

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : biologie moléculaire et cellulaire / immunobiologie
approfondie

Thème

Recherche de l'effet pro-oxydant de la propolis dans le foie et le poumon chez des souris saines.

Présenté par:

M^{lle} BOUAOUINA Selma.

M^{lle} GUERROUM Meryem.

Devant le jury composé de :

- | | | |
|--|-------|----------------------|
| • Président: M ^r HEMICI. A | M.A.A | Université de Guelma |
| • Examinatrice : M ^{me} KSORI. S | M.A.A | Université de Guelma |
| • Encadreur: M ^{me} BOUSSENANE. N | M.A.A | Université de Guelma |

Juin 2014

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : biologie moléculaire et cellulaire / immunobiologie
approfondie

Thème

Recherche de l'effet pro-oxydant de la propolis dans le foie et le poumon chez des souris saines.

Présenté par:

M^{lle} BOUAOUINA Selma.

M^{lle} GUERROUM Meryem.

Devant le jury composé de :

- | | | |
|--|-------|----------------------|
| • Président: M ^r HEMICI. A | M.A.A | Université de Guelma |
| • Examinatrice : M ^{me} KSORI. S | M.A.A | Université de Guelma |
| • Encadreur: M ^{me} BOUSSENANE. N | M.A.A | Université de Guelma |

Juin 2014

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur de nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, **M^{me} BOUSSENANE Nadia Hanane**, Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce travail.*

Nos remerciements vont aux membres de jury qui ont bien accepté de juger ce travail :

***M^r HEMECLA**, maitre assistant à l'université de Guelma qui nous a fais l'honneur de présider le jury,*

***M^{me} KSORIS**, maitre assistante à l'université de Guelma, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribués à notre formation.

Nous n'oublions pas à remercier les membres de l'institut de pharmacie à Constantine, qui nous ont facilité l'accès à leur institut pour récupérer les souris.

*Ainsi que **M^r BENCHIKHA Saïd**, qui nous a ramené la propolis.*

*Nos profonds remerciements vont aux deux techniciennes de laboratoire de Biochimie et d'Immunologie : **Ratiba** et **Ghania** pour leurs disponibilités et surtout pour leur aide pendant la réalisation de ce travail.*

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement à ce travail.

Dédicace

A mes chers parents, Papa «Youcef» et Maman «Hakima», en témoignage de ma reconnaissance pour leurs patiences, sacrifice et leurs soutiens tout au long de ma carrière. Que DIEU les préserve et leur accorde une vie pleine de prospérité, santé et bonheur.

A mes chers frères, Mouhamed, Zakarya, Mosaab et à ma très chère sœur, Khaoula, Pour leurs amours, patiences et leurs soutiens éternels.

A mes grands parents.

A toute la famille GUERROUM et SELMI.

A madame BOUSSENANE.H Pour sa patience, son amitié et pour toutes les opportunités qu'elle nous a offert et qui seront déterminantes pour notre futur. Nous nous souvenons toujours clairement de ses nombreux conseils.

A tous mes amis et mes collègues, à tous ceux que j'aime.

Meryem

Dédicace

C'est avec une grande joie que je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents que dieu leur procure bonne santé et longue vie:

Mon père « Ismaïn » pour son soutien et ses encouragements.

Ma mère « Warda » la lumière de mes jours, la source de mes efforts.

*A mes chères sœurs, Sihem, Wafia, et mes chers frères, Abd el rahmen
, Hichem ainsi que mes beaux frères.*

*A Madame BOUSSENANE.H d'avoir accepté de nous suivre et qui
a géré avec compétence et efficacité le déroulement de notre travail et
bien l'orienté, pour ses aides précieuses et ses conseils judicieux.*

A tous mes amis et mes collègues, a tous ceux que j'aime.

Je tiens à dire que jamais je n'oublierais aucun de vous.

Selma

Table des matières

Introduction

I. La propolis -----	3
I.1. Historique -----	3
I.2. Définition -----	3
I.3. Origine botanique de la propolis -----	3
I.4. Origine de la propolis algérienne -----	4
I.5. La composition chimique -----	4
I.6. La récolte de la propolis -----	5
I.6.1. La récolte par les abeilles -----	5
I.6.2. La récolte par l'homme au niveau de la ruche -----	6
I.7. Les propriétés pharmacologiques et biologiques de la propolis -----	6
I.7.1. Action antibactérienne -----	6
I.7.2. Action antivirale -----	7
I.7.3. Action anti fongique -----	7
I.7.4. Action anti mycosique -----	7
I.7.5. Action cicatrisante et régénératrice -----	7
I.7.6. Action anticancéreuse et immuno-modulatrice -----	8
I.7.7. Action anesthésiante -----	8
I.7.8. Action antiparasitaire -----	8
I.7.9. Action anti-inflammatoire -----	8
I.7.10. Action anti-oxydante -----	9
I.7.11. Action pro-oxydante -----	9
I.7.12. Autres propriétés -----	9
I.8. Conservation de la propolis -----	9
II. Le stress oxydatif -----	11

II.1. Définition -----	11
II.2. Les causes du stress oxydatif -----	12
II.2.1. Les radicaux libres -----	13
II.2.2. Les espèces oxygénées activés (EOA) -----	13
II.2.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ -----	14
II.2.2.2. Le radical superoxyde (O ₂ ^{•-}) -----	15
II.2.2.3. Le radical hydroxyle (•OH) -----	16
II.2.2.4. Autres EOA -----	16
II.3. Systèmes de défense antioxydants -----	16
II.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques -----	17
II.3.1.1. La superoxyde dismutase (SOD) -----	18
II.3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GR) -----	18
II.3.1.3. La catalase -----	19
II.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques -----	19
II.3.2.1. Oligoéléments -----	19
II.3.2.2. Le glutathion -----	19
II.3.2.3. Les Ubiquinones et cytochrome c -----	19
II.3.2.4. Vitamine E et vitamine C -----	20
II.4. Oxydation des biomolécules -----	20
II.4.1. Peroxydation lipidique -----	20
II.4.2. Oxydation des protéines -----	21
II.4.3. Dommage de l'ADN -----	22
II.5. Conséquences de stress oxydatif -----	23
II.6. Les médicament anticancéreux sources des radicaux libres -----	23
II.6.1. Le cyclophosphamide et le stress oxydatif -----	25
III. Matériels et méthodes-----	27
III.1. Matériel végétal -----	27

III.1.1. Préparation de l'extrait brut -----	27
III.2. Traitement des animaux -----	27
III.3. Evaluation de l'activité pro-oxydante de la propolis <i>in vivo</i> -----	28
III.3.1. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes -----	28
III.3.2. Préparation de la fraction cytosolique -----	28
III.3.3. Dosage du MDA -----	28
III.3.4. Dosage du GSH -----	29
III.4. Analyse statistique -----	29
IV. Résultats et interprétations -----	30
V. Discussion -----	34
VI. Conclusion-----	37

Référence bibliographique

Annexe

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACR	Cyclophosphamide, alvocidib and rituximab.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
ATP	Adénosine triphosphate.
AGPI	Acide gras polyinsaturé.
CP	Cyclophosphamide.
Ca²⁺	Ion calcium.
DHLA	Acide dehydrolipoïque.
DTNB	Acide nitro benzoïque.
EEP	Extrait ethanologique de la propolis.
EOA	Espèces oxygénés activés.
Fe²⁺	Fer libre à l'état ferreux.
GSH	Glutathion.
GPX	Glutathion peroxydase.
GSH-R	Glutathion réductase.
GSSG	Glutathion oxydé.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène.
HGPT	Acide gras polyinsaturé.
HNE	Hydroxynonemal.
HSP	Heat shock proteins.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène.
LA	Acide lipoïque.
LOO•	Radical peroxyde lipidique.
LOOH	Hydroperoxyde lipidique.
MDA	Malondialdéhyde.
Mn-SOD	Superoxyde dismutase associée au manganèse.
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
$O_2^{\cdot-}$	Anion superoxyde .
$\cdot OH$	Le radical hydroxyle.
O_2	Dioxygène.
PM	Phosphoramide moutarde.
PTP	Pore de transition de perméabilité.
Q	Quinone.
RL	Radical libre.
ROS	Reactive oxygen species.
SOD	Superoxyde dismutase.
SOD	Superoxyde distumase.
SQH	Semiquinone.
TBAS	Substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique.
TCA	Acide trichloracétique.
UCP	Protéine découplante (UnCoupling Protein).

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 01 : a. Propolis dans la ruche -----	10
b. propolis brut (prise personnelle) -----	10
Figure 02 : le déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants -----	11
Figure 03 : les différentes causes du stress oxydatif -----	12
Figure 04 : Réduction de l'ubiquinone -----	15
Figure 05 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule -----	17
Figure 06 : Schéma des défenses anti oxydantes enzymatiques -----	18
Figure 07 : Schéma des réactions d'élimination des radicaux lipidiques par le vitamines E -----	20
Figure 08 : les conséquences de stress oxydatif -----	23
Figure 09 : Structure du cyclophosphamide -----	24
Figure 10 : Les conséquences variables de blessure induit par les métabolites réactifs et les ERO des drogues pour différentes membranes cellulaires ainsi que les mécanismes de défense Cellulaires -----	25
Figure 11 : variation des taux du MDA pulmonaire dosé dans la fraction cytosolique -----	32
Figure 12 : variation des taux du MDA hépatique dosé dans la fraction cytosolique -----	33
Figure 13 : variation du taux du GSH pulmonaire dosé dans la fraction cytosolique -----	34
Figure 14: variation du taux du GSH hépatique dosé dans la fraction cytosolique -----	35
Tableau 01 : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques -----	14

Introduction

Les produits de la ruche s'inscrivent dans des médecines naturelles ou dites douces, le plus souvent en complément des traitements conventionnels. Miel, gelée royale, propolis, pollen ou encore la cire et le venin d'abeilles trouvent ainsi des applications dans des domaines thérapeutiques très variés afin de contenter les exigences d'un public désireux de retrouver des moyens simples, naturels et sains de se soigner.

De plus en plus pratiquée dans le monde, l'api-thérapie ou l'usage médical de ces produits de la ruche fait l'objet de plusieurs études scientifiques mais qui restent toutefois encore trop peu nombreuses ou incomplètes.

La propolis est la substance composée par les abeilles pour protéger la ruche, grâce à certains éléments naturels comme les résines végétales secrétées par les bourgeons et l'écorce de certains arbres, notamment les peupliers, et grâce à la présence d'une quarantaine de flavonoïdes chez certains types de propolis, cette dernière peut agir comme anti-oxydante contre des radicaux libres, produits quotidiennement par l'organisme. Ces composés sont très réactifs et nécessaires à des mécanismes vitaux, cependant, la surproduction des radicaux libres, est néfaste pour l'organisme. Ils endommagent de nombreux composants cellulaires aussi divers que les protéines, les lipides ou l'ADN, et sont responsable de plusieurs pathologies y compris la maladie du siècle, le cancer ou les maladies chroniques tels que, le diabète.

Des études déjà réalisées, montrent l'intérêt de la propolis dans le traitement de maladies comme le cancer grâce à certaines substances à activité anti-tumorale comme les flavonoïdes et à l'action immuno-stimulatrice de celle-ci.

Toutefois, très peu de données ont été publiées sur l'effet pro-oxydant (induction du stress oxydatif) de la propolis.

Le but de notre étude est d'élucider le comportement du stress oxydatif dans la cellule normale pulmonaire et hépatique, soumise à l'effet d'un traitement à base de propolis de la région de Guelma.

Ce travail nous permettra donc :

- d'étudier l'effet pro-oxydant de l'extrait de propolis dans le foie et le poumon des souris saines par l'évaluation :

- de la peroxydation lipidique, en dosant le malondialdéhyde (MDA).
- taux du statut antioxydant glutathion (GSH).

synthèse bibliographique

I. La propolis

I.1. Historique

La propolis a été beaucoup utilisé au cours de l'histoire. Les Grecs l'utilisaient comme anti-septique et cicatrisant, les Egyptiens l'utilisaient pour embaumer leurs momies. Durant l'invasion romaine les légionnaires Romains gardaient de la propolis avec eux pour, se soigner et faire rapidement cicatriser leurs plaies avant qu'elles ne dégénèrent. (D'Almeida, Menezes, 2002)

En Amérique Centrale, les Incas l'utilisaient pour faire baisser la fièvre tandis qu'au XI^{ème} siècle, Avicenne, un savant Iranien, l'a recommandait aux soldats pour soigner et cicatriser rapidement leurs blessures. (Hegazi, 1997)

En France, on trouve quelques traces de son usage aux 18^{ème} et 19^{ème} siècles dans le traitement des plaies. Mais c'est surtout à l'occasion de la guerre des Boers en Afrique du Sud qu'elle connaît son apogée d'utilisation. (Lavie, 1975 ; Hegazi, 1997)

I.2. Définition

« La propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies par les abeilles sur certaines parties de végétaux (essentiellement les bourgeons et les écorces de certains arbres), substances qu'elles rapportent à la ruche et qu'elles modifient vraisemblablement en partie par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) ». (Donadieu, 2008)

Étymologiquement, « pro » (devant) et « polis » (cité) veut dire « devant la cité » ou « protège la cité ». Son nom résume bien à lui seul les propriétés et les rôles de cette substance d'origine à la fois végétale et animale. Bien que la composition soit relativement différente selon l'origine géobotanique, l'activité des diverses propolis reste commune. (Apimondia, 2001)

I.3. Origine botanique de la propolis

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'origine botanique de la propolis, en se basant sur leurs observations et dans certains cas en se référant à des connaissances chimiques faibles qui comportent des comparaisons entre échantillons de propolis et matériel végétal. (Segueni, N, 2011)

Deux théories avaient été énoncées quant à l'origine précise de la propolis. Certains auteurs pensaient que des variétés de propolis étaient obtenues à partir du pollen accumulé provisoirement dans les intestins de l'abeille. (Apimondia, 2001)

On sait maintenant que la propolis est formée à partir des résines végétales sécrétées par les bourgeons et l'écorce de certains arbres. La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source qu'elle attaque avec ses mandibules. Elle décolle les fragments de résine, les mélange avec ses mandibules et les incorpore à sa salive. Puis, tête redressée, elle recule afin d'étirer la particule saisie jusqu'à ce qu'elle soit transformée en un fil et que celui-ci se rompe. Enfin, elle entasse et loge les gouttelettes formées dans ses corbeilles et les rapporte à la ruche. (Apimondia, 2001 ; Jean-Prost, 2005 ; Donadiou, 2008)

I.4. Origine de la propolis algérienne

Selon la flore botanique disponible en Algérie, notre propolis est d'origine soit du pin (*Pinus sp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays, châtaignier, Cyprès (*Cupressus sp*, casuarina), et le peuplier (*Populus sp*). D'après une étude faite sur la propolis algérienne, récoltée dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tzi-Ouzou), on a remarqué que : les échantillons analysés ont comme source principale le Peuplier (*Populus nigra*) avec la participation d'autres espèces. (Moudir.N, 2004)

I.5 .La composition chimique

La composition chimique de la propolis est extrêmement complexe. Elle est composée essentiellement de cire, résine et produits volatiles. La cire est sécrétée par les abeilles. Les deux autres composants proviennent des sécrétions des plantes butinées lors de la collecte de la propolis. (Marcucci, 1995)

La composition chimique de la propolis a éveillé l'intérêt de nombreux chercheurs. Plusieurs travaux ont été effectués sur des propolis de différents pays et ont abouti aux conclusions suivantes: la composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique, (Bankova *et al.*, 2000 ; Negri *et al.*, 2000 ; Popova *al.*, 2002) l'espèce d'abeille, le temps de la récolte et la zone géographique, (Ghisalberti, 1979) mais elle présente tout de même qualitativement de nombreuses substances qui s'y retrouvent de façon constante et relativement stable. (Justin, 1996) D'une manière générale la propolis est composée de 45% à 55% de résine contenant principalement des flavonoïdes et des acides phénoliques ainsi que

leurs esters, (Bankova *et al.*, 1982, 1988) 25% à 35% de cire, 5% de pollen (Metzner *et al.*, 1997) et 5% d'autres composés organiques avec comme minéraux: calcium, magnésium, fer, zinc, silice, potassium, phosphore, manganèse, cobalt et vitamines: A, B1, B2, B3, C, E, H et la vitamine P. (Metzner *et al.*, 1997)

La composition chimique étant différente selon la zone géographique, les propolis des zones tropicales et tempérées présentent donc des constituants différents. (Ghisalberti, 1979 ; Ivanov, 1980)

I.6. La récolte de la propolis

I.6.1. La récolte par les abeilles

La récolte de la propolis est faite par un nombre restreint d'abeilles ouvrières butineuses (qui sont dans la dernière partie de leurs existences). Ces ouvrières sont très spécialisées dans cette activité puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie (la récolte du nectar par exemple) et cela même si la demande s'en fait sentir. Leur travail se limite au colmatage de l'intérieur de la ruche (Segueni.N, 2011).

- La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source. Ensuite elle l'attaque avec ses mandibules, enfin elle détache la particule saisie.

- Elle l'entasse dans l'une des corbeilles de ses pattes postérieures à l'aide de ses autres pattes pour accumuler ainsi progressivement une pelote (qui est en général un peu plus petite qu'une pelote de pollen) qu'elle rapportera à la ruche. Au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée. C'est une opération longue qui peut durer une à plusieurs heures. (Lavie, 1975)

La récolte, dépend de nombreux facteurs :

- **Facteurs saisonniers** : la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison (c'est à dire au printemps) soit le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche de l'automne (au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage). De plus, il faut noter que c'est au moment où la miellée de nectar est la plus abondante, que la récolte de la propolis est la moins importante, les abeilles semblent alors y consacrer moins de temps et moins d'efforts. (Lavie, 1975)

- **Facteurs géographiques:** il a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées propolisent plus que les ruches de plaines. (Hegazi, 1997)
- **Facteurs climatiques** (la température): les abeilles récolteuses de propolis déploient leur activité au cours des journées chaudes (température supérieure à 20°C) et en particulier pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (soit entre 10^h.00 et 15^h.30 en moyenne). Ceci est dû au fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires. (Hegazi, 1997)
- **Facteurs liés à la race d'abeille:** il est reconnu que les caucasiennes et certaines autres races d'Asie mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent, en général, davantage que les autres. Dans de nombreux autres cas, les données concernant ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises. (Lavie, 1975)

I.6.2. La récolte par l'Homme au niveau de la ruche

La propolis peut être récoltée selon deux techniques diverses :

- Raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse. La propolis alors dure et friable se détache mieux. (Lavie, 1975)
- Utilisation de différents dispositifs: grille moulée en matière plastique ou en métal. On pose cette grille comme couvre cadres. Les abeilles s'empressent d'obturer ces trous de propolis. Le moment idéal se situe après la récolte d'été, les abeilles se consacrent plus facilement à cette tâche, Cette dernière technique est meilleure. (Krell, 1996 ; Evangelist. R *et al.*, 2001)

La quantité récoltée est très variable. Elle est sous la dépendance de facteurs qui conditionnent la propre récolte par les abeilles. Elle se situe en moyenne entre 100g et 300g par ruche et par an. Cette propolis brute doit être purifiée avant toute utilisation. (Lavie, 1975)

I.7. Propriétés pharmacologiques et biologiques de la propolis

I.7.1. Action antibactérienne

L'association avec des antibiotiques classiques a permis de réduire les phénomènes de résistance et de baisser les dosages de ces produits. Son spectre antibactérien est très large, en agissant sur les staphylocoques (*Staphylococcus aureus* résistant à la methicilline), les streptocoques (*Streptococcus Mutans* impliqué dans les caries dentaires), *Helicobacter pylori*, les Bacillus, les salmonelles ou encore les microcoques. (Dandiyap. C *et al.*, 1991 ; Donadiou. Y, 1993)

Cette action est essentiellement due aux flavonoïdes, à certaines molécules aromatiques et à l'acide cinnamique. D'après une étude japonaise, la propolis inhibe la croissance microbienne en bloquant la division cellulaire et en détruisant la paroi bactérienne, et ceci principalement sur les bactéries gram +. (Abd El Hady. F. K, 1994)

I.7.2. Action anti virale

Grâce à la présence des flavonoïdes, la propolis est efficace contre le poliovirus, les virus de type *Herpes* (par des esters de l'acide caféique) et l'adénovirus et présente aussi une relative efficacité dans la grippe, l'hépatite B ainsi que le zona. Même les propolis qui ne contiennent que très peu de flavonoïdes, ont une action antivirale, expliquée par certains composants comme les sesquiterpènes ou les naphtho quinones (constituants actifs des essences végétales). (Abd el hady. F. K, 1994)

I.7.3. Action antifongique

La propolis stimule le système immunitaire en augmentant la production de macrophages, efficaces contre les affections fongiques. Ainsi, elle a une action contre les champignons pathogènes qui sont *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* ou encore *Microsporium canis*. (Dandiyap.C *et al.*, 1991)

I.7.4. Action anti-mycosique

Candida, trichophytons et ascomycètes sont sensibles à l'action de l'acide caféiques, du kaempferol, de la pinacembrine, de la galangine et d'autres substances contenues dans la propolis. Celle-ci trouve donc son intérêt contre les mycoses de la peau, des muqueuses ORL, du vagin ou encore les infections causées par *Monilia albicans* au niveau du tube digestif chez le nourrisson. (Dandiyap. C *et al.*, 1991)

I.7.5. Action cicatrisante et régénératrice

La propolis est bénéfique dans les cas de tissus abimés par exemple au niveau osseux ou dentaire en favorisant la régénération d'après certaines études sur l'animal. (Donadieu.Y, 1993)

Ces actions sont dues à l'activité anti-oxydante des flavonoides qui piègent les radicaux libres ainsi qu'à des acides phénoliques et certains acides aminés comme la choline (dans la division donc le renouvellement cellulaire) ou la proline (dans la synthèse de collagène, de l'élastine et de facteurs intervenant dans l'élasticité de la peau). (Era.S *et al* ;kosonocka L, 1990)

I.7.6. Action anticancéreuse et immuno-modulatrice

Les propriétés anti-carcinogènes de la propolis ont été démontrées par de nombreuses études sur l'animal. Elles sont dues aux flavonoïdes et à un dérivé de l'acide caféiques identifié comme étant un inhibiteur tumoral. (Dandiyap. C *et al.*, 1991)

Egalement, des agents cytotoxiques spécifiques des cellules cancéreuses comme l'Artepilline C et le diterpénoïde du Clerodane, ce dernier ayant prouvé son action dans le traitement du cancer de l'utérus, de par son action antivirale, et dans le cancer du foie. (Dandiyap. C *et al.*, 1991)

La propolis possède aussi une action immuno-modulatrice grâce au dérivé de l'acide caféiques (phenylester de l'acide caféiques) et une action bénéfique a été observée dans le traitement de l'asthme ainsi que dans les cas de cancers du sein et de certains types de leucémie. (Kosonocka. L, 1990 ; Dandiyap. C *et al.*, 1991)

I.7.7. Action anesthésiante

La propolis possède une action anesthésiante, ceci grâce à l'activité des huiles volatiles de celle-ci. Cette action n'est pas issue d'un mécanisme central comme la morphine et n'a pas d'effets indésirables comme la cocaïne (collapsus, malaises...). (Germes.G, 1978)

I.7.8. Action antiparasitaire

La propolis est efficace dans le cas d'infections par certains parasites comme le *Toxoplasma gondii* impliqué dans la toxoplasmose, particulièrement dangereux chez les femmes enceintes, ou encore contre les Trichomonas, *Trypanosoma cruzi* ou *Giardia lamblia*. Le produit de la ruche empêche la croissance du parasite, sans que les principes actifs de celui-ci ne soient clairement identifiés. (Dandiyap-C *et al.*, 1991)

I.7.9. Action anti-inflammatoire

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les flavonoïdes de la propolis lui confère cette action anti-inflammatoire, utile dans les inflammations de la cornée, de la trachée, du pharynx (lors d'intubation prolongée par exemple) ou dans l'arthrite rhumatoïdale. Cet effet est dose-dépendant et est plus fort pour les extraits aqueux de propolis ou pour la cire de propolis utilisée sous forme de cataplasme. (Dandiyap.C *et al.*, 1991)

I.7.10. Action anti-oxydante

Grace à la présence d'une quarantaine de flavonoïdes chez certains types de propolis, l'activité anti-oxydante est particulièrement élevée et se rapproche de celle du vin ou du thé. Les flavonoïdes s'opposent ainsi à l'oxydation des lipides et leur transformation en radicaux

libres. La propolis a donc des effets bénéfiques dans le traitement des affections du foie, dans la cataracte, dans l'artériosclérose et dans les dégénérescences liées à l'âge. (Era.S et al)

I.7.11. Action pro-oxydante

Une étude récente a prouvé que la propolis est pro oxydante à la dose de 300mg / kg. (Sobocanec. S et al., 2006)

I.7.12. Autres propriétés

La propolis peut également être utilisée chez les personnes atteintes de radiations ionisantes ou dans le cadre d'hyperacidité gastrique, ceci en freinant la sécrétion d'acide de l'estomac grâce à la lutéoline, l'apigénine, la chrysine et l'artepilline C qui a une action directe sur *Helicobacter pylori*. (Era.S et al., Dandiyap.C et al., 1991)

I.8. La conservation de la propolis

La propolis doit être conservée à l'abri de la lumière, de l'humidité, de la chaleur et doit être utilisée aussi fraîche que possible. (figure1.a.b) On peut la conserver sous forme lyophilisée, ce qui lui permet de garder toutes ses propriétés sur une très longue durée. (Donadieu.Y, 1987 ; Vannier.P, 1998 ; Dorvault.F ; Mainh-Ha, 1999)



Figure 1.a : Propolis dans la ruche. (Doravault.F, Mainh-Ha, 1999)



Figure 1.b: propolis après la récolte. (Prise personnelle)

II. Stress oxydatif

II.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant ou oxydatif se définit comme le résultat d'un déséquilibre entre la somme de production des pro-oxydants ou radicaux libres et le total des anti-oxydants disponibles qui sont là pour éviter l'apparition de dégâts cellulaires souvent irréversibles (Figure02). (Sies H, 1991)

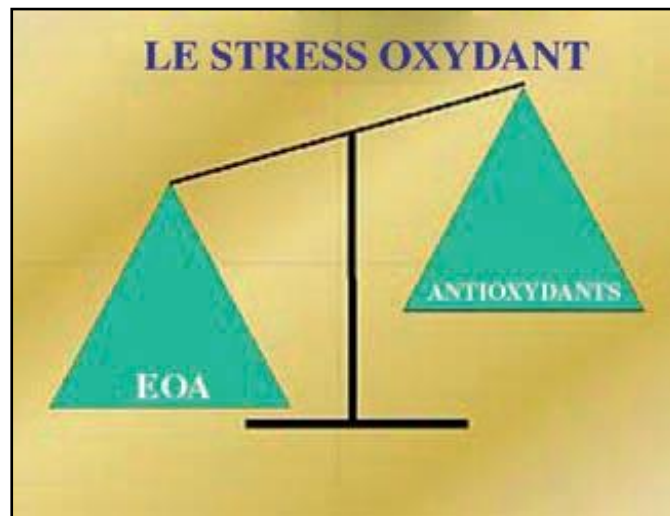


Figure 02 : le déséquilibre entre les pro-oxydant et les antioxydants.

(Pincemail J *et al.*, 2000)

Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire. Lorsque des espèces réactives de l'oxygène (ERO) commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, et des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines. (Morel Y *et al.*, 1998 ; Morel Y *et al.*, 1999)

II.2. Les causes du stress oxydatif

In vivo, plusieurs systèmes biochimiques peuvent être à l'origine d'une production accrue d'espèce oxygénée activée (EOA). L'altération de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie qui se produit lors du processus du vieillissement ou de toute situation caractérisée par un phénomène d'ischémie – reperfusion. (Dardik R, 2000)

En plus des deux phénomènes biologiques suscités, il existe beaucoup d'autres phénomènes qui conduisent à une surproduction d'EOA et qui sont : l'inflammation, l'activation de la xanthine oxydase, l'oxydation de l'hémoglobine, la libération de fer libre, le métabolisme accru des prostaglandines ou encore l'activation des cellules endothéliales. (Dardik R, 2000)

Si les facteurs (augmentant le stress oxydant) précédemment cités sont strictement biologiques , il existe d'autres facteurs environnementaux qui favorisent considérablement le stress oxydatif et qui sont : l'ozonothérapie, consommation excessive d'alcool stress intellectuel, stress thermique, la pollution, la prise de certains médicaments , la pratique trop intense ou mal gérée d'un sport , le tabagisme, l'exposition aux radiations, l'exposition prolongée au soleil, la contact avec les substances cancérigènes, les agents infectieux et enfin une alimentation déséquilibrée. (Figure 03) (Dardik R, 2000)



Figure 03 : les différentes causes du stress oxydatifs. (Dardik R, 2000)

Ces facteurs provoquent souvent une activation des globules blancs qui se traduit par une augmentation de 400% de la consommation en oxygène. (Iron et Copper, 1999)

II.2.1. Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation. (Finaud *et al.*, 2006b ; Mac Laren 2007) Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Exemple : $\cdot\text{OH}$). (Mac Laren, 2007 ; Sayre *et al.*, 2005 ; Goto *et al.*, 2008)

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
2. Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A}:\text{B} \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot$)

La réactivité des RL dépend des éléments en présence : si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radical ($\text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot \rightarrow \text{AB}$). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}^\cdot + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}^\cdot$) et donnera l'origine à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant. (Wolinsky, 1998 ; Clarkson *et al.*, 2000 ; Finaud *et al.*, 2006b ; Mac Laren, 2007)

II.2.2. Les espèces oxygénées actives

Espèces oxygénées actives (EOA ou ROS Reactive Oxygen Species) également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène et sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. (Altan *et al.*, 2003 ; Vergani *et al.*, 2004 ; Mac Laren, 2007 ; Kirschvink *et al.*, 2008 ; Bloomer *et al.*, 2008)

Tableau 01 : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques.

(Wolinsky, 1998)

ERO	Abréviation	Lewis adapté
<u>Espèces oxygénées actives</u>		
Radical (ion, anion) superoxyde	$\bullet\text{O}_2^-$	$\cdot \text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{O} \text{ } \cdot$
Radical hydroperoxyde	$\text{HO}_2\bullet$	$\text{H} \bullet \bullet \text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{O} \text{ } \cdot$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	$\text{H} \bullet \bullet \text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{O} \text{ } \bullet \bullet \text{H}$
Radical hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	$\cdot \text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{H}$
Singulet oxygène	$^1\text{O}_2$	$\text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{O} \text{ }$
Ozone	O_3	$\text{ } \text{O} = \text{O} + \bullet \bullet \text{O} \text{ }^-$
<u>Espèces azotées actives</u>		
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'Azote	$\bullet\text{NO}$	$\cdot \text{ } \bullet \text{N} \bullet \bullet \text{O} \text{ } \cdot$
Dioxyde d'azote	$\bullet\text{NO}_2$	$\cdot \text{ } \bullet \text{N} \bullet \bullet \text{O} \text{ } \bullet \bullet \text{O} \text{ }$
Peroxynitrite	ONOO^-	$\cdot \text{ } \text{O} \bullet \bullet \text{N} \bullet \text{ } \bullet \bullet \text{O} \text{ } \bullet \bullet \text{O} \text{ }^-$
<u>Espèces soufrées actives</u>		
Radical thiyl	$\text{RS}\bullet$	$\text{R} \bullet \bullet \text{S} \text{ } \cdot$

II.2.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Ce n'est pas un radical libre à proprement parler mais une molécule car tous ses électrons périphériques sont appariés. Au niveau de la mitochondrie, sous l'action catalytique de la superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet -}$) est réduit en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). (Clarkson *et al.*, 2000 ; Vanheldenet *al.*, 2009)



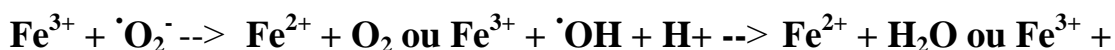
Il est généralement présenté que le peroxyde d'hydrogène serait transformé en radical hydroxyle par une succession de réactions en chaîne initiée par la réaction de Fenton

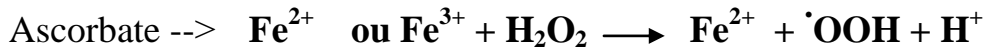


suivie de la réaction de Haber-Weiss en deux étapes



La continuité des réactions se ferait grâce à la régénération du fer ferreux par divers composés





Toutefois le mécanisme exact de ces réactions, est encore discuté. (Kehrer, 2000)

Son rôle facilitateur en fait un des agents les plus actifs des dommages causés par oxydation aux macromolécules. (Niess *et al.*, 1996 ; Spitteller *et al.*, 2006 ; Duarte *et al.*, 2007 ; Hempel *et al.*, 2009 ; Vanhelden *et al.*, 2009) Il est également transformé en ERO (HOCl, •OH) par les myéloperoxydases leucocytaires lors de la réaction inflammatoire qui peut accroître son effet toxique. (Finaud *et al.*, 2006b ; De Souza *et al.*, 2006) D'un autre côté, l'H₂O₂ peut participer au système antioxydant en étant transformé par deux voies: en H₂O et O₂ par la catalase ou en H₂O par la glutathion peroxydase. (Biesalski *et al.*, 2001), et à faible concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire et la régulation du calcium. (Sayre *et al.*, 2008)

II.2.2.2. Le radical superoxyde (O₂^{•-})

Il peut se former par réaction de l'oxygène avec un électron (généralement cet électron provient d'une fuite au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, plus précisément l'accepteur terminal : le cytochrome oxydase du complexe IV de la chaîne de transport électronique de la membrane interne mitochondriale). (Han.D *et al.*, 2001) Ainsi l'oxygène n'est réduit que partiellement: 2% de l'oxygène subit une réduction mono électronique au niveau de l'ubiquinone. (Cadenas.k *et al.*, 2000) L'efficacité de l'activité antioxydante de l'ubiquinone (Q) dépendrait du sort de la semiquinone (SQH[•]) qui peut exercer une activité contraire (c'est-à-dire pro-oxydante) *via* la formation d'anion superoxyde. (Figure 04) (Han.D *et al.*, 2001)

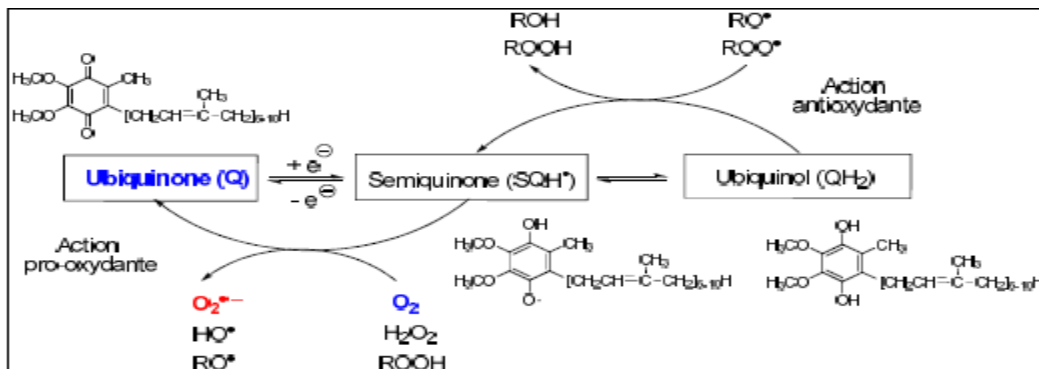
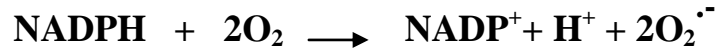


Figure 04 : Réduction de l'ubiquinone. (cadenas.k *et al.*, 2000)

La NADPH oxydase se trouve dans la membrane plasmique ainsi que dans la membrane du phagosome et elle est également une source importante d'anion superoxyde.



NADPH oxydase

Le radical superoxyde est moins réactif que le radical hydroxyle, mais sa durée de vie est plus longue et il peut diffuser loin de son lieu de production. Ce radical a peu de cibles privilégiées (le superoxyde dismutases, le cytochrome C, l'ascorbate), il réagit avec le peroxyde d'hydrogène pour fournir le radical hydroxyle en présence de Fe. (Belkheir. N, 2010)

II.2.2.3. Le radical Hydroxyle (•OH)

Le radical hydroxyle est extrêmement puissant et réagit indifféremment avec toutes les macromolécules, auxquelles il a un accès facilité par l' H_2O_2 . (Duarte *et al.*, 2007, Hempel *et al.*, 2009 ; Vanhelden *et al.*, 2009) Il est produit à partir du H_2O_2 ou de l'oxyde nitrique, la réaction de Fenton/Haber-Weiss et les myéloperoxydases des cellules du système immunitaire en sont les sources principales. Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte demi vie d'approximativement 10^{-9} secondes en réduit considérablement la potentialité. (Clarkson *et al.*, 2000 ; Finaud *et al.*, 2006b ; Vasconcelos *et al.*, 2007 ; Sayre *et al.*, 2005 ; Goto *et al.*, 2008)

II .2.2.4. Autres ERO

Le singulet oxygène est une molécule d'oxygène excitée par l'ajout d'un électron sous l'effet de la lumière, l'ozone est formé par réaction photochimique entre un hydrocarbure et le NO, ils ont été démontrés capables de causer des dommages oxydatifs. (Goto *et al.*, 2008)

II .3. Système de défense antioxydants

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires.

Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques. (Packer *et al.*, 1997 ; Mates *et al.*, 1999 ; Powers & Lennon, 1999 ; Dröge, 2002)

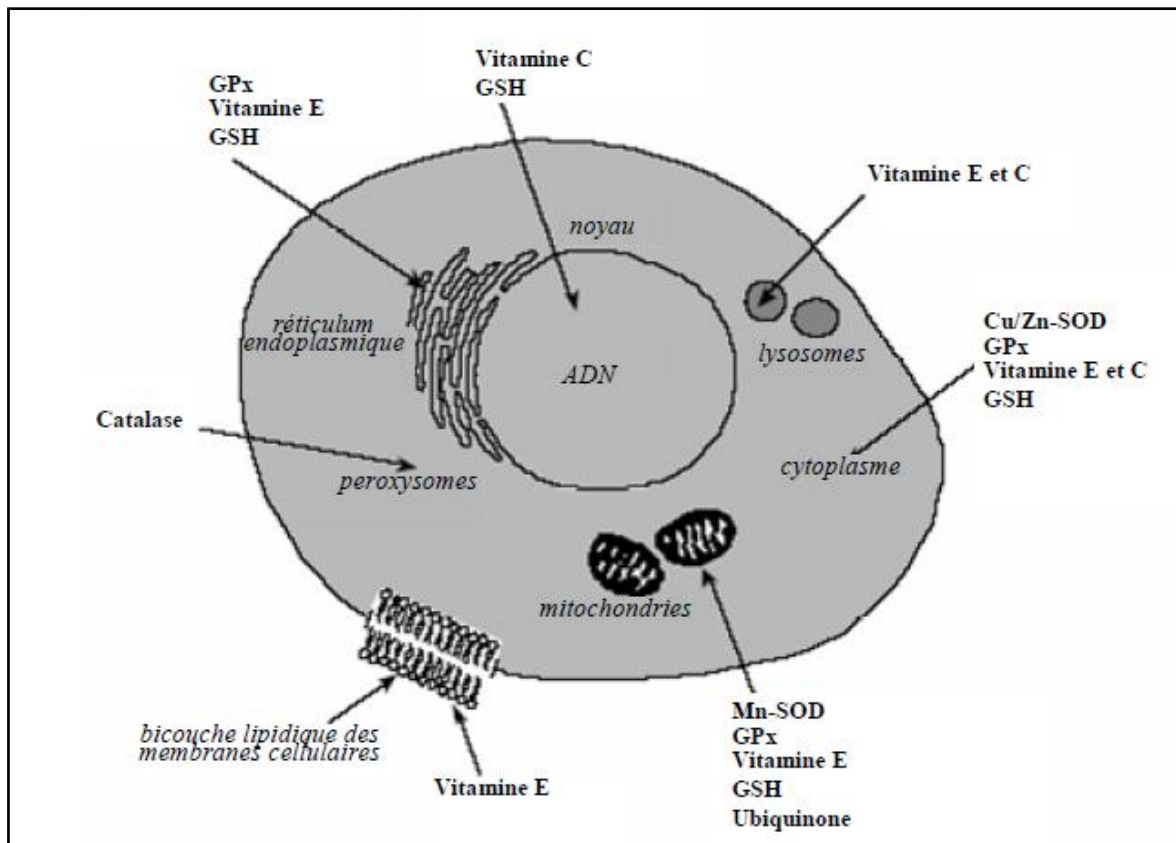


Figure05: Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.

(Mn-SOD) : superoxyde dismutase mitochondriale, (Cu/Zn-SOD) : superoxyde dismutase cytosolique, (GPx) : glutathion peroxydase, (GSH) : glutathion réduit. (Packer *et al.*, 1997)

II.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS. (Blandine G, 2006)

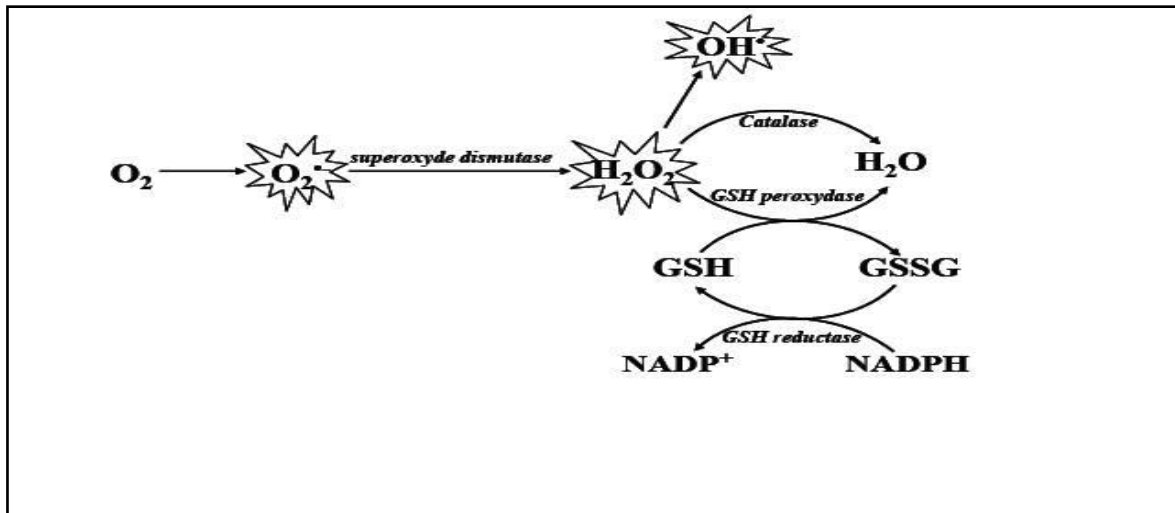


Figure 06: Schéma des défenses anti oxydantes enzymatiques. (Mates *et al.*, 1999)

II.3.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)

Cette enzyme catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 .

La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique: une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). (Huang *et al.*, 2001)

II.3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx) et reductase (GR)

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG). (Mates *et al.*, 1999; Powers & Lennon, 1999) Il existe également une glutathion peroxydase associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) qui est spécifiquement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique. (Mates *et al.*, 1999 ; Nomura *et al.*, 2000)

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction. Ces deux enzymes sont présentes dans le cytosol et dans les mitochondries. (Mates *et al.*, 1999 ; Nomura *et al.*, 2000)

II.3.1.3. La Catalase

La catalase est également responsable de l'élimination d' H_2O_2 par une transformation en H_2O et O_2 . Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l' H_2O_2 est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues. (Mates *et al.*, 1999 ; Powers & Lennon, 1999) Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol. (Powers & Lennon, 1999)

II.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes anti oxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C. (Blandine G, 2006)

II.3.2.1. Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes anti oxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss). (Blandine G, 2006)

II.3.2.2. Le Glutathion

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation de la vitamine E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. (Packer *et al.*, 1997 ; Power et Lennon, 1999) Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté. (Ji *et al.*, 1992)

II.3.2.3. Les Ubiquinones et cytochrome c

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme antioxydant. (Power & Lennon, 1999) L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxylys. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS. (Packer *et al.*, 1997)

Le cytochrome c présent dans l'espace inter membranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d' $O_2^{\cdot-}$ produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome c oxydé et de l' H_2O . (Skulachev, 1998)

II.3.2.4. Vitamine E et vitamine C

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant.

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. (Packer *et al.*, 1997 ; Evans, 2000)

La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} . Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E. (figure 7) (Packer *et al.*, 1997 ; Evans, 2000)

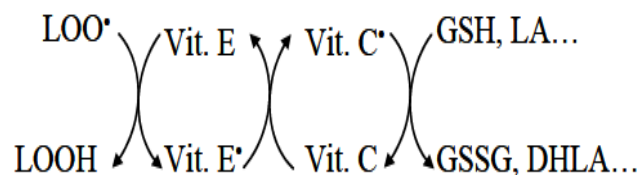


Figure 07: schéma des réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E. et C. (LOO^{\cdot}) : radical peroxyde lipidique, ($LOOH$) : hydroperoxyde lipidique, (*Vit. E*) : vitamine E, (*Vit. C*) : vitamine C, (*GSH*) : glutathion réduit, (*GSSG*) : glutathion oxydé, (*LA*) : acide lipoïque, (*DHLA*) : acide dehydrolipoïque. (Gey KF, 1987)

II.4.Oxydation des biomolécules

II.4.1. Peroxydation lipidique

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation. (Pamplona *et al.*, 2000 ; Hulbertl, 2005) L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. (Hong *et al.*, 2004) Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. (Marnett, 1999) Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), les acides thiobarbituriques (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. Cependant, le 4-HNE peut activer directement le découplage mitochondrial par action directe sur les UCP et pourrait ainsi réduire la production mitochondriale de ROS. Ce mécanisme pourrait être un moyen de réguler la production de ROS. (Echtay *et al.*, 2003)

II.4.2. Oxydation des protéines

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. (Peng *et al.*, 2000 ; Levine, 2002) Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , peuvent être classées en deux catégories :

- a- celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique,
- b- les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique.

Ces changements sont tels qu'ils conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures (perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases...). (Levine, 2002) L'oxydation des protéines peut être un signal pour les "protéines de stress", (Heat Shock Protein, HSP) connus pour leur rôle cytoprotecteur. (Welch, 1992) Ainsi, les membres de la famille de HSP70 ont un rôle de protéines chaperonnes. Elles prennent en charge les protéines dénaturées (participation à la restauration de la fonction de ces protéines) mais aussi les protéines en cours de maturation (participation à leur synthèse, à leur importation vers le réticulum endoplasmique et la

mitochondrie). La synthèse des HSP pourrait ainsi compléter les capacités de défenses anti oxydantes lorsque les protéines intracellulaires sont endommagées par les ROS. (Essig et Nosek, 1997)

II.4.3. Dommage de l'ADN

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ROS. En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire. (Richter *et al.*, 1988) Les mécanismes explicatifs proposés sont :

- l'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial,
- sa localisation proche de la membrane interne,
- des mécanismes de réparations frustrés,
- une structure circulaire sans introns augmentant statistiquement le risque de mutations pathogènes. (Cann et Wilson, 1983 ; Richter *et al.*, 1988; Cortopassi *et al.*, 1999; Ames *et al.*, 1993) L'idée d'un "cercle vicieux" ou d'une théorie avec un *feed-back* positif est avancée pour expliquer les altérations mitochondriales dues au vieillissement : des dysfonctionnements de la chaîne respiratoire pourraient augmenter la production de ROS et induire ainsi une augmentation progressive des mutations du génome mitochondrial et des protéines synthétisées. Comme le génome mitochondrial code pour quelques sous-unités de protéines impliquées dans la phosphorylation oxydative (sept sous-unités du complexe I, une du complexe III, trois du complexe IV et deux de l'ATP synthase), leur défaut d'expression pourrait exacerber la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire au profit de la production de ROS. Ainsi, plus la fuite d'électrons est importante, plus la formation de ROS provoquant de nombreuses mutations mitochondriales aggraverait ce phénomène. (Wong & Cortopassi, 1997 ; Beckman & Ames, 1998)

Les fonctions de la mitochondrie sont donc particulièrement exposées aux dommages oxydatifs provoquant principalement une diminution de la synthèse d'ATP mais aussi engageant la cellule dans un programme de mort cellulaire par apoptose avec l'induction du pore de transition de perméabilité. (Wong & Cortopassi, 1997 ; Beckman & Ames, 1998)

II.5. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydant sera la cause ou une des causes de maladies comme le cancer, l'athérome ou la cataracte. Mais il peut aussi être la conséquence de certains troubles métaboliques comme le diabète. Il est donc important pour le biologiste d'être capable de déceler et suivre ce phénomène, notamment afin d'évaluer l'efficacité des traitements antioxydants. (Figure 08) (Delattre J, 2005)

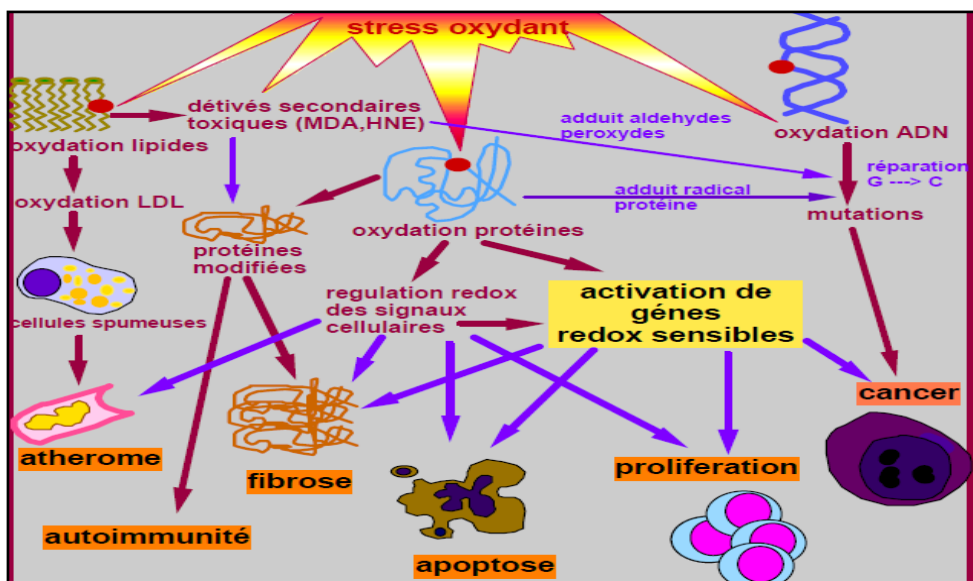


Figure 08 : les conséquences de stress oxydatif. (Delattre J, 2005)

II.6. Les médicaments anticancéreux sources de radicaux libres

Une substance anticancéreuse (antitumorale, antinéoplasique, cytotoxique) se définit comme une substance cytotoxique qui détruit sélectivement les cellules transformées. (Monassier. L, 2012)

La découverte des agents anticancéreux au plus souvent été fortuite. C'est le cas des premiers agents mis en évidence comme les moutardes azotées ou l'actinomycine D. Ces agents ont alors été identifiés pour leur toxicité médullaire chez l'animal, suggérant une activité antiproliférative. La plupart des agents anticancéreux inhibent des enzymes nécessaires à la synthèse d'ADN en exerçant leur activité maximale durant la phase S, c'est le cas des anti-métabolites, mais également des antracyclines. Les poisons du fuseau bloquent la cellule en phase M. Les agents alkylants, cisplatine, la bléomycine, agissent durant l'ensemble des phases du cycle. Les agents cycle-dépendants sont des molécules qui interagissent de

façon covalente avec l'ADN, alors que les molécules phase-indépendantes interagissent avec les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN. Ces molécules ne sont pas dirigées sur une cible moléculaire spécifique de la cellule cancéreuse. Leur activité a été liée à une différence de cinétique de croissance entre les cellules cancéreuses et les cellules bénignes. (Rixe, 2004)

Parmi ces anticancéreux, **le cyclophosphamide**, objet de notre étude, Depuis son début en 1958, le cyclophosphamide est un agent alkylant bi fonctionnel cytotoxique, appartenant à la classe des moutardes azotées (Figure 09). Il est utilisé dans le rejet de greffes des organes et les maladies auto-immunes. (Fiorucci *et al.*, 2008) En chimiothérapie, le cyclophosphamide est utilisé comme un agent autonome ou en combinaison avec d'autres médicaments anticancéreux simultanément ou successivement. (Fiorucci, 2008 ; Walko CM *et al.*, 2009) En dépit de son large spectre d'utilisation clinique, il présente une toxicité grave pour les cellules normales, chez les humains et les animaux de laboratoire. (Fraisess.L *et al.*, 1991) Le cyclophosphamide est l'un des médicaments anticancéreux les plus toxiques du **poumon** et **le foie** en cours d'utilisation (Kehrer et Kacew, 1985). Les chances de l'induction de cancers secondaires chez les patients traités avec le cyclophosphamide en des conditions médicales différentes sont très élevées. (Borgman *et al.*, 2008)

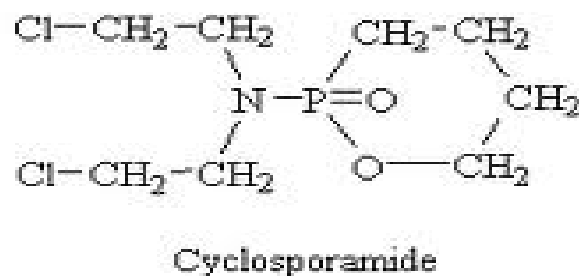


Figure 09 : Structure du cyclophosphamide. (Brock ,1983)

Le cyclophosphamide est convertit dans **le foie** en des métabolites qui pourraient être transportés et absorbés par les tumeurs. Le 4-hydroxycyclophosphamide interconvertit rapidement avec son tautomère, l'aldophosphamide, il est probable que ces 2 métabolites diffusent passivement des cellules hépatiques, rejoignent la circulation sanguine, puis pénètrent dans les autres cellules passivement (Klein. J *et al.*, 2001). La plupart des métabolites (80% de 4-ketocyclophosphamide et de carboxycyclophosphamide) sont éliminés par la voie rénale. (Brock. N et Gross. R, 1983)

En outre, le CP est métabolisé en ses métabolites alkylants par **les poumons**, les fractions des poumons intacts et les microsomes du poumon. (Kehrer.L et Kacew. D, 1985)

II.6.1. Le cyclophosphamide et stress oxydatif

Considérant que les poumons sont dans un environnement riche en O_2 et remplis de vaisseaux sanguins, ils sont donc très vulnérables aux dommages occasionnés par le stress oxydatif. (De jonge. ME *et al.*, 2005) Les composés alkylants, incluant les drogues antinéoplasiques représentent un groupe significatif de médicaments, qui perturbent la balance pro-oxydant-antioxydant. L'un de ces médicaments est le cyclophosphamide qui est utilisé pour le traitement de plusieurs types de cancers dont le cancer à petite cellule pulmonaire. (Fraisess. L, 1991) Des observations suggèrent que le CP forme des métabolites réactifs, génère des ERO au cours de son métabolisme oxydatif, et déprime les mécanismes de défense antioxydants du poumon. Les conséquences variables de blessure induit par les métabolites réactifs et les ERO des drogues pour différentes membranes cellulaires ainsi que les mécanismes de défense cellulaires sont illustrées dans la figure10. (Brock. N et Gross. R, 1983)

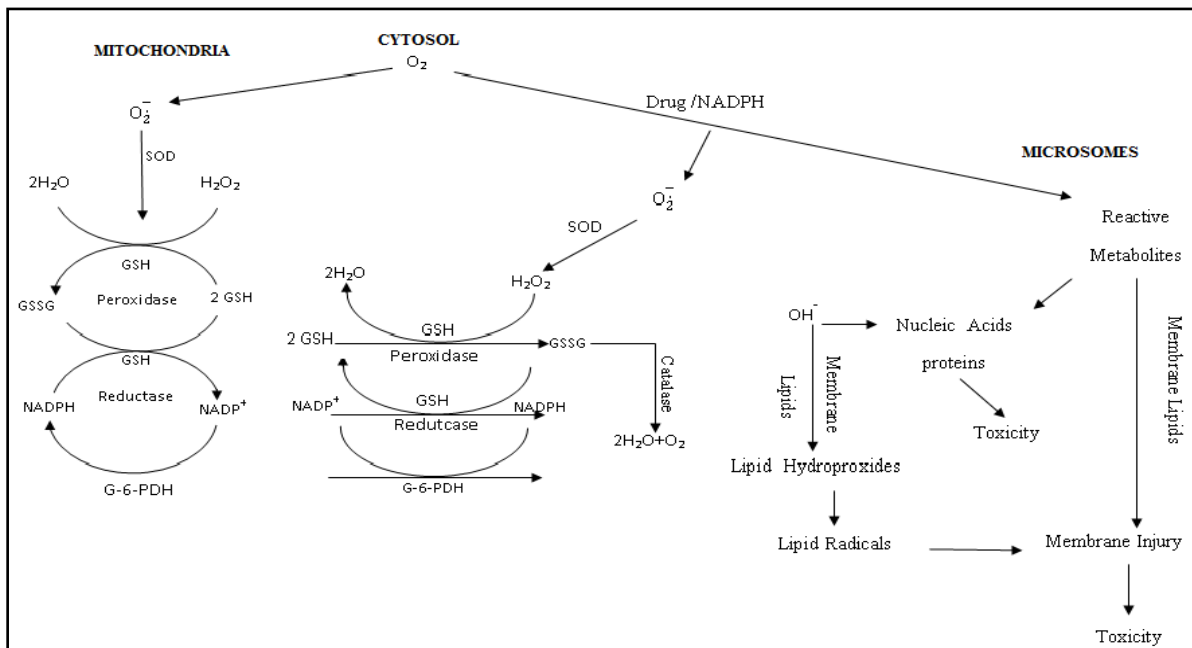


Figure 10 : les conséquences variables de blessure induit par les métabolites réactifs et les ERO des drogues pour différentes membranes cellulaires ainsi que les mécanismes de défense Cellulaires. (Fraisess.L, 1991)

L'acroléine, métabolite du CP, est un aldéhyde α,β - insaturé très réactif, qui peut induire la formation des ERO; l' O_2^\bullet et l' OH^\bullet . (Walko CM *et al.*, 2009) Elle a aussi la capacité

de se lier à l'ADN et former des protéines adduites. En inhibant la glutathion réductase, le cyclophosphamide, alvocidib et rituximab (ACR) empêche de régénérer la forme réduite du glutathion lorsque ce dernier est oxydé en dissulfide de glutathion (GSSG), (Klein. J, et Fouts. J.R, 2001) épuisant ainsi la défense antioxydante et en augmentant le stress oxydatif. (De jounge. ME *et al.*, 2005)

L'étude de Julie (2008) a démontrée que l'ACR induit une surproduction des ERO chez les cellules A 549 (cellule cancéreuse pulmonaire) en épuisant rapidement les antioxydants cellulaires, comme le GSH, empêchant ainsi la détoxification du H₂O₂. (Borgman. N, 2008)

En outre, les médicaments cytotoxiques comme le CP peuvent causer des blessures peroxydatives et des altérations dans la structure et la fonction des membranes. (Fraisess. L, 1991)

Les études *in vivo* (Brock. N et Gross. R, 1983) et *in vitro* (Kehrer. L et Kcew. D, 1985) de l'effet du CP et de ces métabolites réactifs, l'ACR sur les microsomes **du poumon** de rats, ont démontrées une augmentation significative de peroxyde lipidique microsomale pulmonaire dans les microsomes traités par le CP et l'ACR mais pas dans ceux traités par le PM, et que la peroxydation lipidique causée par le CP est supérieure à celle de l'ACR. La stimulation de la peroxydation des lipides microsomaux semble être médiée par les ERO ou les métabolites. (Kehrer. L et Kcew. D, 1985)

Matériels et méthodes

III. Matériels et méthodes

Notre étude expérimentale a été effectuée au laboratoire de biochimie du département des S.N.V à l'université de 08 mai 1945, Guelma. Elle est consacrée pour évaluer l'effet pro-oxydant de l'extrait éthanolique de la propolis sur le statut antioxydant (GSH), présent dans le cytosol des tissus; pulmonaire et hépatique des souris, et sur la peroxydation lipidique, en dosant son marqueur (MDA).

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Préparation de l'extrait brut

La propolis a été récoltée de l'Est Algérien, wilaya de Guelma (Boumahra Ahmed), l'extrait brut a été préparé comme suit:

a- La pulvérisation

Les blocs de propolis ont été broyés à l'aide d'un mortier, la poudre issue de pulvérisation, a été mise en macération.

b- Macération

La macération est effectuée dans une solution éthanolique pendant 15 jours, avec agitation chaque jours.

c- La filtration

Le macérat est filtré à l'aide d'un papier filtre et récupéré dans des fioles.

d- L'évaporation

Le filtrat est ensuite évaporé à sec par un rota vapeur (BUCHI) à une température de 45°C. L'extrait brut ainsi obtenu est pesé et conservé à 4°C.

Après évaporation du solvant à l'évaporateur, l'extrait obtenu est appelé : extrait éthanolique ou extrait brut de la propolis EEP.

III.2. Traitement des animaux

Notre travail est mené chez des souris males albinos, issue de l'institut de pharmacie à Constantine, Algérie. Pesant entre 25g et 35g. Dès leur arrivée, les souris ont été mis en quarantaine dans l'animalerie, à température ambiante, dans des cages en plastique et avaient libre accès à l'eau et à la nourriture (croquettes).

Afin de réaliser notre travail, les souris ont été réparties en 5 lots (quatre souris dans chacun) :

Lot n°1 : C'est le lot témoin, reçoit une solution hydro éthanolique (50% ethanol et 50% eau), par voie intra péritonéale.

Lot n°2 : c'est le lot qui reçoit le cyclophosphamide à une dose de 80mg/kg (la dose thérapeutique), par voie intra péritonéale.

Lot n°3 : c'est le lot qui reçoit la propolis à la dose de 200mg/kg, par voie intra péritonéale.

Lot n°4 : reçoit de la propolis à la dose de 400mg/kg, par voie intra péritonéale.

Lot n°5 : reçoit la propolis à la dose de 800mg/kg, par voie intra péritonéale.

III.3. Evaluation de l'activité pro-oxydante de la propolis *in vivo*

III.3.1. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

Pour réaliser notre étude *in vivo*, les souris ont été sacrifiées par le chloroforme. Au moment du sacrifice le foie et le poumon ont été isolés et rapidement plongés dans l'eau physiologique puis directement dans le tampon phosphate.

III.3.2. Préparation de la fraction cytosolique

Quand le foie et le poumon sont prélevés, on les jette rapidement dans le tampon phosphate contenant du kcl, ils sont pesés, puis coupé en petits morceaux, avant d'être potterisé dans 9 ml du tampon phosphate (0,1M, PH=7,2). La potterisation est faite par un homogénéiseur de DOUNCE. L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 3700 t/mn pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant ainsi obtenu est centrifugé à 3700 t/mn pendant 45 minutes à 4°C. Le surnageant issu de cette dernière centrifugation est le cytosol qui est utilisé pour les différents dosages. (Bruneton j, 1993)

III.3.3. Dosage du MDA

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100°C) entre le MDA et deux molécules de thiobarbiturique (TBA) d'un complexe chromogène de couleur rose absorbant à 532 nm et extractible par les solvants organiques comme le n-butanol. (Okhawa. H, 1979)

Pour doser le marqueur de la peroxydation lipidique, le MDA: à 250 µl de la fraction cytosolique du foie ou du poumon, on a additionné 250 µl de l'acide trichloracétique (TCA) 20% et 500 µl d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%.

Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, après refroidissement, on ajoute 2ml du n-butanol, puis on procède à une centrifugation à 3000 t/mn pendant 15 minutes, la densité optique est déterminée à 532 nm au spectrophotomètre (Jenway 6305), la lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec l'eau distillée. (Zini R. et *al.*, 1999)

III.3.4. Dosage du GSH

Cette molécule est composée de trois acides aminés : l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Elle est riche en soufre ce qui lui confère son rôle de piègeur de radicaux libres. le glutathion oxydé (glutathion disulfide, GSSG) est réduit par la GSSG réductase. Le statut redox du couple 2GSSG/2GSH constitue un indicateur important du statut redox cellulaire. (Pater. N, 2002 ; Andreyev.Yu, 2005)

Le principe du dosage du glutathion est basé sur la réduction du 5-5'-DiThiobis(2-acide NitroBenzoïque) (DTNB).

On dilue 25 µl de la fraction cytosolique dans 5 ml de tampon Na₂HPO₂ (0.1 M et d'un PH=8), on prend 3 ml du mélange de dilution et on lui ajoute 20µl du DTNB (0.01 M).

Après incubation 15 minutes à température ambiante, le mélange réactionnel est centrifugé à 3000 tour par minute pendant 15 minute.

Enfin, la densité optique du surnageant est lue par le spectrophotomètre à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec l'eau distillée.

Le taux de GSH est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage préparée par le GSH. Les résultats sont exprimés en n. mole/gramme de poumon et du foie. (Ellman GL., 1995)

III.4. Analyse statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne et d'écart type. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par la propolis et le cyclophosphamide à celles des groupes témoins en utilisant le test de **Student** par logiciel **pro origine 8** :

- Ns : différence non significative.
- $p < 0,05$: différence significative.
- $p < 0,01$: différence très significative.
- $p < 0,001$: différence hautement significative.

Résultats et interprétations

IV. Résultats et interprétations

IV.1. Evaluation de l'activité pro-oxydante de l'EEP

IV.1.1. variation du taux du MDA pulmonaire

(* significative, ** hautement significative)

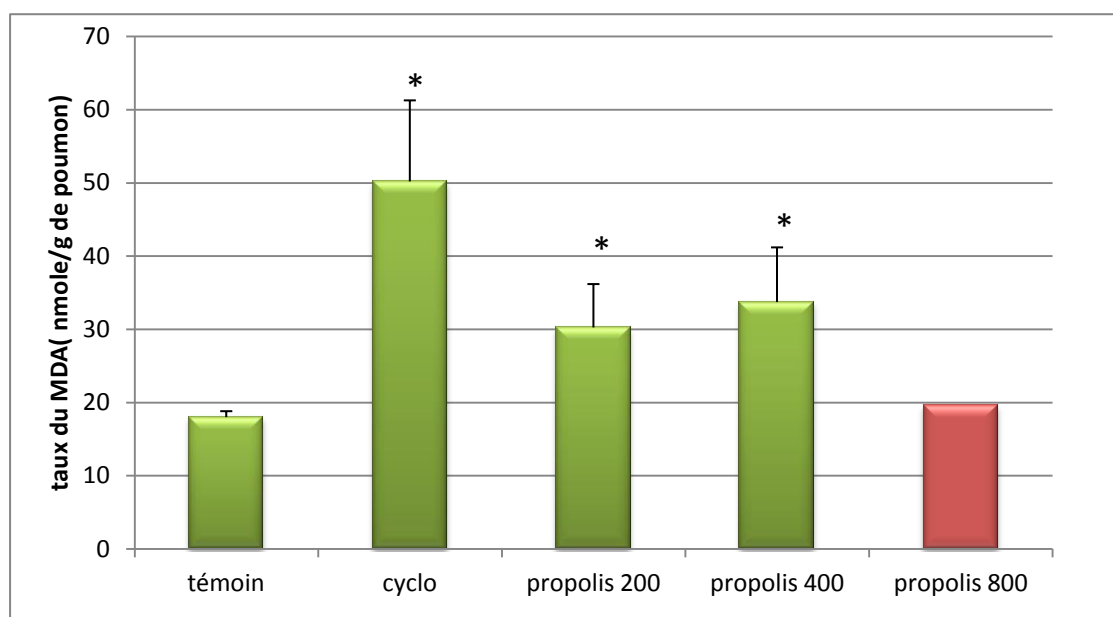


Figure 11 : variation des taux du MDA pulmonaire dosé dans la fraction cytosolique.

Par comparaison avec le lot témoin (taux du MDA : $17,98 \pm 0,81$), le cyclophosphamide administré par voie intra-péritonéale à la dose de 80mg/kg aboutie à une augmentation significative du taux du MDA pulmonaire : ($50,18 \pm 11,07$), marqueur de la peroxydation lipidique, dosé dans la fraction cytosolique.

De même, chez les deux lots qui ont reçu l'extrait de propolis à la dose de 200mg/kg et de 400mg/kg, leurs taux du MDA pulmonaire : ($30,24 \pm 5,92$) et ($33,70 \pm 7,47$) successivement, a augmenté d'une façon significative par rapport au témoin. Mais d'une façon moindre par rapport au cyclophosphamide.

90% des souris qui ont reçu la propolis à la dose de 800mg/kg ont décédé, ne reste qu'une seule souris, chez laquelle, on a remarqué une faible augmentation du taux du MDA : ($19,67 \text{ nmole/g}$) contre le témoin.

IV.1.1. variation du taux du MDA hépatique

(* significative, ** hautement significative)

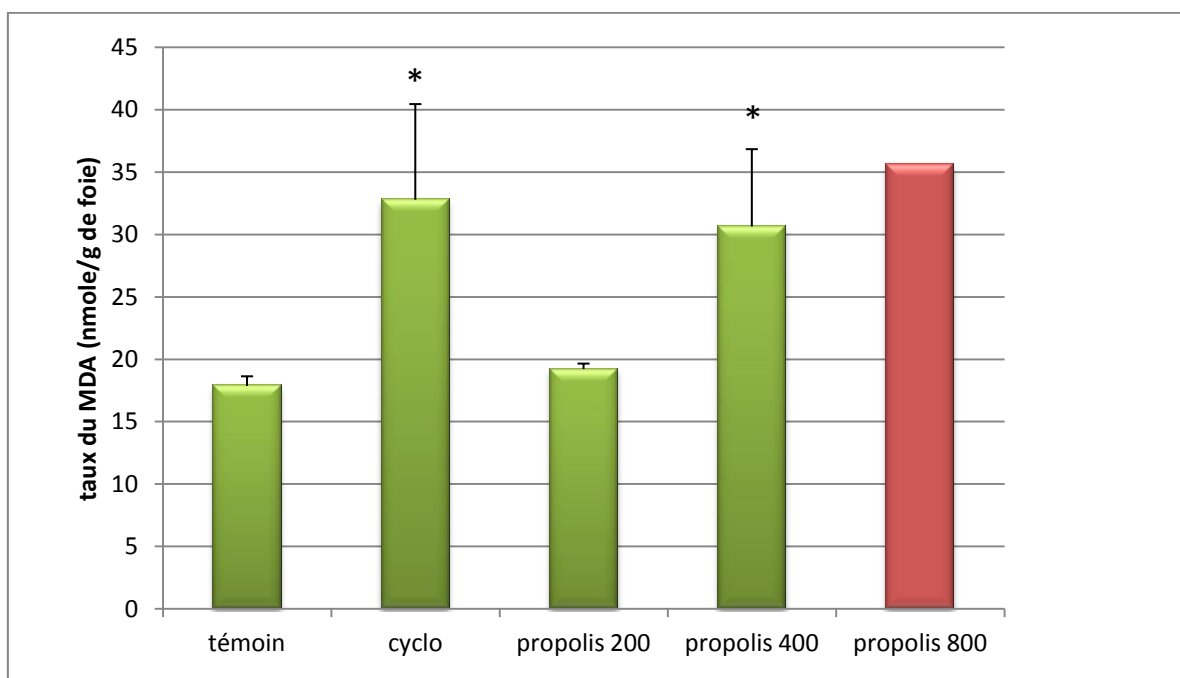


Figure 12 : variation des taux du MDA hépatique dosé dans la fraction cytosolique.

Les résultats de la variation du taux du MDA hépatique dosé dans la fraction cytosolique, générés suite à la peroxydation lipidique en présence du cyclophosphamide à la dose de 80mg/kg, ont montré une augmentation significative ($32,79 \pm 7,66$), contre le lot témoin ($17,86 \pm 0,77$), même chose qu'en présence de la propolis à la dose de 400mg/kg ($30,65 \pm 6,2$).

La dose de 200mg/kg de la propolis, a montré une augmentation non significative ($19,22 \pm 0,43$) en comparaison avec le témoin.

Le taux du MDA hépatique a marqué la plus grande valeur : ($35,597$ nmole/g) chez la souris qui s'est sauvée du lot qui a reçu l'extrait de propolis à la dose de 800mg/kg.

IV.1.3. variation du taux du GSH pulmonaire

(* significative, ** hautement significative)

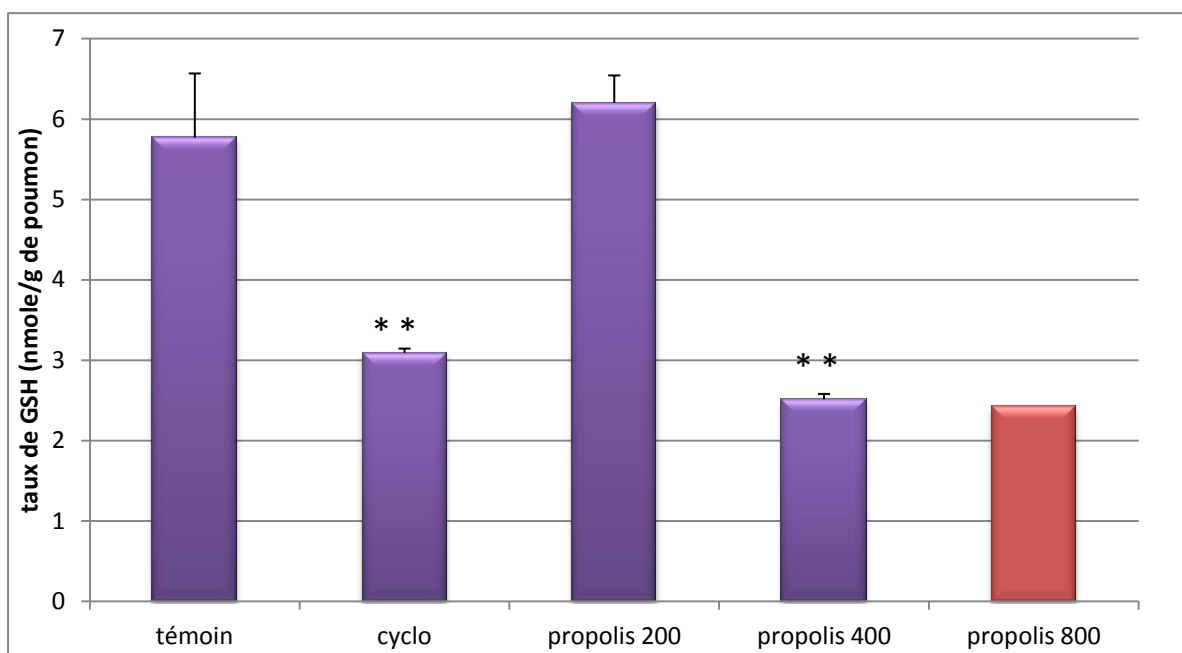


Figure 13 : variation du taux du GSH pulmonaire dosé dans la fraction cytosolique.

Les résultats du dosage du glutathion pulmonaire présent dans la fraction cytosolique, illustrés par l'histogramme ci-dessus, montrent une diminution hautement significative du taux du GSH chez les souris traité par le cyclophosphamide à la dose de 80mg/kg ($3,09 \pm 0,05$) on le comparant avec le témoin ($5,76 \pm 0,08$). Même chose remarqué dans le cas de la propolis à la dose de 400mg/kg où la diminution de la GSH cytosolique est hautement significative ($2,51 \pm 0,068$) par rapport au témoin.

Le lot traité par la propolis à la dose de 200mg/kg a marquée une augmentation non significative du taux de GSH pulmonaire ($6,20 \pm 0,34$).

Par contre, on a observé une diminution du taux du GSH pulmonaire: ($2,42 \text{ nmole/g}$) chez la souris qui a été reçue la propolis à la dose de 800mg/kg.

IV.1.4. variation du taux du GSH hépatique

(* significative, ** hautement significative)

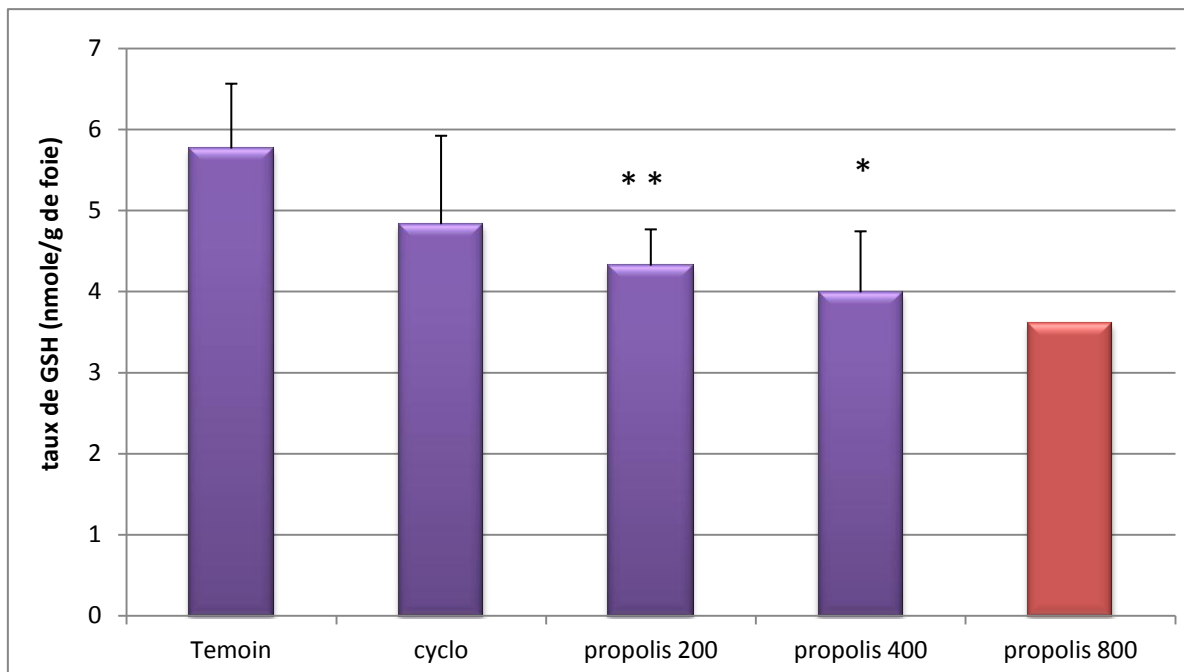


Figure 14 : variation du taux du GSH hépatique dosé dans la fraction cytosolique.

Au niveau du foie, en comparant les résultats des différents lots par rapport à celui du lot témoin ($5,76 \pm 0,5$) on remarque une diminution non significative du taux du GSH : ($4,83 \pm 1,09$) dans le lot qui a reçu le cyclophosphamide. Dans les restes des lots traités par la propolis 200mg/kg, de propolis 400mg/kg, on note respectivement une diminution hautement significative et significative ($4,32 \pm 0,44$ et de $3,99 \pm 0,75$).

Le même résultat a été marqué chez la seule souris qui a reçue la propolis à la dose de 800mg/kg le taux du GSH est: (3,60 nmole/g).

Discussion

V. Discussion

Dans notre travail, on s'est intéressé à la détermination de l'effet pro-oxydant de la propolis dans le foie (lieu de métabolisation de toutes substances) et le poumon (siège de respiration), chez des souris saines.

Dans ce cadre nous avons administré aux souris, et par voie intra péritonéal, la propolis à de différentes doses (200, 400, 800mg/kg) et le cyclophosphamide à la dose de 80mg/kg (utilisé comme référence).

Afin de déterminer le statut oxydatif, des tissus pulmonaires et hépatiques, des groupes témoins et expérimentaux, deux paramètres ont été évalués : le MDA et la GSH.

L'administration du CP, a été accompagnée par une augmentation de la peroxydation lipidique et une élévation significative du taux de son produit le malondialdéhyde (MDA) a été observée en comparaison avec le groupe témoin. Ceci est observé dans le foie et le poumon simultanément.

La peroxydation lipidique induite par le radical libre a été suggérée d'altérer la structure et la fonction membranaire causant des anomalies cellulaires telles que les mutations et l'apoptose. L'augmentation de la production des radicaux libres stimule la peroxydation lipidique et elle est la source de la dégradation de l'ADN, les lipides et les carbohydrates. La peroxydation lipidique induite par le CP dans les poumons peut être due à son métabolite réactif l'acroléine, à une production élevée des ERO ou à une diminution du statut antioxydant. (Fraisess. L, et *al.*, 1990)

Les animaux traités par la propolis ont montré une augmentation de dose dépendante de la peroxydation lipidique, ce qui aboutit à l'augmentation du taux du MDA hépatique et pulmonaire à la foi, et cela par rapport au lot témoin. Nos résultats sont en accord avec les résultats de. (Chebab. S *et al.*, 2009) Ils ont démontrés que Le taux de MDA augmente proportionnellement aux concentrations de deux pesticides témoignant ainsi la survenue des dommages au niveau des membranes cellulaires.

Dans une autre étude, on a constaté que La production excessive du MDA enregistrée dans la présente étude, est certainement une fraction importante de l'action pro oxydante exercée par deux métaux (plomb et cadmium). (Belli.N et *al.*, 2010)

Par contre, la propolis montre une diminution significative du taux de MDA en comparaison avec les animaux traité par le cyclophosphmide, car certains flavonoïdes

agissent par action sur la production des ROS, il est clairement démontré aujourd'hui que ces flavonoïdes possèdent des propriétés à la fois antioxydante et pro-oxydante, selon la concentration, la source du radical libre mais aussi la structure de la molécule flavonoïque, à cet égard, l'activité antioxydante des flavonoïdes est utilisée pour la protection des cellules et des tissus des différents agents pro-apoptotiques. (Bridger .S *et al.*, 1998 ; Siess. M *et al.*, 2000; Sang. S, 2002)

Bien qu'en dosage du GSH au niveau du foie, on a constaté une diminution importante du taux du glutathion à des concentrations élevées de la propolis ce qui montre que ce dernier a un effet pro-oxydant suite à la dose de 400mg/kg de poids corporel. La propolis reste toujours plus au moins efficace que le cyclophosphamide.

Le GSH joue un rôle vital dans la désintoxication des composés xéno-biotiques et dans l'anti oxydation des radicaux libres. La diminution du niveau de GSH signifie une augmentation du stress oxydatif. Dans notre étude, nous avons observés un déclin dans le niveau de GSH chez les animaux traités par le cyclophosphamide 80 mg/kg qui peut être due à son utilisation intense pour scavenger les peroxydes lipidiques qui peuvent modifier le statut redox vers le stress oxydatif. (Borgman .N *et al.*, 2008)

La déplétion dans le taux du GSH chez les souris traités par le cyclophosphamide est en accord avec l'étude de. (Kehrer.L *et al.*, 1985) qui a expliqué cette déplétion par la réaction de conjugaison du GSH avec l'acroléine, d'une part, et d'autre part par l'inactivation du glutathion-réductase, enzyme catalysant la conversion du GSSG en GSH, causé par les radicaux libres et les aldéhydes. Ceux-ci sont la cause de la déficience en GSH pulmonaire durant l'administration du cyclophosphamide. Ce-ci est très nuisible, car le GSH joue un rôle important dans la protection de la surface pulmonaire contre les attaques oxydatives. (Klein. J *et al.*, 1999)

Nous constatons que les groupes traités par la propolis, montrent une augmentation du taux de GSH. Cela peut s'expliquer par le fait que la propolis a joué son rôle antioxydant grâce à sa teneur en flavonoïdes (Lahouel *et al.*, 2009) et qui est attribué à leurs capacités réductrices (catalyseur du transport des électrons), (le piégeage des radicaux libres) (Jasprica *et al.*, 2007) et qui présente les principaux rôles joués par le GSH (scavenger de radical hydroxyle et l'O₂[°]). Ainsi, on peut dire que les flavonoïdes s'opposent à l'action toxique des métabolites réactifs du médicament anticancéreux; cyclophosphamide (Lahouel *et al.*, 2009) et la détoxification du peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques par l'action catalytique du GPx. (Jhon *et al.*, 2007)

A la fin de cette discussion, il faut noté que de nombreux travaux ont montré que La propolis possède un effet antioxydant à la dose de 100 mg/kg due à la présence du benzyl cafféate, et de flavonoïdes qui ont un énorme pouvoir antioxydant, Pour lesquels il a été démontré qu'ils étaient capables de casser les réactions en chaînes sur les lipides, d'inhiber les réactions de chimioluminescences et de piéger les certains ROS. (Bankova. V et *al.*, 2000)

Par ailleurs, une seule étude, avec la notre, a prouvé l'effet pro-oxydant de la propolis mais à la dose de 300mg/kg. (Sobocanec S et *al.*, 2006)

Conclusion

VI. Conclusion

Notre travail s'est proposé d'étudier l'effet pro-oxydant de la propolis du foie et poumon chez les souris saines.

La propolis, produit miraculeux de la ruche, possède de très nombreuses propriétés biologiques et une action antioxydante très efficace du fait de sa riche constitution.

Dans la présente étude on a constaté que la propolis a une propriété antioxydante à la doses 200mg/kg, Ainsi qu'un autre résultat très important concernant l'effet pro-oxydant à une dose de 400mg/kg du poids corporel ; ce qui est constaté par peu de chercheurs.

On a dès montré que la propolis reste plus au moins efficace que le cyclophosphamide. C'est pourquoi nous suggérons de le remplacé par la propolis, après des études approfondie

Nos résultats sont encourageants, néanmoins, d'autres études complémentaires seront nécessaires dans ce cadre et en perspective, on propose:

- doser les autres paramètres du stress pour bien comprendre les mécanismes d'action de la propolis, et bien expliqué son effet pro-oxydant,
- détermination des doses pro-oxydantes de l'extrait éthanolique de la propolis.
- Faire des analyses chimiques pour la propolis, afin de savoir le composé majoritaire qui a donné ces effets.

Références bibliographiques

-A-

Abd El Hady, F. K (1994). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) study of the Egyptian propolis 2:-flavonoids constituents. *Egypt J Appl Sci* **9**, 91-109.

Altan O, Pabuccuoglu A, Altan A, Konyalioglu S, Bayraktar H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science*. 44:545-550.

Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging.*Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 7915-7922.

Andreyev Yu A, Kushnareva Yu E, and Starkov AA. Review: mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry* **2005**; 70:200-214.

-B-

Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. 2000. Propolis : récent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3 – 15.

Bankova, V., Popov, S., Marekov L (1982). High-performance liquid Chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *J of Chromatography* 242, 135-143. *Bee Journal* n°8, 1990. chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3-15.

Bankova, V., Popov, S., Marekov, N., Manolova, N., Maksimova, V (1988). The chemical composition of propolis fractions with antiviral action. *Acta Microbiol. Bulg* **23**, 52-57.

Beckman KB and Ames BN (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 78, 547-581.

Belkheiri. N. thèse doctorat de l'université de Toulouse. dérivés phénoliques a activités antiathérogènes.(2010), p 11

Belli. N, Lahouel M, Chebab. S, Tekouk. M, Leghouchi.E, Revue des sciences de l'eau / *Journal of Water Science*, vol. 23, n° 3, 2010, p. 289-301.

Biesalski HK, Grimm P. (2001). *Atlas de poche de Nutrition*. Maloigne:Paris.

Blandine Garait. thèse de doctorat de l'université Joseph Fourier. le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. (2006). P 21.23.

Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH. (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine.* 5(3):218-28.

Borgman. N, Hart. L, therapeutic efficacy of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 32: 535-542, 2008.

Bridger. S, Deaths from low dose paracetamol poisoning. *Br Med j,* 1998.316: 1724-1725.

Brock. N, Gross. R, activation of cyclophosphamide in man and animals, *cancer,* 27: 1512-1529, 1983.

-C-

Cadenas. E, Davies. J, Free. Radical. *Biol. Med,* 2000, 29, 222-230.

Cann RL and Wilson AC (1983) Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics* 104, 699-711.

Chebab.S, Belli.N, Leghouchi. E, Lahouel.M, Stress oxydatif induit par deux pesticides l'endosulfan et le chlorpyrifos Laboratoire de pharmacologie, chimie pharmaceutique et environnement Faculté des sciences. Université de Jijel: 10.1684/ers.2009.0292.

Clarkson PM and Thompson HS. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition.* 72(2):637- 646.

Cortopassi GA, Shibata D, Soong NW and Arnheim N (1992) A pattern of accumulation of a somatic deletion of mitochondrial DNA in aging human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 7370-7374.

-D-

Dandiyap.-C., Dobrowolski J.-W., Naqui S.-A.-H., Sharma K., Shaukat A.S., Vohora S.B. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on

Références bibliographiques

propolis bee products, *Journal of Ethnopharmacology* 35, Elsevier *Scientific Publishers, Ireland*, (1991).

Dardik R, Varon D, Tamarin I et al. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions : distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemost* 83:338-344, **2000**.

De Almeida, E. C., Menezes, H (2002). Anti-inflammatory activity of propolis extract: A review. *Journal of Venomous Animal and Toxins* **8**, 191-212.

De Jonge ME, Huitema AD, Holtkamp MJ, Van Dam SM, Beijnen JH, Rodenhuis S, Aprepitant inhibits cyclophosphamide bioactivation and thiotepa metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol.* **2005**;56:370-8.

De Souza CF, Fernandes LC, Cyrino ES. (2006). Produção de Espécies Reativas de Oxigênio Durante Exercício Aerobie Anaerobie. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum.* 8(2):102-109.

Delattre J, Thérond P, Bonnefont-Rousselot D. Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques.* Paris : Lavoisier, **2005** : 281-309.

Donadieu Y. (2008) La Propolis Editions *Dangles*, Paris, 90p.

Donadieu Y. La propolis thérapeutique naturelle, 4^o Edition, Paris, *Maloineedit*, (1993), 61p.

Donadieu Y. Le pollen thérapeutique naturelle, 7^o Edition, Paris, *Maloineedit*, (1987), 62p.et des Propriétés biologiques de la propolis.

Dorvault F. L'officine, 20^o Edition, Editions *Vigot*, Paris.

Droge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82, 47-95. Mates JM, Perez-Gomez C and Nunez de Castro I (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32, 595-603.

Duarte TL, Jones GDD. (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine.* 43:1165–1175.

-E-

EchtayKS, Esteves TC, Pakay JL, Jekabsons MB, Lambert AJ, Portero-Otin M, Pamplona R, Vidal-Puig AJ, Wang S, Roebuck SJ and Brand MD (2003) A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. *Embo J* 22, 4103-4110.

Era S., Imai H., Hayashi T., Okihara K., Nakatsuna A., Yamada H. Influence de l'ingestion de propolis sur l'état d'oxydo-réduction de l'albumine du sérum humain : une étude effectuée sur des malades souffrant de stress oxydatif sévère, Gifu University & Yamada Apiculture Center, Japon.

Essig DA and Nosek TM (1997) Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species? *Can J Appl Physiol* 22, 409-428.

Evangelist-Rodrigues, A., Carneiro of Cunha. M (2001). Analise comparative da qualidade da propolis colectado atraves de calços de madeira etela plastica na regiaô do byo paraeibano.

Evans WJ (2000) Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* 72, 647S-652S.

-F-

Finaud J, Lac G, Filaire E. (2006b). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med* 36 (4): 327-58.

Fiorucci. N, Dixon. R. L, effect of chloramphenical on the metabolism and hethatity of cyclophosphamide in rats. *Porc sonc exptl Bim . Med*, 127: 1151, 1155, **2008**.

Fraisess. L, Adams. R. H, effect of microsomal enzymemodifiess on toxicity and therapeutic acticity of cyclophosphamide in mice. *Arch. Inter. Pharmacodinamy*. 180: 391-408. **1991**.

-G-

Germes G. Flash sur le symposium d'apithérapie de Portoroz, L'abeille de France n°621, novembre **1978**, p.421-422.

Gey KF, Brubacher GB and Stâhelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 45:1368-1377, (1987).

Ghisalberti, E. L (1979). Propolis a review. *Bee Wold* 60, 59-84.

Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T, Kanazaw K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. 45:1318–1325.

-H-

Hand. D, Williams. E, Cadenas. E, Biochem. J, 2001, 353,0411-416.

Hegazi, A. G (1997). Propolis an overview. International Symposium on Apitherapy Cairo 8-9th Egypt.

Hempel N, Ye H, Abessi B, Mian B, Melendez JÁ. (2009). Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Radical Biology and Medicine*. 46:42–50.

Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, Lee SC, Lee KB and Rhee SJ (2004) Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chim Acta* 340, 107-115.

Huang TT, Carlson EJ, Kozy HM, Mantha S, Goodman SI, Ursell PC and Epstein CJ (2001) Genetic modification of prenatal lethality and dilated cardiomyopathy in Mn superoxide dismutase mutant mice. *Free Radic Biol Med* 31, 1101-1110.

Hulbert AJ (2005) On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J Theor Biol* 234, 277-288.

-I-

Iron, Copper. Physiological thiols compounds exert pro- and anti-oxidant effects, respectively. *BBA* 1345:215-221, 1999.

Ivanov, T (1980). Composition and physico-chemical properties of propolis. *Zhivotnovudni* 17 (8), 96-103.

-J-

Jean-Proste, Yves Le Conte. (2005). Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher. Edition lavoisier.

Ji LL, Fu R and Mitchell EW (1992) Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol* 73, 1854-1859.

Justin. O, 1996. Bee products : chimical compisition and application. Bee product: 15-26 plenum press: new York.

-K-

Kehrer JP. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*. 149:43–50.

Kehrer. L, Kacew. D: cyclophosphamide pharmacokinetics in man, *cancer Res.* 32: 2761-2764, 1985.

Kirschvink N, de Moffarts B, Lekeux P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177:178–191.

Klein. D, Fouts. J. R, impairment of drug metabolism ijn drag toxicity in: B. B. Body. p2261-276 : new York 2001.

Kosonocka L. La propolis : produit « bidon » ou vrai médicament, *American Bee Journal* n°8, 1990.

Krell, R (1996). Value-Added products from beekeeping. FAO Agricultural services.

-L-

Lahouel. M, Belli.N, Leghouchi. E, Chebab. S, Stress oxydatif induit par deux pesticides l'endosulfan et le chlorpyriphos Laboratoire de pharmacologie, chimie pharmaceutique et environnement Faculté des sciences. Université de Jijel: 10.1684/ers.2009.0292

Lavie, P (1975). La propolis. Edition: Apimondia. Bucharest.

Levine RL (2002) Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 32, 790-796.

-M-

Mac Laren D. (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

Marcucci, M. C (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* **26**, 83-99.

Marnett LJ (1999) Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res* 424, 83-95.

Mates JM, Perez-Gomez C and Nunez de Castro I (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32, 595-603.

Metzner, J., Schneidewind, E. M (1997). Studies on the question of potentiating effects of propolis constituents. *Pharmazi* 33 (7). German.

Minh-Ha Pham-Delegue. Connaître et découvrir les abeilles, Geneve, Minerva, (1999), 206p.

Monassier. L. out patient chemotherapy administration, **2012**, 22, 31-37.

Morel Y, Barouki R. Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci* (Paris) **1998** ; 14 : 713-21.

Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* **1999** ;342 : 481-96.

Moudir Naima, (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne. . Thèse de magister en chimie. Université Mohamed Boudiaf, M'sila.

-N-

Negri, G., Marcucci, M. C., Salatino, A. M., Salatino, L. F (2000). Comb and propolis waxes from Brazil (states of Sao Paulo and Panama). *J Braz* **1**, 5453-457.

Niess AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. (1996). DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med.* 17(6):397-403.

Nomura K, Imai H, Koumura T, Kobayashi T and Nakagawa Y (2000) Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. *Biochem J* 351, 183-193.

-O-

Okado-Matsumoto A and Fridovich I (2001) Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem* 276, 38388-38393.

Okhawa H, Ohishni N, Yagi K, 1979. Assay Of Lipid Peroxides In Animal Tissue By Hiobarbituric Reaction. *Anal Biochem*, 35: 351-8.

-P-

PackerL, Tritschler HJ and Wessel K (1997) Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22, 359-378.

Pamplona R, Portero-Otin M, Ruiz C, Gredilla R, Herrero A and Barja G (2000) double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech Ageing Dev* 112, 169-183.

Peng J, Jones GL and Watson K (2000) Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. *Free Radic Biol Med* 28, 1598-1606.

Peter N., Campbell A., Anthony D., Biochimie illustrée. Maloine éd, 2002. Pp 213-238.

Pincemail J, Siquet J, Chapelle J-P. et al. Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann Biol Clin* 58 :178-185, 2000.

Popova, M., Bonkova, V., Chimov, A., Sileva, M (2002). A scientific note on the high toxicity of propolis that comes from Myroxylan balsamum trees. *Apidologie* 33, 87-88.

Powers SK and Lennon SL (1999) Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 58, 1025-1033.

-R-

Richter C, Park JW and Ames BN (1988) Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 6465-6467.

Rixe. D. structure and fuctsm on health and disease- new yoroxf. *Uni. Press* 495, 543, 562. 2004.

-S-

Sang. S, Cheng. X, Stark. R. E, Rosen. R. T, Yang C. s, ho c. t, Chemical studies on antioxidant mechanisms of tea catechins : analysis of radical reaction products of catechin and epicatechin with 2,2-dihenyl-1 picrylhydrazyl ioorg. *Med chem.* 2002. 10(7): 2233-2237.

Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2):143- 164.

Segueni.N. Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis.(2011)

Sentman ML, Granstrom M, Jakobson H, Reaume A, Basu S and Marklund SL (2006) Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase. *J Biol Chem* 281, 6904-6909.

Sies H. Oxidative stress : introduction. In : Oxidative stress, oxidants and antioxidants. H.Sies Ed. London : *London Academic Press* 1991, pp XV-XXII.

Siess. M. H, le bon A. M, Canivenc-lavier M. C, Suscheter M, Mechnisms involved in the chemoprevention of flavonoïds. *Biofactors,* 2000 12(1-4): 193

Skulachev VP (1998) Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. *FEBS Lett* 423, 275-280.

Sobocanec S., Sverko V, Balog T., Saric A., Rusak G., Likic S., Kusic B., Katalinic V., Radic S., Marotti T.Journal of agricultural and food chemistry, 2006, vol. 54, no21, pp. 8018-8026.

Spiteller G. (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids,

plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine*. 41(3):362–387.

Sturtz LA, Diekert K, Jensen LT, Lill R and Culotta VC (2001) A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem* 276, 38084-38089.

-V-

Vanhelden YGJ, Keijer J, Knaapen AM, Heil SG, Briedé JJ, van Schooten FJ, godschalk RWL. (2009). β -Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. *Free Radical Biology Medicine*. 46:299–304.

Vannier P. Au pays du miel, Flammarion, (1998), 159p.

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. (2007). Espécies reactivas de oxigénio et de nitrogénio, antioxydants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analiticoa para sua determinação. *Quim Nova*. 30(5):1323-1338.

Vergani L, Floreani M, Russell A, Ceccon M, Napoli E, Cabrell A, Valente L, Bragantini F, Leger B, Dabbeni-Sala F. (2004). Antioxidant defences and homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNAdepleted cell lines. *Eur J Biochem*. 271:3646–3656.

-W-

Walko CM, Yu YA, Bhushan S, Spasojevic I, Carey L, Collichio F et coll. Effect of aprepitant on cyclophosphamide pharmacokinetics in early breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2009 (Meeting Abstracts);27:588.

Welch WJ (1992) Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev* 72, 1063-1081.

Wolinsky I. (1998). Nutrition in Exercise and Sport. 3th edition. New York: CRC Press.

Références bibliographiques

Wong A and Cortopassi G (1997) mtDNA mutations confer cellular sensitivity to oxidant stress that is partially rescued by calcium depletion and cyclosporin A. *Biochem Biophys Res Commun* 239, 139-145.

Annexe

ANNEXE



Image représentant la pulvérisation de la propolis.

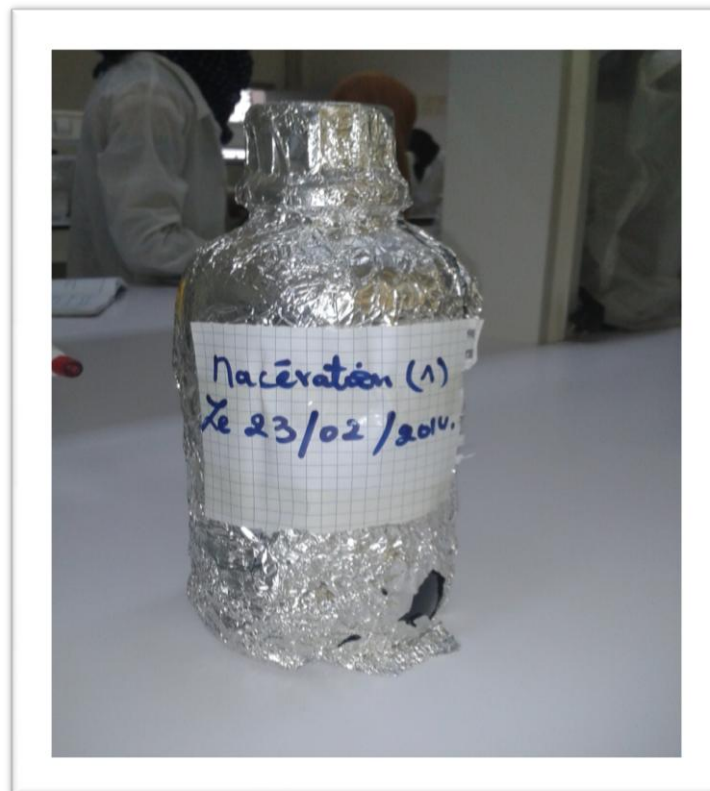


Image représentant l'étape de macération de la propolis.



Image représentant l'étape de filtration du macérat.

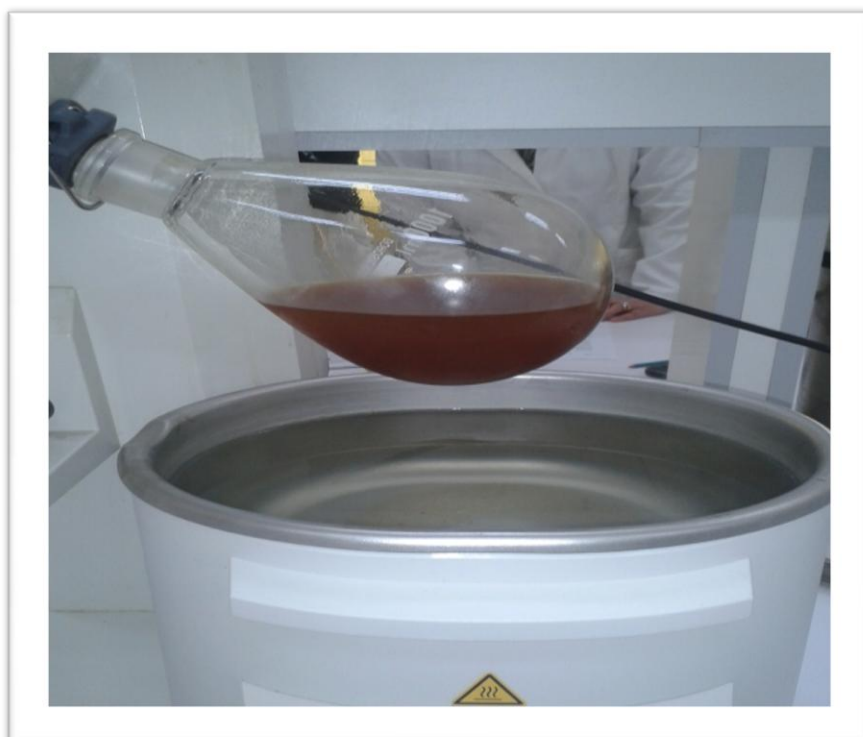


Image représentant l'étape d'évaporation.



Image représentant l'extrait éthanolique de la propolis.



Image représentant l'administration du cyclophosphamide.



Image représentant l'administration de la propolis à des doses différentes.



Image représentant les souris sous chloroforme.



Image représentant le sacrifice des souris.

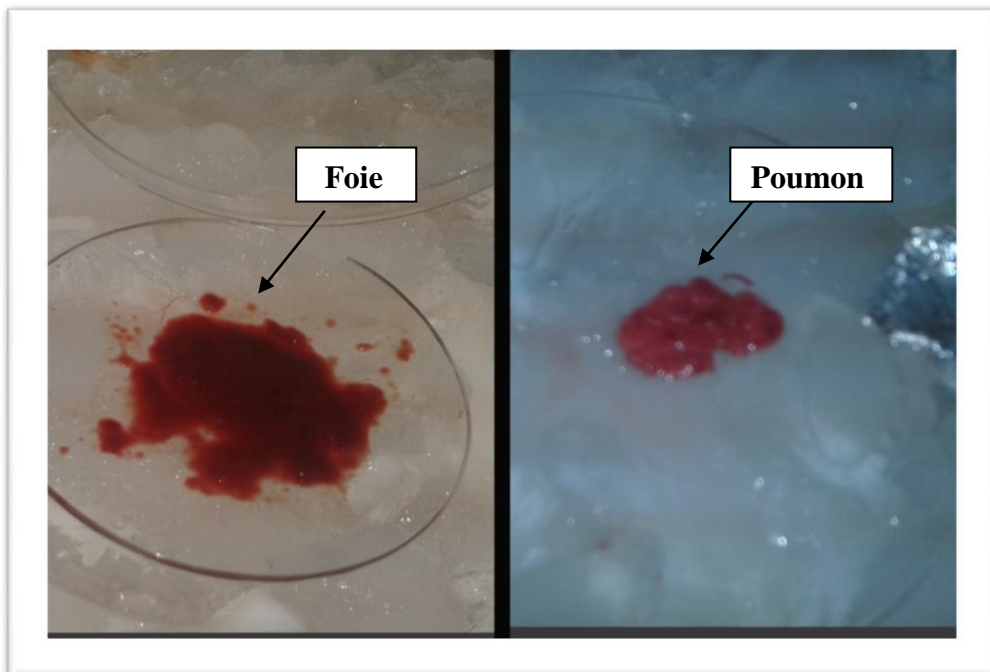


Image représentant les organes (foie et poumon) isolés.



Image représentant l'homogénéisation par le potter manuel.



Image représentant les homogénats dans des tubes éppendorfes.

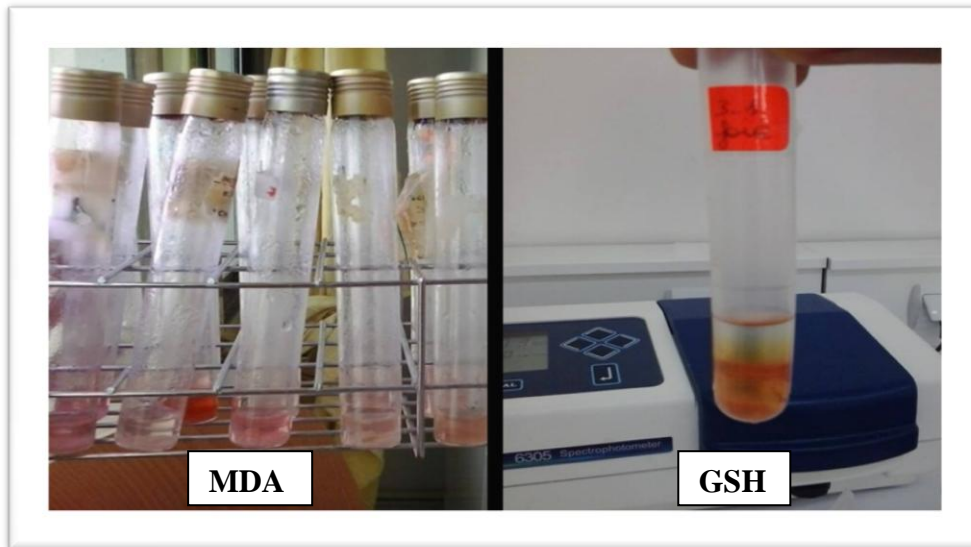


Image représentant le dosage du MDA et GSH.

Résumé

La propolis est un mélange de substances résineuses récoltées par les abeilles et enrichies par leurs sécrétions. Elles s'en servent pour colmater les trous dans la ruche, consolider les rayons de cire, et détruire certaines bactéries.

La propolis est le produit apicole le plus médicinale de la ruche. Etant riche en flavonoïdes et en acides phénolique, la propolis est pourvue des propriétés à la fois anti oxydantes et pro oxydantes, selon la concentration.

Dans notre étude, nous avons préparé l'extrait brut de la propolis. Ensuite, nous avons évalué La capacité de notre extrait à induire une pro oxydation, en dosant le MDA et le GSH. Les résultats obtenus sont satisfaisants, car notre extrait possède une activité pro oxydante de la dose de 200mg/kg et 400 mg/ kg. La dose de 800mg/kg a tué tous les souris.

Mots clés : propolis, activité pro oxydante, MDA, GSH.

Abstract

Propolis is a mixture of resinous substances collected by bees and enriched by their secretions. They use it to seal the holes in the hive, consolidate honeycombs, and destroy Certain bacteria.

Propolis is the most medicinal hive beekeeping product. Being rich in flavonoïds and phenolic acids, propolis is provided with properties of both antioxidant and pro-oxidant, depending on concentration.

In our study, then, we have prepared the crude extract of propolis. After we evaluated the ability of our extract to induce pro oxidation by measuring MDA and GSH. The results obtained are satisfactory as a prooxidant our extract has activity at a dose of 200mg/kg and 400mg/kg. The dose of 800mg/kg killed all mouses.

Keywords: propolis, prooxidant activity, MDA, GSH.

ملخص

العكبر (البر وبوليس) هو خليط من المواد الراتنجية التي تجمعها شغالات النحل و تغذيها بواسطة إفرازاتها. و يتمثل دورها في سد الشقوق و تقوية أفراس العسل داخل الخلية و كذا القضاء على بعض البكتيريا. كما يحتوي العكبر على أكثر نسبة من الفوائد الطبية الموجودة داخل خلية النحل. و نظرا لكونه غني بالفلافونيدات والأحماض الفينولية فهو يجمع بين خصائص مؤكسدة و أخرى مضادة للتأكسد (حسب نسبة التركيز). في دراستنا المنجزة قمنا باستخراج المستخلص الايثانولي للعكبر و حققه في فئران تجارب بهدف تقييم نسبة الأوكسدة التي يؤدي إليها. ثم أضفنا جرعة المالونديالدهيد و الجلوتاثيون. و بهذا فقد حصلنا على نتائج إيجابية لأن النشاط المؤكسد الذي تحدثه مادتنا الخام يقدر ب 200 ملغ/كغ و 400 ملغ/كغ. أما جرعة 800ملغ/كغ فقد تسببت في موت جميع الفئران.

الكلمات المفتاح : العكبر ، نشاط مؤكسد ، المالونديالدهيد ، الجلوتاثيون.

