

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بوهران
Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biologie Moléculaire

Pouvoir antioxydant de la vitamine C sur les maladies inflammatoires intestinales et la réponse immunitaire chez les souris mâles BABL/c

Présenté par :

BOUARSA Fatima Zohra
BERROUBA Rajaa

Devant le jury :

Mme. CHABANE Fatima Zohra	MCB	ESSB Oran	Présidente
Mme. TBAHRITI Hadja Fatima	MCA	ESSB Oran	Encadreur
Mme. BOUDERBALA Hadjer	MAA	ESSB Oran	Examinatrice
Mme REDOUANE Dalal	MAA	ESSB Oran	Examinatrice

Année universitaire : 2019/2020



Remerciement

*Nous remercions ALLAH le tout puissant d'avoir nous donner le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail. Nous tenons à remercier notre promotrice Mme **Tbahriti** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordée, nous a permis de réaliser ce travail.*

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches.

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciement à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toute.



Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire :

*A mes très chers parents , source de vie , d'amour et
d'affection*

*A mes chères sœurs : Zineb , Soumia , Selsabîle ,
Khaira nour Elhouda*

A mon petit frère Moussa Abdallah

A mes nièces : Dounia , Meriem

A mes neveux : Ali , Abderrahmane, Mohammad

A Fayçal et Radjaa

A vous cher lecteur



Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la Santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie cette mémoire à ...

*Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à ma chère Mère **Nacira** et mon cher Père **Mohamed** pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents Pendant mes années d'études, A mes très cher frère **Imed Eddine** ,**Abd El Ilah** et A ma chère sœur **Sarah**, A ma chère cousine **Fatima Zohra**, A tous les membres de la famille **Berrouba** et **Kerrouche**, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection*

*Je dédie aussi ce mémoire à tous mes amis
(**Fatima** et **Meriem**)*

Enfin à toute personne qui m'ont encouragée ou aidée toute au long de Mes études.

Table des matures

Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Introduction	1
 Partie 1 : Synthèse bibliographie	
1. Microbiote	
1.1. Définition	3
1.2. Microbiote et Système immunitaire.....	3
1.3. Microbiote et pathologie.....	4
1.3.1. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.....	5
2. Acide ascorbique	
2.1. Définition et structure.....	5
2.2. Métabolisme de la vitamine C.....	6
2.3. Rôles physiologique de l'acide ascorbique.....	7
2.3.1. Effet métabolique.....	8
2.3.1.1. Fonctions du co-substrat enzymatique.....	8
2.3.1.2. Fonctions anti oxydantes.....	8
2.3.2. Effet anti-inflammatoire.....	8
 Partie 2 : Partie expérimentale	
I. Matériels & Méthodes	10
1. Animaux.....	10
1.1. Matériels biologique et condition d'élevage	10
1.2. Préparation des groupes expérimentaux	10
1.3. Mesure de la croissance pondérale.....	10

Table des matures

1.4. Mesure de la température corporelle.....	11
1.5. Sacrifice.....	11
2. Analyses biochimiques.....	12
2.1.Dosage sérique des sous-classes des immunoglobulines IgG2A par la method d'ELISA sandwich.....	12
2.2. Coupes histologiques	13
3. Analyse statistique.....	14
II. Résultats & discussion.....	15
1. Effet de la supplémentation en vitamine C sur les indices d'activité.....	15
1.1. Effet sur la croissance pondérale.....	15
1.2. Interprétation.....	15
1.3. Mesure de la température corporelle.....	16
1.4. Interprétation.....	16
2. Effet de la supplémentation en vitamine C sur la réponse antigénique.....	18
2.1. Titrage sérique des sous-classes des anticorps IgG2A.....	18
2.2. Interprétation.....	18
3. Etude histologique.....	21
3.1. Interprétation.....	23
III. Conclusion.....	25
IV. Référence bibliographiques.....	26
V. Annexe.....	33

Liste des Figures

Figure 1 : Interaction et synergie entre le microbiote et le système immunitaire.....	4
Figure 2 : La structure chimique de l'acide ascorbique.....	6
Figure 3 : Diagramme représentatif du protocole de gavage.....	11
Figure 4 : Protocole de préparation de la gamme étalon.....	12
Figure 5 : Titre en IgG2A sérique mesuré par la méthode ELISA directe chez les trois groupes de souris.....	20
Figure 6 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-écosine d'une souris témoin négatif	21
Figure 7 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-écosine d'une souris témoin positif	22
Figure 8 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-écosine d'une souris du groupe expérimental	22

Liste des Tableaux

Tableau I : Effet de la supplémentation en vitamine C sur le gain pondéral.....17

Tableau II : Effet de la supplémentation en vitamine C sur la variation de la température corporelle.....18

Liste des Abréviations

CD : Clusters de Différenciation

CU : Colite Ulcéreuse

DAI : Indice d'Activité de la maladie

DSS : Dextrane Sulfate de Sodium

GALT: Gut-Associated Lymphoid Tissue

IFN : Interférons

IL : Interleukine

LPS: Lipopolysaccharides

MC : Maladie de Crohn

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

MII : Maladies Inflammatoires de l'Intestin

NF- κ B: Nuclear Factor-kappa B

NO: Oxyde Nitrique

RNS : Espèces Réactives de Nitrogène

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

SLC23A1: Sodium-dependent vitamin C transporter

Th : Lymphocyte T auxiliaire ou « helper »

TLR : Récepteurs de type Toll « tool like receptor »

TMB : Tétraméthylbenzidine

TNF : Tumor Necrosis Factor

Treg : Lymphocytes T régulateurs

Ω 3-PUFA: ω 3 -acides gras polyinsaturés

Résumé

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), y compris la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse sont des maladies complexes et multifactorielles. Les suppléments nutritionnels tels que les antioxydants ont été suggérés pour le traitement de ces maladies. L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet anti-inflammatoire et antioxydant de la vitamine C sur l'inhibition et/ou la suppression de la colite ulcéreuse induite par le sulfate de dextrane sodique (DSS) chez la souris mâles BABL/c.

Trente-cis souris mâles âgés de 4 à 5 semaine, d'un poids moyen 22g ont servis pour notre protocole de 28 jours et ils ont été réparties en trois groupes. Un groupe témoin négatif recevait une solution saline de NaCl à 0.9% par gavage intra-gastrique durant toute la durée de l'expérimentation. Un groupe témoin positif gavé par DSS 4% pendant 5 jours puis par la solution saline de NaCl 0.9% jusqu'à la fin de l'expérimentation et un groupe expérimental gavé par DSS 4% pendant 5 jours puis par l'acide ascorbique à raison de 100mg/kg jusqu'à la fin de l'expérimentation. Une cinétique de la prise de poids et de la température corporelle a été effectuée à différents jours au cours de l'expérimentation. Au 28^{ème} jour, des prélèvements sanguins ont été effectués pour le dosage des sous-classes des immunoglobulines (IgG2A). Après le sacrifice des souris, des fragments de colon ont été prélevés pour une éventuelle étude histologique. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type. L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel SPSS 20.0. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que l'acide ascorbique était capable d'améliorer certains indices d'activité tels que la croissance et le gain pondéral enregistré chez le groupe supplémenté en vitamine C. d'autre part, l'augmentation de la température corporelle induite par l'administration du DSS est considérablement et significativement diminuée chez le groupe supplémenté en vitamine C. Le titrage sérique en immunoglobulines a révélé une diminution significative des teneurs sériques en IgG2A modulant ainsi la réponse immunitaire chez le groupe supplémenté en vitamine C. L'étude histologique révèle que la supplémentation en vitamine C a considérablement réparé les lésions du colon causées par l'agent inflammatoire et toxique le DSS, ceci est témoigné par l'élongation du colon, la réduction de l'infiltration lymphocytaire et l'amélioration de la hauteur des villosités.

Nos résultats suggèrent que l'effet antioxydant puissant de la vitamine C est capable de renforcer et/ou d'améliorer le système de défense par la modulation de la réponse immunitaire et la réduction de l'état inflammatoire, ainsi que la réparation des lésions tissulaires présentent chez les maladies inflammatoires intestinales.

Mots clés : Maladies inflammatoires intestinales ; Souris BALB/c ; Vitamine C ; Pouvoir antioxydant ; Réponses immunitaires inflammatoires.

Abstract

Inflammatory Bowel Disease (IBD), including Crohn's disease and ulcerative colitis are complex and multifactorial diseases. Nutritional supplements such as antioxidants have been suggested for the treatment of these diseases. The objective of our work is to study the anti-inflammatory and antioxidant effect of vitamin C on the inhibition and / or suppression of ulcerative colitis induced by sodium dextran sulfate(DSS) in BALB / c male mice.

Thirty-six male mice aged 4 to 5 weeks, with an average weight of 22 g, were used for our 28-day protocol and they were divided into three groups. A negative control group received saline solution of 0.9% NaCl by intragastric force-feeding throughout the duration of the experiment. A positive control group force-fed with 4% DSS for 5 days and then with 0.9% NaCl saline solution until the end of the experiment and an experimental group force-fed with 4% DSS for 5 days then with ascorbic acid at the right rate of 100mg / kg until the end of the experiment. Kinetics of weight gain and body temperature were taken on different days during the experiment. On the 28th day, blood samples were taken for the dosage of immunoglobulin (IgG2A) subclasses. After the mice were sacrificed, colon fragments were removed for histological study. The results are expressed as the mean \pm standard deviation. Statistical analysis of the data was performed with SPSS 20.0 software. The values were considered to be statistically significant for $p < 0.05$.

From the results obtained, we noticed that ascorbic acid was able to ameliorate certain activity indices such as growth and weight gain recorded in the group supplemented with vitamin C. on the other hand, the increase of the body temperature induced by the administration of DSS is considerably and significantly reduced in the group supplemented with vitamin C. Serum immunoglobulin titration revealed a significant decrease in serum IgG2A levels, thus modulating the immune response in the group supplemented with vitamin C. The histological study reveals that vitamin C supplementation considerably repaired the lesions of the colon caused by the inflammatory and toxic agent DSS, this is evidenced by the elongation of the colon, the reduction of lymphocyte infiltration and the amelioration of the height of the villi. Our results suggest that the powerful antioxidant effect of vitamin C is capable of strengthening and / or ameliorating the defense system by modulating the immune response and reducing the inflammatory state, as well as repairing tissue damage present in inflammatory bowel disease.

Keywords: Inflammatory bowel disease; BALB/c mice; Vitamin C ; Antioxidant power; Inflammatory immune responses.

الملخص

إن أمراض الأمعاء الالتهابية المزمنة (IBD) ، بما في ذلك داء كرون والتهاب القولون التقرحي هي أمراض معقدة ومتعددة العوامل. تم اقتراح المكملات الغذائية مثل مضادات الأكسدة لعلاج هذه الأمراض. الهدف من عملنا هو دراسة التأثير المضاد للالتهابات ومضادات الأكسدة لفيتامين C على تثبيط و / أو قمع التهاب القولون التقرحي الناتج عن كبريتات ديكستران الصوديوم (DSS) في ذكور الفئران BALB / c.

ثلاثون من الفئران الذكور من عمر 4 إلى 5 أسابيع، بمتوسط وزن 22 جم، استخدمت في بروتوكولنا لمدة 28 يومًا وتم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات. تلقت مجموعة تجريبية سلبية 0.9% محلول ملح كلوريد الصوديوم عن طريق التغذية القسرية داخل المعدة طوال مدة التجربة. مجموعة تجريبية إيجابية تم تغذيتها قسريًا بـ 4% DSS لمدة 5 أيام ثم بمحلول ملحي 0.9% NaCl حتى نهاية التجربة ومجموعة تجريبية تم تغذيتها قسريًا بـ 4% DSS لمدة 5 أيام ثم مع حمض الأسكوربيك بالمعدل الصحي 100 مغ/كغ حتى نهاية التجربة. تم قياس حركات زيادة الوزن ودرجة حرارة الجسم في أيام مختلفة خلال التجربة. في اليوم الثامن والعشرين ، تم أخذ عينات الدم لتحديد الفئات الفرعية من الجلوبيولين المناعي (IgG2A). بعد التضحية بالفئران ، تمت إزالة شظايا القولون لإجراء دراسة نسيجية. يتم التعبير عن النتائج كالمعتاد ± الانحراف المعياري. تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام برنامج SPSS 20.0. اعتبرت القيم ذات دلالة إحصائية لـ $p < 0.05$.

من النتائج التي تم الحصول عليها ، لاحظنا أن حمض الأسكوربيك كان قادرًا على تحسين مؤشرات نشاط معينة مثل النمو وزيادة الوزن المسجلة في المجموعة التي تم تغذيتها بالفيتامين C . من ناحية أخرى ، فإن الزيادة في درجة حرارة الجسم التي يسببها DSS تنخفض بشكل كبير وملحوظ في المجموعة التي تم تغذيتها بفيتامين C. كشفت معايرة الجلوبيولين المناعي في الدم عن انخفاض كبير في مستويات IgG2A في الدم ، وبالتالي تعديل الاستجابة المناعية في المجموعة التي تم تغذيتها بالفيتامين C. تكشف الدراسة النسيجية أن مكملات فيتامين C قد أصلحت إلى حد كبير آفات القولون التي يسببها العامل الالتهابي والسام DSS ، وهذا يشهد على استتالة القولون ، والحد من تسلل الخلايا الليمفاوية وتحسين من ارتفاع الزغب.

تشير نتائجنا إلى أن التأثير القوي المضاد للأكسدة لفيتامين C قادر على تعزيز و / أو تحسين نظام الدفاع عن طريق تعديل الاستجابة المناعية وتقليل الحالة الالتهابية ، وكذلك إصلاح تلف الأنسجة الموجود في مرض التهاب الأمعاء.

الكلمات المفتاحية : أمراض التهاب الأمعاء ؛ الفئران BALB / c ؛ فيتامين C ؛ القوة المضادة للأكسدة ؛ الاستجابات المناعية الالتهابية.

Introduction

Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont un groupe de maladies chroniques caractérisées par une inflammation aiguë et chronique du tube digestif (**Hoffenberg *et al.*, 1997**). Elles englobent plusieurs affections inflammatoires chroniques, notamment la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn. Bien que ces deux conditions partagent de nombreuses caractéristiques communes les diarrhées, les selles sanglantes, la perte de poids, les douleurs abdominales, la fièvre et la fatigue. L'étiologie des MICI est supposée être une activation dérégulée du système immunitaire muqueux, qui peut en partie être liée à des facteurs alimentaires (**Sakamoto *et al.*, 2005**). La relation entre le dysfonctionnement immunitaire muqueux et les MICI est illustrée par le fait que la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse sont associées à des gènes essentiels au maintien de la barrière épithéliale et à la régulation de la réponse immunitaire inné et adaptative (**Belkaid & Hand, 2014**). Un nombre croissant de preuves indique que les facteurs environnementaux (tabagisme, drogues, géographie, stress social), les facteurs psychologiques et des facteurs génétiques contribuent à promouvoir un processus immunopathologique qui mène à une inflammation chronique (**Nematgorgani *et al.*, 2017 ; Zhang & Li, 2014**). Les MICI sont également associées à de profonds changements dans la composition du microbiote intestinal, soulignant l'importance du microbiote dans l'étiologie des maladies (**Belkaid & Hand, 2014**). Malheureusement, il n'y a pas encore de remède, et les traitements de MICI visent uniquement à atténuer les symptômes, les traitements actuels comprennent des anti-inflammatoires et des immunosuppresseurs qui peuvent provoquer des effets secondaires graves. Cela justifie la recherche d'options de traitement alternatives, telles que les suppléments nutritionnels telles que les vitamines C et E, qui ne provoquent pas d'effets secondaires (**Vargas Robles *et al.*, 2017**).

La vitamine C (ou l'acide ascorbique) est l'un des principaux facteurs antioxydants des systèmes biologiques. Quelques études ont suggéré que l'acide ascorbique, est un cofacteur vital qui régule les réactions enzymatiques, joue un puissant antioxydant contre l'inflammation et stress oxydatif par activation intracellulaire des voies moléculaires. En piégeant les radicaux libres, l'acide ascorbique empêche l'oxydation de la membrane cellulaire et les blessures causées par les espèces réactives à l'oxygène (**Yan *et al.*, 2015**). Pour cette raison, les aliments riches en antioxydants ou les antioxydants administrés sous forme de suppléments sont appliqués à grande échelle dans le but d'atténuer les dommages induits par ces espèces réactives à l'oxygène tels que l'apoptose, l'altération de la modulation de la réponse immunitaire et l'immunité innée (**Moura *et al.*, 2015**).

A la lumière de ces données, notre travail vise d'apporter des éclaircissements et des preuves sur l'effet d'une supplémentation en acide ascorbique sur les maladies inflammatoires intestinales chez un modèle animal (souris mâles BALB/c) induites par le dextrane sulfate de

Introduction

sodium (DSS). Notre travail comporte deux sections, dont la première est une étude bibliographique. La deuxième section est la partie expérimentale, elle comporte deux parties, dans la première (matériel et méthodes) nous décrirons les méthodes utilisées dans notre travail. La deuxième partie exposera les résultats obtenus et la discussion à travers le dosage des biomarqueurs immunitaires (IgG2A), les coupes histologiques ainsi que la taille du colon et les indices d'activité de la maladie.

**Revue
Bibliographique**

1. Microbiote

1.1.Définition

Le corps humain est colonisé par de nombreuses bactéries différentes appelées collectivement microbiote. Il y a plus de cellules bactériennes en tant que cellules humaines dans le corps humain avec profils de microbiote uniques dans des niches spécifiques, peau, bouche, voies respiratoires et gastro-intestinales (GI) brochure (**Turnbaugh et al., 2007**). La colonisation bactérienne dans le tractus gastro-intestinal se produit pendant la naissance et peu après. Plus de 500 espèces différentes des bactéries peuvent coloniser l'intestin. La grande majorité des bactéries intestinales regroupent les *Firmicutes* et les *Bactéroïdes*, avec une proportion plus faible des *Actinobactéries* et des *Proteobacteria* (**Sekirov et al., 2010**). Le microbiote intestinal est communément appelé organe métaboliquement actif (**Philip & Bercik, 2017**).

Le site le plus densément colonisé du corps humain est le gros intestin, avec un nombre de cellules bactériennes approchant 10¹¹ par gramme de fèces. Dans des conditions normales, la grande majorité de ces bactéries intestinales sont obligatoirement anaérobies et les anaérobies facultatifs tels que les entérobactéries sont présentes à des densités beaucoup plus faibles (**Wilson, 2005**). Bien que la diversité globale du microbiote humain soit relativement haut, chaque individu est colonisé par un bien plus petit, unique, sous-ensemble d'espèces, qui s'assemblent progressivement sur les premières années de la vie (**Yatsunencko et al., 2012**). A l'âge adulte, la composition du microbiote semble être raisonnablement stable et résiliente au fil du temps chez d'un individu (**Walker, 2015**).

1.2.Microbiote et Système immunitaire

Outre ses propriétés de barrière, le microbiote intestinal impacte fondamentalement le système immunitaire. Cette découverte vient de l'observation des déficits immunitaires majeurs chez des animaux axéniques, c'est-à-dire nés et élevés stérilement (**O'Hara & Shanahan, 2006**). Dans ce type d'expérience, les souris axéniques présentent de nombreuses anomalies du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, diminution du nombre de lymphocytes dans la lamina propria, moins de plasmocytes dans les centres germinatifs, la diminution des lymphocytes T, diminution des taux d'immunoglobines sériques et de production de cytokines. Ces anomalies disparaissent une fois le microbiote de souris Wild Type est inoculé.

Le bon fonctionnement de l'immunité réside dans la collaboration étroite entre les bactéries du microbiote intestinal et les cellules immunitaires. Lorsqu'un antigène arrive à la muqueuse intestinale, il est capté par des récepteurs TLR présents à la surface des cellules épithéliales (**Male, 2019**). Certaines bactéries sont capables d'empêcher cette interaction par la production de mucus.

La barrière physico chimique constitue donc un premier niveau de protection, tandis que les immunités innée et acquise agissent à un second niveau. Le microbiote intestinal régule le nombre de cellules dendritiques locales, et stimule le développement de macrophages et monocytes. Les acides gras à chaîne courte comme le butyrate inhibent la production de cytokines pro-inflammatoires, tandis que l'acétate joue un rôle dans le recrutement de neutrophiles. L'interaction entre les bactéries commensales et les cellules dendritiques amène à la production d'IgA par les lymphocytes B, limitant ainsi, la pénétration de pathogènes dans la muqueuse intestinale. La population de lymphocytes T CD8⁺ dans l'espace intra-épithélial se maintient grâce aux signaux émis par le microbiote intestinal (Marteau & Doré, 2017). De même, le maintien de la population de lymphocytes T régulateurs, (ou Treg), est dû en parti au microbiote. Par ces multiples interactions, le microbiote intestinal joue un rôle majeur sur l'homéostasie du système immunitaire, et inversement (Figure 1) (Chevalier, 2018).

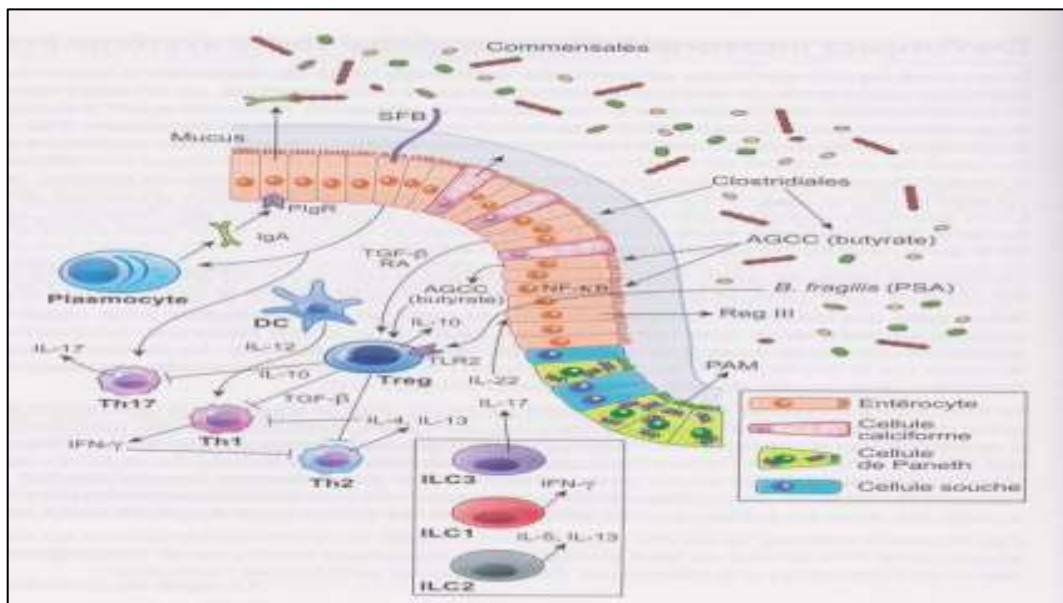


Figure 1 : Interaction et synergie entre le microbiote et le système immunitaire (Marteau & Doré, 2017)

1.3. Microbiote et pathologies

En dépit de la nature symbiotique de la relation hôte-microbiote, la forte charge microbienne sur la muqueuse intestinale représente sans aucun doute une menace persistante pour l'hôte. Pour faire face à ce risque, le système immunitaire gastro-intestinal a été forgé pour tolérer le microbiote intestinal en limitant les réactions inflammatoires (Hooper & Macpherson, 2010). Cependant, les

modifications majeures de la structure du microbiote intestinal, telles que les modifications au niveau de l'ordre ou du phylum bactérien affectent la fonctionnalité du microbiote. De cette dysbiose peut résulter une réponse immunitaire inappropriée de l'hôte. Ainsi il est maintenant suggéré que des pathologies liées à des troubles de l'immunité, ou des désordres métaboliques peuvent être déclenchés, ou aggravés, par les bactéries qui colonisent le tractus gastro-intestinal. Ainsi, au cours des dernières années, plus de 25 pathologies ou troubles fonctionnels ont été associés de façon plus ou moins convaincante avec des modifications du microbiote intestinal (**Cherbuy *et al.*, 2013**).

Le déséquilibre du microbiote ou dysbiose est, de façon récente, impliqué dans le déterminisme de nombreux états pathologiques : obésité, syndrome métabolique, maladies inflammatoires de l'intestin, maladies auto-immunes, cancer colorectal, cancer hépatique, mais aussi les dépressions et les troubles du spectre autistique (**Debré & Le Gall, 2014**).

1.3.1. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

La maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU) sont les principaux types des maladies inflammatoires de l'intestin (MII). La CU est généralement limitée au côlon et consiste en une inflammation muqueuse diffuse avec des neutrophiles prédominants dans la lamina propria et les cryptes (**Zhang & Li, 2014 ; Ungar & Kopylov, 2016**). En revanche, la MC peut impliquer une inflammation à n'importe quelle partie du tractus gastro-intestinal, mais les régions préférentielles typiques d'implication sont l'intestin grêle, en particulier l'iléon terminal et le côlon. Une interaction entre les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux, une altération de la régulation immunitaire, un dysfonctionnement de la barrière intestinale et des modifications de la flore intestinale sont liés à la pathogenèse et au développement des MII (**Zhang & Li, 2014**).

Des modifications de la composition et de la fonction du microbiote intestinal, qui est appelée dysbiose, ont attiré l'attention comme un important facteur pathogénique pour les MICI, avec l'avènement du séquençage de nouvelle génération. La dysbiose chez les patients atteints de MICI peut moduler tous les principaux facteurs pathogénétiques, tels que la fonction de barrière épithéliale altérée, la reconnaissance bactérienne défectueuse, la présentation de l'antigène et l'autophagie (**Aggeletopoulou *et al.*, 2019**).

2. Acide ascorbique

2.1. Définition et structure

Elle fût découverte pour la première fois au 18ème siècle. En 1928, « l'acide ascorbique » fût isolé du jus de citron, par le biochimiste hongrois **Albert Szent Györgyi** qui a reçu un prix Nobel pour sa découverte (**Szent-Gyorgi , 1927, 1928**). Structuellement, l'acide ascorbique est l'une des

vitamines les plus simples, Sa formule chimique est $C_6H_8O_6$, il est un cétolactone d'une masse moléculaire de 176,1g/mol (**Levine, 1986**) et qui est composé d'une fonction cétone, d'un cycle lactone, d'une fonction ènediol et de deux fonctions alcools : l'une primaire et l'autre secondaire (Figure 2) (**Yilmaz et al., 2008**).

La vitamine C ou acide ascorbique est un monosaccharide rencontrée chez les animaux et les plantes. Comme elle ne peut pas être synthétisée chez l'homme et doit être apportée par l'alimentation, c'est une vitamine essentielle (**Smirnoff, 2001**). La vitamine C est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques. Elle est requise dans la synthèse du collagène et des globules rouges et contribue au renforcement du système immunitaire (**Mane, 2012**). L'acide ascorbique est un agent réducteur et peut réduire et neutraliser les espèces réactives de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (**Padayatty et al., 2003**), il a été suggéré d'être un agent antiviral efficace (**Yilmaz et al., 2008**).

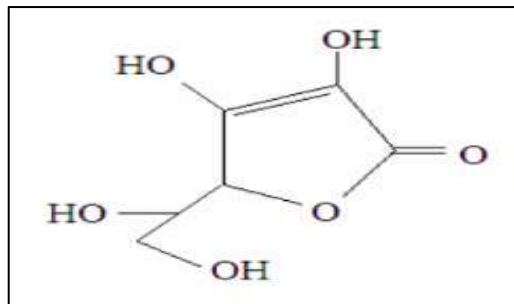


Figure 2 : La structure chimique de l'acide ascorbique (**Yilmaz et al., 2008**)

2.2.Métabolisme de la vitamine C

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble qui est sensible à l'oxygène (rapidement oxydée par l'oxygène de l'air) et à la chaleur qui favorise son oxydation (**Lewis et al., 2004**). Le pool total de l'organisme est de 1500 à 2500mg. Le turnover quotidien est de 45 à 60 mg/jour (soit 3 % du pool total). La demi-vie est de 10 à 20 jours. L'absorption de la vitamine C s'effectue au niveau de l'iléon, par un mécanisme de transport actif saturable au-delà de 180mg/jour. Le coefficient d'absorption est de 85 %. Après ingestion, la vitamine C passe rapidement dans le sang puis elle diffuse de façon variable dans tous les tissus (**Combs & McClung, 2017**).

Dans le sang total, se trouve 80 à 95% d'acide ascorbique ; 5 à 20 % de la vitamine C est circulante. La concentration est basse (5 à 15 mg/l) dans le plasma et les globules rouges et très élevée dans les plaquettes et les globules blancs (80 fois supérieure). La vitamine C est réabsorbée à plus de

90 % au niveau tubulaire rénal après filtration glomérulaire. Les voies d'élimination de la vitamine C sont principalement les urines, les matières fécales et la sueur. L'élimination urinaire est majoritaire, la voie fécale est peu importante, sauf lors de diarrhées (**Combs & McClung, 2017**).

L'hypophyse et la corticosurrénale sont les organes les plus riches en acide ascorbique alors que le muscle et le foie ont les concentrations les plus faibles. Toutefois, les reins, le cerveau et la rate contiennent, la majorité de la quantité en acide ascorbique (**Traxer et al., 2003**). Il n'existe ni synthèse ni stockage de la vitamine C dans l'organisme. Ceci est une particularité de l'homme. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais, le lait, la viande et les poissons n'en contiennent qu'une très faible quantité (0 à 2mg/100 g) (**Sekli-Belaidi, 2011 ; Fain, 2004**).

2.3. Rôle physiologique de l'acide ascorbique

La plupart des fonctions physiologiques de la vitamine C sont liés à ses propriétés d'oxydo-réduction. Il agit comme un cofacteur pour les hydroxylases et les enzymes monooxygénases impliquées dans la synthèse de collagène, de carnitine et de neurotransmetteurs (**Daud et al., 2016**).

L'acide ascorbique maintient le centre actif des ions métalliques sous forme réduite pour maintenir l'hydroxylase et l'oxygénase dans leur activité optimale (**Daud et al., 2016**). Il joue également un rôle dans l'élimination des carcinogènes et des nitrosamines cancérigènes, D'autres actions sont décrites telles que : l'intervention dans le catabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine, la transformation du cholestérol vers les acides biliaires, l'augmentation du métabolisme des toxiques et carcinogènes par le cytochrome P450 hépatique (**Daud et al., 2016**).

L'acide ascorbique favorise l'absorption du fer non hémique (réduction des ions ferriques en ions ferreux et chélation des ions ferriques) et joue un rôle dans la mobilisation du fer d'un compartiment à l'autre (fer circulant lié à la sidérophiline et fer de réserve lié à la ferritine) (**Fain, 2004**). En outre, l'acide ascorbique joue un rôle important dans la fonction immunitaire et semble agir comme régulateur biologique de la mucoviscidose transmembranaire transmise par le régulateur de la conductance de la mucoviscidose dans les cellules épithéliales (**Fain, 2004**).

La carence en vitamine C conduit à une variété des anomalies cliniques, y compris le scorbut, la mauvaise cicatrisation des plaies, l'instabilité vasomotrice et les troubles du tissu conjonctif. Une variante génétique d'un transporteur de l'acide ascorbique (SLC23A1) a été récemment identifiée comme étant associée à un risque accru de la maladie de Crohn (**Said & Nexo, 2018**).

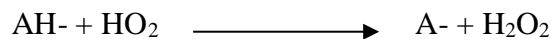
2.3.1. Effet métabolique

2.3.1.1. Fonctions du co-substrat enzymatique

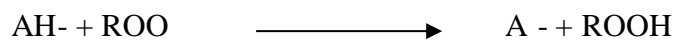
Les enzymes humaines utilisent l'acide ascorbique comme cofacteur, trois participent à l'hydroxylation du collagène et deux dans la biosynthèse de la carnitine. Des trois enzymes qui participent à l'hydroxylation du collagène, une est nécessaire à la biosynthèse de la catécholamine norépinéphrine (noradrénaline) ; un est nécessaire pour l'amidation des hormones peptidiques et participe au métabolisme de la tyrosine (**Granger & Eck, 2018**).

2.3.1.2. Fonctions anti oxydantes

Le rôle antioxydant de l'acide ascorbique découle de ses propriétés réductrices. C'est le plus puissant des antioxydants hydrosolubles. Il est capable de réagir directement avec les espèces réactives oxygénées et azotées (**Sekli-Belaidi, 2011**). Il réduit l'anion superoxyde sous forme acide ou basique selon la réaction suivante :



Il limite la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux peroxyde et les complexes oxoferryle :



La vitamine C contrecarre les effets potentiellement néfastes du stress oxydatif par sa capacité à éteindre l'oxygène réactif aqueux et les espèces azotées et en aidant à régénérer la vitamine E antioxydante (**Aguirre & May, 2008**). Il intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques fer dépendantes en tant que transmetteur d'électrons. Son pouvoir antioxydant l'implique dans les mécanismes de défense contre plusieurs pathologies (**Sekli-Belaidi, 2011 ; Ashor et al., 2016**).

2.3.2. Effet Anti inflammatoire

Les cytokines sont d'importantes molécules de signalisation cellulaire sécrétées par une variété de cellules immunitaires, toutes deux innées et adaptatif, en réponse à l'infection et à l'inflammation (**Parkin & Cohen, 2001**). Ils comprennent une large gamme de molécules y compris les chimiokines, les interférons (IFN), les interleukines, les lymphokines et le TNF, qui modulent les deux réponses immunitaires humorales et cellulaires, ce qui permet de réguler la maturation, la croissance et la réactivité cellulaires. Les cytokines peuvent provoquer des réponses pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires et la vitamine C semble moduler les cytokines systémiques et les dérivées des leucocytes de manière complexe (**Parkin & Cohen, 2001**).

Revue Bibliographique

L'incubation de la vitamine C avec les lymphocytes du sang périphérique a diminué les lipopolysaccharides (LPS) induites par la génération des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IFN- γ) et augmente la production d'IL-10 anti-inflammatoire, tout en n'ayant aucun effet sur les niveaux d'IL-1 β (Carr & Maggini, 2017 ; Portugal *et al.*, 2017 ; Molina *et al.*, 2014).

Matériels
&
Méthodes

1. Animaux

1.1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Dans ce travail, les expérimentations sont menées sur des souris de souche BALB/c, une souche congénique particulièrement appréciée dans les recherches immunologiques (Zhou *et al.*, 2016). Ces souris sont fournies par l'Institut Pasteur d'Alger et sont mises en reproduction et hébergées conformément à la réglementation dans l'animalerie de l'Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran. Les animaux sont maintenus dans des conditions favorables d'élevage à une température de 25 à 30°C et un taux d'humidité entre 50 et 60%, et des cycles de lumière-obscurité de 12 heures chacun. Ils ont un accès *ad libitum* à un régime standard pour rongeur (ONAB) et à de l'eau de robinet.

Dès l'âge de trois semaines, les nouveaux portés sont sevrés et triés selon le sexe ; les mâles serviront ainsi à la formation des différents groupes de notre étude. Les expériences sont effectuées en respectant le bien-être de l'animal, évitant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats.

1.2. Préparation des groupes expérimentaux

Un total de 36 souris mâles est utilisé au cours de cette expérimentation ; ces souris âgées de 4 à 5 semaines et pesant en moyenne 22 ± 2 g sont réparties en 3 groupes de 12 souris chacun comme suit (figure 3) :

- 1) Un groupe témoin négatif (TN) : Souris recevant par gavage une solution de NaCl 0.9% à raison de 0,3ml pendant toute la durée de l'expérimentation.
- 2) Un groupe témoin positif (TP) : Souris recevant par gavage une solution de dextran sulfate-sodium (DSS) 4% à raison de 0.3ml pendant 5 jours, puis la solution de NaCl 0.9% à raison de 0.3ml pendant le reste de l'expérimentation.
- 3) Un groupe expérimental (Vit C) : Souris recevant par gavage la solution de DSS 4% à raison de 0.3ml pendant 5 jours, puis sont gavés par une solution à base de la vitamine C à la dose de 100mg/kg à raison de 0.3ml jusqu'à la fin de l'expérimentation.

1.3. Mesure de la croissance pondérale

Le poids des souris est mesurés régulièrement chaque semaine, du début de l'expérimentation (J0) jusqu'au jour du sacrifice (J28). Une cinétique est établie pour évaluer l'effet inflammatoire du DSS et l'impact de la supplémentation en vitamine C sur l'évolution pondérale des animaux.

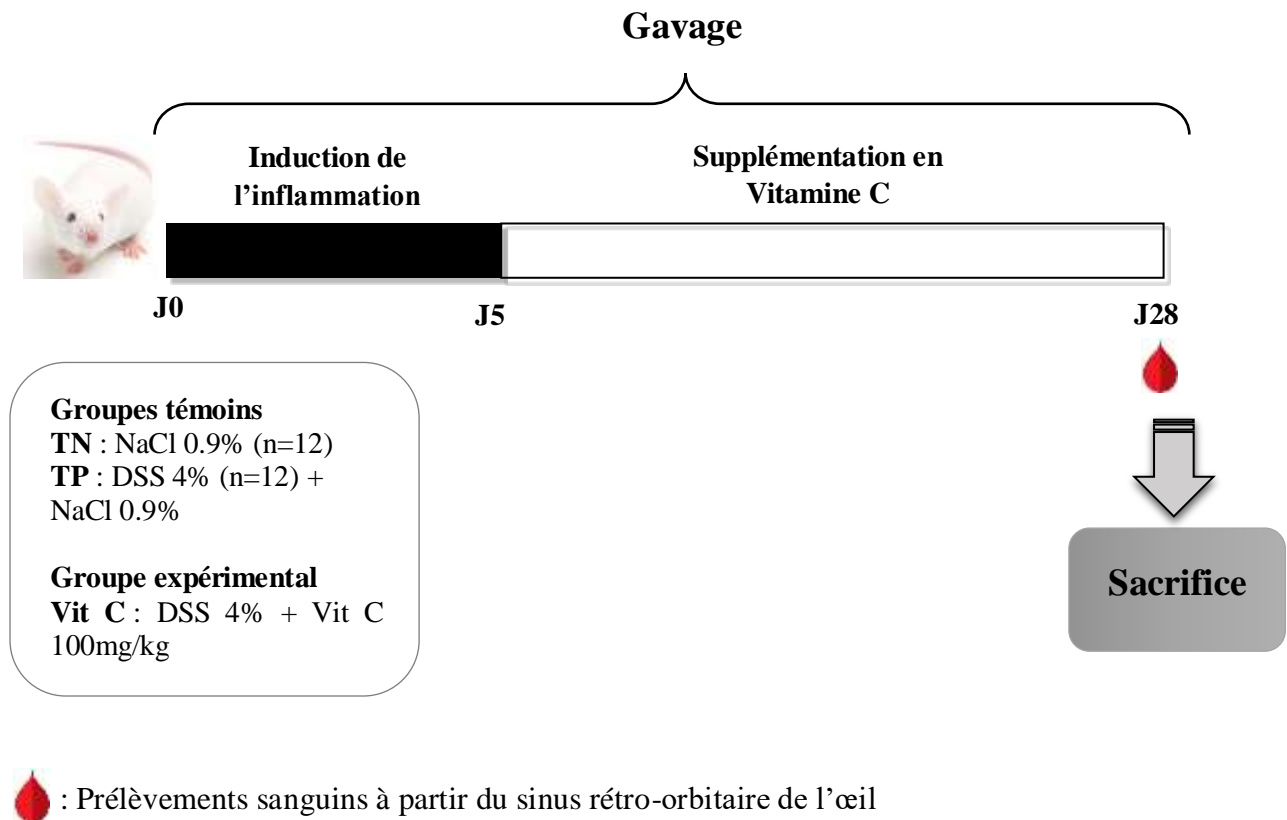


Figure 3 : Diagramme représentatif du protocole de gavage

1.4. Mesure de la température corporelle

La mesure de la température corporelle se fait par voie rectale en utilisant un thermomètre adapté pour souris, les prises sont effectuées chaque semaine du début de l'expérimentation (J0) jusqu'au jour du sacrifice (J28). Une cinétique est établie pour évaluer l'effet inflammatoire du DSS et l'impact de la supplémentation en vitamine C sur l'évolution de la température corporelle.

1.5. Sacrifice

Au cours de l'expérimentation, des prélèvements sanguins sont effectués à (J28) juste avant le sacrifice des animaux.

Le sang est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur, par ponction retroorbitaire. Il est centrifugé à 3500trs/min pendant 15min à 4°C et les sérums sont mis en parties aliquotes et conservés à -20°C, pour le dosage des sous-classes des immunoglobulines spécifiques IgG2A.

Après le sacrifice des animaux, une partie du colon est soigneusement prélevée rincée avec une solution de NaCl à 0.9 %, séchée puis fixée dans du formol pour l'étude histologique.

2. Analyses biochimiques

2.1. Dosage sérique des sous-classes des immunoglobulines IgG2A par la méthode d'ELISA sandwich

Un dosage ELISA sandwich consiste à piéger les IgG2A totales des échantillons entre un anticorps de capture adsorbé sur une microplaque de 96 puits et un anticorps de détection. L'anticorps de détection est dans la plupart des cas biotinylé. Cette caractéristique lui permet de se fixer à un complexe enzymatique (une peroxydase telle la streptavidine-HRP). La révélation des résultats est effectuée à l'aide d'un substrat chromogène, le 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) (BD OptEIA).

Le dosage des anticorps IgG2A totaux est réalisé par la technique ELISA sandwich à l'aide de plaques de 96 puits à fond plat (NUNC MaxiSorb), selon les étapes suivantes :

➤ La 1^{ère} étape consiste à préparer les différentes concentrations du standard selon le schéma ci-dessous (figure 4) :

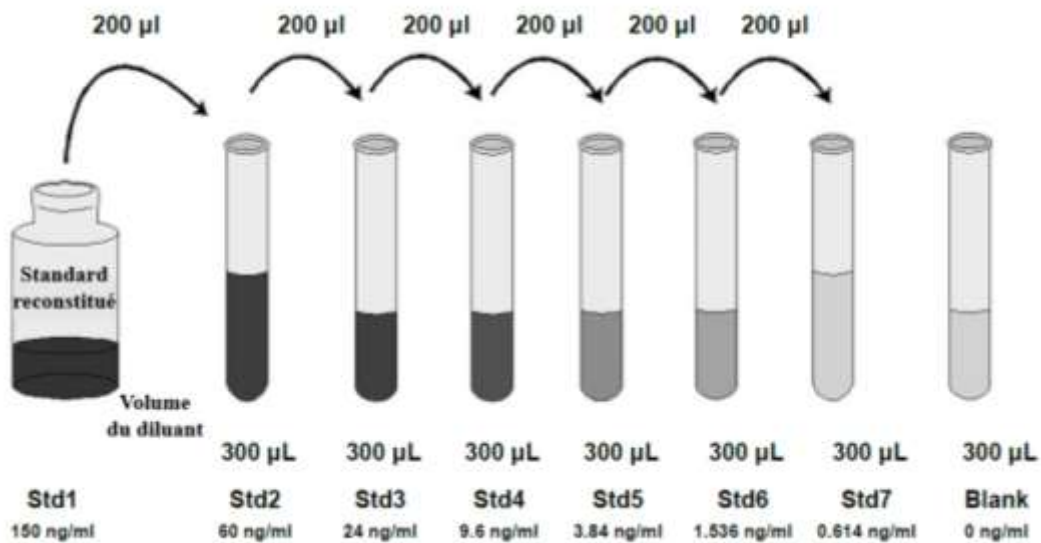


Figure 4 : Protocole de préparation de la gamme étalon

➤ En parallèle, les échantillons de sérum à tester sont dilués au 1/10 000^{ème} dans le tampon de saturation. Puis, un volume de 100µl de ces dilutions, ainsi que 100µl de chaque concentration du standard sont déposés dans les puits appropriés. La plaque est alors incubée pendant 02heures et demi à température ambiante, puis lavée 3 fois de suite au tampon de lavage.

➤ L'anticorps de détection, anti-IgG2A de souris (BD Pharmingen) est dilué au 1/1000^{ème} dans le tampon de saturation, 100 µl sont ensuite déposés dans chaque puits. La plaque est alors incubée pendant 1 heure à température ambiante et est ensuite lavée 3 fois au tampon de lavage.

- 100µl de streptavidine de Raifort (HRP) diluée à 1/1000 dans le tampon de saturation sont déposés dans chaque puits. La plaque est ensuite incubée pendant 45min à température ambiante, suivie de 3 lavages successifs au tampon de lavage.
- 100µl d'une solution contenant du TMB sont déposés dans chaque puits de la plaque.
- Une réaction colorée se développe en 30min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'ajout de 50µl de H₂SO₄2N permet de stopper la réaction.
- L'intensité de la réaction colorimétrique est mesurée à 450 nm à l'aide d'un lecteur (ELx800).

2.2. Coupes histologiques

Pour l'examen histopathologique, les fragments du gros intestin sont fixés dans 10% de formaldéhyde tamponné pendant 2 heures, puis coupé en segments annulaires (2–3 mm longueur) pour effectuer la déshydratation dans une série de bain d'alcool éthanol gradué (70/80/100°) pendant 3 heures.

L'éclaircissement avec du xylène ou toluène pendant 1 heure, enrobage dans de la paraffine fondu à 65°C pendant 4 heures. Préparation du moule, et inclusion de l'échantillon dans le moule contenant la paraffine fondue à 65°C. On laisse refroidir à la température ambiante de la pièce. Après démoulage, le bloc de paraffine est taillé pour préparation en coupe au microtome (réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5µm d'épaisseur, les coupes sont recueillies sur des lames de verre).

Déparaffinage et réhydratation : une succession de bains dans un solvant (2 bains) permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) puis dans des alcools à titre décroissant (100/90/70°), et un bain dans l'eau pure assurant la réhydratation finale.

Coloration : Elle est d'abord plongée dans l'hémalun (hématoxyline) pendant 5 à 10 minutes, rincée par trois bains successifs dans l'eau de conduite puis dans l'eau distillée.

La coupe est ensuite recouverte d'une goutte d'éosine (Eosine jaunâtre –Erythrosine aqueuse à 2%) directement sur la lame. Après deux minutes de coloration, la coupe est rincée par l'eau sous le robinet puis dans l'eau distillée. Il faut alors procéder à la déshydratation, opération inverse de celle menée au début, avant de pouvoir faire le montage dans la résine.

La déshydratation est réalisée en plongeant successivement la lame dans deux bains d'alcool à 95% puis dans deux bains d'alcool à 100 % et enfin dans deux bains de solvant (toluène ou xylène) (95/95/100/100°/solvant/solvant).

À la sortie du solvant, une goutte de résine de montage (par exemple, Eukit) est disposée sur la coupe et une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. La résine polymérise en une vingtaine de minutes. La préparation microscopique est alors prête pour l'observation.

3. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type. L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel SPSS 20.0 (IBM SPSS Statistics, USA). Nous avons comparé les moyennes des groupes en utilisant les modèles et les tests statistiques suivants : Tests de comparaison des groupes : test "t" de Student entre groupes, et ANOVA, un test paramétrique pour l'inégalité des Moyennes. Pour les résultats, nous avons retenu celles qui sont significatives et celles qui sont susceptibles de donner une signification. Ce choix est fondé sur la pertinence d'une recherche bibliographique approfondie. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$.

Résultats & Discussion

1. Effet de la supplémentation en vitamine C sur les indices d'activité

1.1. Effet sur la croissance pondérale

Le **tableau I** représente l'impact d'une supplémentation en vitamine C sur l'évolution des poids corporels chez les souris du groupe expérimental en comparaison avec les souris ayant reçu une solution de NaCl 0.9% (témoin négatif) ou les souris ayant reçu du DSS 4% puis la solution NaCl 0.9%.

Nos résultats montrent qu'à J0, aucune différence significative du poids corporel moyen n'a été notée entre les trois groupes. Cependant, une augmentation significative du poids corporel est notée à J28 comparé à J0 chez les groupes témoin négatif et supplémenté en vitamine C respectivement (25.51 ± 2.12 vs 19.32 ± 3.07 g) ($p < 0.001$); (33.54 ± 3.25 vs 22.09 ± 3.79 g) ($p < 0.001$). De plus, une diminution non significative du gain pondéral est notée au sein du groupe témoin positif à J50 comparé au J0 (21.12 ± 5.47 vs 23.95 ± 1.20 g). Ce groupe a enregistré une perte pondérale d'environ -2.83 ± 5.17 g.

Par ailleurs, les valeurs du gain pondéral révèlent une augmentation significative chez le groupe supplémenté en vitamine C à J7 comparé à J28 (2.98 ± 4.49 vs 11.45 ± 3.10 g) ($p < 0.001$). De même, le gain pondéral chez le groupe témoin négatif a augmenté de façon non significative à J28 par rapport au J7.

Tandis que, le gain pondéral chez le groupe supplémenté a significativement augmenté à J28 comparé au groupe témoin négatif (11.45 ± 3.10 vs 6.18 ± 4.32 g) ($p < 0.01$). Par contre, aucune différence significative du gain pondéral n'est notée à J7 chez le groupe supplémenté par rapport au groupe témoin négatif.

1.2. Interprétation

L'administration orale de DSS dans l'eau potable aux animaux de laboratoire induit la colite qui est pathologiquement similaire à la colite ulcéreuse chez l'homme, la colite aiguë et chronique peut être induite par l'administration de doses multiples de DSS. Il est considérée comme un bon modèle pour la CU humaine et il a été utilisé pour évaluer l'effet d'un traitement anti-inflammatoire (**Kitajima *et al.*, 2001**).

La perte du poids après l'administration du DSS est donc l'une des caractéristiques similaires à celles trouvées dans la CU humaine (**Buzza *et al.*, 2017**; **Head & Jurenka, 2003**). Plusieurs études ont montré l'effet du DSS sur la croissance pondérale, **Vargas-Robles (*et al.*)** a testé la progression de la maladie en déterminant l'indice d'activité de la maladie (DAI), composé de trois paramètres de perte de poids, de consistance des selles et de saignement périanal. Nos résultats ont

montré que le traitement par le DSS a conduit à une perte de poids en augmentation continue, comme prévu (**Vargas Robles et al., 2017**). La supplémentation en acide ascorbique a empêché l'augmentation de la perte de poids chez le groupe supplémenté et elle a amélioré la perte pondérale induite par le DSS (Tableau I). Ce résultat est similaire à celui obtenu par (**Yan et al., 2015**) qui ont montré que l'acide ascorbique est une option de traitement réalisable pour la colite induite par DSS chez la souris en démontrant qu'il a nettement amélioré la perte de poids et le gonflement de la rate. **Vargas-Robles (et al)** a aussi mis en évidence que le traitement avec les compléments alimentaires anti-inflammatoires et antioxydants, tels que la vitamine C, la vitamine E, la L-arginine, source d'oxyde nitrique (NO), et le ω 3-acides gras polyinsaturés (ω 3-PUFA) a retardé l'apparition de la colite. D'autres études récentes ont montré que certains végétaux qui ont un effet anti oxydant et anti inflammatoire à la fois tel que l'acide gallique (**Pandurangan et al., 2015**) ; S-adénosylméthionine, thé vert, et acide carboxylique (**Oz et al., 2005**) ont réduit l'activité de la maladie. Donc grâce à l'effet antioxydant de la vitamine C et ses propriétés anti inflammatoire les symptômes cliniques de la colite peuvent en effet être atténués.

1.3.Mesure de la température corporelle

A la différence des souris du groupe témoin négatif, dont la température corporelle est restée stable au cours de l'expérimentation, les souris du groupe témoin positif et du groupe supplémenté en vitamine C ont révélé une augmentation significative de la température corporelle à J7 après l'induction de l'inflammation par le DSS comparé à J0 dont les valeurs sont respectivement (35.25 ± 0.59 vs $35.91 \pm 0.39^\circ\text{C}$) ($p < 0.01$) et (35.25 ± 0.59 vs $36.07 \pm 0.72^\circ\text{C}$) ($p < 0.01$).

En outre, aucune différence significative de la température corporelle n'est notée à la fin de l'expérimentation chez les souris du groupe témoin positif et même chez les souris du groupe supplémenté en vitamine C (**Tableau II**).

1.4.Interprétation

La colite ulcéreuse et Maladie de Crôhn partagent de nombreuses caractéristiques communes telles que : les diarrhées, les selles sanglantes, la perte de poids, les douleurs abdominales, la fièvre et la fatigue (**Head & Jurenka, 2003**). L'augmentation remarquable de la température après l'administration du DSS peut être traduite par le déclenchement d'une inflammation chronique ou aigue. Les cytokines sont des molécules importantes de signalisation cellulaire sécrétées par une variété de cellules immunitaires, toutes deux innées et adaptative, en réponse à l'infection et à l'inflammation (**Parkin & Cohen, 2001**). Ils comprennent une large gamme de molécules y compris les chimiokines, les interférons (IFN), les interleukines, les lymphokines et le TNF qui

Résultats & Discussion

peuvent provoquer des réponses pro-inflammatoires (Carr & Maggini, 2017). Ces cytokines et chimiokines pro-inflammatoires sont fortement produites par divers types de cellules au cours de la colite (Yan *et al.*, 2009). De plus, Liu et Wang ont rapporté que le TNF- α libéré par les macrophages au cours de la première étape de l'inflammation (Debnath *et al.*, 2013 ; Liu & Wang, 2011)).

De nombreuses études ont montré que la vitamine C a un effet anti inflammatoire puissant en modulant les cytokines systémiques et les dérivées des leucocytes de manière complexe (Carr & Maggini, 2017). Yan (*et al.*) ont prouvé que le traitement à l'acide ascorbique a remarquablement diminué la production de TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-17 dans la colite induit par le DSS. Conformément à ces résultats, La vitamine C pourrait également diminuer l'expression de l'ARNm de cytokines pro-inflammatoires. Ces résultats suggèrent que l'acide ascorbique peut jouer un rôle dans la réduction des niveaux de cytokines pro-inflammatoires dans la colite induite par le DSS (Yan *et al.*, 2015), ceci indique aussi un phénotype anti-inflammatoire, donc ce qui justifie la diminution de la température corporelle après la supplémentation en vitamine C.

Tableau I : Effet de la supplémentation en vitamine C sur le gain pondéral

	Poids initial (g) J0	Poids (g) J7	Gain pondéral (g) à j7	Poids (g) J14	Poids (g) J28	Gain pondéral (g) à j50
Groupes témoins						
TN	19,32 \pm 3,07	23,30 \pm 2,09	3.97\pm3.22	24,38 \pm 2,09	25,51 \pm 2,12 ***	6.18\pm4.32
TP	23,95 \pm 1,20	23,32 \pm 3,08	-0.63\pm3.57	22,79 \pm 4,40	21,12 \pm 5,47	-2.83\pm5.17
Groupe expérimental						
Vit C	22,09 \pm 3,79	21,07 \pm 2,37	2.98\pm4.49	29,89 \pm 2,84	33,54 \pm 3,25 ###	11.45\pm3.10 £££ ; \$\$

Les valeurs reportées représentent les moyennes \pm écart type à J0 (Début de l'expérimentation), à J7 (la fin de l'induction de l'inflammation à base de DSS) et à J28 (la fin de l'expérimentation).

L'analyse de variance (ANOVA) est réalisée entre les 2 groupes témoin négatif et supplémenté, ainsi qu'à J0 et à J28 entre les souris témoin négatif et les souris supplémentées en vitamine C.

- *** p<0.001 TN : J0 vs J28
- ### p<0.001 Vit C : J0 vs J28
- £££ p<0.001 Vit C : J7 vs J28
- \$\$ p<0.01 TN vs Vit C à J28

Tableau II : Effet de la supplémentation en vitamine C sur la variation de la température corporelle

Groupes	Température Corporelle (°C)		
	J0	J7	J28
TN	35.25±0.59	35.25±0.59	35.22±0.75
TP	35.25±0.59	35.91±0.39 **	36.48±0.88
Vit C	35.25±0.59	36.07±0.72 ##	35.74±0.62

Les valeurs reportées représentent les moyennes ± écart type à J0 (Début de l'expérimentation), à J7 (la fin de l'induction de l'inflammation à base de DSS) et à J28 (la fin de l'expérimentation).

L'analyse de variance (ANOVA) est réalisée entre les souris du groupe témoin positif et les souris supplémentées en vitamine C.

** p<0.01 TP : J0 vs J7

p<0.01 Vit C : J0 vs J7

2. Effet de la supplémentation en vitamine C sur la réponse antigénique

2.1. Titrage sérique des sous-classes des anticorps IgG2A

La **figure 5** représente le titrage sérique des sous-classes en IgG2A chez les trois groupes de souris. Ce titrage a révélé une augmentation significative en IgG2a chez les souris témoins positives comparées aux souris témoins négatives (p<0.001).

En parallèle la comparaison du groupe supplémenté avec le groupe témoin négatif révèle une augmentation significative en IgG2A (p<0.001). Tandis que, une diminution significative des teneurs sériques en IgG2A est notée chez le groupe supplémenté en vitamine C comparé au groupe témoin positif (p<0.001).

1.1. Interprétation

Dans la CU, l'immunité humorale médiée par Th2 prévaut dans la réponse inflammatoire des muqueuses intestinales et les plasmocytes muqueux produisent une quantité d'immunoglobulines (**Kett et al., 1987**). Des niveaux élevés d'immunoglobulines, des IgG, des IgA et des IgM anti-commensaux sont trouvés dans la muqueuse et la lumière coliques enflammées chez les patients

Résultats & Discussion

humains et le modèle de colite induite par le DSS (**Oh *et al.*, 2020**). **Wu (*et al.*)** ont isolées des cellules immunitaires intestinales de 25 patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin et de 17 témoins subissant des résections chirurgicales pour une tumeur intestinale ou d'autres troubles. Les cellules mononucléaires intestinales iléales normales ont produit spontanément de plus grandes quantités d'IgA et d'IgM que les cellules normales du côlon. Dans les cellules de patients atteints de MII, la production d'IgA était significativement réduite, mais la production d'IgG était augmentée à la fois dans le côlon et l'iléon. L'altération de la production d'IgA et d'IgG dans les MICI a été confirmée en comparant la production d'immunoglobulines par les cellules mononucléaires enflammées à celle des zones non enflammées de la muqueuse chez six patients atteints de colite ulcéreuse distale (**Wu *et al.*, 1989**).

Des études historiques ont identifié une augmentation des taux d'IgG chez les patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin. En effet, les IgG intestinales et les IgG anti-commensales circulantes ont été observées dans les deux principales sous-classes des MICI, de la maladie de Crohn et de la colite ulcéreuse. Cependant, les conséquences fonctionnelles de cette réponse sont restées largement inconnu (**Castro-Dopico & Clatworthy, 2019**). **Kobayashi (*et al.*)** ont démontré que l'exposition au DSS conduit à la production de novo d'IgG anti-flagelline, un antigène IgG ciblé dominant dans les MICI humaines (**Kobayashi *et al.*, 2009**). **Castro-Dopico et Clatworthy** ont démontré et confirmé que la réponse d'IgG est plus répandue contre de multiples espèces bactériennes, y compris les commensaux et les pathobiontes. Ceci est dû en partie à l'émergence de novo des cellules B productrices d'IgG et des plasmocytes dans la muqueuse colique et le GALT (**Castro-Dopico & Clatworthy, 2019a**). Tous ces résultats sont en accord avec ce qu'on a constaté par rapport à l'augmentation du taux sérique d'IgG2A après l'administration du DSS. La vitamine C affecte également les réponses immunitaires sous plusieurs aspects. Certains rapports indiquent que la vitamine C joue un rôle dans la modulation du changement d'isotype des anticorps. Auparavant, des études ont démontré que l'administration d'une méga-dose de vitamine C à des souris, au moment de l'immunisation, abaissait remarquablement les titres sériques de deux isotypes Th2 spécifiques de l'antigène, IgG1 et IgE. La production d'anticorps résulte des interactions concertées entre plusieurs cellules immunitaires, y compris les cellules B, les cellules T et les cellules dendritiques. La vitamine C module la production d'anticorps dans les cellules B, soit par ses activités chimiques ou ses activités antioxydantes (**Woo *et al.*, 2010**), cela reste une hypothèse qui peut justifier pourquoi le taux d'IgG2A a diminué chez le groupe supplémenté.

Alternativement, la vitamine C peut influencer la production d'anticorps comme un effet direct sur les cellules B en modulant le niveau des espèces intracellulaires réactives à l'oxygène dans ces cellules. Certains rapports ont suggéré que les antioxydants pourraient réguler l'activation et les

Résultats & Discussion

fonctions des cellules B, y compris la commutation des isotypes. Il a été démontré que les polyphénols du tabac, la quercétine et la rutine, qui sont des antioxydants, inhibent les fonctions de présentation des antigènes des cellules du lymphome B (**Gong & Chen, 2003**). Sur la base de ces résultats, le rôle des ROS dans les fonctions des cellules B a été suggéré, et donc la vitamine C, est un antioxydant physiologique important qui réduit les niveaux de ROS intracellulaires, en modifiant directement leurs comportements et fonctions. La vitamine C module les comportements des cellules B activées, soit par inhibition de l'activation de NF- κ B, soit en abaissant les niveaux de ROS intracellulaires (**Woo et al., 2010**).

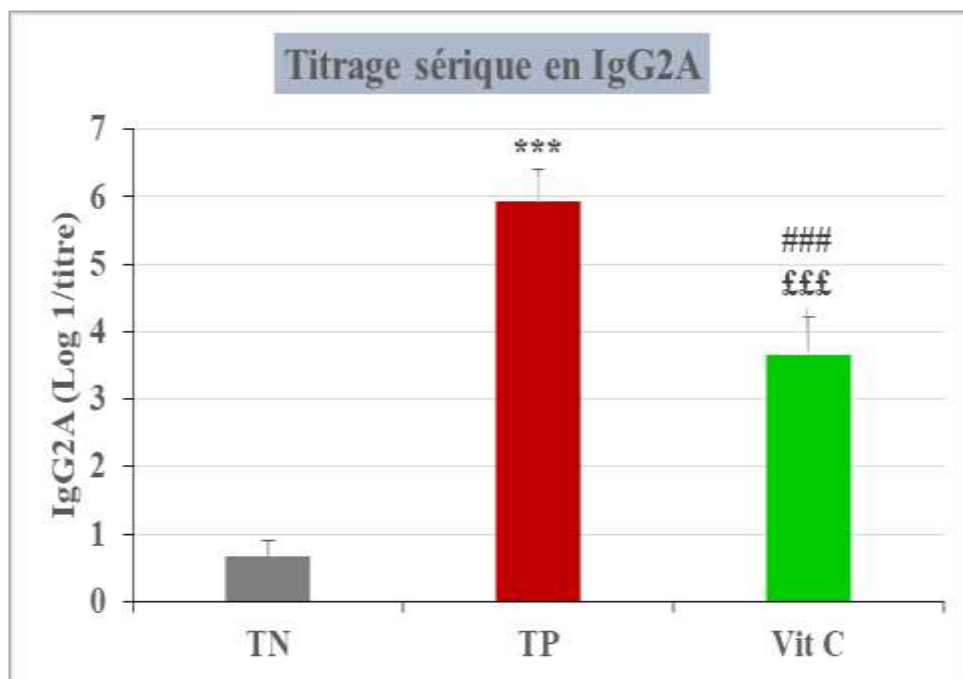


Figure 5 : Titre en IgG2A sérique mesuré par la méthode ELISA directe chez les trois groupes de souris

Les valeurs reportées représentent les moyennes \pm écart type. L'analyse de variance (ANOVA) est réalisée entre les souris du groupe témoin négatif et les souris des 2 groupes témoin positif et le supplémentées en vitamine C, ainsi que, entre le groupe témoin positif et le groupe supplémenté.

*** $p < 0.001$ TN vs TP

$p < 0.001$ TN vs Vit C

$p < 0.001$ TP vs Vit C

3. Etude histologique

L'aspect de la muqueuse colique, des souris témoin négatif intubées avec une solution saline durant 28 jours, n'indique aucune différence dans la structure de la muqueuse intestinale. Sur le plan structural, la hauteur des villosités est restée plus au moins stable durant la période de l'expérimentation avec un contour régulier (Figure 6).

La muqueuse intestinale des souris ayant subi une intubation intra gastrique avec du DSS à 4% pendant 5 jours puis avec la solution saline à 0.9% jusqu'au 28^{ème} jour, présentent une atrophie villositaire partielle (Figure 7), avec un élargissement accentué des villosités du colon, bordées par un épithélium pseudostratifié et une infiltration très prononcée des lymphocytes intra-épithéliaux. La hauteur villositaire a marqué une diminution très significative chez ce groupe témoin positif par rapport à celle du groupe témoin négatif et du groupe expérimental.

Cependant, les souris du groupe expérimental ayant été supplémentées en vitamine C, ne montrent aucune différence sur le plan structural ; la muqueuse intestinale est comparable à celle du groupe témoin négatif et la hauteur des villosités n'indique aucune différence significative avec celle du groupe témoin. La figure 8 indique très clairement l'unistratification de l'épithélium avec des villosités longues, fines et l'infiltration lymphocytaire est très peu marquée.

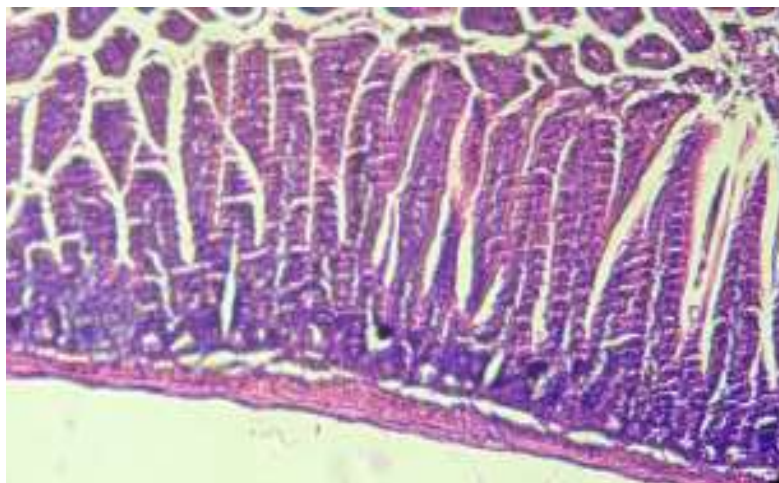


Figure 6 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-éosine d'une souris témoin négatif

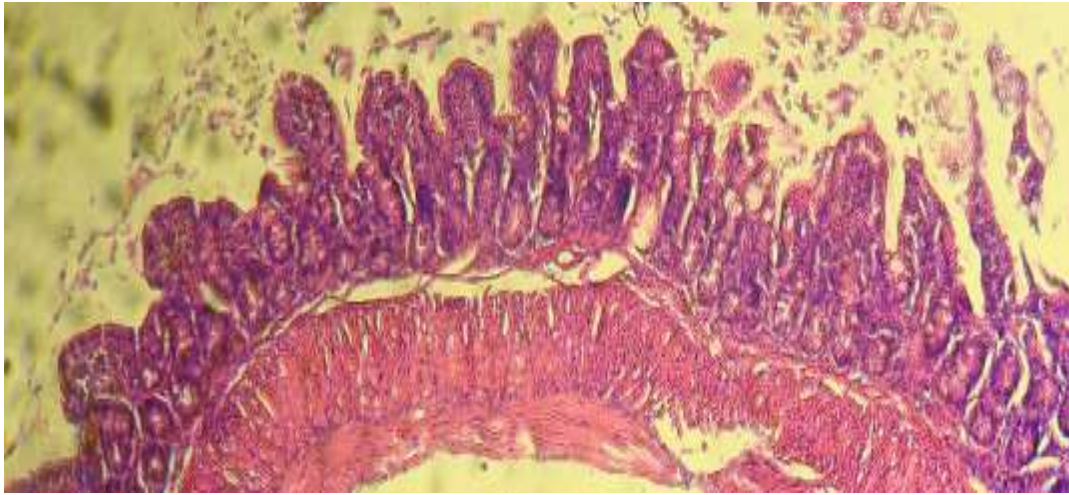


Figure 7 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-écosine d'une souris témoin positif

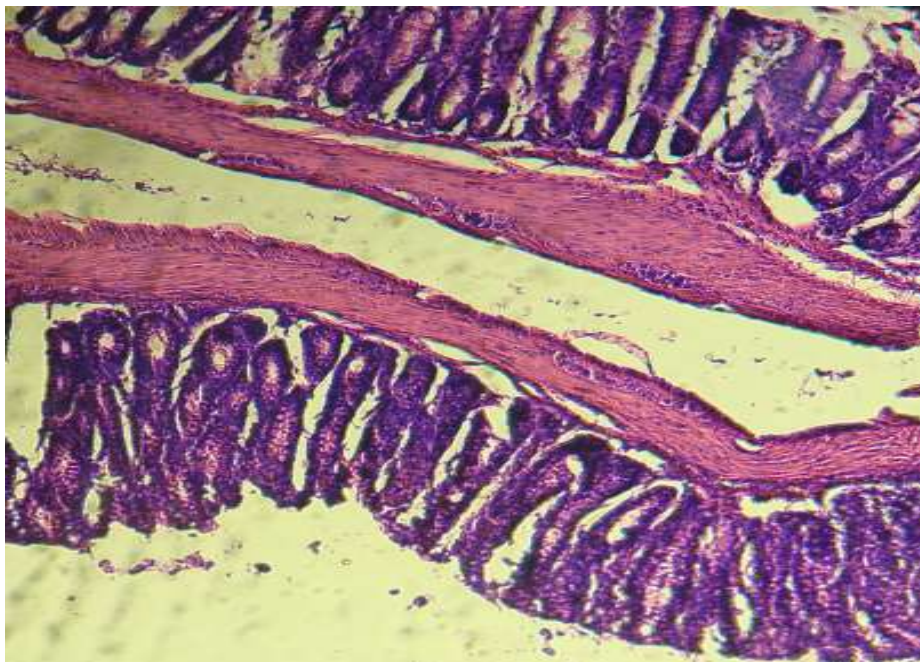


Figure 8 : Observation microscopique (G x 10) d'un fragment du colon coloré à l'hémalun-écosine d'une souris du groupe expérimental

3.1. Interprétation

L'administration du DSS a réduit la taille du colon et provoqué des lésions tissulaires remarquables ; ces résultats sont similaires à d'autres trouvés dans divers études (**Yan *et al.*, 2015**; **Vargas Robles *et al.*, 2017** ; **Oh *et al.*, 2020** ; **Håkansson *et al.*, 2015**). Le DSS porte une charge très négative apportée par les groupes sulfate, il est toxique pour les épithéliums coliques et induit des érosions qui compromettent finalement l'intégrité de la barrière, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité épithéliale colique, Pour des raisons inconnues, la pathologie étendue induite par le DSS se limite au gros intestin, en particulier au côlon distal où vivent un nombre énorme de micro-organismes (**Chassaing *et al.*, 2014**) .

L'activité inflammatoire dans les tissus intestinaux est un indicateur important d'infiltration de neutrophile dans la muqueuse intestinale, et cet paramètre indique une colite sévère (**Wirtz *et al.*, 2017**). Une barrière muqueuse colique altérée entraînant une augmentation de la perméabilité intestinale (**Head & Jurenka, 2003**). C'est un autre symptôme caractéristique de la physiopathologie des MICI (**Amasheh *et al.*, 2009**). La perméabilité accrue des voies gastro-intestinales et des cellules épithéliales résultent fréquemment de la destruction de jonctions serrées et la libération de différents médiateurs pro-inflammatoires, y compris ROS et RNS, qui contribuent activement à la cascade pathogène qui initie et perpétue la réponse inflammatoire dans l'intestin. Les principaux sites de production de RONS dans les MICI sont les neutrophiles activés et les macrophages. Lors d'une inflammation, ces cellules présentent une infiltration et une libération massives de grandes quantités de ces espèces. La production accrue du RONS est associé à une inflammation intestinale chronique dans les premiers stades de MICI, et leurs effets destructeurs sur l'ADN, les protéines et les lipides, ce qui peut contribuer à l'initiation et à la progression de la MC ainsi que la UC, entraînant une inflammation importante et une augmentation des quantités de cytokines telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF) $-\alpha$, les interleukines IL-6 et IL-1 β . Ces composés biologiques déclenchent la réponses et les symptômes pathologiques des MICI (**Moura *et al.*, 2015**). Le stress oxydatif pourrait facilement submerger les défenses de l'hôte et donc provoquer des dommages aux tissus et aux organes (**Yan *et al.*, 2015**).

Certains micronutriments trouvés dans les aliments, tels que l' α -tocophérol ou la vitamine E et l'acide ascorbique (vitamine C), agissent comme des défenses antioxydantes exogènes. Pour cette raison, les aliments riches en antioxydants ou en antioxydants administrés sous forme de suppléments sont appliqués à une grande échelle dans le but d'atténuer les dommages induits par les ROS. Aghdassi (*et al*) en 2003, a conduit le premier essai randomisé et contrôlé sur

Résultats & Discussion

l'antioxydant (les vitamines C et E) sur MC. Il ont observé une diminution importante des dommages oxydatifs (**Aghdassi *et al.*, 2003 ; Moura *et al.*, 2015**). Après l'administration de l'acide ascorbique le raccourcissement du côlon et les lésions histologiques induites par le DSS, ont été nettement amélioré, nos résultats sont similaires avec ces résultats antérieures Des résultats similaires obtenus par **Aghdassi *et al.*, 2003 ; Moura *et al.*, 2015 ; Yan *et al.*, 2015 ; Vargas Robles *et al.*, 2017**).

Conclusion

Conclusion

L'acide ascorbique reste l'un des antioxydants puissants dans la nature, grâce à sa capacité de piéger les radicaux libres issus du stress oxydant, il joue un rôle très important dans le traitement des maladies inflammatoires de l'intestin. Le présent travail a montré que le gavage du DSS pendant 5 jours a provoqué une inflammation au niveau de l'intestin puis le traitement avec un supplément oral enrichi en antioxydant qui est la vitamine C administré pendant 23 jours a amélioré la réponse clinique chez le groupe expérimental qui présente une inflammation intestinale modérée, ainsi que, cette supplémentation en vitamine C a renforcé les réponses immunitaires en diminuant le taux sériques des immunoglobulines les IgG2A. L'acide ascorbique a contribué à la réduction du stress oxydant et la réponse inflammatoire dans la colite induite par DSS. De plus, l'acide ascorbique peut diminuer les lésions intestinales et les dommages oxydatifs dans le côlon et les symptômes cliniques de colite caractérisée par la perte pondérale progressive et l'augmentation de la température corporelle. L'acide ascorbique exerce donc le potentiel de prévention et de traitement des maladies inflammatoires de l'intestin.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Aggeletopoulou I.**, Konstantakis C., Assimakopoulos S. F., & Triantos C. (2019). The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microbial Pathogenesis*, 137: 103774. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103774>
- Aghdassi E.**, Wendland B. E., Steinhart A. H., Wolman S. L., Jeejeebhoy K., & Allard J. P. (2003). Antioxidant vitamin supplementation in Crohn's disease decreases oxidative stress : A randomized controlled trial. *The American Journal of Gastroenterology*, 98(2): 348-353. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2003.07226.x>
- Aguirre R. & May J. M.** (2008). Inflammation in the vascular bed : Importance of vitamin C. *Pharmacology & Therapeutics*, 119(1): 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.05.002>
- Amasheh M.**, Grotjohann I., Amasheh S., Fromm A., Söderholm J. D., Zeitz M., Fromm M., & Schulzke J.-D. (2009). Regulation of mucosal structure and barrier function in rat colon exposed to tumor necrosis factor alpha and interferon gamma *in vitro* : A novel model for studying the pathomechanisms of inflammatory bowel disease cytokines. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 44(10):1226-1235. <https://doi.org/10.1080/00365520903131973>
- Ashor A. W.**, Siervo M., & Mathers J. C. (2016). Vitamin C, Antioxidant Status, and Cardiovascular Aging. In *Molecular Basis of Nutrition and Aging* (p. 609-619). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801816-3.00043-1>
- Belkaid Y. & Hand T.** (2014). Role of the Microbiota in Immunity and inflammation. *Cell*, 157(1): 121-141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Buzza M. S.**, Johnson T. A., Conway G. D., Martin E. W., Mukhopadhyay S., Shea-Donohue T., & Antalis T. M. (2017). Inflammatory cytokines down-regulate the barrier-protective prostasin-matriptase proteolytic cascade early in experimental colitis. *Journal of Biological Chemistry*, 292(26): 10801-10812. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.771469>
- Carr A. & Maggini S.** (2017). Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*, 9(11): 1211. <https://doi.org/10.3390/nu9111211>
- Castro-Dopico T. & Clatworthy M. R.** (2019). Mucosal IgG in inflammatory bowel disease –a question of (sub)class? *Gut Microbes*, 1:9. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1651596>
- Castro-Dopico T. & Clatworthy M. R.** (2019a). IgG and Fcγ Receptors in Intestinal Immunity and Inflammation. *Frontiers in Immunology*, 10: 805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00805>

Références Bibliographiques

- Chassaing B.**, Aitken J. D., Malleshappa M., & Vijay-Kumar M. (2014). Dextran Sulfate Sodium (DSS) Induced Colitis in Mice. *Current Protocols in Immunology*, 104(1): <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1525s104>
- Cherbuy C.**, Thomas M., & Langella P. (2013). Le microbiote intestinal : Une composante santé qui évolue avec l'âge. *Innovations Agronomiques*, 33, 37-46. <https://doi.org/10.13140/2.1.2936.8964>
- Chevalier J.** (2018). Microbiote intestinal : De la physiologie à la pathologie. Exemple de la maladie de Parkinson [Doctorat de pharmacie, Université Lille 2 – Droit et Santé]. <http://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/751108ea-1623-4e06-a5c4-5e7dc0ddfa66>
- Combs G. F. & McClung J. P.** (2017). General Properties of Vitamins. In *The Vitamins*, p. 33-58. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802965-7.00003-4>
- Daud Z. A. M.**, Ismail A., & Sarmadi B. (2016). Ascorbic Acid : Physiology and Health Effects. In *Encyclopedia of Food and Health*, p. 266-274. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00045-3>
- Debnath T.**, Kim D., & Lim B. (2013). Natural Products as a Source of Anti-Inflammatory Agents Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Molecules*, 18(6) : 7253-7270. <https://doi.org/10.3390/molecules18067253>
- Debré P. & Le Gall J.-Y.** (2014). Le microbiote intestinal. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 198(9) : 1667-1684. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31175-6](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31175-6)
- Fain O.** (2004). Carences en vitamine C. *La Revue de Médecine Interne*, 25(12) : 872-880. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2004.03.009>
- Gong J. & Chen S.** (2003). Polyphenolic antioxidants inhibit peptide presentation by antigen-presenting cells. *International Immunopharmacology*, 3(13-14): 1841-1852. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2003.08.010>
- Granger M. & Eck P.** (2018). Dietary Vitamin C in Human Health. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 83, p. 281-310. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.11.006>
- Håkansson Å.**, Tormo-Badia N., Baridi A., Xu J., Molin G., Hagslätt M.-L., Karlsson C., Jeppsson B., Cilio C. M., & Ahrné S. (2015). Immunological alteration and changes of gut microbiota after

Références Bibliographiques

dextran sulfate sodium (DSS) administration in mice. *Clinical and Experimental Medicine*, 15(1): 107-120. <https://doi.org/10.1007/s10238-013-0270-5>

Head K. A. & Jurenka J. S. (2003). Inflammatory bowel disease Part 1 : Ulcerative colitis--pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 8(3): 247-283.

Hoffenberg E. J., Deutsch J., Smith S., & Sokol R. J. (1997). Circulating antioxidant concentrations in children with inflammatory bowel disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(5): 1482-1488. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.5.1482>

Hooper L. V. & Macpherson A. J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 10(3): 159-169. <https://doi.org/10.1038/nri2710>

Kett K., Rognum T. O., & Brandtzaeg P. (1987). Mucosal subclass distribution of immunoglobulin G-producing cells is different in ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon. *Gastroenterology*, 93(5): 919-924. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(87\)90552-X](https://doi.org/10.1016/0016-5085(87)90552-X)

Kitajima S., Morimoto M., Sagara E., Shimizu C., & Ikeda Y. (2001). Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Germ-Free IQI/Jic Mice. *Experimental Animals*, 50(5): 387-395. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.387>

Kobayashi K., Qiao S., Yoshida M., Baker K., Lencer W. I., & Blumberg R. S. (2009). An FcRn-Dependent Role for Anti-flagellin Immunoglobulin G in Pathogenesis of Colitis in Mice. *Gastroenterology*, 137(5): 1746-1756.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.059>

Levine M. (1986). New Concepts in the Biology and Biochemistry of Ascorbic Acid. *New England Journal of Medicine*, 314(14): 892-902. <https://doi.org/10.1056/NEJM198604033141407>

Lewis S., Richard J., Sax N. I., & Knovel (Firm). (2004). Sax's dangerous properties of industrial materials (11th ed). Hoboken, N.J. : *Wiley Interscience*. <https://trove.nla.gov.au/version/46139149>

Liu X. & Wang J. (2011). Anti-inflammatory effects of iridoid glycosides fraction of *Folium syringae* leaves on TNBS-induced colitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2): 780-787. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.010>

Male D. (2019). Immunologie : *Aide mémoire illustré*. De Boeck Supérieur, 52-57.

Références Bibliographiques

- Mane S. (2012).** Etude comparée des propriétés antioxydantes des extraits d'écorces de tronc, des feuilles et des fruits (*coques et graines*) de *Khayasenegalensis* (Desr.) A [Thèse de doctorat en Pharmacie., université de ouagadougou]. <http://www.beep.ird.fr/collect/uouaga/index/assoc/M12837.dir/M12837.pdf>
- Marteau P. & Doré J. (2017).** Le microbiote intestinal : Un organe à part entière. *Ed John Libbey.*
- Molina N., Morandi A. C., Bolin A. P., & Otton R. (2014).** Comparative effect of fucoxanthin and vitamin C on oxidative and functional parameters of human lymphocytes. *International Immunopharmacology*, 22(1) : 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.06.026>
- Moura F. A., de Andrade K. Q., dos Santos J. C. F., Araújo O. R. P., & Goulart M. O. F. (2015).** Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease : Does it work? *Redox Biology*, 6: 617-639. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.10.006>
- Nematgorgani S., Agah S., Shidfar F., Gohari M., & Faghihi A. (2017).** Effects of Urticadioica leaf extract on inflammation, oxidative stress, ESR, blood cell count and quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Herbal Medicine*, 9: 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.05.002>
- Oh W.-S., Jung J.-C., Choi Y.-M., Mun J.-Y., Ku S.-K., & Song C.-H. (2020).** Protective effects of fermented rice extract on ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate in mice. *Food Science & Nutrition*, 8(3): 1718-1728. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1460>
- O'Hara A. M. & Shanahan F. (2006).** The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports*, 7(7) : 688-693. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400731>
- Oz H. S., Chen T. S., McClain C. J., & de Villiers W. J. S. (2005).** Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(5): 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.09.007>
- Padayatty S. J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon, O., Lee J.-H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S. K., & Levine M. (2003).** Vitamin C as an Antioxidant : Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1): 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
- Pandurangan A. K., Norhaizan M., Mohebal N., & Yeng L. C. (2015).** Gallic acid attenuates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in BALB/c mice. *Drug Design, Development and Therapy*, 3923. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S86345>

- Parkin J. & Cohen B. (2001).** An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270): 1777-1789. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04904-7)
- Philip V. & Bercik P. (2017).** Chapter 27—Gastrointestinal Microbiota and the Neural System. In M. H. Floch, Y. Ringel, & W. Allan Walker (Éds.), *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*: 243-24. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00027-6>
- Portugal C. C., Socodato R., Canedo T., Silva C. M., Martins T., Coreixas, V. S. M., Loiola E. C., Gess B., Röhr D., Santiago A. R., Young P., Minshall R. D., Paes-de-Carvalho R., Ambrósio A. F., & Relvas J. B. (2017).** Caveolin-1-mediated internalization of the vitamin C transporter SVCT2 in microglia triggers an inflammatory phenotype. *Science Signaling*, 10(472): eaal2005. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aal2005>
- Said H. M. & Nexo E. (2018).** Intestinal Absorption of Water-Soluble Vitamins : Cellular and Molecular Mechanisms. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract*: 1201-1248. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809954-4.00054-2>
- Sakamoto N., Kono S., Wakai K., Fukuda Y., Satomi M., Shimoyama T., Inaba Y., Miyake Y., Sasaki S., Okamoto K., Kobashi G., Washio M., Yokoyama T., Date C., & Tanaka H. (2005).** Dietary Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease : A Multicenter Case-Control Study in Japan. *Inflammatory Bowel Diseases*, 11(2): 154-163. <https://doi.org/10.1097/00054725-200502000-00009>
- Sekirov I., Russell S. L., Antunes L. C. M., & Finlay B. B. (2010).** Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews*, 90(3): 859–904.
- Sekli-Belaidi F. (2011).** Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly(3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : Application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin [Phd, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier]. <http://thesesups.ups-tlse.fr/1144/>
- Smirnoff N. (2001).** L-Ascorbic acid biosynthesis. In *Vitamins & Hormones* Vol. 61, p. 241-266. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(01\)61008-2](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(01)61008-2)
- Traxer O., Huet B., Poindexter J., Pak C. Y. C., & Pearle M. S. (2003).** Effect of Ascorbic Acid Consumption On Urinary Stone Risk Factors. *Journal of Urology*, 170(2): 397-401. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000076001.21606.53>

Références Bibliographiques

- Turnbaugh P. J.**, Ley R. E., Hamady M., Fraser-Liggett, C. M., Knight R., & Gordon J. I. (2007). The human microbiome project. *Nature*, 449(7164): 804–810.
- Ungar B. & Kopylov U.** (2016). Advances in the development of new biologics in inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterology : Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 29(3), 243-248. <https://doi.org/10.20524/aog.2016.0027>
- Vargas Robles H.**, Castro Ochoa K. F., Nava P., Silva Olivares A., Shibayama M., & Schnoor M. (2017). Analyzing Beneficial Effects of Nutritional Supplements on Intestinal Epithelial Barrier Functions During Experimental Colitis. *Journal of Visualized Experiments*, 119, 55095. <https://doi.org/10.3791/55095>
- Walker A. W.** (2015). Chapter 19—The Human Microbiota and Pathogen Interactions. In Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Éds.), *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)* p.:347-356. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00019-6>
- Wilson M.** (2005). Microbial inhabitants of humans : *Their ecology and role in health and disease*. Cambridge University Press.
- Wirtz S.**, Popp V., Kindermann M., Gerlach K., Weigmann B., Fichtner-Feigl S., & Neurath M. F. (2017). Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation. *Nature Protocols*, 12(7): 1295 - 1309. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.044>
- Woo A.**, Kim J.-H., Jeong Y.-J., Maeng H. G., Lee Y.-T., Kang J. S., Lee W. J., & Hwang Y. (2010). Vitamin C acts indirectly to modulate isotype switching in mouse B cells. *Anatomy & Cell Biology*, 43(1): 25. <https://doi.org/10.5115/acb.2010.43.1.25>
- Wu K. C.**, Mahida Y. R., Priddle J. D., & Jewell D. P. (1989). Immunoglobulin production by isolated intestinal mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 78(1): 37-41.
- Yan Y.**, Kolachala V., Dalmasso G., Nguyen H., Laroui H., Sitaraman S. V., & Merlin D. (2009). Temporal and Spatial Analysis of Clinical and Molecular Parameters in Dextran Sodium
- Yan H.**, Wang H., Zhang X., Li X., & Yu J. (2015). Ascorbic acid ameliorates oxidative stress and inflammation in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(11): 20245-20253.

Références Bibliographiques

Yatsunenko T., Rey F. E., Manary M. J., Trehan I., Dominguez-Bello M. G., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Baldassano R. N., Anokhin A. P., Heath A. C., Warner B., Reeder J., Kuczynski J., Caporaso J. G., Lozupone C. A., Lauber C., Clemente J. C., Knights D., & Gordon J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402) : 222-227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>

Yilmaz S., Sadıkoğlu M., Sağlıkoğlu G., Yagmur S., &Askin G. (2008). Determination of Ascorbic Acid in Tablet Dosage Forms and Some Fruit Juices by DPV. *International Journal of Electrochemical Science*, p: 3.

Zhang Y.-Z. & Li Y.-Y. (2014). Inflammatory bowel disease : Pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1): 91-99. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i1.91>

Zhou C., Ludmila T., Sun N., Wang C., Pu Q., Huang K., &Che H. (2016). BALB/c mice can be used to evaluate allergenicity of different food protein extracts. *Food and Agricultural Immunology*, 27(5): 589-603.

Annexe

Tableau III : Composition du régime ONAB

Constituants	Composition du régime en g/100g*
Protéine¹	20
Amidon de maïs²	61
Saccharose³	4.5
Huile⁴	5
Cellulose⁵	5
Mélange minéral⁶	3.5
Mélange vitaminique⁷	1

* Les régimes sont isoénergétiques (1.1778 MJ/100 g de régime) et sont donnés sous forme de poudre préparés au Laboratoire.

¹ (Caséine, ou mélange de protéines du lait/lactosérum, voir tableau de composition).

² Amidon de maïs en poudre.

³ Sucre cristallisé.

⁴ Huile de tournesol (Voir composition en acides gras).

⁵ Cellulose en poudre.

⁶ UAR 205 B (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), mélange minéral (mg/kg de régime); CaHPO₄; 17200, KCL; 4000, NaCL; 4000, MgO₂; 420, MgSO₄; 2000, Fe₂O₃; 120, FeSO₄ 7H₂O; 200, MnSO₄, H₂SO₄, H₂O; 98, CuSO₄ 5H₂O; 20, ZnSO₄; 80, CuSO₄; 80, CuSO₄, 7H₂O, KI; 0.32.

⁷ UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), mélange vitaminique (mg/kg de régime); Vit A; 39600 UI, Vit D3; 5000 UI, Vit B1; 40, Vit B2; 30, Vit B3; 140, Vit B6; 20, Vit B7; 300, Vit B12; 0,1, Vit C; 1600, Vit E; 340, Vit K; 3,80, Vit PP; 200, Choline; 2720, Acide folique; 10, Acide para-aminobenzoïque; 180, Biotine; 0,6, cellulose qsp; 20g.

Tableau IV : Taux sérique des IgG2A

	TN	TP	Vit C
IgG2A	0.67±0.22	5.93±0.48 ***	3.65±0.57 ###, £££

TN : Groupe témoin négatif ; **TP** : Groupe témoin positif ; **Vit C** : Groupe supplémenté en vitamine C.

Les valeurs reportées représentent les moyennes ± écart type. L'analyse de variance (ANOVA) est réalisée entre les souris du groupe témoin négatif et les souris des 2 groupes témoin positif et le supplémentées en vitamine C, ainsi que, entre le groupe témoin positif et le groupe supplémenté.

*** p<0.001 TN vs TP

p<0.001 TN vs Vit C

£££ p<0.001 TP vs Vit C