

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

**Mémoire de fin d'étude**

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option : Biochimie**

**Thème**

**Impact de la toxicité subaigüe d'un pesticide  
«L'endosulfan » sur la fonction cardiaque et rénale  
du rat wistar et effet protecteur de la propolis**

**Membres du Jury:**

**Présidente: Dr . BOUTENNOUN H**

**Examinatrice: M<sup>me</sup>.AZZOUZ W**

**Encadreur: Dr . BOUHAFS L**

**Présenté par :**

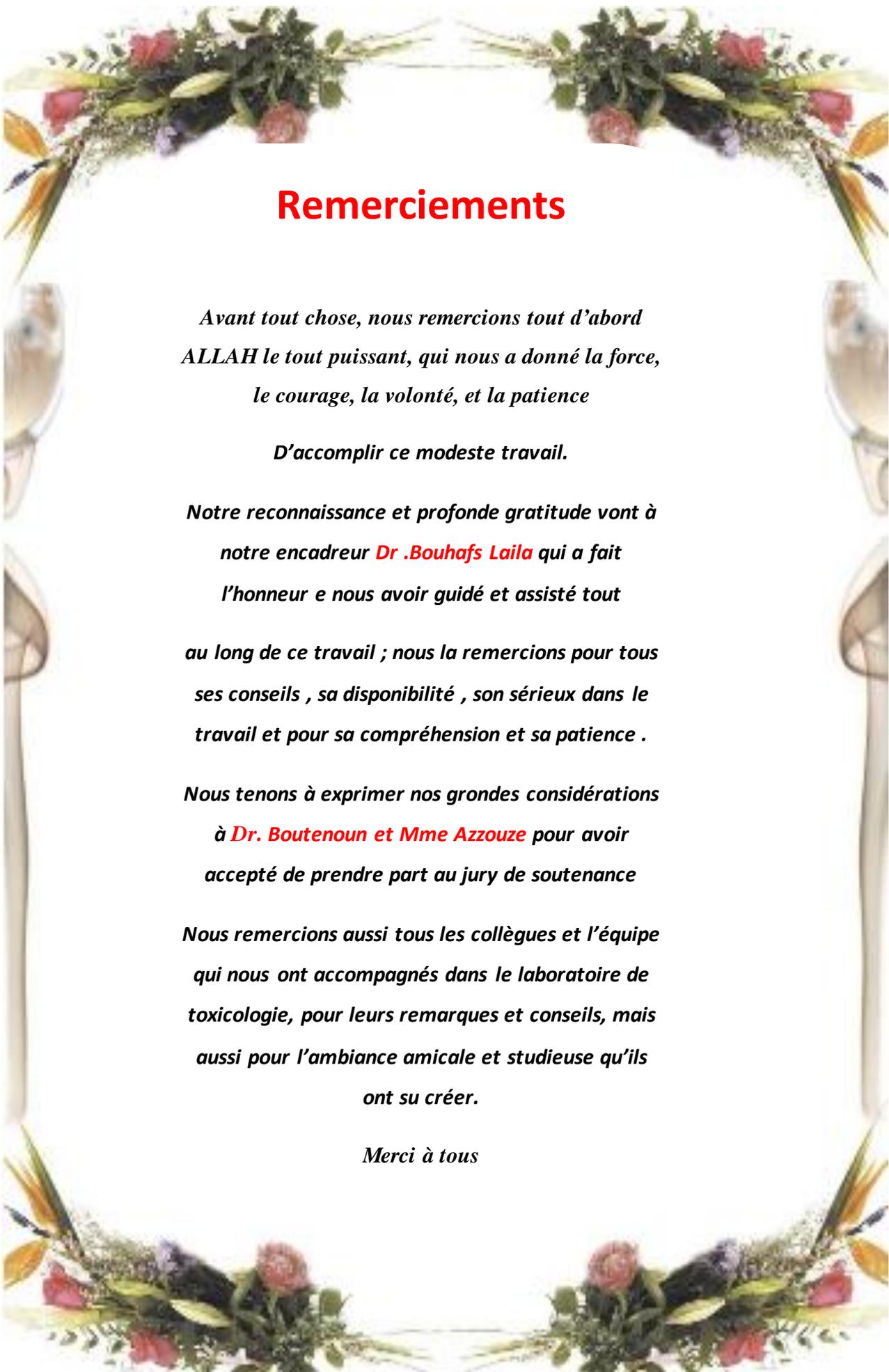
**Bezzag Ibtissam**

**Mehennaoui Leila**

**Année Universitaire : 2017-2018**

N°d'ordre :.....





## Remerciements

*Avant tout chose, nous remercions tout d'abord  
ALLAH le tout puissant, qui nous a donné la force,  
le courage, la volonté, et la patience*

*D'accomplir ce modeste travail.*

*Notre reconnaissance et profonde gratitude vont à  
notre encadreur **Dr .Bouhafs Laila** qui a fait  
l'honneur e nous avoir guidé et assisté tout  
au long de ce travail ; nous la remercions pour tous  
ses conseils , sa disponibilité , son sérieux dans le  
travail et pour sa compréhension et sa patience .*

*Nous tenons à exprimer nos grandes considérations  
à **Dr. Boutenoun et Mme Azzouze** pour avoir  
accepté de prendre part au jury de soutenance*

*Nous remercions aussi tous les collègues et l'équipe  
qui nous ont accompagnés dans le laboratoire de  
toxicologie, pour leurs remarques et conseils, mais  
aussi pour l'ambiance amicale et studieuse qu'ils  
ont su créer.*

*Merci à tous*

## **Dédicace**

*A L'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail*

*Que je dédie :*

*A ma Mère : **Saliha***

*Tu m'as donné la vie, la tendresse et la courage pour réussir*

*A mon Père : **Kamel***

*Qui m'a aidé pendant toutes mes années d'étude*

*A mes frères ; yahya et Zino*

*A mes sœurs : Nesrine, et Nihad*

*Pour être toujours présentes a mes coté quand j'ai besoin a vous*

*A ma puce : **Rana***

*Amon encadreur Bouhafs Laila pour ses conseils*

*A toute ma famille et a toutes mes amies*

***Ibtissam***



## Dédicace

A L'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail

Que je dédie :

**A ma Mère :** Yasmina

Tu m'as donné la vie, la tendresse et la courage pour réussir

L'épaule solide, l'œil attentive compréhensive et la personne la plus digne de mon estime et mon respect. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, qui Dieu te préserve et procure santé et longue vie

**A mon marié :** Abdou qui m'a donné le courage et la volonté pour réussir

**A mes enfants :** Anes et Douli

Que dieu vous gardent et que vous soyez une force a mes coté

A mon très cher **frère** Mostafa rahimaho Allah

**A mes frères :** Waalid , Ramzi et Wafik

**A ma sœur :** Marwa et sa fille Ghozlen

Pour tous les bons moments que l'on a y passer ensemble

**Au belles jumelles :** Alaa et Walaa

Cici et Mimi

A mon encadreur Bouhafs laila pour tous ses conseils

A toute la famille boucheker et a toutes mes amies

## Lilya

# *liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Identification des propriétés physico-chimiques de l'EDS.....	2
<b>Tableau 2:</b> Composition chimique de la propolis brute.....	8
<b>Tableau 3:</b> Teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'EEP .....	18
<b>Tableau 4 :</b> Variations des activités enzymatiques de LDH par rapport au témoin après l'administration de 4mg/Kg de l'endosulfan et de 25mg/kg de la propolis pendant 15 jours. .....	20
<b>Tableau 5 :</b> Variations des concentrations sériques de l'urée, créatinine et acide urique par rapport au témoin,après l'administration de 4mg/Kg de l'endosulfan et de 25mg/kg de la propolis pendant 15jours.....	21

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : La voie métabolique proposé pour l'endosulfan .....	4
<b>Figure 02</b> : Variation de l'effet anti radicalaire de la propolis et de la vitamine C à différentes concentration vis –à- vis du radical DPPH ° .....	19
<b>Figure 03</b> : Variations du taux de MDA cytosolique (nmole/g de tissu)cardiaque et rénal des rattes des trois lots expérimentaux après 15jours de traitement.....	23
<b>Figure 04</b> : Variations du taux de GSH cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des rattes des trois lots expérimentaux après 15jours de traitement.....	24
<b>Figure 05</b> : Variations de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des rattes des trois lots expérimentaux après 15jours de traitement.....	25
<b>Figure 06</b> : Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des rattes des trois lots expérimentaux après 15jours de traitement.....	25
<b>Figure 07</b> : Variations de l'activité enzymatique de la GST cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des rattes des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.....	26

## Liste des abréviations

<b>BBC</b>	Bleu Brillant de Comassie
<b>BSA</b>	Bovin Sérum Albumine
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CK</b>	Créatine Kinase
<b>CYP</b>	Cytochromes P450
<b>DL50</b>	Dose Létale
<b>DPPH°</b>	2,2-Diphényl picylhydrazyl
<b>DTNB</b>	Acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque
<b>EAG</b>	Equivalant d'acide gallique
<b>EDS</b>	Endosulfan
<b>EDTA</b>	Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique
<b>EEP</b>	Extrait étanolique de la propolis
<b>EQ</b>	Equivalant quercétine
<b>ERO</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène
<b>GABA</b>	Acide $\gamma$ amino-butyrrique
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Glutathion oxyde
<b>GST</b>	Glutathion -S-transferase.
<b>GTPase</b>	Guanosine triphosphatase
<b>HO-1</b>	l'hème-oxygénase
<b>LDH</b>	Lactate déshydrogénase
<b>MDA</b>	Malondialdehyde
<b>MDH</b>	Malate déshydrogénase
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PAKI</b>	phospho-kinase A
<b>Rpm</b>	Rotation par minute
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>TBA</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TBS</b>	Tris-buffered saline
<b>TCA</b>	Acide Trichloracétique.
<b>USEPA</b>	l'Agence De Protection De l'Environnement des Etats-Unis

## **Introduction**

La propolis ou colle d'abeille n'est pas une nouvelle découverte, elle est connue depuis des siècles par les anciens Grecs, les Romains et les Egyptiens ; et utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle. La propolis acquiert un intérêt particulier dans les recherches contemporaines grâce à ses propriétés biologiques résultant de sa richesse en composé phénoliques, notamment, les flavonoïdes et les acides phénoliques (José et Sforcin, 2016).

Plus à ses activités pharmacologiques, la propolis présente des effets préventifs. Son effet protecteur est considéré comme le résultat de ses propriétés anti oxydantes ainsi que sa capacité à piéger les radicaux libres (Bankova *et al*, 2014).

Notre organisme est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres, essentiellement des espèces réactives de l'oxygène (ERO), telle que l'exposition aux pesticides. Parmi eux, l'endosulfan (EDS), un insecticide et acaricide de la famille des organochlorés connu par sa forte toxicité (WHO, 2005).

Lors des réactions de détoxication, l'EDS produit le stress oxydant par la génération des radicaux libres et induit la peroxydation lipidique dans les tissus des mammifères et des autres organismes qui contribuent cliniquement à l'apparition des effets secondaires toxiques de l'EDS (Çömelekoglu *et al*, 2000),

Dans de nombreuses études cliniques, il a été montré que l'EDS affecte de nombreux organes, tels que le cerveau, le foie, les reins et le cœur ; les analyses histo-pathologiques dans ces tissus ont également été montrées, et qui seraient responsables de l'apparition de plusieurs dysfonctionnement d'organes (Hudaverdi *et al*, 2008 ; Amizadeh et Askari Saryazdi, 2011).

Une littérature abondante et encore en pleine expansion s'exerce pour confirmer l'effet protecteur contre le stress oxydatif induit beaucoup plus par les médicaments utilisés en chimiothérapie.

Lahouel et al(2004) ont démontré que l'extrait de la propolis algérienne a un effet protecteur contre le stress hépatique et rénal induit par la cyclophosphamide; cette même propolis a prouvé son efficacité dans la protection des reins contre la toxicité de la doxorubicine (Lahouel *et al*, 2010).

D'autres études ont montré sa capacité anti-mutagéniques (Benguedouar *et al*, 2016), ou effet hépato-protecteur contre les dommages par le tétrachlorure de carbone(CCl<sub>4</sub>) (Banskota, 2001).

Comme l'effet protecteur de la propolis contre la toxicité d'EDS n'a jamais été abordé dans la littérature, nous nous sommes alors intéressés de contribuer à ce sujet d'actualité.

L'objectif de notre travail est d'étudier d'une part, la cardiotoxicité et néphrotoxicité de l'endosulfan chez le rat Wistar femelle et d'autre part, à évaluer l'effet antioxydant et protecteur de la propolis algérienne contre cette toxicité.

## Chapitre I: L'endosulfan

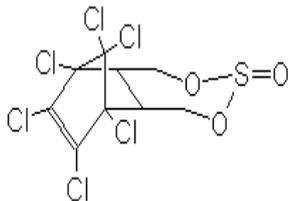
### 1.1. Description et propriétés physico-chimiques

L'EDS est un insecticide et acaricide organochloré appartenant au groupe de cyclodiène développé vers le milieu des années 1950 et homologué pour la première fois aux Etats-Unies, il a été intensivement appliqué dans l'agriculture pour protéger les diverses cultures vivrières en serres et non alimentaires afin de lutter efficacement contre de nombreuses espèces nuisibles broyeuses, suceuses et foreuses (Naqvi et Vaishnavi, 1993).

Il se présente sous forme de cristaux bruns, stables à la lumière et insolubles dans l'eau, l'EDS de qualité technique est un mélange de deux stéréoisomères  $\alpha$  et  $\beta$  biologiquement actifs dans les proportions ( $\alpha / \beta = 70/30$ ) (Muller *et al*, 2009).

La présentation de l'EDS et ses quelques propriétés physico-chimiques sont représentées dans le tableau (01).

**Tableau 01** : Identification et propriétés physico-chimiques de l'EDS (UNEP/FAO, 2010)

Nom commun	Endosulfan
Nom chimique	6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-méthano-2,3,4-benzo- <i>o</i> -dioxathiepin-3-oxide
Type de pesticides	Insecticides, acaricide
Structure chimique	
Formule chimique	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S
Masse molaire (g/mol)	406,93
Solubilité à 20° C (mg/l)	Dans l'eau : 0,51 ( $\alpha$ -endosulfan) et 0,45 ( $\beta$ -endosulfan), dans l'éthanol : 65000
Pression de vapeur (mPa)	0,83(20°C)
Point de fusion	106°C

### 1.2. Mode d'action

L'EDS est un antagoniste des neurotransmetteurs GABA (acide gamma-aminobutyrique) qui agit directement après exposition par contact, ingestion ou inhalation. Il inactive les canaux

chlorure, entraînant une hyperpolarisation des neurones et une excitation incontrôlée des neurones de l'insecte, d'où son utilisation comme insecticide (Hudaverdie *et al*, 2007).

La liaison de GABA à son récepteur induit une absorption d'ions chlorure par les neurones, ce qui entraîne une hyperpolarisation de la membrane. Lorsque cette activité est bloquée par l'endosulfan, les neurones ne se repolarisent que partiellement, il en résulte un état d'excitation non contrôlé (Hayes, 2010).

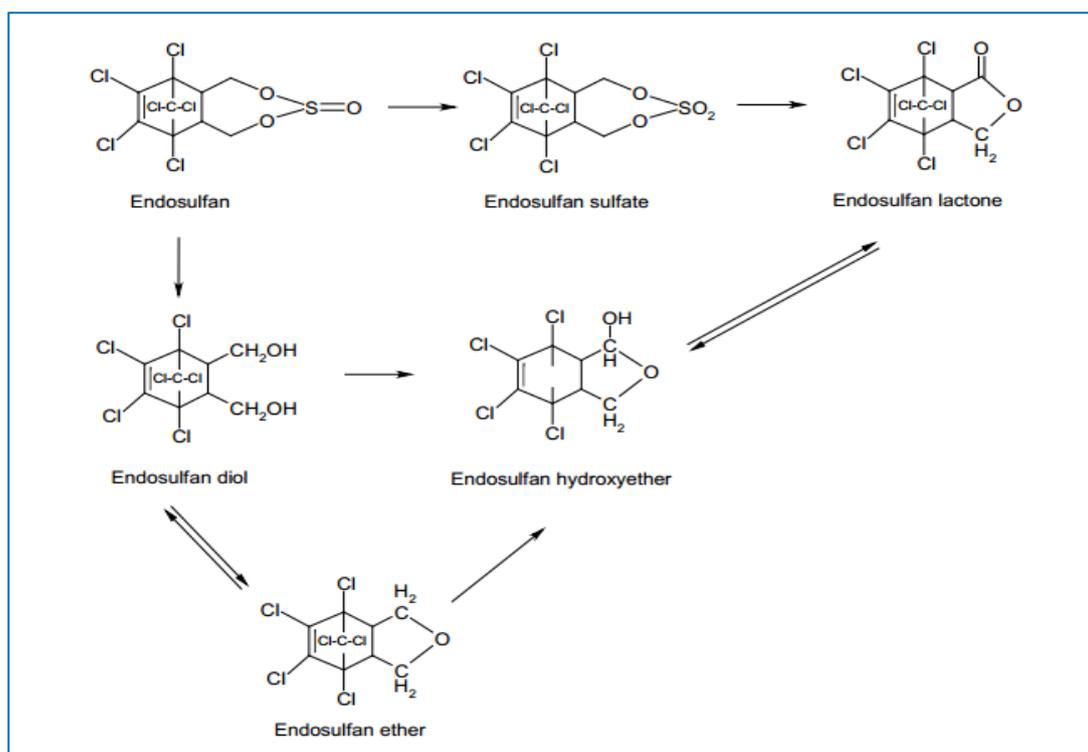
### **1.3. Devenir dans l'organisme**

L'EDS est absorbé après une exposition par voie orale, par inhalation et par voie cutanée, la nature lipophile de l'EDS suggère qu'il est probablement absorbé par diffusion passive.

Son absorption est très lente et incomplète, environ 40 à 60% il est absorbé en 48h par le tractus gastro-intestinal (Moon et Chun, 2009). La résorption est aussi lente, elle-même favorisée par les graisses, il est distribué dans les tissus adipeux, le cerveau et le foie, les reins peuvent être des dépôts à long terme et de ses métabolites (Alvarado-Hernandez *et al*, 2013).

Cependant, des différences de distribution ont été observées entre les isomères et les métabolites. Aucune information n'a été trouvée concernant le mécanisme par lequel l'EDS est transporté dans le sang. Cependant, en raison de sa forte solubilité dans les lipides, il est raisonnable de supposer que, dans le sang, il pourrait être associé à une fraction lipidique.

L'EDS subit une biotransformation par le foie, surtout au niveau du réticulum endoplasmique par des réactions de déchloration (réductive ou oxydative) ou de déchlorhydratation catalysés par les cytochromes P450 (CYP450) et la glutathion S-transférase, la biotransformation et la dégradation se font très lentement, à cause des structures complexes de l'anneau aromatique. Ses deux formes stéréo-isomères stables peuvent être converties en sulfate et diol d'EDS (Figure 01), ceux-ci peuvent encore être métabolisés en lactone EDS, hydroxy éther et éther (Casabar *et al*, 2006). En fin l'élimination de ses métabolites est principalement dans les fèces et les urines chez les humains et les animaux avec un temps de demi-vie estimées entre 1 et 7 jours dans l'organisme. L'excrétion biliaire a également été démontrée comme importante chez les animaux. Il est éliminé aussi par l'intermédiaire de lait maternel chez les femmes allaitantes (Andrascikova *et al*, 2013). Seule une proportion de 15 à 18 % de la substance se retrouve intacte



**Figure 1** : La voie métabolique proposée pour l'endosulfan (Marilyn *et al*, 2010)

#### I.4. L'endosulfan et stress oxydatif

Le stress oxydatif est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'il fait face à un flux accru de radicaux libres et qu'ils n'arrivent plus à les piéger ou à les détruire (Agrawal et Sharma, 2010).

Le stress oxydant est suggéré comme le mécanisme clé de la toxicité de l'EDS ; la capacité de ce dernier à induire le stress oxydant dans les différents organes par production accrue des ERO a été montré dans divers travaux (Singh *et al*, 2016 ; El-Shenawy *et al*, 2010).

Une augmentation de près deux fois de la production d'ERO et une forte expression de l'hémoxygénase (HO-1) (le gène lié au stress oxydatif) dans les hépatomes HepaRG exposées 6 heures à l'EDS en comparaison avec les hépatocytes humains en culture ont été montré dans l'étude de Savary et al (2014).

Quand les systèmes antioxydants sont débordés, les ERO seront donc responsables des dommages des membranes, des altérations de l'activité métabolique, des lésions des tissus et de la mort cellulaire (Uboh *et al*, 2011).

L'exposition à l'EDS affecte les enzymes antioxydants comme, la SOD, le GST et la CAT (E-Shenawy, 2010).

Le rôle du stress oxydatif et de la peroxydation des lipides dans la toxicité par l'EDS a été aussi montré dans les globules rouges, les cellules mononuclées du sang, le foie et les reins (Takhshid *et al*, 2012).

### **1.5. La toxicité de l'endosulfan**

L'EDS a été classé par l'Agence De Protection De l'Environnement des Etats-Unis( l'USEPA) dans la catégorie Ib , composé hautement toxique selon la DL50 de 30 mg/kg (voie orale) pour les rats femelles (USEPA, 2002), et dans la catégorie II «Modérément dangereux» par l'OMS sur la base d'une DL50 de 80 m/kg (voie orale) (WHO; 2005).

L'EDS comme le cas de la plupart des autres pesticides, peut provoquer une toxicité aiguë chez les animaux et les êtres humains, cette toxicité est plus élevée par voie orale que par la voie cutanée. Les symptômes d'intoxication se traduisent par ; l'irritation de l'estomac et de l'intestin grêle, la congestion des reins, des poumons et des glandes surrénales, l'atonie, des nausées, des vomissements, des convulsions et des étourdissements (Amizadeh *et al*, 2011).

Les études de toxicité subaiguë et chronique de l'EDS chez les animaux suggèrent que les reins, le foie, le système immunitaire, et les testicules sont les principaux organes cibles. L'exposition à long terme est liée à une immunosuppression, des troubles neurologiques et des malformations congénitales (EL-Shenawy, 2010).

La toxicité par l'EDS peut toucher plusieurs organes tels que le foie, le système nerveux, les reins, la rate et le thymus, dans cette étude nous ne citons que la cardiotoxicité et néphrotoxicité.

#### **➤ Cardiotoxicité par l'EDS**

Le stress oxydatif induit par l'EDS est connu comme un facteur étiopathologique important dans une variété des maladies cardiaques, telles que l'insuffisance cardiaque et la cardiopathie ischémique (Jalili *et al*, 2007).

Kalender *et al* (2004) ont montré que l'EDS entraîne, des congestions, des nécroses, des réactions inflammations et des modifications fibrotiques du myocarde. Kalender (2004)

#### **➤ Néphrotoxicité**

Le mécanisme spécifique par lequel l'EDS cause des changements significatifs dans l'évaluation des indices biochimiques des fonctions rénales et des changements histopathologiques ne sont pas tout à fait clair.

Les Espèces Réactivées de l'Oxygène (ERO) ainsi que d'autres métabolites réactifs générés lors du métabolisme de l'EDS, sont probablement impliqués dans l'endommagement du tissu rénal. Une fois que ce dernier est lésé, la fonctionnalité globale des reins peut être compromise.

La fonction rénale peut être évaluée par rapport aux niveaux de certains électrolytes (tels que K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) et de ses métabolites (par exemple la créatinine, l'urée et acide urique) dans le plasma (Uboh *et al*, 2011), ainsi que par les modifications histopathologiques.

## Chapitre II: La propolis

### II.1. Généralités

Le mot propolis est d'origine grecque « pro : signifie, en avant de, et polis : la cité, l'entrée de la ruche » (Ghedira *et al*, 2009). La Propolis est une substance complexe de couleur variable produites par les abeilles à partir de leurs sécrétions (cire et enzymes salivaires) et de certaines matières résineuse, gommeuses et balsamiques, recueillis des végétaux (principalement les arbres) (El Housseini, 2013).

La propolis est en général utilisée par les abeilles pour désinfecter et protéger la ruche, elle sert également comme un joint d'étanchéité afin d'assurer la stabilité de la température et de l'humidité dans la ruche tout au long de l'année (José et Sforcin, 2016).

L'origine botanique de la propolis peut influencer la saveur, la couleur, l'arôme et la composition chimique (Wang *et al*, 2016). Il existe plusieurs types de propolis. Cette diversité est due à trois facteurs principaux : la zone géographique de la ruche, le monde végétal qui existe dans cette région pendant la saison et la race de l'abeille (Cardinaut *et al*, 2012). Plusieurs recherches ont montré que la propolis pourrait avoir deux origines: interne, issue de la première phase de digestion du pollen, ou externe, collectée par les abeilles à partir de différentes plantes (Bankova *et al*, 2000).

### II. 2. Propriétés physico-chimiques

La consistance de la propolis varie en fonction de la température, elle est dure est friable à 15° C molle est malléable à 30°C, collante ou gluante entre 30 et 60°C, jusqu'à fondre en moyenne vers 60 -70°C ou plus. Sa couleur varie selon sa provenance; de saveur âcre et parfois amère, d'odeur agréable et douceâtre mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produit. Son point de fusion se situe autour de 70°C et sa densité est de 1,2 (soit supérieur à celle de l'eau). La propolis est insoluble dans l'eau à froid, elle est en revanche, partiellement soluble dans l'acétone, l'alcool, l'ammoniaque, le benzène et le chloroforme (Wang *et al*, 2016).

### II. 3. Composition chimique

Actuellement, on connaît plus de 300 composés de la propolis dont les constituants bioactifs essentiels sont les composés phénoliques, les flavonoïdes et les terpènes (Tableau02).

**Tableau 2** : Composition chimique de la propolis brute (El housseini, 2013).

Composition en ordre	Composition par groupe	Quantité
Résine et baume	Flavonoïdes, acide phénoliques + esters	45-55%
Cire et acides gras	La cire d'abeille et des plantes	25-35%
Huiles essentielles	Anéthol et eugénol	10%
Pollen	Protéines	5%
Autre composés organiques et substances minérales diverses	Cétones, lactones, quinones, stéroïdes, acides benzoïques, vitamines/sucres, silice et zinc	5%

## II.4. Propriétés thérapeutiques

### II.4.1. Effet anti-tumoraux

Plusieurs études ont pu montrer l'activité anti tumorale vis-à-vis de différentes lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, prostate, poumon, foie, cerveau, rein). Il a été démontré que l'extrait de la propolis agit sur la voie de signalisation en phospho-Kinase A(PAKI) dont dépendent plusieurs cancers. L'effet antiprolifératif peut résulter aussi de la restauration du signal apoptotique. Les différentes molécules de la propolis vont pouvoir agir à différents endroits pour induire l'apoptose (Cardinault *et al*, 2012).

### II.4.2. Effet antioxydant et anti-radicalaire

La propolis possède une activité antioxydante très élevée grâce à la présence de certaines substances bioactives dans sa composition, essentiellement les composants phénoliques et flavonoïdes. L'activité anti-radicalaire est mise en évidence vis-à-vis du radical DPPH, c'est la fraction la plus concentrée en flavonoïdes qui piège le mieux le radical libre DPPH. *In vivo*, la propolis réduit significativement la lipo-peroxydation dans différents organes (foie, rein, poumon et cerveau) et module l'expression des enzymes anti oxydantes (Ghedira *et al*, 2009).

La propolis aurait également un effet protecteur contre la toxicité induite par certains médicaments, comme le paracétamol (Lahouel *et al*, 2004), et la doxorubicine (Benguedouar *et al*, 2008) et certains métaux (Iuliana *et al*, 2007).

### II.4.3. Activité antibactérienne

L'activité bactéricide de la propolis est la plus largement documentée ; cette dernière à large spectre a été montrée sur des bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>, parmi les bactéries inhibées: des *Bacillus*

*cereus* et *Bacillus subtilis*), *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus mutans*, des *Pseudomonas*, des *Proteus*, des *Clostridium*.....etc(Oliveira *et al*, 2010).

Les différentes études mécanistiques suggèrent que la propolis pourrait inhiber la croissance bactérienne par blocage de la division cellulaire, par désorganisation du cytoplasme, par une inhibition de la synthèse protéique ou par une inhibition du processus d'adhésion (Cardinault *et al*, 2012).

#### **II.4.4. Effet anti inflammatoire**

La propolis exerce un effet anti-inflammatoire significatif contre l'inflammation chronique et aiguë ; elle agit sur les mécanismes d'action de certaines voies pro-inflammatoires ( DaGraça *et al.*, 2014). Les résultats des modèles *in vivo* montrent que l'extrait de propolis est capable d'inhiber des cytokines pro-inflammatoires et d'augmenter des cytokines anti-inflammatoires avec une activité immuno-modulatrice (Joleen *et al*, 2012).

De plus, l'extrait éthanolique de propolis peut inhiber des œdèmes induits par la carragénine chez les rats (Borrellia *et al*, 2002).

La propolis possède une activité : antivirale (Amoros *et al*, 1992), antifongique (Ota *et al*, 2001), cicatrisante et anesthésique (El-Housseini, 2013), hépatoprotective (Banskota, 2001), et immunorégulatrice (Fischer *et al*, 2007).

## I. Matériel

### I.1. Endosulfan

L'endosulfan est un insecticide organochloré appartenant au groupe des cyclodiènes. La formulation commerciale de l'EDS (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-méthano-2, 4,3-ben-zodioxathiepine-oxyde-3, numéro CAS 115-29-7) est sous forme d'une poudre blanche très fine (Ehrenstorfer Schäfer, Augsburge , Allemagne).

### I.2. Propolis

Dans ce travail nous avons utilisé une propolis sous forme d'une poudre fine de couleur jaune qui nous a été fourni par le laboratoire de toxicologie moléculaire.

### I.3. Matériel biologique et condition d'élevage

Nous avons utilisé dans le cadre de ce travail 12 rattes femelles Wistar provenant de l'institut Pasteur Alger, Algérie et ayant un poids corporel compris entre (220-250g).

Les animaux ont été élevés dans des cages en polyéthylène avec libre accès à la nourriture et à l'eau. Ces cages ont été nettoyées chaque trois jours, avec renouvellement de la litière pour assurer le bon état hygiénique des animaux. L'animalerie est soumise à une photopériode de 12/12 h, maintenue à une température de (22°C ± 2°C) et une humidité de 65%.

## II. Méthode

### II.1. Traitement et répartition des animaux

Les animaux ont été répartis en 3 groupes de 4 animaux pour chacun :

**Le 1<sup>er</sup> groupe** : Lot témoin recevant 0,5 ml de l'huile de maïs par gavage quotidiennement pendant 15 jours. (Lot témoin).

**Le 2<sup>ème</sup> groupe** : Lot traité par 0,5ml de l'endosulfan (4 mg /Kg) par gavage quotidien pendant 15 jours (Bouhafs et al, 2015). (Lot EDS).

**Le 3<sup>ème</sup> groupe** : Lot supplémenté par 1ml de la propolis (25mg/kg), quinze minutes après traité par 0,5 ml d'endosulfan (4mg /kg) par gavage pendant 15 jours. (Lot EDS+propolis).

### II.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons

#### II.2.1. Prélèvement du sang

Au dernier jour du traitement, le sang est prélevé à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil. Pour chaque rat, les échantillons de sang prélevés ont été récupérés dans des tubes secs, centrifugés à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes, le sérum a été récupéré, aliquoté et congelé à -20°C pour le dosage des paramètres biochimiques (LDH, urée, créatinines et acide urique).

## II.2.2. Prélèvement des organes

La paroi abdominale est ouverte à la fin de délai d'administration, et après anesthésie légère par le chloroforme (pour immobiliser un peu l'animal et au même temps garder la circulation sanguine).

Le cœur et les reins de toutes les rattes sont soigneusement prélevés, plongés et lavés dans l'eau physiologique (0,9%) pour éliminer le sang, sont maintenus immédiatement à -20°C pour le dosage du stress oxydatif tissulaire (GSH, MDA, SOD, CAT et GST).

## II. 3. Techniques de dosage

### II .3.1. Etude phyto-chimique de la propolis

#### II .3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode, utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, décrite en 1995 par Singleton et Rossi. Cette méthode est basée sur l'interaction entre les groupements oxydables des composés phénoliques et le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un acide de couleur jaune qui conduit à la formation d'un complexe de couleur bleu, dont l'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans l'extrait.

Pour ce dosage, 2,25 ml d'eau distillée et 250 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 50% sont ajoutés à 500 µL de l'extrait dilué au 1/100<sup>ème</sup>. Après 5min d'incubation, 2ml de bicarbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (7,5%) est additionné, puis le mélange est incubé pendant 60mn à température ambiante et à l'abri de la lumière. La densité optique (DO) est lue à 760 nm.

La teneur en polyphénol totaux dans la propolis est déduite à partir d'une gamme étalon préparée avec l'acide gallique (200, 100,50, 25, 12,5 µg/ml) (Figure1. Annexe). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de propolis (mg EAG/g de propolis).

#### II.3.1.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe jaune entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium selon la méthode de (Bahorun *et al*, 1996). 250µl de l'extrait dilué en 1/1000<sup>ème</sup> sont mélangés avec 75 µl de  $\text{Na}_2\text{NO}_2$  (5%). Après un repos de 6min, 150 µl d' $\text{AlCl}_3$  2% et 500 µl de NaOH (1M) sont ajoutés. Le volume est complété par 2.5 ml d'eau distillée, ensuite la densité optique est lue à 510 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme équivalent de la quercitrine par gramme de l'extrait, en utilisant une courbe d'étalonnage de la quercitrine (25µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 200 µg/ml) (Figure2. Annexe). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de la quercitrine par gramme de propolis (mg EQ/g de propolis).

### II.3.1.3. Etude de l'activité anti-radicalaire contre le radical libre DPPH° (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité anti-oxydante de la propolis est déterminée *in vitro*, selon la méthode au DPPH°, comme elle est décrite par Ancerewicz et al (1998). Cette méthode est basée sur la capacité de la propolis à réduire le radical DPPH°, ce dernier (DPPH-H) lorsqu'il réagit avec un composé antioxydant, peut donner des protons hydrogène et changer donc la couleur du violet vers le jaune, ce changement de couleur se traduit par une décroissance en fonction du temps à 515 nm. Pour réaliser ce test, la cuve de mesure contient : 1,5 ml de la solution éthanolique de DPPH (100 µM) et 15 µl de la propolis à différentes concentrations ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  mg/ml).

La lecture de l'absorbance est effectuée chaque 30 secondes pendant 5 min à 515 nm.

La vitamine C est utilisée comme témoin pour la comparaison de l'effet scavenger avec la propolis. L'effet piègeur est déterminé en pourcentage de réduction en prenant le 100% du contrôle (DPPH° seul) selon la relation suivante :

$$\% \text{ de réduction} = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle

AE : Absorbance de l'essai

## II.3.2. Dosage de quelques paramètres biochimiques

### II.3.2. 1. L'activité de lactate déshydrogénase (LDH) tissulaire

#### Principe

La lactate déshydrogénase catalyse la réduction du pyruvate par le NADH, selon la réaction suivante :

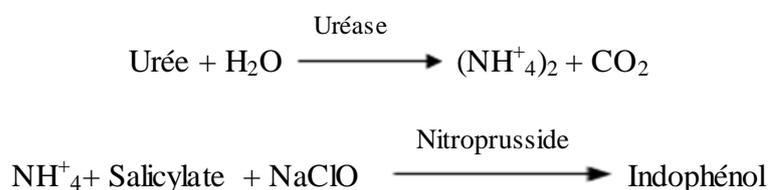


Le taux de la diminution de la concentration de NADPH mesuré à 340 nm, est proportionnel à la concentration catalytique de LDH présent dans l'échantillon (Pesce, 1984).

### II.3.2.2. Dosage de l'urée

#### Principe

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque ( $\text{NH}_4^+$ ) et en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). L'ion ammonium réagit avec le salicylate et hypochlorite dans une réaction catalysée par le nitroprusside pour donner indophénol vert, selon les réactions :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984).

### II.3.2.3. Dosage de la créatinine

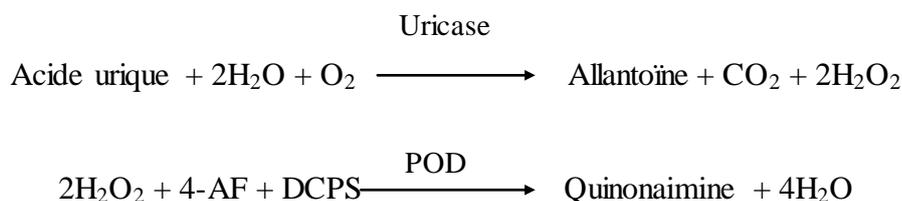
#### Principe

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé (Murray, 1984).

### II.3.2.4. Dosage de l'acide urique

#### Principe

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène ( $2\text{H}_2\text{O}_2$ ) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorphénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:



L'intensité de quinonaimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé (Schultz, 1984).

### II.3.2.5. Dosage des protéines tissulaires par la méthode de Bradford

#### Principe

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976). Elle est basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le Bleu Brillant de Coomassie (BBC) qui se lie avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présent dans les protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

#### Mode opératoire

100µl de la fraction cytosolique diluée au 1/5<sup>ème</sup> avec de l'eau distillée sont ajoutés à 4 ml du réactif BBC. Après agitation au vortex et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à 595 nm. La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA (Figure3. Annexe).

Les résultats sont exprimés en équivalent-albumine [Sérum Albumine Bovine SAB (1mg/ ml)].

### II.3.3. Dosage des paramètres de stress oxydatif tissulaire

#### II. 3.3.1. Préparation de la fraction cytosolique

1 g de tissu est coupé et homogénéisé par un Potter en verre dans 3 volumes de la solution tampon phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1M pH 7.4) contenant le KCl (1.17%).Après découpage en morceaux fins et homogénéisation, l'homogénat est centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse SIGMA 3-16PK pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé pour le dosage des paramètres de stress oxydatif (Iqbal *et al*, 2003).

#### II. 3.3.2. Dosage du MDA cytosolique

##### Principe

Le dosage du MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule de MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol.

##### Mode opératoire

La quantité de MDA est évaluée selon la méthode de (Sastreet *al*, 2000).1g de tissu est additionné à 3ml de la solution de KCl (1,15 M) puis broyé à l'aide d'un homogénéiseur de DOUNCE. A 0.5 ml de l'homogénat, 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67 % sont ajoutés. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol, le mélange est centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique est effectuée sur le surnageant à 530 nm.

La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer Lambert en utilisant le coefficient d'extinction molaire, du complexe MDA-TBA,  $\epsilon=1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Buege et Aust, 1978). Le taux de MDA cytosolique est exprimé en Mm/g de tissus.

### **II.3.3.3. Dosage du glutathion réduit (GSH)**

#### **Principe**

Le GSH est dosé par la méthode colorimétrique par le réactif d'ELLMAN (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithio-bis 2 nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH alcalin présente une absorbance à 412 nm, selon la réaction suivante :



Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparé dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par gramme de tissu.

### **II.3.3.4. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)**

#### **Principe**

La catalase est une enzyme tétramérique contenant un groupe hème qui catalyse, la décomposition du  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ . La catalase est présente dans la plupart des organismes eucaryotes ou procaryotes. L'activité catalytique est mesurée selon la méthode de Clairborne (1985) par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution d' $\text{H}_2\text{O}_2$  à 240nm chaque 1 min pendant 2 minutes Cette diminution étant due à la dismutation du peroxyde d'hydrogène par la catalase selon la réaction :



#### **Calcul**

L'activité enzymatique est exprimée en UI / g de protéine selon la relation suivante :

$$\text{UI/g de protéine} = (2,3033/T \cdot \text{Log } A1/A2) / \text{mg protéines}$$

A1 : Absorbance au temps 0 mn

A2 : Absorbance après 1 mn

### II.3.3.5. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

#### Principe

La détermination de l'activité de la SOD est basée sur l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol par la fraction cytosolique qui contient la SOD. Ceci se produit sous la présence de la catalase (qui accélère l'auto-oxydation de pyrogallol) et entre en compétition avec la Peroxydase sur le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Marklund *et al*, 1982).

#### Mode opératoire

A 2.85ml de tampon tris HCl est ajouté à 25µl de catalase (10mg de catalase dissoute dans un 1L de tampon phosphate, pH(9) et 100µl de l'échantillon, enfin 25µl de pyrogallol (36mg de pyrogallol dans 6ml de HCl) est ajouté à ce mélange. L'absorbance est mesurée à 420 nm dans un intervalle d'une minute pendant trois minutes.

#### Calcul

Une unité d'activité de la SOD est définie comme la quantité de l'enzyme capable d'inhiber 50% de l'auto-oxydation du pyrogallol. Le pourcentage du pyrogallol est estimé par :

$$\text{Inhibition total (\%)} = \frac{\text{DO Blanc} - \text{DO Echantillon}}{\text{DO Blanc}} \times 100$$

$$\text{U de SOD/mg de protéines} = \frac{\text{Inhibition total}}{n \times 50}$$

(DO/min) test : changement de l'absorbance de l'échantillon pendant une minute.

(DO/min)B: changement de l'absorbance du blanc pendant une minute.

### II.3.3.6. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

#### Principe

La GST est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes (Renuka *et al*, 2003). Cette enzyme est très importante dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le GSH avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes organiques (ROOH) son activité est estimée par son action sur le composé CDNB en présence de GSH comme un Co-substrat (Habig *et al*, 1974)

#### Mode opératoire

Le mélange réactionnel contient 1700 µl du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5) et 100 µl du CDNB (20 mM).Après incubation du mélange réactionnel à 37°C pendant 10 min, la réaction est démarrée par l'addition de 100 µl de fraction cytosolique (rien, cœur) et de 100 µl du glutathion (GSH) (20 mM).

### **Calcul**

Le changement de l'absorbance est enregistré à une longueur d'onde 340 nm dans un intervalle d'une minute pendant 5 min contre un contrôle préparé dans les même conditions avec du tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en UI /mg de protéines selon la formule :

$$\text{Activité (UI/ml)} = (\Delta\text{DO}_{340\text{nm}} / T) E - (\Delta\text{DO}_{340\text{nm}} / T) B \text{ Vt F} / (9,6) \text{ VE}$$

( $\Delta\text{DO}_{340\text{nm}} / T$ )E : différence de l'absorbance échantillon.

( $\Delta\text{DO}_{340\text{nm}} / T$ )B : différence de l'absorbance du blanc.

Vt : volume réactionnel total (ml).

VE : volume (en millilitre) de l'enzyme utilisée.

F : facteur de dilution.

### **II.4. Evaluation statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes  $\pm$  écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes du groupe traité par l'endosulfan à celles du groupe témoin d'une part, et d'autre part, en comparant les moyennes du groupe traité par la propolis à celles du groupe traité par l'endosulfan en utilisant le test de Student on utilisant le logiciel MINITAB.17.

- Comparaison entre le groupe traité par l'EDS avec le témoin :

(ns) : Non significatif  $p > 0,05$ , (\*) : Significatif  $P < 0,05$ , (\*\*) : Hautement significatif  $P < 0,01$ ,

(\*\*\*) : Très hautement significatif  $P < 0,001$

- Comparaison entre le groupe traité par la propolis avec le groupe traité par l'EDS :

(ns) : Non significatif  $p > 0,05$ , (a) : Significatif  $P < 0,05$ , (b) : Hautement significatif  $P < 0,01$ , (c) :

Très hautement significatif  $P < 0,001$ .



### III.1. Nature phytochimique de la propolis

#### III.1.1. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) exprimées en mg EAG/g de propolis et mg EQ/g de propolis respectivement, sont illustrées dans le tableau (3) montrant que la propolis utilisée dans ce travail contient des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes égale à  $528,75 \pm 8,55$  mg EAG/g de propolis et  $304,26 \pm 20,86$  mg EQ/g de propolis respectivement. Le taux de flavonoïdes totaux représente plus de 50% des polyphénols totaux.

**Tableau 3** : Teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'EEP

	<b>Polyphénols</b> (mg EAG/g de propolis)	<b>Flavonoïdes</b> (mg EQ/g de propolis)
<b>Teneur</b>	$528,75 \pm 8,55$	$304,26 \pm 20,86$

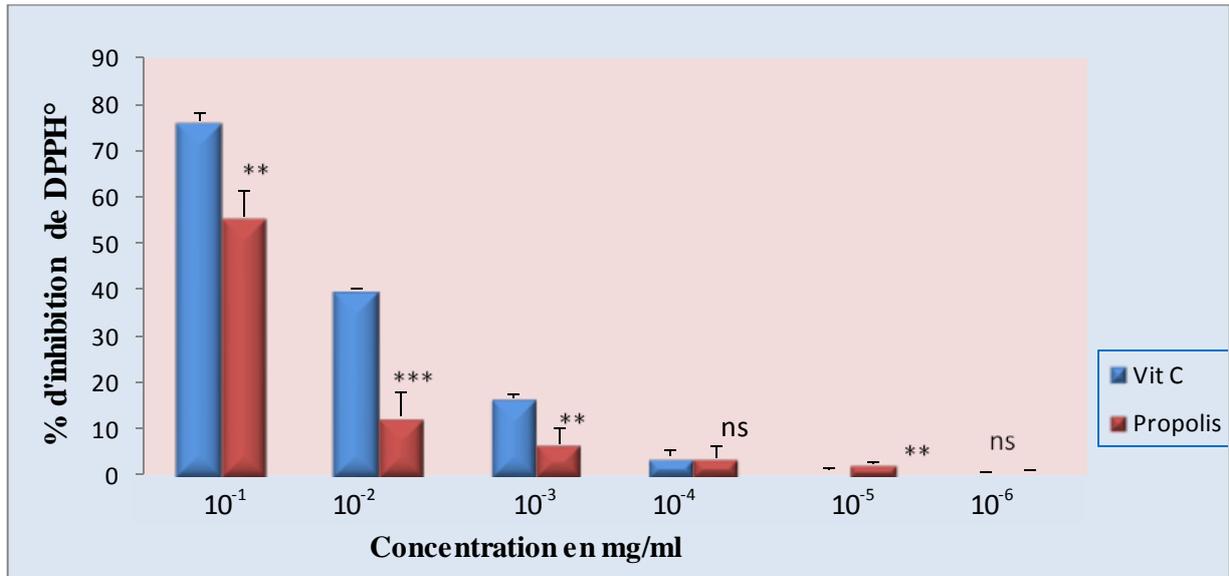
#### III.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire de la propolis par le test au DPPH°

Les variations de l'effet anti-radicalaire de la propolis et de la vitamine C à différentes concentrations vis-à-vis le radical DPPH° sont montrées dans la figure (2).

Le pourcentage d'inhibition de DPPH est proportionnel aux concentrations de la propolis et de la vitamine C. A  $10^{-4}$  mg/ml, la propolis présente une activité anti-radicalaire ( $3,80 \pm 1,36$  %) proche à celle de la vitamine C ( $4,35 \pm 2,89$  %).

A  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  mg/ml cette activité est respectivement diminuée pour la propolis ( $55,41 \pm 1,9$ ,  $12,48 \pm 0,25$  et  $6,79 \pm 0,9$ ) contre ( $75,6 \pm 5,9$ ,  $40,06 \pm 5,38$  et  $1662 \pm 3,3$ ) pour la vitamine C,

Par contre à  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  mg/ml nous avons observé une augmentation du taux d'inhibition de DPPH par la propolis ( $2,5 \pm 0,6$  et  $1,89 \pm 0,09$  %) par rapport à celle de la vitamine C ( $0,91 \pm 0,3$  et  $0,48 \pm 0,07$  % respectivement).



**Figure 2:** Variations de l'effet anti-radicalaire de la propolis et de la vitamine C à différentes concentrations vis-à-vis du radical DPPH°.

L'étude phytochimique montre que la propolis est riche en polyphénol et en flavonoïdes, ce résultat est en accord avec ceux de Kebsa et al (2006) qui ont indiquée que la propolis (de la région de Kaous) est majoritairement composée de polyphénols. Ces teneurs diffèrent d'un échantillon de propolis à l'autre, dépendant essentiellement de l'origine de la propolis, la saison de la récolte, la localisation géographique et les conditions de sa conservation. Les résultats d'inhibition du DPPH° sont similaires à ceux obtenus par Alyane et al (2008).

Le pourcentage d'inhibition de DPPH° de la propolis et de la vitamine C sont très proches, cela indique une forte activité antiradicalaire, expliquée par la richesse de la propolis en composés phénolique et particulièrement en flavonoïdes, les composés phénolique constituent une classe d'agents antioxydant antiradicalaires, chélateurs des métaux et inhibiteurs de la production des radicaux libres (Wang *et al*, 2016).

### III.3. Effet du traitement sur quelques paramètres biochimiques

#### III.3.1. Effet du traitement sur l'activité enzymatique de LDH

D'après les résultats représentés dans le tableau (4), l'activité enzymatique de LDH est augmentée chez les rattes traitées par l'EDS de manière hautement significative ( $p < 0.01$ ) par rapport aux rattes témoins ( $0,022 \pm 0,0062$  contre  $0,012 \pm 0,0009$ ). Elle est diminuée de façon non significative ( $p > 0.05$ ) après administration de la propolis ( $0,017 \pm 0,0002$ ) par rapport aux rattes recevant l'endosulfan ( $0,022 \pm 0,0062$ ).

**Tableau 4 :** Variations de l'activité enzymatique de LDH par rapport au témoin après l'administration de 4mg/Kg d'endosulfan et de 25mg/kg de la propolis pendant 15 jours.

Paramètres	lots	Lot témoin (n=4)	Lot EDS (n=4)	Lot EDS+propolis (n=4)
LDH (UI/mg de protéine)		0,0123±0,0009	0,022±0,00062**	0,017±0,0004 <sup>ns</sup>

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme qui joue un rôle principal dans le cycle glycolytique de la cellule pour la conservation de l'énergie stockée (pyruvate ou lactate), elle est très largement distribuée dans de nombreux tissus (muscles squelettiques, foie et cœur), mais seule une petite quantité de LDH est habituellement trouvée dans le sang. Cependant, quand les cellules sont abîmées ou détruites, elles libèrent leur LDH dans le torrent circulatoire sanguin. C'est pour cela qu'elle est un bon indicateur de dommage tissulaire des myopathies.

Cette enzyme est libérée par plusieurs tissus suite à des dommages oxydatifs (Lohitnavy et Sinhasan, 1998).

L'élévation de LDH chez les rattees traitées à l'EDS, peut être attribué à l'altération du tissu cardiaque par les (ERO) générés lors du métabolisme de l'EDS. Plusieurs études ont montré l'augmentation de l'activité plasmatique de LDH suite à l'exposition à différents insecticides (Fetoui *et al*, 2009 ; Saoudi *et al*, 2011).

Le prétraitement par la propolis a atténué l'effet délétère de l'EDS sur l'activité sérique de LDH, en diminuant son activité ce qui prouve l'effet préventif de la propolis, ceci ne peut être expliqué que par le fait de la propolis a assuré la protection de l'intégrité cellulaire cardiaque contre les lésions provoquées par l'EDS.

### III.3.2 Effet du traitement sur le bilan rénal

Les résultats représentés dans le tableau (5) montrent que l'administration de l'EDS induit chez les rattees en comparaison aux témoins une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) du taux d'urée ( $0,42 \pm 0,03$  contre  $0,38 \pm 0,003$ g/l), du taux de créatinine ( $11,27 \pm 0,39$  contre  $9,15 \pm 0,29$  mg/l), et une augmentation hautement significative ( $p < 0.01$ ) du taux d'acide urique ( $41,20 \pm 1,93$  contre  $20,09 \pm 5,15$  mg/l).

Par ailleurs seul l'urée, l'acide urique sont diminués significativement ( $p < 0.05$ ) chez les rattees traitées par l'EDS en association avec la propolis par rapport aux rattees traitées seulement par l'EDS.

**Tableau 5:** Variations des concentrations sériques de l'urée, créatinine et acide urique par rapport au témoin, après l'administration de 4mg/Kg d'endosulfan et de 25mg/kg de la propolis pendant 15 jours.

Paramètres	lots	Lot témoin (n=4)	Lot EDS (n=4)	Lot EDS+propolis (n=4)
Urée (g/l)		0,38 ± 0,003	0,42 ± 0,03*	0,37 ± 0,02 <sup>a</sup>
Créatinine (mg/l)		9,15 ± 0,29	11,27 ± 0,39*	10,16 ± 0,43
Acide urique (mg/l)		20,09 ± 5,15	41,20 ± 1,93**	30,65 ± 4,43 <sup>a</sup>

Le rein est un organe particulièrement sensible à l'action des toxiques, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques.

Les variations des concentrations des paramètres sériques sont utilisées comme marqueurs de diagnostic des lésions rénales; leurs augmentations ou leurs diminutions reflètent un dysfonctionnement rénal.

La créatinine sérique est un déchet métabolique azoté, produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire. On considère que la filtration glomérulaire est le mécanisme essentiel de l'élimination de la créatinine (Mamczaret al, 2005).

L'augmentation significative de la concentration de la créatinine dans le sérum des rats traités par l'EDS dans notre étude pourrait avoir résulté de son excrétion diminuée qui, alternativement, est liée à l'insuffisance rénale. La concentration de la créatinine dans le sang est connue pour se corrélérer inversement avec le volume de filtration glomérulaire (Uboh et al, 2012).

En outre, la concentration accrue d'urée sérique chez les rats traités par l'EDS impliquent que la fonction rénale est altérée. Les niveaux élevés d'urée dans le sang peuvent résulter d'une diminution du taux de sécrétion dans les urines, qui peut résulter probablement d'une insuffisance rénale, l'une des causes les plus fréquentes de l'augmentation de l'urée sans rapport avec une altération rénale est une augmentation du catabolisme protéique (Maurey, 2005; Hernandez-Serrato et Teresa, 2009).

Il est aussi probable que l'EDS empêche l'incorporation des acides aminés dans les protéines causant une augmentation du catabolisme des protéines et des niveaux de l'urée et de la créatinine qui sont les métabolites principaux du métabolisme des protéines (Garoui et al, 2011; Salem, 2011).

Une association entre l'hyperuricémie et les dommages rénaux suite à l'exposition des souris aux pesticides a été rapporté par El-Demerdash et al (2013).

L'acide urique sérique est augmenté alors qu'il est diminué dans les urines chez les rattes traitées par l'EDS; en tant qu'un produit final de dégradation des purines libres (l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine) qui proviennent elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques. L'acide urique sert de biomarqueur car son augmentation, même faible, peut être associée au développement de divers effets pathologiques, tels que l'hypertension artérielle, le diabète sucré, des maladies cardiovasculaires ou encore de maladies rénales (Emond et Krzkwowski, 2012).

Modanet al (1987) expliquent cette élévation soit par la production accélérée de l'acide urique, soit par la diminution de sa sécrétion.

Et comme l'acide urique est l'un des plus importants antioxydants, il est capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres. L'excès ou le taux élevé de l'acide urique circulant, peut être un indicateur de défense de l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres (Madero *et al*, 2009).

La dose de 25mg/Kg a permis de protéger les rattes contre la néphrotoxicité induite par l'EDS, encore mieux, elle a même permis de diminuer le taux plasmatique de l'urée et l'acide urique, ces résultats sont en accord avec ceux de Lahouel et al(2010).

Ulusoy et al(2016) ont démontré que la propolis restaure la fonction rénale en améliorant la morphologie du rein altéré par le methotrexate (médicament utilisé en chimiothérapie).

### **III.4. Effet du traitement sur le stress oxydatif tissulaire cardiaque et rénal**

#### **III.4.1. Effet du traitement sur le taux de MDA**

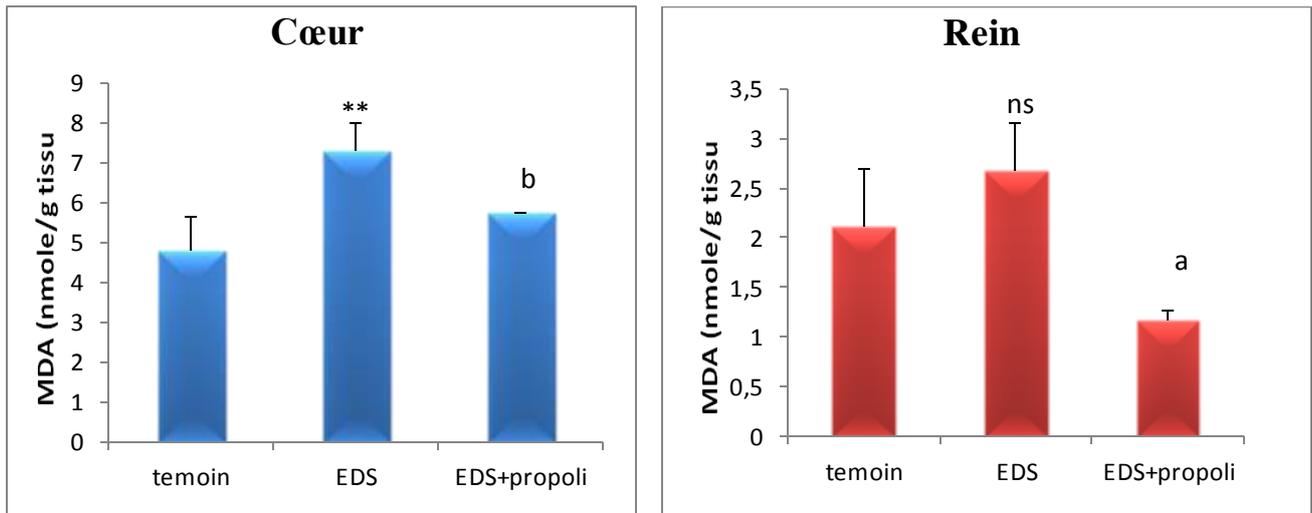
La variation de la concentrations de MDA cytosolique cardiaque et rénal, après l'administration de de 4mg/kg de l'EDS et 25mg/kg de la propolis par rapport au groupe témoin sont représentés dans la figure (2).

Dans le coeur, nous constatons une élévation hautement significative ( $p < 0,01$ ) du taux de MDA chez les rattes traitées par l'EDS ( $7,273 \pm 0,359$  nmol/g de tissu) par rapport aux taux des rattes temoins ( $4,793 \pm 0,432$  nmol/g de tissu).

Une décroissance hautement significative ( $p < 0,01$ ) du MDA cardiaque a été observé chez les rattes prétraitées par la propolis par rapport à celle des rattes traitées seulement par l'EDS.

pour le MDA rénal, l'élévation est non significative ( $p > 0,05$ ) chez le groupe traitées par l'EDS ( $2,265 \pm 0,194$  nmol/g de tissu) par rapport aux rattes témoins ( $2,113 \pm 0,338$  nmol/g de tissu).

En revanche la propolis entraîne une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du MDA chez le groupe recevant la propolis ( $1,169 \pm 0,042$  nmol/g de tissu) par rapport aux rattes traitées par l'EDS seul.



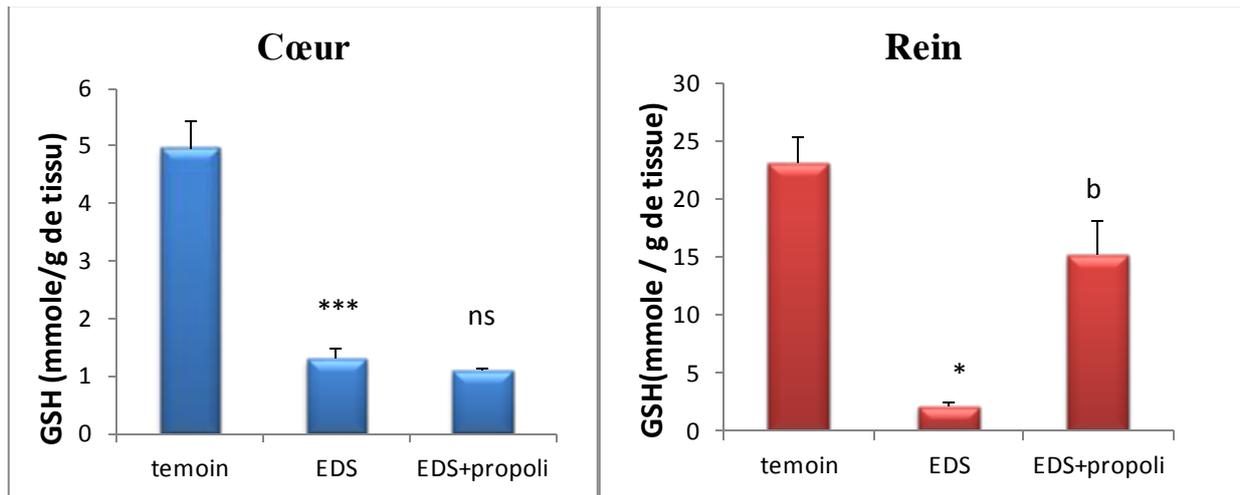
**Figure (2) :** Variations du taux de MDA cytosolique (nmole/g de tissu) cardiaque et rénal des ratte des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.

#### III.4.2. Effet du traitement sur le GSH

Les résultats de la Variation des concentrations de GSH cytosolique cardiaque et rénal, après l'administration de 25mg/kg de la propolis et de 4mg/kg de l'EDS par rapport au groupe témoin sont illustrés dans la figure (3).

Une diminution très hautement significative ( $P < 0,001$ ) des taux de GSH cardiaque et enregistré chez les ratte traitées par l'EDS seul par rapport à ceux observés chez le groupe témoin ( $1,286 \pm 0,183$  contre  $4,954 \pm 0,234$ /g de protéine). Alors que le taux de GSH varie de façon non significative ( $P > 0,05$ ) chez les ratte traitées par la propolis ( $1,083 \pm 0,017$  mM/g de protéine) par rapport aux ratte traitées par l'EDS.

Dans le tissu rénal, les résultats ont montré une décroissance significative ( $p < 0,05$ ) de la concentration de GSH chez le lot recevant l'EDS par comparaison avec le lot témoin ( $2,07 \pm 0,21$  contre  $23,13 \pm 1,14$ /g de protéine). Alors que le GSH croît de façon hautement significative ( $P < 0,01$ ) chez les ratte prétraités par la propolis ( $15,20 \pm 1,46$  mM/g de protéine) par rapport à celle recevant l'EDS.



**Figure 3 :** Variations du taux de GSH cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des ratte des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.

### III.4.3 Effet du traitement sur les enzymes antioxydantes (CAT,SOD,GST)

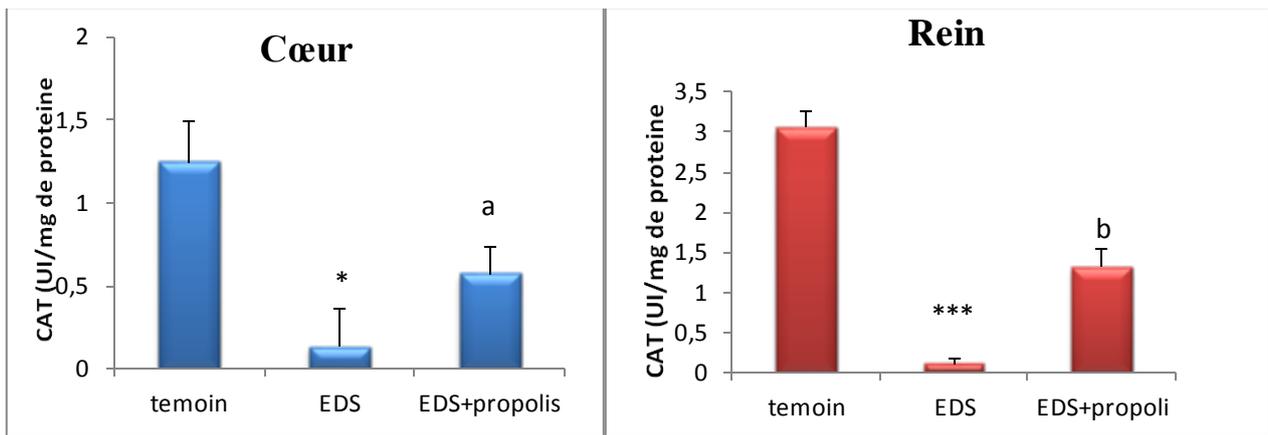
#### III.4.3.1. Sur l'activité enzymatique de la CAT

La figure (4) montre l'effet de la propolis sur l'activité de CAT au niveau de cœur et des reins après l'administration de 25mg/kg de la propolis et de 4mg/kg de l'endosulfan par rapport au groupe témoin.

Nos résultats montrent une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de l'activité enzymatique de la catalase cardiaque chez les ratte traitées par l'endosulfan ( $0,133 \pm 0,025$  UI/mg de protéines) par rapport aux ratte témoins ( $1,244 \pm 0,402$  UI/mg de protéines),

Par contre, nous constatons que l'administration de la propolis a augmentée significativement ( $p < 0,05$ ) la CAT ( $0,572 \pm 0,176$  UI/mg de protéines).

Au niveau rénal, nous signalons une chute très hautement significative ( $p < 0,001$ ) de la CAT dans le groupe EDS ( $0,115 \pm 0,028$  UI/mg de protéines) par rapport au témoin ( $3,050 \pm 0,427$  UI/mg de protéines), le prétraitement par la propolis montre une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) ( $1,314 \pm 0,195$  UI/mg de protéines) de la CAT en comparaison avec le traitement par l'EDS seul.



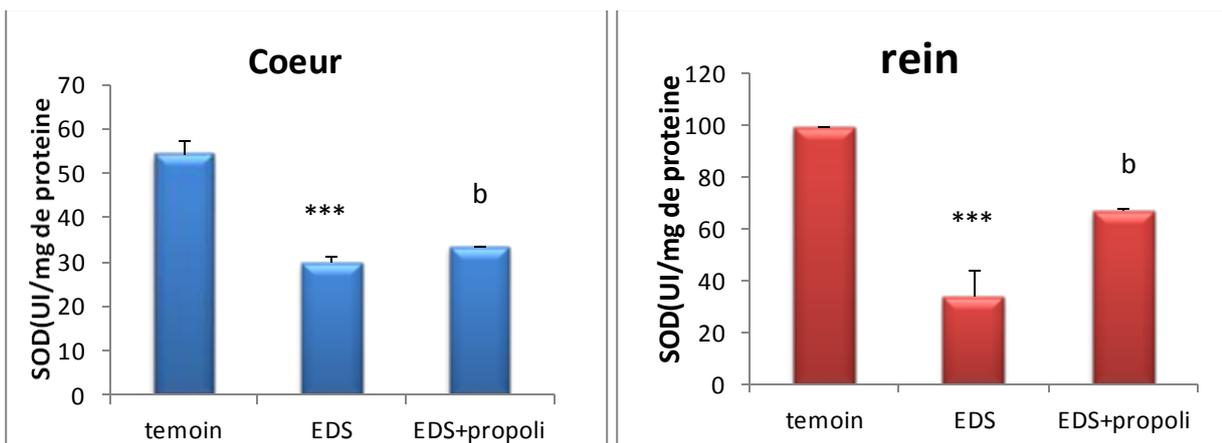
**Figure 4 :** Variations de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des ratte des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.

### III.4.3.2. Sur l'activité de la SOD

La figure (5) représente l'effet de l'administration de l'endosulfan (4 mg/kg) et de la propolis (25 mg/kg) sur l'activité de la SOD cardiaque et rénal en comparaison avec le groupe témoin.

Le traitement par l'EDS provoque une déplétion hautement significative ( $p < 0,001$ ) l'activité enzymatique de la SOD cardiaque ( $29,74 \pm 0,68$  UI/mg de protéines) et rénal ( $0,115 \pm 0,028$ ) par rapport aux témoins ( $54,24 \pm 1,53$  UI/mg de protéines).

La propolis a augmenté la SOD cardiaque et rénal de manière hautement significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux ratte traitées par l'EDS.

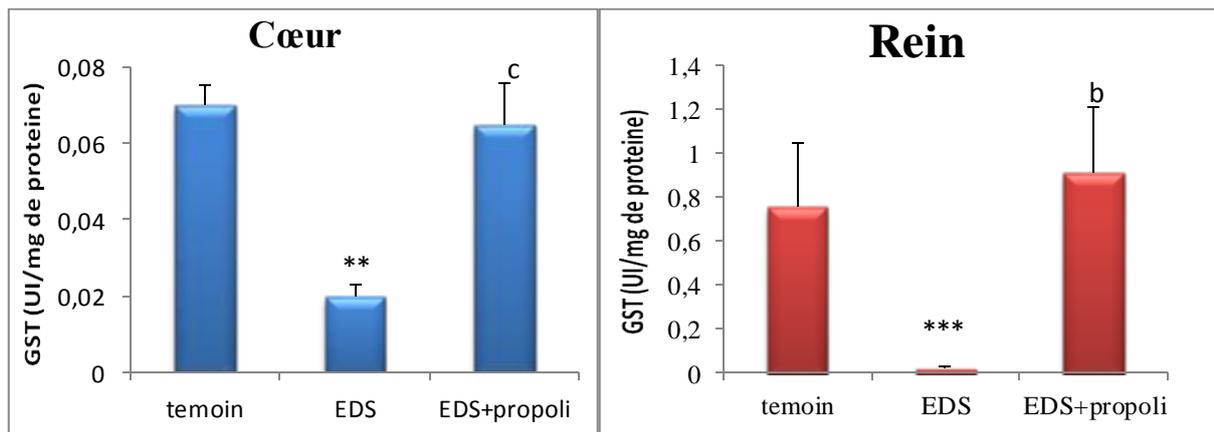


**Figure 5:** Variations de l'activité enzymatique de la SOD cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des ratte des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.

### III.4.3.3. Sur l'activité de la GST

Les résultats illustrés dans la figure(6) montrent une diminution de l'activité de la SODcardiaque et rénal de façon respectivement hautement significative ( $p<0,001$ ) et très hautement significative ( $p<0,0001$ ) chez le lot traité par l'EDS en comparaison avec le témoin.

Par ailleurs chez le lot prétraité par la propolis, l'activité de la GST est élevée dans les deux tissus, de manière hautement significative ( $p<0,001$ ) au niveau cardiaque, et très hautement significative ( $p<0,0001$ ) dans les reins.



**Figure 6 :** Variations de l'activité enzymatique de la GST cytosolique (nmole/g de tissu) du cœur et des reins des ratte des trois lots expérimentaux après 15 jours de traitement.

Les espèce réactives oxygénées (ERO) peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cible ; protéines, lipides et acide nucléiques (Cadenas et Davidies, 2000).

De nombreuse études menées sur de animaux de laboratoire ont mis en évidence le rôle du stress oxydant dans la toxicité des divers pesticide, y compris de l'EDS, ce dernier induit le stress oxydatif dans les différents organes par production accrue des ERO ( Kurutas *et al*, 2006 ; jalil *et al*, 2007 ; El-shenawy *et al*, 2010 ; Singh *et al*, 2016 ).

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Hulbertl, 2005 ; Pamplona *et al.*, 2000). L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong *et al*, 2004). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Marnett, 1999). Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA), comme un produit final de LPO, ce dernier est

mesuré pour indiquer la génération des ERO et des dommages induit par LPO tissulaire dans la toxicité des pesticide (Marklund et Marklund, 1974).

Dans la présence étude, l'exposition des rattes à l'EDS avec une dose de 4mg/Kg pendant 15jour a eu comme conséquence une augmentation de LPO, indiquée par l'augmentation du taux de MDA, ces résultats sont en accord avec d'autres chercheurs (Caglar et *al*, 2003 ; Kalender et *al*, 2004). l'augmentation de MDA peut être expliquée par des dommage oxydatifs au niveau des membranes résultant de la production des ERO (Eun et *al*, 2015).

Le système redox de GSH semble être le principal antioxydant non enzymatique contre les dommages médiats des ERO. Il joue un rôle important dans la désintoxication par la formation de métabolites réactifs conjugués (interaction directe du groupe -SH de GSH avec les ROS) et protège les membranes cellulaires contre l'oxydation (Tarasubet *al*, 2012; Dhaneshaet *al*, 2015).

Pratiquement toutes les cellules contiennent du glutathion, il est considéré comme le principal antioxydant cellulaire parce qu'il complète l'action d'un grand nombre d'autre antioxydants comme celle des vitamines C et E.

La teneur rénal et cardiaque en GSH chez les rattes traité par l'EDS est éffondrée comparée au témoin. Ces résultat sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Li et *al*, 2010 ; EL-Demerdash et *al*, 2012 ; Jalili et *al*, 2007).

Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites *in vivo* pourrait être la voie majeur de leur détoxification (EL-Demerdash et *al*, 2012). On suppose donc que le glutathion a été consommé dans le processus de piégeage des (ERO) limitant les dommages oxydatifs induits par l'insecticide.

La SOD, la CAT et GST forment mutuellement une équipe d'enzymes antioxydants de soutien et de défense contre les ERO (Soudani et *al*, 2010).

La décroissance de l'activité des enzymes anti-oxydantes (CAT, SOD et GST) dans notre étude pourrait indiquer une détoxification insuffisante de l'EDS, nos résultats rejoignent ceux de Andrascikova et al (2011).

La diminution de l'activité enzymatique de la catalase pourrait s'expliquer par une réduction de la capacité des mitochondries d'éliminer le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit (Lalaouni et *al*, 2007) due à sa consommation et son utilisation dans la conversion du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O afin de contrecarrer le stress oxydant induit par l'EDS (Garg et *al*, 2009).

Les données obtenus dans ce travail montrent que la propolis a induit une diminution de la peroxydation lipidique attribuée à la présence des polyphénols et surtout des flavonoïdes qui sont considérés comme des antioxydants puissants. L'effet protecteur des flavonoïdes peut être dû à leur

capacité à réagir avec les radicaux peroxyde des acides gras polyinsaturés, inhibant ainsi la peroxydation lipidique (Wang *et al*, 2016).

Les activités enzymatiques de GST,SOD,CAT et de GSH se trouvent favorablement augmentées en présence de propolis, qui probablement favorise l'induction de leur synthèse et/ou leur régénération (Benguedour *et al*, 2008 ; Kebsa *et al*, 2014).

A notre connaissance, l'effet protecteur de la propolis dans la toxicité induite par l'EDS chez le rat wister n'a pas été abordé en littérature, L'impact de la toxicité d'EDS sur la santé publique a été largement documenté .IL existe une évidence considérable à partir des études in vivo, que L'EDS induite une toxicité et une altération de la balance oxydante / antioxydant.

Nos résultats montrent d'un parte que L'EDS a provoqué chez les rattes :

- ✓ Un trouble du bilan rénal, traduit par la variation des paramètres rénaux, ce qui témoigne une altération des reins.
- ✓ Bien qu'elle ne soit spécifique au cœur, la diminution de la LDH peut refléter une myopathie.
- ✓ Une perturbation du paramètre pro oxydants, en faveur de la génération du stress oxydatif, témoignant donc un dommage tissulaire du cœur et des reins.

Le prétraitement par la propolis supplémentation a provoqué :

- ✓ Une correction des taux plasmatiques des paramètres biochimiques.
- ✓ Une baisse de la peroxydation lipidique et une protection contre les lésions des membranes cellulaires. Une amélioration de la statue enzymatique telle que la CAT et GST et non enzymatique telle que la GSH.

Ainsi, la propolis a limité les perturbations provoquées par L'EDS. Elle semble avoir un effet protecteur, par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydants grâce à sa richesse en composé phénolique en particulier les flavonoïdes. Mais le mécanisme par lequel le renforcent les activités anti – oxydantes n'est pas encore bien élucidé.

Des études sont nécessaires pour mieux connaître le mécanisme protecteur de la propolis.

## Références bibliographiques

### A

---

**Agrawal A**, Sharma B. pesticides induced oxidative stress in mammalian systems .Int J biol Med Res, 2010 ;1(3):90-104.

**Alvarado-Hernandez DL, Montero-Montoya R, Serrano-Garcia L.** Assessment of exposure to organochlorine pesticides and levels of DNA damage in mother-infant pairs of an agrarian community. Environ Mol Mutagen, 2013; 54 (2): 99-111.

**Amizadeh M, Askari SG.** Effects of endosulfan on human health. WMC toxicol, 2011; 2 (12): WMC002617.

**Amoros M , Sauvager F., Girre L et Cormier M.** In vitro antiviral activity of propolis .Apidologie.1992 ; 23:231-240.

**Andrascikova M, Hrouzkova S, Cunha S C.** Combination of QUECHERS and DLLME for GC-MS determination of pesticide residues in orange samples. *Food AdditContam.* 2013; 30(2):286-297.

**Ancerewiez J, Migliavacca E, Carrupt PA, testez B, Bree F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet -Monges AM, Crevat A, Ridant A.** Structure-property relationship of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidant. *Free Radical Bio Med*,1998; 25: 1582-1588

### B

---

**Bankova VS , De Castro SL , et Marcucci MC.** “Propolis: recent advances in chemistry and plant origin,” *Apidologie.* 2000; 31(1),3–15.378.

**Banskota A , Tezuka Y , Adnyana I , Ishii E , Midorikawa K , Matsushige1 K et Kadota S.**”Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis”, *Phytomedicine.* 2001 ; 8(1); 16–23.

**Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye bindin. *Anal Biochem*, 1976; 72: 248-254.

**Benguedouar L, bousenane H, Kebsa W, Alyane M, Rouibah H et LahouelM** Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin et vinblastin) in rat. Indian journal of Experimentalbiology. 2008; 12(19) : 112-119.

**Bouhafs L, Moudilou E.N, Exbrayat J.M., Lahouel M, and Tayeb Idoui.** Protective effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* BJ0021 on liver and kidney oxidative stress and apoptosis induced by endosulfan in pregnant rats. *Taylor & Francis* , **2015,1(9):1525-6049.**

**Benguedouar L, Lahouel M, Gangloff SC, Durlach A, Grange F, Bernard P et Antonicelli F.** Ethanolic extract of Algerian Propolis and galangin decreased murine melanoma tumor progression. *Anticancer Agents Med Chem.* 2016

**Borrellia F, Maffia P, Pintoa L, Ianaroa A, Russob A, Capasso F & Ialenta A.** Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract Propolis. *Chemical and Pharmacological Aspects Naples, Italy.* 2002 ; 3(1):53–63.

**Bankova V.** Recent trends and important developments in propolis research. *Evid.-Based Complement Altern Med ECAM*, 2005; 2: 29–32.

## Г

---

**Cardinault N, Cayeux M-O, Percie P .** La propolis: origine , composition et propriétés. *Phytothérapie.* 2012;10:298-304.

**Casabar RC, Wallace AD, Hodgson E.** Metabolism of endosulfan-alpha by human liver microsomes and its utility as a simultaneous in vitro probe for CYP<sub>2B6</sub> and CYP<sub>3A4</sub>. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34(10): 1779-1785.

**Çomelekoglu U, Mazmanci B, Arpace A.** Erythrocyte superoxide dismutase and catalase activity in agriculture workers who have been chronically exposed to pesticides. *Turkish J Biol.* 2000 ; 24:483-488.

## £

---

**El housseini N.** Intert Et Application Clinique De La Propolis En Médecine Bucco-Dentaire. 2013 ; Thèse de Doctorat En Chirurgie Dentaire. L'université De Nantes.

**El-Shenawy N S.** Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro.* 2010; 24(4):1148-1157.

## F

---

**FAO and WHO.** Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 2002. London, Ontario, Canada

**Fischer G et al .** Adjuvant effect of green propolis on humoral immune response of bovines immunized with bovine herpesvirus type 5'', *Vet. Immunol. Immunopathol .* **2007** ; 6 pages.

**Fetoui H, Garoui E.M, Zeghal N.** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid.*Experimental and Toxicologic Pathology.* 2009; (6): 189-196.

## G

---

**Ghedira K, Goetz P, Le Jeune R.** Propolis. *Phytothérapie.*2009 ,**7**: 100-105.

**Garg DP, Bansal AK, Malhotra A, Kiran R, Dhawan DK.** Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesti Biochem Physiol,* 2009; 93 (3): 127-132.

## H

---

**Hayes J ,** Hayes's Handbook of pesticide toxicology. *3thEd, Elsevier Inc.*2010; 805-808.

**Hernandez AF, Lacasana M, Gil F, Rodriguez-Barranco M, Pla A, Lopez-Guarnido O.** Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective. *Toxicol,* 2013; 307: 95-102.

**Hasan Basri Ulusoy , Ismet Oztürk and Mehmet Fatih Sönmez.** Protective effect of propolis on methotrexate-induced kidney injury in the rat.*RENAL FAILURE,* 2016; ( 5): 744–750.

**Hudaverdi k , Onder S, Yucel Y , Yusuf Y.** Fatal acute endosulfan toxicity : A case reporte. *Basic clin Pharmacol toxicol .* 2008 ; 104; 49 – 51.

## I

---

**Iuliana Chis B, Lucia O et Camelia T ,** The propolis extract protective role on red blood cells antioxidant enzymes in cadmium intoxicated rats. *Lucrari stiintific medicina veterinara.*2007; 12(3) : 314-318.



**Jalili SH , Ilkhanipour M , Heydari R, Farshid AA, Saleh S.** The effects of vitamin E on endosulfan-induced oxidative stress in rat heart. *Pakistan J Nutr.* 2007; 6(4):375–380.

**Joleen L M , Anne Karine M , A,Mayara ., Cristina P.** Aramys S & doss R. Propolis: Anti-Inflammatory Property by an Immunomodulatory Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* .2012 ;1576(52):1-10.

**José M et Sforcin JM.** Biological properties and therapeutique Application of Prolis. *Phytotherapy recherche.* 2016; 30 : 894-905.



**Kalender Y, Kalender S, Uzunhisarcikli M, Ogutcu A, Açikgoz F, Durak D.** Effects of endosulfan on B cells of Langerhans islets in rat pancreas. *Toxicology.* 2004; 200: 205–211

**Karatas AD, Aygun D, Baydin A.** Characteristics of endosulfan poisoning: a study of 23 cases. *Singapore Med J,* 2006; 47: 1030-1032.

**Kebsa W, Rouibah H, Lahouel M.** Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pak J Pharm Sci,* 2016, 27 (6) :1891-1897.



**Lahouel M, Boulkour S, Segueni N, Fillastre JP.** The flavoides effect against Vinblastine, cyclophosmaide and paracétamol toxicity by inhition of lipid-peroxidationnand increasing liver glutathion concentration. *Pathologie Biologie.* 2004 ; 52(2) : 314-322.

**Lahouel M, Booutabet K, Kebsa W, Alyan M.** Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2010; 4(10):712-720.

**Li A N, Li S, Zhang Y J, Xu X R, Chen Y M, Li H B.** Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients,*2010 ; 6: 6020-6047.

**Lohitnavy O, Sinhaseni P.** Increase in lactate dehydrogenase isoenzyme-4 and splenocyte toxicity in methomyl-treated rats.*Arh. Hig. Rada. Toksikol.*1998;(49): 231-238.

**Pesce A . Lactate dehydrogenase.**1984; *Clin Chem* The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. pp 438-117 .

*M*

---

**Moon J M, Chun B J.** Acute endosulfan poisoning: A retrospective study.*Hum Exp Toxicol.*2009; 28(5): 309-316.

**Muller- Hunting, R., Wagner, F., Blaszczyk, R., Kosaric, N.,** Biosurfactants, production, properties, application. *Kosaric N ed.*2009 ; 447- 469.

**Murray RL.** Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis. Toronto. Princeton: *The C. V. Mosby Company*; 2005a: 1088-1090

**Marklund S, Marklund G.** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, 1974; 47: 469-474.

*N*

---

**Naqvi SM ,Vaishnavi C. Mimi review:** bioaccumulation potencial and toxicity of endosulfan insecticide to non-target animals. *Comp Biochem Physiol.* 1993 ; 105 :347-361.

*O*

---

**Oliveira A P , França H S ,Kuster R M ,Teixeira L A ,Rocha L M.** Composition and antibacterial activity of brazilianpropolisessensialoil. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop.*2010 ; 16 :1.

**Ota C , Carmelinda U., Vera F., & Shimizu M.** Antifungal activity of propolis on different species of Candida. *Mycoses.*2001 ;44.:375–378.

*S*

---

**Singh P P, Ashok Kumar, Chauhan R S, Pankaj P K.** Effect of endosulfan on immunological competence of layer birds.*Veterinary World.*2016; 9(7): 777-782.

**Saoudi M, Messarah M, Boumendjel A, Jamoussi K, El Feki A.** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011;(74): 1765-1769.

## J

---

**Takhshid MA, Tavasuli AR, Heidary Y, Keshavarz M, Kargar H.** Protective effect of vitamins E and C on endosulfan-induced reproductive toxicity in male rats. *Iran J Med Sci.* 2012; 37 (3): 173-180.

## U

---

**Uboh FE , Asuquo EN, Eteng MU, Akpanyung EO.** Endosulfan induces renal toxicity independent of the route of exposure in rats. *Am J BiochemMolBiol.* 2011; 1: 359-367.

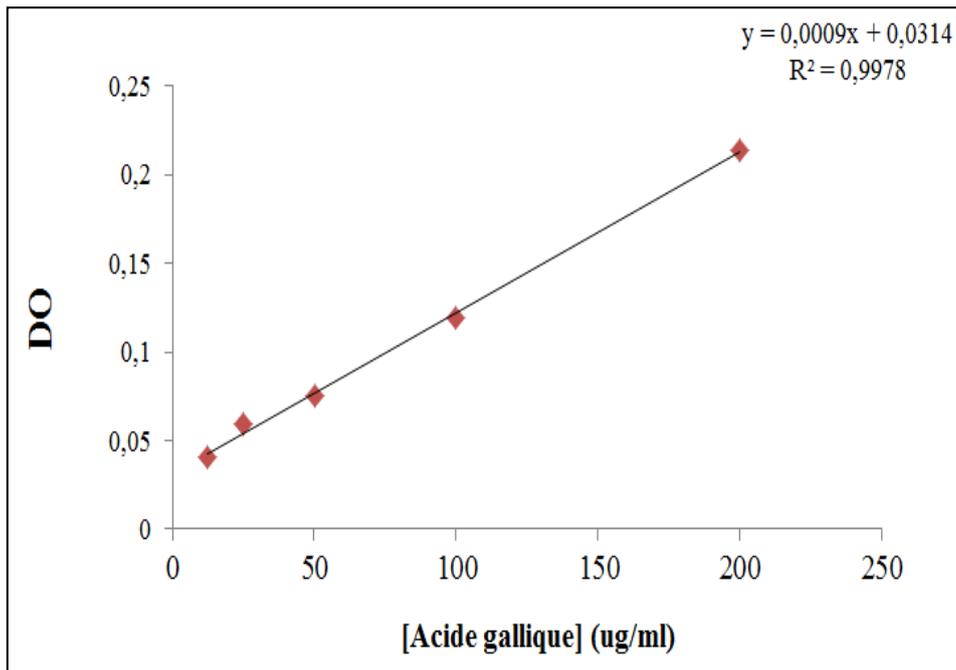
## W

---

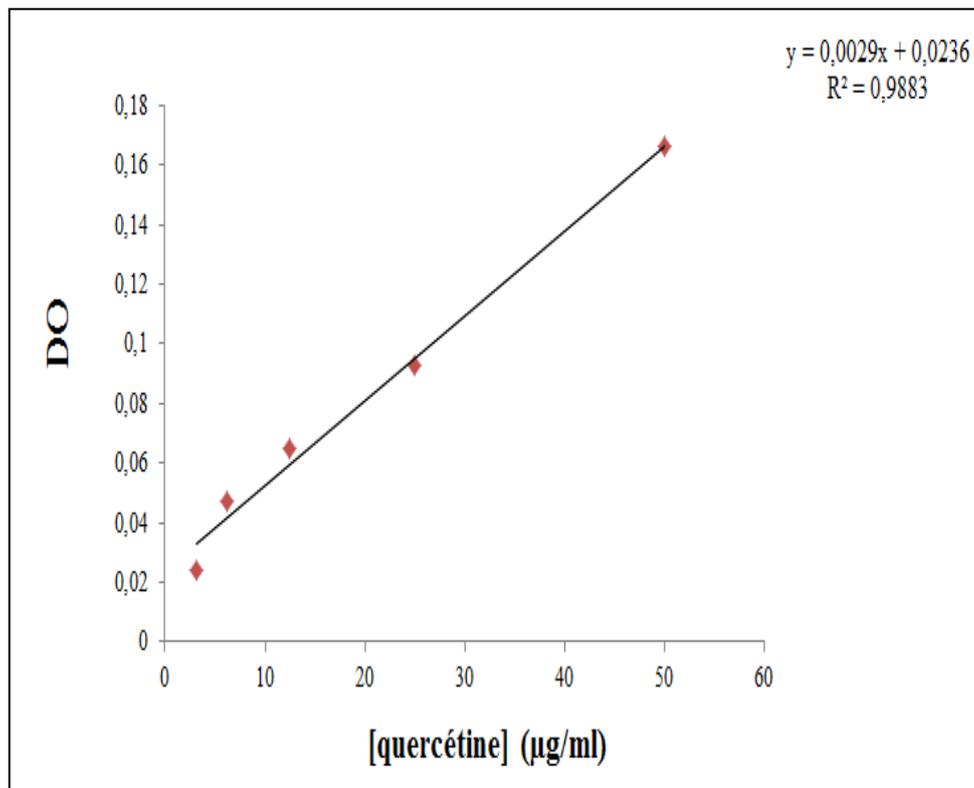
**Wang X, Sankarapandian K, Cheng Y, Woo S O, Kwon H W, Perumalsamy H, Ahn Y J.** Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2016 ;16:65.

**WHO .** World Health Organization. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard. 2005.

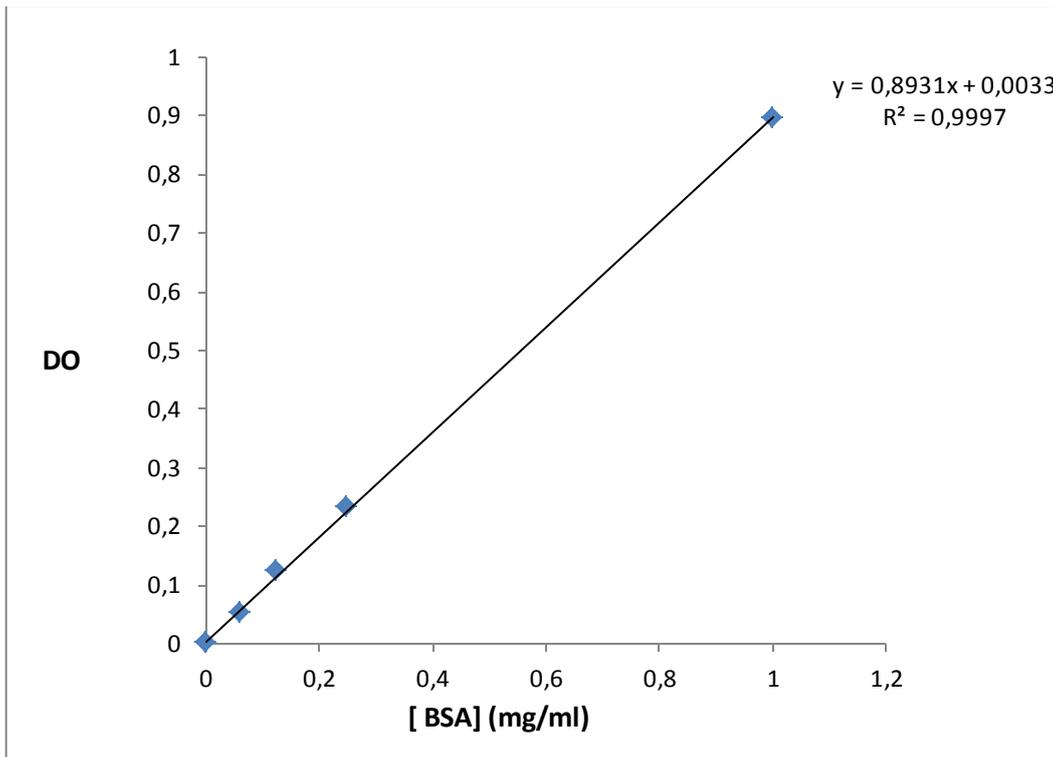
# Annexe



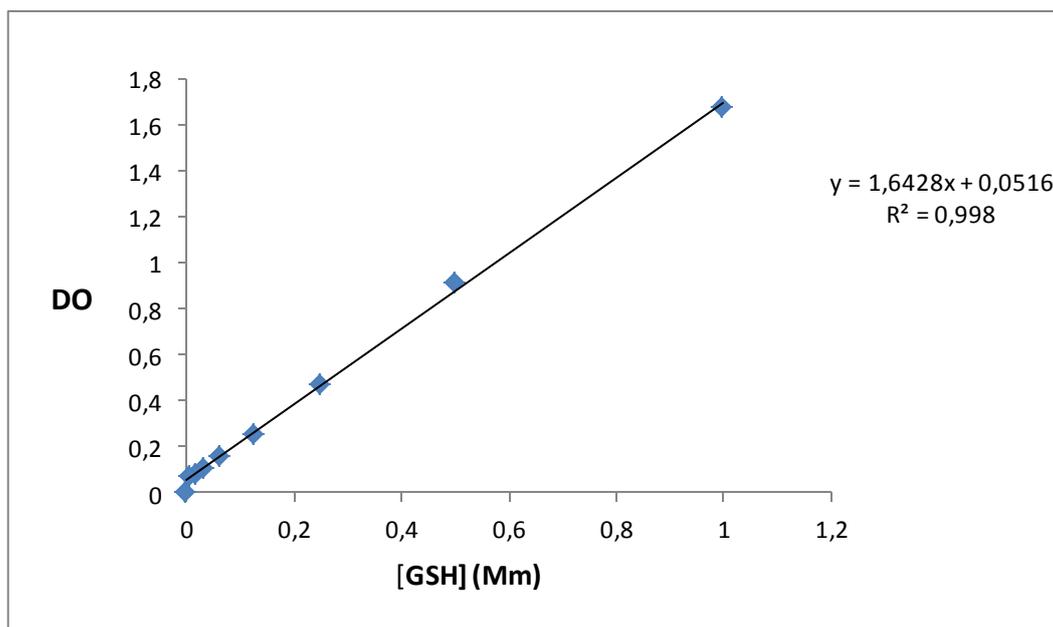
**Figure 01** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



**Figure 02** : Courbe d'étalonnage de la quercétine



**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage des protéines (BSA)



**Figure 04 :** Courbe d'étalonnage du GSH

Présenté par :	Encadrant : Dr.Bouhafis laila
-Bezzag Ibtissam	Date de soutenance : 07/07/2018
-Mehennaoui Leila	

Titre de mémoire : Impact de toxicité subaigüe d'un pesticide «L'endosulfan» sur la fonction cardiaque et rénale du rat wistar et effet protecteur de la propolis.

Nature du diplôme de master de biologie

Option : Biochimie

### Résumé

L'endosulfan (EDS) est un insecticide organochloré, capable d'induire un stress oxydatif par la génération des radicaux libres. Le but de notre travail consiste d'une part à évaluer le stress oxydatif induit par l'EDS au niveau du cœur et des reins du rat Wistar femelle et d'autre part à évaluer l'effet protecteur de la propolis Algérienne. Pour cela les rattes ont été divisées au hasard en 3 groupes: le témoin reçoit 0,5ml de l'huile de maïs, un groupe traité par l'EDS(4mg/kg) et un groupe prétraité par la propolis (25 mg/kg), 15minutes après traité par l'EDS avec la même dose ; le traitement s'effectue par gavage pendant 15 jours. Le pourcentage de DPPH de la propolis et de la vitamine C sont très proche, cela indique une forte activité anti radicalaire, expliquée par la richesse de la propolis en flavonoïdes.

En effet chez le lot traité par l'EDS en comparaison au lot témoin ; l'activité enzymatique (**LDH**) est augmentée, le bilan rénal (urée, créatinine et Acide urique) est perturbé. Le niveau de la peroxydation lipidique (**MDA**) est élevé; la catalase (**CAT**), la glutathion S-transférase (**GST**), la superoxydedismutase(**SOD**) et le glutathion (**GSH**) sont réduits. En outre le prétraitement par la propolis améliore favorablement ces mêmes paramètres.

Nos résultats suggèrent que l'administration de l'EDS induit un stress oxydatif au niveau cardiaque et rénal et que la propolis possède des effets préventifs contre ce stress oxydatif.

**Mots clés :** endosulfan, stress oxydatif, propolis, cardiotoxicité, néphrotoxicité

### Abstract

Endosulfan (EDS) is an organochlorine insecticide, capable of inducing oxidative stress through the generation of free radicals. The purpose of our work is to evaluate the oxidative stress induced by EDS in the heart and kidneys of female Wistar rats and to evaluate the protective effect of Algerian propolis. For this, the rats were divided at random into 3 groups: the control receives 0.5ml of corn oil, a group treated with EDS (4mg / kg) and a group pretreated with propolis (25mg / kg) 15 minutes later treated with EDS with the same dose; the treatment is done by gavage for 15 days .The DPPH percentage of propolis and vitamin C are very close, this indicates a strong anti-radical activity, explained by the richness of propolis in flavonoids..

Indeed, in the batch treated with EDS compared to the control group; enzymatic activities (LDH) are increased, as well as the level of lipid peroxidation (MDA); catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) are reduced. In addition pretreatment with propolis improves favorably these same parameters.

Our results suggest that the administration of EDS induces oxidative stress at the cardiac and renal level and that propolis has preventive effects against this oxidative stress.

Key words: : endosulfan, oxidative stress, propolis, cardiotoxicity, nephrotoxicity

### ملخص

لإندوسولفان (EDS) هو مبيد حشري كلوري عضوي ، قادر على تحفيز الإجهاد التأكسدي من خلال توليد الجذور الحرة. الغرض من عملنا هو تقييم الإجهاد التأكسدي الناتج عن EDS في القلب والكليتين من فئران Wistar الإناث وتقييم التأثير الوقائي للدنج الجزائري. لهذا ، تم اختيارهم بصورة عشوائية في 3 مجموعات من الجرذان: الشاهد يتلقى 0.5 مل من زيت الذرة ، ومجموعة تعامل بالاندوسيلفان (EDS) (4 مغ/كغ) والمجموعة الأخرى تعالج بالدنج(25مغ/كغ) 15 دقيقة بعد المعالجة بـ EDS بنفس الجرعة ؛ يتم العلاج عن طريق الأنبوب لمدة 15 يوما. نسبة DPPH من دنج والفيتامين C قريبة جدا ، وهذا يشير إلى نشاط قوي لمكافحة الراديكالية ، ويتضح ذلك في ثراء الدنج بالفلافونويدات.

أثناء الدفعة المعالجة بـ EDS مقارنة بالمجموعة الشاهدة: زيادة النشاط الانزيمي لـ : (LDH) ، وكذلك مستوى بيروكسيد الدهون (MDA) ؛ انخفاض الكاتالاز (CAT) ، الجلوتاثيون S-ترانسفيراز (GST) ، سوبر أكسيد ديسمناز (SOD) و الجلوتاثيون (GSH). كما أن المعالجة المسبقة بالدنج تحسن بشكل إيجابي هذه المعايير نفسها. نتائجا تشير إلى أن إدارة EDS يدفع الإجهاد التأكسدي على مستوى القلب والكلى وأن الدنج له آثار وقائية ضد هذا الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية : الإندوسولفان ، الإجهاد التأكسدي ، دنج ، تسهم القلب ، تسهم كلوي