateurs pro- et anti-inflammatoires (Cavaillon and Adib-Conquy, 2002; Megha et al., 2021). Elles sont déclenchées par le recrutement de leucocytes sanguins, l'activation des macrophages tissulaires et la production d'une série de médiateurs tels que (IL-1, IL-6, TNF-α) (Patil et al., 2019).

L'inflammation est définie cliniquement au niveau des tissus et se caractérise par "une rougeur, un gonflement, une chaleur, une douleur et une perte de fonction" (Stewart and Beart, 2016). Les événements importants qui se produisent dans la microcirculation pendant la phase d'inflammation comprennent l'augmentation des changements de perméabilité vasculaire, le recrutement et l'accumulation de leucocytes, la libération de médiateurs pour initier des réponses inflammatoires (Megha et al., 2021).

L’inflammation pourrait évoluer progressivement vers une inflammation aiguë puis chronique (Arulselvan et al., 2016; Hamidzadeh et al., 2017; Megha et al., 2021). Dans le processus inflammatoire aigu, les événements cellulaires et moléculaires et leurs interactions contrôlées et combinées minimisent efficacement la lésion/infection en cours. Cette procédure d'atténuation contribue au rétablissement de l'homéostasie tissulaire normale (Megha et al., 2021). Cependant, l'inflammation aiguë non contrôlée évolue progressivement vers la chronicité, causant une variété de maladies inflammatoires chroniques telles que les troubles neurodégénératifs, le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, les troubles oculaires, l'arthrite, l'obésité, les maladies auto-immunes et les maladies inflammatoires de l'intestin (Arulselvan et al., 2016; Megha et al., 2021; Patil et al., 2019).

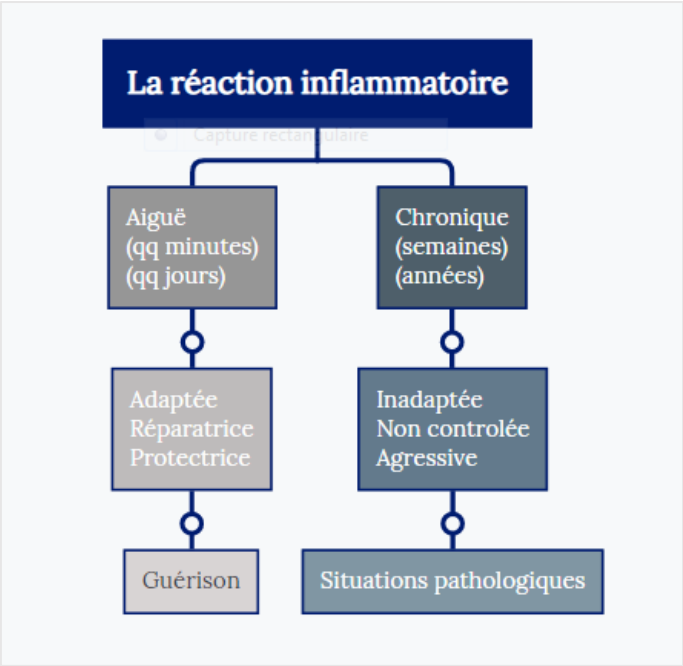


Figure 1.1. Chronologie et caractéristiques de la réaction inflammatoire.

1.1.2 Classification de l'inflammation

Les stades de l'inflammation dépendent de la durée du processus ainsi que de divers facteurs immunitaires (Arulselvan et al., 2016). L'inflammation a été classée en deux catégories différentes : les processus aigus et les processus chroniques (Arulselvan et al., 2016; Hamidzadeh et al., 2017).

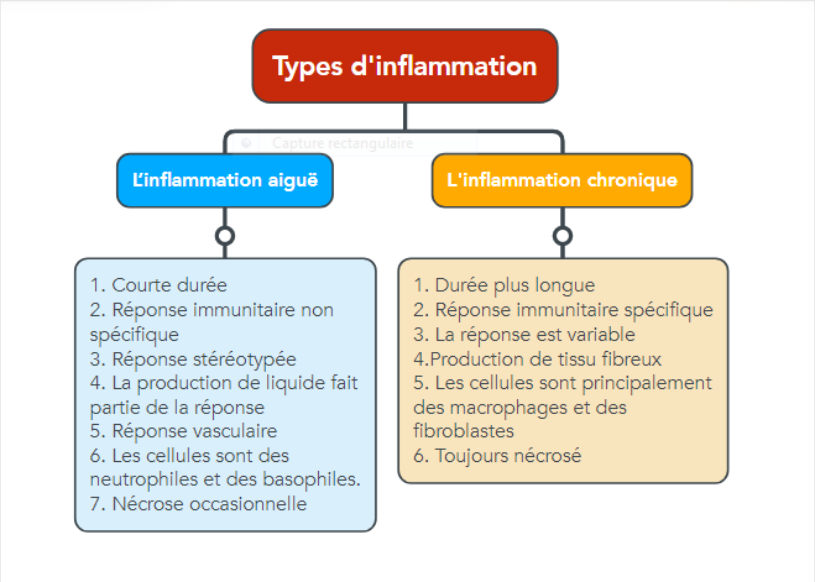


Figure 1.2. Classification de l'inflammation en fonction de la durée et des fonctions immunitaires (Arulselvan et al., 2016).

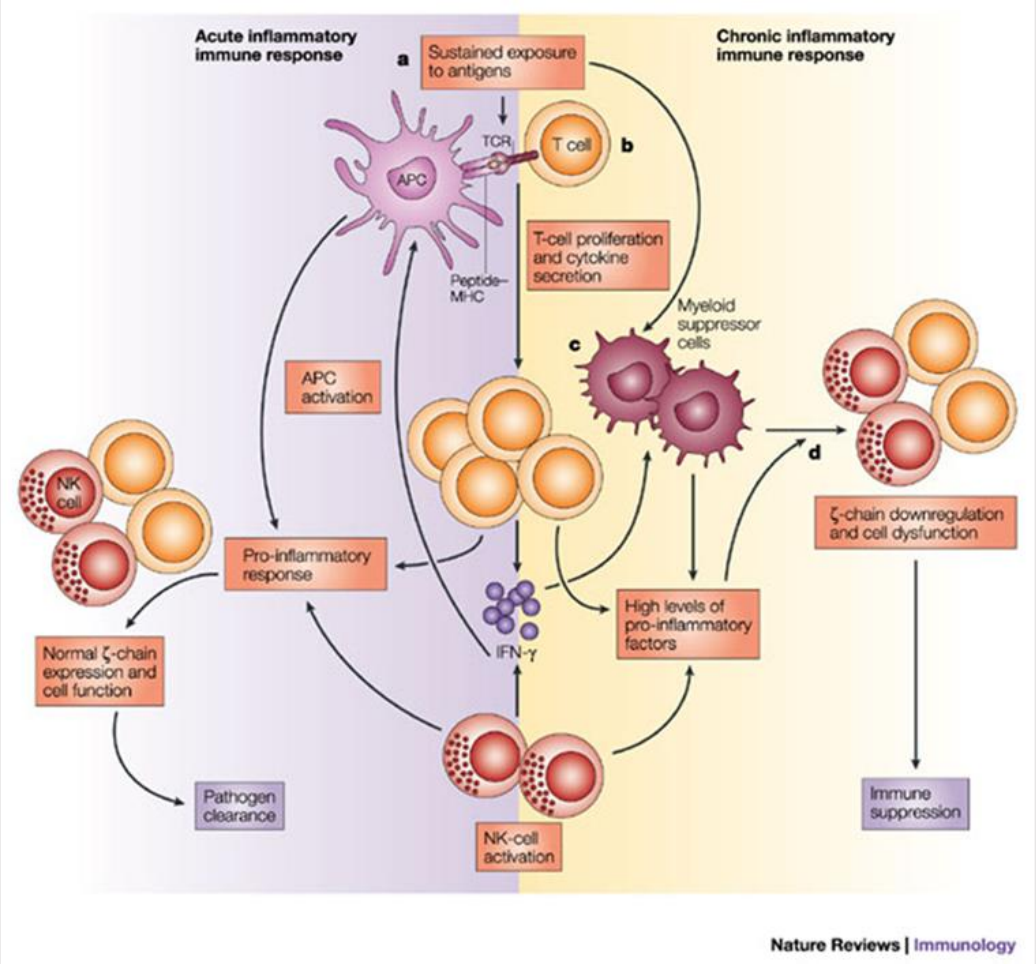


Figure 1.3. La réponse immunitaire de l'inflammation aigue et chronique.

1.1.2.1 Inflammation aiguë

1.1.2.1.1 Aspect clinique

L'inflammation aiguë est un processus court, qui dure de quelques minutes à quelques jours, et dont les principales caractéristiques sont la fuite de protéines plasmatiques ou de liquide et le déplacement de leucocytes dans une zone extravasculaire (Arulselvan et al., 2016). Ces réactions cellulaires et vasculaires sont favorisées par des facteurs chimiques produits par les cellules ou le plasma et sont responsables des symptômes cliniques classiques de l'inflammation tels que le gonflement, la rougeur, la douleur, la chaleur et la perte de fonction (Arulselvan et al., 2016; Stewart and Beart, 2016).

Les réactions inflammatoires aiguës se déroulent en trois étapes principales, initiées par l'augmentation du flux sanguin vers la zone enflammée, puis la vasodilatation et perméabilité vasculaire accrue avec fuite de plasma de la microcirculation et enfin, la migration des leucocytes phagocytaires vers les tissus environnants (Arulselvan et al., 2016).

Les premières altérations observées au cours de l'inflammation aigue sont des modifications du flux vasculaire et du calibre des petits vaisseaux sanguins. Les vaisseaux capillaires

nouvellement créés et les artérioles plus grandes augmentent le flux sanguin dans cette région (Arulselvan et al., 2016; Megha et al., 2021). Les altérations progressives de l'endothélium augmentent la perméabilité vasculaire de la microvasculature, provoquant une fuite du liquide dans une zone extravasculaire, ce qui fait passer le processus à l'étape suivante (Arulselvan et al., 2016). Enfin, après ces changements dans la circulation sanguine, la margination des leucocytes commence et les leucocytes adhèrent à l'endothélium, d'abord par roulement puis par adhésion (Arulselvan et al., 2016). Par la suite, ils traversent la paroi vasculaire (transmigration) et pénètrent dans le tissu interstitiel, à ce stade, l'objectif crucial de l'inflammation aiguë, qui est de fournir des leucocytes et des médiateurs plasmatiques à la zone lésée, est atteint (Arulselvan et al., 2016).

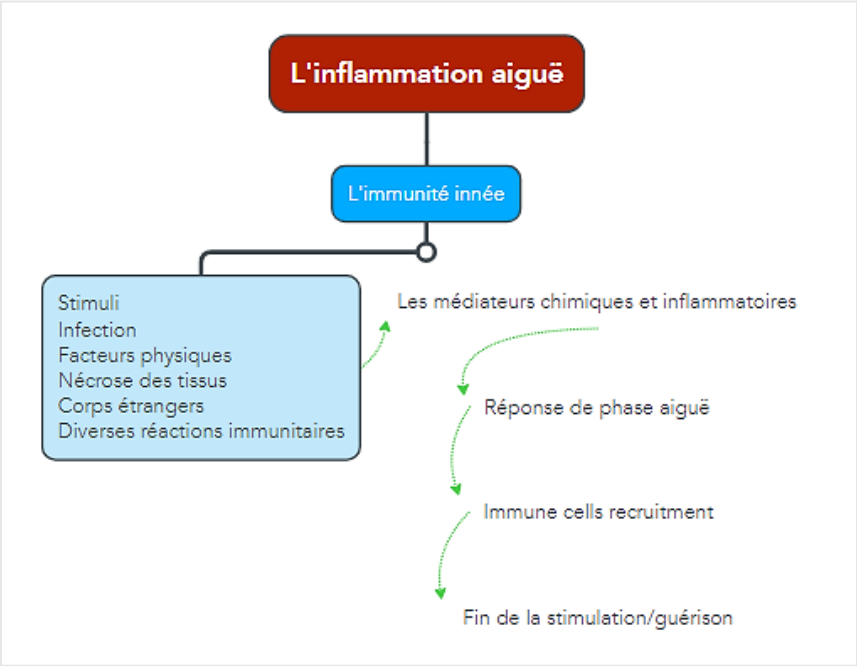


Figure 1.4. Voies de l'inflammation aigue et leur processus d'activation (Arulselvan et al., 2016).

1.1.2.2 L'inflammation chronique

L'état d'inflammation chronique peut avoir plusieurs conséquences secondaires sur la réponse biologique, associées à un risque accru de maladies et de troubles chroniques (Arulselvan et al., 2016; Suzuki, 2019; Watson et al., 2017). telles que les cardiopathies ischémiques, les accidents vasculaires cérébraux, le cancer, le diabète, les maladies rénales chroniques, l'alcoolisme et la toxicomanie, maladie rénale chronique, la stéatose hépatique non alcoolique et les maladies auto-immunes et neurodégénératives (Furman et al., 2019). L'inflammation chronique des tissus survient généralement lorsque les réponses inflammatoires se produisent en l'absence d'un stimulus réel (Arulselvan et al., 2016). Elle survient généralement (Arulselvan et al., 2016) :

- A la suite d'infections qui ne sont pas résolues par les mécanismes de protection endogènes ou par un autre mécanisme de résistance des défenses de l'hôte.
- A la suite d'agents physiques ou chimiques qui ne peuvent être décomposés.
- Une certaine forme de susceptibilité génétique.
- La persistance de corps étrangers.
- l'exposition continue à des produits chimiques.
- l'inflammation aiguë récurrente ou des agents pathogènes spécifiques sont autant de raisons cruciales de l'inflammation chronique.

Le processus moléculaire et cellulaire de l'inflammation chronique est varié et dépend du type de cellules enflammées et de l'organe (Chen et al., 2018).

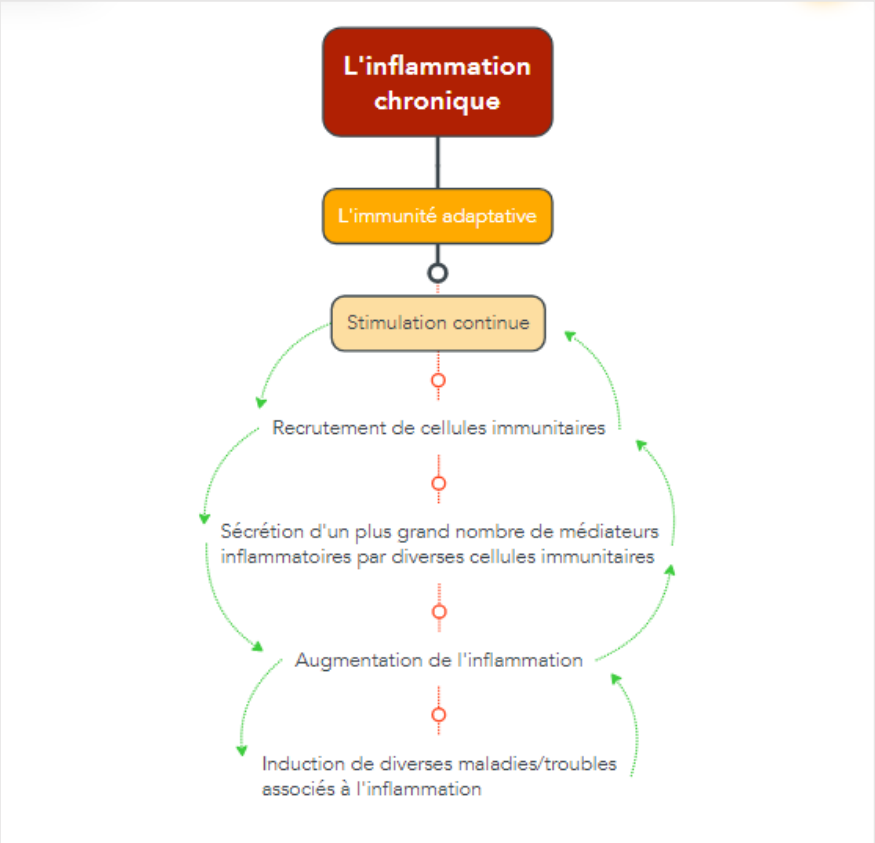


Figure 1.5. Etapes impliquées dans les processus inflammatoires chroniques et leurs conséquences (Arulselvan et al., 2016).

1.1.2.2.1 Biomarqueurs de l'inflammation chronique dans le développement pathologique

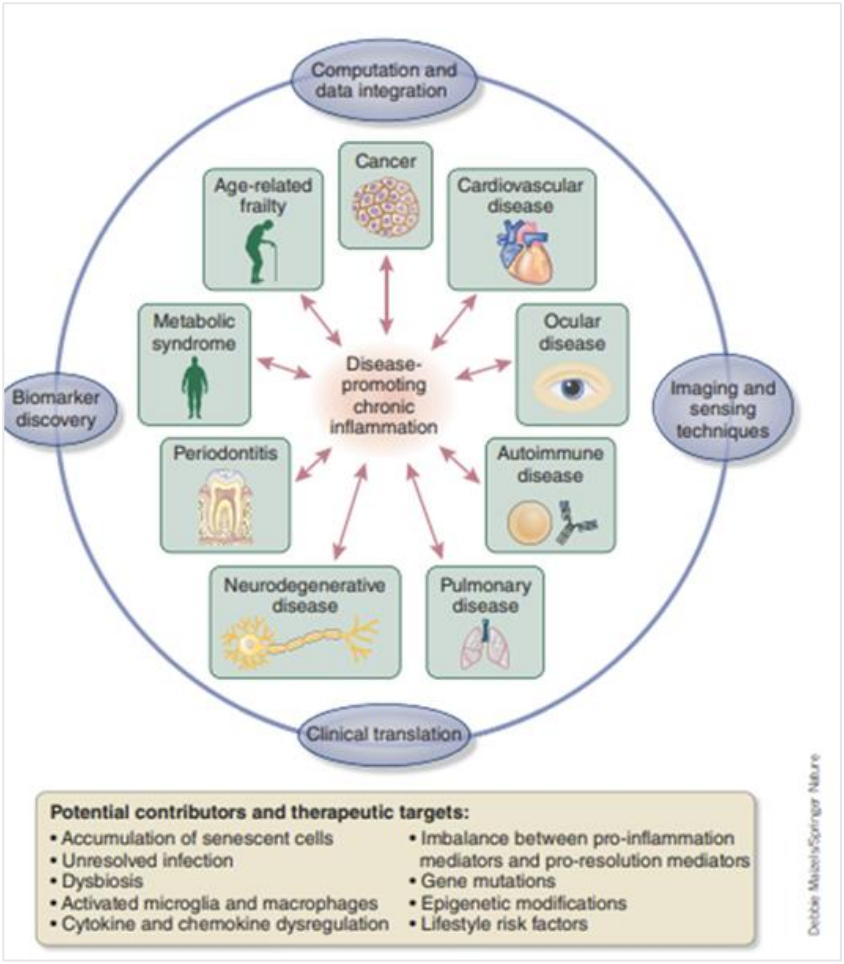


Figure 1.6. L'IC est associée à des réponses physiologiques persistantes de bas grade qui peuvent conduire à des lésions tissulaires dégénérescence et diverses maladies.

1.1.3 Mécanisme moléculaires de la réponse inflammatoire

La réponse inflammatoire est une stimulation contrôlée et coordonnée des voies de signalisation régulant les niveaux de médiateurs impliqués dans l'inflammation au niveau des tissus et recrutant des cellules inflammatoires dans le sang pour maintenir l'homéostasie des tissus (Chen et al., 2018; Megha et al., 2021; Patil et al., 2019). Elle modifie ainsi la localisation physique des leucocytes, du plasma et des fluides vers le site de l'inflammation, un ensemble de médiateurs et de molécules de signalisation (histamines, prostaglandines, radicaux libres générés par l'azote et l'oxygène, sérotonine et leucotriènes) sont libérés principalement par les cellules immunitaires pour déclencher les événements de l'inflammation (Megha et al., 2021).

1.1.3.1 Activation des récepteurs de reconnaissance

Les structures microbiennes connues sous le nom de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) peuvent déclencher la réponse inflammatoire par l'activation de récepteurs de reconnaissance de motifs (PRR) codés par la lignée germinale et exprimés dans les cellules immunitaires et non immunitaires (Gudkov and Komarova, 2016). Certains PRR reconnaissent également divers signaux endogènes activés lors de lésions tissulaires ou cellulaires et sont connus sous le nom de motifs moléculaires associés au danger (DAMPS) qui peuvent déclencher et perpétuer une réponse inflammatoire non infectieuse (Gudkov and Komarova, 2016).

Les TLR sont une famille de PRR qui participent à l'activation de la réponse inflammatoire (Janeway and Medzhitov, 2002). La transmission des PAMP et des DAMP est assurée par le facteur de différenciation myéloïde 88 (MyD88) et les TLR (Czerkies and Kwiatkowska, 2014). La signalisation par les TLR active une cascade de signalisation intracellulaire qui conduit à la translocation nucléaire de facteurs de transcription, tels que la protéine activatrice 1 (AP-1) et NF-κB ou le facteur de régulation de l'interféron 3 (IRF3) (Akira et al., 2001; Czerkies and Kwiatkowska, 2014).

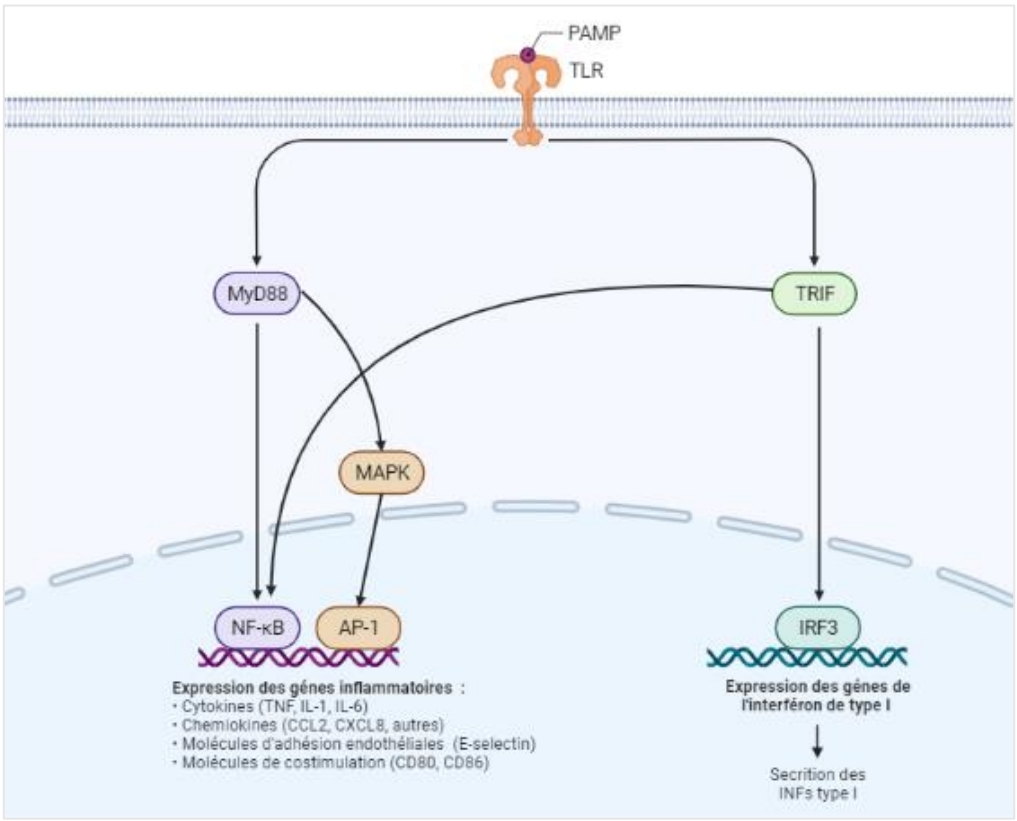


Figure 1.7. Signalisation des TLR. Les voies dépendantes de MyD88 et dépendantes de TRIF sont représentées. La signalisation par les TLR active des cascades de signalisation intracellulaire qui conduisent à la translocation nucléaire de AP-1 et NF-κB ou IRF3, qui régulent la réponse inflammatoire (Chen et al., 2018).

1.1.3.2 Activation des voies de signalisation intracellulaires

Les stimuli inflammatoires activent des voies de signalisation intracellulaires qui activent ensuite la production de médiateurs inflammatoires (Kaminska, 2005). L'activation des récepteurs déclenche d'importantes voies de signalisation intracellulaires, notamment la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK), le facteur nucléaire kappa-B (NF-κB) et les voies de transduction et d'activation de la transcription (STAT) de la Janus kinase (JAK) (Hendrayani et al., 2016; Henríquez-Olguín et al., 2015).

De nombreux facteurs de transcription régulent une variété de gènes inflammatoires, tels que l'IL-1, le TNF-α, l'IL-6, le facteur de stimulation des colonies (CSF), les interférons, le facteur de croissance transformant (TGF) et les chimiokines (Chen et al., 2018).

1.1.3.2.1 La voie NF-κB

Le facteur de transcription NF-κB joue un rôle important dans les processus d'inflammation, de réponse immunitaire (Girard et al., 2009). NF-κB contrôle la transcription des gènes impliqués dans l'apoptose, l'adhésion cellulaire, la prolifération, la réponse au stress cellulaire, la réponse immunitaire, les voies inflammatoires et le remodelage des tissus (Heras and Hortelano, 2009). NF-κB régule la transcription des cytokines inflammatoires telles que IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8 et TNF-α ainsi que les gènes codant pour COX-2, iNOS, les molécules d'adhésion cellulaire, les récepteurs immunitaires et les récepteurs des facteurs de croissance (Lee et al., 2004).

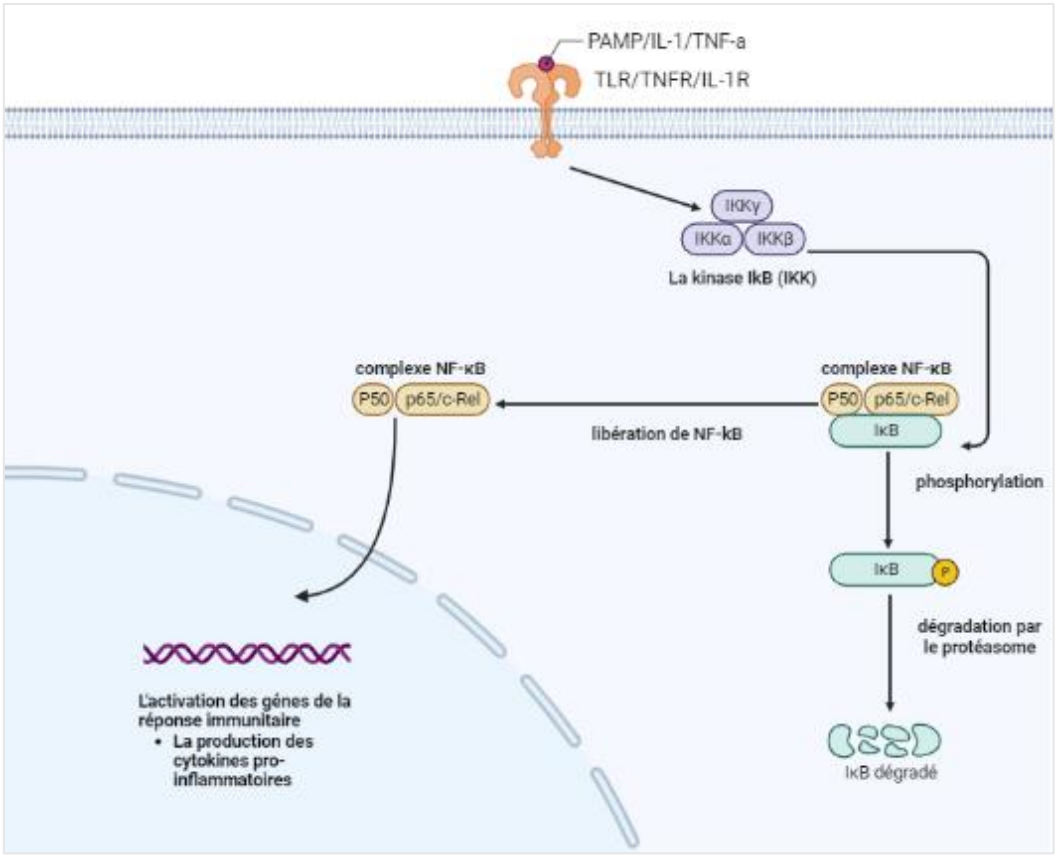


Figure 1.8. La voie NF-kB. *Cette voie est déclenchée par les TLR et les cytokines inflammatoires, telles que le TNF et l'IL-1, ce qui entraîne l'activation des complexes RelA/p50 qui régulent l'expression des cytokines inflammatoires. La signalisation NF-κB nécessite des sous-unités IKK, qui régulent l'activation de la voie par la phosphorylation de l'IκB (Chen et al., 2018).*

1.1.3.2.2 Voie des MAPK

Les MAPK sont une famille de protéines kinases à sérine/thréonine qui dirigent les réponses cellulaires à divers stimuli, notamment le stress osmotique, les mitogènes, les chocs thermiques et les cytokines inflammatoires (telles que IL-1, TNF-α et IL6), qui régulent la prolifération, la différenciation, la survie et l'apoptose cellulaires (Kaminska, 2005; Pearson et al., 2001).

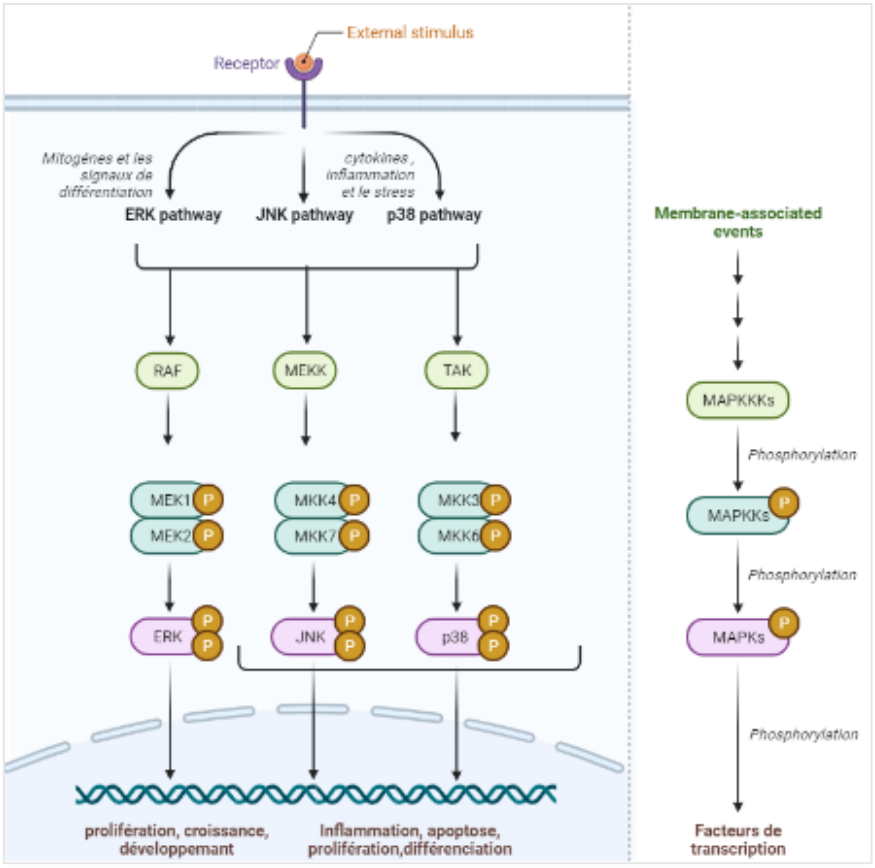


Figure 1.9. La voie MAPK. Cette voie assure la médiation de la signalisation intracellulaire déclenchée par des stimuli extracellulaires, tels que le stress et les cytokines. Les MAPKKK phosphorylent et activent les MAPKK, qui à leur tour phosphorylent et activent les MAPK. La famille des MAPK de mammifères comprend Erk, JNK et p38. Dans la voie Erk, Erk est activé par MKK1/2, qui est activé par Raf. Dans la voie JNK, JNK est activée par MKK4/7, qui est activée par MEKK. Dans la voie p38, p38 est activée par MKK3/6, qui est activée par TAK. Les MAPK activées phosphorylent diverses protéines, y compris des facteurs de transcription, ce qui entraîne une régulation des réponses inflammatoires (Chen et al., 2018).

1.1.3.2.3 Voie JAK-STAT

La voie JAK-STAT, très conservée, implique diverses cytokines, facteurs de croissance, interférons et molécules apparentées et constitue un mécanisme de signalisation par lequel des facteurs extracellulaires peuvent contrôler l'expression des gènes (O'Shea et al., 2015).

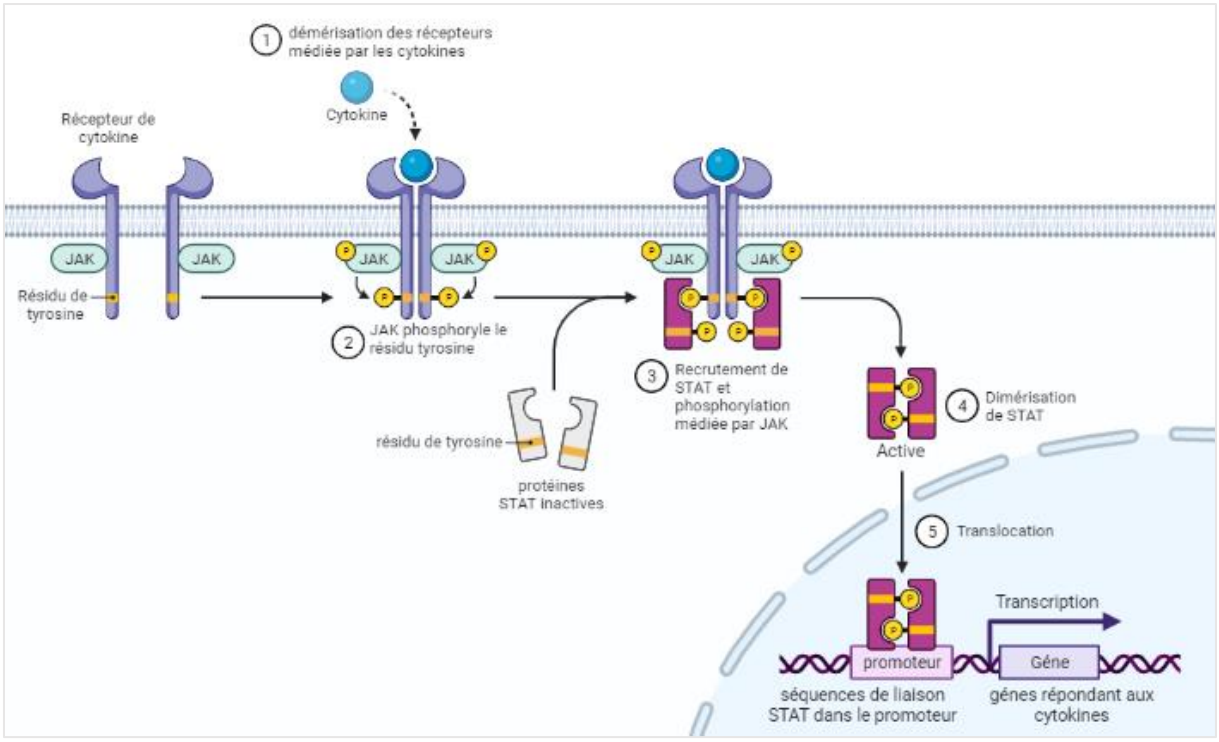


Figure 1.10. La voie JAK-STAT. Après la liaison de l'IL-6, le signal est transduit par un récepteur pour activer les JAK, qui activent ensuite les STAT. Les STAT sont déphosphorylés dans le noyau, ce qui entraîne l'activation des cytokines en amont (Chen et al., 2018).

1.1.3.3 Les biomarqueurs inflammatoires

Les marqueurs inflammatoires peuvent être des indicateurs des maladies inflammatoires et sont en corrélation avec les causes et les conséquences de diverses maladies inflammatoires. Les stimuli activent les cellules inflammatoires et induisent la production de cytokines inflammatoires, ainsi que de protéines et d'enzymes inflammatoires (Chen et al., 2018).

1.1.3.3.1 Les médiateurs dérivés des lipides

L'activation de diverses enzymes phospholipases, principalement la phospholipase A2 (PLA2), entraîne la libération d'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires (Stables and Gilroy, 2011). L'AA est métabolisé par différentes voies et forme de multiples produits oxygénés appelés eicosanoïdes (Stables and Gilroy, 2011). La cyclooxygénase (COX) forme les prostaglandines (PG) et le thromboxane (prostanoïdes) tandis que la lipoxygénase (LOX) forme les leucotriènes (LT) et les lipoxines (LX) (Stables and Gilroy, 2011). Les eicosanoïdes régulent divers processus inflammatoires et homéostatiques liés à de nombreuses maladies (Dennis and Norris, 2015).

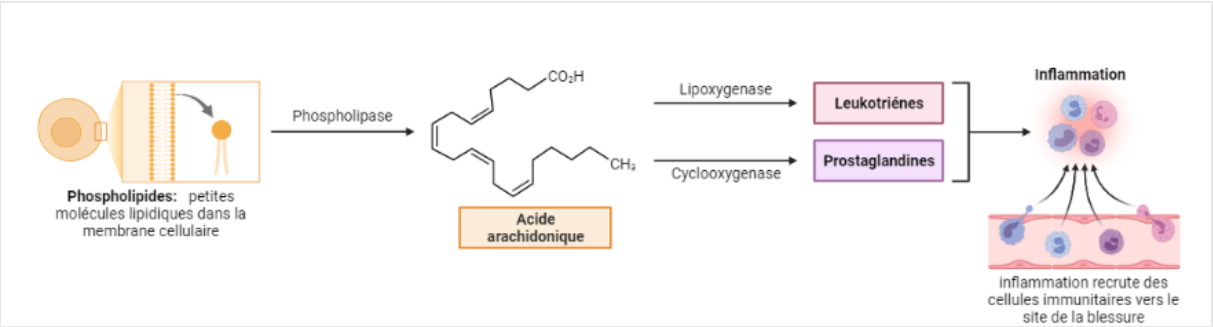


Figure 1.11. La voie de l'acide arachidonique dans l'inflammation (Stables and Gilroy, 2011).

1.1.3.3.2 Les cytokines inflammatoires

Les cytokines sont principalement libérées par les cellules immunitaires, notamment les monocytes, les macrophages et les lymphocytes (Turner et al., 2014). Les cytokines pro- et anti-inflammatoires facilitent et inhibent respectivement l'inflammation (Turner et al., 2014). Les cytokines inflammatoires sont classées en interleukines (IL), facteurs de stimulation des colonies (CSF), interférons (INF), Facteurs de nécrose tumorale (TNF), Facteurs de croissance transformant (TGF) et Chimiokines, et sont produites par les cellules principalement pour recruter des leucocytes sur le site d'une infection ou d'une blessure (Turner et al., 2014).

Les cytokines régulent l'expression des molécules d'adhésion, la croissance cellulaire, la division cellulaire, l'apoptose, la production d'immunoglobulines et le chimiotactisme dans les cellules cibles (Safayhi and Sailer, 1997). En outre, les cytokines initient également des cascades de signalisation intracellulaire et la transcription qui s'ensuit (Franceschi and Campisi, 2014).

Cytokines	*Famille*	*Principales sources*	*Fonction*
IL-1β	IL-1	Macrophages, monocytes	Pro-inflammation, proliferation, apoptose, différenciation
IL-4	IL-4	Cellules Th	Anti-inflammation, prolifération des cellules T et B, différenciation des cellules B
IL-6	IL-6	Macrophages, cellules T, adipocytes	Pro-inflammation, différenciation, production de cytokines
IL-8	CXC	Macrophages, cellules épithéliales, cellules endothéliales	Pro-inflammation, chimiotaxie, angiogenèse
IL-10	IL-10	Monocytes, cellules T, cellules B	Anti-inflammation, inhibition des cytokines pro-inflammatoires
IL-12	IL-12	Cellules dendritiques, macrophages, neutrophiles	Pro-inflammation, différenciation cellulaire, activation des cellules NK
IL-11	IL-6	Fibroblastes, neurones, cellules épithéliales	Anti-inflammation, différenciation, induction de la protéine de phase aiguë

TNF-α	TNF	Macrophages, cellules NK, lymphocytes CD4+, adipocytes	Pro-inflammation, production de cytokines, prolifération cellulaire, apoptose, anti-infectieux
IFN-γ	INF	Cellules T, cellules NK, cellules NKT	Pro-inflammation, immunité innée et adaptative antivirale
GM-CSF	IL-4	Cellules T, macrophages, fibroblastes	Pro-inflammation, activation des macrophages, augmentation de la fonction des neutrophiles et des monocytes
TGF-β	TGF	Macrophages, cellules T	Anti-inflammation, inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires

Tableau 1.1. Résumé des cytokines inflammatoires et de leurs fonctions (Chen et al., 2018).

1.1.3.3.3 Les médiateurs vasoactifs

L'histamine, la sérotonine et la bradykinine sont des médiateurs pro-inflammatoires largement répandu (Larsen and Henson, 1983; Patil et al., 2019; Safayhi and Sailer, 1997). La libération de ces médiateurs provoque une augmentation transitoire de la perméabilité vasculaire à la suite d'une lésion tissulaire par la séparation des cellules endothéliales suivie par une formation de lacunes dans les veinules post-capillaires, la contraction des cellules endothéliales et permet le passage des fluides et des protéines à travers les jonctions inter-endothéliales, aussi ils ralentissent le flux capillaire (Hersh and Bodey, 1970; Larsen and Henson, 1983; Patil et al., 2019; Safayhi and Sailer, 1997).

1.1.3.3.4 Les espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) jouent un rôle important dans les mécanismes de défense cellulaire. Les ROS libérés par les cellules inflammatoires exagèrent le stress oxydatif (Biswas, 2016). Les ROS peuvent déclencher des voies de signalisation intracellulaires et favoriser l'expression de gènes pro-inflammatoires (Biswas, 2016).

1.1.3.3.5 Les espèces réactives de l'azote et sécrétion du NO

1.1.3.3.5.1 Immunobiologie de l'oxyde nitrique (NO)

L'oxyde nitrique (NO) est un gaz bioactif produit par plusieurs types cellulaires, dont les cellules dendritiques, les neutrophiles, les lymphocytes T ou encore les macrophages. Il a une durée de vie longue estimée à environs (100–500 s), ce qui lui permet de diffuser pour interagir avec sa cible (Wink et al., 1991). Il a été identifié pour la première fois en tant que médiateur de la vasodilatation artérielle (Asghar Ghasemi*I, Mehdi HedayatiII, Hamed BiabaniIII, 2007). Dans le système immunitaire, l'expression du NO a été initialement observée dans les macrophages stimulés par des cytokines ou des molécules microbiennes infectieuses ce qui lui valut, incontestablement, la fonction d'effecteur de l'inflammation pour la clairance des infections bactériennes et cet effet cytotoxique est attribué à celui de l'agent oxydant peroxynitrite (ONOO-), qui provoque une oxydation et une nitrosylation des nucléotides individuels tout en altérant l'ADN cellulaire (Korkmaz et al., 2009). La formation

des peroxynitrites est conséquente à un environnement riche en oxygène, où le NO réagit avec O2 pour former du dioxyde d'azote, du trioxyde de diazote et du peroxynitrite (Rath et al., 2014), ainsi les taux de peroxynitrites secrétés sont relatifs à ceux des mitochondries cellulaires (Kloc, 2017). Aussi le NO possède un rôle régulateur de la viabilité cellulaire, il peut induire la mort cellulaire ou l'inhiber en fonction de certains facteurs déterminants dont sa concentration dans la cellule affectée et le type et l'état redox de la cellule. En effet, des concentrations élevées de NO sont cytotoxiques alors que les faibles concentrations inhibent le phénomène d'apoptose et incitent la prolifération et la survie des cellules (Kim et al., 2005). L'apoptose implique l'activation des caspases, protéases de la systéine qui protéolysent les composantes cellulaires et fragmentent l'ADN ; le NO, en revanche, inhibe l'action enzymatique de ces caspases suite à la S-nitrosylation de leurs cystéines catalytiques (Jiang et al., 2009).Ce gaz peut aussi induire l'apoptose par l'activation de la signalisation p38 MAPK et JNK (Kloc, 2017). Cependant, l'action anti-apoptotique du NO est due à son action empêchant la perméabilité mitochondriale par activation du GMPc (Borutaite et al. 2009). Sachant que le processus de perméabilisation de la mitochondrie induit l'apoptose sous contrôle de la protéine Bcl-2 (Zamora et al. 2001; Elmore 2007). Le NO protège aussi, contre les dommages des agents oxydants, de par son effet inducteur de l'expression de l'hème oxygenase-1, molécule qui prévient la cytotoxicité et qui une fois inhibée induit la synthèse des ROS cytoendommageants (Castilho et al., 2012). Enfin, le NO est également un bon modulateur des réactions inflammatoires et un régulateur des réponses immunitaires adaptatives (Genuardi et al., 1999), puisqu'il inhibe la migration Trans-endothéliale des cellules immunitaires dans les foyers inflammatoires et réduit l'expression des molécules d'adhésion (Dal Secco et al., 2006) et inhibe les réponses Th1 en atténuant la synthèse de l'IL-12 dans les macrophages (Kloc, 2017).

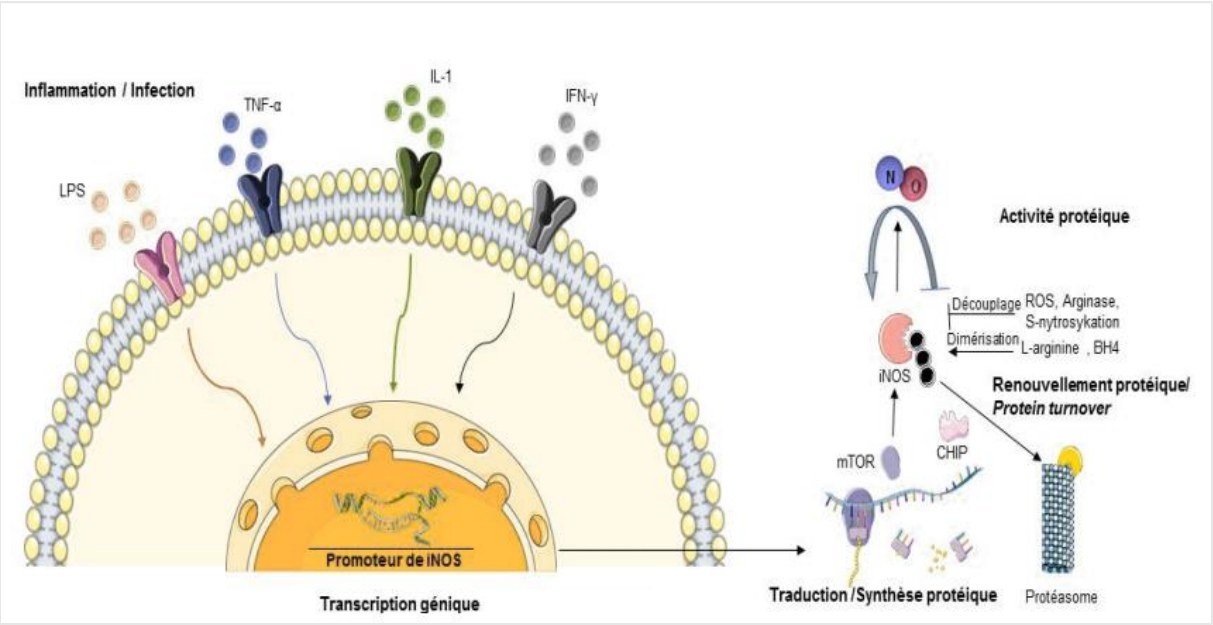


Figure 1.12. Mécanismes transcriptionnels et post-traductionnels qui controlent l'expression et la fonction iNOS. *La transcription iNOS est induite de manière synergique par une combinaison de cytokines et /ou LPS conduisant à l'activation de multiples facteurs de transcription. L'expression iNOS est également régulée après la transcription par des facteurs cellulaires qui affectent l'ARNm et la stabilité des protéines. Les facteurs cellulaires affectent aussi la fonction de iNOS en régulant la disponibilité des substrats / cofacteurs et la dimérisation des enzymes (Kloc, 2017).*

1.1.3.3.6 Le système du complément

Le système du complément est composé de plus de 30 protéines plasmatiques et glycoprotéines et de récepteurs solubles ou membranaires (Guo and Ward, 2005). Ce système protéique agit comme une cascade enzymatique par le biais d'une variété d'interactions protéine-protéine (Guo and Ward, 2005). L'activation de la cascade du complément entraîne la formation des anaphylatoxines C3a, C5a et du complexe d'attaque membranaire (Kulkarni et al., 2006). La C5a présentent des activités biologiques dominantes qui déclenchent la cascade inflammatoire par la production d'anticorps, la synthèse et la libération de cytokines, de PG et de leucotriènes, ainsi que le stress oxydatif, le recrutement de cellules inflammatoires comme les neutrophiles, les éosinophiles, les monocytes et les lymphocytes T (Guo and Ward, 2005).

1.1.3.4 Les type des cellules dans les réponses inflammatoires

1.1.3.4.1 Les cellules épithéliales / endothéliales

Sur les sites de lésions tissulaires, les cellules épithéliales et endothéliales endommagées libèrent des facteurs qui déclenchent la cascade inflammatoire, ainsi que des chimiokines et des facteurs de croissance qui attirent les cellules immunitaires. Les premières cellules attirées sur le site d'une lésion sont les neutrophiles, suivis par les monocytes, les lymphocytes (cellules tueuses naturelles [cellules NK], LT et LB) et les mastocytes (Robb et al., 2016; Stramer et al., 2007; Van Linthout et al., 2014).

1.1.3.4.2 Les monocytes

Les monocytes peuvent se différencier en macrophages et en cellules dendritiques et sont recrutés par chimiotactisme dans les tissus endommagés et produisent de grandes quantités de médiateurs pro-inflammatoires (Nathan and Ding, 2010; Shi and Pamer, 2011; Zhang et al., 2022)

1.1.3.4.3 Les neutrophiles

Les neutrophiles sont un médiateur clé de la réponse inflammatoire, recrutent, activent et programment les cellules présentatrices d'antigènes pour activer les cellules T et B et libèrent des médiateurs locaux pour attirer les monocytes et les cellules dendritiques (Jabbour et al., 2009; Nathan, 2006). Les neutrophiles générer des signaux qui déterminent si les macrophages se différencient en un état pro- ou anti-inflammatoire (Jabbour et al.,

2009). En outre, les neutrophiles sont des médiateurs clés de la cicatrisation des plaies et de la stérilisation microbienne (Jabbour et al., 2009).

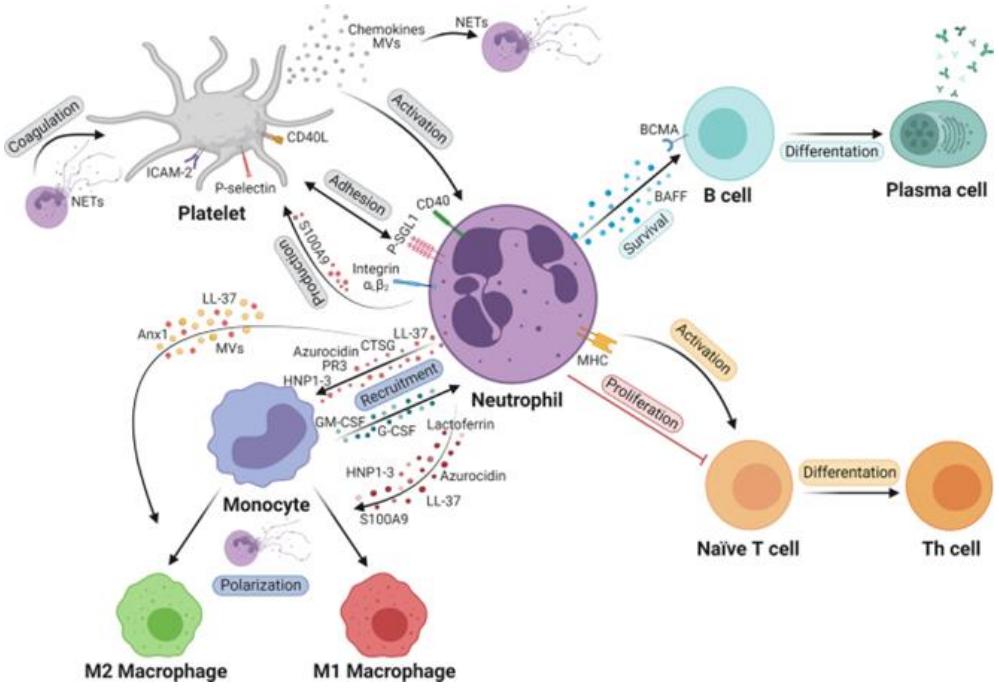


Figure 1.13. Interaction des neutrophiles avec les cellules de la circulation (Herrero-Cervera et al., 2022).

1.1.3.4.4 Les macrophages

Les macrophages sont des composants importants du système des phagocytes mononucléaires et jouent un rôle essentiel dans le déclenchement, le maintien et la résolution de l'inflammation par la production de différents types de cytokines pro et anti-inflammatoires (Hume, 2015; Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Les macrophages ainsi activés sont des cellules à forte plasticité, ce qui leur permet de passer d'un phénotype à un autre (Ginhoux et al., 2016; Hume, 2015).

Les macrophages modifient leur expression génique et leur phénotype fonctionnel en réponse à l'environnement local des cytokines ainsi qu'aux divers signaux et stimuli microenvironnementaux associés à différents types de tissus (Hume, 2015; Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Les macrophages ont été classés selon leurs états d'activation en deux populations, dont les macrophages (M1) également décrits comme classiquement activés ou pro-inflammatoires (Davies et al., 2013; Herrero-Cervera et al., 2022) et les macrophages (M2) dits alternativement ou Non-classiquement activés qui incluent les macrophages régulateurs (Huang et al., 2016) et exercent des fonctions anti-inflammatoires ou immuno-régulatrices, respectivement (Davies et al., 2013; Hume, 2015; Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Ce phénomène des deux phénotypes différents M1 / M2 est nommé «polarisation des macrophages» (Ginhoux et al., 2016; Labonte et al., 2014).

L'arginine est un acide aminé cationique essentiel dont le métabolisme intracellulaire au niveau des macrophages (Rath et al., 2014). Cet acide aminé est un précurseur principalement de deux voies métaboliques dans les macrophages : il est métabolisé par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) en NO et en citrulline ou par l'hydrolyse de l'arginase en ornithine et en urée (Mosser and Edwards, 2008).

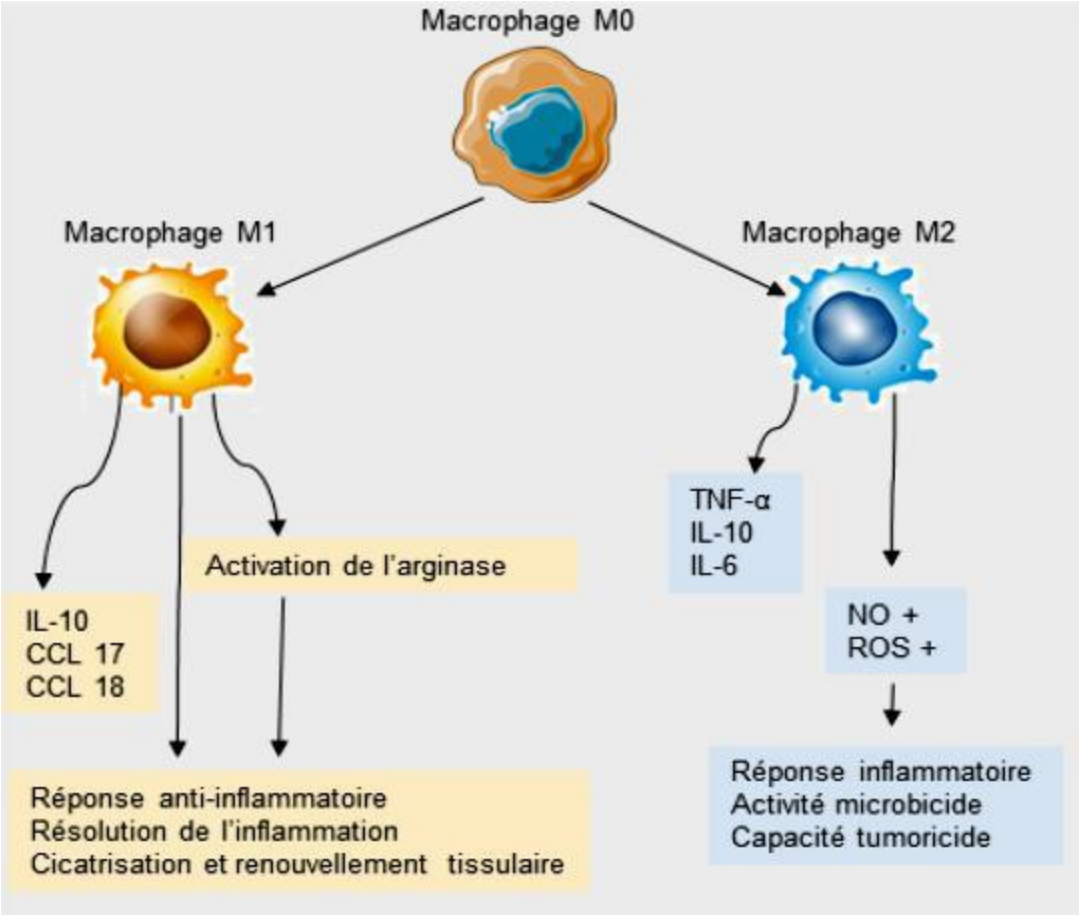


Figure 1.14. Polarisation du macrophage en deux sous populations (Meziane, 2019).

1.1.3.4.4.1 Activité de l'arginase au niveau des Mφs

Précédemment, a été adopté le terme «argénomique» suggéré par Sidney M. Morris Jr. afin de souligner l'importance de l'arginine dans la régulation cellulaire et l'expression des gènes selon sadisponibilité (Morris, 2006).L'arginine est un acide aminé cationique essentiel, dont le métabolisme intracellulaire est assuré par des transporteurs cellulaires transmembranaires spécialisés de son absorption, via les protéines CAT et plus spécialement la protéine CAT-2, induite suite aux stimuli cytokiniques au niveau des macrophages (Rath et al., 2014). Cet acide aminé est un précurseur, principalement, de deux voies métaboliques dans les

macrophages : il est métabolisé par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) en NO et en citrulline ou par l'hydrolyse de l'arginase en ornithine et en urée (Mosser and Edwards, 2008). Il existe deux isozymes de l'arginase (arginase I et arginase II), la première est cytosolique tandis que la seconde est mitochondriale (Rath et al., 2014). Ainsi, Lors de leur activation, les macrophages M2 amorcent une forte expression et une activité élevée de l'enzyme arginase-1 (Arg-1) (Choi et al., 2016). Cette enzyme participe à la prolifération et à la réparation tissulaire, par le biais des polyamines et de la proline issues du précurseur ornithine (Morris, 2006). L'arginase est une enzyme antagoniste de la NO synthase, mais qui peut aussi être synergique lors de la génération du stress oxydatif et azoté puisqu'un apport insuffisant en arginine entraine une synthèse de l'anion superoxyde ($O2^-$) au lieu du NO (Rath et al., 2014) et une diminution de l'expression de l'iNOS (Morris, 2006). Cependant, cette faculté de l'arginase-1 à inhiber la production de NO en limitant la disponibilité en arginine dans le macrophage est largement déployée en pharmacologie, afin d'inhiber le processus pro-inflammatoires (Hey et al., 1997). Par conséquent, une forte expression de l'arg-1 dans les macrophages M2 et ceux associés aux tumeurs (TAMs), suite à l'induction par l'acide lactique secrété par cellules tumorales, favorise lacroissance des tumeurs (Colegio et al., 2014). Enfin, la signalisation intracellulaire de l'arginase implique la phosphatase SHIP qui régule la voie PI3K et atténue l'expression de l'arginase I, inhibant ainsi la polarisation M2 dans certains macrophages tissulaires (Rath et al., 2014).

1.1.3.4.5 Les mastocytes

Les mastocytes, qui résident dans les matrices du tissu conjonctif et sur les surfaces épithéliales, sont des cellules effectrices qui déclenchent les réponses inflammatoires (Huang et al., 1998). Les mastocytes activés libèrent une variété de médiateurs inflammatoires, y compris des cytokines, des chimiokines, de l'histamine, des protéases, des prostaglandines, des leucotriènes (Huang et al., 1998).

1.1.3.4.6 Les plaquettes

Les interactions entre les plaquettes et les cellules inflammatoires peuvent être à l'origine de résultats pro-inflammatoires (Aggrey et al., 2013). Certaines études ont indiqué que les plaquettes induisent la réponse de phase aiguë (Aggrey et al., 2013). Après avoir été recrutées par des stimuli inflammatoires, les cellules immunitaires amplifient et maintiennent la RPA en libérant des médiateurs inflammatoires locaux sur le site de recrutement (Aggrey et al., 2013).

1.1.4 L'inflammation du tractus intestinal

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) se caractérisent par une réponse inflammatoire excessive à la flore microbienne de la lumière intestinale (McGuckin et al.,

2009). (Chen et al, 2018). Les MICI comprennent principalement la colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (CD) (Nardone et al., 2023). Les deux types de MICI ont un risque accru de développer un cancer colorectal qui est actuellement le deuxième type de cancer le plus mortel au monde (Danese and Mantovani, 2010; Lasry et al., 2016; Nardone et al., 2023; R. D. P. D. Nascimento et al., 2020) .

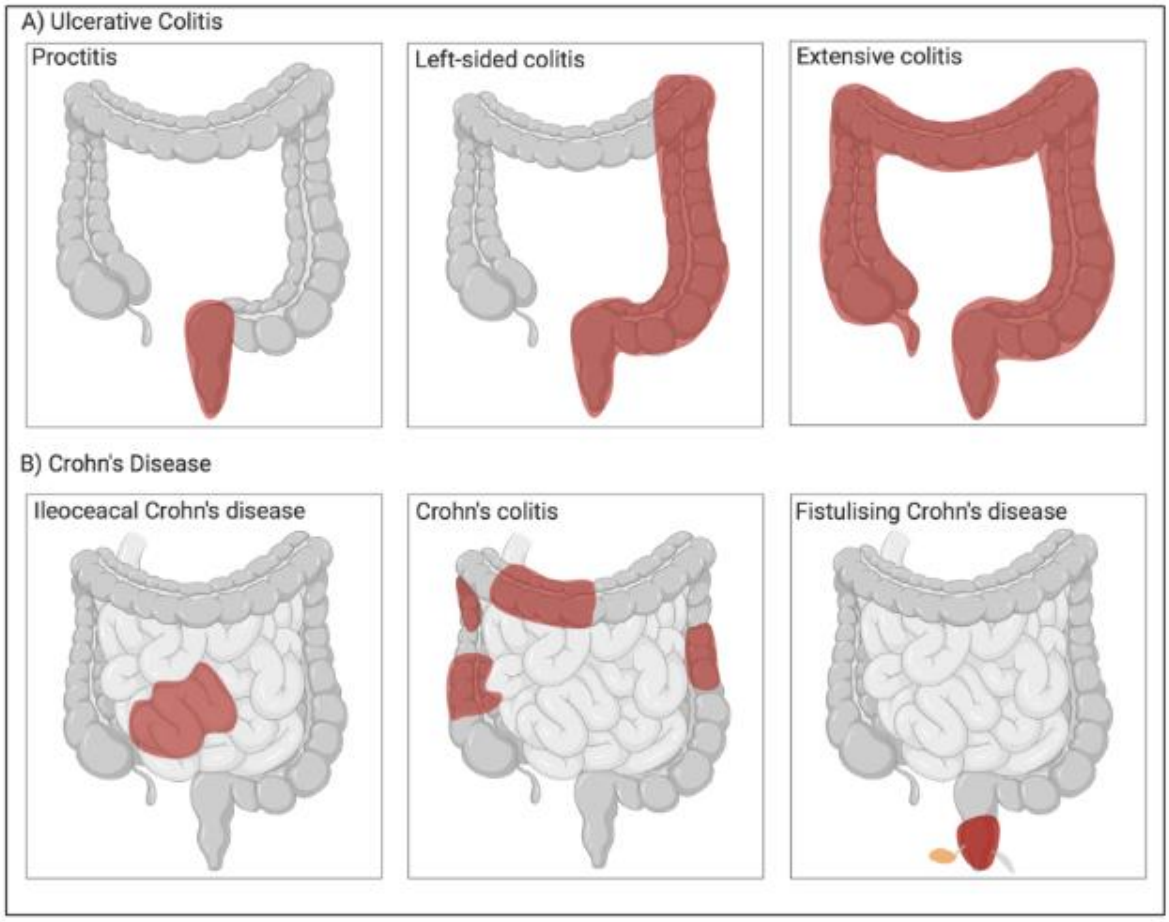


Figure 1.15. Différents types de maladies inflammatoires de l'intestin. (A) Colite ulcéreuse : proctite, colite gauche et colite étendue ; (B) Maladie de Crohn : Maladie de Crohn iléo-cæcale, colite de Crohn et maladie de Crohn fistulisante. Le rouge indique la zone d'inflammation (Yeshi et al., 2020).

1.1.4.1 La colite ulcéreuse (CU)

La colite ulcéreuse (CU) est une maladie qui affecte principalement le rectum et le côlon (R. D. P. D. Nascimento et al., 2020). Les symptômes comprennent généralement la diarrhée, les douleurs abdominales, la fatigue, la perte d'appétit et de poids, et l'anémie (Yeshi et al., 2020). L'inflammation dans la CU n'est pas spécifique et peut se produire dans le rectum (proctite), le demi-colon gauche (colite gauche) ou le côlon entier (colite extensive ou pancolite) (Yeshi et al., 2020).

L'inflammation de la muqueuse du côlon joue un rôle essentiel dans la pathogenèse de la CU, qui conduit à la formation d'ulcères (Porter et al., 2020; Teigen et al., 2019). Le statut immunitaire a un effet crucial sur l'augmentation de la perméabilité intestinale et l'altération de la fonction de barrière intestinale, qui pourrait être une conséquence de la dysbiose et de la perturbation microbiennes ou facteurs environnementaux (Kałużna et al., 2022; R. D. P. D. Nascimento et al., 2020).

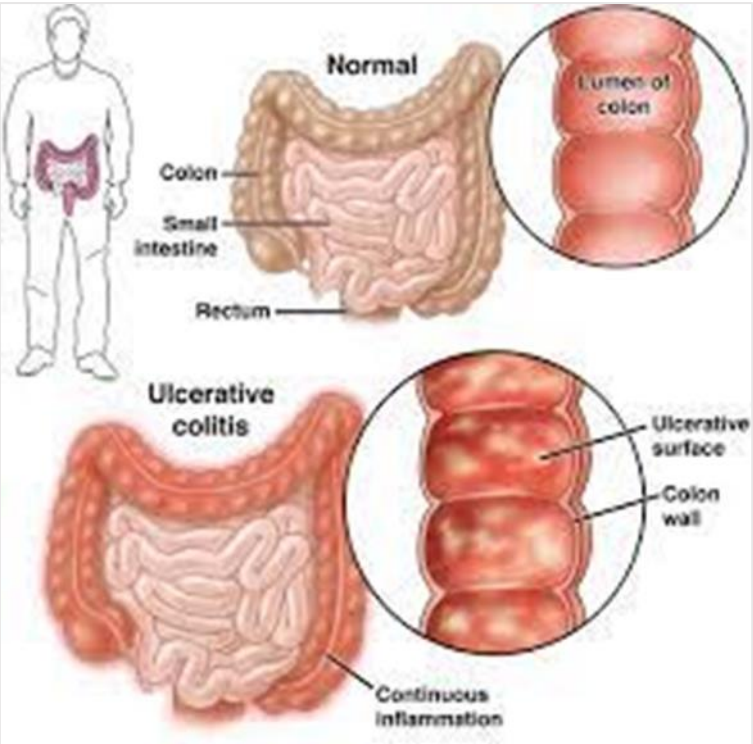


Figure 1.16. L'étendue de la maladie de la colite ulcéreuse.

1.1.4.1.1 La physiopathologie de la CU

La couche mucineuse joue un rôle important dans la protection luminale du tractus gastro-intestinal. L'absence de mucine entraîne une fuite de la barrière (Johansson et al., 2013). Lorsque la barrière épithéliale est endommagée, la perméabilité est augmentée, ce qui permet d'une régulation défectueuse de la jonction serrée (Ordás et al., 2012). L'altération de la barrière muqueuse permet aux corps étrangers de pénétrer dans la lamina propria (Abraham et al., 2017).

Le mécanisme de défense est initié par les cellules de l'immunité innée, les macrophages et les cellules dendritiques sont activées par les antigènes via les TLR (Abraham et al., 2017; Tatiya-aphiradee et al., 2018).

L'activation du NF-κB par ces deux cellules stimule la transcription de gènes pro-inflammatoires et entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires tels que TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12 et IL-23 (Danese and Mantovani, 2010 ; Lasry et al. 2016 ; Nardone et al.

2023 ; Nascimento et al. 2020). Le déséquilibre et l'excès de cytokines produites par les macrophages, les cellules dendritiques, les ILC et les IEC contribuent de manière significative à la perte de la fonction des jonctions serrées et à l'apoptose des CEI (Okamoto and Watanabe, 2016).

Par la suite, les macrophages et les CD les présentent aux cellules T CD4 naïves (cellules Th0) pour promouvoir la différenciation en cellules Th2 via l'activation de l'IL-4 (Danese and Fiocchi, 2011).

Les cellules Th2 et NKT produisent de l'IL-13, qui est une cytokine capable d'endommager la barrière épithéliale, de réduire la vitesse de réparation de la muqueuse, de favoriser les modifications des jonctions serrées et d'induire l'apoptose des CEI (Danese and Fiocchi, 2011).

Lorsque les cellules épithéliales sont blessées, elles libèrent de l'IL-33 pour recruter une réponse immunitaire en favorisant la réponse immunitaire Th2 (Azizi et al., 2016).

D'autres types de cellules (Th17 et Th9) semblent exercer une influence sur l'évolution de la maladie, ainsi que des cytokines liées à leurs voies d'action (R. de P. do Nascimento et al., 2020).

Les cytokines également produite par les Th17, seraient responsables du recrutement des neutrophiles et d'une régulation accrue des cytokines pro-inflammatoires, comme le TNF, l'IL-1β, l'IL-6 et l'IL-8, ce qui entraînerait une déformation de l'épithélium intestinal (Rovedatti et al., 2009).

Les cellules Th9 productrices d'IL-9 se développent après les cellules rencontrent des complexes spécifiques du CMH de classe II et des antigènes en présence de TGF-β et d'IL-4 (Hufford and Kaplan, 2014). L'IL-9 interagit avec les cellules épithéliales en inhibant la prolifération cellulaire, altère les mécanismes de réparation des tissus (Hufford and Kaplan, 2014).

L'IL-37 est produite par les cellules épithéliales intestinales pour exercer des effets anti-inflammatoires par la suppression de l'immunité innée l'immunité innée en réduisant la production de TNF-α et d'IL-1β dans la lamina propria (Hart et al., 2005; Hufford and Kaplan, 2014).

Dans la circulation systémique, les cellules T circulantes porteuses de cellules α4β7 se lient aux cellules endothéliales du côlon par la molécule d'adhésion cellulaire d'adressage vasculaire muqueux 1 (MAdCAM-1) (Tatiya-aphiradee et al., 2018). Cette molécule induit

une inflammation intestinale et augmente l'entrée des cellules T spécifiques de l'intestin dans la lamina propria (Tatiya-aphiradee et al., 2018).

La régulation à la hausse des chimiokines inflammatoires, notamment CXCL1, CXCL3, CXCL8 et CXCL10, entraîne le recrutement de leucocytes circulants, qui perpétuent le cycle de l'inflammation (Tatiya-aphiradee et al., 2018).

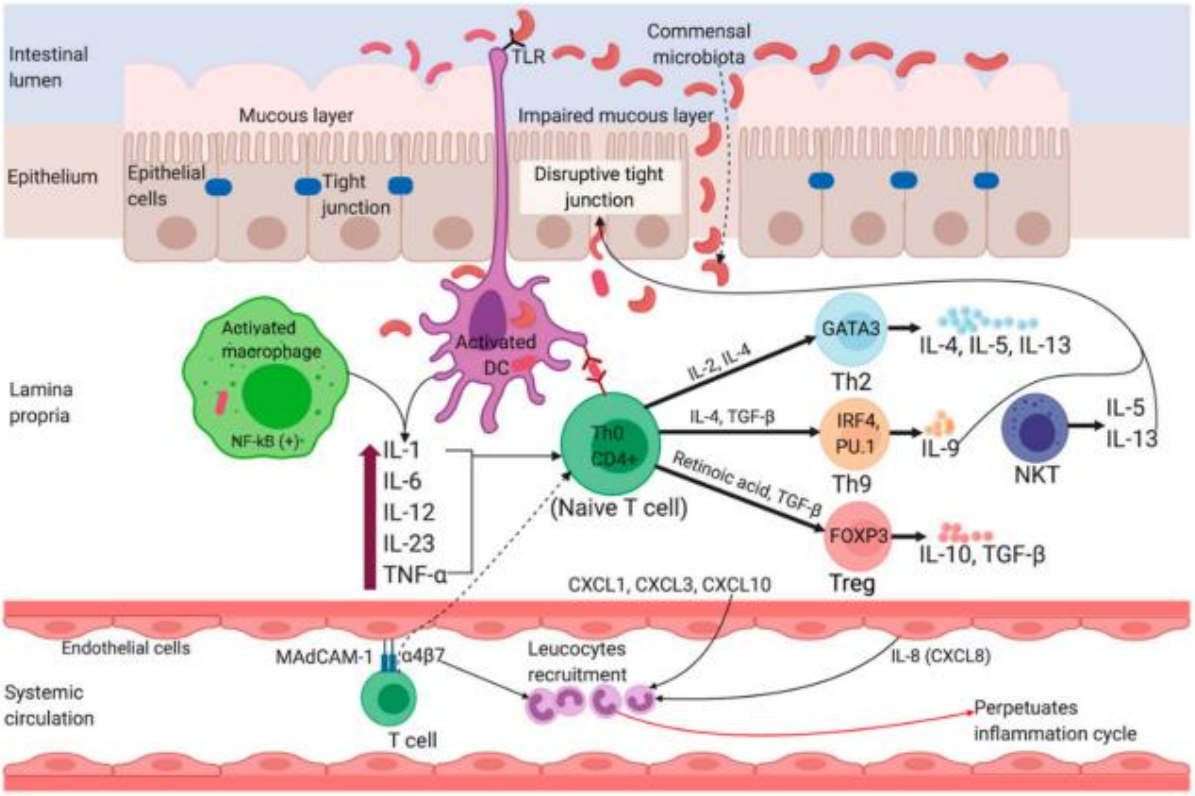


Figure 1.17. Physiopathologie de la colite ulcéreuse (Yeshi et al., 2020).

En résumé, l'exacerbation de la réponse immunitaire (macrophages, neutrophiles, Th2, Th9, Th17, cytokines pro-inflammatoires), associée à des défauts de la fonction de barrière du mucus et de l'épithélium et à des altérations du microbiote, peut conduire à l'émergence de la CU (Ungaro et al., 2017).

1.2 La résolution de l'inflammation

1.2.1 Thérapeutique anti-inflammatoire et résolution de l'inflammation

1.2.1.1 Les anti-inflammatoire

Les anti-inflammatoires permettent de lutter contre l'inflammation quelle que soit la cause de cette inflammation. Ce sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation mais seulement sa conséquence. Ils ont une action également sur la douleur (Vane and Botting, 1998). Il existe deux catégories des anti-inflammatoire :

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).
- Les anti-inflammatoires stéroïdiens : les corticoïdes.

1.2.1.1.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les AIS appelés aussi glucocorticoïdes ou corticostéroïdes sont synthétisés à partir du cortisol, qui est naturellement produit au niveau des glandes surrénales (Chikhi et al., 2020).

Les stéroïdes anti-inflammatoires (AIS) ou glucocorticoïdes sont une grande classe de médicaments dérivés du cortisol. Ils constituent le traitement le plus efficace pour les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes (Chikhi et al., 2020).

L'utilisation de glucocorticoïdes a été associée à de nombreux effets indésirables. Le risque de cette dernière occurrence augmente avec la durée du traitement et la dose.

1.2.1.1.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont les médicaments les plus couramment utilisés dans le monde pour le traitement de la douleur, de l'inflammation et de la fièvre, pour leurs fonctions anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques (Bacchi et al., 2012; Mitchell and Warner, 2006).

Ils produisent leurs activités thérapeutiques en inhibant la cyclooxygénase (COX), l'enzyme qui fabrique les prostaglandines (PG) (Bacchi et al., 2012; Mitchell and Warner, 2006; Vane and Botting, 1998).

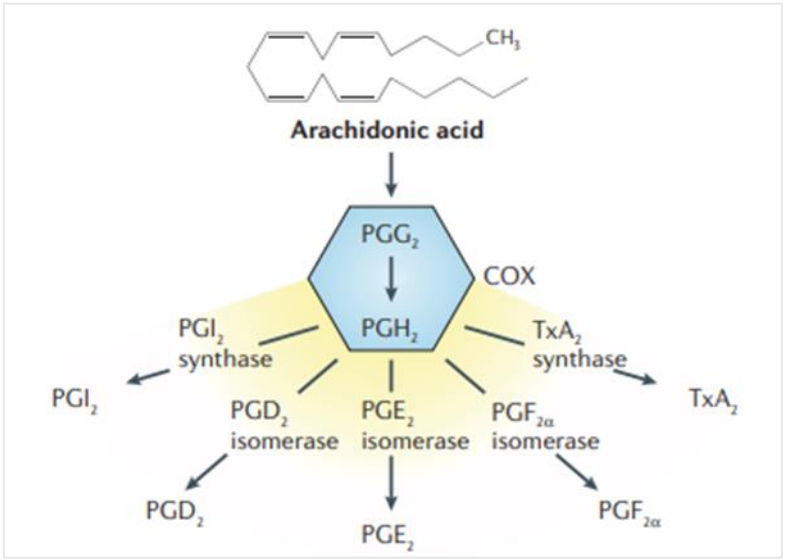


Figure 1.18. Les voies de formation des prostanoïdes (Mitchell and Warner, 2006).

Il existe deux isoenzymes COX, la COX-1 largement associée aux fonctions physiologiques, elle est constitutive et produit des PG qui protègent l'estomac et les reins des lésions

(Marnett and DuBois, 2002; Mitchell and Warner, 2006; “Non-steroidal_anti-inflammatory_drugs_an_overview.pdf,” n.d.; Vane and Botting, 1998). La COX-2 inductible largement associée aux fonctions pathologiques induite par des stimuli inflammatoires, tels que les cytokines, et produit des PG qui contribuent à la douleur et au gonflement de l'inflammation (Mitchell and Warner, 2006; Vane and Botting, 1998).

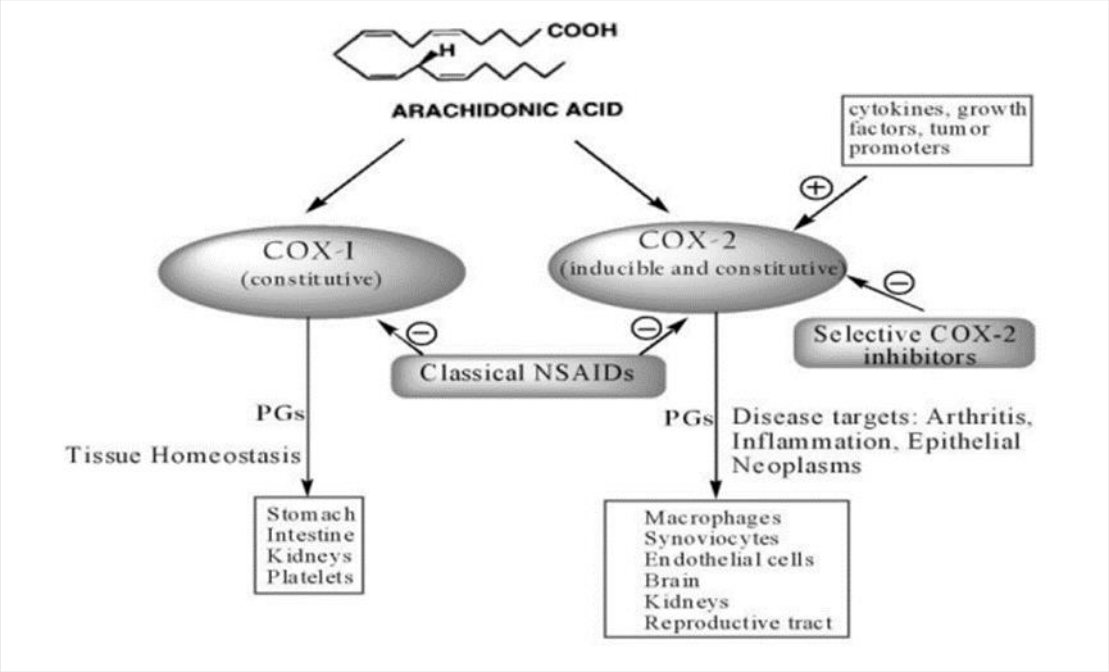


Figure 1.19. Mécanisme général des AINS.

L'enzyme COX-1 produit les prostaglandines responsables de la cytoprotection gastro-intestinale et de la fonction plaquettaire, tandis que l'enzyme COX-2 produit les prostaglandines responsables de la perception de la douleur et de l'inflammation (Simmons et al., 2004).

Les inhibiteurs de la COX-2 ont des effets anti-inflammatoires comparables à ceux des tNSAID qui inhibent les deux isoformes de la COX, tout en réduisant le risque de toxicité gastro-intestinale grave (FitzGerald and Patrono, 2001). L'inhibition sélective de la COX-2 entraînerait une réduction des effets indésirables des AINS (Davies et al., 2000). Les taux de complications gastro-intestinales supérieures observés dans les essais cliniques sont significativement plus faibles pour le célécoxib que pour les AINS non sélectifs traditionnels (naproxène, ibuprofène et diclofénac, par exemple) (Davies et al., 2000).

1.2.1.2 Classification des AINS

Les AINS peuvent être classés en fonction de leurs propriétés chimiques et pharmacologiques et de leur sélectivité COX. Ils sont classés comme suit (Antman et al., 2007) :

- Inhibiteurs non sélectifs de la COX :
  - Salisylates : Aspirine, salisylate de sodium
  - Dérivés de l'acide propionique : Ibuprofène, naproxène, kétoprofène, flubiprofène
  - Dérivés de l'acide anthranilique : Acide méphanamique, acide méclofénamique
  - Dérivés aryl-acétiques : Diclofénac, acéclofénac
  - Oxicams : Piroxicam, tenoxicam
  - Dérivés pyrolo-pyrol : Kétorolac
  - Dérivés de l'indole : Indométhacine
  - Dérivés de la pyrozolone : Phénylbutazone, oxyphenbutazone
- Inhibiteurs préférentiels de la COX-2 : Nimésulide, méloxicam, nabumétone
- Inhibiteurs sélectifs de la COX-2 : Celecoxib, rofecoxib, étoricoxib, parecoxib
- Analgésiques-antipyrétiques :
  - Paraminophénol : Paracétamol
  - Dérivé de la pyrozolone : Métamizol, propiphénazone

1.2.1.3 Le rôle des AINS sélectifs de la COX-2 dans le cancer colorectal

Il existe des preuves que l'utilisation d'AINS peut réduire les risques de tumeurs malignes gastro-intestinales, y compris les cancers gastriques, pancréatiques et colorectaux (Ricchi et al., 2003). Plusieurs sources de données suggèrent que les inhibiteurs du COX-2 non seulement contrecarrent le développement d'une tumeur maligne à un stade précoce et font régresser les tumeurs précancéreuses, mais stimulent la mort des cellules cancéreuses établies (Ricchi et al., 2003; Srivastava et al., 2021). Par conséquent, la COX-2 devient donc une cible intéressante pour les stratégies thérapeutiques dans le cancer colorectal (Ricchi et al., 2003).

1.2.1.4 Le Celecoxib

Le célécoxib (4-[5-(4-méthylphényl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl]) benzènesulfonamide est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), est le premier inhibiteur spécifique de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) à avoir été développé en tant qu'un AINS moins toxique pour le tractus gastro-intestinal approuvé pour le traitement des patients souffrant de rhumatismes et d'arthrose et de la douleur aiguë (Davies et al., 2000; Gong et al., 2012a; Kim et al., 2017; Subhahar et al., 2019).

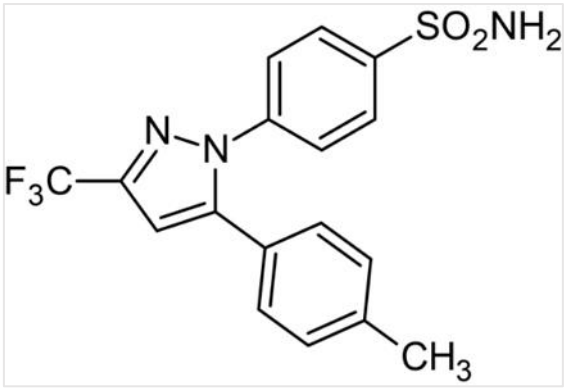


Figure 1.20. La structure chimique du célécoxib (Kim et al., 2017).

Des données préliminaires suggèrent que le célécoxib possède également des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et anticancéreuses (Davies et al., 2000; Gong et al., 2012b; Subhahar et al., 2019).

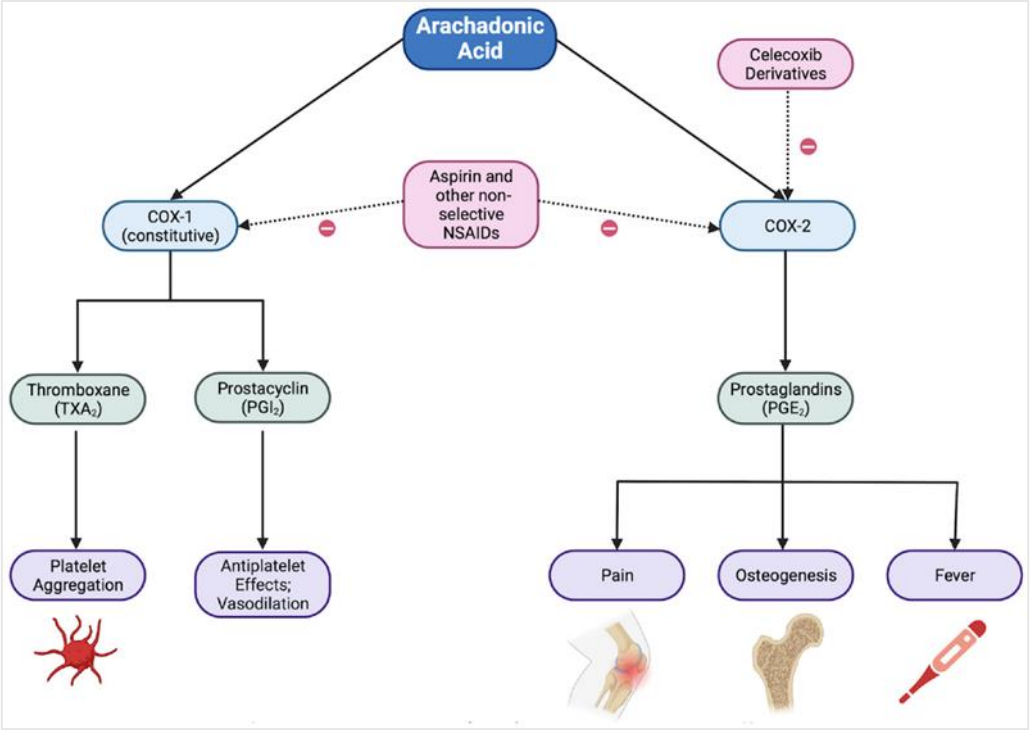


Figure 1.21. Le mécanisme de célécoxib. Le célécoxib et ses dérivés bloquent sélectivement la voie de la COX-2. Inhibant la douleur, l'inflammation et la fièvre sans avoir d'impact sur l'agrégation plaquettaire (Vinton et al., 2023).

Le célécoxib s'est également révélé prometteur dans la prévention du cancer et a été utilisé en complément de la chirurgie pour réduire le nombre de polypes colorectaux adénomateux chez les patients atteints du syndrome héréditaire de prédisposition au cancer du côlon (Gong et al., 2012a).

1.2.1.4.1 La pharmacocinétique du Celecoxib

Après administration orale, le célécoxib est rapidement absorbé et atteint sa concentration sérique maximale en 3 heures environ. Il est largement métabolisé dans le foie et une très faible quantité (< 3 %) est éliminée sous forme inchangée (Paulson et al., 2000). Les principales voies d'excrétion du célécoxib sont les fèces et l'urine (Thiel et al., 2018).

Le célécoxib est principalement métabolisé par hydroxylation du méthyle pour former l'hydroxycélécoxib. Cette réaction est principalement catalysée par le CYP2C9, bien que le CYP3A4 joue également un rôle mineur (< 25 %) (Gong et al., 2012a; Siu et al., 2018). L'hydroxycélécoxib est ensuite oxydé en carboxycélécoxib par les alcools déshydrogénases cytosoliques ADH1 et ADH2 , puis conjugué à l'acide glucuronique par les UDP glucuronosyltransférases pour former le 1-Oglucuronide (Gong et al., 2012a; Siu et al., 2018).

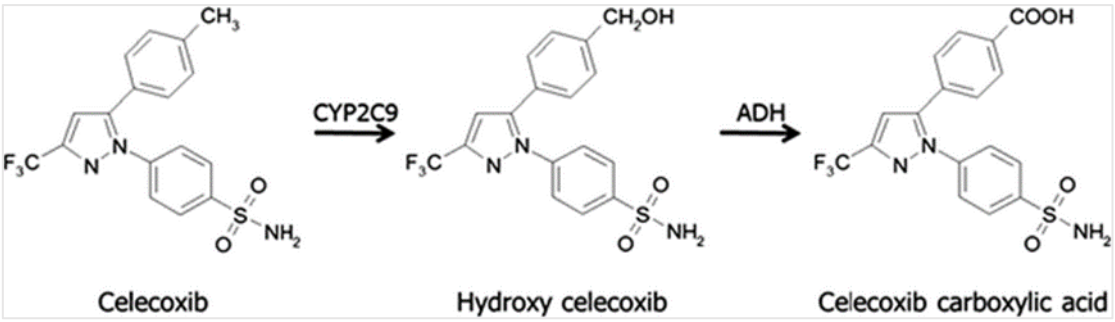


Figure 1.22. La voie métabolique du célécoxib chez l'humain (Kim et al., 2017).

Les médicaments qui inhibent le CYP2C9 doivent donc être utilisés avec prudence chez les patients prenant du célécoxib. Bien qu'il ne soit pas un substrat du CYP2D6, le célécoxib inhibe cette enzyme métabolique (Siu et al., 2018).

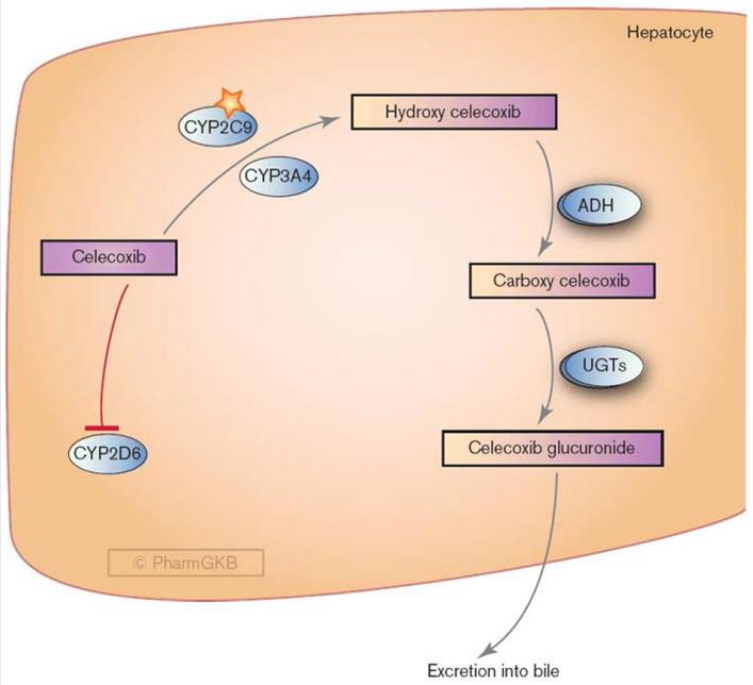


Figure 1.23. Le métabolisme hépatique du célécoxib (Gong et al., 2012a).

1.3 Les nanoparticules pour l'administration de médicaments

1.3.1 La nanotechnologie

La nanomédecine et les nanosystèmes d'administration sont une science utilisés pour délivrer des agents thérapeutiques à des sites ciblés de manière contrôlée (Lombardo et al., 2019; Patra et al., 2018). Les matériaux nanostructurés intelligents peuvent délivrer des médicaments aux sites cibles avec une fréquence de dosage réduite et d'une manière contrôlée (spatiale/temporelle) afin d'atténuer les effets secondaires liés à l'utilisation de médicaments (Yu et al., 2016). Les nanotechnologies offrent de multiples avantages dans le traitement des maladies humaines chroniques en l'administration de médicaments précis en fonction du site et de la cible (Patra et al., 2018). En particulier, ils permettent de résoudre les principaux problèmes critiques rencontrés avec les traitements pharmaceutiques conventionnels, tels que la distribution non spécifique, la clairance rapide, la libération incontrôlable de médicaments et la faible biodisponibilité (Yin et al., 2016). L'effet global est une réduction sensible de la toxicité et/ou des effets indésirables (Lombardo et al., 2019).

1.3.2 Les nanomédicaments

Les nanomatériaux peuvent être définis comme des matériaux dont la taille est comprise entre 1 et 100 nm, il s'agit généralement de nanosphères de petite taille. Elles peuvent donc se déplacer plus librement dans le corps humain par rapport à des matériaux plus gros du taille varie entre 1 et 10 µm (Patra et al., 2018; Rudramurthy et al., 2016).

Les nanomédicaments sont devenus bien appréciées ces derniers temps, car les nanostructures peuvent être utilisées comme agents d'administration en encapsulant des médicaments ou en fixant des médicaments thérapeutiques et les délivrer aux tissus cibles avec plus de précision et une libération contrôlée (Jahangirian et al., 2017). L'encapsulation a également amélioré les caractéristiques pharmacocinétiques des médicaments, ce qui se traduit par de meilleurs effets thérapeutiques (Abdelwahab et al., 2013).

Les nanostructures restent dans le système circulatoire sanguin pendant une période prolongée et permettent la libération des médicaments associés selon la dose spécifiée. Ainsi, elles provoquent moins de fluctuations plasmatiques et moins d'effets indésirables (Villiers et al., 2008). Ces structures pénètrent dans le système tissulaire, facilitent l'absorption du médicament par les cellules, permettent une administration efficace du médicament et garantissent une action à l'endroit ciblé (Lam et al., 2017).

1.3.3 Les nanoparticules

Les systèmes nanostructurés intelligents modernes peuvent être divisés en deux grandes catégories nanocarriers organiques et inorganiques (Lombardo et al., 2019). Tandis que leurs propriétés physiochimiques peuvent être accordées en modifiant leur composition (organique, inorganique ou hybride). Leurs propriétés physiochimiques peuvent être ajustées en modifiant leur composition (organique, inorganique ou hybride), leurs dimensions (petites ou grandes), leurs formes (sphères, bâtonnets, structures hyperbranchées, multilamellaires ou multicouches), et les propriétés de surface (groupes fonctionnels, charge de surface, PEGylation, processus d'enrobage ou fixation de motifs de ciblage) (Caster et al., 2017; Tran et al., 2017). Bien qu'un certain nombre de plates-formes à base de nanoparticules ont été approuvées pour le traitement de diverses maladies (y compris les tumeurs) (Tran et al., 2017).

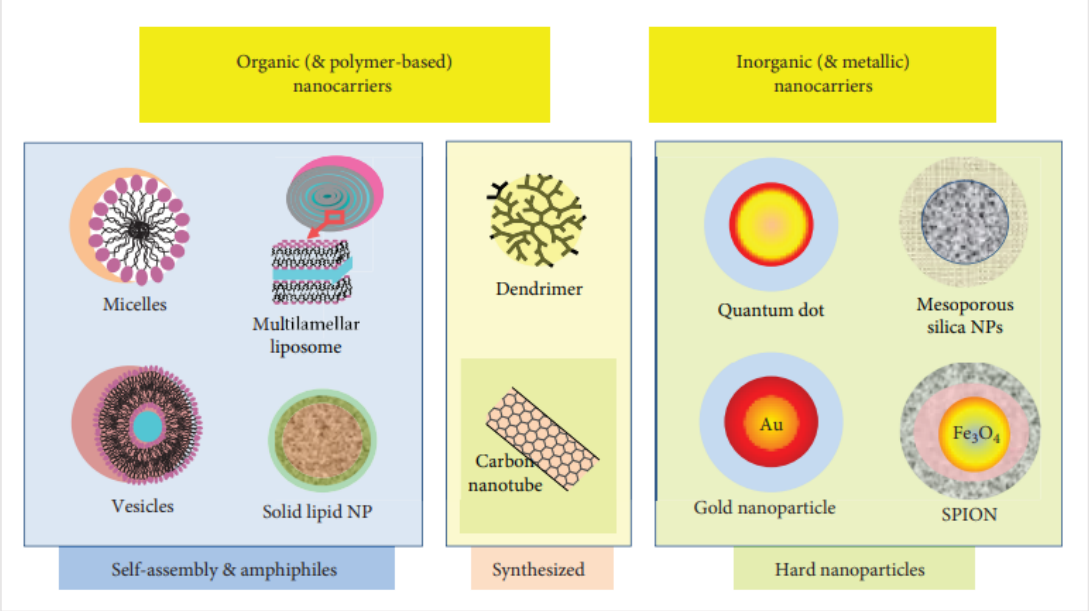


Figure 1.24. Exemple des nanoparticules organiques et inorganiques les plus utilisés pour une application intelligente dans l'administration de médicaments (Lombardo et al., 2019).

1.3.3.1 Les nanoparticules organiques

Les NP organiques sont largement explorées depuis des décennies et contiennent de nombreux types de matériaux (Yao et al., 2020). Le liposome, premier médicament à l'échelle nanométrique approuvé pour une application clinique, se compose d'une couche lipidique externe et d'un noyau qui emprisonne un médicament hydrophobe ou hydrophile (Yao et al., 2020; Yu et al., 2016). Les liposomes peuvent réaliser de nombreuses fonctions en modifiant la structure de la couche lipidique, notamment en imitant les caractéristiques biophysiques (par exemple, la mobilité et la déformation) des cellules vivantes, ce qui peut aider à atteindre l'objectif d'un de médicaments thérapeutiques plus efficaces (Lemière et al., 2015). Aujourd'hui, de plus en plus de variétés de médicaments à base de liposomes sont entrés dans l'usage clinique pour le traitement du cancer (Misra et al., 2010).

Les NP à base de polymères sont un autre type de NP avec des arrangements structurels spécifiques pour l'administration de médicaments, formées par différents monomères (Amreddy et al., 2018).

En outre, les dendrimères constituent une autre classe de polymères qui ont été appliqués à la nanomédecine. Il s'agit de macromolécules polyvalentes et biocompatibles qui se caractérisent par une structure tridimensionnelle. Leurs multiples groupes fonctionnels à la surface améliorent la capacité de chargement et d'administration d'agents thérapeutiques (Sherje et al., 2018).

En outre, les micelles polymériques, qui sont caractérisées par l'auto-assemblage de polymères en nano-agrégats car elles sont composés de copolymères amphiphiles,

constituent un autre type de de NPs polymères largement étudiées (Zhou et al., 2018). Le noyau hydrophobe permet aux médicaments insolubles d'être absorbés et délivrés en douceur, tandis que le segment hydrophile augmente la stabilité, réduisant ainsi l'absorption du par le système réticulo-endothélial et prolongeant leur durée de vie dans la circulation (Cagel et al., 2017).

1.3.4 La nanoencapsulation de médicaments

La sélection d'une technique spécifique pour une encapsulation efficace des médicaments est généralement déterminée par l'hydrophilie ou l'hydrophobie des molécules de médicament (Jelvehgari and Montazam, 2012). Bien que diverses techniques aient été décrites dans la littérature et employées avec succès par les chercheurs pour encapsuler des agents hydrophobes dans des nanoparticules biodégradables, l'encapsulation de médicaments hydrophiles dans de tels supports n'est pas facile (Palamoor and Jablonski, 2014, 2013). Cependant, une méthode plus innovante pour encapsuler des médicaments hydrophiles via la technique d'évaporation du solvant comprend les doubles émulsions (émulsions multiples) (Jelvehgari and Montazam, 2012). La formulation doit être adaptée à la nature chimique du polymère utilisé et à la stabilité chimique de la molécule active dans le solvant utilisé et les conditions d'encapsulation (Iqbal et al., 2015).

1.3.5 L’encapsulation de molécules pharmaceutiques communes par un procédé d'évaporation de solvant en double émulsion

Certains médicaments pharmaceutiques courants encapsulés dans des particules par le processus d'émulsion double, tels que les médicaments anticancéreux, les anti-inflammatoires et les antibiotiques (Iqbal et al., 2015).

1.3.5.1 La double émulsion

La double émulsion, également appelée émulsion d'émulsion, sont des systèmes complexes dans lesquels les gouttelettes de la phase dispersée sont elles-mêmes constituées d'une petite partie de la phase dispersée (Garti and Bisperink, 1998). Émulsion double (DE) gouttelettes sont généralement de taille polydispersée. Dans certains cas, les gouttelettes sont suffisamment grosses pour contenir de nombreux petits compartiments, de 50 à 100 gouttelettes dans chaque goutte de l'émulsion double, tandis que d'autre part, les petites gouttelettes de DE peuvent être constituées d'une ou de quelques gouttelettes (Garti and Bisperink, 1998; Iqbal et al., 2015).

Il existe deux types courants d'émulsion double : eau-huile-eau (w/o/w) et huile-eau-huile (o/w/o). Les procédés en deux étapes sont le plus souvent utilisés pour la préparation d'émulsions doubles, dans lesquelles, pour la préparation d'émulsions doubles w/o/w, la phase aqueuse interne (W1) est dispersée dans une phase huileuse contenant un

émulsifiant lipophile au cours de la première étape, qui est suivie par la dispersion de l'émulsion primaire dans une phase aqueuse extérieure (W2) contenant un émulsifiant hydrophile (Garti and Bisperink, 1998; Schuch et al., 2013).

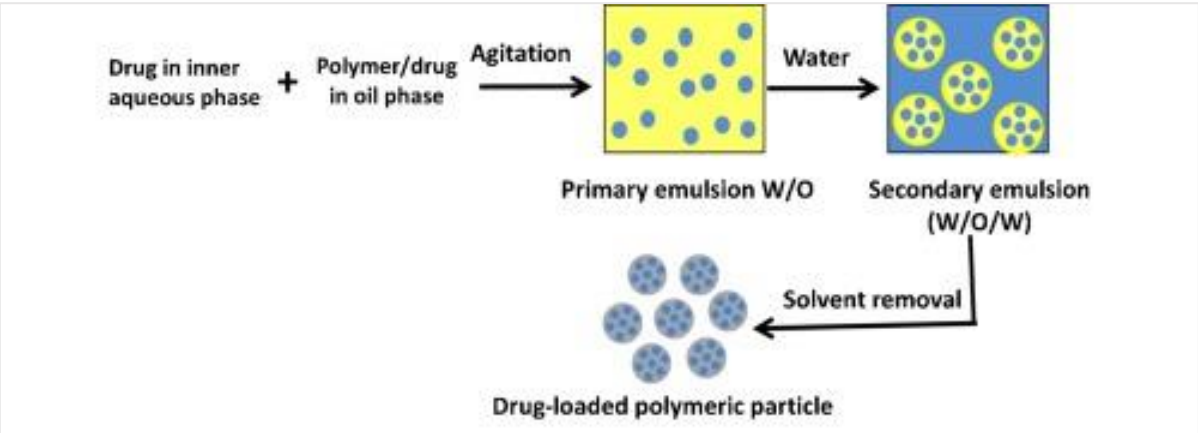


Figure 1.25. L'encapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles par des techniques. d'émulsion double (Iqbal et al., 2015).

L'émulsion double permet de préparer des particules polymères, qui permettent la libération contrôlée d'ingrédients actifs solubles dans la phase aqueuse interne ou dispersés dans la matrice polymère. Sa fonction principale est considérée comme un réservoir interne qui permet d'emprisonner les ingrédients actifs de votre choix dans l'espace intérieur fermé, qui peut protéger l'ingrédient sensible piégé contre la lumière, la dégradation enzymatique et l'oxydation (Benichou et al., 2004; Iqbal et al., 2015).

La technique de double émulsion la plus souvent utilisée pour la préparation de miro- et nanoparticules, et l'encapsulation de molécules actives, est la technique d'évaporation du solvant en double émulsion (Iqbal et al., 2015).

1.3.6 Polymères couramment utilisés dans les préparations des doubles émulsions

Les polymères biodégradables ont été énormément utilisés dans les systèmes d'administration de médicaments pour l'encapsulation de produits pharmaceutiques, car ils peuvent être dégradés en composants non toxiques (Iqbal et al., 2015). Les polymères naturels présentent des avantages en raison de leur abondance, de leur biocompatibilité et de leur biodégradabilité (Nazarzadeh Zare et al., 2019).

1.3.6.1 La gomme adragante polymère

La gomme adragante (GA), un polysaccharide anionique, est un polymère biosourcé, dérivé de sources renouvelables, qui peuvent être produits naturellement par des sources botaniques (arbres et arbustes), algales (algues rouges et brunes) (Nazarzadeh Zare et al., 2019; Nejatian et al., 2020).Elles se dispersent généralement facilement dans l'eau, en fonction de la disponibilité de l'eau et de leur structure chimique(Valencia et al., 2019). Ils

sont utilisés depuis des siècles de différentes manières (par exemple, dans les aliments, les produits pharmaceutiques, les cosmétiques, les textiles, les produits agrochimiques) comme épaississant, gélifiant (Saha and Bhattacharya, 2010).

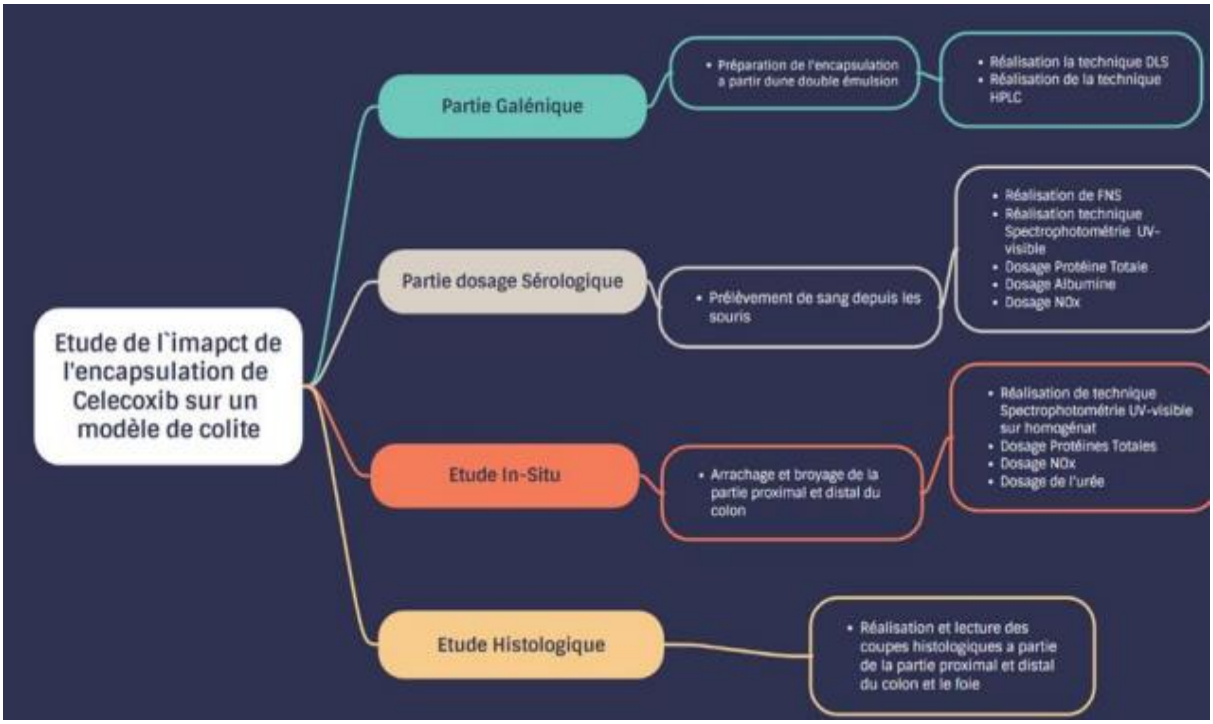
En raison de sa nature non toxique et sa biocompatibilité, le TG est un excellent candidat pour l'encapsulation dans l'industrie alimentaire, les cosmétiques et la fabrication de médicaments (Sheorain et al., 2019). Les groupes -COO- et -OH de la structure TG sont responsables de l'encapsulation des matières alimentaires et des médicaments par la stérique et la répulsion électrostatique (Padil et al., 2018).

Les biopolymères synthétiques pour l'administration de médicaments dans le côlon, parce qu'ils sont en effet facilement disponibles et plus sensibles à la biodégradation microbienne (Agüero et al., 2017). Étant donné que la solubilité élevée des polysaccharides dans les milieux aqueux entraîne une libération prématurée des solutés, ces glucides sont réticulés chimiquement/physiquement pour diminuer leur solubilité et empêcher la libération prématurée des médicaments (Pacelli et al., 2018).

2 Chapitre 2. Matériels et méthodes

Présentation du travail

Notre étude est divisée en trois groupes de travail complémentaires, chacun avec ses propres techniques et résultats, et mon travail comprend les parties de recherche in-situ.



2.1 Partie Galénique

2.1.1 Préparation de formulation d'encapsulation (Emulsion)

Pour avoir une formulation en double émulsions bien stable on a préparé douze formules à des paramètres différents (Phase Huileuse = Cire abeille, Phase Aqueuse = Solution Eau + GT, Temps d'homogénéisation) afin de choisir la meilleure formule à partir des résultats de diffusion dynamique de la lumière (DLS).

Donc pour le total des douze formulations on va distinguer le changement de deux paramètres principaux et on les distingue par :

F1, F2, F3, F4 Indiquant le changement de la masse de cire d'abeille (Phase Huileuse) et le volume de la phase Aqueuse.

T1, T2, T3 Indiquant le changement de temps d'homogénéisation.

2.1.1.1 Emulsion Primaire

Phase Huileuse : On pèse pour (0.4, 0.6, 0.8, 1) g de cire d'abeille dans les différentes étapes « F » afin de fonder la cire à 70°C.



Figure 2.1. La cire d'abeille.

Phase Aqueuse : On commence par préparation d'une solution à partir de la GT en poudre et l'eau distille pour une concentration de 0.05g dans 100ml.



Figure 2.2. La gomme tragacanthe.

La solution est chauffée aux même températures que la cire et ils sont mélange à l'ajout de 0.4ml de Tween'80 suit par le lancement d'ultrasonication aux différents timings « T ».

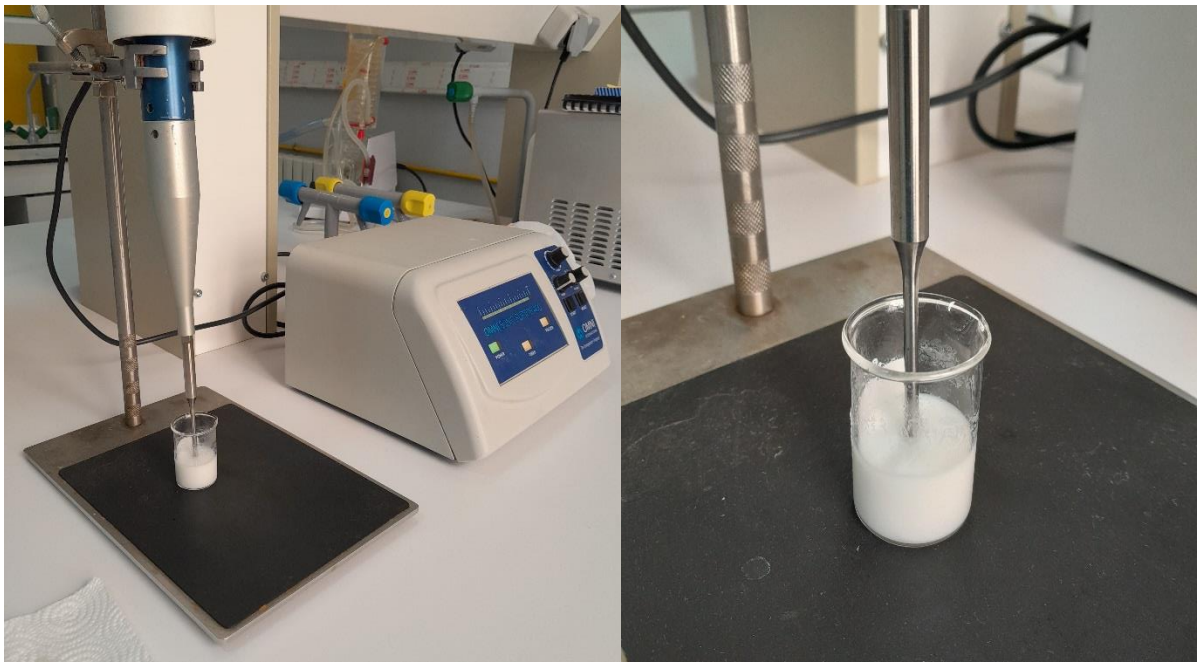


Figure 2.3. L'émulsion primaire.

2.1.1.2 Emulsion Secondaire

Après sonication et stabilisation de la formule on prend « F » volume du mélange on ajoute 12ml du solvant et 1ml du Span`80 pour le lancement d'ultrasonicateur au même timing « T » correspondant.

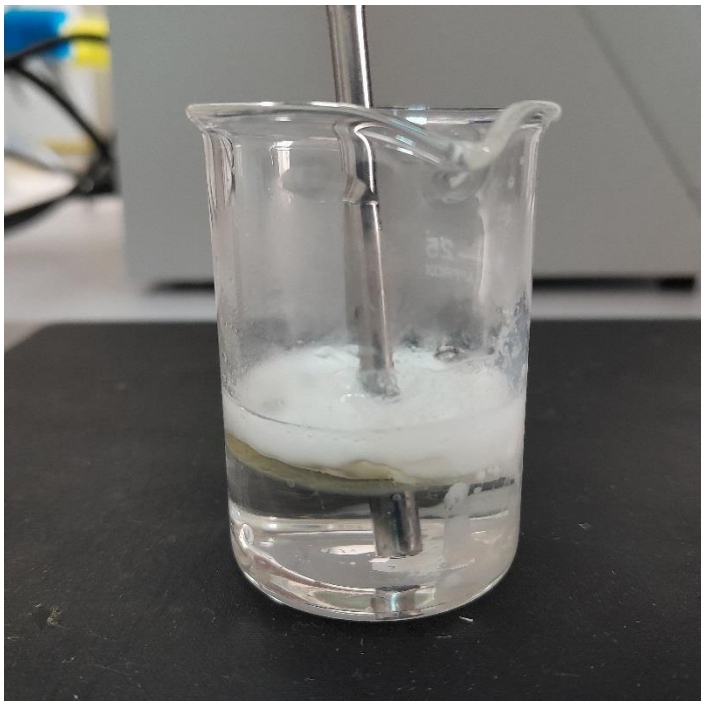


Figure 2.4. L'émulsion secondaire.

2.1.1.3 Lavage et Agitation

Après la deuxième sonication on ajoute à la formule 100ml du tampon et en lance une agitation avec une vitesse constante pour toutes les formulations pour une heure du temps.

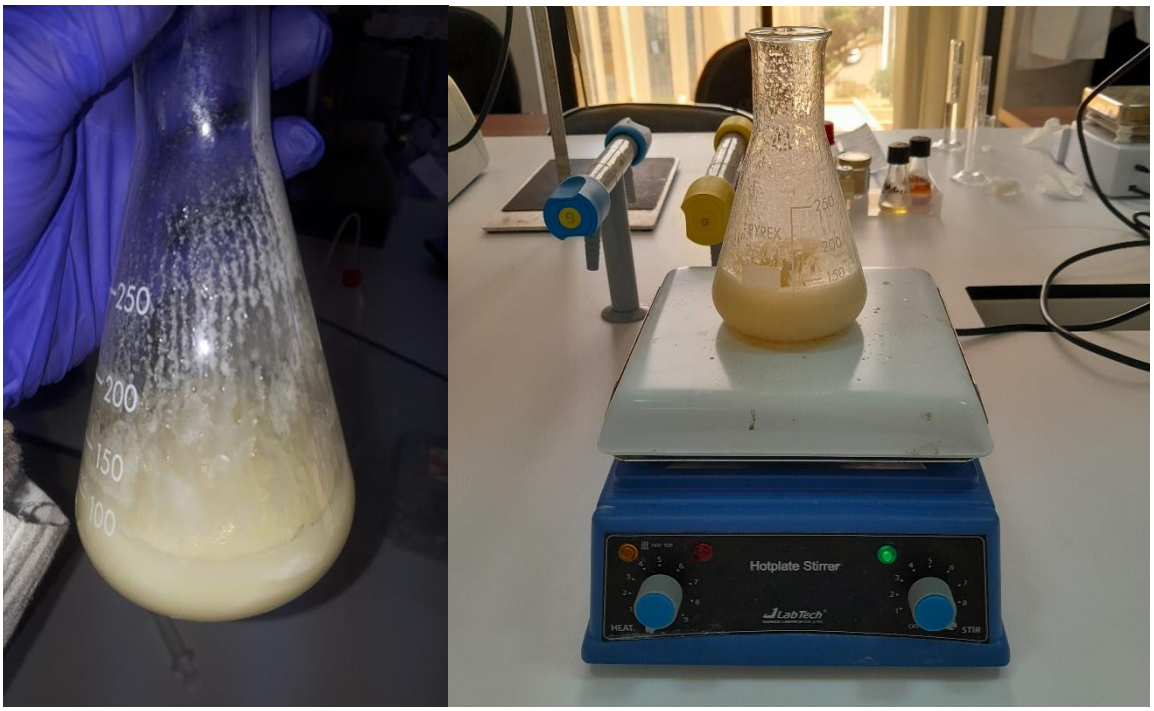


Figure 2.5. Lavage et agitation.

Afin de terminer l'agitation en laisse la formule pour stabiliser quelque temps ou le contenu qu'on a besoin va se précipiter au bas de la fiole en sorte de mousse afin de la collecter dans des tubes eppendorf pour passer à la centrifugation.



Figure 2.6. Double émulsion après la centrifugation.

La Phase Galénique et la formulation d'encapsulation va passer pour une analyse de diffusion dynamique de la lumière (DLS) pour choisir une des douze formules préparées précédemment et faire procéder à son utilisation à nos expérimentations animales.

2.2 Partie immunologique

2.2.1 Sujets étudiés

Notre expérience a porté sur 30 souris BALB/c mâles, pesant entre 21g et 25g et provenant de l'institut pasteur d'Alger.

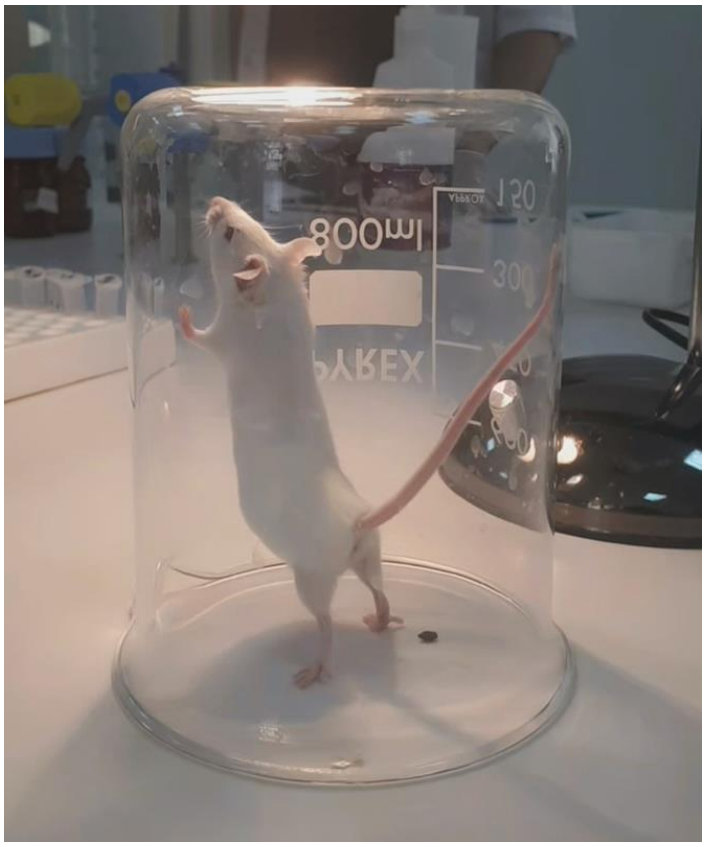


Figure 2.7. Souri BALB/c.

2.2.1.1 Condition d'élevage

-Dès leur réception, les souris sont placées aléatoirement en 6 lots dans des grandes cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable.



Figure 2.8. Les cages des souris.

-Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 jours et plus souvent pour les animaux en cours d'expérimentation.

-Les animaux ont libre accès à l'eau et la nourriture qui se compose de croquettes fournies par l'Office National des Animaux du Bétail (ONAB).

-Avant leur utilisation les souris subissent une période d'adaptation de 1 semaine au niveau de l'animalerie à température constante.

2.2.1.2 Constitution des lots

Les Souris ont été répartir en 6 lots comparables pour le poids, l'âge et le sexe, chaque lot compose de 5 souris :

- Lot 01 : Souris sains, Témoins négatives traités avec PBS
- Lot 02 : Colite induite par AA
- Lot 03 : PBS + Encapsulation vide
- Lot 04 : Colite induite par AA + Encapsulation vide
- Lot 05 : Colite induite par AA + Principe active (Celecoxib)
- Lot 06 : Colite induite par AA + Encapsulation complète

	Phase 1	**Phase 2**
Lot 1	0,7ml de PBS par vois intra-rectal une seul fois.	/
Lot 2	0,7ml de L'acide acétique de 5% par voie intra-rectal une seule fois.	/
Lot 3	0,2ml de PBS par vois intra-rectal une seul fois.	0,2ml de formule vide (Encapsulation vide sans principe active) pondant 4 jours.
Lot 4	0,7ml de L'acide acétique de 5% par voie intra-rectal une seule fois.	0,2ml de formule vide (Encapsulation vide sans principe active) pondant 4 jours.
Lot 5	0,7ml de L'acide acétique de 5% par voie intra-rectal une seule fois.	0,2ml de Celecoxib par gavage pondant 4 jours.
Lot 6	0,7ml de L'acide acétique de 5% par voie intra-rectal une seule fois.	0,2ml d'encapsulation (Capsule +Celecoxib) par gavage pondant 4 jours.

Tableau 2.1. Répartition des lots.

- L’identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d’un marqueur permanent.

- Les souris ont été soumises à une étude de 3 jours d’induction de la colite puis un traitement de 4 jours. A la fin de traitement, les 5 souris de chaque groupe ont été sacrifiées.

2.2.2 Préparation des injections

L’injection de PBS : préparation d’une solution de 500ml d’eau distillé + 4g de NaCl + 0.72g de Na2HPO4 + 0.1g de KCL + 0.12g de KH2PO4.

L’injection de l’AA de 5% : préparation d’une solution de 95ml de l’eau distillé + 5ml de l’acide acétique pure.

L’injection d’encapsulation vide : préparation de solution de 200ml de l’eau distillé + 0.2mg émulsion vide préparé.

L’injection de principe active : préparation de solution de 30ml de PBS + 15mg de Celecoxib.

L’injection d’encapsulation complète : préparation de solution de 200ml de l’eau distillé + 0.2mg émulsion complète préparé.

2.2.3 Pesée

Les animaux sont pesés à l’aide d’une balance de précision à des moments fixes pendant l’expérience : avant le commencement de l’expérience, 24h après l’injection de AA/PBS, le 1er jour du traitement, le 3eme jour du traitement et le jour de sacrifice.

2.2.4 Méthodes expérimentales

2.2.4.1 Gavage

L’administration de liquides directement dans le bas-œsophage ou l'estomac afin de garantir un dosage précis.

Un petit tube métallique incurvé, généralement muni d'une boule à son extrémité (aiguille d'alimentation), est souvent utilisé avec les petits rongeurs. L'entrée peut normalement être obtenue sans anesthésie à l'aide d'une contention manuelle ordinaire et la boule évite les traumatismes de l'œsophage et de la cavité buccale.

Le volume de gavage sûr pour les souris est de 10 ml de solution de gavage par kg de poids corporel.

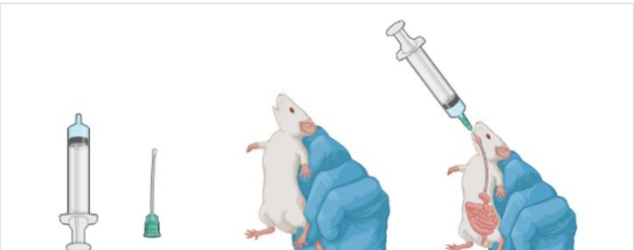




Figure 2.9. Méthode du gavage.

2.2.4.2 Injection intra-rectal



Figure 2.10. Injection intra-rectal.

2.2.4.3 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin pour la mesure de FNS est effectué au niveau de la queue de l'animal. Après nettoyage de la queue avec l'alcool, elle est piquée à l'aide d'une fine aiguille, les gouttes de sang résultante est récupérée et déposée dans des eppendorfs pour le lire après avec l'hématogram.



Figure 2.11. Prélèvement sanguin par la veine caudal.

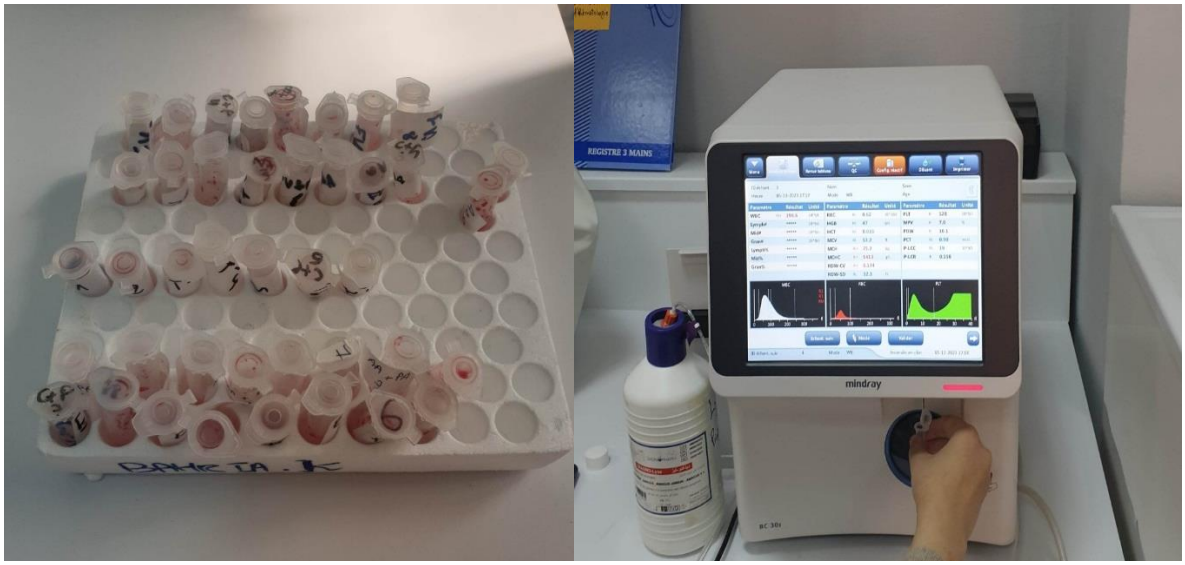


Figure 2.12. Lecture FNS.

2.2.4.4 Sacrifice et prélèvement des organes

A la fin de l'expérience, le sacrifice des animaux a été fait après une dernière prise de poids.

La souris est anesthésiée avec du chloroforme durant 1 à 2 mn dans une boite hermétiquement fermée. Il est posé face dorsale contre le liège, les membres étirés et fixées en extension afin de procéder à la dissection.



Figure 2.13. La dissection.

Le colon est rapidement prélevé, puis lavé abondamment à l'eau physiologique pour le débarrasser de tous les déchets et coupé en deux parties (partie distal et partie proximal). Apres on les déposée dans des eppendorfs plein de l'eau physiologique.



Figure 2.14. Prélèvement du colon.

2.2.4.4.1 Préparation d'homogénat

Le colon distal et proximal a été homogénéisé dans du PBS avec 0.5% de triton x100, avec l'homogénéisateur, l'homogénat a été centrifuger a 10000xg pendant 10mn et le surnageant a été récupérer et conserver a -20 jusqu'à son utilisation.



Figure 2.15. Préparation d'homogénat.

2.2.5 Méthodes d'analyse

2.2.5.1 Dosage de NOx par la méthode de Griess sur homogénat

Il y a plusieurs méthodes pour le dosage de NOx dans l'homogénat, y compris la méthode de Griess. Elle est choisie dans cette étude, en raison de sa popularité au sein des travaux de recherche actuels, sa simplicité, sa rapidité et son faible cout.

Principe

Afin de déterminer la concentration de NO dans le tissu, il faut d'abord mesurer le taux des nitrates et nitrites (NOx), considérés comme produits dérivés de NO et marqueurs indirects de sa formation in vivo.

Technique

1. Dans un tube mettre 100µl du surnageant récupéré de l'homogénat (distal ou proximal)

2. Ajouter 1mL du réactif du Griess.

3. Incuber à 25°C et à l'obscurité durant 10min.

4. Lire la densité optique à une longueur d'onde de 540nm.

5. Les concentrations du NOx dans les échantillons d'homogénats sont ensuite déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage.

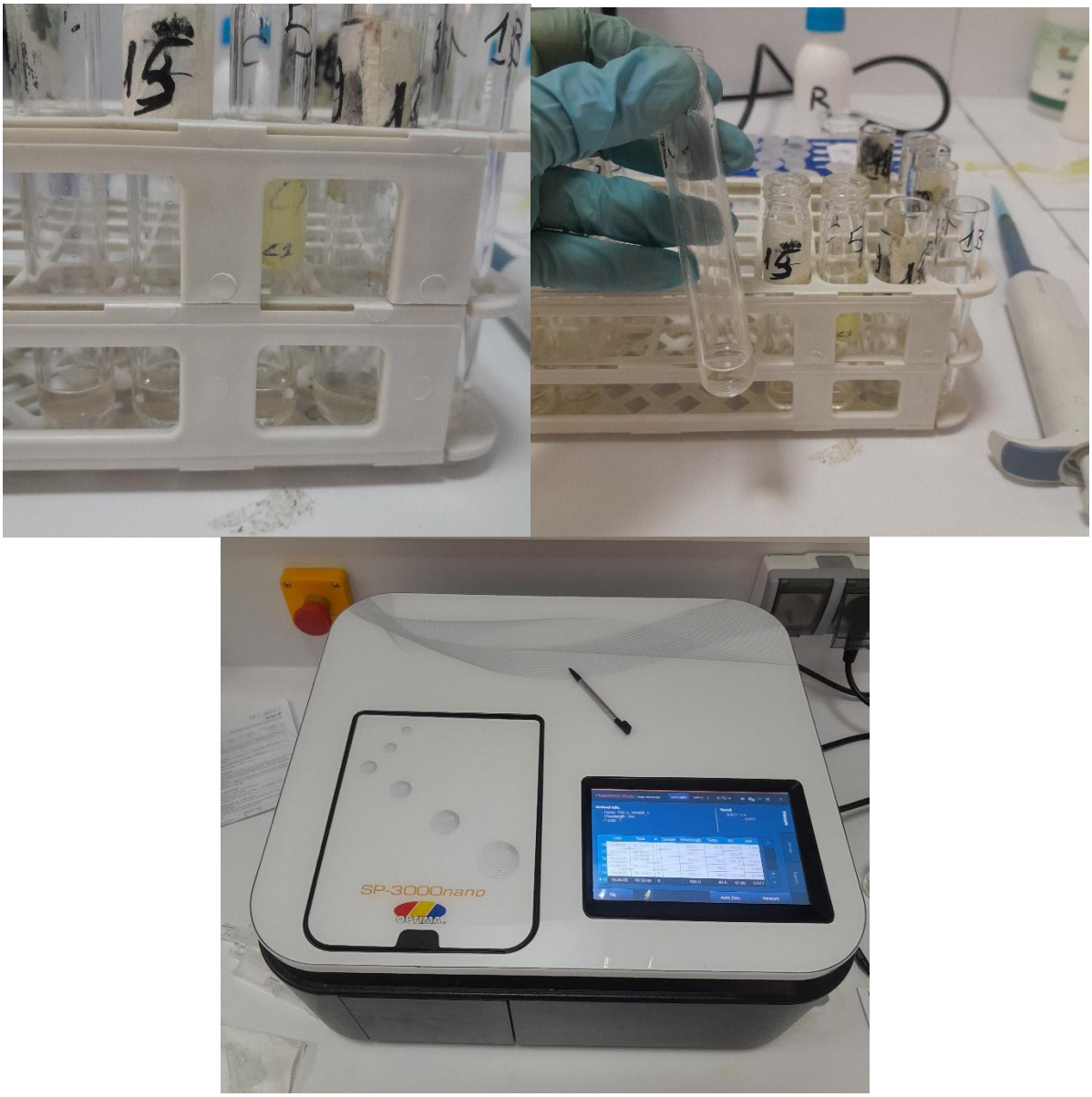


Figure 2.16. Dosage du NOx.

2.2.5.2 Dosage des protéines totales sur homogénat par la réaction du Bradford Technique

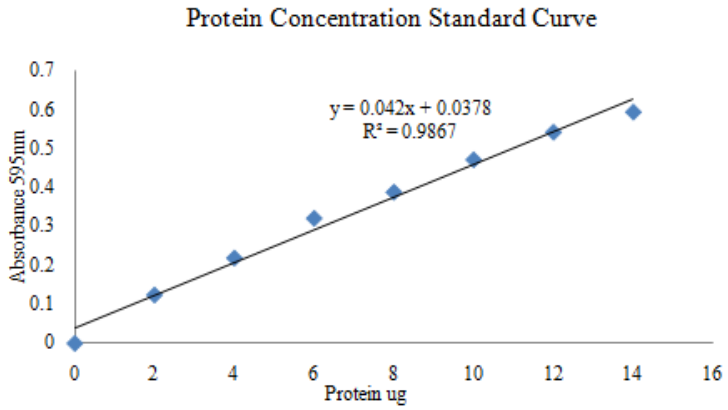
1. Dans un tube mettre 50µl du surnageant récupéré de l'homogénat (distal ou proximal)

2. Ajouter 2ml du réactif du Bradford.

3. Incuber à 25°C et à l'obscurité durant 15min.

4. Lire la densité optique à une longueur d'onde de 595.

5. Les concentrations des protéines totales dans les échantillons d'homogénats sont ensuite déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage.



La courbe d'étalonnage.

2.2.5.3 Dosage de l'urée sur homogénat

Principe

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée présente dans l'échantillon en ammoniac (NH3) et en anhydride carbonique (CO2). Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypoclorithe (ClONa) en présence du catalyseur nitroprisuate pour former un indophénol vert :

$$\text{Urée} \xrightarrow{\text{Uréase}} (NH4+)\ 2 + CO2$$

$$NH4+ + \text{Salicylate} + \text{ClONa} \xrightarrow{\text{Nitroprusiate}} \text{Indophénol}$$

L'intensité de couleur formé est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

Technique

1. Dans un tube mettre 10µl du surnageant récupéré de l'homogénat (distal ou proximal).

2. Ajouter 1ml du réactif R1.

3. Incuber à 25°C et à l'obscurité durant 5min.

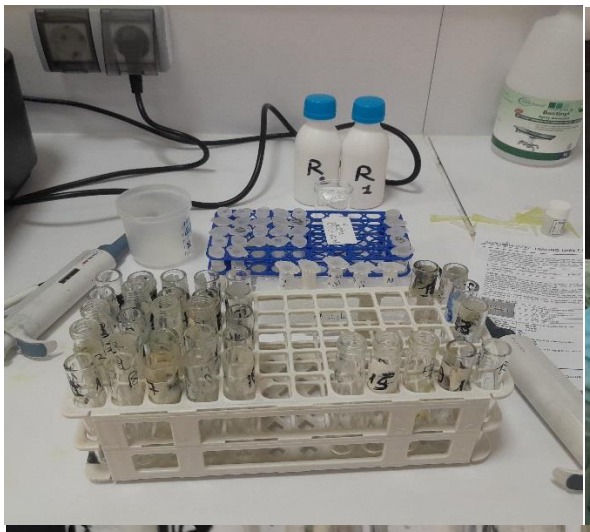
4. Ajouter 1ml du réactif R2.

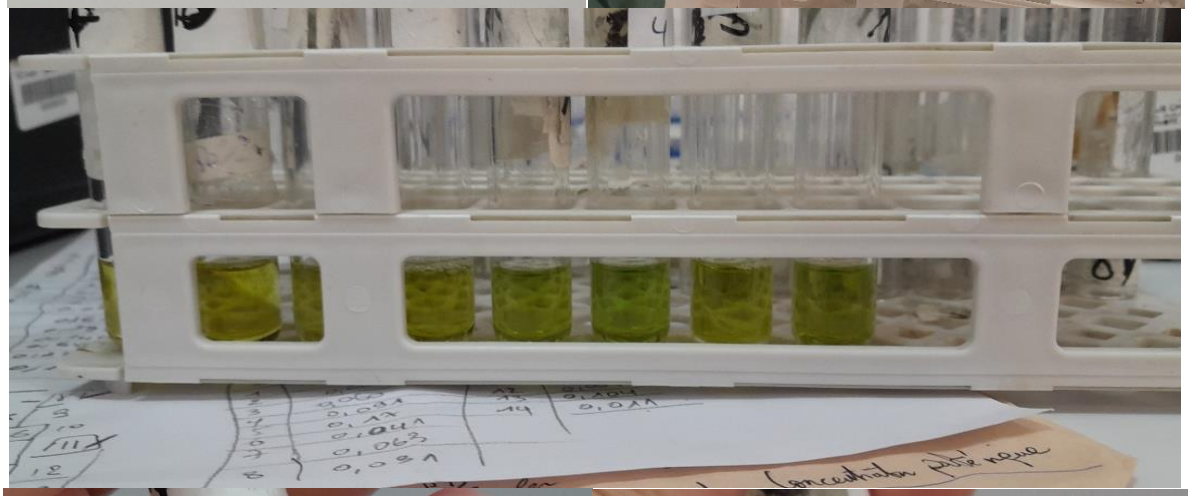
5. Incuber à 25°C et à l'obscurité durant 5min.

6. Lire la densité optique à une longueur d'onde de 580nm.

7. Les concentrations de l'urée dans les échantillons d'homogénats sont ensuite déterminées à partir d'une formule :

$$\frac{\text{Abs. ESSAI}}{\text{Abs. ETALON}} \times 40 = \text{mg d'urée/dl}$$







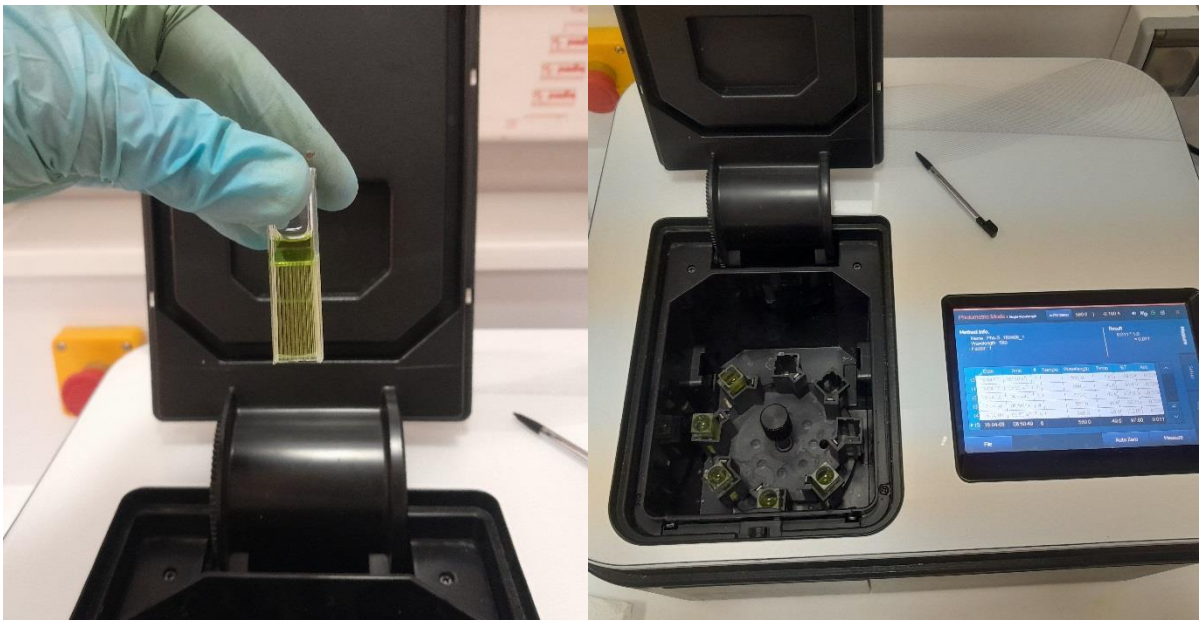


Figure 2.17. Dosage de l'urée.

2.2.6 Analyses statistiques

Les moyennes ont été comparées à l'aide du ANOVA one way. Les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciel Microsoft Excel pour Windows. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées statistiquement significatives.

3 Chapitre 3. Résultats et interprétation

Les caractéristiques des groupes de souris sont représentées au tableau 3.1.1

Nous avons remarqué (selon les Figures 3.1, 3.2, 3.3), des différences non significatives ($p < 0.1$) entre les lots de Protéines, NOx et Urée respectivement, au niveau du colon intégral..

Nous avons remarqué aussi, (selon les Figures 3.4, 3.5, 3.6), des variations mais toutefois sans signification révélée les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, au niveau de la partie distale du colon, uniquement.

Nous avons remarqué (selon les Figures 3.7, 3.8, 3.9), des différences non significatives entre les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, au niveau de la partie proximale du colon. ($p < 0.1$)

La Figure 3.8 montre, par contre, qu'il y'a une augmentation très élevée de la concentration de l'activité de NOx chez le groupe traité par le Célécoxib encapsulé comparant par les autres groupes et le contrôle. Cependant ; aucune signification n'a été révélé statistiquement) ($p < 0.1$)

Selon la Figure 3.9 on observe qu'il n'y a une augmentation non significative du taux de l'Urée en comparant les six groupes étudiés, au niveau du colon proximal mais sans signification soulignée. ($p < 0.1$)

Nous avons remarqué (selon les Figures 3.10, 3.11, 3.12), des variations non significatives entre les lots de l'activité de Protéine, NOx et Urée respectivement, de la partie distale en comparaison avec la partie proximale chez les six lots étudiés.

Enfin, le rapport (Ratio) des concentrations de Nox/Urée sur l'homogénat du côlon distal comparé au côlon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots.

Lot 1 : T-	Lot 2 : AA+	Lot 3 : FV1	Lot 4 : FV/AA+	Lot 5 : PA	Lot 6/ ENC
Souris sainse, Témoins négatives traités avec PBS	**Control (+) Colite induite par AA**	**PBS + Encapsulation vide**	**Colite induite par AA + Encapsulation vide**	**Colite induite par AA + Principe active (Celecoxib)**	**Colite induite par AA + Encapsulation complète**

Tableau 3.1. Tableau représentatif des différents groupes de souris étudiés.

3.1 FIGURES REPRESENTATIVES DES COMPARAISONS DES PARAMETRES SUR LE COLON INTEGRAL

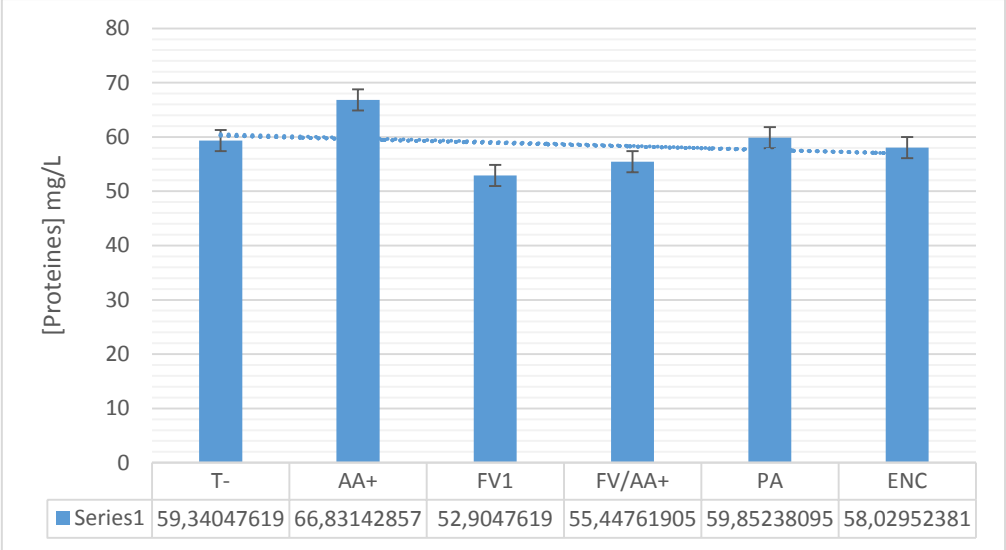


Figure 3.1. Concentrations de protéines totales des homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) (p > 0.1).

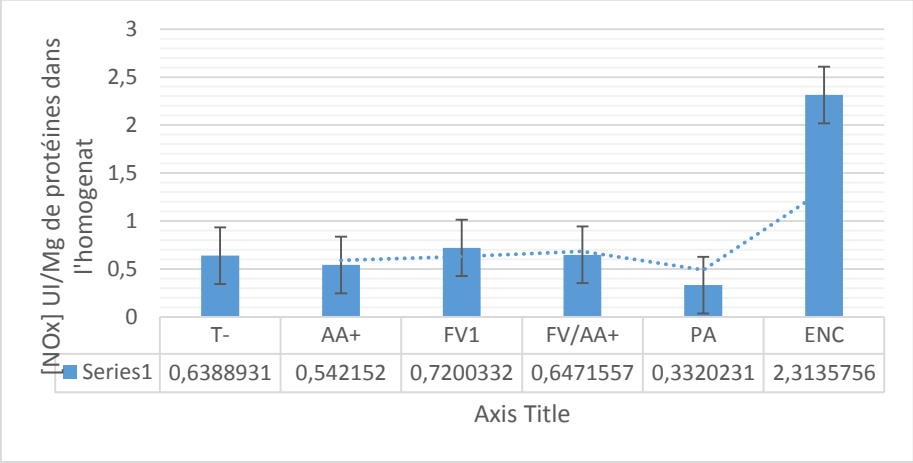


Figure 3.2. Concentration du NOx sur les homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparé. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . NO: Monoxyde d'azote

(p value = 0,14709476) > 0.1

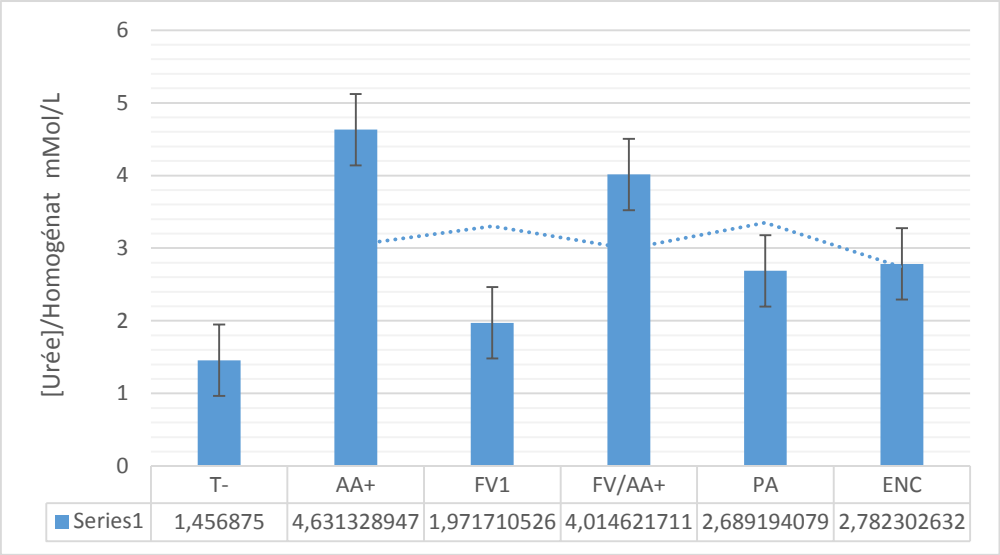
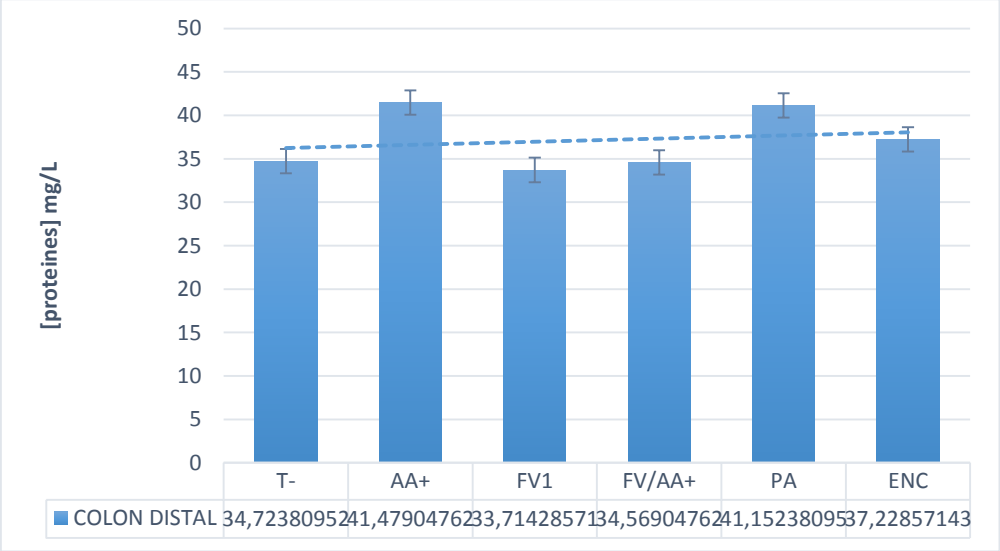


Figure 3.3. Concentrations de l'urée sur les homogénats du colon intégral chez les six lots de souris comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . NO: Monoxyde d'azote

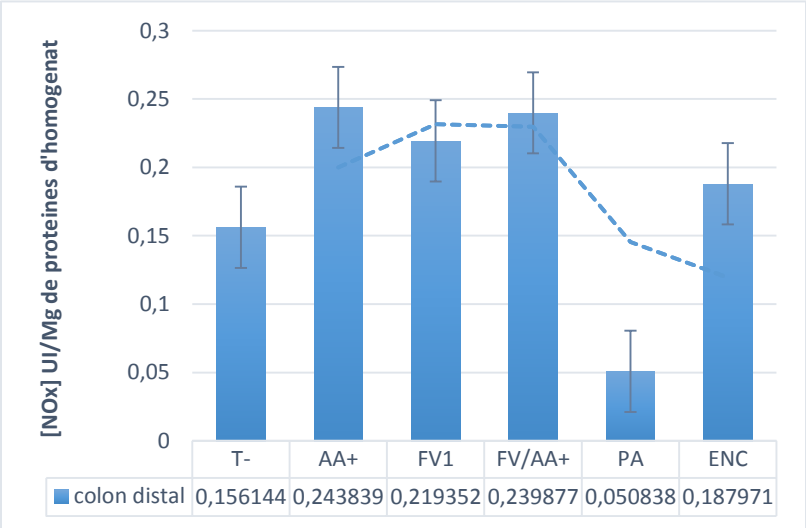
(p value = 0,20687443) > 0.1

3.2. COMPARAISON DES DIFFERENTS PARAMETRES AU NIVEAU DU COLON DISTAL UNIQUEMENT



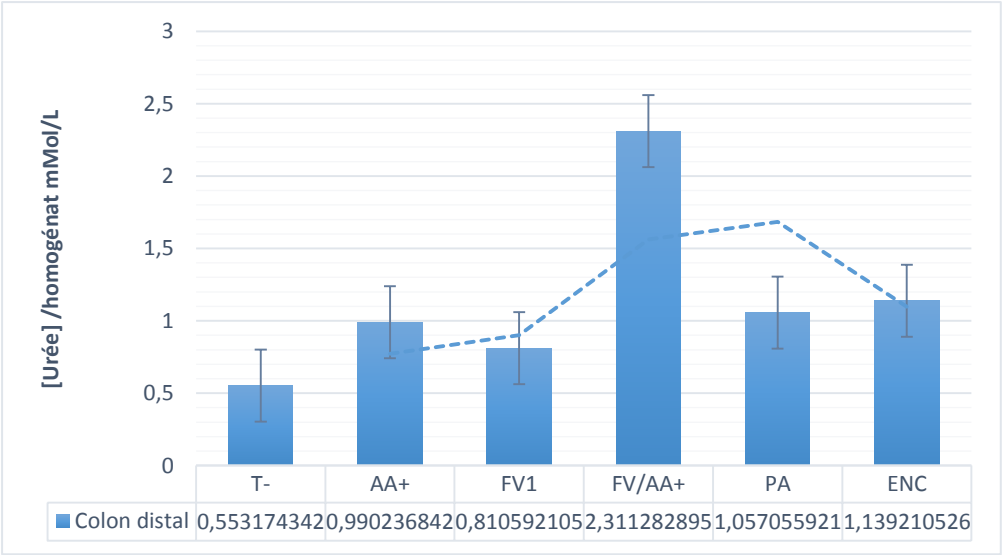
LOT	*P* VALUE
AA/T-	0,16519684
AA/FV	0,10787712
AA/FV*AA	0,18347627
AA/PA	0,93961653
AA/ENC	0,33820496
FV*AA/ENC	0,43728877
FV/ENC	0,08783854

Figure 3.4. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon distal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1)



	P VALUE
AA/T-	0,24676306
AA/FV	0,78268648
AA/FV*AA	0,96467216
AA/PA	0,01836651
AA/ENC	0,4894836
FV*AA/ENC	0,57547182
FV/ENC	0,73011318

Figure 3.5. Concentrations de Monoxyde d'azote sur l'homogénat du colon distal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . ($p > 0.1$)



LOT	P VALUE
AA/T-	0,20229546
AA/FV	0,60620765
AA/FV*AA	0,05592807
AA/PA	0,88352013
AA/ENC	0,71969139
FV*AA/ENC	0,08224938
FV/ENC	0,39835139

Figure 3.6. Concentrations de l'urée s l'homogénat du colon distal des six lo comparés. (Voir abréviation sur tableau, dessus) . ($p > 0.1$)

3.4. COMPARAISON DES DIFFERENTS PARAMETRES AU NIVEAU DU COLON PROXIMAL UNIQUEMENT

LOTS	P VALUE
AA/T-	0,15030072
AA/FV	0,21296583
AA/FV*AA	0,19768668
AA/PA	0,82709702
AA/ENC	0,401457
FV*AA/ENC	0,42778036
FV/ENC	0,45181005

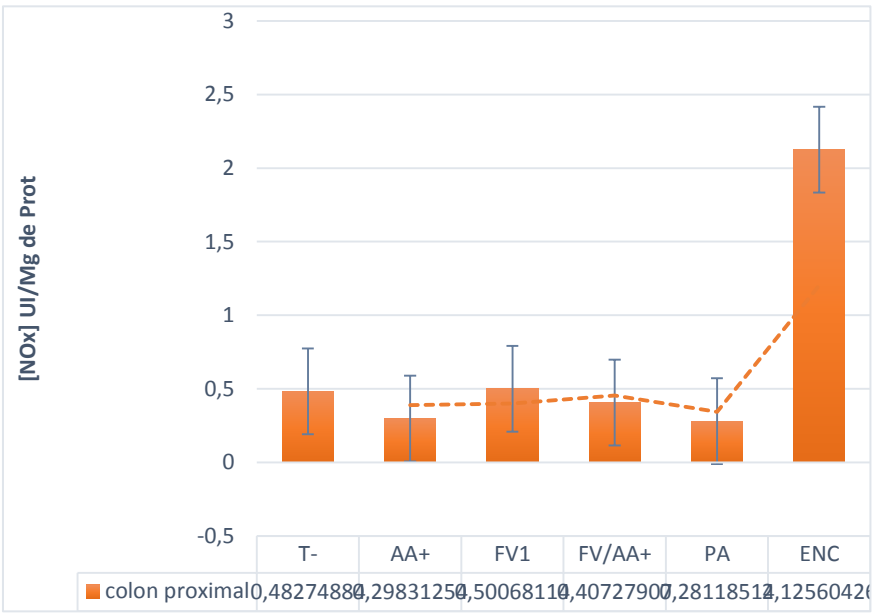


Figure 3.7. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon proximal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1)

AA	
AA	
AA/FV*AA	0,45973849
AA/PA	0,24251963
AA/ENC	0,54388203
FV*AA/ENC	0,9903403
FV/ENC	0,78204783

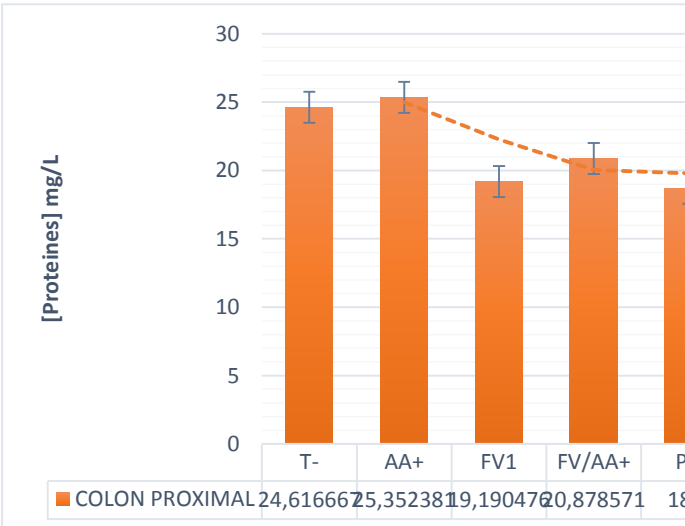


Figure 3.8. Concentrations de Monoxyde d'azote sur l'homogénat du colon proximal des six lots comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1)

LOTS	P VALUE
AA/T-	0,21017473
AA/FV	0,24783407
AA/FV*AA	0,35258988
AA/PA	0,33749233
AA/ENC	0,34983127
FV*AA/ENC	0,93668072
FV/ENC	0,5177707

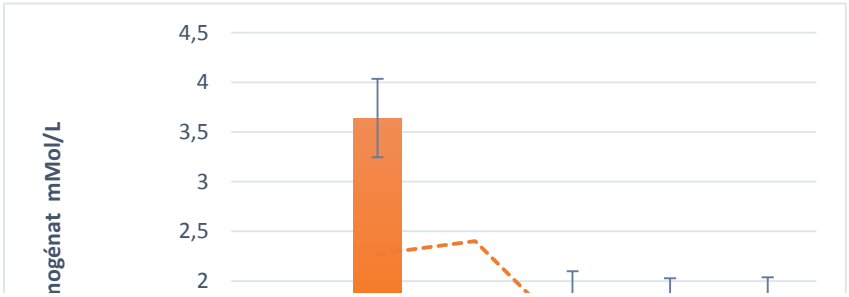
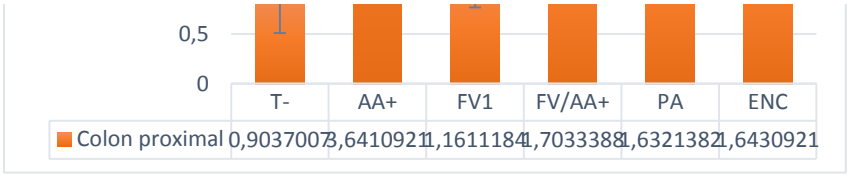


Figure 3.9. Concentrations de l'urée sur l'homogénat du colon proximal comparés. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1)

3.3. COMPARAISON DES PARAMETRES ENTRE LES DEUX PARTIES DISTINCTES DU COLON



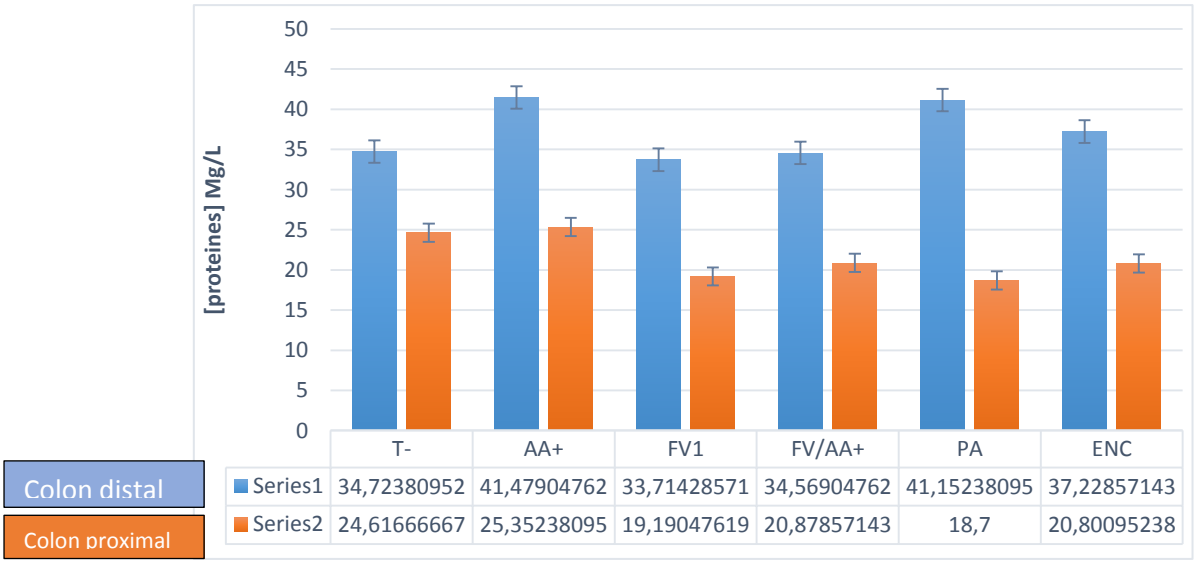


Figure 3.10. Concentrations de protéines sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. (Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) . (p > 0.1)

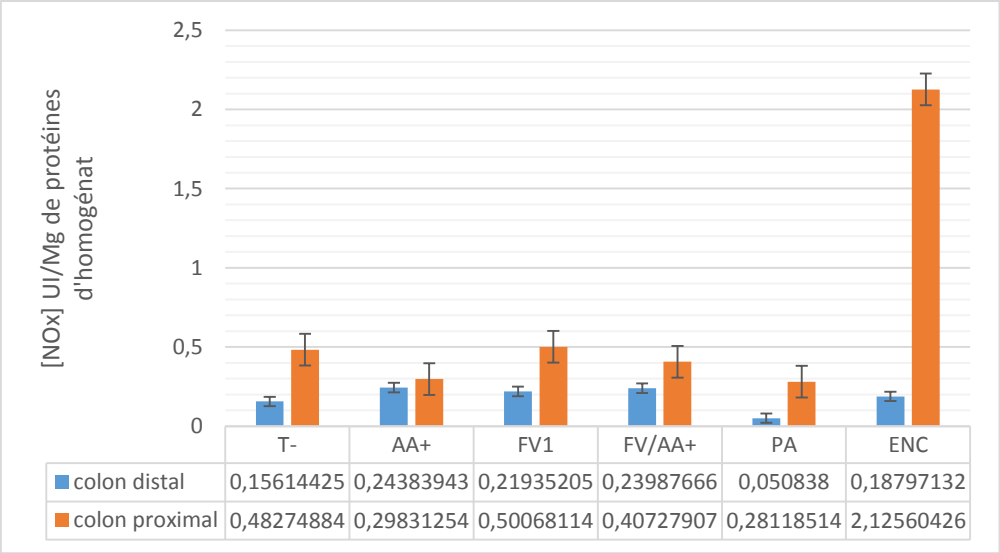


Figure 3.11. Concentrations du NOx sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxibe encapsulé ou non et comparé aux autres lots. *(Voir abréviation sur tableau, ci-dessus) .* (p > *0.1)*

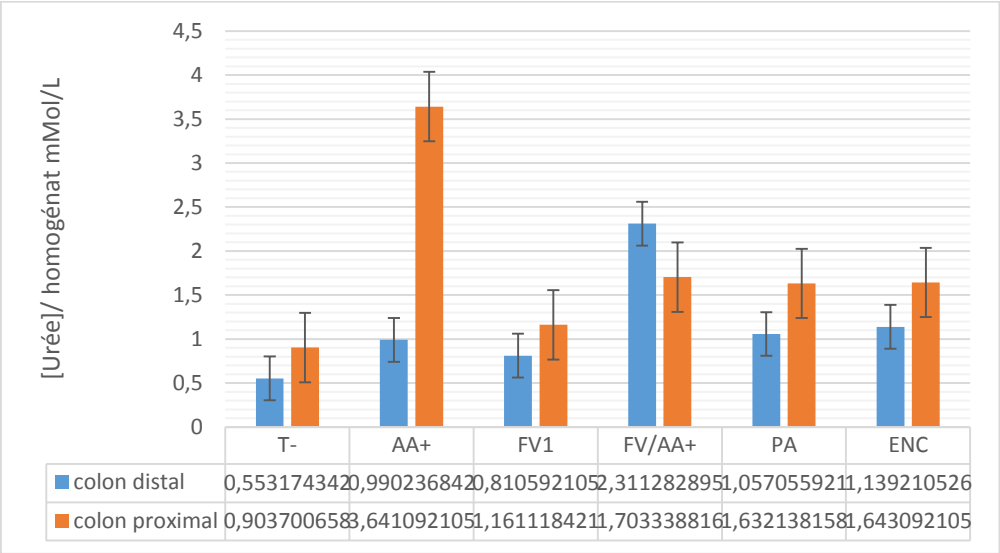


Figure 3.12. Concentrations de l'urée sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitées avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. *(Voir abréviation sur tableau, ci-dessus).* (p > *0.1)*

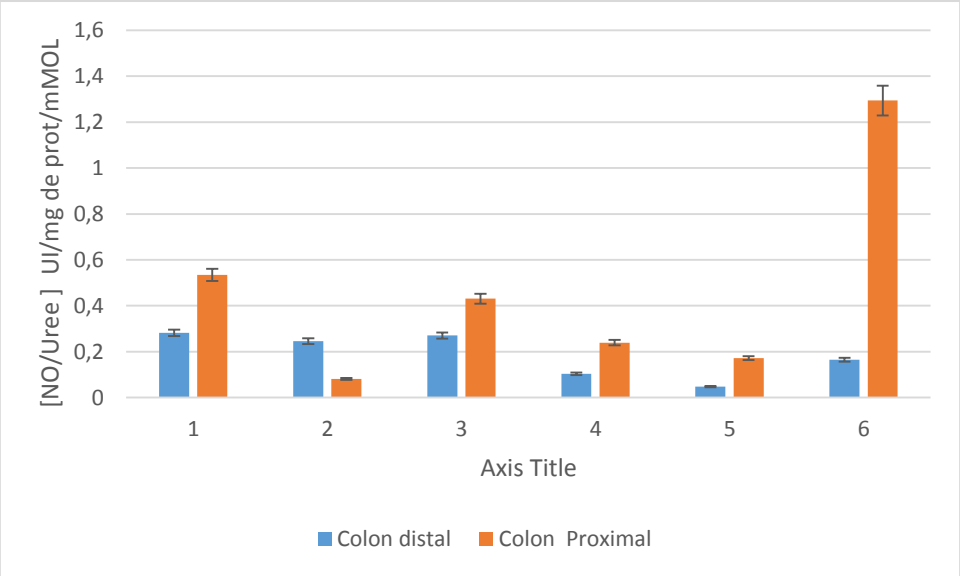


Figure 3.13. Ratio des concentrations de NOx/Urée sur l'homogénat du colon distal comparé au colon proximal chez les souris traitée avec célécoxib encapsulé ou non et comparé aux autres lots. *(Voir abréviation sur tableau, ci-dessus).* (p > *0.1)*

4 Chapitre 4. Discussion

Ce travail consiste en une étude immunologique de prélèvements d'homogénats du colon à partir des souris BALB/c males témoins et d'autre qui reçut l'acide acétique pour l'induction de la colite ulcéreuse par injection intra-rectal et traité par différents traitements tels que le Celecoxib non encapsulé, le Célécoxib encapsulé et la capsule seule par gavage.

Le but étant de démontrer que la capsule à un effet thérapeutique et anti-inflammatoire et pour assurer que la dégradation a été faite dans l'organe ciblé. Pourrait avoir un rôle à jouer dans la diminution des taux de NO sérique, molécule pro-inflammatoire et l'augmentation des taux de l'Urée, molécule anti-inflammatoire.

Selon Lambardo (2019) La nanomédecine et les nanosystèmes d'administration sont une science utilisés pour délivrer des agents thérapeutiques à des sites ciblés de manière contrôlée (Lombardo et al., 2019). Afin d'atténuer les effets secondaires liés à l'utilisation de médicaments (Yu et al., 2016).

Pour cela, envisager une nouvelle nanomédicament encapsulé demeure une idée très sollicitée depuis la découverte de la nanotechnologie. On cherche dans la présente étude à produire une capsule thérapeutique à la base de la Gomme tragacanthe polymère qui va encapsulé le Célécoxib qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), est le premier inhibiteur spécifique de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) (Kim et al., 2017; Subhahar et al., 2019). Afin de réduire l'inflammation colique.

Là, il faudra rappeler que la réponse inflammatoire est un processus de défense naturel. Cette réaction est contrôlée par de nombreuses cytokines et protéines inflammatoires, Ce qui signifier le taux élevé des protéines sériques totale dans le cas d'inflammation.

L'arginine est un acide aminé cationique essentiel dont le métabolisme intracellulaire au niveau des macrophages (Rath et al., 2014). Cet acide aminé est un précurseur principalement de deux voies métaboliques dans les macrophages : il est métabolisé par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) en NO et en citrulline ou par l'hydrolyse de l'arginase en ornithine et en urée (Mosser and Edwards, 2008).

Plusieurs études récentes (Pariente et al. 2004 ; Panaro et al. 2000, Fritzsche et al, 2010) ont montré que les taux du NO sérique sont significativement plus élevés chez beaucoup d'espèces animales au cours de réactions inflammatoires et que ces taux baissent sous traitement anti-inflammatoire. Aussi ont montré que les taux d'Urée sérique sont significativement plus élevés au cours de réactions anti-inflammatoires et que ces taux baissent dans le cas d'inflammation.

D’après la Figure (3.1 ;3.4 ;3.7) une augmentation non significative de la concentration de protéine totale chez le groupe qui reçut l’acide acétique par rapport au contrôle aussi chez le groupe traité par Célécoxib non encapsulé et le groupe traité par la formule vide dans le colon et la partie distal. Aussi une augmentation non significative de la concentration de protéine totale chez les groupes traités dans la partie proximale.

D’après la Figure (3.2 ; 3.5 ; 3.8) Une diminution non significative de l’activité du NOx chez les groupes traité par célécoxib non encapsulé et formule vide et une augmentation très élevé de taux de taux de NOx chez les traité par célécoxib encapsulé.

D’après la Figure (3.3 ; 3.6 ; 3.9) une augmentation non significative très élevé de la concentration de l’Urée chez les groupes qui reçut l’acide acétique seul et traité par la formule vide dans la partie distal. Et une augmentation moyenne non significative de la concentration d’Urée chez les groupes (AA+, FV, PA, et ENC) dans la partie proximale.

Enfin, beaucoup de facteurs pourraient influencer l'augmentation et la diminution des concentrations sériques du NO et de protéine sérique et de l’Urée pendants l’administration du traitements encapsuler et non encapsulé, permet les une toxicité de polymère oui bien une interaction polymère/médicament qui induit a une toxicité qui va influencer par la suite l’inflammation.

5 Chapitre 5. Conclusions et perspectives

Dans le but de découvrir de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement des maladies inflammatoires, nous nous sommes intéressés à la recherche de nouvelle capsule a base des nanoparticule qui encapsule un médicament qui est le Célécoxib a fin d'évité les effets indésirables et pour assurer la biodisponibilité de cette molécule dans le colon pour traiter l'inflammation colique à l'aide de différentes méthodes in vitro et in vivo.

A l'issu de ce travail, portant sur l'effet d'encapsulation d'un biopolymères sur l'inflammation colique chez des souris BALB/c males qui reçoit l'acide acétique comme inducteur de la colite, comparés aux souris traiter par la capsule vide ou bien le Célécoxib encapsulé ou bien par le Célécoxib non encapsulé, nous remarquons trois principaux faits :

D'une part, une augmentation non significative de la concentration de protéine totale et de NOx chez le groupe qui reçut l'acide acétique et le groupe traité par Célécoxib non encapsulé et le groupe traité par la formule vide dans le colon et la partie distal. Aussi une augmentation non significative de la concentration de protéine totale chez les groupes traités dans la partie proximale

D'autre part, une augmentation non significative très élevé de la concentration de l'Urée chez les groupes qui reçut l'acide acétique seul et traité par la formule vide dans la partie distal. Et une augmentation moyenne non significative de la concentration d'Urée chez les groupes (AA+, FV, PA, et ENC) dans la partie proximale.

Enfin, beaucoup de facteurs pourraient influencer l'augmentation et la diminution des concentrations sériques du NO et de protéine sérique et de l'Urée pendants l'administration du traitements encapsuler et non encapsulé, permet les une toxicité de polymère oui bien une interaction polymère/médicament qui induit a une toxicité qui va influencer par la suite l'inflammation.

6 Chapitre 6. Bibliographie

La confection de la bibliographie et l'organisation des sources et références bibliographies, a été entreprise, automatiquement à l'aide du logiciel spécialisé ZOTERO version 6 for Windows. Style bibliographique de citation utilisé : Elsevier – Harvard (avec titre)

Abdelwahab, S.I., Taha, Sheikh, How, El-Sunousi, Abdullah, Eid, Umar Yagoub, 2013. Thymoquinone-loaded nanostructured lipid carriers: preparation, gastroprotection, in vitro toxicity, and pharmacokinetic properties after extravascular administration. Int. J. Nanomedicine 2163. https://doi.org/10.2147/IJN.S44108

Abraham, C., Dulai, P.S., Vermeire, S., Sandborn, W.J., 2017. Lessons Learned From Trials Targeting Cytokine Pathways in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. Gastroenterology 152, 374-388.e4. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.10.018

Aggrey, A.A., Srivastava, K., Ture, S., Field, D.J., Morrell, C.N., 2013. Platelet Induction of the Acute-Phase Response Is Protective in Murine Experimental Cerebral Malaria. J. Immunol. 190, 4685–4691. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202672

Agüero, L., Zaldivar-Silva, D., Peña, L., Dias, M.L., 2017. Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. Carbohydr. Polym. 168, 32–43. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.033

Akira, S., Takeda, K., Kaisho, T., 2001. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. Nat. Immunol. 2, 675–680. https://doi.org/10.1038/90609

Amreddy, N., Babu, A., Muralidharan, R., Panneerselvam, J., Srivastava, A., Ahmed, R., Mehta, M., Munshi, A., Ramesh, R., 2018. Recent Advances in Nanoparticle-Based Cancer Drug and Gene Delivery, in: Advances in Cancer Research. Elsevier, pp. 115–170. https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.11.003

Antman, E.M., Bennett, J.S., Daugherty, A., Furberg, C., Roberts, H., Taubert, K.A., 2007. Use of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs: An Update for Clinicians: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation 115, 1634–1642. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.181424

Arulselvan, P., Fard, M.T., Tan, W.S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M.E., Kumar, S.S., 2016. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. Oxid. Med. Cell. Longev. 2016, 1–15. https://doi.org/10.1155/2016/5276130

Azizi, G., Pouyani, M.R., Abolhassani, H., Sharifi, L., Dizaji, M.Z., Mohammadi, J., Mirshafiey, A., Aghamohammadi, A., 2016. Cellular and molecular mechanisms of immune dysregulation and autoimmunity. Cell. Immunol. 310, 14–26. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2016.08.012

Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., Coppolino, M.F., 2012. Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review. Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem. 11, 52–64. https://doi.org/10.2174/187152312803476255

Benichou, A., Aserin, A., Garti, N., 2004. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. Adv. Colloid Interface Sci. 108–109, 29–41. https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.013

Biswas, S.K., 2016. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? Oxid. Med. Cell. Longev. 2016, 1–9. https://doi.org/10.1155/2016/5698931

Cagel, M., Tesan, F.C., Bernabeu, E., Salgueiro, M.J., Zubillaga, M.B., Moretton, M.A., Chiappetta, D.A., 2017. Polymeric mixed micelles as nanomedicines: Achievements and perspectives. Eur. J. Pharm. Biopharm. 113, 211–228. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.12.019

Caster, J.M., Patel, A.N., Zhang, T., Wang, A., 2017. Investigational nanomedicines in 2016: a review of nanotherapeutics currently undergoing clinical trials. WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology 9. https://doi.org/10.1002/wnan.1416

Cavaillon, J.-M., Adib-Conquy, M., 2002. The Pro-Inflammatory Cytokine Cascade, in: Marshall, J.C., Cohen, J. (Eds.), Immune Response in the Critically Ill. Springer Berlin

Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 37–66. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57210-4_4
Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., Zhao, L., 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget 9, 7204–7218. https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208
Chikhi, D., Bouchal, F., promotrice, Djerada, T., 2020. Microencapsulation d'un anti-inflammatoire par Coacervation Complexe (Thesis). université A/Mira Bejaia.
Czerkies, M., Kwiatkowska, K., 2014. Toll-Like Receptors and their Contribution to Innate Immunity: Focus on TLR4 Activation by Lipopolysaccharide. Adv. Cell Biol. 4, 1–23. https://doi.org/10.2478/acb-2014-0001
Danese, S., Fiocchi, C., 2011. Ulcerative Colitis. N. Engl. J. Med. 365, 1713–1725. https://doi.org/10.1056/NEJMra1102942
Danese, S., Mantovani, A., 2010. Inflammatory bowel disease and intestinal cancer: a paradigm of the Yin–Yang interplay between inflammation and cancer. Oncogene 29, 3313–3323. https://doi.org/10.1038/onc.2010.109
Davies, L.C., Jenkins, S.J., Allen, J.E., Taylor, P.R., 2013. Tissue-resident macrophages. Nat. Immunol. 14, 986–995. https://doi.org/10.1038/ni.2705
Davies, N.M., McLachlan, A.J., Day, R.O., Williams, K.M., 2000. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Celecoxib: A Selective Cyclo-Oxygenase-2 Inhibitor. Clin. Pharmacokinet. 38, 225–242. https://doi.org/10.2165/00003088-200038030-00003
Dennis, E.A., Norris, P.C., 2015. Eicosanoid storm in infection and inflammation. Nat. Rev. Immunol. 15, 511–523. https://doi.org/10.1038/nri3859
FitzGerald, G.A., Patrono, C., 2001. The Coxibs, Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2. N. Engl. J. Med. 345, 433–442. https://doi.org/10.1056/NEJM200108093450607
Franceschi, C., Campisi, J., 2014. Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 69, S4–S9. https://doi.org/10.1093/gerona/glu057
Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D.W., Fasano, A., Miller, G.W., Miller, A.H., Mantovani, A., Weyand, C.M., Barzilai, N., Goronzy, J.J., Rando, T.A., Effros, R.B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., Slavich, G.M., 2019. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. Nat. Med. 25, 1822–1832. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0
Garti, N., Bisperink, C., 1998. Double emulsions: Progress and applications. Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 3, 657–667. https://doi.org/10.1016/S1359-0294(98)80096-4
Ginhoux, F., Schultze, J.L., Murray, P.J., Ochando, J., Biswas, S.K., 2016. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function. Nat. Immunol. 17, 34–40. https://doi.org/10.1038/ni.3324
Girard, S., Kadhim, H., Roy, M., Lavoie, K., Brochu, M.-E., Larouche, A., Sébire, G., 2009. Role of Perinatal Inflammation in Cerebral Palsy. Pediatr. Neurol. 40, 168–174. https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2008.09.016
Gong, L., Thorn, C.F., Bertagnolli, M.M., Grosser, T., Altman, R.B., Klein, T.E., 2012a. Celecoxib pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. Pharmacogenet. Genomics 22, 310–318. https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834f94cb
Gong, L., Thorn, C.F., Bertagnolli, M.M., Grosser, T., Altman, R.B., Klein, T.E., 2012b. Celecoxib pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. Pharmacogenet. Genomics 22, 310–318. https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834f94cb
Gudkov, A.V., Komarova, E.A., 2016. p53 and the Carcinogenicity of Chronic Inflammation. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 6, a026161. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026161
Guo, R.-F., Ward, P.A., 2005. ROLE OF C5A IN INFLAMMATORY RESPONSES. Annu. Rev. Immunol. 23, 821–852. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115835
Hamidzadeh, K., Christensen, S.M., Dalby, E., Chandrasekaran, P., Mosser, D.M., 2017. Macrophages and the Recovery from Acute and Chronic Inflammation. Annu. Rev. Physiol. 79, 567–592. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034348

Hart, A.L., Al-Hassi, H.O., Rigby, R.J., Bell, S.J., Emmanuel, A.V., Knight, S.C., Kamm, M.A., Stagg, A.J., 2005. Characteristics of Intestinal Dendritic Cells in Inflammatory Bowel Diseases. Gastroenterology 129, 50–65. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.05.013
Hendrayani, S.-F., Al-Harbi, B., Al-Ansari, M.M., Silva, G., Aboussekhra, A., 2016. The inflammatory/cancer-related IL-6/STAT3/NF-κB positive feedback loop includes AUF1 and maintains the active state of breast myofibroblasts. Oncotarget 7, 41974–41985. https://doi.org/10.18632/oncotarget.9633
Henríquez-Olguín, C., Altamirano, F., Valladares, D., López, J.R., Allen, P.D., Jaimovich, E., 2015. Altered ROS production, NF-κB activation and interleukin-6 gene expression induced by electrical stimulation in dystrophic mdx skeletal muscle cells. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis. 1852, 1410–1419. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.03.012
Heras, B., Hortelano, S., 2009. Molecular Basis of the Anti-Inflammatory Effects of Terpenoids. Inflamm. Allergy-Drug Targets 8, 28–39. https://doi.org/10.2174/187152809787582534
Herrero-Cervera, A., Soehnlein, O., Kenne, E., 2022. Neutrophils in chronic inflammatory diseases. Cell. Mol. Immunol. 19, 177–191. https://doi.org/10.1038/s41423-021-00832-3
Hersh, E.M., Bodey, G.P., 1970. Leukocytic Mechanisms in Inflammation. Annu. Rev. Med. 21, 105–132. https://doi.org/10.1146/annurev.me.21.020170.000541
Huang, C., Šali, A., Stevens, R.L., 1998. [No title found]. J. Clin. Immunol. 18, 169–183. https://doi.org/10.1023/A:1020574820797
Huang, Z., Luo, Q., Yao, F., Qing, C., Ye, J., Deng, Y., Li, J., 2016. Identification of Differentially Expressed Long Non-coding RNAs in Polarized Macrophages. Sci. Rep. 6, 19705. https://doi.org/10.1038/srep19705
Hufford, M.M., Kaplan, M.H., 2014. A gut reaction to IL-9. Nat. Immunol. 15, 599–600. https://doi.org/10.1038/ni.2916
Hume, D.A., 2015. The Many Alternative Faces of Macrophage Activation. Front. Immunol. 6. https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00370
Iqbal, M., Zafar, N., Fessi, H., Elaissari, A., 2015. Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. Int. J. Pharm. 496, 173–190. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.057
Jabbour, H.N., Sales, K.J., Catalano, R.D., Norman, J.E., 2009. Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. REPRODUCTION 138, 903–919. https://doi.org/10.1530/REP-09-0247
Jahangirian, H., Ghasemian Lemraski, E., Webster, T.J., Rafiee-Moghaddam, R., Abdollahi, Y., 2017. A review of drug delivery systems based on nanotechnology and green chemistry: green nanomedicine. Int. J. Nanomedicine Volume 12, 2957–2978. https://doi.org/10.2147/IJN.S127683
Janeway, C.A., Medzhitov, R., 2002. Innate Immune Recognition. Annu. Rev. Immunol. 20, 197–216. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359
Jelvehgari, M., Montazam, S.H., 2012. Comparison of Microencapsulation by Emulsion-Solvent Extraction/Evaporation Technique Using Derivatives Cellulose and Acrylate-Methacrylate Copolymer as Carriers. Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod. 7, 144–152.
Johansson, M.E.V., Sjövall, H., Hansson, G.C., 2013. The gastrointestinal mucus system in health and disease. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 10, 352–361. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.35
Kałużna, A., Olczyk, P., Komosińska-Vassev, K., 2022. The Role of Innate and Adaptive Immune Cells in the Pathogenesis and Development of the Inflammatory Response in Ulcerative Colitis. J. Clin. Med. 11, 400. https://doi.org/10.3390/jcm11020400
Kaminska, B., 2005. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy—from molecular mechanisms to therapeutic benefits. Biochim. Biophys. Acta BBA - Proteins Proteomics 1754, 253–262. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.08.017

Kim, S.-H., Kim, Do-Hoon, Byeon, J.-Y., Kim, Y.-H., Kim, Dong-Hyun, Lim, H.-J., Lee, C.-M., Whang, S.S., Choi, C.-I., Bae, J.-W., Lee, Y.J., Jang, C.-G., Lee, S.-Y., 2017. Effects of CYP2C9 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of celecoxib and its carboxylic acid metabolite. Arch. Pharm. Res. 40, 382–390. https://doi.org/10.1007/s12272-016-0861-2

Kulkarni, R., Achaiah, G., Narahari Sastry, G., 2006. Novel Targets for Antiinflammatory and Antiarthritic Agents. Curr. Pharm. Des. 12, 2437–2454. https://doi.org/10.2174/138161206777698945

Labonte, A.C., Tosello-Trampont, A.-C., Hahn, Y.S., 2014. The Role of Macrophage Polarization in Infectious and Inflammatory Diseases. Mol. Cells 37, 275–285. https://doi.org/10.14348/molcells.2014.2374

Lam, P.-L., Wong, W.-Y., Bian, Z., Chui, C.-H., Gambari, R., 2017. Recent advances in green nanoparticulate systems for drug delivery: efficient delivery and safety concern. Nanomed. 12, 357–385. https://doi.org/10.2217/nnm-2016-0305

Larsen, G.L., Henson, P.M., 1983. Mediators of Inflammation. Annu. Rev. Immunol. 1, 335–359. https://doi.org/10.1146/annurev.iy.01.040183.002003

Lasry, A., Zinger, A., Ben-Neriah, Y., 2016. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. Nat. Immunol. 17, 230–240. https://doi.org/10.1038/ni.3384

Lee, J.-H., Choi, J.K., Noh, M.S., Hwang, B.Y., Hong, Y.S., Lee, J.J., 2004. Anti-Inflammatory Effect of Kamebakaurin in *in vivo* Animal Models. Planta Med. 70, 526–530. https://doi.org/10.1055/s-2004-827152

Lemière, J., Carvalho, K., Sykes, C., 2015. Cell-sized liposomes that mimic cell motility and the cell cortex, in: Methods in Cell Biology. Elsevier, pp. 271–285. https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2015.01.013

Lombardo, D., Kiselev, M.A., Caccamo, M.T., 2019. Smart Nanoparticles for Drug Delivery Application: Development of Versatile Nanocarrier Platforms in Biotechnology and Nanomedicine. J. Nanomater. 2019, 1–26. https://doi.org/10.1155/2019/3702518

Marnett, L.J., DuBois, R.N., 2002. COX-2: A Target for Colon Cancer Prevention. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 42, 55–80. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.42.082301.164620

McGuckin, M.A., Eri, R., Simms, L.A., Florin, T.H.J., Radford-Smith, G., 2009. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases: Inflamm. Bowel Dis. 15, 100–113. https://doi.org/10.1002/ibd.20539

Megha, Kb., Joseph, X., Akhil, V., Mohanan, Pv., 2021. Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. Phytomedicine 91, 153712. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153712

Meziane, W., 2019. EFFET DE LA METFORMINE ET DU SELENITE DE SODIUM SUR LA VARIATION PHENOTYPIQUE FONCTIONNELLE DU MACROPHAGE HUMAIN CLASSIQUEMENT ACTIVÉ / MACROPHAGE TUEUR. WARDA, MEZIANE.

Misra, R., Acharya, S., Sahoo, S.K., 2010. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. Drug Discov. Today 15, 842–850. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.08.006

Mitchell, J.A., Warner, T.D., 2006. COX isoforms in the cardiovascular system: understanding the activities of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Nat. Rev. Drug Discov. 5, 75–86. https://doi.org/10.1038/nrd1929

Mosser, D.M., Edwards, J.P., 2008. Exploring the full spectrum of macrophage activation. Nat. Rev. Immunol. 8, 958–969. https://doi.org/10.1038/nri2448

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

Nascimento, R. de P. do, Machado, A.P. da F., Galvez, J., Cazarin, C.B.B., Maróstica Junior, M.R., 2020. Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models. Life Sci. 258, 118129. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118129

Nascimento, R.D.P.D., Machado, A.P.D.F., Galvez, J., Cazarin, C.B.B., Maróstica Junior, M.R., 2020. Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models. Life Sci. 258, 118129. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118129
Nathan, C., 2006. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. Nat. Rev. Immunol. 6, 173–182. https://doi.org/10.1038/nri1785
Nathan, C., Ding, A., 2010. Nonresolving Inflammation. Cell 140, 871–882. https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029
Nazarzadeh Zare, E., Makvandi, P., Tay, F.R., 2019. Recent progress in the industrial and biomedical applications of tragacanth gum: A review. Carbohydr. Polym. 212, 450–467. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.076
Nejatian, M., Abbasi, S., Azarikia, F., 2020. Gum Tragacanth: Structure, characteristics and applications in foods. Int. J. Biol. Macromol. 160, 846–860. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.214
Non-steroidal_anti-inflammatory_drugs_an_overview.pdf, n.d.
Okamoto, R., Watanabe, M., 2016. Role of epithelial cells in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. J. Gastroenterol. 51, 11–21. https://doi.org/10.1007/s00535-015-1098-4
Ordás, I., Eckmann, L., Talamini, M., Baumgart, D.C., Sandborn, W.J., 2012. Ulcerative colitis. The Lancet 380, 1606–1619. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60150-0
O'Shea, J.J., Schwartz, D.M., Villarino, A.V., Gadina, M., McInnes, I.B., Laurence, A., 2015. The JAK-STAT Pathway: Impact on Human Disease and Therapeutic Intervention. Annu. Rev. Med. 66, 311–328. https://doi.org/10.1146/annurev-med-051113-024537
Pacelli, S., Paolicelli, P., Avitabile, M., Varani, G., Di Muzio, L., Cesa, S., Tirillò, J., Bartuli, C., Nardoni, M., Petralito, S., Adrover, A., Casadei, M.A., 2018. Design of a tunable nanocomposite double network hydrogel based on gellan gum for drug delivery applications. Eur. Polym. J. 104, 184–193. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.04.034
Padil, V.V.T., Wacławek, S., Černík, M., Varma, R.S., 2018. Tree gum-based renewable materials: Sustainable applications in nanotechnology, biomedical and environmental fields. Biotechnol. Adv. 36, 1984–2016. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.008
Palamoor, M., Jablonski, M.M., 2014. Comparative study on diffusion and evaporation emulsion methods used to load hydrophilic drugs in poly(ortho ester) nanoparticle emulsions. Powder Technol. 253, 53–62. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.11.014
Palamoor, M., Jablonski, M.M., 2013. Synthesis, characterization and in vitro studies of celecoxib-loaded poly(ortho ester) nanoparticles targeted for intraocular drug delivery. Colloids Surf. B Biointerfaces 112, 474–482. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.07.039
Patil, K.R., Mahajan, U.B., Unger, B.S., Goyal, S.N., Belemkar, S., Surana, S.J., Ojha, S., Patil, C.R., 2019. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. Int. J. Mol. Sci. 20, 4367. https://doi.org/10.3390/ijms20184367
Patra, J.K., Das, G., Fraceto, L.F., Campos, E.V.R., Rodriguez-Torres, M.D.P., Acosta-Torres, L.S., Diaz-Torres, L.A., Grillo, R., Swamy, M.K., Sharma, S., Habtemariam, S., Shin, H.-S., 2018. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. J. Nanobiotechnology 16, 71. https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8
Paulson, S.K., Hribar, J.D., Liu, N.W., Hajdu, E., Bible, R.H., Piergies, A., Karim, A., 2000. Metabolism and excretion of [(14)C]celecoxib in healthy male volunteers. Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem. 28, 308–314.
Pearson, G., Robinson, F., Beers Gibson, T., Xu, B., Karandikar, M., Berman, K., Cobb, M.H., 2001. Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways: Regulation and

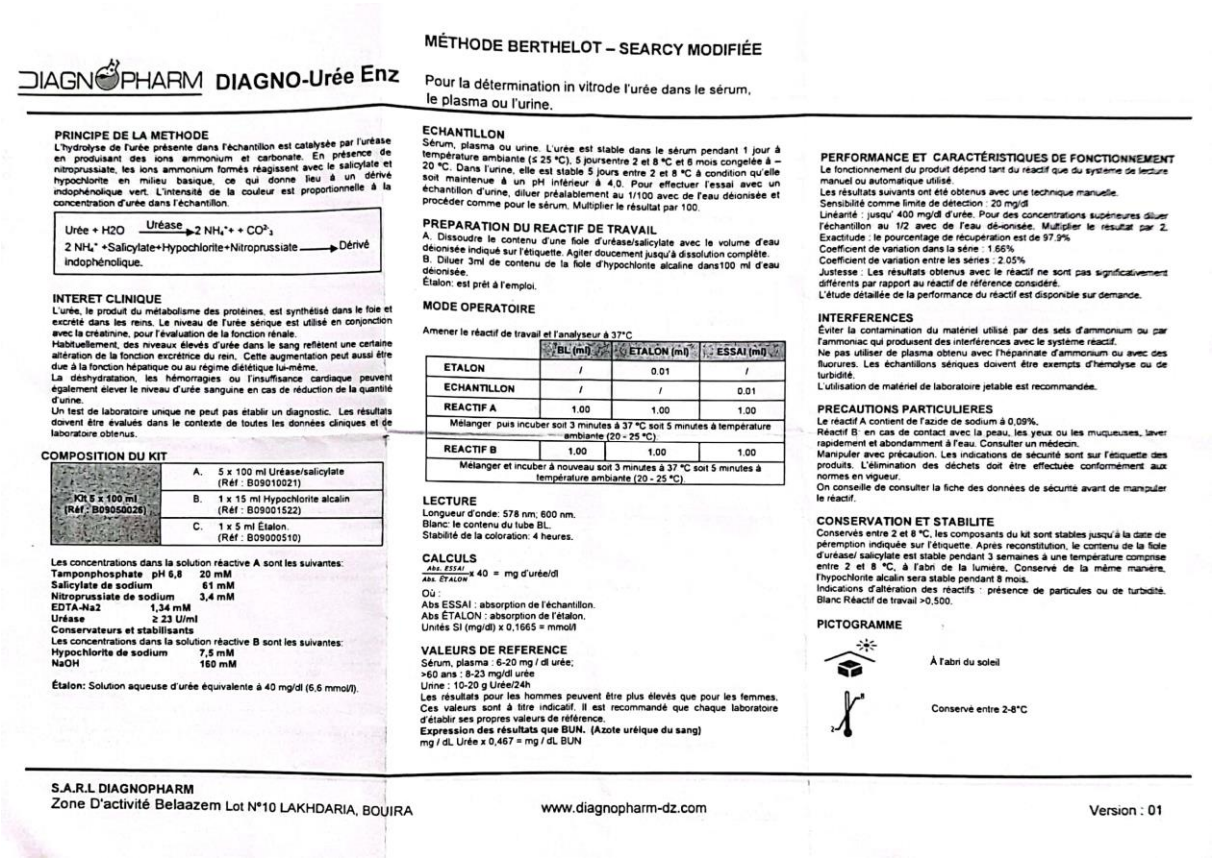
Physiological Functions*. Endocr. Rev. 22, 153–183. https://doi.org/10.1210/edrv.22.2.0428
Porter, R.J., Kalla, R., Ho, G.-T., 2020. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. F1000Research 9, F1000 Faculty Rev-294. https://doi.org/10.12688/f1000research.20805.1
Rath, M., MÃ¼ller, I., Kropf, P., Closs, E.I., Munder, M., 2014. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. Front. Immunol. 5. https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00532
Ricchi, P., Zarrilli, R., Di Palma, A., Acquaviva, A.M., 2003. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer: from prevention to therapy. Br. J. Cancer 88, 803–807. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600829
Robb, C.T., Regan, K.H., Dorward, D.A., Rossi, A.G., 2016. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. Semin. Immunopathol. 38, 425–448. https://doi.org/10.1007/s00281-016-0560-6
Rovedatti, L., Kudo, T., Biancheri, P., Sarra, M., Knowles, C.H., Rampton, D.S., Corazza, G.R., Monteleone, G., Di Sabatino, A., MacDonald, T.T., 2009. Differential regulation of interleukin 17 and interferon production in inflammatory bowel disease. Gut 58, 1629–1636. https://doi.org/10.1136/gut.2009.182170
Rudramurthy, G., Swamy, M., Sinniah, U., Ghasemzadeh, A., 2016. Nanoparticles: Alternatives Against Drug-Resistant Pathogenic Microbes. Molecules 21, 836. https://doi.org/10.3390/molecules21070836
Safayhi, H., Sailer, E.-R., 1997. Anti-Inflammatory Actions of Pentacyclic Triterpenes. Planta Med. 63, 487–493. https://doi.org/10.1055/s-2006-957748
Saha, D., Bhattacharya, S., 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. J. Food Sci. Technol. 47, 587–597. https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6
Schuch, A., Deiters, P., Henne, J., Köhler, K., Schuchmann, H.P., 2013. Production of W/O/W (water-in-oil-in-water) multiple emulsions: droplet breakup and release of water. J. Colloid Interface Sci. 402, 157–164. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.03.066
Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J.T., Sahebkar, A., 2018. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. J. Cell. Physiol. 233, 6425–6440. https://doi.org/10.1002/jcp.26429
Sheorain, J., Mehra, M., Thakur, R., Grewal, S., Kumari, S., 2019. In vitro anti-inflammatory and antioxidant potential of thymol loaded bipolymeric (tragacanth gum/chitosan) nanocarrier. Int. J. Biol. Macromol. 125, 1069–1074. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.095
Sherje, A.P., Jadhav, M., Dravyakar, B.R., Kadam, D., 2018. Dendrimers: A versatile nanocarrier for drug delivery and targeting. Int. J. Pharm. 548, 707–720. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.030
Shi, C., Pamer, E.G., 2011. Monocyte recruitment during infection and inflammation. Nat. Rev. Immunol. 11, 762–774. https://doi.org/10.1038/nri3070
Simmons, D.L., Botting, R.M., Hla, T., 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. Pharmacol. Rev. 56, 387–437. https://doi.org/10.1124/pr.56.3.3
Siu, Y.A., Hao, M.-H., Dixit, V., Lai, W.G., 2018. Celecoxib is a substrate of CYP2D6: Impact on celecoxib metabolism in individuals with CYP2C9*3 variants. Drug Metab. Pharmacokinet. 33, 219–227. https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2018.06.001
Srivastava, S., Dewangan, J., Mishra, S., Divakar, A., Chaturvedi, S., Wahajuddin, M., Kumar, S., Rath, S.K., 2021. Piperine and Celecoxib synergistically inhibit colon cancer cell proliferation via modulating Wnt/β-catenin signaling pathway. Phytomedicine 84, 153484. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153484

Stables, M.J., Gilroy, D.W., 2011. Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. Prog. Lipid Res. 50, 35–51. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2010.07.005
Stewart, A., Beart, P., 2016. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules: Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. Br. J. Pharmacol. 173, 631–634. https://doi.org/10.1111/bph.13389
Stramer, B.M., Mori, R., Martin, P., 2007. The Inflammation–Fibrosis Link? A Jekyll and Hyde Role for Blood Cells during Wound Repair. J. Invest. Dermatol. 127, 1009–1017. https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700811
Subhahar, M.B., Singh, J., Albert, P.H., Kadry, A.M., 2019. Pharmacokinetics, metabolism and excretion of celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in horses. J. Vet. Pharmacol. Ther. 42, 518–524. https://doi.org/10.1111/jvp.12757
Suzuki, K., 2019. Chronic Inflammation as an Immunological Abnormality and Effectiveness of Exercise. Biomolecules 9, 223. https://doi.org/10.3390/biom9060223
Tatiya-aphiradee, N., Chatuphonprasert, W., Jarukamjorn, K., 2018. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative colitis. J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. 30, 1–10. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2018-0036
Teigen, L.M., Geng, Z., Sadowsky, M.J., Vaughn, B.P., Hamilton, M.J., Khoruts, A., 2019. Dietary Factors in Sulfur Metabolism and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. Nutrients 11, 931. https://doi.org/10.3390/nu11040931
Thiel, C., Smit, I., Baier, V., Cordes, H., Fabry, B., Blank, L.M., Kuepfer, L., 2018. Using quantitative systems pharmacology to evaluate the drug efficacy of COX-2 and 5-LOX inhibitors in therapeutic situations. Npj Syst. Biol. Appl. 4, 28. https://doi.org/10.1038/s41540-018-0062-3
Tran, S., DeGiovanni, P., Piel, B., Rai, P., 2017. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. Clin. Transl. Med. 6. https://doi.org/10.1186/s40169-017-0175-0
Turner, M.D., Nedjai, B., Hurst, T., Pennington, D.J., 2014. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res. 1843, 2563–2582. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.05.014
Ungaro, R., Mehandru, S., Allen, P.B., Peyrin-Biroulet, L., Colombel, J.-F., 2017. Ulcerative colitis. The Lancet 389, 1756–1770. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32126-2
Valencia, G.A., Zare, E.N., Makvandi, P., Gutiérrez, T.J., 2019. Self-Assembled Carbohydrate Polymers for Food Applications: A Review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 18, 2009–2024. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12499
Van Linthout, S., Miteva, K., Tschope, C., 2014. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells. Cardiovasc. Res. 102, 258–269. https://doi.org/10.1093/cvr/cvu062
Vane, J.R., Botting, R.M., 1998. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. Inflamm. Res. 47, 78–87. https://doi.org/10.1007/s000110050284
Villiers, M.M. de, Aramwit, P., Kwon, G.S., 2008. Nanotechnology in Drug Delivery. Springer Science & Business Media.
Vinton, Z., Wolfe, K., Fisher, J., Brooks, A., 2023. The Effect of Celecoxib on the Progression of Calcific Aortic Valve Disease—Protective or Pathogenic? J. Clin. Med. 12, 2717. https://doi.org/10.3390/jcm12072717
Watson, N., Ding, B., Zhu, X., Frisina, R.D., 2017. Chronic inflammation – inflammaging – in the ageing cochlea: A novel target for future presbycusis therapy. Ageing Res. Rev. 40, 142–148. https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.10.002
Yao, Y., Zhou, Y., Liu, L., Xu, Y., Chen, Q., Wang, Y., Wu, S., Deng, Y., Zhang, J., Shao, A., 2020. Nanoparticle-Based Drug Delivery in Cancer Therapy and Its Role in Overcoming Drug Resistance. Front. Mol. Biosci. 7, 193. https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00193
Yeshi, K., Ruscher, R., Hunter, L., Daly, N.L., Loukas, A., Wangchuk, P., 2020. Revisiting Inflammatory Bowel Disease: Pathology, Treatments, Challenges and Emerging

Therapeutics Including Drug Leads from Natural Products. J. Clin. Med. 9, 1273. https://doi.org/10.3390/jcm9051273
Yin, J., Chen, Y., Zhang, Z.-H., Han, X., 2016. Stimuli-Responsive Block Copolymer-Based Assemblies for Cargo Delivery and Theranostic Applications. Polymers 8, 268. https://doi.org/10.3390/polym8070268
Yu, X., Trase, I., Ren, M., Duval, K., Guo, X., Chen, Z., 2016. Design of Nanoparticle-Based Carriers for Targeted Drug Delivery. J. Nanomater. 2016, 1–15. https://doi.org/10.1155/2016/1087250
Zhang, B., Zhang, Yuan, Xiong, L., Li, Y., Zhang, Yunliang, Zhao, J., Jiang, H., Li, C., Liu, Y., Liu, X., Liu, H., Ping, Y.-F., Zhang, Q.C., Zhang, Z., Bian, X.-W., Zhao, Y., Hu, X., 2022. CD127 imprints functional heterogeneity to diversify monocyte responses in inflammatory diseases. J. Exp. Med. 219, e20211191. https://doi.org/10.1084/jem.20211191
Zhou, Q., Zhang, L., Yang, T., Wu, H., 2018. Stimuli-responsive polymeric micelles for drug delivery and cancer therapy. Int. J. Nanomedicine Volume 13, 2921–2942. https://doi.org/10.2147/IJN.S158696

7 Annexe

La fiche technique de réactif de l'Urée :



DIAGNOPHARM **DIAGNO-Urée Enz**

MÉTHODE BERTHELOT – SEARCY MODIFIÉE

Pour la détermination in vitrode l'urée dans le sérum, le plasma ou l'urine.

PRINCIPE DE LA METHODE

L'hydrolyse de l'urée présente dans l'échantillon est catalysée par l'uréase en produisant des ions ammonium et carbonate. En présence de nitroprussiate, les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et hypochlorite en milieu basique, ce qui donne lieu à un dérivé indophénolique vert. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon.

Urée + H2O $\xrightarrow{\text{Uréase}}$ 2 NH_4^+ + CO^{2}_3

2 NH_4^+ +Salicylate+Hypochlorite+Nitroprussiate $\longrightarrow$ Dérivé indophénolique.

INTERET CLINIQUE

L'urée, le produit du métabolisme des protéines, est synthétisé dans le foie et excrété dans les reins. Le niveau de l'urée sérique est utilisé en conjonction avec la créatinine, pour l'évaluation de la fonction rénale.
Habituellement, des niveaux élevés d'urée dans le sang reflètent une certaine altération de la fonction excrétrice du rein. Cette augmentation peut aussi être due à la fonction hépatique ou au régime diététique lui-même.
La déshydratation, les hémorragies ou l'insuffisance cardiaque peuvent également élever le niveau d'urée sanguine en cas de réduction de la quantité d'urine.
Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

COMPOSITION DU KIT

Kit 5 x 100 ml (Réf : B09050026)	A.	5 x 100 ml Uréase/salicylate (Réf : B09010021)
	B.	1 x 15 ml Hypochlorite alcalin (Réf : B09001522)
	C.	1 x 5 ml Étalon. (Réf : B09000510)

Les concentrations dans la solution réactive A sont les suivantes:
Tamponphosphate pH 6,8 20 mM
Salicylate de sodium 61 mM
Nitroprussiate de sodium 3,4 mM
EDTA-Na2 1,34 mM
Uréase ≥ 23 U/ml
Conservateurs et stabilisants
Les concentrations dans la solution réactive B sont les suivantes:
Hypochlorite de sodium 7,5 mM
NaOH 160 mM

Étalon: Solution aqueuse d'urée équivalente à 40 mg/dl (6,6 mmol/l).

ECHANTILLON

Sérum, plasma ou urine. L'urée est stable dans le sérum pendant 1 jour à température ambiante (≤ 25 °C), 5 joursentre 2 et 8 °C et 6 mois congelée à – 20 °C. Dans l'urine, elle est stable 5 jours entre 2 et 8 °C à condition qu'elle soit maintenue à un pH inférieur à 4,0. Pour effectuer l'essai avec un échantillon d'urine, diluer préalablement au 1/100 avec de l'eau déionisée et procéder comme pour le sérum. Multiplier le résultat par 100.

PREPARATION DU REACTIF DE TRAVAIL

A. Dissoudre le contenu d'une fiole d'uréase/salicylate avec le volume d'eau déionisée indiqué sur l'étiquette. Agiter doucement jusqu'à dissolution complète.
B. Diluer 3ml de contenu de la fiole d'hypochlorite alcaline dans100 ml d'eau déionisée.
Étalon: est prêt à l'emploi.

MODE OPERATOIRE

Amener le réactif de travail et l'analyseur à 37°C

	BL (ml)	ETALON (ml)	ESSAI (ml)
ETALON	/	0.01	/
ECHANTILLON	/	/	0.01
REACTIF A	1.00	1.00	1.00
Mélanger puis incuber soit 3 minutes à 37 °C soit 5 minutes à température ambiante (20 - 25 °C)			
REACTIF B	1.00	1.00	1.00
Mélanger et incuber à nouveau soit 3 minutes à 37 °C soit 5 minutes à température ambiante (20 - 25 °C)			

LECTURE

Longueur d'onde: 578 nm; 600 nm.
Blanc: le contenu du tube BL.
Stabilité de la coloration: 4 heures.

CALCULS

$\frac{Abs.\ ESSAI}{Abs.\ ETALON}$ x 40 = mg d'urée/dl

Où :
Abs ESSAI : absorption de l'échantillon.
Abs ÉTALON : absorption de l'étalon.
Unités SI (mg/dl) x 0,1665 = mmol/l

VALEURS DE REFERENCE

Sérum, plasma : 6-20 mg / dl urée;
>60 ans : 8-23 mg/dl urée
Urine : 10-20 g Urée/24h
Les résultats pour les hommes peuvent être plus élevés que pour les femmes. Ces valeurs sont à titre indicatif. Il est recommandé que chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence.
Expression des résultats que BUN. (Azote uréique du sang)
mg / dL Urée x 0,467 = mg / dL BUN

PERFORMANCE ET CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé.
Les résultats suivants ont été obtenus avec une technique manuelle.
Sensibilité comme limite de détection : 20 mg/dl
Linéarité : jusqu' 400 mg/dl d'urée. Pour des concentrations supérieures diluer l'échantillon au 1/2 avec de l'eau dé-ionisée. Multiplier le resultat par 2.
Exactitude : le pourcentage de récupération est de 97,9%
Coefficient de variation dans la série : 1.66%
Coefficient de variation entre les séries : 2.05%
Justesse : Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.
L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

INTERFERENCES

Éviter la contamination du matériel utilisé par des sels d'ammonium ou par l'ammoniac qui produisent des interférences avec le système réactif.
Ne pas utiliser de plasma obtenu avec l'héparinate d'ammonium ou avec des fluorures. Les échantillons sériques doivent être exempts d'hémolyse ou de turbidité.
L'utilisation de matériel de laboratoire jetable est recommandée.

PRECAUTIONS PARTICULIERES

Le réactif A contient de l'azide de sodium à 0,09%.
Réactif B en cas de contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses, laver rapidement et abondamment à l'eau. Consulter un médecin.
Manipuler avec précaution. Les indications de sécurité sont sur l'étiquette des produits. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.
On conseille de consulter la fiche des données de sécurité avant de manipuler le réactif.

CONSERVATION ET STABILITE

Conservés entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après reconstitution, le contenu de la fiole d'uréase/ salicylate est stable pendant 3 semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière. Conservé de la même manière, l'hypochlorite alcalin sera stable pendant 8 mois.
Indications d'altération des réactifs : présence de particules ou de turbidité. Blanc Réactif de travail >0,500.

PICTOGRAMME

À l'abri du soleil

Conservé entre 2-8°C

S.A.R.L DIAGNOPHARM
Zone D'activité Belaazem Lot N°10 LAKHDARIA, BOUIRA

www.diagnopharm-dz.com

Version : 01