



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et
de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2022

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté et soutenu par :

Amira DJOUDI

Le : [Click here to enter a date.](#)

Etude de l'effet antioxydant de la propolis in vivo contre l'hépatotoxicité et l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro

Jury :

Ms Nacer AGLI

Mme Asma BOUCIF

Mme Fatiha BENGUERAICHI

Pr Université de Biskra

MCB Université de Biskra

MAA Université de Biskra

Président

Rapporteur

Examineur

Année universitaire: 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ربي اوزعني ان اشكر نعمتك التي انعمت علي و على والدي و ان اعلم صالحا
ترضاه

Remerciement

Je tiens à remercier premièrement ALLAH tout puissant pour le courage, la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donné pour terminer ce modeste travail.

J'exprime mon sincères remerciement et mon gratitude au Dr. BOUCIF Asma , d'avoir acceptée de m'encadrer dans ce travail.

Je vous remercie pour les précieux conseils et orientations qui m'a présentée, je suis aussi particulièrement touchée par votre amabilité, votre compétence pratique, vos qualités humaines et professionnelles qui j'inspire une admiration et un grand respect.

Que Dieu vous perpétue au service de la science et des étudiants, et je vous souhaite de réussir votre vie professionnelle et sociale.

Je voudrai aussi remercier tous les membres de jury avec ma profonde gratitude de l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et d'avoir accepté de le juger.

A tous les esprits ouverts qui ont contribué, de loin ou de près, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force

D'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur

De lever mes mains vers le ciel et de dire

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour ma

mère LEILA et mon père MED.LAMINE. école de mon enfance, qui a été

Mon ombre durant

toutes les années des études, et qui veillé tout au long de ma vie

à m'encourager, à me protéger.

Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma sœur : Yasmine

Mon frère : Ahmed

Surtout toute ma gratitude a mon oncle RHIADÉ, et ma cousine FATIMA pour leurs efforts pour finir cette

année

Mes chers grands-parents : Aziza et Wanassa

A tous ceux que j'aime de ma chère famille paternelle et maternelle ...

A toutes mes amies pour les beaux moments vécus tout a long de notre cursus universitaire et aussi pour

l'aide, les conseils et le soutien morale.

A toute ma grande famille DJOUDI

A tous ceux qui m'aiment et tous ceux que j'aime...

Avec tous mes souhaits de bonheur, de santé et de prospérité.

Vous êtes dans mon coeur...

Amira

Table des matières

Liste des Tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Partie 1 Etude Bibliographique

Chapitre1 Généralité sur la propolis

1.1 Historique	5
1.2 Définition.....	6
1.3 Origine botanique de la propolis	6
1.4 Variabilité de la propolis.....	6
1.5 Composition chimique et source végétale.....	7
1.5.1 Propolis des zones tempérées.....	7
1.5.2 Propolis des zones tropicales.....	8
1.6 Récolte de la propolis.....	8
1.6.1 Temps de récolte.....	8
1.6.2 Récolte par l'abeille	9
1.6.3 Récolte par l'homme.....	9
1.7 Les méthodes d'extractions et purification	9
1.8 La conservation.....	10
1.9 Les propriétés thérapeutiques de la propolis.....	10
1.9.1 Activité antioxydant.....	10
1.9.2 Activité anti-inflammatoire.....	11
1.9.3 Activité anti-cancéreuse.....	11

1.9.4 Autres activités.....	11
-----------------------------	----

Chapitre2 Généralité sur le pollen de palmier dattier

2.1 L'hépatotoxicité des produits chimiques.....	13
2.2 Les différents types de l'hépatotoxicité.....	13
2.2.1 La toxicité aiguë.....	13
2.2.2 La toxicité subaiguë.....	13
2.2.3 La toxicité chronique.....	14
2.3 Le stress oxydatif dans le foie.....	14
2.4 Voies d'administration appliquées expérimentalement.....	14

Partie 2 Étude expérimentale

Chapitre 3 Matériel et méthode

3.1 Matériel végétal	17
3.1.2 La propolis.....	17
3.1.3 Les différentes étapes de la récolte e propolis.....	17
3.1.4 Préparations de l'extrait de propolis.....	18
3.2 Matériel biologique.....	19
3.2.1 Préparation des animaux.....	19
3.2.2. Sacrifices des animaux.....	19
3.2.3 Préparation de l'homogénat tissulaire du foie.....	19
3.2.4 Voies d'administration de la propolis.....	19
3.3 Matériel chimique	20
3.3.1 Les produits chimiques utilisés.....	21
3.3.2 Agents d'hépatotoxicité.....	22

3.3.3 Les paramètres étudiés.....	24
3.4 Analyses des paramètres sériques.....	25
3.4.1 Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT)	25
3.4.2 Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)	25
3.4.3 Dosage du gamma glutamyl transférase (γ -GT)	25
3.5 Dosage Peroxydation lipidique (malonadéhyde MDA).....	25
3.6 Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase SOD).....	25
3.7 Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase CAT	26
3.8 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)	27
3.9 Dosage des thiols	27

Chapitre 4 Résultats et discussion

4.1 L'effet des produits chimiques sur la fonction hépatique et l'action hépato-protectrice des antioxydants de propolis.....	30
4.2 Evaluation de l'effet de produit chimique sur les paramètres sériques.....	30
4.2.1 Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT/GOT).....	30
4.2.2 Taux de l'alanine aminotransférase (ALAT/GPT)	30
4.2.3 Taux du gamma glutamyl transférase (γ -GT)	32
4.3 Evaluation de l'effet de produit chimique sur les paramètres du statu antioxydant.....	33
4.3.1 Taux du malonadéhyde (MDA)	33
4.3.2 Taux du superoxyde dismutase (SOD) et de catalase (CAT)	34
Conclusion.....	41
Références bibliographique.....	44

Liste des Tableaux

Tableau 1. Les nouveaux flavonoïdes de la propolis de types peupliers (Jing, 2022).....	8
Tableau 2. Récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis (Apimondia, 2001).....	11
Tableau 3. Données d'espèce et type d'extrait de propolis.....	18
Tableau 4. Dose et voie d'administrations du Propolis et d'agent toxique.....	20
Tableau 5. Agent hépatotoxique, ses doses et voies d'administration.....	23
Tableau 6. Les paramètres analysés par les 15 publications sélectionnées.....	24
Tableau 7. Analyse des paramètres sériques AST et ALT chez les groupes témoins ; groupe traité par le produit chimique et les groupes traité par l'extrait de propolis.....	31
Tableau 8. Analyse de γ -GT, chez les groupes témoins ; groupe traité par le produit chimique et les groupes traité par l'extrait de propolis.....	32
Tableau 9. Analyses de paramètres liés au stress oxydant MDA chez les différents groupes, témoins, groupe traité avec un produit chimique et les groupe traité avec l'extrait de propolis.....	34
Tableau 10. Analyses des paramètres liés au stress oxydant chez les différents groupes, Témoins, les groupes traité avec un produit chimique et les groupes traité avec l'extrait de propolis.....	35

Liste des Figures

- Figure 1.** Abeilles porteuses de propolis dans la colonie (Finstorm et Spivak, 2010).....6
- Figure 2.** Un type de bouleau (*betula pendula*) (Anne-Virgin Schmidt, 2013).....7
- Figure 3.** Les différentes étapes de la récolte de propolis (Jean-Marie Pelt, 2013).....17

Liste des abréviations

Aflx-B1:	Aflatoxine
AlCl₃:	Aluminium Chloride
ALT/ TGP :	Alanine aminotransférase
APAP:	Acétaminophène
AST/ TGO :	Aspartate aminotransférase
BPA:	Bisphénole A
CAPE:	Esters hydroxycinnamiques caféate de phényléthyle
CAT:	Catalase
CCl₄:	Tetrachlorure de carbone
CI 50:	Concentration d'inhibition
CPF:	Chlorpyrifos
CYP:	Cyperméthrine
DO :	Densité optique
DOX:	Doxorubicine
DPPH:	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EAI:	Epirubicine
EDTA:	Acide ethylene diamine tetra-acétique
EEP :	Extrait éthanolique de propolis
EEP :	Extrait éthanolique de propolis
EG:	Ethylène glycole
ERO / ROS :	Oxygène réactif

GC-MS:	Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse.
GPx:	Glutathionperoxydase
GSH:	Glutathion réduit
GST:	Glutathion transférase
HPLC-DAD:	Chromatographie liquide a haute performance avec detection par barrette d'iode
HPLC-UV:	Chromatographie liquid de haute performance chirale avec un détecteur Ultraviolet.
MDA:	Malondialdehyde
MAE :	Extraction par micro-onde
PAL:	phosphatase alcaline
SOD:	Superoxyde dismutase
UE :	Extraction par ultrason
XO:	Xanthine oxydase

Introduction

L'exposition aux produits chimiques déversés dans le différent écosystème représente un danger pour la population animale et végétale. L'homme actuellement a besoins d'utiliser ces produits pour des raisons industriels ainsi les pesticides améliorent le volume et la qualité de la production alimentaire, les produits pharmaceutiques guérissent les maladies citons les traitements chimiothérapeutique et des produits présent dans le lieu de travail ou des produits d'entretiens ménager, etc. Ces produits chimiques présentent un large éventail d'effets nocifs, qui vont des risques de cytotoxicité a plusieurs niveaux essentiellement au niveau du foie (vardi *et al.*, 2010; Deavall *et al.*, 2012)

Le foie joue un rôle clé dans le métabolisme de bon nombre de médicament et de toxine et donc particulièrement sensible au dommage et des troubles induite par la prise des médicaments et surtout a l'interaction foie- médicament chimiothérapeutique (Senior, 2010) ces troubles hépatiques peuvent augmenter les taux d'enzymes et a la formation des radicaux libres qui jouent un rôle le plus important dans l'induction de la cytotoxicité et une lésion hépatique (Sarawoot *et al.*, 2013) d'une autre manière, ce qu'on appelle l'hépatotoxicité. L'hépatotoxicité se définit par la capacité d'une substance à détruire les cellules du foie. Dans la majorité des cas cette destruction est liée à la prise d'un médicament (Benhamou, 1986). Par ailleurs, des études suggèrent que la combinaison des substances chimiques médicamenteuses avec un antioxydant puissant pourrait être l'approche appropriée pour réduire les effets secondaires toxiques (Ghisalberti, 1979).

Malgré la découverte de nouveaux composés synthétiques ayant des effets antioxydants, des sources naturelles restent le principal fournisseur pour obtenir des molécules antioxydants peuvent être utilisées pour empêcher les dommages oxydatifs et la toxicité, (Kurek-Gorecka *et al.*, 2014). Dans ce contexte, les produits obtenus à partir des abeilles qui produisent des aliments a haute qualité, tels que la propolis (Rocha *et al.*, 2013) qui est une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur des bourgeons d'arbres tels que le peuplier, le chêne, l'aulne, etc., soit sur des conifères, amalgamés à une sécrétion salivaire des abeilles (Jianchun *et al.*, 2007).L'analyse phytochimique des extraits de propolis montré que ce dernier contient de grandes quantités de polyphénols et de flavonoïdes (Boufadi *et al.*, 2014 ; Machado *et al.*, 2016).

Dernièrement la propolis est connue comme l'un des médicaments traditionnels pour traiter de nombreuses maladies, a un certain nombre de rôle biologique comme activité analgésique-anesthésique (Orsatti et Sforcin, 2011), activité antiallergique (Mehmetn Yasar *et al.*, 2016), anti-inflammatoire (El-Guendouz *et al.*, 2017), antioxydant (Boufadi *et al.*, 2014), anticancéreuse (Zabaïou *et al.*, 2017), activité immunomodulatrice (Soltani *et al.*, 2017), etc.

Dans ce contexte, cette étude est s'inscrite dont l'objectif vise d'une part, à étudier l'effet hépatotoxique des médicaments chimiothérapeutique et d'autre part, à évaluer l'effet préventif de la propolis contre cette toxicité induite *in vivo*.

Notre stratégie expérimentale a été basée sur :

- ✓ L'évaluation de la toxicité hépatique.
- ✓ L'évaluation de l'effet préventif bénéfique des antioxydants de la propolis sur le foie.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons fait des recherches bibliographiques concernant le propolis, ses propriétés thérapeutiques et son rôle curatif dans cette pathologie. Après avoir défini les termes de recherche, les articles sur l'effet du propolis sur l'hépatotoxicité publiés dans différentes bases de données ont été passés en revue, les recherches effectuées ont été mené dans les moteurs PubMed, Science Direct et Google Scholar, les titres et résumés de tous les articles recherchés ont été évalués pour leur importance concernant le point principal de la recherche en utilisant des mots clés précis, y compris l'hépatotoxicité, et le propolis.

Partie 1

Etude bibliographique

Chapitre 1

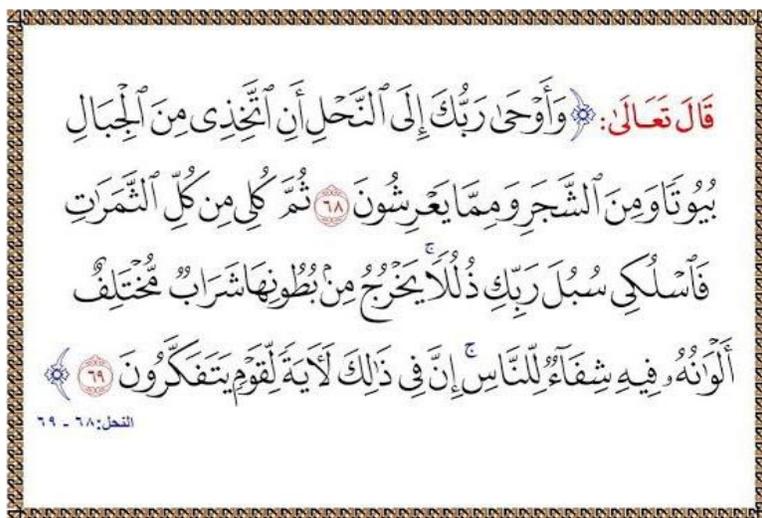
Généralité sur la propolis

I.1 Historique

Le terme « propolis » vient du grec pro, qui signifie « en avant », et polis, qui signifie « cité », ce qui évoque la défense de la ville, donc de la ruche (Anne-Virgin Schmidt, 2013). La propolis était utilisée par l'homme comme médicament traditionnel de puis 300 av (Ghisalberti, 1979; Uzel *et al.*, 2005 ; Trusheva *et al.*, 2007 ; Seidel *et al.*, 2008; Sung *et al.*, 2017; Veiga *et al.*, 2017). La première mention de la propolis remonte à l'Antiquité des représentation d'abeilles fabriquant de la propolis ont été trouvées sur des vases provenant de l'Égypte ancienne, en effet les Égyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les cadavres et pour guérir les blessures, elle était réputée pour ces propriétés conservatrices et son arôme .On l'employait aisément lors de la momification (Crane, 1999).

A leur tour, les anciens grecs et romains ont ajouté la propolis comme ingrédient principale du parfum appelé polyanthus (Kuropatnicki *et al.*, 2013b; Martinotti and Ranzato, 2015; Toreti *et al.*, 2013), Hippocrate considéré comme le père de la médecine moderne fut l'un des premier médecins recommandait l'application de cette substance pour traiter les ulcères et les plaies. A la fin du XIX^e siècle, la propolis était en plein essor grâce a ses vertus anti-infectieuses, cicatrisantes et anti-inflammatoire. De nos jours, elle est utilisée surtout en Europe de l'est, en Asie et notamment au Japon. (Chan *et al.*, 2013). Les Arabes et les Perses utilisaient la propolis comme médicament contre plusieurs maladies et comme agent nettoyant (Kuropatnicki *et al.*, 2013) et le premier rapport scientifique sur la propolis, sa composition et ses actions chimiques a été annoncé au public en 1908 (Fokt *et al.*, 2010; Helfenberg, 1908)

Dans un texte coranique, nous avons relevé ce paragraphe qui fait allusion à la propolis : «Habite les montagnes, les arbres et les ruches, puis mange de tous les fruits et suit humblement les voies de ton Seigneur. Il sort de leur ventre une boisson de diverses couleurs salutaire pour les Hommes. En cela il y a un signe pour les gens qui réfléchissent » (Sourate : L'abeille, Verset : 68-69).



I.2 Définition

La propolis (du grec pro:devant, à l'entrée et polis: ville) en français, en anglais propolis, en arabe, النحل صمغ أو العكبر، أو بروبوليس، est une substance naturelle élaborée par des abeilles ouvrières spécialisées (Ghedira *et al.*, 2009). La propolis provient de résines végétales sécrétées par certains végétaux pour se protéger. Ces résines peuvent avoir plusieurs fonctions : protection contre les pathogènes (champignons) et contre le froid. C'est un produit naturel d'origine mixte (animale et végétale) issu de la récolte par l'abeille de ces résines végétales provenant de bourgeons de feuilles, de tiges ou de fleurs, auxquelles elles ajoutent leurs propres sécrétions, cire et sécrétions des glandes salivaires et hypopharyngiennes (β -glucosidase), afin de pouvoir les utiliser comme protection dans la ruche (Bruneau, 2015) (voir figure n°1)



Figure 01 : abeilles porteuses de propolis dans la colonie (Finstorm et Spivak, 2010).

I.3 Origine botanique de la propolis

Il existe plusieurs types de propolis qui sont fonction de la zones géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone géographique, de la disponibilité des végétaux pendant la saison et de l'espèce de l'abeille (Burdock, 1998)

I.4 Variabilité de la propolis

Afin de mieux comprendre les causes de la variabilité de la composition de la propolis, il est important de savoir comment elle est fabriquée et d'où elle provient. Les abeilles vont collecter des substances sécrétées par les plantes mais aussi celles exsudées lors de blessures de ces dernières: il s'agit de matières lipophiles contenues dans les feuilles, les bourgeons, les gommés ou encore les résines auxquelles elles ajoutent cires et sécrétion enzymatiques contenues dans leur salive. Ainsi la composition de la propolis dépend-elle directement de la flore locale au niveau des sites de collecte et donc des caractéristiques géographiques et climatiques de ces régions. Ceci engendre donc une réelle diversité de composition chimique, tout spécialement dans les régions tropicales (Aliboni *et al.*, 2011)



Figure 02. Un type de bouleau (*Betula pendula*) (Anne-Virgin Schmidt, 2013)

I.5 Composition chimique et source végétale:

La propolis en générale composée, grossièrement, de 50% de résines et de baumes, 30% de cire, 10% d'huiles essentielles et aromatiques, 5% de pollen et 5% et d'autres substances, notamment du bois et des morceaux d'insectes (Shaheen *et al.*, 2011; Athikomkulchai *et al.*, 2013; Nina *et al.*, 2016).

I.5.1 Propolis des zones tempérées

Plusieurs études ont démontré que la propolis de la zone tempérée du monde entier (Europe, régions non tropicales d'Asie, Amérique du Nord et Australie continentale) est classée comme la propolis de type peuplier car elle provient principalement des exsudats de bourgeons de *Populus* spp., le plus souvent (*Populus nigra* L.) (Bankova 1999)

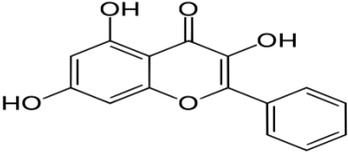
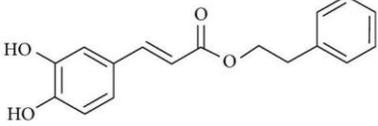
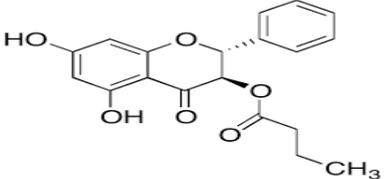
- ✓ **Les peupliers:** (*Populus* spp., Salicaceae) comprennent environ 100 espèces et de nombreux hybrides. Ces plantes sont les espèces à la croissance la plus rapide avec des systèmes racinaires très profonds (jusqu'à 20 m) et les arbres de cinq ans sont capables d'absorber jusqu'à 200 L d'eau par jour (Gawro *et al.*, 2011).
- ✓ **Le bouleau:** (*Betula* L.) est une composante écologique essentielle des forêts tempérées et boréales du nord (Fisher *et al.*, 2002). En Europe, deux arbres importants sont naturellement présents, à savoir le bouleau verruqueux (*Betula pendula* Roth) et le bouleau pubescent (*Betula pubescens* Ehrh.). Ces arbres diffèrent par la morphologie de leurs feuilles, brindilles, branches, écorce, graines et écailles de chatons, ainsi que par la taille des cellules et l'anatomie du bois, et ils peuvent atteindre une hauteur de 20 à 30 m (Figure 02), (Haynynen *et al.*, 2010).

La propolis européenne contient ainsi les composés phénoliques typiques du bourgeon de peuplier i.e. subtropicales. Pour cette raison, il semblerait que les abeilles doivent trouver une autre source de propolis afin de remplacer leur peuplier.

I.5.2 Propolis des zones tropicales

Les propolis des régions tropicales possèdent donc des compositions chimiques différentes de celle du type peuplier des zones tempérées. Dans les zones tropicales où le peuplier est inexistant, les abeilles cherchent une autre source de propolis, alors on parle de propolis rouge (*clusia propolis*) vient de Cuba et du Venezuela et sa source végétale est la (*Clusia spp.*)(Bankova 2005,Lopez *et al.* 2015, Mendonca *et al.* 2015) et de propolis jaune et verte brésilienne est un autre type décrit (alecrim propolis) obtenue à partir de (*Baccharis dracunulifolia*) (Weinstein *et al.* 2005, Fernandes-Silva *et al.* 2013).

Tableau 01 : Les flavonoïdes de la propolis de type peupliers (Jing, 2022)

Type de propolis	Les flavonoïdes	La structure chimique
Zone tempérés Peupliers	Chryisine	
	Des esters hydroxycinnamiques caféate de phényléthyle (CAPE)	
	pinobanksine-3- (2-méthyl)but yrate	

I.6. Récolte de la propolis

I.6.1 Temps de récolte

Toutes les abeilles de la ruche ne sont pas assignées à la récolte de la propolis. Seules quelques-unes réaliseront cette tâche, au printemps ou à la fin de la miellée. La propolis récoltée servira aux préparatifs d’hivernage.

Afin que cette substance résineuse soit plus facile à manipuler, le moment choisi sera la journée, durant les heures les plus chaudes (Rolin., 1984).

Il est connu que les abeilles opèrent une sélection lorsqu'elles collectent la résine d'un végétal, mais les facteurs qui les guident ne sont pas encore parfaitement connus (Solatino *et al.*, 2005). Pour l'instant, on peut seulement affirmer que la nature des terpènes et des composés aromatiques ont leur importance et aident les abeilles à déterminer quelle espèce végétale visiter (Marcucci, 1995).

I.6.2 Récolte par l'abeille

Le nombre de butineuses, spécialisées dans la récolte des résines et la fabrication de la propolis est relativement restreint au sein d'une colonie d'abeilles (Banskota *et al.*, 2001; Ciftci-Yilmaz *et al.*, 2017). Les ouvrières butineuses localisent la source de résines et broient celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent à d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les corbeilles situées dans les pattes postérieures de l'abeille (Harfouch *et al.*, 2016)

L'Apis mellifera est la plus répandue dans le monde elle produit des quantités importantes de l'ordre de 200 à 350 gramme par an (Jean-Marie Pelt, 2021)

I.6.3 Récolte par l'homme

Traditionnellement, on décrit deux méthodes de récolte de la propolis (Lotfy, 2006 ; Kuropatnicki *et al.*, 2013).

- L'une consiste à racler la propolis directement sur la ruche là où la fantaisie des abeilles leur a dicté de la déposer. On appelle la propolis obtenue propolis de raclage. Cette méthode est fastidieuse, aussi n'est-elle pas préférée chez les apiculteurs qui font le commerce de leur propolis.

- L'autre méthode consiste à installer une grille dans la ruche. Les abeilles vont propoliser pour boucher les trous de cette grille. Il suffit alors de la secouer à une température inférieure à 15°C : la propolis est alors dure et cassante, elle va se détacher de la grille.

I.7 Les méthodes d'extraction et purification

Dans leurs travaux, Boryana Trusheva, Dorina Trunkova et Vassya Bankova ont comparé différentes méthodes d'extraction des composés actifs de la propolis pour déterminer les composés majoritairement extraits selon la méthode utilisée. Pour cela, ils se sont focalisés sur les trois méthodes principalement utilisées pour extraire la propolis :

- ✓ La macération
- ✓ L'extraction par ultrasons (UE)
- ✓ L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)

La méthode de macération traditionnelle dure de deux à dix jours. Pour exploiter industriellement la propolis, il est naturel de chercher à augmenter le rendement et la rapidité de son extraction. Il faut alors se tourner vers l'étude de nouvelles méthodes d'extraction.

L'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par ultrasons sont deux méthodes mises au point pour l'extraction de composants organiques issus d'une matrice solide, ce qui correspond exactement au cas de la propolis. Ces extractions semblent toutes indiquées pour les produits naturels et ont déjà fait leurs preuves pour de nombreuses plantes médicinales.

L'extraction assistée par micro-onde MAE, consiste en l'utilisation d'énergie sous forme de micro-ondes pour chauffer le solvant en contact avec l'échantillon pour séparer certains composants de la matrice vers le solvant.

Quant à l'extraction par ultrasons UE, son bénéfice semble être dû principalement à l'effet mécanique des ondes sonores qui créent des bulles de vapeur durant un faible intervalle de pression négative.

L'extraction assistée par micro-ondes est très rapide, mais l'extrait obtenu présente un fort taux de substances qui ne sont ni des phénols, ni des flavonoïdes. C'est l'extraction par ultrasons qui offre le meilleur pourcentage de phénols extraits.

L'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par ultrasons ont toutes deux un bien meilleur rendement que la simple macération de l'échantillon dans la solution. La durée d'extraction est plus faible, c'est l'extraction par ultrasons qui se trouve être la méthode la plus efficace pour ce qui est du rendement, du temps d'extraction et de la sélectivité.

I.8 Conservation de la propolis

La propolis est un produit facile à conserver, quelle que soit la forme sous laquelle elle se présente. Il est toutefois préférable de la conserver dans des récipients hermétiques, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Pour bénéficier de toutes ses propriétés, il est recommandé d'utiliser la propolis aussi fraîche que possible (Donadieu, 2008). Elle est présente sous forme lyophilisée, car ce procédé de conservation assure, pendant un temps presque illimité, le maintien de toutes ses propriétés et de la composition chimique du produit (Donadieu, 2008)

I.9 Propriétés thérapeutique de la propolis

I.9.1 Activité antioxydant

Les flavonoïdes présents dans la propolis lui procurent une activité de « free radicals scavengers » (Boufadi *et al.*, 2017). Cette action est démontrée où les composés phénoliques, les flavonoïdes. Cette action est démontrée où les composés phénoliques, les flavonoïdes, et surtout l'artépilline C, s'opposent à la peroxydation des lipides et préviennent les dommages des radicaux libres (Yang *et al.*, 2011 ; El-Guendouz *et al.*, 2017). Les constituants de la propolis ont été soumis à des tests mesurant leur pouvoir antioxydant. Il s'est avéré que ce sont l'acide caféique, l'acide caféoylquinique, l'acide cinnamique et leurs dérivés qui procurent aux propolis leurs propriétés anti oxydantes (Galeotti *et al.*, 2018).

I.9.2 Activité anti inflammatoire

La propolis module de manière significative les activités leucocytaires *in vitro*, confirmant ainsi son potentiel de source de nouveaux biocides naturels et immunomodulateurs (Soltani *et al.*, 2017). Ainsi elle stimule le système immunitaire à produire plus de macrophages (Donadieu, 2008). Ses effets biologiques bénéfiques sur le système immunitaire existent en partie grâce au CAPE. La propolis régule l'expression de gènes qui contribuent à la reconnaissance des micro-organismes et favorise donc la réponse immunitaire (Orsatti et Sforcin, 2011).

I.9.3 Activité anticancéreuse

La propolis réduit l'expression de p53, Ki67, cyclineD1 et Bcl-xL (Kusuma *et al.*, 2018), comme elle inhibe la prolifération des cellules cancéreuses A549 et révèle une activité antiadhésive de la famille des intégrines des récepteurs de l'adhésion (Brihoum *et al.*, 2018). Ainsi elle agit également en supprimant la formation de métastase, avant et après l'inoculation de carcinome mammaire et colique (Orsolíć *et al.*, 2003). L'inhibition du processus tumoral due à un dérivé de l'acide caféique : le CAPE. Des agents cytotoxiques naturels ont été identifiés dans la propolis, comme les flavanones, l'artépilline C, les diterpénoïdes qui induisent l'apoptose des cellules cancéreuses (Chen *et al.*, 2011 ; Milind *et al.*, 2013).

I.9.4. Les autres activités

Tableau 02. Récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis (Apimondia, 2001).

Activités	Les composants de la propolis
Activité immuno-modulatrice	CAPE
Activité antibactérienne	CAPE, acide benzoïque, acide férulique, acide cinnamique, acides aromatiques + flavonoïdes
Activité antivirale	CAPE+flavonoïdes +naphtoquinones+Terpènes
Activité antifongique	CAPE, acide caféique +flavonoïdes
Activité antiparasitaire	Composés végétaux
Activités antiallergique	CAPE, Chrysine, flavonoïdes
Activités analgésique-anesthésique	huiles volatiles
Activités cicatrisante-régénératrice	flavonoïde+acidephénolique+proline, arginine

Chapitre 2

La toxicité induite par les produits chimique

Le foie est un organe important car il permet à notre organisme d'éliminer les substances nuisibles aux quelles nous sommes quotidiennement exposés (Therrien, 2009). Il est le siège principal de ce métabolisme. Les médicaments absorbés au niveau intestinal vont être transformés au sein des hépatocytes avant de parvenir à la circulation générale. C'est ce que l'on appelle l'effet de premier passage hépatique, d'importance très variée (de 10 % à plus de 90 % d'un médicament à l'autre) (Benhamou, 1986). Les lésions du foie induites par les médicaments représentent un des aspects les plus fascinants de l'hépatologie (Benhamou, 1986).

La toxicité d'un composé chimique est définie comme le pouvoir qu'a une substance (xénobiotique) de provoquer des dommages au foie, qui se manifeste sous forme d'inflammation (hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie), dans les cas plus sévères, la stéatose hépatique survient lorsqu'il ya accumulation de gras dans le foie (Navarro *et al.*, 2002).

II.1 L'hépatotoxicité des produits chimiques

L'hépatotoxicité est une atteinte de foie. Le foie est un organe vitale, tous comme le cœur et les poumons. Il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. C'est une cible pour de nombreux toxiques à cause de son important débit sanguin et de sa situation par rapport à la circulation sanguine (Sonia, 2016)

L'exposition à un produits chimique, dans un contexte professionnel ou domestique, peut aussi être à l'origine d'une toxicité hépatique, comme pour certains solvants à base de tétrachlorure de carbone (CCl₄), de phénols, certains herbicides contenant des dioxines ou certains matériaux plastiques utilisant des phtalates ou l'éthylène dichloré, ou l'utilisation des antracyclines comme des anticancéreux dans le champs médicale qui se manifeste par une élévation des transaminases de 50 à 90%, avec possibilité de fibrose hépatique, voire de cirrhose hépatique) (Pessayre *et al.*, 1999).

II.2 Les différents types de l'hépatotoxicité

Il existe 3 types d'hépatotoxicité (Megrebanne *et al.*, 2010)

II.2.1 La toxicité aigue

La toxicité aigue résulte d'une pénétration ou d'une administration d'une substance toxique, une seul fois ce qui provoquer la mort de l'individu ou l'apparition de très grave troubles physiologiques après un court terme.

II.2.2 La toxicité subaigüe

La toxicité subaigüe concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxique immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir a cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes.

La substance a tester et administré quotidiennement à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux. De manière générale, au moins trois groupes d'essai et un groupes témoins doivent être utilisés (Sonia Etude de la Toxicité Aigue et Subaigüe, 2016)

II.2.3. La toxicité chronique

La substance d'essai est administrée quotidiennement à plusieurs groupes d'animaux d'expérience à des doses progressives, en général pendant une période de 12 mois. Cette durée est assez longue pour permettre aux effets de toxicité cumulée de se manifester, tout en évitant les effets perturbateurs des changements liés au vieillissement (Sonia, Etude de la Toxicité Aigue et Subaigüe, 2016).

II.3 Le stress oxydatif dans le foie

Le stress oxydatif est une caractéristique importante dans la physiopathologie des maladies hépatiques aiguë et chronique, telles que les lésions d'ischémie reperfusion, les modèles cholestatiques de maladie du foie, les maladies du foie alcoolique et la stéatohépatite non alcoolique (Vuppalanchi *et al.*, 2011 ;Li *et al.*,2015).

II.4 Voies d'administration appliquées expérimentalement

La pénétration d'une substance toxique dans un organisme vivant peut se faire selon différentes modalités, à côté de la voie orale, dite le plus souvent digestive, par rapport le passage de la substance toxique au la barrière gastro-intestinale, la substance à examiner, qu'elle s'agit de particules solides ou liquides, peut emprunter la voie respiratoire par inhalation ou la voie cutanée par absorption comme les huiles volatiles qui passent ensuite dans le sang vers les organes cibles sans transformation au niveau du foie ou les poumons.

Par ailleurs, nombreuses voies injectables telles que les injections intraveineuses, intradermiques, et intra-péritonéales sont très répondues dans les essais et les expériences cliniques en utilisant différents modèles animaux, particulièrement les rongeurs (Fatma Kabouche,2019).

Partie 2

Etude expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

Les médecines traditionnelles et populaires de différents pays ont un grand potentiel pour introduire de nouveaux remèdes naturels pour divers troubles pathologiques. Grâce à leurs vertus thérapeutiques et leurs compositions chimiques.

3.1.1 La propolis

La propolis est un produit complexe utilisé dans la médecine traditionnelle en raison de son activité hépato- protectrice il possède une forte activité anti-radicalaire contient de grandes quantités de composés antioxydants, pour cette raison il attire l'attention des scientifiques pour rechercher de nouveaux usages thérapeutiques (Sahlan *et al.*, 2013; Sahlan *et al.*, 2017; Sahlan *et al.*, 2019; Khayrani, 2021; Pant, 2021; Sahlan, 2021).

3.1.2 Les différentes étapes de la récolt

- Etape 1 : Pose toile au grille au-dessus des hausses entre 1^{er} mai et dernière récolte miel.
- Etape 2 : Décollement de la grille
- Etape 3 : Mise à la congélation
- Etape 4 : Décollement de la propolis de la toile
- Etape 5 : Lavage et écumage cire et impuretés
- Etape 6 : Séchage
- Etape 7 : Conditionnement en sacs



Figure 04. Les différentes étapes de la récolte de propolis par ordre de l'étape 1 à 7 (Jean-Marie Pelt, 2013)

3.1.3 Préparation de l'extrait de propolis

L'origine de la propolis utilisée dans cette recherche est selon l'espèce d'abeilles présentes à différents pays et dépend également de la méthode de collecte.

L'extraction a été faite selon le protocole de Boufadi *et al.* (2014), qui consiste à découper la propolis brute en petit morceaux, à les broyer avant d'en extraire les principes actifs avec de l'éthanol (v/v) (dans les proportions propolis brute /solvant = 1/10 : p/v) dans un bain d'eau froide à ultrason pendant 1h et 30 min. Cette opération d'extraction est répétée 3 fois.

La suspension est ensuite filtrée sur papier Whatman N°1 avant évaporation du solvant à sec sous pression réduite à une température de 60°C. Ce filtrat représente l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) (Boufadi *et al.*, 2017 ; 2019)

Cet extrait éthanolique secs (EEP) par la suite a été mis en suspension dans 200 mL d'eau distillée et extrait avec 200 mL de chloroforme. La couche organique a été éliminée et la phase aqueuse a été extraite avec 200 mL d'acétate d'éthyle (EtOAc) trois fois. La phase organique d'EtOAc a été recueillie après évaporation complète du solvant acétate d'éthyle notée EAP (Boufadi *et al.*, 2017 ; 2019)

Les doses ont été ajustées en fonction du poids corporel (Bahmanpour *et al.*, 2006).

Tableau 03. Données d'espèce et type d'extrait de propolis

Référence	Origine	Type D'extrait
(Boufadi <i>et al.</i> , 2014,2017)	(Tizi Ouzou, Algeria)	Extrait brute de propolis
(Sahlan <i>et al.</i> , 2021)	Sluawesi du Sud Indonésie	Microcapsules de propolis
(Elswefy <i>et al.</i> , 2020)	Egypte	En poudre
(El Menyiy <i>et al.</i> , 2016)	Maroc	En poudre
(Ozen <i>et al.</i> 2010)	Turquie	Suspension
(El-Naggar <i>et al.</i> , 2015)	Egypte	Suspension
(Shukla <i>et al.</i> , 2004)	Inde New Delhi	Extrait éthanolique de propolis
(Bhadauria et Nirala, 2009)	Inde	Propolis brute
(Bhadauria, 2012)	Inde	Propolis brute
(Newairy <i>et al.</i> , 2009; Yousef et Salama, 2009)	Turquie et Egypte	Extrait de propolis
(Wang <i>et al.</i> , 2015)	La Chine	En suspension
(Nna <i>et al.</i> , 2018)	Malaisie	En suspension
(Abdul-Hamid <i>et al.</i> , 2017)	Le Caire Egypte	Gélules de propolis
(El-Kott <i>et al.</i> , 2008)	Egypte	En suspension
(Newairy et Abdou, 2013)	Egypte	Extrait
(Kaya <i>et al.</i> , 2019)	La Turquie	Extrait

3.2 Matériel biologique

Ces études ont été réalisées en stricte conformité avec les recommandations du Guide de soin et d'utilisation des animaux de laboratoire. Toutes les procédures expérimentales ont suivi le principe du soin des animaux de laboratoire et ont été réalisées selon un protocole approuvé par le comité local d'éthique animale et effectué conformément aux National Institutes of Health (NIH, USA) lignes directrices pour l'utilisation d'animaux de laboratoire (Boufadi *et al.*, 2014,2017). Tous les efforts ont été faits pour minimiser le nombre de rats utilisés et leur souffrance.

3.2.1 Préparation des animaux

L'étude a été réalisée sur des rats de souche Wistar albinos ou Sprague-Dawley. Les animaux sont placés en cages avec un accès libre à la nourriture et à l'eau et maintenus dans une animalerie à température constante (22°C), hygrométrie de 60% et un cycle de lumière/obscurité de 12/12heures (Bhadauria et Nirala, 2009).

3.2.2 Sacrifices des animaux

A la fin de la période de traitement, les rats ont été mis sous le jeun pendant 12h. Le jour qui suit les rats ont été maintenu sous une légère anesthésie de chloroforme avant d'être sacrifiés afin d'éviter tout risque de changement des paramètres chimiques avant la collecte des échantillons de sang qui a été immédiatement recueilli dans quatre tubes différents: EDTA, sec, hépariné et citraté.

Les échantillons de sérum ont été obtenus à partir des tubes secs ; alors que les échantillons de plasma ont été obtenus à partir des tubes héparines. Les érythrocytes restants sont lavés avec de l'eau physiologique trois fois de suite, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubés 15 min dans de la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 t/min pendant 5 min, et le lysat est ensuite récupéré afin de doser les enzymes anti-oxydantes érythrocytaires (Boufadi *et al.*, 2019).

3.2.3 Préparation de l'homogénat tissulaire du foie

Des morceaux du foie ont été homogénéisés, séparément, avec une solution saline de 0.9% à 4 °C, centrifugés trois fois (200 ×g pendant 30 min). Le surnageant représente l'homogénat tissulaire du foie utilisé comme source d'enzyme (Wu *et al.*, 2017 ; V.U. Nna *et al.*, 2018 ; Boufadi *et al.* ; 2019 ; Sahlan *et al.*, 2021).

3.2.4 Voie d'administration de la propolis

Le protocole expérimentale appliqué dans les publications analysées est initié par les sélections des groupes: groupe témoin et groupe expérimentale qui reçoit l'extrait étudié du propolis les échantillons, les doses et voie d'administration de l'extrait et la durée de traitement sont illustrées dans le tableau 04.

Tableau04. Dose et voie d'administrations du Propolis et d'agent toxique

Référence	Echantillon	Dose (mg)	Durée (jour)	Agent d'hépatotoxicité	Méthode et voie d'administration
(Boufadi <i>et al.</i> , 2014,2017)	30 rats males Wistar 100-150g	100mg 200mg	15	Epirubicine	1/jour par gavage gastrique
(Chaa <i>et al.</i> , 2019)	Rats males Sprague-Dawley (200-300g)	100mg 200mg	15	Doxorubicine Epirubicine	Propolis : 1/jour par gavage gastrique pendant 15 jours
(Elswefy <i>et al.</i> , 2020)	100 rats males Albinos Wistar 200g	200mg	60	Bisphenol BPA	Un prétraitement de propolis unique 1/jour pendant 30 jour puis
(El Menyiy <i>et al.</i> , 2016)	Rats males Witrar 150-220g	100 200	30	Ethylène Glycol EG	Administration du PRO 1/jour par gavage
(El-Naggar <i>et al.</i> , 2015)	48 souris albinos suisses males 20-25g	200	14	Aflatoxine B1 Aflx-B1	Administration des doses unique de PRO 3/semaine pendant 2 semaine par voie orale
(Shukla <i>et al.</i> , 2004)	Rats males Wistar 130g	50 100 200 400	7	Carbontetrachlorie CCl₄	Administration par voie orale
(Bhadauria et Nirala, 2009)	Rats femelles Sprague-Dawley 130g	200	27	Acetaminophen (APAP)	Administration par voie orale
(Bhadauria, 2012)	Rats males Wistar 150g	200	7	Aluminium AL	1/jour pendant 3 jour par voie orale
(Newairy <i>et al.</i> , 2009; Yousef et Salama, 2009)	Rats males Sprague-Dawley 180-200g	50	30	Aluminium chloride AlCl ₃	Administration voie orale
(Nna <i>et al.</i> , 2018)	30 rats males Sprague-Dawley 250-300g	300	30	Metformin	1/ jour par gavage
(Abdul-Hamid <i>et al.</i> , 2017)	20 rats males Albinos 120-150g	100	28	Cypermethrin CYP	1/jour par gavage gastrique
(El-Kott <i>et al.</i> , 2008)	48 rats males Swiss Albino 22-25g	150	60	Amitraz	1/ jour par gavage
(Newairy et Abdou, 2013)	40 Rats males Wistar 180-225g	100	28	Chlorpyrifos CPF	1/ jour par voie orale
(Kaya <i>et al.</i> , 2019)	42 Rats males Albinos Wistar 250-300g	100	30	Furan	Administration par voie orale

3.3 Matériel chimique

Cinq publications ont utilisé des produits chimiques soit pour induire des toxicités de foie (lésion hépatique) ou de but de déterminer les effets synergiques possibles entre les antioxydants de propolis et un autre produit dans le traitement de l'hépatotoxicité.

3.3.1 Les produits chimiques

✓ L'épirubicine (EPI)

Appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimio-thérapeutiques (Judson *et al.*, 2014) le plus efficace utilisé dans le traitement de divers cancers du sein (Jing Wu *et al.*, 2015) est un dérivé de la doxorubicine métabolisé dans le foie pour donner des métabolites tels que l'épirubicinol et l'EPI glucuronide (Weenen *et al.*, 1984) La recherche montre que l'utilisation à long terme de l'épirubicine peut causer des dommages au foie, ces dommages dus aux radicaux libres d'oxygène et à la peroxydation des lipides produits au cours du métabolisme (Singal et Iliskovic, 1998). Trois injections intraveineuses d'EPI de dose de 9 mg/kg ont été utilisées dans le 15^{ème} jour de traitements des rats (Chaa *et al.*, 2019).

✓ La doxorubicine (DOX)

Le nom chimique de la DOX qui correspond à la formule chimique brute $C_{27}H_{29}NO_{11}H^+Cl^-$ et sa masse molaire est de 580 (Takemura *et al.*, 2007). Utilisée comme médicament antibiotique et surtout en chimiothérapie c'est un anticancéreux de la famille des anthracyclines, elle possède une large gamme de tumeurs y compris les leucémies, les lymphomes, et les tumeurs solides (cancer du sein et de l'ovaire, sarcomes osseux et tissulaires, neuroblastomes) (Tacar *et al.*, 2013). La doxorubicine obtenue de la PT Kalbe Pharma, utilisée par injection ou gavage d'une dose unique 9 mg/kg, dans une certaine période, selon chaque article.

L'Acétaminophène (APP)

Est l'un des médicaments anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques en vente libre les plus largement utilisés dans le monde. L'avantage de ce médicament est qu'il a moins de toxicité gastro-intestinale que d'autres médicaments anti-inflammatoires, tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). En revanche, l'inconvénient de ce dernier est qu'il induit une hépatotoxicité provoquant une nécrose centroblobulaire hépatique (James *et al.*, 2003). L'APP a été obtenu de Sigma et administré par voie orale, sa dose de 20mg/kg selon Khedun *et al.* (1993).

✓ Bisphenol (BPA)

De la formule chimique brute $C_{15}H_{16}O_2$ est un monomère synthétique, était principalement utilisé dans la fabrication de polymère et il existe plusieurs sources environnementales d'exposition au BPA et les principales voies d'exposition au BPA comprennent le contact cutané avec les papiers thermiques des tickets. Alors le BPA susceptible de provoquer des lésions graves dans différents organes principalement le foie car il est plus sensible à développer une toxicité même à faible dose de BPA sa métabolisation dans le foie par glucuronidation, le

produit achetés de Sigma Aldrich, la dose administré de BPA est de 50 mg/kg/jour dissous dans l'huile de maïs (Hoekstra *et al.* , 2013 ; Corrales *et al.*, 2015)

✓ Aflatoxine

De la formule chimique brute $C_{17}H_{12}O_6$ sont des mycotoxines produites en tant que métabolites secondaires (B1, B2, G1, G2) les aflatoxines B1, AFB1 sont les plus puissantes de ces toxines. le centre internationale de recherche sur le cancer a classé l'AFB1 comme cancérrogènes du groupe 1, plusieurs rapports récents ont démontré que AFB1 connu pour sa capacité à induire une hépatotoxicité et par conséquent entrainer des lésions cellulaires. L'AFB1 a été acheté de Sigma Aldrich, sa dose unique de 250µg/kg b.w, administré par voie orale pendant 30 jours (Alm-Eldeen *et al.*, 2014)

✓ Ethylène glycol (EG)

Est un diol issu de la famille des hydrocarbures aliphatiques saturé de la formule chimique brute $C_2H_6O_2$ et de masse molaire de 62,07 g/mol très largement utilisés dans l'industrie, l'exposition à l'EG dans les industries provoque une altération des fonction hépatique (Porter *et al.*, 2012 ; Yao *et al.* ; 2002), la toxicité survient après la conversion de l'EG en ses métabolites, l'acide oxalique, et l'acide glycolique (Haggerty *et al.*, 1959 ; Berman *et al.*, 2009), sa dose 0.75% dans l'eau potable. Tous les produits chimiques utilisés étaient de la plus haute qualité analytique disponible sur le marché.

3.3.2 Agent d'hépatotoxicité

Parmi les articles sélectionnés, 4 publications ont étudié l'évaluation de l'effet des antioxydants de propolis sur les troubles hépatique induit à travers l'administration des produits toxiques comme l'Epirubicine et le doxorubicine (DOX), et l'ethylène glycol qui sont des traitements chimiothérapeutique .Une étude secondaire (une accumulation des produits toxiques comme l'Epirubicine et le doxorubicine (DOX), et l'ethylène glycol qui sont des traitements chimiothérapeutique .Une étude secondaire (une accumulation des graisses hépatique stéatose) causant la toxicité ont été incluses (tab 5).

Tableau 05. Agent hépatotoxique, ses doses et voies d'administration

Référence	Agent hépatotoxique	Dose	Durée (jour)	Vois d'administration
(Boufadi <i>et al.</i> , 2014,2017)	Epirubicine	9mg	15-22	Au 15 ^{ème} jour les rats de G2 ,G5 ont reçu 3 injections intraveineuse d'EAP
(Chaa <i>et al.</i> , 2019)	Doxorubicine DOX	9mg	15-22	Au 15 ^{ème} jour le groupe témoin positif et échantillon ont reçu une injection intraveineuse de doxorubicine 3 i.v/semaine
(Elswefy <i>et al.</i> , 2020)	Bisphenol BPA	50mg	60	G2 de 8 rats groupe (BPA) dissous dans l'huile de maïs administré par gavage
(El Menyiy <i>et al.</i> , 2016)	Ethylène Glycol EG	0.75%	30	G2 (groupe EG) ont reçu EG dans l'eau potable par gavage 1/jour
(El-Naggar <i>et al.</i> , 2015)	Aflatoxine B1 Aflx-B1	250µg	/	G4 des souris ont reçu une seule dose d'AFB1 par voie orale
(Shukla <i>et al.</i> , 2004)	Carbontetrachlorie CCL₄	0.5 ml	3	G2 et G3 des rats ont reçu CCL ₄ 1/ jour
(Bhadauria et Nirala, 2009)	Acetaminophen APAP	20mg	21	G2 (groupe témoin 1) ont reçu L'APAP 1/jour par voie orale pendant 21 jour G ₃ (groupe témoin 2) ont reçu l'APAP 1/jour pendant 5 jour (Administration par voir orale)

3.3.3 Les paramètres étudiés

L'évaluation de l'effet antioxydant du propolis contre l'hépatotoxicité a en évidence reposé sur la détermination des paramètres sériques :

- Dosage des transaminases (ALAT, ASAT et γ -GT)
- Détermination des biomarqueurs du stress oxydatif (MDA, GSH)
- Mesure de l'activité enzymatique (CAT, SOD)

Tableau 06. Les paramètres analysés par les 15 publications sélectionnées

Références	Paramètres étudié
(Boufadi <i>et al.</i> , 2014,2017)	Niveau des transaminases ALT, AST, γ -GT Activité enzymatiques CAT, SOD, GPx Evaluation des biomarqueurs du stress oxydatif MDA
(Sahlan <i>et al.</i> , 2021)	Niveau des transaminases ALT, AST
(Elswefy <i>et al.</i> , 2020)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatique CAT Biomarqueurs MDA, GSH
(El Menyiy <i>et al.</i> , 2016)	Niveau des transaminases ALT, AST
(El-Naggar <i>et al.</i> , 2015)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatique CAT, SOD Biomarqueurs MDA, GSH
(Shukla <i>et al.</i> , 2004)	Niveau des transaminases ALT, AST, Γ gt Biomarqueurs MDA, LPO,GSH
(Bhadauria et Nirala, 2009)	Niveau des transaminases ALT, AST, γ -GT Activité enzymatiques CAT, SOD Biomarqueurs GSH
(Bhadauria, 2012)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatiques CAT, SOD Biomarqueurs GSH
(Nna <i>et al.</i> , 2018)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatiques CAT, SOD, GPx
(Abdul-Hamid <i>et al.</i> , 2017)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatiques MDA, SOD
(Newairy <i>et al.</i> , 2009; Yousef et Salama, 2009)	Niveau des transaminases ALT, AST
(El-Kott <i>et al.</i> , 2008)	Niveau des transaminases ALT, AST
(Newairy et Abdou, 2013)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatique CAT, SOD Biomarqueurs GSH
(Kaya <i>et al.</i> , 2019)	Niveau des transaminases ALT, AST Activité enzymatiques CAT, MDA, SOD
(Babatunde <i>et al.</i> , 2015)	Activité enzymatiques MDA, SOD Niveau des transaminases ALT, AST

3.4 Analyses des paramètres sériques

L'analyse des paramètres sériques est effectuée suivant des méthodes enzymatiques ou colorimétriques.

3.4.1 Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France) (Boufadi *et al.*, 2017).

• **ASAT**: enzyme présente dans le cytosol et les mitochondries; se trouve dans le foie, les muscles, le coeur, les reins, le cerveau et le pancréas.

Principe: l'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi la glutamateoxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate.

L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+H (Murray, 1984).

3.4.2 Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France) (Boufadi *et al.*, 2017).

• **ALAT**: enzyme présente dans le cytosol, relativement spécifique du foie.

Principe : l'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH (Murray, 1984).

3.4.3 Dosage du gamma GT

La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) est une enzyme qui est présente dans quasiment tous les tissus de l'organisme, elle apparaît notamment dans le foie, le pancréas, les reins et la prostate.

Principe : La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) catalyse le transfert d'un groupe γ glutamyl de la γ -glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine (Persij *et al.*, 1976).

3.5 Dosage Peroxydation lipidique (malonaldéhyde MDA)

Le dosage de la peroxydation lipidique a été réalisé sur le surnageant mitochondrial selon le protocole de (Yagi *et al.*, 1997 et (Okhawa *et al.*, 1979) qui consiste à mélanger 20 μ L de l'échantillon avec 0.8 ml de H₂SO₄. Après agitation, 100 μ l de solution d'acide phosphotungstique (10 % P/V) sont ajoutées, ce mélange est laissé 5 min dans l'obscurité puis centrifugé de nouveau pendant min à 1600 tours/min. le surnageant est éliminé et le culot resuspendu dans 0.4 mL de H₂SO₄ additionnés de 60 μ L d'acide phosphotungstique puis centrifugé

de nouveau 10 min à 1600 torsi/min. Le surnageant est éliminé et le culot restant dissous dans 2 mL d'eau distillée et 0.5 ml de réactif TBA (335 mg d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau + 50 mL d'acide acétique 99%). Le mélange résultant a été chauffé au bain marie à raison de 95°C pendant 60 min. la solution a été refroidie dans un bac à glace et extraite pour une dernière fois par 2.5 mL de butanol. La fluorescence de la phase butanolique a été mesurée avec une longueur d'onde d'excitation à 515 nm, une longueur d'onde d'émission à 553 nm, 10 nm étaient glissière avec la coupure à 515 nm. La quantité de la peroxydation lipidique a été exprimée en équivalent MDA à partir d'une courbe linéaire dessinée avec plusieurs concentrations de la tétraméthoxypropane (TMP) standard.

3.6 Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase SOD

L'activité de cette enzyme est mesurée selon la méthode d'Elstner *et al.*, (1983). Le principe est basé sur la réaction chimique qui génère l'ion superoxyde (O_2^-) à partir de l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de $MnCl_2$ et de mercaptaéthanol. L'oxydation du NADPH est liée à la disponibilité des ions superoxyde dans le milieu, dès que la SOD est ajoutée dans le milieu réactionnel, elle entraîne l'inhibition de l'oxydation du NADPH.

Réactif 1 : 5ml de tampon phosphate (0.2M/L ,pH 7.4) ,1ml d'hydroxylamine chloride (0.69mg/mL L'activité de cette enzyme est mesurée selon la méthode (d'Elstner *et al.* 1983).

Réactif 2 : 6ml de sullfanilamide à 10 mg/ml d'HCl à 25% et 6 ml de naphylethylène diamine à 0.2 mg/ml, 400 μ L du mélange éthanol/chloroforme (62.5/37.5 :v/v) sont ajoutés à 250 μ l d'érythrocytes pour précipiter les protéines. Après centrifugation à 4000 t/min pendant 5 min, le surnageant est récupéré.

Le milieu réactionnel contient 5 μ L de surnageant, 10 μ L de tampon phosphate et 100 μ L de NAPH pendant 15 min à température ambiante. Puis 100 μ L de réactif 2 sont ajoutés.

La lecture se fait à 540nm, après incubation de 20 min. la gamme d'activité enzymatique est réalisée avec la SOD étalon. Les résultats sont exprimés en U/cgHb ,1ml d'antraquinone (0,1332 mg/ml) et 1ml de diaphorase (1 mg/ml d'une solution de 15U/ml).

3.7 Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase CAT

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée dans le surnageant mitochondriale ou l'homogénat tissulaire selon la méthode de Lück (1965) qui consiste en une analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène.

En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorbance de la solution de H_2O_2 en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient 1 mL de surnageant mitochondriale, 1 mL d' H_2O_2 , 1 mL de tampon phosphate (50 mmol/L, pH 7.4) et 2 mL de catalase (3 U/ μ L). Après incubation de 5 min, 1 mL du réactif sulfate d'oxyde de titanium ($TiOSO_4$) (1,7 g dans 500 mL d' H_2SO_4 2N) est ajouté. La lecture se fait à 240 nm. Les concentrations en H_2O_2 restant sont déterminées à partir d'une gamme d'étalon de H_2O_2 avec le tampon phosphate et le réactif $TiOSO_4$ de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0.5 à 2 mM/L.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A₁ : la concentration de H₂O₂ de départ.

A₂ : la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 min).

L'activité spécifique est exprimée en U/mg.

3.8 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité de GSH-Px a été mesurée par la méthode décrite par Rotruck *et al.* (1973). La réaction consiste à mélanger 0.2 mL de tampon tris-HCl, 0.1 mL d'azide de sodium, 0.2 mL de l'échantillon (le surnageant mitochondriale), 0.2 mL de glutathion, et 0.1 mL de peroxide d'hydrogène. Ensuite, on incube le mélange à 37°C pendant 10 min. L'arrêt de la réaction a été effectué par l'ajout de 0.4 mL de l'acide trichloracétique TCA à 10%. Ensuite, le mélange a été soumis à une centrifugation dont le surnageant issu servant à déterminer le taux du glutathion a été mélanger par le réactif d'Ellman (19.8 mg d'acide 5, 5'-dithiobisnitro benzoïque (DTNB) dans 100 mL de solution de nitrate de sodium à 0.1%). Les résultats sont exprimés en U/mg (Jing *et al.*, 2022)

3.9 Dosage des thiols

Le dosage a été réalisé selon la méthode de Riddels *et al.* (1979) en utilisant le réactif d'Ellman, le 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoate) ou DTNB, qui a été décrit par ces auteurs comme un réactif spécifique des groupements sulfhydryles, suffisamment sensible pour détecter la présence de résidus cystéines dans les échantillons. La réaction a consisté en un dosage de l'ensemble des groupements SH à 412 nm par mesure du nitrobenzoate formé, de coloration jaune vive (Jing *et al.*, 2022)

Chapitre4

Résultats et discussions

4.1 L'effet de produit chimique sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotectrice des antioxydants de propolis

Plusieurs paramètres hépatiques ont été mesurés pour évaluer l'effet antioxydant de propolis sur le traitement de l'hépatotoxicité induite par les produits chimiques toxiques. Le tableau 7 et 8 illustre ces paramètres hépatiques (ALAT, ASAT, γ -GT).

4.2 Evaluation de l'effet de produit chimique sur les paramètres sériques

4.2.1 Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT/GOT)

D'après les résultats (tab.7) en visagé dans ces articles scientifiques, les différentes produits semblent avoir un effet sur le taux d'ASAT, on note une augmentation hautement significative de la concentration de l'ASAT chez les groupes traités par les produits chimiques (produits chimio- thérapeutique, pesticides, alcool et autre médicaments) par rapport au groupe témoin. L'administration de l'extrait de propolis temporise l'effet de toxicité de produit chimique et stabilise la valeur de cette enzyme par une diminution très hautement significative par rapport au groupe témoin.

4.2.2 Taux de l'aspartate aminotransférase (ALAT/GPT)

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation hautement significative du taux de l'aspartate aminotransférase (ALAT) chez les groupes expérimentaux qui ont reçu des injections ou administration par voie orale un des produits chimique mentionnés précédemment par rapport au groupe témoin. En revanche, on remarque une diminution du taux d'ALAT chez les groupes expérimentaux traité par l'extrait de propolis par rapport au groupe témoin, mentionné des exemples des doses et des résultats dans le tableau 07.

Tableau 07. Analyse des paramètres sériques AST, ALT, chez les groupes témoins ; groupe traité par le produit chimique et les groupes traité par l'extrait de propolis.

Paramètres	Groupe témoin	Groupe traité par produit chimique	Le produit chimique	Groupe traité par l'extrait de propolis	Dose de propolis (Mg/kg)	Références
ALAT ASAT	40 ± 3.22	122.33 ± 6.28	EPI	39 ± 3.57	250	(Chaa et al., 2019)
	38.33 ± 1.03	130 ± 10.31		35 ± 4.09		
ALAT ASAT	94.82 ± 5.910	67.35 ± 8.950	DOX	58.25 ± 11.21	100 200	(Sahlan et al., 2021)
				48.86 ± 3.900		
	186.04 ± 28.69	194.75 ± 43.32		196.99 ± 12.00	100 200	
				208.63 ± 9.820		
ASAT ALAT	145.5 ± 5.95	170.83 ± 5.68	EG	148.16 ± 6.44	100	(El Menyiy et al., 2016)
				66.33 ± 2.90	250	
	61.5 ± 3.85	81 ± 2.98		146.66 ± 3.85	100	
				63.41 ± 2.16	250	
ASAT ALAT	60.5 ± 3.03	98.9 ± 6.37	CCL ₄	73.4 ± 3.90	100	(Bhadauri a et al., 2008)
				69.6 ± 3.64	200	
	43.8 ± 2.74	98.6 ± 3.24		66.7 ± 3.74	100	
				66.5 ± 3.47	200	
ASAT ALAT	66.8 ± 3.69	192 ± 10.6	APP	99.4 ± 5.49°	200	(Bhadauri a et al., 2009)
	44.2 ± 2.44	204 ± 11.2°		83.1 ± 4.59		
ASAT ALAT	68.0 ± 3.75	146 ± 8.07	AL	116 ± 2.91	200	(Monika Bhadauri a., 2012)
	42.0 ± 2.32	105 ± 5.80		70.0 ± 4.53		
ASAT ALAT	0.12 ± 0.01	0.26 ± 0.07	Metformin	0.19 ± 0.05	300	(Nna et al., 2018)
	45.83 ± 4.62	156.70 ± 36.62		153.70 ± 46.49		
ASAT ALAT	41.50 ± 2.45	70.80 ± 6.23	Amitraz	44.90 ± 3.90	150	El-Kott et al., 2008
	40.55 ± 6.10	120.45 ± 10.25		40.01 ± 5.26		
ALAT ASAT	37.05 ± 0.46	46.23 ± 1.09	Chlorpyrifos	39.13 ± 0.41	50	Newairy et Abdo. ; 2013

4.4.3 Taux du gamma glutamyl transférase (γ -GT)

Les résultats obtenus dans (tab.8) selon Boufadi. et al, (2017), Bhadauria et Nirala. (2009), ont enregistré une augmentation considérable de la concentration gamma glutamyl transférase γ -GT ($P < 0.05$) chez le groupe (les rats injectés par le produit chimique), alors que chez les groupes traité par l'extrait de propolis ce taux diminue, par rapport au groupe témoin.

Tableau 08. Analyse de γ -GT, chez les groupes témoins ; groupe traité par le produit chimique et les groupes traité par l'extrait de propolis.

Paramètres	Groupe témoin	Groupe traité par produit chimique	Le produit chimique	Le groupe traité par l'extrait de propolis	Dose de propolis (mg/kg)	Références
γ -GT	27 ± 3.57	106 ± 16.17	EPI	35 ± 2.68	250	(Chaa et al., 2019)
	1.52 ± 0.089	4.32 ± 0.418	CCl ₄	3.76 ± 0.212	100	(Bhadauria et al., 2008)
				3.14 ± 0.177	200	
1.87 ± 0.103	4.19 ± 0.231	APP	2.71 ± 0.149	200	(Bhadauria et al., 2009)	

Discussion

Le foie est très sensible à l'atteinte par les produits chimiques parce qu'il joue un rôle fondamentale dans leur métabolisme. Il récupère et élimine de nombreuses toxines issues des produits chimiques tels que les antracyclines, les pesticides, les alcools, aluminium, et le tétrachlorure qui provoquent des lésions de foie par l'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques ASAT et ALAT dans le sang ou des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire ou également une augmentation de la synthèse ou une diminution du catabolisme des aminotransférases (Farag et al., 2010).

En outre, l'AST, l'ALT et la γ -GT sont les principales enzymes utilisées dans le but d'évaluer l'état de la fonction hépatique (Wallace et Meyer, 2010). Ce sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire (Soudani et al., 2011). En général, l'AST, l'ALT et γ -GT sont des enzymes d'origine mitochondriale et cytoplasmique. Ainsi, la nécrose cellulaire, la destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes peut mener à l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine et donc à l'augmentation de leurs taux sériques (Adeneye et al., 2006 ; Jodynis-Liebert et al., 2010).

Donc les études ont prouvé que les produits chimiothérapeutique (antacyclines) causent des sévères dommages hépatiques. Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par (Chaa *et al.*, 2019) et confirmé par les études de (Sahlan *et al.*, 2021). Ce sont des études qui ont également démontré l'effet d'hépatotoxicité de l'Epirubicine et Doxorubicines qui sont les antracyclines les plus connus. Aussi, Turkez *et al.* (2012) ; Bhadauria et Nirala, (2009) ; Nna. (2018) ; Kaya *et al.* (2019) ont trouvé les mêmes résultats en induisant l'hépatotoxicité par l'alcool, aluminiumet les pesticides.

De plus, les résultats montrent, une augmentation très hautement significative pour l'ALT que pour l'AST, cela signifie que l'ALT est plus spécifique au niveau du foie que l'AST. On remarque que la co-administration des composants phénoliques et bioflavonoïdes totaux de la propolis aux rats exposés au produit chimique a réduit de manière significative l'activité enzymatique des transaminases.

Cela révèle la capacité des antioxydants de propolis tel que la chryisine, l'acide caféique et la cathéchine qui sont considéré comme des polyphénols capable de piéger les radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles et le taux des transaminases, et d'atténuer les lésions hépatiques induites par ce produit chimique. Ce qui nous révèle, qu'il ya des autres type d'antioxydant de propolis efficace dans la prévention des dommages hépatiques appelés piégeurs ou éboueurs (scavenger) qui sont les vitamines, a titre d'exemple le pro vitamine A, peut s'insérer au sein de la membrane biologique ou elle agit en empechant la peroxydation lipidique. Suite à leur interaction avec un radical lipidique, la pro vitamine A est oxydé en devenant un radicale puis il est régénéré par une autre vitamine. A son tour la vitamine prend une forme radicalaire qui sera ultérieurement regénérée par l'action du glutathion réduit (GSH) (Chaa *et al.*, 2019).

Des études réalisées par Kaya *et al.* (2019) ; Wang *et al.* (2006) ; Bhadauria *et al.* (2009) ; Nirala *et al.*(2007) ; Nna *et al.* (2018) ; Türkez et al. (2012) ; Nakamura et al. (2013) ; Boufadi *et al.* (2017) et Singla *et al.* (2014) ont montré l'effet hépato-protecteur des extraits de la propolis contre la toxicité hépatique induite par le furan, l'hydroperoxyde de tert-butyle, le tétrachlorure de carbone, l'aluminium, acétaminophène, doxorubicine et épirubicine. l'éthanol, l'aluminium, le doxorubicine et l'épirubicine.

4.5 Evaluation de l'effet de produit chimique sur les paramètres du statut antioxydant

4.5.1 Taux du malonadéhyde (MDA)

Les travaux effectués par (Boufadi *et al.*, 2017) (Sahlan et al., 2021) (Kaya *et al.*, 2019) ont indiqué que le taux hépatique de MDA, un indicateur de la peroxydation des lipides a été augmenté chez les groupes traités par les produits chimique en comparaison au groupe témoin. En revanche chez les groupes traité par le propolis ont engendré une diminution importante de taux de MDA plasmatique par rapport au groupe témoin (tab.9).

Tableau 09 : Analyses de paramètres liés au stress oxydant MDA chez les différents groupes, témoins, groupe traité avec un produit chimique et les groupe traité avec l'extrait de propolis

Paramètres	roupe témoin	Groupe traité par le produit chimique	Produit chimique (mg/kg)	Groupe traité par la propolis	Dose de PRO (mg/kg)	Références
MDA						
Nmol/ml	0.96 ± 0.11	5.84 ± 0.99	EPI	0.89 ± 0.06	250	(Chaa <i>et al.</i> , 2019)
Nmol/mg protéines	0.272 ± 0.02	0.976 ± 0.08	CCL4	0.644 ± 0.04 0.592 ± 0.03	100 200	Bhadauria <i>et al.</i> , 2008
Nmol/g tissus	0.62 ± 0.02	0.79 ± 0.04	Furan-L 2mg/kg	0.67 ± 0.03	100	(Kaya <i>et al.</i> , 2019)
		0.90 ± 0.05	Furan-H 16mg/kg	0.67 ± 0.01		
Nmol/mg proteins	2.11 ± 0.38	3.35 ± 0.74	Metformin 300 mg/kg	2.50 ± 0.18	300	(Nna <i>et al.</i> , 2018)
Umol/ml	4.2 ± 0.3	15.3 ± 0.4	Allyl alcohol 64mg/mg	11.6 ± 0.4 8.4 ± 0.5 7.0 ± 0.2	25 50 100	Remirez <i>et al.</i> , 1997

4.5.2 Taux du superoxyde dismutase (SOD) et de catalase (CAT)

Le traitement des rats des groupes expérimentaux par un produit chimique a induit une diminution de la concentration de SOD et de CAT en comparaison avec le groupe témoin. La concentration en ces marqueurs du statut antioxydant a été positivement améliorée chez les rats du groupe traité par la propolis qui ont reçu, respectivement, 100, 200, 250 mg/kg de propolis par rapport au groupe témoin, où l'on a noté une activité enzymatique SOD, CAT très proche au groupe témoin avec la dose élevée de propolis 200 et 250mg/kg (Chaa *et al.*, 2019; Sahlan *et al.*, 2021).

Tableau 10. Analyses des paramètres liés au stress oxydant chez les différents groupes, Témoins, les groupes traité avec un produit chimique et les groupes traité avec l'extrait de propolis.

Paramètres	Groupe témoin	Groupe traité par produit chimique	Le produit chimique	Groupe traité par la propolis	Dose de PRO	Références
CAT (U/mg protéines)	72.03 ± 3.49	57.60 ± 7.20	Metformin 300 mg	60.15 ± 7.51	300 mg	(Nena <i>et al.</i> , 2018)
SOD (U/mg protéines)	1.62 ± 0.13	2.09 ± 0.19		2.16 ± 0.18		
GSH (nmol/mg protéines)	3.58 ± 0.26	1.62 ± 0.31		2.21 ± 0.44		
CAT (U/ml)	48.98 ± 1.0	30.42 ± 0.70	CPF 6.8 mg	47.71 ± 1.04	50 mg	Newairy et Abdo. ; 2013
SOD (U/ml)	2.021 ± 0.07	1.23 ± 0.10		1.87 ± 0.12		
GSH (mg/dl)	30.07 ± 0.57	16.40 ±		29.45 ± 0.57		
CAT (k/mg protéines)	0.260 ± 0.02	0.113 ± 0.02	Furan-L (2mg/kg)	0.234 ± 0.02	100 mg	Kaya <i>et al.</i> , 2019
SOD (U/g protéines)		0.042 ± 0.01	Furan-H (16mg/kg)	0.238 ± 0.01		
GSH (µmol/ml)	77.49 ± 0.25	74.18 ± 0.22	Furan-L 2mg/kg	76.10 ± 0.27		

		73.00 ± 0.58	Furan-H 16mg/kg	75.83 ± 0.81		
	23.71 ± 0.30	22.48 ± 0.35	Furan-L 2mg/kg	23.40 ± 0.24		
		21.25 ± 0.30	Furan-H 16mg/kg	23.39 ± 0.29		
CAT (U/mg Hb)	90.38 ± 3.49	29.72 ± 1.9	EPI 9 mg	53.81 ± 1.87	100	(Chaa <i>et al.</i> , 2019)
				96.69 ± 1.6	250	
SOD (U/cg Hb)	48.80 ± 2.30	15.94 ± 2.33	EPI	23.70 ± 1.93	100	
				50.74 ± 1.87	250	
GSH (U/g Hb)	76.08 ± 2.42	12.78 ± 1.4	EPI	46.04 ± 1.43	100	
				86.51 ± 2.11	250	

Discussion

D'après tous ces résultats, il apparaît que la propolis possède un effet antioxydant qui lui confère le statut de substance antiradicalaire. Les effets indiqués de la propolis sont directement liés à sa composition chimique. Parmi les composés identifiés, les composés phénoliques tiennent la première place tels que la quercétine, l'acide caféique et les flavonoles tels que la chrysin et l'apigénine, ces composés sont effectifs sur les radicaux superoxydes, produits principalement par le système xanthine oxydase XO (Miyata *et al.*, 2019)

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes. L'oxygène est nécessaire pour le transfert d'électrons couplés aux phosphorylations oxydatives qui sont la principale source d'énergie de l'organisme. Son absence, l'anoxie, est mortelle à court terme. Elle entraîne la chute d'ATP dans la cellule par l'interruption du processus énergétique (Delattre *et al.*, 1998).

L'augmentation significative du MDA chez le groupe exposé au produit chimique pourrait être un résultat des dommages tissulaires par la formation excessive des radicaux libres. Les preuves accumulées ont montré que l'utilisation large des produits chimiques joue un rôle majeur dans l'hépatotoxicité. La présente étude (Boufadi *et al.*, 2017) a été conçue pour évaluer la capacité des antioxydants de la propolis dans la protection contre l'hépatotoxicité et le stress oxydatif qui se traduit par la production des radicaux libres et ces derniers traduits par une augmentation de la malondialdéhyde (MDA) ainsi une diminution de la teneur en GSH et des activités de CAT et SOD.

A titre d'exemple, le métabolisme de la doxorubicine (DOX) est susceptible de conduire à la production des ROS variées au sein de la cellule (Minotti *et al.*, 2004). L'oxydation de la structure quinone de la doxorubicine par différentes enzymes entraînerait la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle (Yang *et al.*, 2014). Ces formes radicalaires conservent une affinité pour l'ADN et les membranes, les ROS se forment à proximité des macromolécules biologiques cible. Les ROS induisent des cassures des ADN et ARN, la modification de nucléotides, la formation de sites à basiques, de pontage ADN-protéine, ou d'adduits par addition de produits issus de la peroxydation lipidiques qui peut conduire éventuellement des dommages tissulaires peroxydatifs et à l'inflammation.

Au cours des dernières décennies, de nombreux efforts ont été faits pour trouver une stratégie possible pour calmer les révolutions toujours indésirables du stress oxydatif et pour éliminer les radicaux libres en utilisant différents types d'antioxydants. Par exemple la propolis fabriquée par les abeilles a été signalée comme source des potentiels antioxydants, des polyphénols et flavonoïdes qui sont relativement capables d'éteindre la majorité des blessures induites par les radicaux libres (Chaa *et al.*, 2018). D'après tous ces résultats, il apparaît que la propolis est directement liée à sa composition chimique (Bauhduria *et al.* ; 20)

Le traitement par l'extrait de la propolis a réduit significativement l'effet peroxydatif des produits chimiques toxiques. Cet effet antioxydant est certainement dû à la présence des acides phénoliques comme l'acide caféique, férulique benzoïques, des flavonoïdes tels que la quercétine, la gallocatechine et des pinocembrine, de la chrycine qui ont la capacité de libérer des électrons qui peuvent tamponner les radicaux libres et des vitamines, la provitamine A (bêta-carotène) et des groupes de vitamines B (Boufadi *et al.*, 2019), ainsi qu'une grande variété d'oligo-éléments comme le manganèse (Mn), le fer, zinc (Zn) et le cuivre (Cu) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes 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 (Pincemail *et al.*, 2007).

Plusieurs auteurs s'accordent à dire que la toxicité par les antracyclines est associée à la détérioration du statut antioxydant, résultant d'une augmentation des teneurs en malondialdéhyde (MDA) et une diminution des activités des enzymes antioxydantes (CAT, SOD) (Boufadi *et al.*, 2014) ; (Kebieche *et al.*, 2009) ; (Prado *et al.*, 2011).

D'autres études ont également montré que l'extrait de la propolis possède un rôle protecteur contre l'hépatotoxicité due au stress oxydatif induit par le CCl₄ (Wagh, 2013), et plusieurs autres études (Kolankaya *et al.*, 2002 ; Vicente *et al.*, 2008 ; Turkez *et al.*, 2010) suggèrent que la propolis a un effet protecteur contre l'hépatotoxicité induite par l'aluminium, quelques pesticides et l'alcool.

Conclusion

Profitant de l'essor grandissant des médecines dites "naturelles", la propolis s'inscrit dans cette tendance, le plus souvent en complément des traitements conventionnels. En effet, les recherches entreprises durant ces dernières années ont permis de montrer que ce produit de la ruche pouvait être une alternative efficace dans bon nombre de troubles et pathologies, mais également en association avec certaines médications.

Dans ce contexte notre travail a pour le but d'évaluer l'effet thérapeutique de la propolis d'abeille contre l'hépatotoxicité induit par les produits chimiques tels que les médicaments anticancéreux (EPI, DOX) les pesticides et l'alcools induit un stress oxydant hépatique exprimé par un déficit dans les systèmes antioxydant enzymatique et non enzymatique, avec une augmentation de la peroxydation lipidique. Les antioxydants empêchent les effets toxiques, mutagènes et cancérogènes.

Dans la présente étude, nous avons fait des analyses distinctes sur des résultats de 15 publications sélectionnées. Notre travail a pour but d'évaluer l'effet thérapeutique de la propolis d'abeille contre l'hépatotoxicité induit par les produits chimique tels que les médicaments anticancéreux (EPI, DOX) ; les pesticides et l'alcools. Ces produits chimiques provoquent un stress oxydant hépatique exprimé par un déficit dans les systèmes antioxydant enzymatique et non enzymatique ALAT ASAT MDA SOD..., exprimé par une augmentation de la peroxydation lipidique.

Les études montre que l'administration de différentes doses de produits chimiques a provoqué des perturbations de fonction hépatique :

- ✓ Provoque la lésion hépatique et causé de grave dommage de foie.
- ✓ Modifié le status antioxydant.
- ✓ L'augmentation significative de taux des enzymes hépatique ASAT, ALAT.
- ✓ Augmentation du taux hépatique de MDA
- ✓ Diminution de la teneur en GSH et des activités de CAT, SOD et GPx.

Grâce à la recherche des scientifique, les résultats montre que la propolis a des propriétés antioxydantes dont lutter contre l'oxydation de peroxydase et l'inhibition des radicaux libres. Ainsi, nous avons découvert que ces propriétés sont principalement dues à sa concentration en eau et polyphénols. Qui agissent sur la prévention contre l'hépatotoxicité chez des rats exposés aux produits chimiques.

En revanche, la supplementation et le traitement par la propolis a permis la mise en évidence d'un effet préventif contre l'hépatotoxicité par le renforcement des systèmes antioxydant enzymatique et non enzymatique présenté par l'augmentation des taux de GSH, de l'activité enzymatique de la SOD, le GPX et le CAT et la réduction des taux de MDA.

La dose de propolis qui a montré une prévention très efficace contre la toxicité est celle de 250 mg/kg. Tandis que l'administration la dose de 50 mg/kg n'a montré aucun effet protecteur contre les effets toxique des produits chimiques, ceci confirme que l'action protectrice de la propolis est dose dépendante, ainsi cette efficacité est due à l'ensemble des polyphénols présents dans cet extrait (effet synergique).

On peut conclure que la propolis et les autres produits de la ruche, telle que gelée royale, sont beaucoup utilisés par l'homme pour leurs diverses propriétés. On trouve dans la propolis les principaux polyphénols dont l'acide gallique, l'acide tonique, l'acide succinique, l'acide caféique, chrysin, rutine.....etc. Ces polyphénols sont des antimicrobiens à large spectre, ils agissent au niveau systémique en luttant contre les diverses hépatopathologies. Donc l'étude doit être orientée vers la détermination des composés actifs de la propolis de différentes origines géographiques et leur rôle de signalisation impliquée dans le processus hépatotoxique.

En tant qu'approche dans le traitement de la toxicité hépatique, la propolis peut également être utilisée pour protéger *in vitro* le foie ainsi que les autres organes exposés aux produits chimiques et à la prise de médicaments afin d'améliorer les paramètres sériques, enzymatiques et non enzymatiques.

En perspective, nous proposons :

- Autres études plus approfondies sur d'autres propriétés biologiques et d'autres effets thérapeutiques de la propolis afin de développer le domaine de la phytothérapie.
- Effectuer des analyses *in vitro*, pour détecter des autres effets thérapeutiques et protecteurs de la propolis (Néphrotoxicité, Hépatotoxicité, Cardiotoxicité).
- Mener une étude histologique élargie sur l'action d'administration de l'extrait de propolis sur tous les organes.

Références bibliographiques

- Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T. 2004. Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84: 329-339.
- Sarawoot P., Chuchard P., Dutsadee C., Prasit S. 2013. Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats by curcumin and α -tocopherol. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December .12 (6): 973-979.
- Vardi N, Parlakpinnar H , Cetin A, Erdogan A, Ozturk I C . 2010. Protective Effect of - β Carotene on Methotrexate –Induced Oxidative Liver Damage. *Toxicologic Pathology*, 38: 592-597.
- Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko M., Górecki J., Stojko M., Sosada G., Swierczek-Zi G. 2014. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19 : 78–101.
- Deavall D. G., Martin E .A., Horner, J. M., Roberts R. 2012 .Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J. Toxicol* 1-1.
- Boufadi Y.M., Soubhye J., Egrave N., Ve J., Van Antwerpen P., Riazi A., 2016. Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. *Int J Food Sci Technol*.51 : 2613–2620.
- Machado B., Pulcino T.N., Silva A.L., Tadeu D., Melo R.G.S., Mendonc A, I.G. 2016. Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity. *J. Apitherapy* 1: 47–50.
- Orsatti C.L., Sforcin J.M. 2011. Propolis immunomodulatory activity on TLR-2 and TLR-4 expression by chronically stressed mice. *Nat. Prod. Res.* 1, 1–8.
- El-Guendouz S., Al-Waili N., Azza S., Elamine Y., Zizi, S., Al-Waili T., Al-Waili A., Lyoussi B. 2017. Antioxidant and diuretic activity of co-administration of Cap-paris spinosa honey and propolis in comparison to furosemide. *Asian Pac. J. Trop. Med* 10 :974–980.
- Soltani E.K., Cerezuela R., Charef N., Mezaache-Aichour S., Esteban M.A., Zerroug M.M. 2017. Algerian propolis extracts: chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *FishShellfish. Immunol.* 62, 57–67.
- Zabaïou N., Fouache A., Trousson, A., Baron S., Zellagui A., Lahouel M., Lobaccaro J.M.A. 2017. Biological properties of propolis extracts: something new from an ancient product. *Chem. Phys. Lipids* 207 : 214–222.
- Mehmetn Yasar M.D., Yasemin Savranlar M.D., Hatice Karaman M.D., Mustafa Sagit M.D., Sibel Silici P.D., Ibrahim Ozcan M.D. 2016. Effects of propolis in an experimental rat model of allergic rhinitis. *American J. Otolaryngology.* 37 : 287–293.
- Rocha B. A., Bueno P. C. P ., Vaz M. M. O. L. L., Nascimento A. P ., Ferreira, N. U., Moreno G.P ., Rodrigues M . R., Machado A. R. M. C., Barizon E. P., Campos J. C. L., Oliveira P. F., Acésio N. O., Martins S. P. L., Tavares D. C., Berretta A. A. (2013).
- Evaluation of propolis water extract using a reliable RP HPLC methodology and in vitro and in vivo efficacy and safety characterisation. *Evidence based complementary and alternative medicine* 1 – 11.
- Ghisalberti E. 1979. Propolis: a review. *Bee World* 60, 59–84.
- Grange J., Davey R., 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.* 83: 159–160.
- Castaldo S., Capasso F. 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73:S1–S6.

- Chan G.C.F., Cheung K .W., Sze D.M.Y. 2013. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 44: 262–273.
- Kuropatnicki A.K., Szliszka E., Krol W. 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence- Based Complement .Alternat. Med.*Fokt H., Pereira A., Ferreira A., Cunha A., Aguiar C. 2010. How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Curr. Res. Technol. Educ. Top. Appl. Microbiol. Microbial. Biotechnol.*1: 481–493
- Toreti V.C., Sato H.H., Pastore G.M., Park Y.K. 2013.
- Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med.* Helfenberg, K., 1908.
- The analysis of beeswax and propolis. *Chemiker Zeitungm* 31:987–998.
- Ghedira K., Goetz P., Lejeune R. 2009. Propolis. *Phytothérapie* p 100 – 105.
- Bruneau E. 2015. La propolis un cadeau de la ruche. *Actu Api.* 1 – 8. Finstorm M. S., Spivak M. 2010.
- Propolis and bee health : the natural history and significance of resin used by honeybees. *Apidologie* 41: 295 – 311.
- Bankova V., De Castro S.L., Marcucci M.C.2000. Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31 : 3–15.
- Aliboni A., D’Andrea A., Massanisso P. 2011. Propolis Specimens from Different Locations of Central Italy: Chemical Profiling and Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) Quantitative Analysis of the Allergenic Esters Benzyl Cinnamate and Benzyl Salicylate. *J. Agric. Food Chem.* 59: 282–288.
- Monti M., Berti E., Carminati G., Cusini M. 1983. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*, 9- 163.
- M.P., Rolin. Intérêt thérapeutique et diététique des produits de la ruche. 1984.
- Salatino A., Teixeira EW., Negri G., Message D. 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*2: 33-8.
- Teixeira EW., Negri G., Meira RM., Message D., Salatino A. 2005. Plant origin of green propolis: Bee behavior, plant anatomy and chemistry. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2:85-92.
- MC., Marcucci. 1995. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 26: 83-99.
- Gawro´ nski S.W., Greger M., Gawro´ nska H. 2011. Plant Taxonomy and Metal Phytoremediation. *Soil Biol.* 30: 91–109.
- Fischer A., Lindner M., Abs C., Lasch P. 2002. Vegetation dynamics in central european forest ecosystems (near-natural as well as managed) after storm events. *Folia Geobot. Phytotaxon.* 37:17–32.
- Hynynen J., Niemisto P., Vihera-Aarnio A., Brunner A., Hein S., Velling P. 2010. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh.) in northern Europe. *Forestry.*83: 103–119.
- M.P., Rolin. Intérêt thérapeutique et diététique des produits de la ruche. 1984.
- Salatino A., Teixeira E.W., Negri G., Message D. 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2: 33-8
- MC., Marcucci. 1995. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 26: 83-99.

- Trusheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova V. 2010. Antibacterial mono- and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis. *Chemistry Central Journal*. 4-8.
- Donadieu, Y., 2008. *La propolis*. Paris : Dangles.
- Kuropatnicki A. K., Szliszka E., Krol W. 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med.* Lotfy M. 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac. J. Cancer .Prev.* 7: 22–31.
- Burdok G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee Propolis Navarro V. J., Senior JR. 2006. Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 36 :451-5.
- Sonia M.O. 2016. *Etude de la Toxicité Aigue et Subaigüe*.
- Pessayre D, Larrey D, Biour M. Drug –induced liver injury. In : Bircher J, Benhamou JP, McIntyre N, et al., editors. *Oxford textbook of clinical hepatology*.1999.
- Li S , Tan H Y, Wang N, Zhang Z J, Lao L, Wong C W , Feng Y ,2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int. J. Mol. Sci*, 16 : 26087–26124.
- Vuppalanchi R., Juluri R., Bell L. N., Ghabril M., Kamendulis L., Klaunig J. E., Saxena R., Agarwal D., Johnson M. S., Chalasani N.2011.Oxidative Stress in Chronic Liver Disease Relationship Between Pheripheral and Hepatic Measurements.*AM J Med Sc.* 342 (4): 314-317.
- Kabouche M.S.2019.Contribution à l'étude de la toxicité aigue de *Ruta tuberculata* et *Pergularia tomentosa* in vivo.
- Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R .2009. Propolis. *Phytothérapie* .7: 100-105
- Wang X., Sankarapandian K., Cheng Y., Woo S. O., Kwon H .W., Perumalsamy H., Ahn Y. J.2016. Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. *BMC Complementary and AlternativeMedicine.* 16:65 .
- Castaldo S., Capasso F. 2002.propolis and old remedy used in modern medicine. *Fitotérapie*.73(1):1-6.
- De Mendonça I. C. G, 2015 .Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 15:357.
- Nadine M. W. T., Rosmarie V., Georgios N. B ., Thomas T., Thomas A., Patrick R. S .2014. The in VitroAntimicrobial Efficacy of Propolis against Four Oral Pathogens: A Review. *Dent.J.* 2 : 85-97.
- Cardinault N., Cayeux M. O., Percie P. 2012. La propolis : origine, composition et propriétés .*Phytothérapie.* 10:298-304.
- Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.*1 : 3-6
- Murtala B. A., Wan Z. A., Siti A S, Boon S A, 2014. Polyphenols as Key Players for the Antileukaemic Effects of Propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*11.
- Chira K., Suh J. H., Saucier C., Teissèdre P. L. 2008. Les polyphénols du raisin.*Phytothérapie.*6 : 75-82.
- Massau C ,2012. Polyphénols : des alliés pour la santé. *abeilles &cie.* 149 :4.
- Kanti B. P., Syed I. R. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2(5):270-278.
- Lugasi A., Hovari J., Katalin V. S., Biro L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta BiologicaSzegediensis.* 47(14):119-125.

- Cardinault N., Cayeux M. O., Percie du Sert P ,2012. La propolis : origine, composition et propriétés .Phytothérapie .10:298-304.
- Sabir A., Sumidarti A. 2017. Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with *Trigona* sp. Propolis from south Sulawesi, Indonesia.
- Boufadi Y.M., Soubhye J., Egrave N., Ve J., Van Antwerpen P., Riazi A. 2016. Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 51:2613–2620.
- Boufadi Y.M., Van A.P., Chikh A. I.2017. Antioxidant effects and bioavailability evaluation of propolis extract and its content of pure polyphenols. *J. Food. Biochem* ; e12434.
- Boufadi Y.M., Soubhyeb J., Riazi A., Rousseau A., Vanhaeverbeek M., Nève J., Boudjeltia K.Z., Van A. P.2014. Characterization and Antioxidant Properties of Six Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 15: 2327-2345.
- Sahlan M. I. R., Flamandita D., Aditama R., Alfarraj S., Ansari M.J., Khayrani A.C., Pratami D.K. and Lischer K. 2021. Molecular interaction analysis of Sulawesi propolis compounds with SARS-CoV-2 main protease as preliminary study for COVID-19 drug discovery. *Journal of King Saud University-Science* 33 (1): 101234..
- Sahlan M., Devina A., Pratami.,Kartika D., Situmorang., Herbert., Farida., Siti., Munim., Abdul., Kusumopotro., Benyamin., Yohda., Masafumi., Faried., Ahmad., Gozan., Misri., Ledyawati., Mia. 2019. Anti-inflammatory activity of *Tetragronula* species from Indonesia. *Saudi J. Biol. Sci.* 26 (7): 1531–1538.
- Sahlan M., Dienayati., Dara., Hamdi., Darul., Zahra., Soraya., Hermansyah., Heri., Chulasiri., Malyn. 2017. Encapsulation process of propolis extract by casein micelle improves sunscreen activity. *Makara J. Technol.* 21 (1):1.
- Sahlan M., Supardi T. 2013. Encapsulation of indonesian propolis by Casein micelle. *Int. J. Pharma Bio Sci.* 4:297–305.
- Bhadauria M., Nirala S.K., Shukla S. 2008. Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2703–2712.
- Nna V. U., Abu Bakar A. B., Lazin M., Mohamed M. 2018. Antioxidant, antiinflammatory ,and synergistic anti-hyperglycemic effects of Malaysian propolis and metformin in streptozotocin–induced diabetic rats, *Food Chem. Toxicol.* 120: 305–320.
- Chaa S., Boufadi M.Y., Keddari S., Benchaib A.H., Soubhye J., Van A. P., Riazi A.2019. Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 29 (3): 294–300.
- Weenen H., Van Maanen J.M.S., De Planque M.M., McVie J.G., Pinedo H.M. 1984. Metabolism of 40-modified analogs of doxorubicin. Unique glucuronidation pathway for 40-epidoxorubicin. *Eur. J. Can. Clin. Oncol.* 20 (7): 919–926.
- Singal P.K., Iliskovic N. 1998. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *New Engl. J. Med.* 339 (13): 900–905.
- Judson I., Verweij J., Gelderblom H., Hartmann J.T., Schöffski P., Blay J.Y., Kerst J.M., Sufliarsky J., Whelan J., Hohenberger P., Krarup-Hansen A., Alcindor T.,Marreaud S., Litière S., Hermans C., Fisher C., Hogendoorn P.C., dei Tos A.P., vander Graaf W.T. 2014. European Organisation and Treatment of Cancer Soft Tis-sue and Bone Sarcoma Group Doxorubicin alone versus intensified doxorubicinplus ifosfamide for first-line

treatment of advanced or metastatic soft-tissuesarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 15: 415–423.

- Okhawa I.L., Ohishi N., Yagi K. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbiture reaction. *Anal bioch.* 95: 351-358.
- Tacar O., Sriamornsak P., Dass C.R. 2013. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol.* 65(2):157-70.
- Hoekstra E. J., Simoneau C. 2013. Release of bisphenol a from polycarbonate—a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53 (4) : 386–402.
- Corrales J., Kristofco A. L., Steele W. B., Yates B. S., Breed C. S., Williams E. S. B.W. 2015. Brooks, Global assessment of bisphenol A in the environment: review and analysis of its occurrence and bioaccumulation, *Dose-Response* 13: (3).
- Alm-Eldeen A. A., Mona M. H., Shati A. A., El-Mekkawy H. I. 2015. Synergistic effect of black tea and curcumin in improving the hepatotoxicity induced by aflatoxin B1 in rats, *Toxicol. Ind. Health* 31: 1269–1280.
- Porter H. 2012. Ethylene glycol poisoning: quintessential clinical toxicology; analytical conundrum. *Clin Chim Acta.* 413: 365-377.
- Yao H., Wang X., Wang D., et al. 2002. Investigation on injury of liver and kidney among the workers exposed to terephthalic acid, ethylene glycol and (or) dowtherm A. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 20: 5-9.
- Haggerty R. J. 1959. Toxic hazards. Deaths from permanent antifreeze ingestion. *N Engl J Med.* 261:1296-1297.
- Murray R.L. 1984. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation.* St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company. 1112-116.
- Yagi K. 1976. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* 15: 212–216.
- Luck H.1963. In: Bergmeyer, H.V. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis.* AcademicPress, New York, pp. 885–894.
- Elstner E.F., Youngman R.J., Obwald W. 1983. Superoxyde dismutase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis.* 3rd ed. pp. 293–302.
- Riddles P.W., Blakeley R.L., Zerner B. 1979. Ellman’s reagent: 5,50-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) – a reexamination. *Anal. Biochem.* 94: 75–81.
- Persijn J.P., Slik W. 1976. A new method for the determination of gamma glutamyltransferase in serum. *J.Clin. Chem. Clin. Biochem.* 14: 421–427.
- Takemura G., Fujiwara H. 2007. Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: From the Cardiotoxic Mechanisms to Management. *Progress in Cardiovascular Diseases.* 49 (5) : 330-352.
- Ellman G. L. (1959). Plasma antioxidants. *Arch Biochemistry and Biophysics* 82: 70-77.
- Segueni N., Khadraoui F., Moussaoui F., Zellagui A., Gherraf N., Lahouel M., Rhouati S. 2010. Volatile constituents of Algerian propolis. *Ann. Biol. Res.* 1:103–107
- Segueni N., Zellagui A., Moussaoui F., Lahouel M., Rhouati S. 2016. Flavonoids from Algerian propolis. *Arab. J. Chem.* 9: 425–428.
- Mouse H.A., Tilaoui M., Jaafari A., M’Barek L.A., Aboufatima R., Chait, A., Ziyad A. 2012. Evaluation of the in vitro and in vivo anticancer properties of Moroccan propolis extracts. *Rev. Bras. Farm.* 22:558–567.

- Keskin N., Hazir S., Can Baser K.H., Kürkçüoğlu M. 2001. Antibacterial activity and chemical composition of Turkish propolis. *Z.Nat.*56: 1112–1115.
- Ristivojevic P., Dimki C. I., Guzelmeric E., Trifkovic J., Knežević M., Beric T., Yesilada E., Milojkovic Opsenica D., Stanković S. 2018. Profiling of Turkish propolis subtypes: Comparative evaluation of their phytochemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities. *95*: 367–379.
- Martos I., Cossentini M., Ferreres F., Tomás-Barberán F.A. 1997. Flavonoid Composition of Tunisian Honeys and Propolis. *J. Agric. Food Chem.*45: 2824–2829.
- Wang K., Ping S., Huang S., Hu L., Xuan H., Zhang C., Hu F. 2013. Molecular mechanisms underlying the in vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from Chinese propolis (poplar type). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Jin X. L., Wang K., Liu H. Y., Hu F. L., Zhao F. Q., Liu J. X. 2016. Protection of bovine mammary epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative cell damage by resveratrol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Huang C. S., Liu C. K., Lin A. H., Yeh Y.W., Yao H. T., Li C.C., Chen H. W. 2013. Protection by chrysin, apigenin, and luteolin against oxidative stress is mediated by the Nrf2-dependent up-regulation of heme oxygenase 1 and glutamate cysteine ligase in rat primary hepatocytes. *Archives of Toxicology*. 87 (1): 167–178.
- Ahmed R., Tanvir E., Hossen M.S., Afroz R., Ahmed I., Rumpa N.E., Paul S., Gan S.H., Sulaiman S.A., Khalil M.I. 2017. Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med*
- Agra D.R., Evangelista A., Marcucci M.C. 2006. Physicochemical characteristics and antimicrobial activity of the extracts propolis of the Paraiba, Brazil. *Cienc Rural*. 36(6):1842-1848.
- Król W., Bankova V., Sforcin J.M., Szliszka E., Czuba Z., Kuropatnicki A.K. 2013. Propolis: properties, application, and its potential. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med*.
- Popova M., Silici S., Kaftanoglu O., Bankova V. 2005. Antibacterial Activity of Turkish Propolis and its Qualitative and Quantitative Chemical Composition. *Phytomedicine*. 12: 221-228.
- Tai M., Zhang J., Song S., Miao R., Liu S., Pang Q., Liu C. 2015. Protective effects of luteolin against acetaminophen-induced acute liver failure in mouse. *International Immunopharmacology*.27(1): 164–170.
- Alp H., Pinar N., Dokuyucu R., Sahan M., Oruc C., Kaplan I., Ceyran A. B. 2016. Protective effects of intralipid and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on hepatotoxicity and pancreatic injury caused by dichlorvos in rats. *Biochemical Genetics*. 54(6): 803–815.
- Farag A.T., Amany H., Radwan. F., Sorour., Ahmed El Okazy., El-Sayed El-Agamy., Abd El-Khaliek, El-Sebae., 2010. Chlorpyrifos induced reproductive toxicity in male mice. *Reproductive Toxicology*.29: 80-85.
- Kolankayaa D., Selmanoglu G., Sorkuna K., Bekir S., 2002. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chemistry*. 78: 213-217.
- Vincent D.T., Ibrahim Y.F., Espey M.G., Suzuki Y.J. 2013. The role of antioxidants in the era of cardiology. *Cancer. Chemother. Pharmacol*. 72: 1157–1168.
- Wagh V.D. 2013. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv. Pharmacol. Sci*.

- Turkez H., Yousef M. I., Geyikoglu F., 2010. Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food. Chem. Toxicol*, 48: 1–2746.
- Turkez H., Yousef M.I., Geyikoglu F. 2012. Propolis protects against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity in rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 50: 2142–2148
- Miyata R., Sahlan M., Ishikawa Y., Hashimoto H., Honda S., Kumazawa S., 2019. Propolis components from stingless bees collected on South Sulawesi, Indonesia, and their xanthine oxidase inhibitory activity. *J. Nat. Products* 82 (2): 205–210.
- Prado C., Isac S. F., Vickie E., Baracos R., Bies J., Cargar M., Reiman T., John R., Mackey k., Vijaya L., Damaraju B. 2010. An exploratory study of body composition as a determinant of epirubicin pharmacokinetics and toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol*. 67 :93–101.
- Kebieche M., Lakroun Z., Lahouel M., Bouayed J., Meraihi Z., Soulimani R. 2009. Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61: 161–167.
- James L. P., Mayeux P. R., Hinson J. A. 2003. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dipsos*. 31:1499-506.
- Chaa S., Boufadi M.Y., Keddari S., Benchaib H. A., Soubhye J., Antwerpen P. V., Riazi A. 2021. Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Brazilian Jornal of Pharmacologie*. 29 : 294–300.
- Sahlan M., Hapsari A.R., Pratami D. K., Khayrani C. A., Lischer k., Alhazmi A., Mohammedsaleh Z., Shater F., Saleh F., Alsanie W., Sayed S., Gaber A. 2021. Potential hepatoprotective effects of flavonoids contained in propolis from South Sulawesi against chemotherapy agents. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28: 5461–5468.
- Elswefy E. S., Abdallaha F. S., Wahba, A. S., Hasand A. S., Atteiaa A. 2020. Antifibrotic effect of curcumin, *N*-acetyl cysteine and propolis extract against bisphenol A-induced hepatotoxicity in rats: Prophylaxis versus co-treatment. *Life Sciences* 260 :118245.
- El Menyiy N., Al Waili N., Bakour M., Al-Waili H., Lyoussi B. 2016. Protective Effect of Propolis in Proteinuria, Crystaluria, Nephrotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Ethylene Glycol Ingestion. *Archives of Medical Research* 47 : 526-534.
- Turkez H., Yousef M. I., Geyikoglu F. 2012. Propolis protects against 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity in rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology* 50: 2142–2148.
- Alm-Eldeen A., Basyony M. A., Elfiky N. K., Ghalwash M. 2017. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 87: 247–255.
- Bhadaur M., Nirala S. K., Shukla S. 2008. Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food and Chemical Toxicology* 46: 2703–2712.
- Bhadauria M., Nirala S. K. 2009. Reversal of acetaminophen induced subchronic hepatorenal injury by propolis extract in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 27:17–25.
- Monika Bhadauria. 2012. Combined treatment of HEDTA and propolis prevents aluminum induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology* 50: 2487–2495.
- Jin X. L., Wang K., Li Q., Tian W.L., Xue X. F., Wu L. M., Huc F. H. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory effects of Chinese propolis during palmitic acid-induced lipotoxicity in cultured hepatocytes. *Journal of Functional Foods* 34 : 216–223.

- Nna V. U., Bakara A. B., Mohamed M. 2018. Malaysian propolis, metformin and their combination, exert hepatoprotective effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences* 211: 40–50.
- Abdul-Hamid M., Moustafa N., Asran A., Mowafy L. 2017. Cypermethrin-induced histopathological, ultrastructural and biochemical changes in liver of albino rats: The protective role of propolis and curcumin. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 6 :160–173.
- El-Kott A., Owayss A. 2008. Protective Effects of propolis Against the Amitraz Hepatotoxicity in Mice. *Journal of Pharmacology and Toxicologie* 3 (5) :402-408.
- Newairy A., Abdou H., 2013. Effect of propolis consumption on hepatotoxicity and brain damage in male rats exposed to chlorpyrifos. *Academic Journal* 12 (33) :1684-5315.
- Kaya E., Yılmaz S., Ceribasi S. 2019. Protective role of propolis on low and high dose furan-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *J Vet Res* 63: 423-431.
- Anjum I. S., Ullah A., Khan A. K., Attaullah M., Khan H., Ali H., Bashir A. M., Tahir M., Ansari M. I., Ghramh H., Adgaba N., Dash K. C. 2019. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 :1695–1703.
- Cui J., Duan X., Ke L., Pan X., Liu J., Song X., Ma W., Zhang W., Liu J., Fan Y. 2022. Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. *Fitoterapia* 157 : 105106.
- Gille F., Jean M. 2021. Les fiches pratiques de l'apiculture. Volum .Récouter de la propolis.
- Anne V. S. 2013. Miels d'anicet, apiculture eco-responsible. Morphologie de l'abeille.

Les sites web:

- http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/da/Populus_nigra_Plantierensis1.jpg
- <http://www.vdberk.fr/arbres/betula-pendula-tristis/>
- <https://www.la-sca.net/recolte-de-la-propolis-par-l-abeille-et-l-apiculteur>
- <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>

ملخص:

يعتبر العكبر مصدر لمضادات الاكسدة الطبيعية مثل الفلافونويدات. لقد اظهرت هذه المادة النشطة بيولوجيا تأثيرا مفيدا ضد السمية الخلوية الناتجة من التعرض للمواد الكيميائية كمضادات السرطان للعلاج الكيميائي او الاستعمال المفرط للدوية و الكحول.

تؤدي المستقلبات الناتجة عن عملية الاستقلاب لهذه المواد إلى حدوث تغييرات في وظائف الكبد من خلال تعطيل المعايير البيوكيميائية وكذلك عجز في انظمة مضادات الاكسدة مع زيادة تاكسد الدهون.

يساعد العكبر بالقدرة على التخلص من الجذور الحرة الماكسدة و حماية الكبد من الاجهاد التاكسدي من خلال زيادة مضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية السوبر اكسيد ديسميتاز و الكاتالاز و الجلوتاثيون و كذلك القدرة على الحفاظ على مستويات المعايير البيوكيميائية عند المستويات الطبيعية وحماية اغشية الخلايا من التلف الناتج من تاكسد الدهون.

الكلمات المفتاحية المواد الكيميائية الاجهاد التاكسدي العكبر تاكسد الدهون مضادات الاكسدة

Résumé

La propolis, est une source potentielle d'antioxydants naturels tels que les flavonoïdes. Cette substance bioactive a montré un bénéfice contre la toxicité hépatique résultant de l'exposition à des produits chimiques tels que les anti-cancéreux pour la chimiothérapie ou l'usage excessif des médicaments et d'alcool.

Les métabolites issus de la biotransformation de ces produits induisent des altérations de la fonction hépatique, par la perturbation des paramètres biochimiques ainsi qu'un déficit des systèmes antioxydants avec l'augmentation de la peroxydation lipidique.

La propolis avec sa capacité à piéger les radicaux libres oxygénés, a permis de protéger le foie contre le stress oxydatif généré par l'augmentation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (SOD, CAT et GSH) ainsi que par le maintien des taux des paramètres biochimiques à des niveaux normaux et par la protection des membranes cellulaires contre les dommages de la peroxydation lipidiques.

Mots clés: Produits chimique, stress oxydatif, propolis, peroxydation lipidiques, effet antioxydant.

Abstract

Propolis is a potential source of natural antioxidants such as flavonoids. This bioactive substance has always shown a beneficial effect against liver toxicity resulting from exposure to chemicals such as anti-cancer drugs for chemotherapy or ceasing use of drugs and alcohols.

The metabolites resulting from the biotransformation of these drugs induce alterations in hepatic, by the disruption of biochemical parameters as well as a deficit of antioxidant systems with the increase in lipid peroxidation.

Propolis, with its ability to scavenge oxygen free radicals, protect the liver against oxidative stress generated by chemicals shown by the increase in enzymatic and non-enzymatic antioxidants (SOD, CAT and GSH) as well as by maintaining the levels of biochemical parameters at normal levels and by protecting cell membranes against damage from lipid peroxidation.

Key words: anticancer drugs, oxidative stress, propolis, lipid peroxidation, antioxidant effect.