



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Pharmaco-Toxicologie

Par
BENKASMIA Imane
&
CHERGUA Zohra

Thème :

**Activité neuroprotectrice de la propolis sur la maladie
d'Alzheimer « étude *in vivo* »**

Soutenue le 26/06/2023 devant le jury composé de :

Président	Douichene Salima	MCA	Université de Mostaganem
Encadreur	Djebli Nouredine	Professeur	Université de Mostaganem
Examinatrice	Grar Hadria	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage afin d'accomplir ce modeste travail

*Nous remercions vivement, Monsieur le Professeur **Djebli Noureddine** pour avoir accepté de nous encadrer aussi pour l'effort fourni, ses précieux conseils et ses orientations tout au long ce travail. Merci de nous avoir fait bénéficier de votre grande compétence. On vous est sincèrement reconnaissante pour tous vos encouragements, espérant qu'on été à la hauteur de votre attente.*

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer ce travail.

*On tiens le remerciement à Madame **Bendiab Hadjer** une femme avec des qualités intellectuelles et humaines, pour son aide et son soutien.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à Melle **Mostefa Nadjet** pour son soutien, sa patience et sa motivation au cours de la réalisation de ce mémoire.*

Le tout remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail au premier lieu aux mes parents pour leur douaa et soutien tout au long de mon cursus universitaire et bien évidemment durant ce mémoire

À ma mère

Qui me donne toujours l'espoir et qui n'a jamais cessé de prier pour moi, voici enfin les prémices de tes efforts, tes peines et de tes sacrifices, ce travail est le fruit de tes conseils, et de tes prières.

À mon père

Qui a consacré toute son énergie et son temps pour faire de moi une fille vertueuse, son encouragement m'a permis de ne pas faillir. Qu'il retrouve, dans ce modeste travail l'expression de ma reconnaissance. Merci Doudi d'être le meilleur pour moi.

À tous mes frères et sœurs

A mes neveux et mes nièces

Ahmed Abd el Raouf, Mohamed Seifeddine, Habib Abd elfateh, Rayhane Tafaoul et Bouchra Meriem

À mon cher binôme Benkasmia Imane

A mes chères copines

Amani, Nadjat et Radjaa

Melle Cherguia Zohra

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mes parents, qui sont toujours près de moi pour m'encourager, me fournir tout le nécessaire pour réaliser ce travail et aussi pour me soutenir durant mon parcours.

A mon cher papa, vous êtes mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous.

A ma chère mère, ma source d'amour qui n'a jamais cessé de me supporter

A Affaf, ma deuxième mère. Merci d'être toujours à mes côtés

A mes frères et sœurs

Yacine, Abdelkarim, Ahlem et Douaa

A mon cher oncle

Mr Abdelkader

A mes chères tantes

Aicha et Soria

A mes chères copines

Nadjet, Amani, Hamidia et Radjaa

A mon cher binôme

Cherguia Zohra

Benkasmia Imane

Résumé

La maladie d'Alzheimer est une pathologie neurodégénérative irréversible qui provoque une altération progressive et définitive des cellules nerveuses, caractérisée par un déclin progressif des fonctions cognitives. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité neuroprotectrice de la propolis sur la maladie d'Alzheimer chez des souris femelles de souche NMRI.

Pour la réalisation de cette étude les souris ont été réparties en cinq groupes comme suit T, Alz, Alz-TrD1, Alz-TrD2 et STD. Le protocole expérimental est réparti en deux phases; La première représente le traitement préventif qui consiste à l'administration de la solution aqueuse de la propolis à base d'eau 6,67% à des concentrations de 150 et 300mg/ml par voie intragastrique pendant 45 jours. La seconde repose sur l'induction de la maladie d'Alzheimer par administration orale du chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100mg/kg et D-galactose à 120mg/kg par voie intrapéritonéale durant les 45 jours suivants. La démonstration de l'efficacité du produit apicole choisi est basée sur des tests neurologiques (comportement et mémoire) et l'étude histologique du tissu cérébral, hépatique et rénale. Les résultats des tests de mémoire obtenus démontrent une amélioration de la capacité d'apprentissage et de mémorisation chez les souris Alzheimer traitées par la solution aqueuse de la propolis à 300mg/kg (Alz-TrD2) comparativement aux souris modèle Alzheimer (Alz). Concernant les tests de comportement les résultats ont indiqué un état d'anxiété plus faible et moins intense chez les souris traitées par la solution aqueuse de la propolis à 150mg/kg (Alz-TrD1) et 300mg/kg (Alz-TrD2) que chez les souris modèle Alzheimer (Alz). Ce qui concerne l'étude histologique les résultats ont démontré une amélioration tissulaire importante remarquable chez les souris Alzheimer traitées par la solution aqueuse de la propolis à 300mg/kg (Alz-TrD2) par rapport aux souris modèle alzheimer (Alz). Finalement, d'après ce qu'on a trouvé comme des résultats nous pouvons conclure que la solution aqueuse de la propolis pourrait probablement être une nouvelle source de molécules bioactives dans la neuroprotection de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés: maladie d'Alzheimer, propolis, neuroprotection, tests neurologiques, souris.

Abstract

Alzheimer's disease is an irreversible neurodegenerative pathology that causes a progressive and definitive alteration of nerve cells, characterized by a progressive decline in cognitive functions. The objective of this study was to evaluate the neuroprotective activity of propolis on Alzheimer's disease in female NMRI mice.

For this study, mice were divided into five groups as follows: T, Alz, Alz-TrD1, Alz-TrD2 and STD. The experimental protocol is divided into two phases; the first one represent the preventive treatment which consist in the administration of a 6.67% water-based aqueous solution of propolis at concentrations of 150 and 300mg/ml by intragastric route for 45 days. The second phase is based on the induction of Alzheimer's disease by the oral administration of aluminum chloride (AlCl₃) at 100mg/kg and D-galactose at 120mg/kg intraperitoneally for the following 45 days. The demonstration of the efficacy of the selected beekeeping product is based on neurological tests and on the histological study of brain tissue. The results of the memory tests obtained show an improvement of the learning and memorization capacity in Alzheimer's mice treated with the aqueous solution of propolis at 300mg/kg (Alz-TrD2) compared to the Alzheimer's model mice (Alz). Concerning the behavioral tests, the results indicated a lower and less intense state of anxiety in the mice treated with the aqueous solution of propolis at 150mg/kg (Alz-TrD1) and 300mg/kg (Alz-TrD2) than in the Alzheimer model mice (Alz). The results of histological study showed a significant and remarkable improvement of the tissues in the Alzheimer mice treated with the aqueous propolis solution at 300mg/kg (Alz-TrD2) compared to the Alzheimer model mice (Alz). Finally, from what we found as results we can conclude that the aqueous solution of propolis could probably be a new source of bioactive molecules in neuroprotection of Alzheimer's disease.

Key Words: Alzheimer's Disease, propolis, neuroprotection, neurological tests, mice.

ملخص

مرض الزهايمر هو مرض تنكسي عصبي يسبب تلفًا تدريجيًا ودائمًا للخلايا العصبية، ويتميز بانخفاض تدريجي في الوظائف الإدراكية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط العكبر الوقائي للعصب في الجسم الحي لمرض الزهايمر في إناث الفئران من سلالة NMRI.

لإجراء هذه الدراسة تم تقسيم الفئران إلى خمس مجموعات على النحو التالي: T و Alz و Alz-TrD1 و Alz-TrD2 و STD. ينقسم البروتوكول التجريبي إلى مرحلتين؛ الأولى تتمثل في العلاج الوقائي الذي يتكون من إعطاء محلول مائي من العكبر بتركيزات 150 و 300 مغ / مل داخل المعدة لمدة 45 يومًا. والثانية تتمثل في إحداث مرض الزهايمر عن طريق تناول كلوريد الألمنيوم (AlCl₃) بمعدل 100 مغ / كغ مع حقن D-galactose 120 مغ / كغ داخل الصفاق خلال الـ 45 يومًا القادمة. يعتمد إثبات فعالية منتج النحل المختار على الاختبارات العصبية (السلوك والذاكرة) والدراسة النسيجية لأنسجة المخ، الكبد والكلية. تظهر نتائج اختبارات الذاكرة التي تم الحصول عليها تحسنًا في سعة التعلم والذاكرة في فئران الزهايمر التي عولجت بالمحلول المائي من العكبر عند 300 مغ / كغ (Alz-TrD2) مقارنةً بفئران نموذج الزهايمر (Alz). فيما يتعلق بالاختبارات السلوكية، أشارت النتائج إلى حالة قلق أضعف وأقل شدة في الفئران المعالجة بالمحلول المائي من العكبر عند 150 مغ / كغ (Alz-TrD1) و 300 مغ / كغ (Alz-TrD2) مقارنةً بنموذج الزهايمر (Alz). فيما يتعلق بالدراسة النسيجية، أظهرت النتائج تحسنًا ملحوظًا في الأنسجة في فئران الزهايمر التي عولجت بالمحلول المائي من العكبر عند 300 مغ / كغ (Alz-TrD2) مقارنةً بنموذج الفئران الزهايمر (Alz).

أخيرًا، من النتائج التي توصلنا إليها يمكننا أن نستنتج أن المحلول المائي للعكبر يمكن أن يكون مصدرًا جديدًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا في الوقاية العصبية لمرض الزهايمر.

الكلمات المفتاحية: مرض الزهايمر، العكبر، وقاية عصبية اختبارات عصبية، فئران.

Liste des figures

Figure 1: Schéma représente l'organisation du système nerveux.....	3
Figure 2: Le système nerveux centra.....	4
Figure 3: Le tronc cérébral.....	5
Figure 4: Le cervelet	5
Figure 5: Les lobes cérébraux.....	6
Figure 6: L'amygdale	8
Figure 7: L'hippocampe.....	8
Figure 8: Schéma comparative d'un neurone sain et d'un neurone malade (à gauche), Cerveau sain et un cerveau malade (à droite).....	13
Figure 9: Atrophie cérébrale montrée par IRM	14
Figure 10: Progression des symptômes de la maladie d'Alzheimer (AVQ: Activités de la vie quotidienne; SPCD: Symptômes psychologiques et comportementaux des démences)	15
Figure 11: Structure chimique de la rivastigmine.....	16
Figure 12: Structure chimique du donépézil	17
Figure 13: Structure chimique de la galantamine	17
Figure 14: Structure chimique de la mémantine	18
Figure 15: Fruit de <i>Punicagranatum</i>	19
Figure 16: <i>Huperziaserrata</i> L.....	19
Figure 17: <i>Portulacaoleracea</i> L.....	20
Figure 18: Fruit de la <i>Passifloraedulis</i>	20
Figure 19: Le miel	21
Figure 20: La gelée royale	22

Figure 21: Alvéoles remplies de pollen.....	22
Figure 22: Venin de l'abeille.....	23
Figure 23: La propolis.....	24
Figure 24: Proportions des compositions de la propolis.....	26
Figure 25: Récolte de la propolis par grattage.....	28
Figure 26: Récolte de la propolis par des grilles	28
Figure 27: Solution aqueuse de la propolis.....	35
Figure 28: Figure représente la répartition des lots de test de toxicité	36
Figure 29: Administration de la solution par gavage gastrique.....	37
Figure 30: Injection par voie intra péritonéale (IP).....	38
Figure 31: figure représente la répartition des lots d'expérimentation.....	39
Figure 32: Test de l'activité locomotrice.....	40
Figure 33: Test de l'anxiété (compartiment noir / blanc)	40
Figure 34: Test de l'anxiété (labyrinthe en croix surélevée)	41
Figure 35: Test de Persolt	42
Figure 36: Test de mémoire spatiale de travail	43
Figure 37: Test de mémoire spatiale de référence conditionnée.....	43
Figure 38: Mémoire de distinction de position	44
Figure 39: Mémoire spatiale de travail	45
Figure 40: Mémoire spatiale de référence conditionnée	46
Figure 41: Le prélèvement des organes Foie et les reins	46
Figure 42: Le prélèvement du cerveau	47
Figure 43 a: La moyenne de l'évolution pondérale des souris durant la première phase	51
Figure 43 b : Moyenne de l'évolution pondérale des souris durant la deuxième phase.....	51

Figure 44 a: Moyenne de volume de la solution consommée par les souris durant la première phase	52
Figure 44 b : moyenne de la solution consommée par les souris durant la deuxième phase...	52
Figure 45 : Moyenne des quatre phases de l'activité locomotrice	53
Figure 46 : Moyenne des quatre phases du test de labyrinthe en croix surélevé.....	54
Figure 47 : Moyenne des quatre phases du test de double comportement noir /blanc.....	54
Figure 48 : Moyenne des quatre phases du test de persolt (la nage forcé)	55
Figure 49 a: Les résultats du test mémoire spatiale de travail MST (Les quatre jours d'apprentissage)	56
Figure 49b: les résultats du 5 ^{ème} jour du test de mémoire spatiale de travail MST.....	56
Figure 50 a: Les résultats du test mémoire spatiale de référence conditionnée MSR (Les quatre jours d'apprentissage)	57
Figure 50b : les résultats du 5 ^{ème} jour du test de mémoire spatiale de référence conditionnée MSR	58
Figure 51a: Les résultats du test de la distinction de position (Les quatre jours d'apprentissage)	59
Figure 51b: les résultats du 5 ^{ème} jour du test de la distinction de la position.....	59
Figure 52a: Les résultats du test Morris spatiale de travail MST (Les quatre jours d'apprentissage)	60
Figure 52b: Test de Morris mémoire spatiale de travail (MST).....	61
Figure 53a: Les résultats du test de Morris mémoire spatiale de référence conditionnée (Les quatre jours d'apprentissage)	62
Figure 53b: Test de Morris mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR).....	62
Figure 54 : Photomicrographie de l'Hippocampe coloré par H&E (X10-X40). (A, a) groupe témoin ; (B, b) groupe des souris modèle Alzheimer ; (C, c) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D, d) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ;(E, e) groupe modèle Alzheimer traité par rivastigmine à 1,5mg/kg.....	64

Figure 55 : Photomicrographie de cervelet coloré par H&E (X10-X40) ;(A, a) groupe témoin ; (B, b) groupe Alzheimer ; (C, c) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg ; (D, d) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ;(E, e) groupe standard traité par rivastigmine à 1,5 mg/kg65

Figure 56 : Photomicrographie du cortex coloré par H&E. (X10-X40) ; (A) groupe témoin ; (B) groupe Alzheimer ; (C) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; (E) groupe standard traité par rivastigmine à 1,5mg/kg66

Figure 57 : Photomicrographie du tissu hépatique coloré par H&E.(X40) ; (A) groupe témoin ; (B) groupe modèle Alzheimer ; (C) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg;(D) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; (E) groupe modèle Alzheimer traité par rivastigmine à 1,5mg/kg67

Figure 58 : Photomicrographie du tissu rénale coloré par H&E.(X10-X40) (A) groupe témoin ; (B) groupe Alzheimer ; (C) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; (E)groupe standard traité par rivastigmine à 1,5 mg/kg68

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents lobes cérébraux et leurs caractéristiques	7
Tableau 2: Les types et l'origine de la propolis montrées mondialement	27
Tableau 3: Les formes galéniques de la propolis	34
Tableau 4: Résultats du test de toxicité de la solution aqueuse de la propolis à 150, 300 et 500mg/kg au cours de 14 jours d'observation	50

Liste des abréviations

ACh : acétylcholine

AChE : acétylcholine estérase

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

AVA : activité de la vie quotidienne

A β : beta amyloïde

CA : corne d'Ammon

EEP : extrait de propolis à l'éthanol

ENF : enchevêtrements neurofibrillaires

FAO : Food and agriculture organisation of the United Nations

GABA : acide γ - aminobutyrique

HAS : haute autorité de santé

HupA : huperzine A

IP : intrapéritonéal

IRM : imagerie par résonance magnétique

IV : intraveineuse

MA : maladie d'Alzheimer

MCI : Mild Cognitive Impairment

MSR : mémoire de spatiale de référence conditionné

MST : mémoire spatiale de travail

NMDA : N- méthyl – Dasparate

OCDE : Organisation de la coopération Economique et Développement

OMS : organisation mondiale de la santé

SNA : système nerveux autonome

SNC : système nerveux central

SNP : système nerveux périphérique

SNS : système nerveux somatique

SPCD : symptômes psychologiques et comportementaux des démences

Tau: Tubule Associated Unit

TECA : technologie and practices for Small agricultural Producers

TEP : tomographie à émission de positon

TND : troubles neurodégénératifs

Table de matière

Introduction	1
--------------------	---

La première partie : Revue bibliographique

Chapitre 1 : Maladie d'Alzheimer et Traitement

1. Rappel sur le système nerveux	3
1.1. Système nerveux central	3
1.1.1. Encéphale	4
1.1.1.1. Tronc cérébral	4
1.1.1.2. Cervelet	5
1.1.1.3. Cerveau	6
1.1.2. Moelle épinière	9
1.2. Système nerveux périphérique	9
2. La maladie d'Alzheimer	9
2.1. Généralité	9
2.2. La découverte de la maladie.....	10
2.3. Epidémiologie et prévalence.....	10
2.4. Facteur de risque.....	11
2.4.1. Age.....	11
2.4.2. Sexe.....	11
2.4.3. Génétique.....	12
2.4.4. Pathologies associées.....	12
2.4.5. Autres facteurs.....	12
2.5. Physiopathologie de la maladie.....	12
2.6. Diagnostique.....	14
2.7. Symptomatologie.....	14
2.7.1. Troubles comportementaux.....	14
2.7.2. Troubles de la mémoire.....	15
2.7.3. Agnosie.....	15
2.8. Les stades de la maladie d'Alzheimer.....	15
3. Traitement.....	15
3.1. Traitement pharmacologique.....	16
3.1.1. Les inhibiteurs de l'acétylcholine estérase.....	16
3.1.1.1. Rivastigmine.....	16
3.1.1.2. Donépizil.....	17
3.1.1.3. Galantamine.....	17
3.1.1.4. Les effets indésirables des inhibiteurs de l'acétylcholine.....	17
3.1.2. Les antagonistes de récepteurs NMDA	18
3.1.2.1. La mémantine.....	18
3.2. Traitement phytothérapeutique.....	18
3.2.1. Rappel sur la phytothérapie.....	18
3.2.2. Quelques plantes médicinales utilisées pour leur propriété neuroprotectrice.....	19
3.2.2.1. <i>Punicagranatum. L.</i>	19
3.2.2.2. <i>HuperziaSerrata. L.</i>	19
3.2.2.3. <i>PortulacaOleracea. L.</i>	20
3.2.2.4. <i>Passiflora édulis</i>	20
3.3. Traitement apithérapeutique.....	21
3.3.1. Miel.....	21

3.3.2.	Gelée royale.....	22
3.3.3.	Le pollen d'abeille.....	23
3.3.4.	Le venin d'abeille.....	23
3.3.5.	Propolis.....	24

Chapitre 2 : La propolis

1.	Aperçu historique sur la propolis.....	25
2.	L'origine de la propolis.....	25
3.	Composition.....	25
4.	Récolte de propolis.....	28
4.1.	Récolte par l'abeille.....	28
4.2.	Récolte par l'homme.....	28
5.	Utilisation de la propolis.....	29
5.1.	Par l'abeille.....	29
5.2.	Par l'homme.....	29
5.2.1.	La médecine.....	29
5.2.2.	La cosmétique.....	29
6.	Extraction et purification de la propolis.....	30
7.	Les caractéristiques physico-chimiques	30
7.1.	Caractéristique physique.....	30
7.1.1.	Consistance.....	30
7.1.2.	Ceuleur.....	31
7.1.3.	Gout.....	31
7.1.4.	Odeur.....	31
8.	Les caractéristiques chimiques.....	31
9.	Intérêt biologique et thérapeutique de la propolis.....	32
9.1.	Activité antimicrobienne.....	32
9.1.1.	Activité antibactérienne.....	32
9.1.2.	Activité antifongique.....	32
9.2.	Activité antioxydant.....	32
9.3.	Activité immunomodulatrice.....	33
9.3.1.	Activité anti-inflammatoire.....	33
9.3.2.	Activité antivirale.....	33
10.	Les formes galéniques de la propolis.....	33

La deuxième partie : Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1.	Produit apicole.....	35
2.	Matériel animal.....	35
3.	Test de toxicité.....	36
3.1.	Principe.....	36
3.2.	Protocole.....	36
4.	Evaluation de l'activité neuroprotectrice de la propolis.....	37
5.	Répartition des lots d'expérimentation.....	38
5.1.	Paramètres biologique étudiées.....	39
	L'évolution pondérale.....	39
5.2.	Solution consommée.....	39
5.3.	Tests neurologiques.....	39
5.3.1.	Tests de comportements.....	39
5.3.1.1.	Activité locomotrice.....	39

5.3.1.2. Tests d'anxiétés.....	40
5.3.1.3. Persolt.....	41
5.3.2. Tests de mémoire.....	42
5.3.2.1. Labyrinthe à 8 bras.....	42
5.3.2.2. Morris.....	44
6. Sacrifice.....	46
7. Etude histologique.....	47
7.1. Fixation.....	47
7.2. Macroscopie.....	47
7.3. Imprégnation.....	47
7.4. Inclusion.....	48
7.5. Microtomie.....	48
7.6. Coloration.....	48
7.7. Montage.....	49
7.8. Etude microscopique.....	49
8. Analyse statistique.....	49

Résultats et discussion

I. Résultat.	
1. Test de toxicité.....	50
2. Paramètres biologiques étudiées.....	50
2.1. L'évolution pondérale.....	50
2.2. Consommation de solution.....	52
2.3. Tests neurologiques.....	53
2.3.1. Test de comportement.....	53
2.3.1.1. Activité locomotrice.....	53
2.3.1.2. Test d'anxiété.....	53
2.3.1.3. Test de persolt.....	55
2.3.2. Test de mémoire.....	55
2.3.2.1. Labyrinthe radiaire à huit bras.....	55
2.3.2.2. Piscine de Morris.....	60
2.4. Etude histologique.....	63
2.4.1. Cerveau.....	63
2.4.1.1. Hippocampe.....	63
2.4.1.2. Cervelet.....	65
2.4.1.3. Cortex.....	66
2.4.2. Foie.....	67
2.4.3. Rein.....	68
II. Discussion.....	69
Conclusion et perspective.....	73
Référence bibliographiques.....	75

Annexe

Introduction

Le vieillissement de la population s'est accompagné d'une myriade de nouveaux défis sanitaires, dont les troubles neurodégénératifs (TND) augmentent proportionnellement avec l'âge (**Journe-Mallet et al, 2023**). Les maladies neurodégénératives sont des maladies chroniques progressives qui atteignent le système nerveux central (SNC) (**Nessaib et al, 2022**), affectent les neurones en les condamnant à une mort certaine (**Mirzai, 2023**) et entraînent une diminution des fonctions cognitives (**Sowndhararajan et al, 2018**). Elles sont un véritable enjeu pour la communauté scientifique (**Jacquemin, 2023**).

Parmi ces pathologies, la maladie d'Alzheimer (MA) est la plus fréquente (**Podcasy et epperson, 2022**) avec une estimation de 50 millions de personnes touchées au niveau mondial (**Yiannopoulou et Papageorgiou, 2020**). Elle se caractérise par une perte neuronale, des enchevêtrements neurofibrillaires (ENF) de tau hyper-phosphorylé et un dépôt anormal de peptide β -amyloïde ($A\beta$) conduisant à la formation des plaques séniles (**Soo-Pac et al, 2010**).

Aucune pharmacothérapie n'existe actuellement pour guérir la maladie d'Alzheimer (MA) d'une façon curative (**Hamidouche, 2018**). Le traitement médicamenteux existant est principalement basé sur les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (IACHÉ) et les antagonistes des récepteurs du N-méthyl-Daspartate (NMDAR) (**Breijyeh et Karaman, 2020**). L'efficacité de ces médicaments de synthèse est souvent assimilée à des effets secondaires gênants (**Pharmacomédicale, 2023**), ce qui exige une recherche des traitements alternatifs naturels non nocifs, plus efficaces tels que les plantes médicinales « Phytothérapie » ainsi que des produits apicoles utilisés traditionnellement « Apithérapie ». C'est dans ce contexte que l'objectif de notre expérimentation est de contribuer à l'évaluation *in vivo* de l'effet neuroprotecteur de la propolis sur la maladie d'Alzheimer.

La propolis est une substance résineuse d'aspect cireux produite à partir d'un mélange des sécrétions des arbres et des plantes recueillies par les abeilles (**Seibert et al, 2019**). Elle est également riche en différentes molécules bioactives capables d'améliorer diverses activités biologiques (**Ouahab et al, 2023**) ce qui font de la propolis une substance aux multiples propriétés thérapeutiques (**Boufadi et al, 2016**) à savoir ; antimicrobienne (**Ali Haimoud et al, 2022**), antioxydante (**Soltani et al, 2021**), antidiabétique (**Karagecili et al, 2023**), immuno-modulatrice (**Chavda et al, 2023**), anti-inflammatoire (**Fransergio, 2022**) et anticancéreuse (**Altabbal et al, 2023**).

Ce manuscrit est constitué de deux parties. La première est consacrée à rassembler des données bibliographiques sur la maladie d'Alzheimer (MA), le traitement synthétique et naturel de cette

pathologie suivi par le deuxième chapitre qui comporte des généralités sur le produit apicole choisi dans cette étude « Propolis ». La seconde concerne l'étude expérimentale qui a pour but d'évaluer l'effet neuroprotecteur de la solution aqueuse de la propolis. L'expérimentation était basée sur l'Alzheimer induit par l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) associé à du D-Galactose suivant le protocole décrit par **(Khalil, 2020)**.

Les résultats obtenus dans cette recherche et la discussion sont regroupés dans cette partie. Finalement une conclusion générale est donnée avec des perspectives.

Première Partie
Revue bibliographique

Chapitre I

Maladie d'Alzheimer et traitement

1. Rappel sur le système nerveux :

Le système nerveux est un réseau complexe de nerfs et de cellules nerveuses (neurones) qui font circuler des signaux et des messages provenant du cerveau et de la moelle épinière vers différentes parties du corps. Il est constitué du système nerveux central (SNC) et du système nerveux périphérique (SNP). (Bonnet , 2020) (Figure 1).

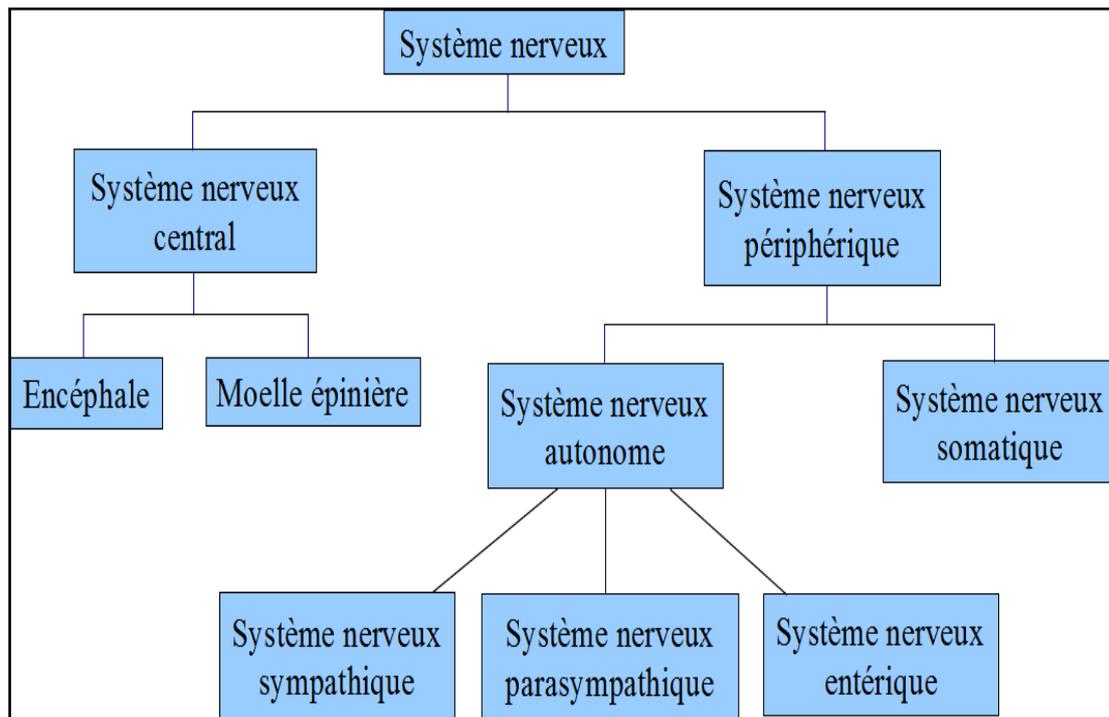


Figure 1 : l'organisation du système nerveux (anonyme, 2013)

1.1.Le système nerveux central (SNC) :

Le système nerveux central (SNC) représente le centre de la régulation des fonctions de tout l'organisme. C'est un centre de commande, de contrôle et de traitement des informations nerveuses (Mosnier et al 2007). Il comprend l'encéphale et la moelle épinière (figure 2).

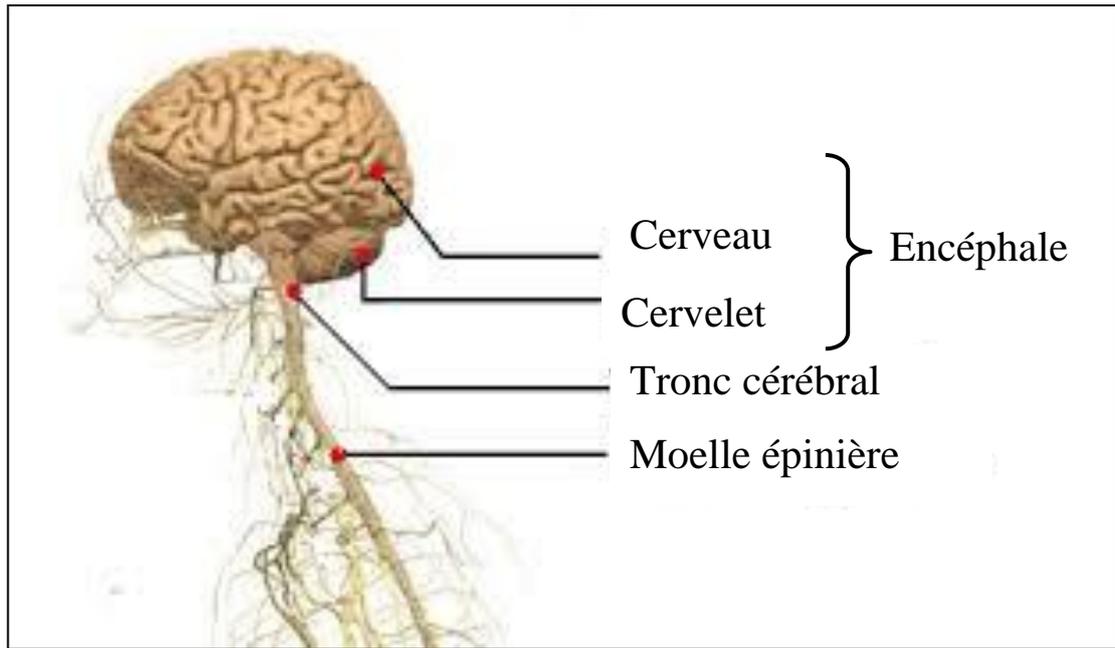


Figure 2: Le système nerveux central (anonyme, 2016)

1.1.1. L'encéphale :

C'est l'élément central du système nerveux central (SNC), situé dans la boîte crânienne ou il communique avec le reste du corps par l'intermédiaire de nerfs crâniens et de la moelle épinière, il est formé du tronc cérébral, du cervelet et du cerveau qui constitue près 90% de son volume (**Ben Haim et Rowitch , 2017**).

1.1.1.1. Tronc cérébral:

C'est la partie qui relie le cerveau à la moelle épinière, il est constitué de trois parties mésencéphale en haut, myélocéphale ou la moelle allongé en bas et métencéphale ou pont au milieu (**Canizares et al, 2020**) (figure 3).

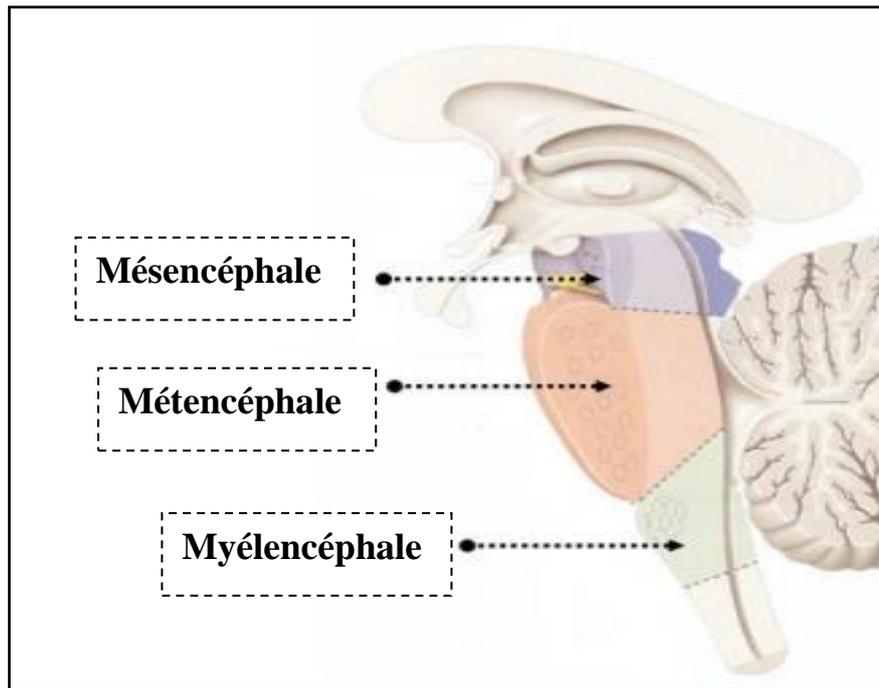


Figure 3: Le tronc cérébral (Chalfouh , 2021)

1.1.1.2.Cervelet : c'est justement à l'arrière du pont que se trouve le cervelet, cette structure qui joue un rôle important dans l'apprentissage et sert à la coordination des mouvements. Il représente environ 10% du volume du cerveau et comprend plus de 50% du nombre total de ses neurones (anonyme, 2018) (figure 4).

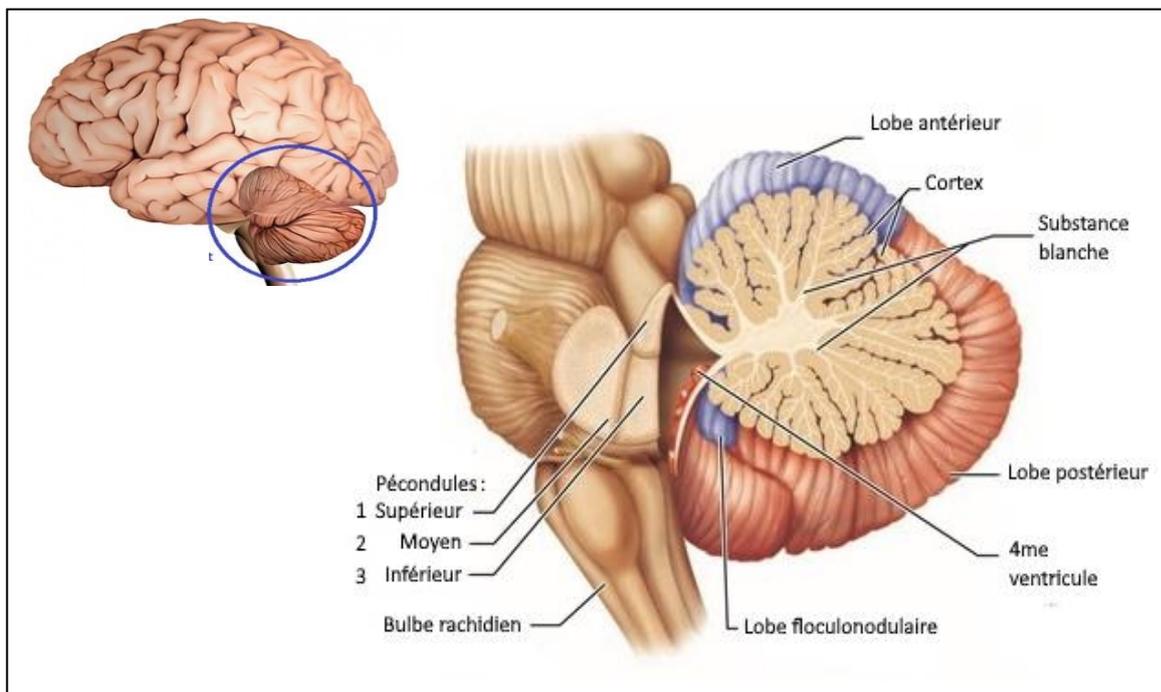


Figure 4 : Le cervelet (anonyme, 2021)

1.1.1.3.Cerveau :

Le cerveau comporte un télencéphale fait de deux hémisphères cérébraux quasi-symétrique droit et gauche liés par un corps calleux ; et un diencéphale, partie impaire et médiane qui comprends le thalamus et l'hypothalamus. Chaque hémisphère comporte deux régions bien distingués :

- **Le cortex cérébral** : la substance grise comportant les corps de cellules nerveuses et qui représente la région périphérique.
- **La substance blanche** : contient principalement les prolongements axonaux des neurones et représente la région centrale. (Zouaoui , 2021)

L'hémisphère cérébral comporte quatre lobes cérébraux qui portent chacun le nom le nom de l'os qui le protège (**figure 5**).

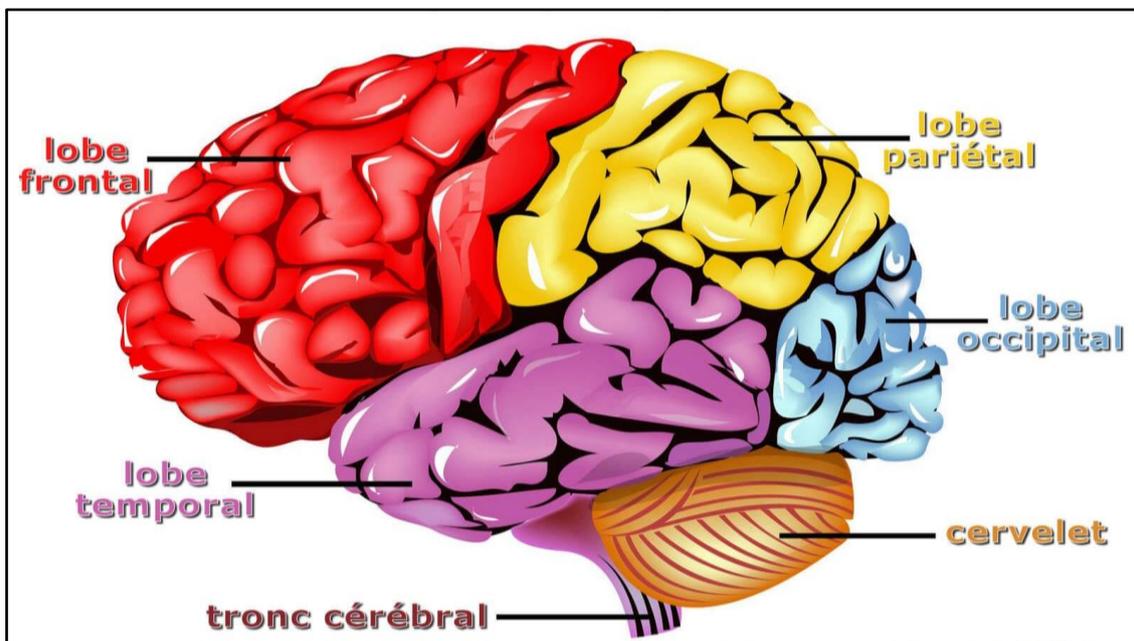


Figure 5 : Les lobes cérébraux (anonyme, 2023)

- Le tableau suivant montre les différents lobes cérébraux leurs caractéristiques (**tableau 1**)

Tableau 1: Les différents lobes cérébraux et leurs caractéristiques (**Kayed et al, 2013**)

Lobes	Caractéristiques
Frontal	Impliqué dans l'initiation et la coordination des mouvements, dans les tâches cognitives supérieures comme la résolution de problèmes, la pensée, la planification, bien d'autres aspects de la personnalité et de la formation des émotions.
Pariétal	Intervient dans les processus sensoriels, l'attention et le langage. Une lésion du côté droit du lobe pariétal peut entraîner des troubles de l'orientation spatiale, même dans des lieux familiers. Si le côté gauche est lésé, les capacités à comprendre le langage parlé ou écrit peuvent être altérées
Occipital	Prend part dans l'information visuelle y compris dans la reconnaissance des formes et des couleurs
Temporal	Joue un rôle dans l'encodage des informations auditives et dans l'intégration des informations provenant des autres modalités sensorielles

Au niveau du lobe temporal il y a un système qui participe à la gestion de la mémoire et des émotions, c'est le système limbique. Ce dernier est composé de :

- **L'amygdale :**

Correspond à une paire de petites régions en forme d'amande. Il joue un rôle dans le comportement en rapport avec les émotions (**figure 6**).

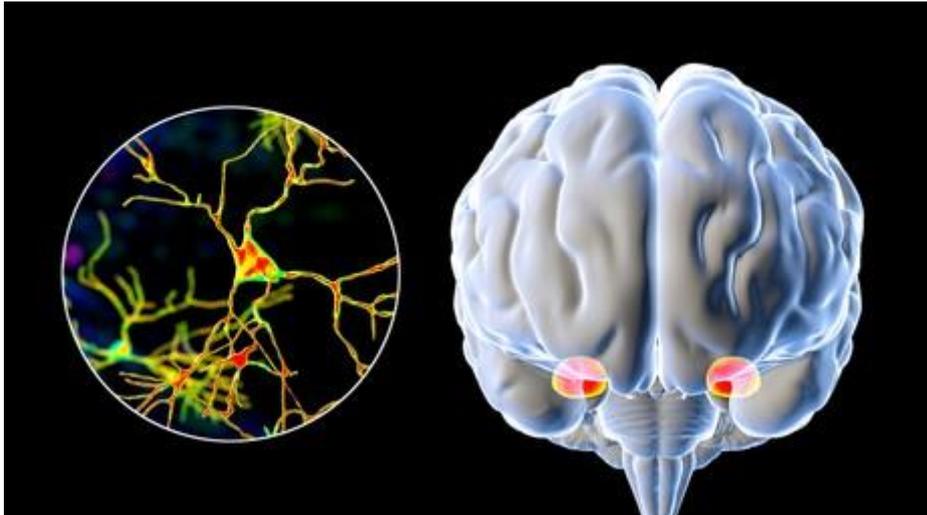


Figure 6 : Amygdale (anonyme, 2019)

- **L'hippocampe :**

Se compose de trois sous-structures : le subiculum, la corne d'Ammon (composée des aires CA1, CA2 et CA3) et le gyrus denté. Il est principalement impliqué dans le stockage des souvenirs à long terme.(Johnston et Amaral , 2004). C'est la première structure qui est touchée dans la maladie d'Alzheimer (MA). (Figure7)

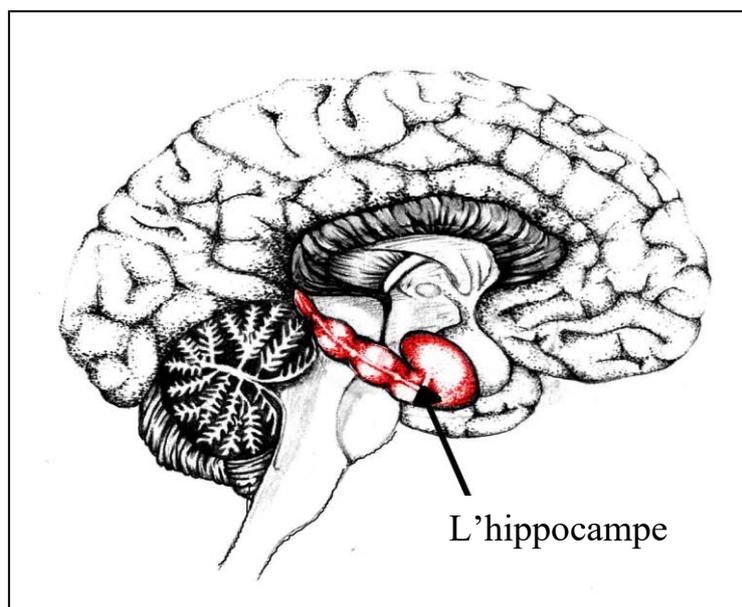


Figure 7 : L'hippocampe (James , 2015)

- **Gyrus cingulaire :**

Il sert à la transmission des messages entre les parties intérieure et extérieure du système limbique. (catharina et al, 2022)

- **Hypothalamus :**

C'est une partie vitale du système limbique qui est responsable de la production de multiples messagers chimiques, appelés hormones. (Bianca et al, 2022)

1.1.2. La moelle épinière :

La moelle épinière est une structure du système nerveux central se trouve au sein de la colonne vertébrale. Elle assure la transmission d'informations entre le cerveau et le corps.

1.2.Le système nerveux périphérique (SNP) :

Est la partie du système nerveux qui se trouve à l'extérieur du système nerveux central(SNC). Il est formé de nerfs et de ganglions qui envoient et reçoivent des signaux au système nerveux central (SNC). Le système nerveux périphérique (SNP) est composé du système nerveux somatique (SNS) et du système nerveux autonome (SNA). (Svahn , 2022)

- Le système nerveux somatique (SNS) dirige les mouvements volontaires du corps.
- système nerveux autonome (SNA) dirige les fonctions involontaires du corps.

2. La maladie d'Alzheimer :

2.1.Généralités :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une affection neurodégénérative irréversible qui se caractérise par un déclin progressif des fonctions cognitives telles que la perte de mémoire et la capacité d'apprentissage (Xing et al, 2018) et physio-pathologiquement par la présence de la protéine (tau) hyperphosphorylée, qui est le principal composant des enchevêtrements neurofibrillaires (ENF), et de plaques séniles dont le principal composant est l'agrégat de peptide β -amyloïde ($A\beta$) (Uzuegbunam et al, 2020). Elle est reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une priorité mondiale de santé publique (Lane et al, 2018). C'est une des principales causes de démence à l'origine de 60 à 70 % des cas (OMS, 2023).

Deux sortes de changements neuropathologiques ont été identifiées, les lésions positives dues à l'accumulation d'enchevêtrements neurofibrillaires, de plaques amyloïdes, et d'autres dépôts trouvés dans le cerveau atteint. En plus les lésions négatives liées à des pertes synaptique et neuronale menant

à une atrophie macroscopique (**Kumar et al, 2020**). Le cerveau perd près de 20 % de sa masse au long de l'évolution de la maladie (**Vanderheyden et Kennes, 2017**).

Parallèlement, d'autres facteurs sont susceptibles de provoquer la neurodégénérescence, tels que la neuroinflammation, le stress oxydatif et les lésions des neurones cholinergiques. (**Singh et al, 2016**).

La recherche suggère que les altérations liées à la maladie d'Alzheimer peuvent débuter 20 ans ou plus avant la survenue des premiers symptômes (**World Alzheimer Report, 2022**).

Cette pathologie progressive se déclare généralement de manière insidieuse, avec des signes cliniques communs au début de l'évolution de la maladie, ce qui rend le diagnostic plus compliqué, notamment aux stades précoces (**Nasrallah et Wolk, 2014**). Son avancement est un véritable enjeu car aucun traitement curatif n'est disponible à l'heure actuelle (**Jacquemin, 2023**).

2.2. La découverte de la maladie :

La rencontre du médecin psychiatre et neurologue allemand Aloïs Alzheimer avec la patiente Auguste Deter en 1901 a été un point de départ historique pour la compréhension scientifique de la démence (**Valverde, 2020**).

En novembre 1901, Aloïs Alzheimer examina pour la première fois Auguste Deter, une femme qui a déclenché à l'âge de 51 ans, des symptômes de troubles de mémoire, du langage et d'autres troubles psychologiques ainsi que des problèmes de relations sociales (**Folliot, 2021**). Après son décès en 1906, Aloïs Alzheimer a examiné son cerveau avec l'imprégnation argentique et il a constaté une grande atrophie en présence de plaques amyloïdes et d'enchevêtrements neurofibrillaires (**Möller et Graeber 1998**).

2.3. Epidémiologie et prévalence :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une des maladies neurodégénératives les plus répandues dans le monde (**Lane et al, 2018**). Sa fréquence augmente avec l'âge. Rare avant 65 ans et touche 23% de la population après 80 ans (**Podcasy et epperson, 2022**). Elle représente un des plus grands défis de la santé du 21^{ème} siècle (**Vanhoutte, 2018**).

Au niveau mondial, plus de 55 millions de personnes sont atteintes de démence (**OMS, 2023**) qui résulte de diverses pathologies et lésions cérébrales (**OMS, 2018**). Ce chiffre devrait atteindre 150,11 millions en 2050 (**Deng et al, 2023**). Cette estimation souligne l'importance de mieux comprendre ces

pathologies, en particulier la maladie d'Alzheimer (MA) (**Valverde, 2020**) car elle est la cause la plus fréquente à l'origine de 60 à 70% des cas de démence (**OMS, 2023**).

Selon les prévisions de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de patients devrait presque doubler tous les 20 ans. En conséquence, le coût social et économique de la maladie va également s'accroître si des mesures curatives ou préventives ne soient pas rapidement mises en place (**Alzheimer's Association, 2020**).

Selon l'OMS, la maladie d'Alzheimer touche plus de femmes que d'hommes. Pour un homme de 65 ans, le risque résiduel de maladie d'Alzheimer au cours de sa vie est de 6,3 % et le risque résiduel de démence au cours de sa vie est de 10,9 %, les risques correspondants pour une femme de 65 ans sont de 12 % et 19 %, soit près du double de ceux des hommes. (**Podcasy, epperson, 2022**).

2.4.Facteurs de risque :

La maladie d'Alzheimer (MA) est considérée comme une maladie multifactorielle associée à plusieurs facteurs de risque. Mais la véritable cause qui provoque les enchevêtrements neurofibrillaire (ENF), l'agrégat de peptide β -amyloïde ($A\beta$) et perte synaptique est encore méconnue (**Tchekalarova et al., 2023**).

2.4.1. Âge :

L'âge est le facteur de risque le plus souvent mentionné dans les études épidémiologiques. Le nombre de nouveaux cas de maladie d'Alzheimer (MA) augmente de façon exponentielle avec l'âge après 65 ans (**Omura et al., 2022**).

2.4.2. Sexe :

Les femmes présentent un risque accru de maladie d'Alzheimer par rapport aux hommes, surtout après l'âge de 80 ans (**Jevtica., 2017**).

De multiples études ont également tenté de justifier cette différence des deux sexes à la pathologie par plusieurs facteurs ce sont les différences biologiques et hormonales, avec notamment un possible effet des oestrogènes, différences génétiques et différences socioculturelles (**Vest et Pik., 2013**).

2.4.3. Génétique :

Le facteur de risque génétique principal est le gène Apolipoprotéine E (ApoE). Ce gène peut prendre différentes formes (ApoE2, ApoE3 ou ApoE4). La version ApoE4/ ApoE4 augmente le risque de maladie d'Alzheimer : 33 % des personnes porteuses de cette forme ayant atteint l'âge de 75 ans développeront une maladie d'Alzheimer (**fondation recherche médicale, 2022**).

2.4.4. Pathologies associées :

Le risque de développer la maladie est important lorsque le patient est diabétique. Une forte concentration du glucose dans le sang entraîne une résistance à l'insuline et une hyperglycémie. Cela conduit à un stress oxydatif, une dérégulation du métabolisme lipidique, une réponse inflammatoire et une augmentation du niveau d'A β dans le cerveau (**Baglietto-Vargas et al. 2016**).

L'hypertension artérielle peut favoriser plus tard le développement de la maladie d'Alzheimer (**le Lancet Neurology, 2019**). Des recherches ont confirmé la relation entre l'état de santé vasculaire et le risque de déclin cognitif (**Bajwa et al. 2022**).

2.4.5. Autres facteurs :

L'ensemble de ce qu'on respire, mange, boit, ainsi que les chocs physiques ou psychologiques, sont des éléments connus pour être des facteurs déclenchant la maladie (**Armstrong, 2019**).

Une mauvaise nutrition est aussi considérée comme étant une source néfaste dans la maladie d'Alzheimer (**Jiang et al. 2017**).

2.5. Physiopathologie de la maladie :

Les deux caractéristiques pathologiques de la maladie d'Alzheimer (MA) selon (**Ballard, 2011**) sont :

- Des dépôts extracellulaires bêta-amyloïdes
- Des enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires

Les dépôts et les enchevêtrements neurofibrillaires de bêta-amyloïde provoquent la perte de synapses et de neurones, qui se traduit par une atrophie massive des zones affectées du cerveau, commençant généralement par le lobe temporal (**Hyman et al., 2012**).

Le mécanisme par lequel les enchevêtrements peptidiques bêta-amyloïdes et neurofibrillaires entraînent ces lésions n'est pas encore compris. Il existe plusieurs théories. (**Kayed et al., 2013**).

- L'hypothèse amyloïde qui suppose que l'accumulation progressive de bêta amyloïde dans le cerveau déclenche des événements en cascade qui aboutissent à la mort des cellules neuronales, à la perte de synapses neuronales et à des déficits progressifs des neurotransmetteurs; tous ces effets contribuent aux symptômes cliniques de la démence (**Huang et al, 2023**).
- Une réponse immunitaire soutenue et inflammation ont été observées dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Certains experts ont proposé que l'inflammation soit la troisième caractéristique anatomopathologique de la maladie d'Alzheimer (**Kiney et al., 2018**).

Il a été démontré que les troubles du métabolisme du glucose jouaient un rôle potentiellement important dans le développement de la maladie d'Alzheimer (**Gonzalez et al, 2022**).

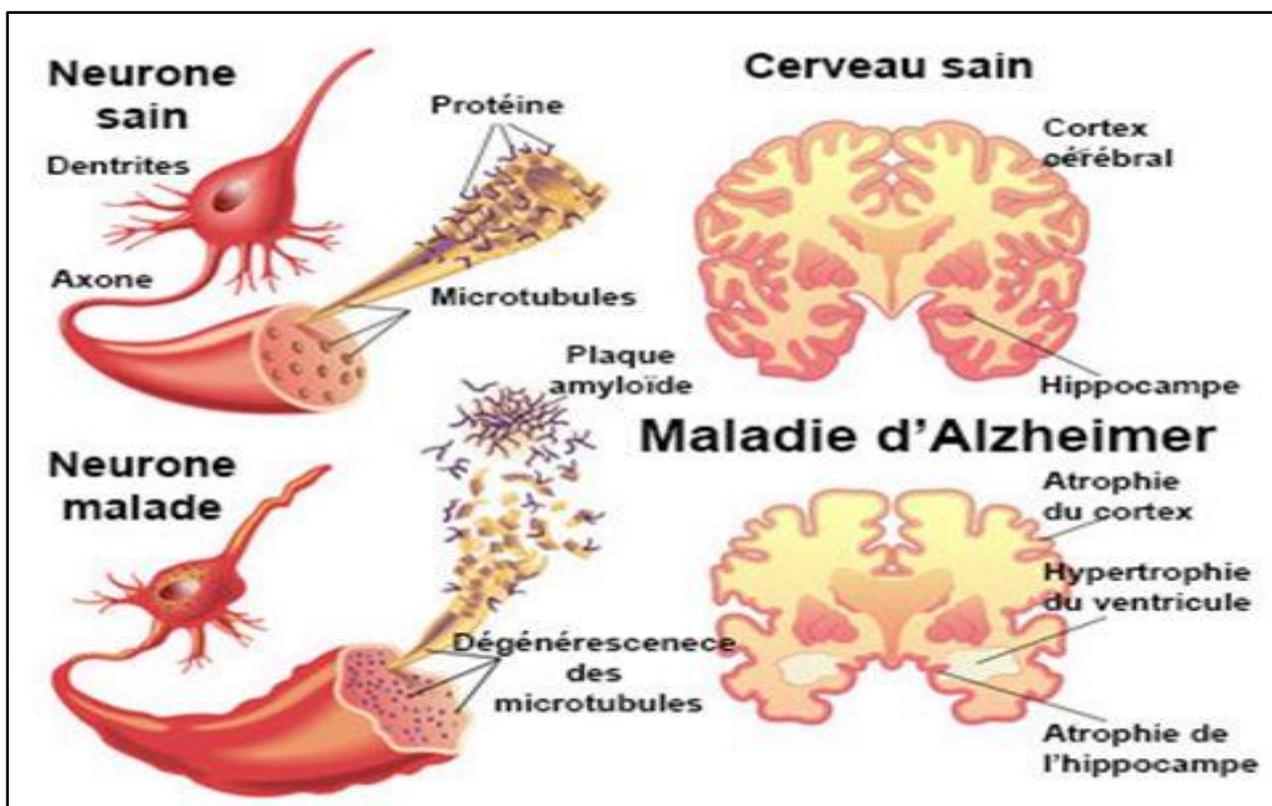


Figure 8: schéma comparatif d'un neurone sain et d'un neurone malade (gauche), cerveau sain et un cerveau malade (droite) (**Anonyme, 2023**)

2.6. Diagnostic

D'après la Haute Autorité de Santé (HAS), Le diagnostic est réalisé grâce à des tests neuropsychologiques tel que le MMSE (Mini Mental State Examination) ou test de Folstein qui est pratique pour l'évaluation de l'état cognitif du patient.

En parallèle à l'évaluation neuropsychologique, les médecins ont accès principalement à autre tests paracliniques (**Budelier et Bateman 2020**). Généralement, ils procèdent à l'IRM structurelle (**Ossenkoppele et al., 2020**) qui peut mener à l'identification d'une atrophie cérébrale (**figure 9**) et La Tomographie à Emission de Positons (TEP), est un examen qui détecte dans le corps des sites de fixation d'un traceur faiblement radioactif (le FDG) injecté par voie intraveineuse (IV).

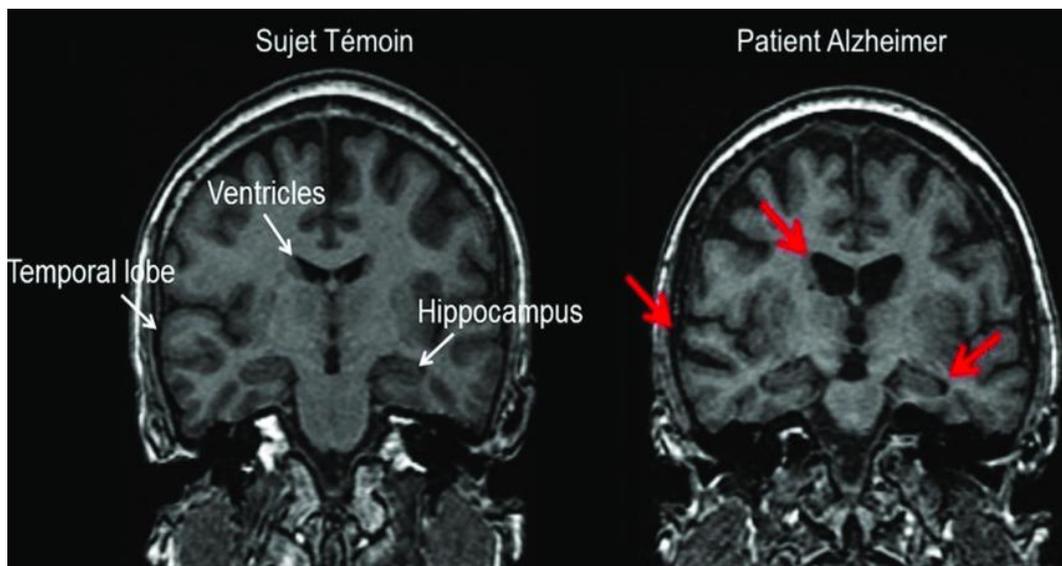


Figure 9: atrophie cérébrale montrée par IRM (Anonyme, 2021) (Fdly , 2019)

2.7. Symptomatologie

2.7.1. Troubles comportementaux

La maladie d'Alzheimer est décrite par rapport aux troubles cognitifs qu'elle engage. Dont les troubles du comportement occupe une place importante dans la symptomatologie de la maladie d'Alzheimer a estimé que les symptômes neuropsychiatriques accompagnaient la maladie d'Alzheimer dans environ 90% des cas.

2.7.2. Troubles de la mémoire :

Les troubles de la mémoire représentent la pierre angulaire des manifestations cliniques de la maladie d'Alzheimer, ils entraînent une perturbation de l'autonomie et des activités de la vie quotidienne. (Lapre, 2010).

2.7.3. Agnosie :

L'agnosie peut se définir comme un trouble de la reconnaissance des objets, des personnes ou des lieux, inexplicable par un déficit sensoriel et traduisant un déficit intellectuel, se manifeste chez la personne par des difficultés à reconnaître ce qu'elle voit.

2.8. Les stades de la maladie d'Alzheimer :

Les symptômes et l'évolution de la maladie d'Alzheimer peuvent varier considérablement le stade (figure 10)

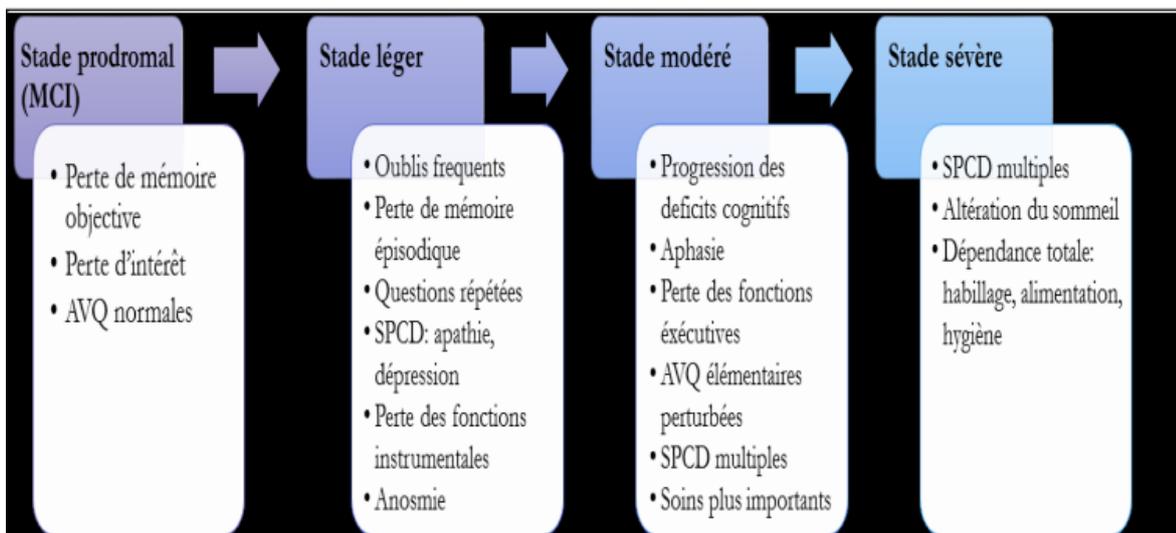


Figure 10 : Progression des symptômes de la maladie d'Alzheimer (AVQ : Activités de la vie quotidienne ; SPCD : Symptômes psychologiques et comportementaux des démences) (Feldman et Woodward, 2005)

3. Traitement :

Actuellement, il n'existe aucun traitement pour guérir la maladie d'Alzheimer d'une manière curative. Cela est dû au fait que la physiopathologie n'est pas encore totalement déterminée, mais aussi au fait que la pathologie est diagnostiquée tardivement, à un stade avancé où des lésions irréversibles sont déjà présentes (Hamidouche, 2018).

3.1. Traitement pharmacologique :

Le traitement pharmacologique actuel repose essentiellement sur la prise des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (IACHÉ) ou des antagonistes des récepteurs du N-méthyl-Daspartate (NMDA) qui ne font qu'atténuer et ralentir les symptômes de la maladie et ne permettent pas d'empêcher sa progression (**Breijyeh et Karaman , 2020**). Ils sont indiqués dans les stades légers à modérés de la MA (**Hamidouch., 2017**).

3.1.1. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase:

Leur mécanisme d'action général est d'empêcher la dégradation de l'acétylcholine (ACh) dans la fente synaptique, donc l'augmentation de leur disponibilité en inhibant l'enzyme catabolique acétylcholinestérase, cette inhibition entraîne une amélioration de la neurotransmission cholinergique (**Singh et Sadiq., 2020**).

Les médicaments les plus courants de ce type : rivastigmine (Exelon®), Donépézil (Aricept®) et galantamine (Reminyl®) (**Tata et al., 2014**).

3.1.1.1. Rivastigmine (Exelon®) :

Représente un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) pseudo irréversible et non compétitif, il a une durée d'action plus longue, d'une bonne tolérance et d'une toxicité plus faible. La rivastigmine améliore les fonctions cognitives, la participation aux activités quotidiennes et les troubles du comportement chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer MA légère à modérée. (**Figure 11**)

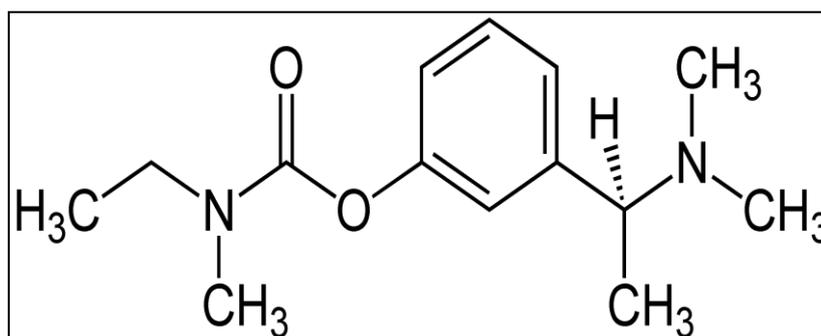


Figure 11: Structure chimique de la rivastigmine (**Shahira et al, 2021**)

3.1.1.2. Donépézil (Aricept®) :

Un inhibiteur d'acétylcholinestérase (AChE) sélectif, réversible et non compétitif, possède une longue demi-vie. Il améliore la fonction cognitive chez les personnes atteintes par la maladie d'Alzheimer (MA). (Figure 12)

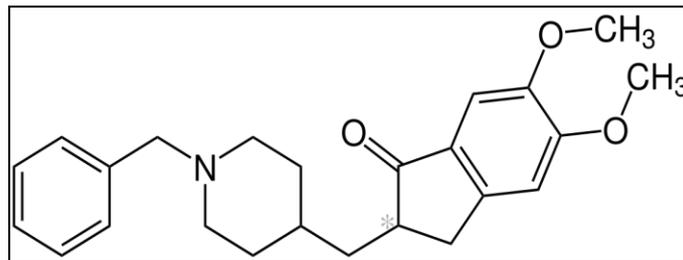


Figure 12: Structure chimique du donépézil (Anonyme, 2017)

3.1.1.3. Galantamine (Reminyl®) :

C'est un inhibiteur sélectif, compétitif et réversible de l'AChE, aussi un modulateur allostérique des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. La galantamine agit non uniquement sur la transmission cholinergique, mais également sur d'autres systèmes de neurotransmetteurs, tels que le glutamate et l'acide γ -aminobutyrique (GABA). (Figure 13)

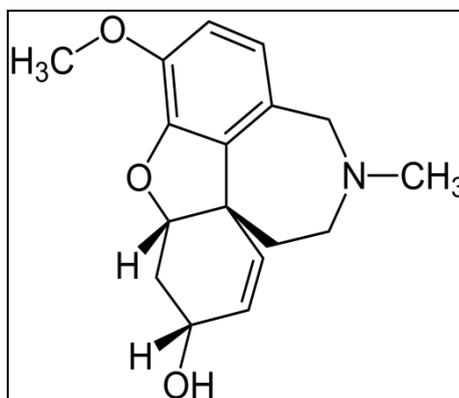


Figure 13: Structure chimique de la galantamine (Anonyme, 2022)

3.1.1.4. Les effets indésirables des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase:

Les effets indésirables les plus fréquents sont majoritairement des troubles digestifs (nausées, diarrhée, vomissements), cardiaques (troubles du rythme cardiaque) et parfois neuropsychiques (hallucinations, agressivité).

3.1.2. Les antagonistes des récepteurs NMDA (N-Méthyl-D-Aspartate) :

La suractivation du N-Méthyl-D-Aspartate NMDA conduit à une augmentation des concentrations de Ca^{2+} , ce qui provoque la mort cellulaire et le dysfonctionnement synaptique. L'antagoniste NMDA empêche cette activité. On distingue dans cette classe un seul médicament qui est autorisé : la mémantine (Liu et al., 2019).

3.1.2.1. La Mémantine (EBIXA) :

C'est un antagoniste non compétitif des récepteurs du N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA) indiqué dans les formes modérées à sévères de la maladie d'Alzheimer. En effet, elle protège d'un influx intracellulaire élevé et prolongé de Ca^{2+} provoquant des dommages neuronaux. (Figure 14)

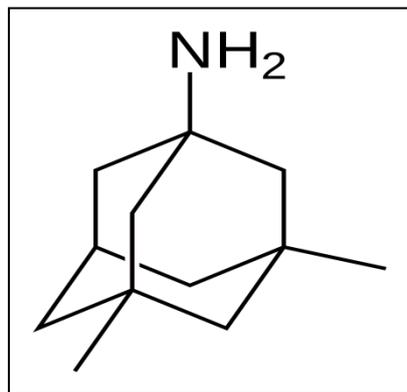


Figure 14: Structure chimique de la mémantine (Anonyme, 2021)

3.2. Traitement phytothérapeutique :

3.2.1. Rappel sur la phytothérapie :

La phytothérapie est une médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules actives contenues dans les plantes pour le traitement curatif ou préventif de certaines pathologies.

3.2.2. Quelques plantes médicinales utilisées pour leur propriété neuroprotectrice :

3.2.2.1. *Punica granatum L.* (fruit) :

Ou grenadier, est un arbre fruitier de la famille des Lythracées, originaire d'Asie. Elle est mondialement reconnue pour sa teneur exceptionnelle en antioxydants ainsi que pour ses multiples vertus santé (Hamid et al, 2012).

Les composés phénoliques présents dans le jus de grenade lui confère un effet neuroprotecteur sur les déficiences comportementales et les changements histopathologiques (Gadouche et al., 2016). Les études menées sur l'extrait de *P. granatum* ont démontré son pouvoir antioxydant, confirmé par l'atténuation du stress oxydatif et l'inhibition de la neurodégénérescence

(Sokindra et al., 2009) (Figure 15)



Figure 15 : fruit e *Punica granatum L.*
(Anonyme, 2019)

3.2.2.2. *Huperzia serrata L.* (partie aérienne) :

Une plante médicinale originaire de la Chine qui fait partie de la famille des Lycopodiaceae, approuvée comme traitement des maladies cognitives, y compris la maladie d'Alzheimer (Yang et al, 2023). Son principal composant est l'huperzine A (HupA), alcaloïde qui peut traverser la barrière hémato-encéphalique et donc, atteindre le cerveau. Il fait partie de la classe des inhibiteurs d'AchE et il est efficace à de très faibles doses (Liu et al, 2023). Il améliore les fonctions cognitives des patients atteints de la maladie d'Alzheimer et ses effets dépendent de la quantité et de la durée d'administration

(Mahmud et al., 2023). (Figure 16)



Figure 16 : *Huperzia serrata L.*
(Anonyme, 2018)

3.2.2.3. *Portulaca oleracea* L. (feuilles) :

Portulaca oleracea L. ou pourpier est une espèce succulente cosmopolite de la famille des Porthulaceae, répandue dans les zones tropicales et et subtropicales. Cette plante est signalée l'une des plantes médicinales les plus employées dans le traitement des maladies neurodégénératives

(Aini et al, 2022).

Les constituants phytochimiques de cette plante sont majoritairement des flavonoïdes avec d'autres composants tels que les alcaloïdes, les terpenoïdes, tanins (Azizah., 2022). qui lui confèrent ses propriétés neuro régénératrices, neuroprotectrices (Jalali., 2023). (Figure 17)



Figure 17: *Portulaca oleracea* L.
(Anonyme, 2017)

3.2.2.4. *Passiflora edulis* L. (fruit) :

Figure 18 : fruit de la *Passiflora edulis* L.

Le genre *Passiflora* famille des Passifloraceae s'étend dans le monde entier, mais on le trouve en majorité sur le continent américain. Le traitement des rats atteints de la MA par l'EP a amélioré les changements neurocomportementaux, les fonctions cérébrales et la modulation de l'acétylcholinestérase (AChE), ce qui montre ses propriétés neuroprotectrices (Doungue et al, 2022).

D'après (Mostefa et al, 2023) *Passiflora edulis* présente un effet neuroprotecteur potentiel dans la prévention des déficits cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer (Ma). (Figure 18)



Figure 18 : fruit de la *Passiflora edulis* L.
(Anonyme, 2017)

3.3. Traitement apithérapeutique :

L'apithérapie, une branche de l'arsenal thérapeutique, consiste à utiliser les produits récoltés, transformés ou sécrétés par l'abeille tels que le miel, la gelée royale, le pollen, le venin et la propolis à des fins thérapeutiques pour le traitement ou la prévention de certaines pathologies.

3.3.1. Miel :

Une substance sucrée naturelle produite par les abeilles et l'un des aliments naturels les plus énergétique(**white ,1978**). Il est issu de latransformation du nectar des plantes ou à partir des sécrétions de parties vivantes de plantes et que les abeilles récoltent et transforment en les combinant à des substances spécifiques qu'elles produisent, déposent, déshydratent, et stockent et font murir dans les rayons à miel (**Strant ,2014**). (**Figure 19**)

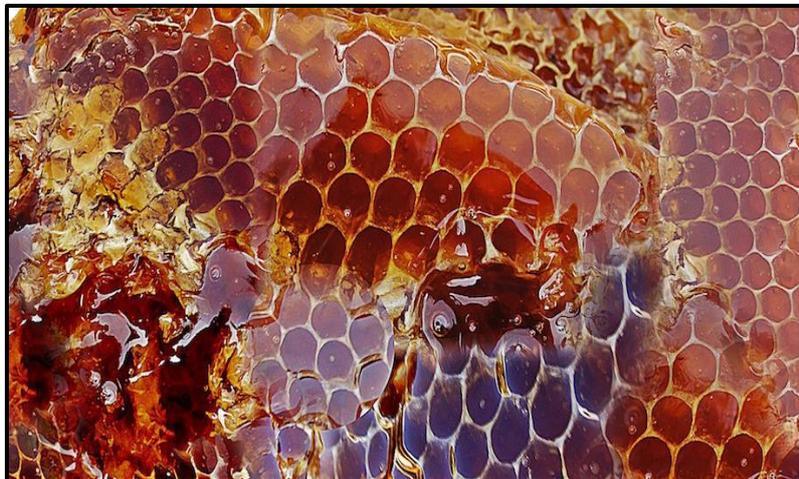


Figure 19: Le miel (**Michael, 2016**)

Le miel présente l'activité antioxydante et anticholinestérasique la plus élevée, ce qui permet de prévenir et de gérer de nombreuses maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA) (**Fadzil et al, 2023**). Il peut améliorer le comportement anxieux, la rétention de la mémoire et les effets protecteurs sur les cellules neuronales pyramidales dans la région cérébrale de l'hippocampe (**Arshad et al, 2020**).

3.3.2. Gelée royale :

La gelée royale est une substance visqueuse sécrétée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles nourricières (**Bărnăuțiu et al, 2011**). Cette substance est utilisée pour nourrir la reine de la colonie tout au long de sa vie et la seule nourriture donnée à toutes les larves d'ouvrières

pendant leurs trois premiers jours. Il s'agit d'un aliment brute et naturel, non transformé et sans additif (Nonette-Varly ,2022). (Figure 20)



Figure 20: La gelée royale (Waugenberg, 2007)

D'après une étude in vivo faite par (Silva *et al*, 2020), l'administration orale à long terme de la gelée royale a induit des effets bénéfiques chez les animaux en augmentant le temps de rétention de la mémoire spatiale de travail, en réduisant la neurodégénérescence et le niveau de stress oxydatif et en augmentant la prolifération de nouveaux neurones dans l'hippocampe.

3.3.3. Le pollen d'abeille :

C'est le mélange de pollen de plantes et de fleurs avec du nectar et de la salive qui est utilisé dans la production de miel par les abeilles. Le pollen est la seule source naturelle en matière azotée de la ruche (Bava *et al*,2023). (Figure 21)



Figure 21: Alvéoles remplies de Pollen (Dumas, 2017)

Les résultats que (Saral Oet *al*, 2022) ont trouvé démontrent que le pollen d'abeille a la capacité de diminuer la neuroinflammation tout en réduisant le stress oxydatif et la peroxydation des lipides dans les tissus de l'hippocampe ce qui le confère un effet neuroprotecteur.

3.3.4. Le venin d'abeille:

Le venin d'abeille est un liquide transparent avec une forte odeur et un goût amer, sécrété par l'abeille (Sevin *et al*, 2023), un produit précieux qui a un large éventail d'effets biologiques et son utilisation augmente rapidement dans l'apithérapie (Ullah *et al*, 2023). (Figure 22)



Figure 22: Venin de l'abeille (anonyme, 2019)

C'est un mélange complexe de plus de 18 composés pharmacologiquement actifs, qui comprend une variété de peptides, des enzymes et une grande quantité d'eau. La mélittine est l'un de ses principaux peptides responsable de son effet neuroprotectif (Er-Rouassi *et al*, 2023).

3.3.5. Propolis :

La propolis est une substance résineuse d'aspect cireux produite par les abeilles (*Apis mellifera*) à partir de différents exsudats végétaux (Santos *et al*, 2019).

Elle est utilisée par les ouvrières pour colmater les trous et les fissures de leur ruche pour la protéger contre les conditions météorologiques défavorables et comme c'est une substance antiseptique, elle protège ainsi la ruche contre les contaminations bactériennes ainsi que les invasions étrangères (Andelković *et al*, 2017). (Figure 23)



Figure 23: La propolis (anonyme, 2023)

De nombreux composés ou extraits naturels ont été recommandés comme thérapies pour le traitement ou la prévention de la maladie d'Alzheimer (MA), en agissant comme antioxydant et par une action anti-amyloïde. La propolis est l'un de ces produits naturels importants sur le plan médical (Nanaware *et al*, 2017).

La propolis renferme au moins 200 composés, dont des acides et des esters phénoliques, des flavonoïdes, des stéroïdes, des aldéhydes aromatiques et des alcools, etc. (Malekhamadi *et al*, 2023) qui confère à cette substance des qualités thérapeutiques remarquables, parmi eux l'activité anticholinestérasiques (Abdel-Rahman *et al*, 2020).

L'extrait éthanolique de la propolis améliore le système de défense antioxydant en diminuant le malondialdéhyde dans le cerveau, qui est un facteur essentiel de la maladie d'Alzheimer, et inhibe l'activité de l'acétylcholinestérase AChE (Hirata *et al*, 2021).

La propolis contribue à prévenir la mort cellulaire neuronale liée au stress oxydatif, qui est impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies neurodégénératives (Takashima *et al*, 2019).

Chapitre II
Propolis

1. Aperçu historique sur la propolis :

La propolis est un remède naturel utilisé depuis l'Antiquité. En effet, les propriétés médicinales de la propolis ont été reconnues par les médecins Grecs étaient mentionnées comme traitement des infections cutanées. Ensuite, les égyptiens utilisaient la propolis qui contient des propriétés anti putréfiantes, pour embaumer les cadavres. Il a également été mentionné dans les textes grecs que les médecins utilisaient pour fabriquer des baumes et les Romains l'ont donné à tous les combattants pour soigner leurs blessures pendant les différentes invasions. Enfin, les médecins arabes l'utilisaient comme antiseptique et cicatrisant dans le traitement des plaies. **(Abida et al, 2021)**

2. L'origine de propolis :

Il a été démontré que la présence de plantes spécifiques dans une zone géographique donnée est à la base d'une préférence constante et sans ambiguïté pour la fabrication de la propolis. La production de propolis. Ainsi, les différents types de propolis sont dus à leurs différentes composantes qui sont contrôlées par le paramètre géographique. **(Letullier et al, 2019)**

3. Composition chimique :

Sa composition est très compliquée et variable, en fonction de plusieurs facteurs tels que l'origine géographique, les types de sources végétales, les espèces d'abeilles, la période et la saison de récolte, et les facteurs post-récolte tels que les méthodes d'extraction. La propolis est constituée de nombreux composants actifs, à savoir de (50%) des résines et de baumes végétaux (esters, acides phénoliques et flavonoïdes), de (30%) des cires, de (10%) des huiles essentielles (pinène, viridiflorol, tricosane, et eudesmo), (5 %) du pollen et (5 %) d'autres composés organiques (sucres, quinones, lactones, cétones, stéroïdes) **(Esposito et al, 2021) (Figure 24)**

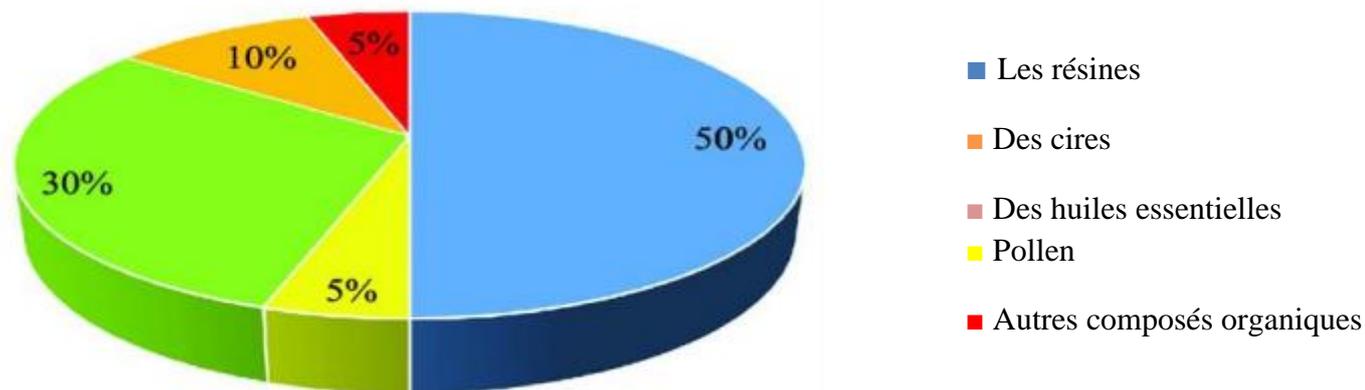


Figure 24: Proportions des compositions de la propolis (Przybyłek et Karpinski, 2019).

- ❖ Les composés phénoliques, les esters, les flavonoïdes, les terpènes, les bêta-stéroïdes, les aldéhydes aromatiques et les alcools sont des composés organiques importants.

(Pasupuleti et al., 2017)

➤ **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes contribuent grandement aux activités pharmacologiques de la propolis. La concentration de flavonoïdes est considérée comme un paramètre d'évaluation de la qualité de la propolis tempérée. Les flavonoïdes de la propolis sont classés en flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isodihydroflavones, flavanes, isoflavanes et neoflavonoïdes, chalcones, dihydrochalcones. (Huang et al., 2014)

➤ **Les acides phénols :**

La présence de l'acide férulique (anti inflammatoire, anti oxydant et favorisant la régénérescence cellulaire, de l'acide caféique (aux propriétés antalgiques et anti-inflammatoires), L'ester phényléthylique de l'acide caféique est une molécule qui possède de plusieurs propriétés tels que des activités anti-virales, antiinflammatoires ou encore anti-cancéreuses) (Cuvillier, 2015)

➤ **Les terpènes :**

Les terpènes expliquent l'odeur résineuse caractéristique de la propolis. Ils jouent un rôle nécessaire dans les intérêts pharmacologiques de la propolis comme les activités

antimicrobiennes et antioxydantes. Les monoterpènes acycliques, monocycliques et bicycliques sont isolés de la propolis. (Ahangari et al., 2018)

- ❖ Il existe nombreuses sortes de de la propolis, cette variété est selon la saison de récolte, végétation de provenance, son origine géographique et aussi en fonction du type de la ruche (Tableau 2).

Tableau 2 : les types et l'origine de propolis montrées mondialement. (Cardinault et al, 2012)

Type de propolis	Origine géographique	Origine botanique	Principaux constituants
Peuplier Ambrée à brune	Europe, Amérique du Nord Régions non tropicales de l'Asie, Nouvelle Zélande	Populus spp. Et Principalement <i>P. Nigra L</i>	Flavones, flavonones Acides phénols et ses esters, sesquiterpènes
Vert du Brésil	Zone tropicale du Brésil	Baccharis spp. Principalement <i>B. Dracunculifolia DC</i>	Dérivés phényles de l'acide coumarique Acide Diterpénique lignanes
Bouleau	Nord de la Russie	<i>Betula verrucosa</i>	Flavones, flavonols, Flavonones et sesquiterpènes
Propolis rouge	Cuba, Brésil, Mexique	<i>Dalbergia ecatophyllm</i>	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïde et benzophénones isoprénylées
Propolis rouge	Cuba, Venezuela	<i>Clusia-rosea</i>	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïde et benzophénones isoprénylées
Méditerranéenne	Sicile, Grèce, Malte, Turquie	Famille des Cupressaceae	Acide diterpénique Et principalement de type labdane
Pacifique	Zone pacifique (Taiwan)	<i>Macaranga tanarius</i>	Prényl - flavanones

4. Récolte de la propolis :

4.1. Récolte par les abeilles :

La récolte de la propolis est effectuée par un petit nombre d'abeilles ouvrières (qui sont dans la dernière partie de leur existence). Ces dernières sont spécialisées dans cette activité car elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au niveau de la colonie (par exemple, la récolte du nectar).

Leur travail se limite à colmater l'intérieur de la ruche. (Namur,2016)

4.2. Récolte par l'homme :

Il s'agit de deux méthodes de récolte de la propolis selon (Lotfy, 2006 ; Kuropatnicki et al., 2013)

- L'une consiste de racler et gratter des cadres ou des parois de la ruche, de préférence à une température assez basse. La propolis obtenue est appelée propolis de raclage. (Figure 25)
- Il existe également une autre méthode qui consiste à mettre des grilles ou des toiles à l'entrée de la ruche, l'abeille bouche par de la propolis les interstices des grilles ou toiles (Figure 26). Cependant, l'apiculteur modifie ces toiles ou grilles et les met dans un congélateur pendant quelques heures, la propolis détachera facilement des grilles (Djoudi.,2022)



Figure 25 : Récolte de la propolis par grattage

D'après Bogdanov, 2016



Figure 26 : Récolte de la propolis par des grilles

D'après Bogdanov, 2016

5. Utilisation de la propolis :

5.1. Par l'abeille :

- ✓ Les ouvrières utilisent la propolis pour colmater les fissures et les trous de leur ruche. (Touati et Garnelkabeche, 2021)
- ✓ Employée pour enrober les rayons et en général, tout l'intérieur de la ruche (Touati et Garnelkabeche, 2021)
- ✓ Lissage la surface intérieure et maintenir la température interne de la ruche (Kocot et al, 2018)
- ✓ En raison de son activité antimicrobienne, il contribue également à un environnement interne aseptique et est utilisé pour momifier les corps des intrus afin d'empêcher leur putréfaction à l'intérieur de la ruche (Kocot et al, 2018)

5.2. Par l'homme :

La propolis est utilisée dans différents domaines tels que :

5.2.1. La médecine :

La propolis possède un large spectre d'activités biologiques et pharmacologiques parmi eux on distingue antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antitumoral, anticancéreuse, cardioprotectrice.

5.2.2. La cosmétique :

La propolis et ses extraits sont été largement utilisée dans les produits dermatologiques et cosmétique. Les effets de la propolis sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Il possède de nombreux avantages dans diverses applications cosmétiques (Pasupuleti et al, 2017)

On peut utiliser la propolis en cosmétologie dans les préparations suivantes :

- Les shampoings et les produits de soin du cuir chevelu, pour ses propriétés antipelliculaires et antiseptiques.
- Les savons et des déodorants pour ses propriétés antiseptique
- Crèmes de soin, laits corporels et préparations antirides, pour ses propriétés antiseptiques, antioxydants et réparatrices tissulaires (Lacharme, 2011)

6. Extraction et purification de la propolis :

La propolis est retirée des ruches, puis triée manuellement pour la débarrasser de ses impuretés (notamment des morceaux de cire). On peut utiliser la propolis pure (machée ou avalée) et pour une utilisation médicale nécessite des méthodes d'extraction et de purification pour avoir des solutions dans lesquelles les constituants de la propolis seront identifiable et quantifiable.

L'extraction de la propolis est focalisée sur les trois méthodes principalement utilisées pour extraire la propolis : la macération, l'extraction par ultrasons (UE) et l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) (Eraslan et al., 2007)

Il existe Certaines méthodes d'extraction peuvent être modifiées en utilisant différents solvants. Le choix du solvant se fait en fonction de la faisabilité technique, la plupart des substances actives peuvent être solubles dans le propylène glycol, le glycol et l'éthanol. En revanche, les substances solubles dans l'eau sont moins nombreuses, mais les extraits aqueux présentent des effets bactéricides et fongicide, ainsi que l'utilisation des extraits d'acétone pour la production des produits cosmétique. (Krell, 1996)

La FAO (2016), décrit dans la plateforme TECA, trois méthodes d'extraction de la propolis :

- Méthode 1 : Extrait de propolis à l'éthanol (EEP)
- Méthode 2 : Extrait aqueux de propolis
- Méthode 3 : Extrait huileux de propolis

7. Les caractéristiques physico- chimique

7.1. Caractéristique physique

7.1.1. Consistance :

À des températures de 25°C à 45°C, la propolis est une substance molle, flexible et collante. Elle dure et cassante à des températures froides (moins de 15°C). Généralement, la propolis commence à fondre entre 60 et 70°C, par contre pour certains échantillons de propolis le point de fusion peut atteindre 100°C (Aygün, 2017)

7.1.2. Couleur :

La variété de la propolis selon l'origine botanique et géographique explique la présence de propolis vert, jaune, rouge au brun foncé (**Anjum et al, 2019**)

7.1.3. Goût :

La propolis à un goût souvent acre et parfois amer (**Marica et al. 2013**)

7.1.4. Odeur :

Variable selon son origine botanique : arôme généralement agréable et douceâtre, mélangé au miel, la cire et à d'autres produits (cannelle, vanille, etc.). Lorsqu'il est brûlé, il dégage une odeur très délicate et recherchée grâce aux résines aromatiques qu'il contient. (**El Housseini, 2013**)

8. Les caractéristiques chimiques :

Solubilité	La propolis est insoluble dans l'eau froide. D'autre part, partiellement soluble dans les alcools et acétone, éther, chloroforme propylène glycol, diméthylsulfoxyde, et le benzène. Il est important de noter que la propolis est beaucoup plus soluble dans une solution de soude caustique (Abir et al., 2020)
Densité	La densité de la propolis est de 1.2 (soit supérieure à celle de l'eau) (El Housseini, 2013)
Point de fusion	Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties : <ul style="list-style-type: none"> • Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient. • Une partie liquide appelée cire de propolis, qui reste en surface et qui trouve de nombreux usages dans le domaine apicole. (ELHousseini 2013)

9. Intérêt biologique et thérapeutiques de la propolis :

9.1. Activité antimicrobienne de la propolis :

Parmi les produits apicoles, la propolis est le produit qui présente l'activité antimicrobienne la plus élevée (Soltani, 2017). In vitro, la propolis peut agir directement sur les micro-organismes. et *in vivo*, elle peut stimuler le système immunitaire en activant les mécanismes impliqués dans la défense contre ces micro-organismes. (Chiheb et Berrahal, 2021)

9.1.1. Activité antibactérienne :

Sur la base d'études cliniques, la propolis a prouvé ses propriétés antibactériennes. Cette activité à large spectre a été démontrée sur des bactéries Gram+ et Gram- (de type anaérobie et aérobie) mais avec une plus grande efficacité sur les souches Gram+. Ses composés pourraient inhiber la croissance bactérienne par blocage de la division cellulaire, par une désorganisation du cytoplasme, par une inhibition de la synthèse protéique (Cardinault et al, 2012). Tous les types de propolis examinés ont révélé une forte activité antibactérienne sa composition diffère fortement en fonction de son origine botanique (Soltani, 2017)

9.1.2. Activité antifongique :

Pour étudier l'efficacité antifongique de la propolis, 80 souches de levures ont été testées. *Candida* ont été mis en évidence y compris (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* et *Candida guilliermondii*). (Bhargava et al., 2021)

L'activité fongicide de la propolis agit contre les germes appartenant au genre *Candida* ainsi que les champignons de type *Aspergillus* et *Mycrosporium*. (Cardinault, 2012)

9.2. Activité antioxydante :

La propolis a prouvé sa forte activité antioxydante. Grâce à sa structure chimique riche en polyphénols et en flavonoïdes (Mokhtaria, 2014). Les flavonoïdes jouent un rôle anti-âge et favorisent une meilleure circulation assistée par des ions métalliques catalysés par des radicaux libres actifs (Cui et al, 2022).

Les études ont montré que la propolis protège le foie où 21 composants isolés à partir d'un échantillon de propolis parmi lesquels : les 3', 4', 5' -trihydroxy-3, 7- diméthoxy flavonoïdes, l'ester phénéthylique de l'acide caféique, l'isorhamnétine et la quercétine qui peut diminuer le

degré d'endommagement de la membrane cellulaire sous l'effet des radicaux libres de l'oxygène en piégeant les radicaux libres et en stoppant la peroxydation des lipides et améliorer la capacité des cellules à éliminer l'anion superoxyde protéger les cellules hépatiques endommagées (Cui et al.,2021)

9.3. Activité immunomodulatrice :

La propolis peut moduler la fonction des différentes cellules immunitaires a travers le renforcement de l'activité et du mécanisme de lutte contre les agents infectieux des macrophages, des monocytes, des neutrophiles et les lymphocytes. (Ripari et al.,2021)

9.3.1. Activité anti-inflammatoire :

La capacité de la propolis à modifier la synthèse du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) a été étudiée afin d'évaluer ces activités anti-inflammatoires (Touzani et al.,2019)

L'effet anti-inflammatoire de la propolis est similaire à celui de l'aspirine. Les flavonoïdes sont responsables, en inhibant la synthèse de NO et de PG, inducteurs de l'inflammation, et en supprimant la production de NO et de PG, inducteurs de l'inflammation et en supprimant la production de cytokines inflammatoires par les monocytes/macrophages. Les composés terpéniques agirait également dans l'action anti-inflammatoire (Gharbi, 2011).

9.3.2. Activité antivirale :

La propolis est l'un des nombreux produits dont l'action antivirale a déjà été décrite. Plusieurs flavonoïdes ont une activité inhibitrice à l'égard de divers virus tels que le myxovirus, le poliovirus, le coronavirus, l'adénovirus et certains provirus. (Ripari et al.,2020)

Des études montrent que l'intégration virale des cellules hôtes peut être inhibée par les flavonoïdes de la propolis (comme la rutine, la naringénine, l'ester phénylique de l'acide caféique, la lutéoline et l'artébiline)(Bhargava et al.,2021)

10. Forme galénique :

La propolis se présente sous une forme galénique très variable, ce qui la facilite à administrer et à utiliser (Tableau 3). Il s'agit soit d'un seul ingrédient, soit d'une association avec d'autres produits destinés à thérapeutique ou cosmétique sous sa forme naturelle. Sous forme d'extraits purifiés : fluides, doux ou secs, selon l'usage thérapeutique. Ou sous forme

de granulés ou de poudre, et aussi en gélules à avaler, ou dans des déferents excipients tel que : la vaseline, la lanoline, et la cire d'abeille (**Donadieu, 2008**) (**Tableau 3**)

Tableau 3: les formes galéniques de la propolis (**Donadieu, 2008**)

Mode d'usage	Les formes galéniques
Voie général interne	Gélule : Capsules de poudre ultrafine pour usage interne général. Usage interne, pour les troubles digestifs et génito-urinaires.
	Sirop : Sirop à boire associant la propolis à des extraits de plantes à des huiles essentielles, indiqué pour les affections broncho-pulmonaires.
Voie local interne	Bain de bouche : de Bouteille de liquide à diluer dans l'eau pour les bains de bouche et pour lutter contre la mauvaise haleine et prévenir l'inflammation de la muqueuse buccale
Voie local externe	Crème : Tube de crème pour utilisation locale dans une large gamme d'indications dermatologiques.
	Baume d'En Calcat à la propolis : Fabriqué à partir de propolis, de cire d'abeille et des huiles végétales. Ce baume est indiqué pour améliorer le confort musculaire et articulaire (Arthrose)

Deuxième Partie
Etude expérimentale

Matériels et méthodes

Objectif :

Ce travail est pour l'objectif d'évaluer l'activité neuroprotectrice de la propolis sur la maladie d'Alzheimer chez les souris NMRI.

1. Produit apicole :

Le produit opté dans notre étude c'est la solution aqueuse de la propolis récoltée en 2019 provenant de l'industrie d'apiculture Balpamak Kampüs Çekmeköy/İstanbul, Turquie. (Figure27)



Figure 27 :Solution aqueuse de la propolis

2. Modèle animal :

Pour réaliser notre étude expérimentale un effectif de 34 souris femelles de souche NMRI ayant un poids corporel 30 ± 5 g a été procuré auprès de l'Institut de Pasteur d'Alger (IPA). L'expérimentation est effectuée au niveau de l'animalerie du laboratoire de recherche de pharmacognosie et Api-Phytothérapie de l'université de Mostaganem où les animaux ont bénéficié d'une période d'adaptation. Un régime alimentaire standard et un accès libre à l'eau de robinet sont mis à leur disposition, avec un cycle nyctéméral de 12h lumière/12h obscurité et une température favorable.

3. Test de toxicité :

En vue de déterminer les effets secondaires de la propolis, un test de toxicité a été réalisé avant d'entamer notre expérimentation. La procédure a été établie conformément à la méthode décrite par l'organisation de la coopération économique et développement (OCDE, 2008).

3.1.Principe :

Ce test est basé sur l'administration des différentes doses de la propolis aux animaux. L'observation de toute apparition des signes de toxicité ; changement de comportement et mortalité sont notés pendant 14 jours.

3.2. Protocole:

Le test a été réalisé sur un effectif de 9 souris réparties en trois groupes correspondant aux trois doses administrées par gavage gastrique comme suit :

Groupe 1 (n=3) : reçoit la solution de propolis à une dose de 150 mg/kg

Groupe 2 (n=3) : reçoit la solution de propolis à une dose de 300 mg/kg

Groupe 3 (n=3) : reçoit la solution de propolis à une dose de 500 mg/kg(**Figure 28**).



Figure 28: figure représente la répartition des lots de test de toxicité

4. Evaluation de l'activité neuroprotectrice de la propolis :

Notre protocole est réparti en deux phases avec une durée de 45 jours chacune: le traitement préventif suivi par l'induction de la maladie d'Alzheimer.

❖ Première phase :

L'administration quotidienne de la solution de la propolis et le médicament synthétique Rivastigmine 1,5mg/kg (ExelonMC) par gavage gastrique a été réalisée du 1er jour jusqu'au 45ème jour de l'expérimentation à l'aide d'une sonde intra gastrique. **(Figure 29)**



Figure 29: Administration de la solution par gavage gastrique

❖ Deuxième phase : Induction de la maladie d'Alzheimer :

La maladie est provoquée par l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) par voie orale à 100mg/kg combiné au D-Galactose à 120mg/kg par voie intra péritonéale (IP) quotidiennement durant 45 jours. **(Figure 30)**

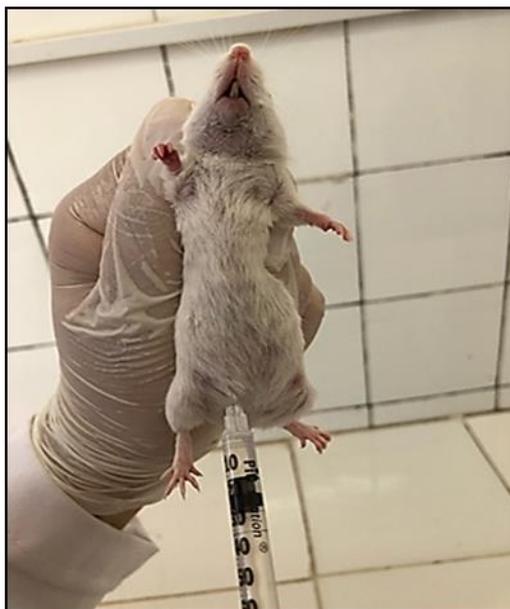


Figure 30: Injection par voie intra péritonéale (IP)

5. Répartition des lots d'expérimentation :

Un effectif de 25 souris a été réparti en 5 groupes dont 5 souris chacun, comme suit :

Groupe T (n=5) : considéré comme un témoin, reçoit que l'eau distillée.

Groupe ALZ (n=5) : représente le groupe souris modèle Alzheimer.

Groupe STD (n=5) : représente les souris traitées par le médicament synthétique choisi Rivatigmine 1,5mg/kg pendant 45 jours suivis par l'induction de la maladie d'Alzheimer.

Groupe ALZ-TrD1 (n=5) : représente les souris traitées par la propolis à dose de 150mg/kg pendant 45 jours suivis par l'induction de la maladie d'Alzheimer.

Groupe ALZ-TrD2 (n=5) : représente les souris traitées par la propolis à dose de 300mg/kg pendant 45 jours suivis par l'induction de la maladie d'Alzheimer. (**Figure 31**)



Figure 31: figure représente la répartition des lots d'expérimentation

6. Paramètres biologiques étudiés :

6.1. Evolution pondérale :

Des mesures hebdomadaires du poids corporel des souris ont été effectuées durant toute la période d'expérimentation (90 jours).

6.2.Solution consommée :

Chaque semaine la solution consommée par les souris a été mesurée pour chaque lot pendant les 90 jours d'expérimentation.

6.3.Tests neurologiques :

6.3.1. Tests de comportement :

6.3.1.1.Activité locomotrice:

L'animala été placé dans un espace fermé de 32X32 cm² et divisée en 16 carrés identiques, numérotésde 1 à 16 (**Figure 32**). Le comportement de la souris dans un nouvel environnement a été évalué pendant 20 minutes, réparties en quatre phases consécutives de 5 min chacune. Chaque déplacement est considéré comme un score.

Il est nécessaire de laisser un temps de repos entre chaque phase afin de permettre à la souris d'explorer son nouvel environnement sans lui induire un stress, qui pourrait engendrer des résultats erronés. (**Pittaras,2011**).

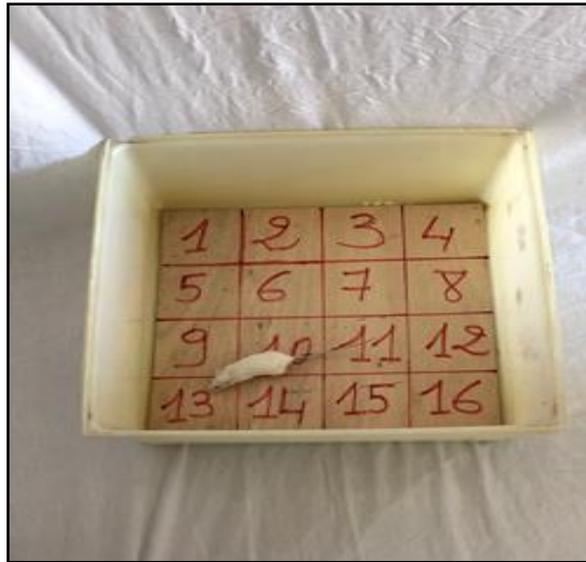


Figure 32: Test de l'activité locomotrice

6.3.1.2. Tests de l'anxiété :

Dans ce test deux épreuves ont été réalisés :

❖ **Compartment noir/blanc :**

Ce modèle permet une évaluation simple et rapide de l'anxiété comportementale et sa modification comparée entre un compartiment éclairé et un compartiment sombre. Le temps total passé dans chaque compartiment a été enregistré pendant 20 min réparties en 4 phases de 5 minutes chacune. (Rebai et Djebli, 2008) (figure33)



Figure 33: Test de l'anxiété (compartiment noir/blanc)

❖ Labyrinthe en croix surélevé

Est un test de mesure d'un comportement de type anxieux développé. Il est constitué d'une croix surélevée de 50 cm dont deux couloirs opposés l'un ouvert (non protégé) et l'autre fermé (protégé) reliés par une plateforme centrale. Bras ouverts sont donc plus anxiogènes pour la souris (**Figure 34**). La souris est placée au centre du labyrinthe en croix pendant 5 minutes, le temps passé dans chaque type de bras est mesuré.

La souris est considérée comme entrée dans un bras lorsqu'elle a ses quatre pattes dans ce bras. Ce test permet d'évaluer l'anxiété de la souris en comparant le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts par rapport aux bras fermés. (**Schmitt, 2018**)



Figure 34: Test de l'anxiété (labyrinthe en croix surélevée)

6.3.1.3. Test de persolt (la nage forcée) :

Le test de Persolt ou de la nage forcée, est un modèle d'immobilité comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Porsolt et al. 1977**). Le principe de ce test est de forcer la souris à nager dans une situation à laquelle elle ne peut s'échapper dans un bain d'eau tiède à 25 C°. Après une période initiale d'activité vigoureuse, elle finit par ne plus bouger du tout, ne faisant que les mouvements nécessaires pour garder la tête hors de l'eau, adoptant un comportement de désespoir. Cette immobilité comportementale est le signe d'un état de désespoir dans lequel la souris a appris que la fuite est impossible et se résigne aux conditions expérimentales. Le but de ce test est de calculer le temps d'immobilité de chaque souris. (**Figure 35**)



Figure 35: Test de Persolt

6.3.2. Tests de mémoire :

6.3.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras :

❖ Mémoire spatiale de travail (MST)

Cette épreuve a été mise au point par **Olton (1997)**. Dans ce test la nourriture est déposée à une extrémité d'un couloir des huit. Ensuite la souris est placée sur la plateforme centrale avec un accès libre vers tous les couloirs durant cinq minutes (**Figure 36**). La souris doit chercher la nourriture au fond de chaque couloir, chaque erreur est enregistrée si la souris visite deux fois le même couloir. Le nombre de visite pour chaque souris est comptabilisé au cours de 4 essais d'apprentissage pendant 4 jours et le 5^{ème} jour représente le test.



Figure 36: Test de mémoire spatiale de travail

❖ **Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR) :**

Dans cette épreuve, seulement deux bras du labyrinthe sont utilisés, l'un est éclairé avec de la nourriture à son extrémité, l'autre bras obscurité. L'animal est déposé dans le centre du labyrinthe et les deux bras sont ouverts simultanément (**Figure 37**), et c'est à ce moment-là que le test commence. Le temps de séjour dans le bras éclairé est mesuré au cours de 4 essais d'apprentissage pendant 4 jours et le 5^{ème} jour représente le test, durant cinq minutes par jour. (Cole et Chappell-Stephenson, 2003)

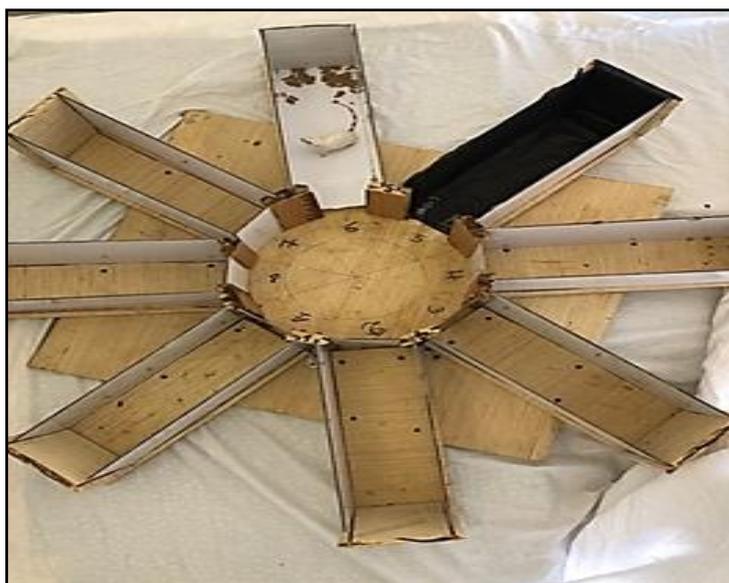


Figure 37: Test de mémoire spatiale de référence conditionnée

❖ Distinction de position :

Au cours de ce test six bras du labyrinthe sont utilisés. La souris est déposée sur la plateforme centrale et les six bras sont ouverts l'un après l'autre trois avec nourriture (bras appâtés) et les autres sans nourriture (bras non appâtés). Le test sera réalisé par l'ouverture des bras en paire de bras appâté et non appâté (3 paires en total) (**Figure 38**). Le score étant enregistré à chaque fois en raccordant le nombre de bras appâtés choisi par chaque souris mesuré au cours de 4 essais d'apprentissage pendant 4 jours et le 5^{ème} jour représente le test. Durant cinq minutes chaque jour. (**Lenck-Santini et al., 2001**)



Figure 38: Mémoire de distinction de position

6.3.2.2. Piscine de Morris :

La piscine de Morris est l'un des tests les plus utilisés, elle a été conçue par **Morris (1984)** pour évaluer les capacités à mémoriser et à gérer l'information spatiale dans une situation peu agréable pour la souris. L'animal doit échapper à une situation aversive en se réfugiant sur une plate-forme. Pour cela, il doit se forger et utiliser une représentation de son environnement en se basant sur les indices spatiaux disponibles. (**Seron et Van der Linden, 2014**). Deux tests sont considérés :

❖ Mémoire spatiale de travail (MST) :

La souris est placée dans un récipient de 147cm de diamètre à 25 cm de hauteur, contenant de l'eau tiède maintenue à 21C°. Une plate-forme apparente est placée dans la piscine qui est entourée de repères visuels (**Figure 39**). Le temps que met la souris pour monter sur la plate-forme est calculé au cours de 4 essais d'apprentissage pendant 4 jours et le 5ème jour représente le test. Chaque séance dure 5 minutes.



Figure 39: Mémoire spatiale de travail

❖ Mémoire spatiale de référence (MSR) :

L'eau du récipient est colorée à l'aide d'un colorant non toxique pour rendre la plateforme invisible (**Figure 40**). Le temps que met la souris pour retrouver la plateforme est calculé au cours de 4 essais d'apprentissage pendant 4 jours et le 5ème jour représente le test durant 5 minutes.



Figure 40: Mémoire spatiale de référence conditionnée

7. Sacrifice :

A la fin de l'expérimentation, les souris sont soumises au jeûne pendant une nuit. Le jour qui suit, elles sont anesthésiées par le chloroforme et par la suite sacrifiées. Le cerveau, le foie et les reins ont été prélevés pour l'étude histologique (**figure 41**) (**figure 42**).

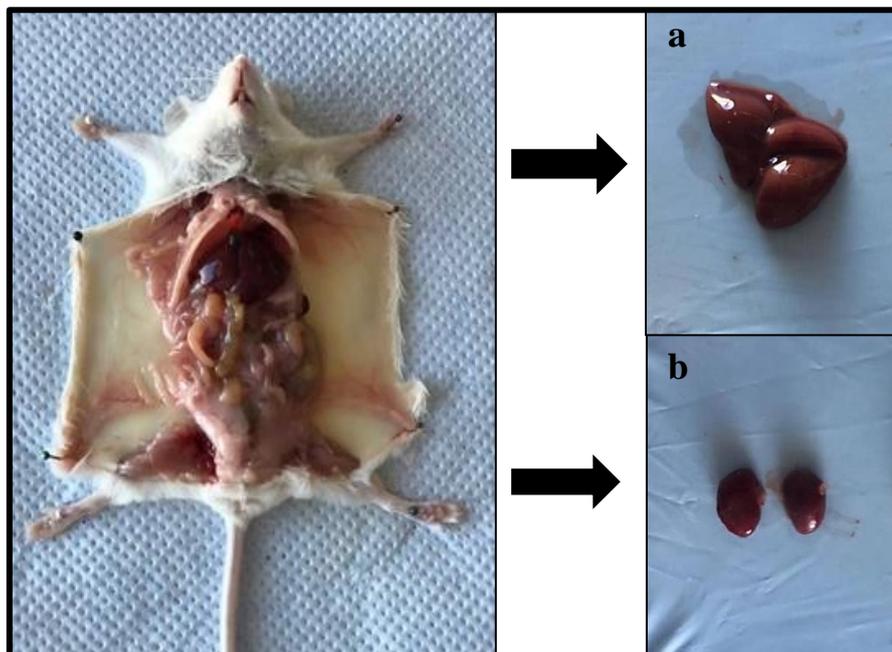


Figure 41 :Le prélèvement des organes. (a) le foie ; (b) les reins.



Figure 42: Le prélèvement du cerveau

8. Etude histologique :

L'étude histologique est effectuée à la fin de l'expérimentation au niveau du laboratoire « Pharmacognosie & Api-phytothérapie » de l'université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem, suivant le manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie (Marck, 2010).

8.1. Fixation :

Les organes prélevés sont fixés dans une solution de formol à 10%.

8.2. Macroscopie :

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire. Préparation des fragments pour chaque organe, puis l'introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord.

8.3. Imprégnation (circulation) :

Afin d'obtenir des coupes d'une épaisseur appropriée il faut durcir le tissu, cela est réalisé par son imprégnation par une matière rigide qui lui donne la résistance mécanique voulue. Cette étape repose sur la substitution de l'eau dans les tissus par une solution hydrophobe chimiquement inactive telle que la paraffine.

Plusieurs étapes doivent être suivies :

- Post fixation :
 - 1 bac de formol à 10%
- Déshydratation
 - 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure
 - 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure
 - 1 bac d'acétone durant 2 heures
- Substitution
 - 1 bac de toluène / xylène durant 2 heures
- Imprégnation
 - 1 bac de paraffine à 70°C durant 1 heure

8.4.Inclusion

Mise de la pièce prélevée dans un moule en acier et son enrobage avec de la paraffine liquide. Une fois le bloc préparé, il est stocké dans un congélateur (-20°C)

8.5.Microtomie

Cette étape permet la réalisation des coupes sur le bloc à l'aide d'un microtome. L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4µm). Les coupes sont ensuite étalées sur des lames de verre en utilisant une plaque chauffante afin d'éviter la formation de plis et de stries.

8.6.Coloration

Avant l'étape de déparaffinage, un séchage des lames est nécessaire pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre. Cette cuisson est réalisée dans une étuve à 58°C pendant 1 heure.

➤ **Déparaffinage :**

La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer.

- 1 bac de xylène durant 10 mn.

➤ **Réhydratation**

Consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol pour amener à l'eau.

- 1 bac d'éthanol à 70% durant 5 mn
- 1 bac d'éthanol à 80% durant 5 mn
- 1 bac d'éthanol à 96% durant 5 mn
- Rinçage à l'eau durant 10 mn

➤ **Coloration**

La coloration est réalisée avec de l'Hématoxyline/Eosine

- 1 bac d'hématoxyline de Harris durant 5-10mn
- 1 bac d'eau acidifié
- 1 bac d'eau basique
- 1 bac d'éthanol 96%
- 1 bac d'éosine durant 5 mn
- 2 bacs d'acétone, 5 min chacun
- 1 bac de toluène ou xylène jusqu'au montage

8.7.Montage

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique (solution EUKITT) une lamelle couvre-objet sur la coupe afin de la protéger.

8.8.Lecture microscopique

Les tissus étudiés sont observés après montage par un microscope optique qui utilise la lumière visible pour évaluer certaines formes cellulaires et tissulaires. La lecture microscopique est effectuée après coloration des tissus qui permet d'évaluer l'état cellulaire mis en évidence des structures, cette étape est réalisée par l'Hématoxyline/Eosine qui aide à colorer les noyaux en couleur mauve et le cytoplasme en rose claire

9. Analyse statistique

L'analyse statistique des données expérimentales obtenues lors des tests effectués a été réalisée à l'aide d'un logiciel XLstat. Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne plus au moins écart type. Significatif ($P < 0,05$) ; très significatif ($P < 0,01$) ; hautement significatif ($P < 0,001$).

Résultats et discussion

I. Résultats :

1. Test de toxicité :

L'administration intra gastrique de la solution aqueuse de la propolis à dose de 150mg/kg, 300mg/kg et 500mg/kg chez les souris n'a induit aucun signe de toxicité aux cours des 14 jours d'observation (**Tableau 4**)

Tableau4 : Résultats du test de toxicité de la solution de propolis à 150, 300 et 500 mg/kg au cours de 14 jours d'observation. (-) : rien n'a signalé.

	30min	3h	24h	48h	72h	4 ^{ème} J → 14 ^{ème} J
150mg/kg	-	-	-	-	-	-
300mg/kg	-	-	-	-	-	-
500mg/kg	-	-	-	-	-	-

2. Paramètres biologiques étudiés :

2.1. Evolution pondérale

Durant la première phase qui représente le traitement préventif, la moyenne de l'évolution pondérale indique un intervalle de poids corporel entre 28 et 33g pour l'ensemble des lots d'expérimentation. Le groupe témoin (T) et les souris modèle Alzheimer traité (STD), (ALZ-TrD1) et (ALZ-TrD2) restent presque stable, alors que les souris de modèle Alzheimer ont marquées par une augmentation hautement significative dans la masse corporelle comparativement au groupe témoin. (**Figure 43a**)

Concernant la deuxième phase qui consiste à l'induction de la maladie d'Alzheimer (MA), on a remarqué une stabilité de masse corporel chez les souris model Alzheimer et le groupe témoin par rapport aux groupes traités par la propolis à 150 et 300mg/kg (Alz-Tr D1), (Alz-Tr D2) et par le traitement synthétique rivastigmine à 1,5 mg/kg (STD) qui ont indiqué une légère augmentation dans le poids. (**Figure 43b**)

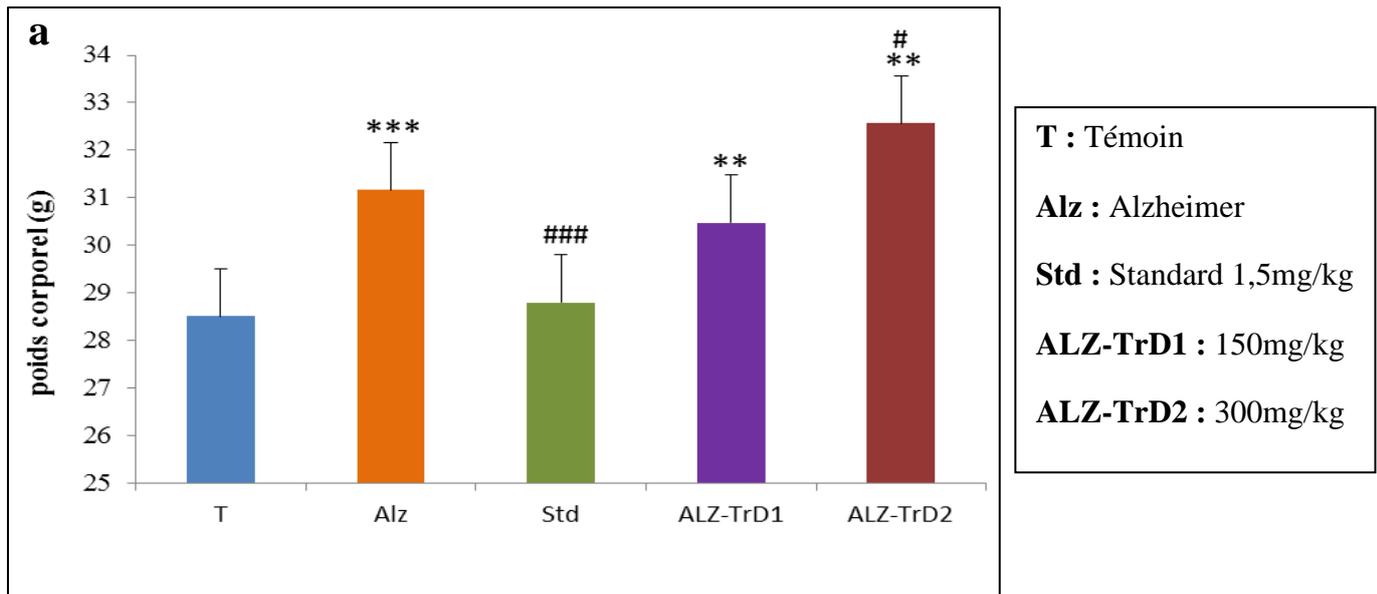


Figure 43a : moyenne de l'évolution pondérale des souris durant la première phase.

très significatif ($p < 0.01$), *hautement significatif ($p < 0,001$) ; #significatif ($p < 0.05$), ###hautement significatif. Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

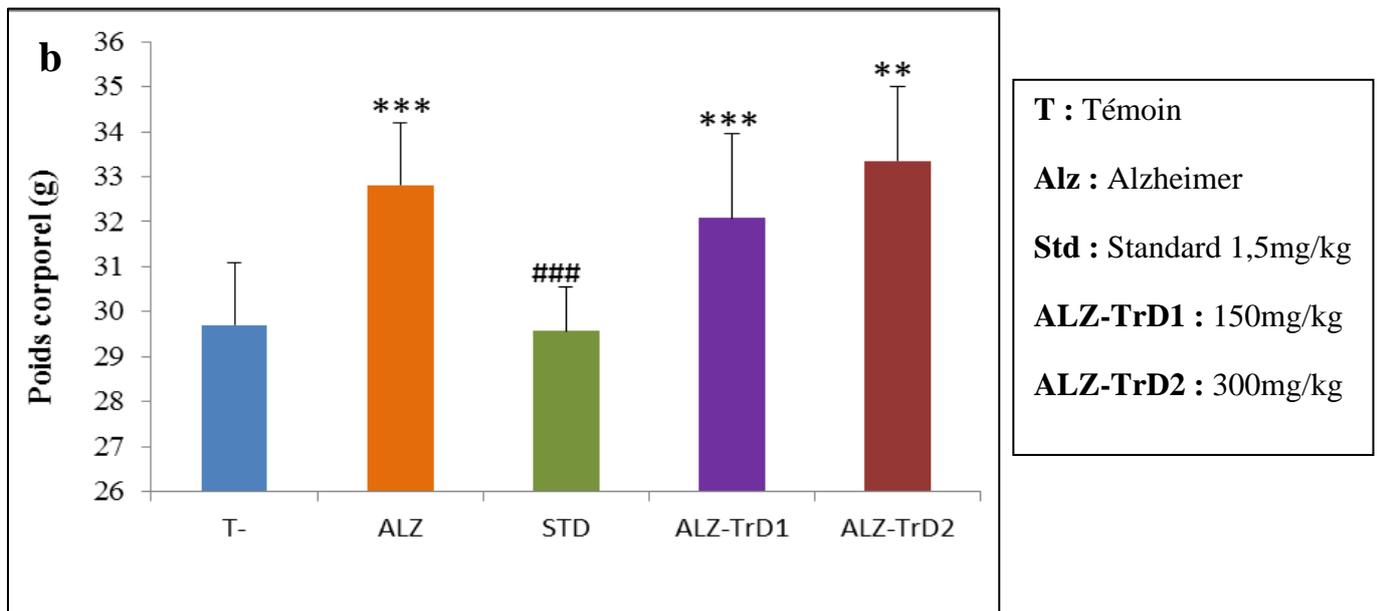


Figure43b: moyenne de l'évolution pondérale des souris durant la deuxième phase. **très significatif ($p < 0.01$), ***hautement significatif ($p < 0,001$) ; ###hautement significatif. Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

2.2. Consommation de solution :

La consommation de solution est également faible chez les souris modèle Alzheimer traité par la propolis à 300 mg/kg (ALZ-Tr D2), par rivastigmine à 1,5 mg/kg (STD) et groupe témoin par rapport aux groupe modèle Alzheimer et modèle Alzheimer traité à 150mg/kg (ALZ-Tr D1) au cours de la période du traitement préventif. **(Figure 44a)**. Pendant la deuxième phase qui représente l'induction de la maladie, les souris modèles Alzheimer (ALZ) consomment un volume significativement supérieur comparativement aux souris modèle Alzheimer traité (ALZ-TrD2) ainsi que le groupe témoin. **(Figure 44b)**

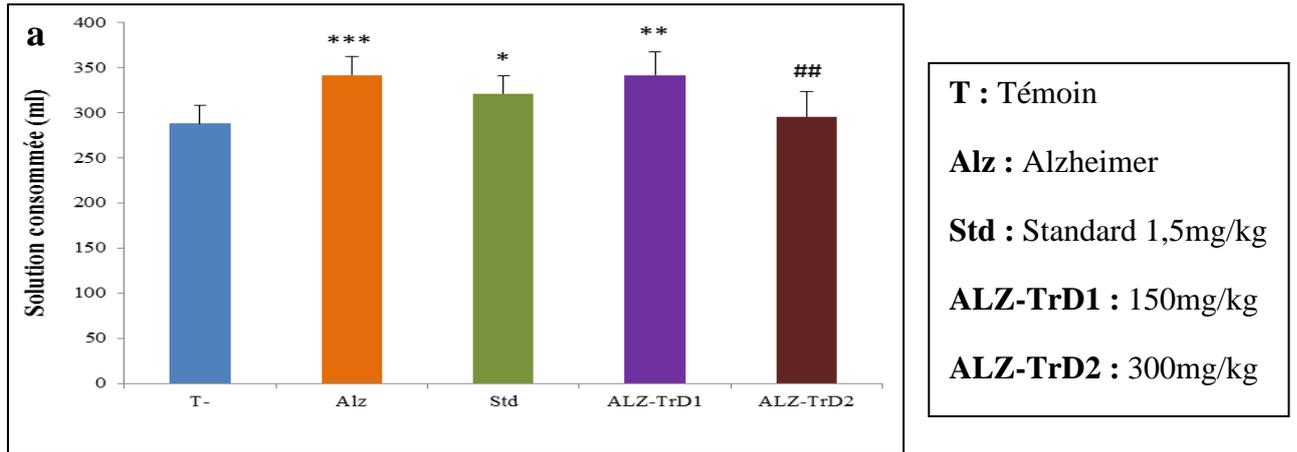


Figure 44a: moyenne de volume de la solution consommée par les souris durant la première phase. *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$), ***hautement significatif ($p < 0,001$) ; ## très significatif (0,01). Comparativement au groupe témoin (*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

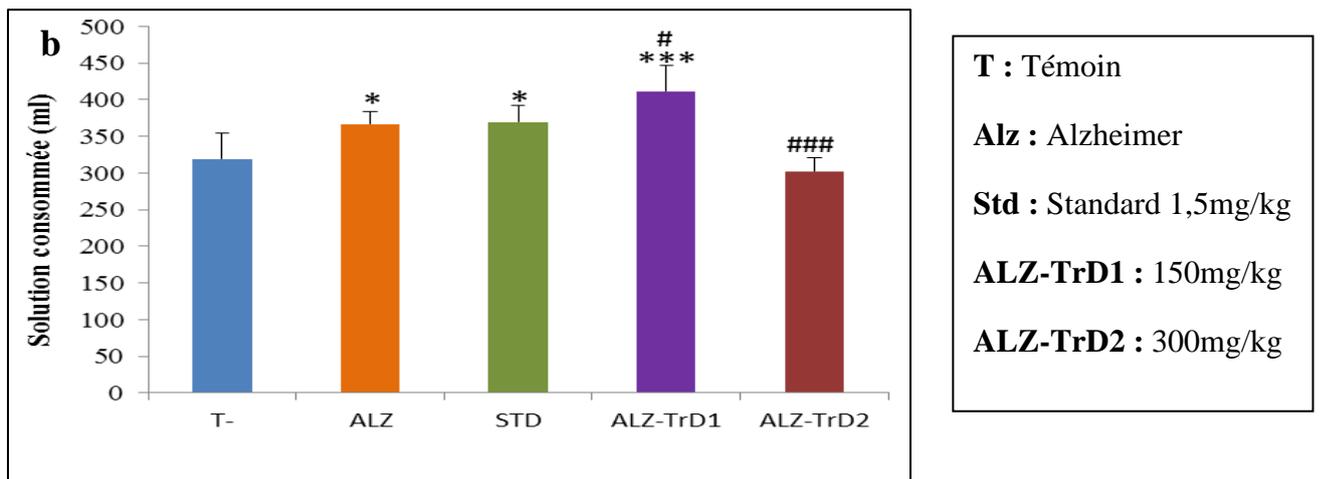


Figure 44b : moyenne de la solution consommée par les souris durant la deuxième phase. *significatif ($p < 0.05$), ***hautement significatif ($p < 0.001$) ; #significatif, ### hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

2.3. Test neurologiques :

2.3.1. Test de comportement :

2.3.1.1. Activité locomotrice :

Les résultats de la moyenne des quatre phases de l'activité locomotrice obtenus affichent une hypoactivité locomotrice remarquable chez les souris modèle Alzheimer (ALZ) comparativement au groupe témoin (T) et les groupes des souris modèle Alzheimer traitées (STD), (ALZ-TrD1) et (ALZ-TrD2). (Figure 45)

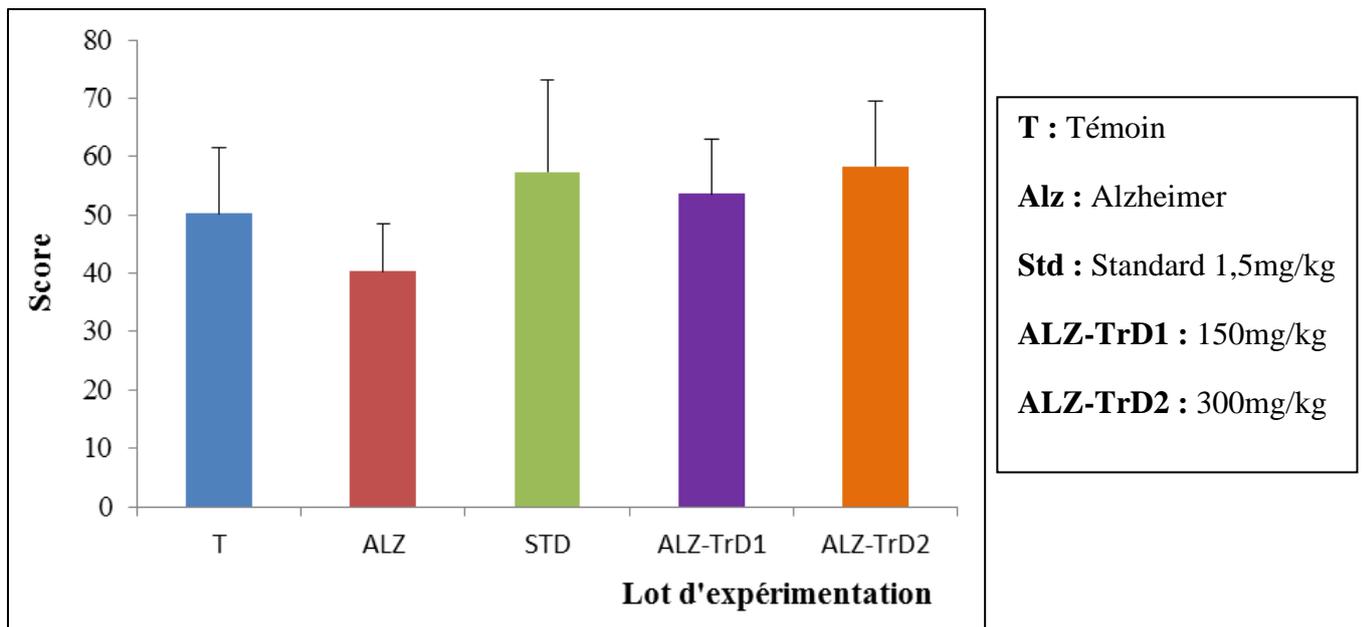


Figure 45 : Moyenne des quatre phases de l'activité locomotrice.

Aucune signification n'est trouvée d'après les résultats de ce test.

Test d'anxiété:

• **Labyrinthe en croix surélevé :**

Les résultats obtenus montrent que les groupes des souris traitées par la propolis à 150 et 300 mg/kg (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et par la rivastigmine à 1,5 mg/kg (STD) passent moins de temps dans le couloir protégé que le groupe modèle Alzheimer (ALZ). La même observation entre groupe modèle Alzheimer et témoin mais avec une faible différence (Figure 46)

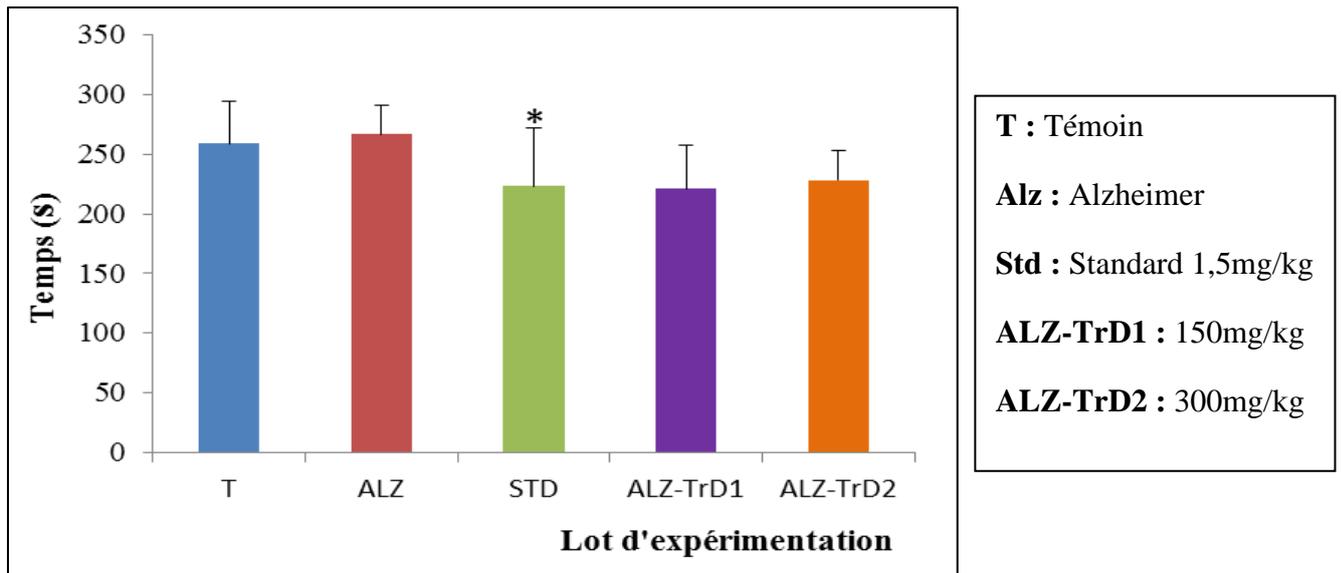


Figure 46: Moyenne des phases du test de labyrinthe en croix surélevé.
significatif ($p < 0.05$). Comparativement au groupe témoin().

- **Double compartiment noir et blanc :**

Les résultats de la moyenne des quatre phases de ce test indiquent une préférence significative ($p < 0.05$) pour le compartiment noir chez les souris modèle Alzheimer traitées par la propolis à 150 et 300 mg/kg (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) ainsi que chez le groupe témoin (T) comparativement aux souris modèle Alzheimer (ALZ) (**Figure 47**).

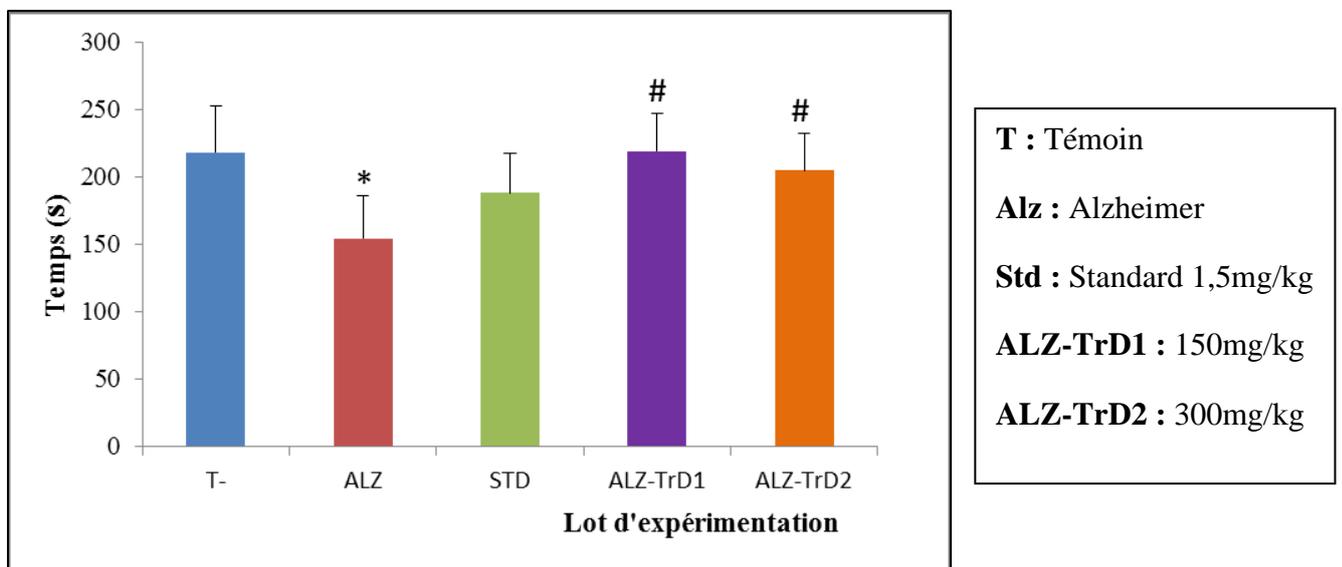


Figure 47 : Moyenne des quatre phase du test de double compartiment noir et blanc.
significatif ($p < 0.05$).; #sifnificatif ($p < 0,05$). Comparativement au groupe témoin(), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

2.3.1.2. Test de persolt (la nage forcée) :

Durant le test de persolt on a constaté que le temps d'immobilité enregistré chez le groupe des souris modèle Alzheimer (ALZ) est moins que celui enregistré chez le groupe témoin (T) et les groupes de souris traitées par la propolis à 150 et 300mg/kg (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et par le rivastigmine à 1,5mg/kg (STD). (**Figure 48**)

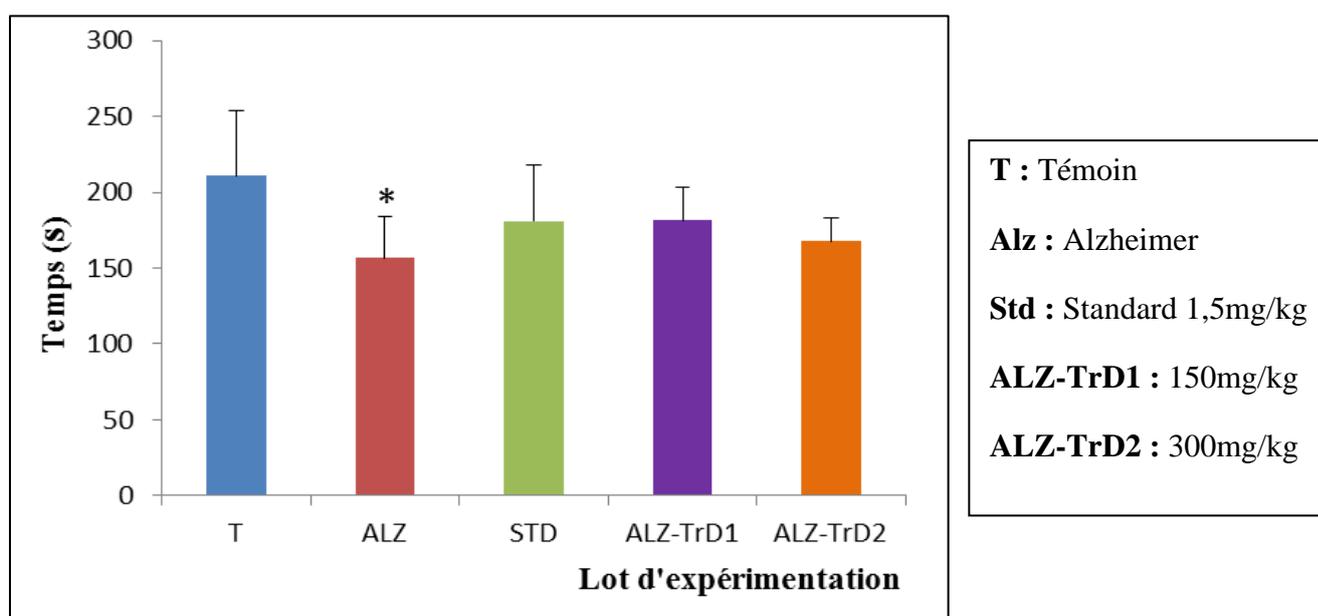


Figure 48: Moyenne des quatre phases du test de persolt (la nage forcée). *significatif ($p < 0.05$). Comparativement au groupe témoin(*).

2.3.2. Test de mémoire :

2.3.2.1. Labyrinthe radiaire à huit bras :

- **Mémoire spatiale de travail (MST) :**

Les scores (nombre d'erreur) enregistrés durant le test de mémoire spatiale de travail MST durant les 4 jours d'apprentissage montrent que la visite répétée des couloirs par les souris de modèle Alzheimer (ALZ) est plus importante par rapport au groupe témoin. Une différence très significative et hautement significative est marquée chez les groupes des souris traitées par la propolis à 150 et 300mg/kg (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et par le rivastigmine à 1,5mg/kg (STD) comparativement aux souris modèle Alzheimer au cours des trois derniers jours d'apprentissage (**Figure 49a**).

Lors de 5^{ème} jour qui représente le test, le nombre d'erreur notés par les souris modèle Alzheimer (ALZ) est significativement élevé en comparaison avec le groupe témoin (T)(Figure 49b).

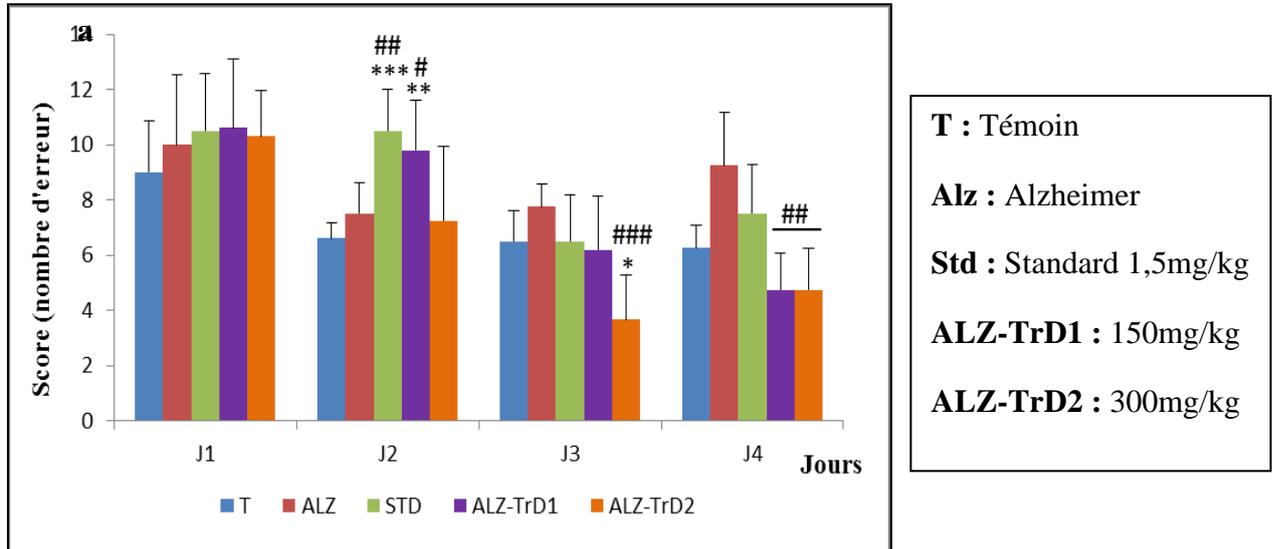


Figure 49a : les résultats du 5^{ème} jour du test de mémoire spatiale de travail MST. *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$), ***hautement significatif ($p < 0.001$); #significatif ($p < 0.05$), ## très significatif ($p < 0.01$), ### hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

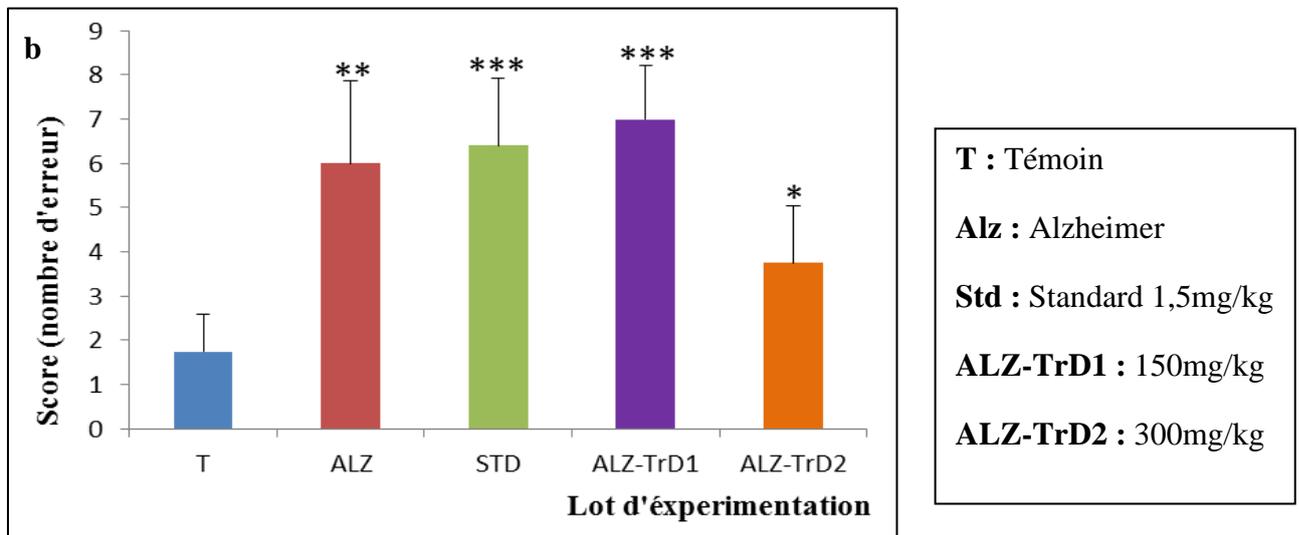


Figure 49b: les résultats du 5^{ème} jour du test de mémoire spatiale de travail MST. *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$), ***hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*).

Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR) :

Le test de mémoire spatiale de référence conditionnée indique durant les deux premiers jours d'apprentissage que les souris modèles Alzheimer passent un séjour plus court dans le bras éclairé par rapport au groupe témoin (T) et hautement significative en comparaison avec les groupes des souris traitées (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et (STD). Ainsi que dans le troisième jour d'apprentissage une différence hautement significative était marquée entre le groupe des souris modèle (ALZ) et groupe des souris modèle Alzheimer traitées par la propolis à 300mg/kg (ALZ-TrD2). (Figure 50a)

Ce qui concerne le 5^{ème} jour, un séjour plus court dans le bras éclairé est significativement noté chez les souris modèle Alzheimer (ALZ) comparativement aux souris du groupe témoin. (Figure 50b)

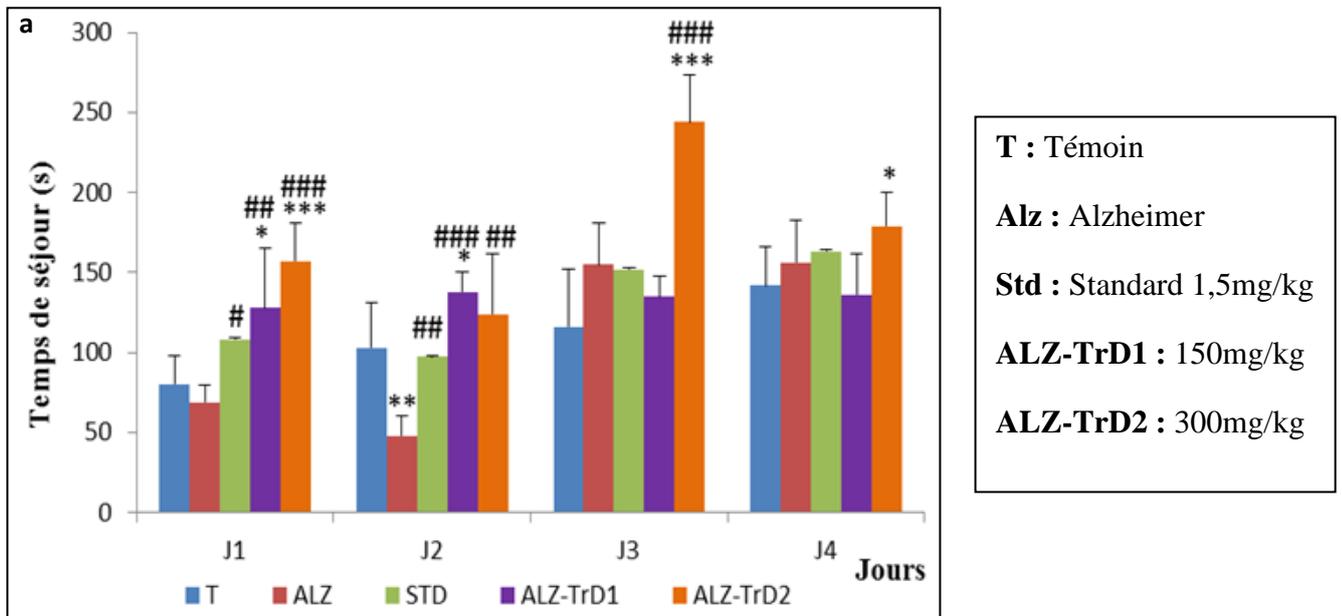


Figure 50a: les résultats du test mémoire spatiale de référence conditionnée MSR (4jours d'apprentissage). *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$), ***hautement significatif ($p < 0.001$); #significatif ($p < 0.05$), ## très significatif ($p < 0.01$), ### hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

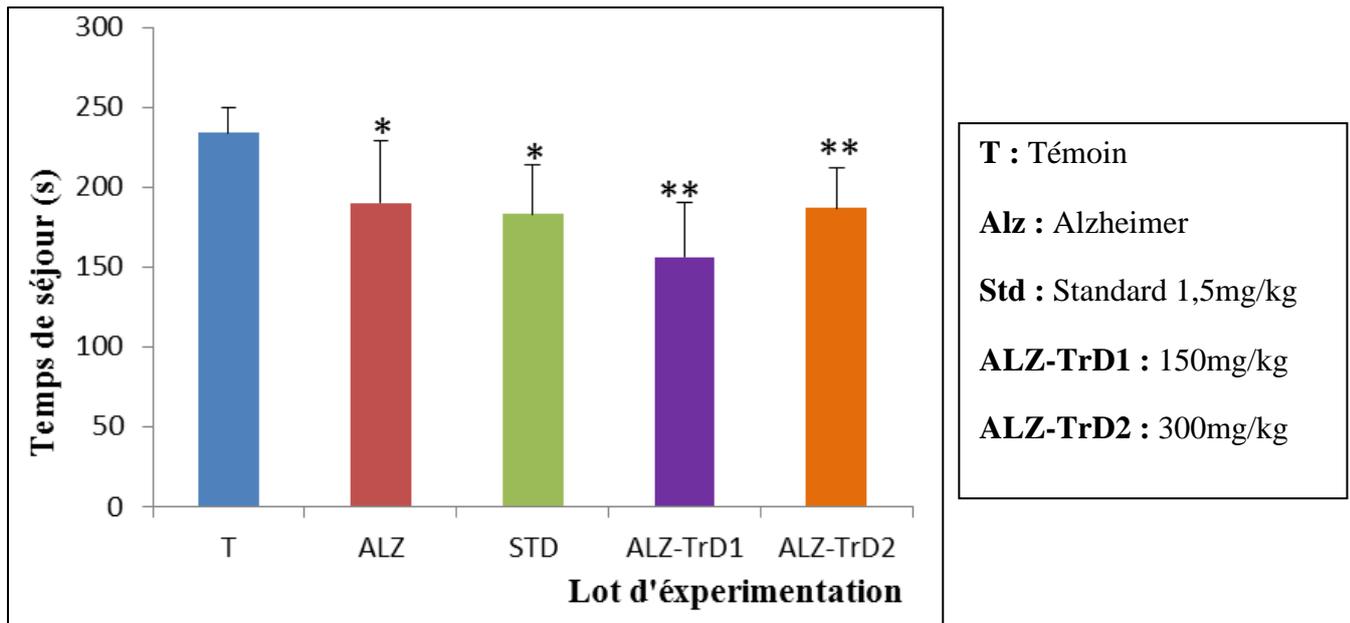


Figure 50b : les résultats du test mémoire spatiale de référence conditionnée MSR (4jours d'apprentissage). *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$). Comparativement au groupe témoin(*).

- **Distinction de la position :**

Les résultats obtenus lors du test de la distinction de la position au cours des jours d'apprentissage révèlent que pendant le deuxième et le troisième jour le groupe témoin (T) et le groupe des souris traitées par la propolis à 300mg/kg ont marqué une différence significative et très significative respectivement comparativement au souris modèle Alzheimer (ALZ).(**Figure 51a**)

Durant le jour du test les souris de groupe témoin et traitées par la propolis (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et par le traitement synthétique choisi (STD) affichent un score des visites dans les bras appâtés inférieurs comparativement au souris modèle Alzheimer (ALZ). (**Figure 51b**)

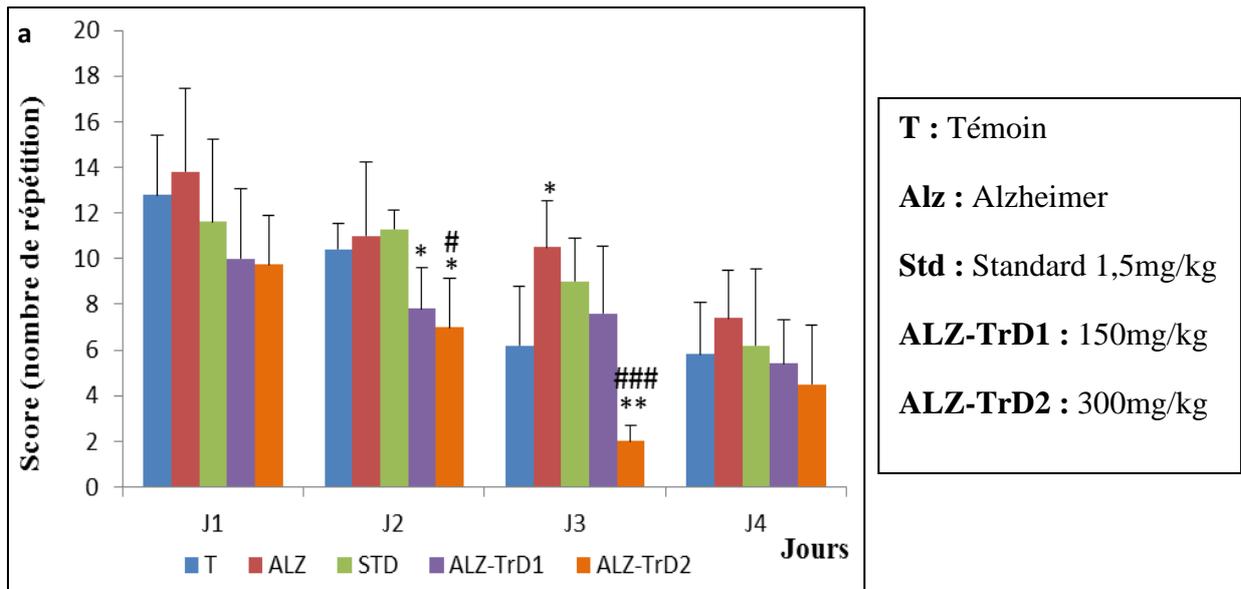


Figure 51a: les résultats du test de la distinction de la position (4jours d'apprentissage). *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$) ; #significatif ($p < 0.05$), ### hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

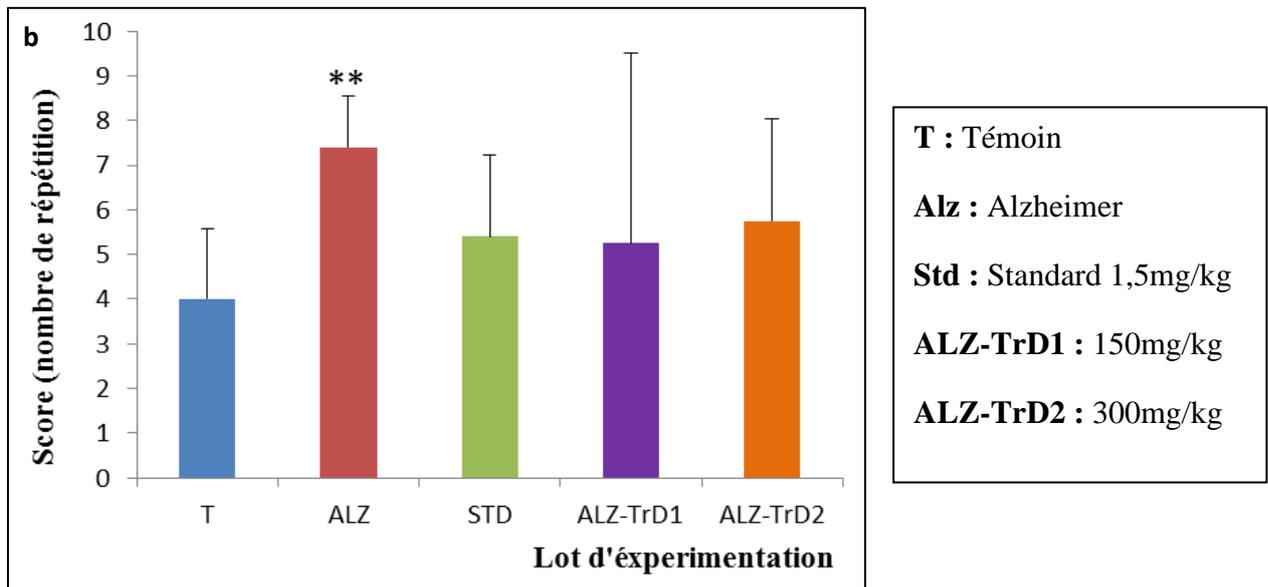


Figure 51b : les résultats du 5^{ème} jour du test de la distinction de la position. **très significatif ($p < 0.01$). Comparativement au groupe témoin(*).

Piscine de Morris :

• **Mémoire spatiale de travail (MST) :**

D'après les résultats des quatre jours d'apprentissage du test de la piscine de Morris effectué à la fin du protocole expérimental, durant le premier et le deuxième jour les souris modèles Alzheimer (ALZ) nécessitent un temps important à retrouver la plateforme visible comparativement aux souris groupe témoin (T) et les souris des groupes traités (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et (STD). Contrairement aux deux jours suivants qui ont montré une augmentation très significative du temps que le groupe témoin réalisé par rapport aux autres groupes modèle Alzheimer (ALZ) et modèle Alzheimer traités (ALZ-TrD1) et (ALZ-TrD2). (Figure 52a)

Concernant le 5^{ème} jour, une augmentation du temps remarquable observée chez le modèle Alzheimer traité par la propolis à 300mg/kg (ALZ-TrD2) par rapport aux autres groupes qui ont atteint la plateforme dans un temps significativement plus court. (Figure 52b)

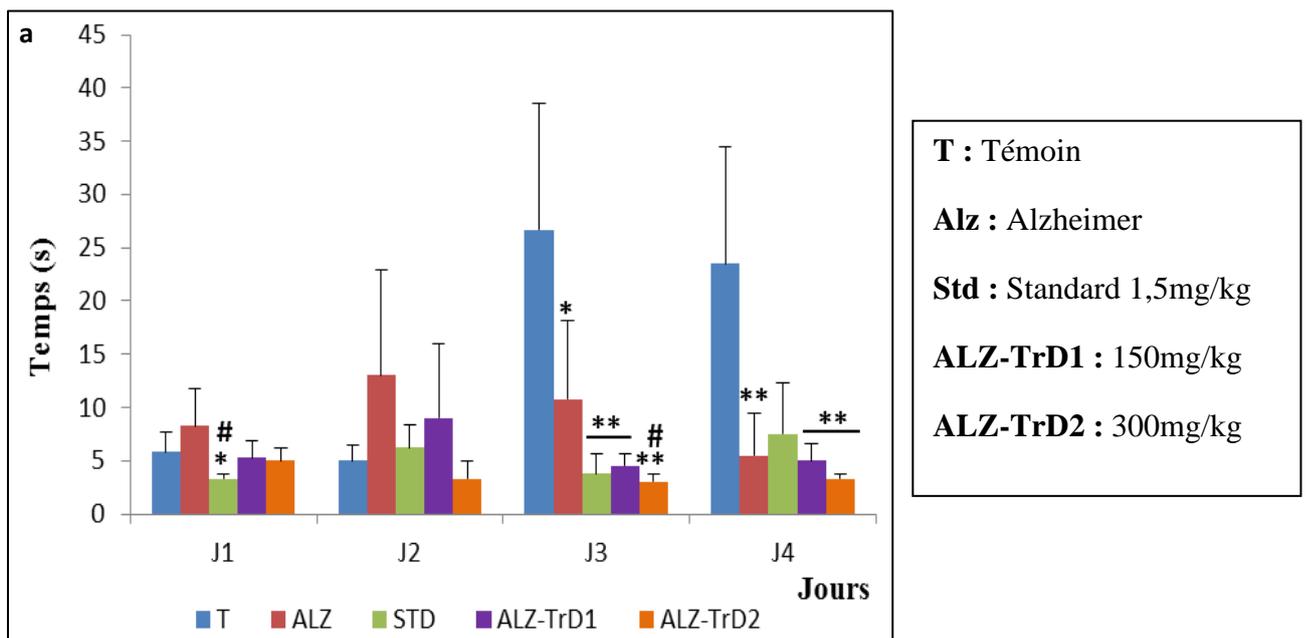


Figure 52a: les résultats du test de Morris mémoire spatiale de travail MST (4jours d'apprentissage). *significatif ($p < 0.05$), **très significatif ($p < 0.01$) ; #significatif ($p < 0.05$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

b

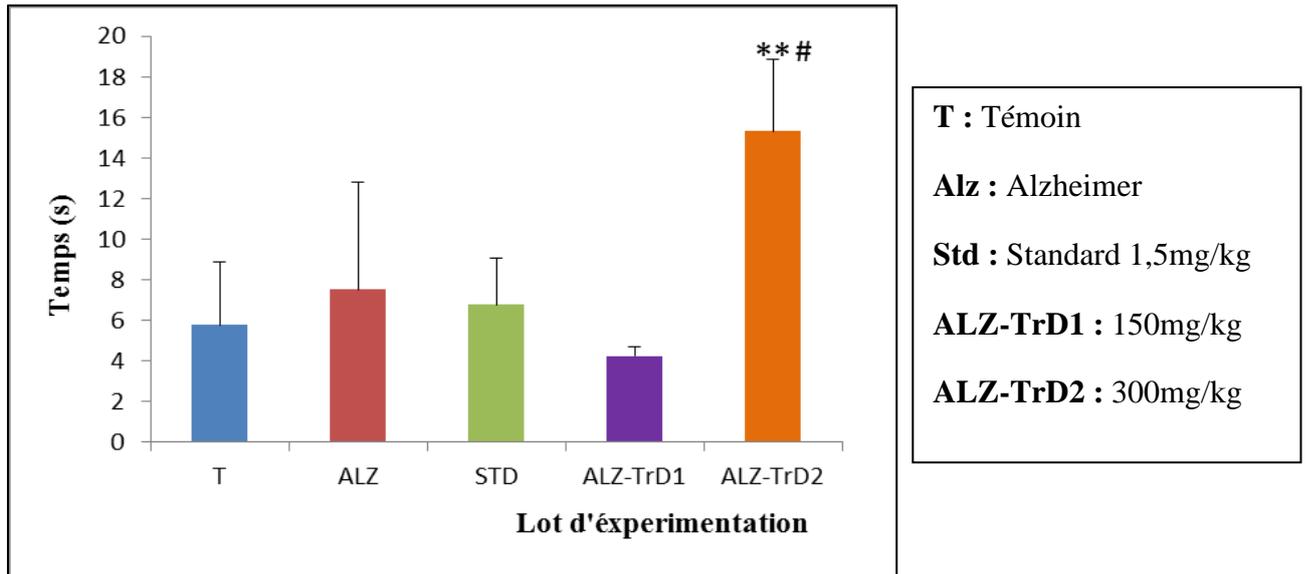


Figure 52b : Test de Morris mémoire spatiale de travail (MST). **très significatif ($p < 0.01$); #significatif ($p < 0.05$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

- **Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR) :**

Pendant les quatre jours d'apprentissage, les résultats démontrent un temps significativement élevé chez les souris modèle Alzheimer (ALZ) à atteindre la plateforme invisible comparé au modèles Alzheimer traités (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et (STD) dans le troisième jour.

(Figure 53a)

Les résultats obtenus durant le 5^{ème} jour confirment les résultats des jours d'apprentissage par l'observation de la différence entre les souris modèle Alzheimer (ALZ) et les autres groupes témoin et modèles Alzheimer traités (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et (STD). **(Figure 53b)**

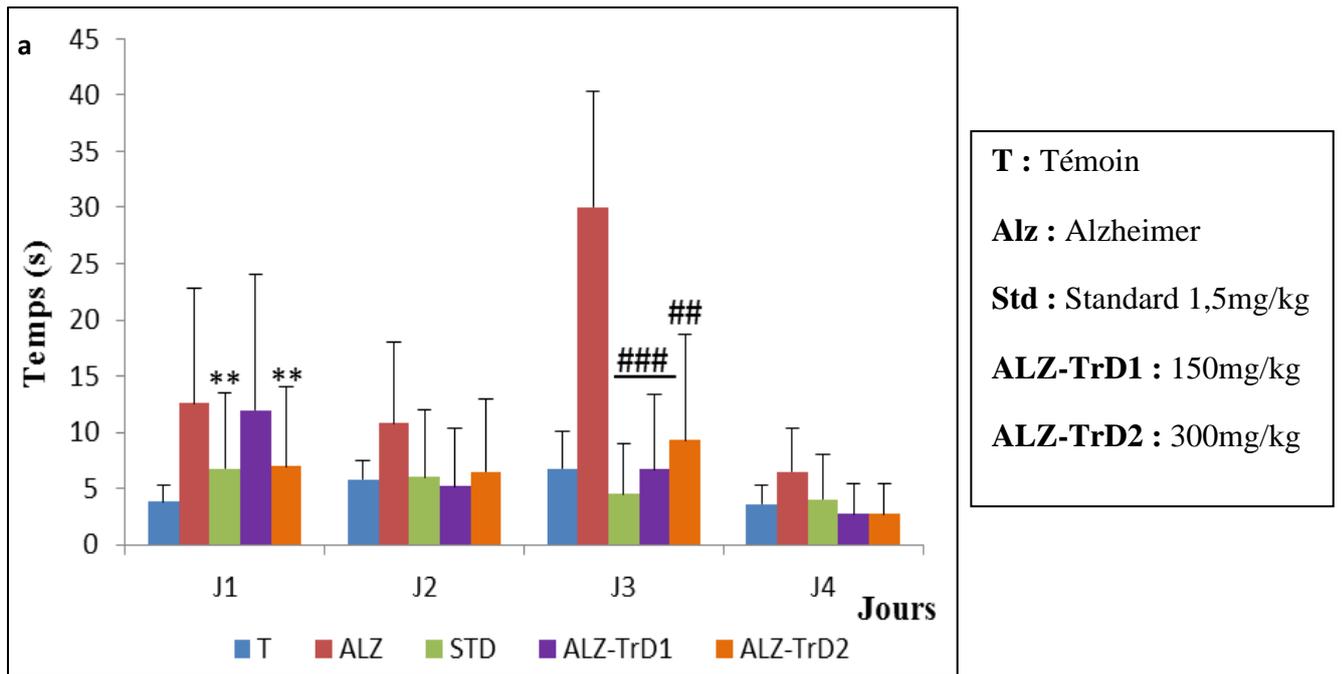


Figure 53a: les résultats du test de Morris mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR) (4jours d'apprentissage). **très significatif ($p < 0.01$).; ## très significatif ($p < 0.01$), ### hautement significatif ($p < 0.001$). Comparativement au groupe témoin(*), Comparativement au groupe Alzheimer (#).

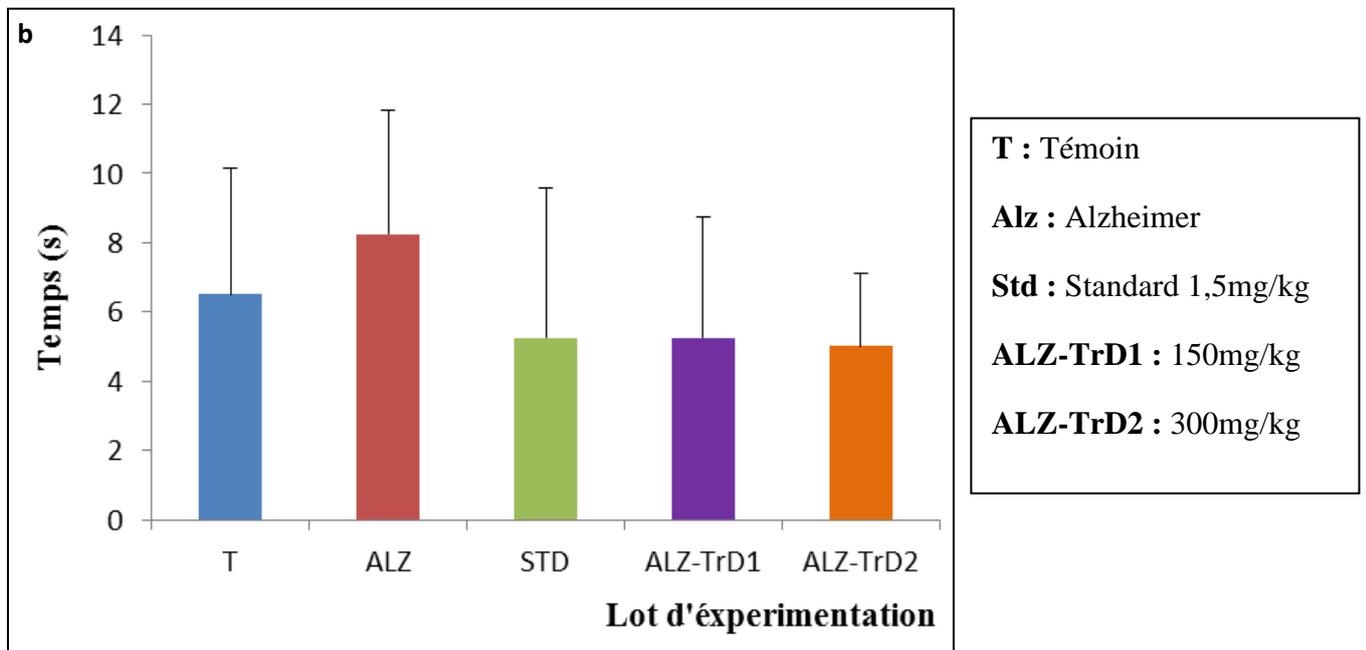


Figure 53b : Test de Morris mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR).

L'étude histologique :

2.3.3. Cerveau :

2.3.3.1.Hippocampe :

Lecture microscopique au niveau de l'Hippocampe démontre une nette observation des enchevêtrements neurofibrillaire, de perte neuronale avec et des plaques amyloïdes. Par contre, nous avons observés d'une histoarchitecture condensée au niveau dans la région DG de l'hippocampe chez groupe témoin (T) ainsi que chez les groupes modèle Alzheimer traité par propolis à 150mg/kg (Alz-TrD1), souris modèle Alzheimer traité par propolis à 300mg/kg (Alz-TrD2) et le groupe traité par Rivastigmine à 1,5mg/kg (STD).**(Figure 54)**

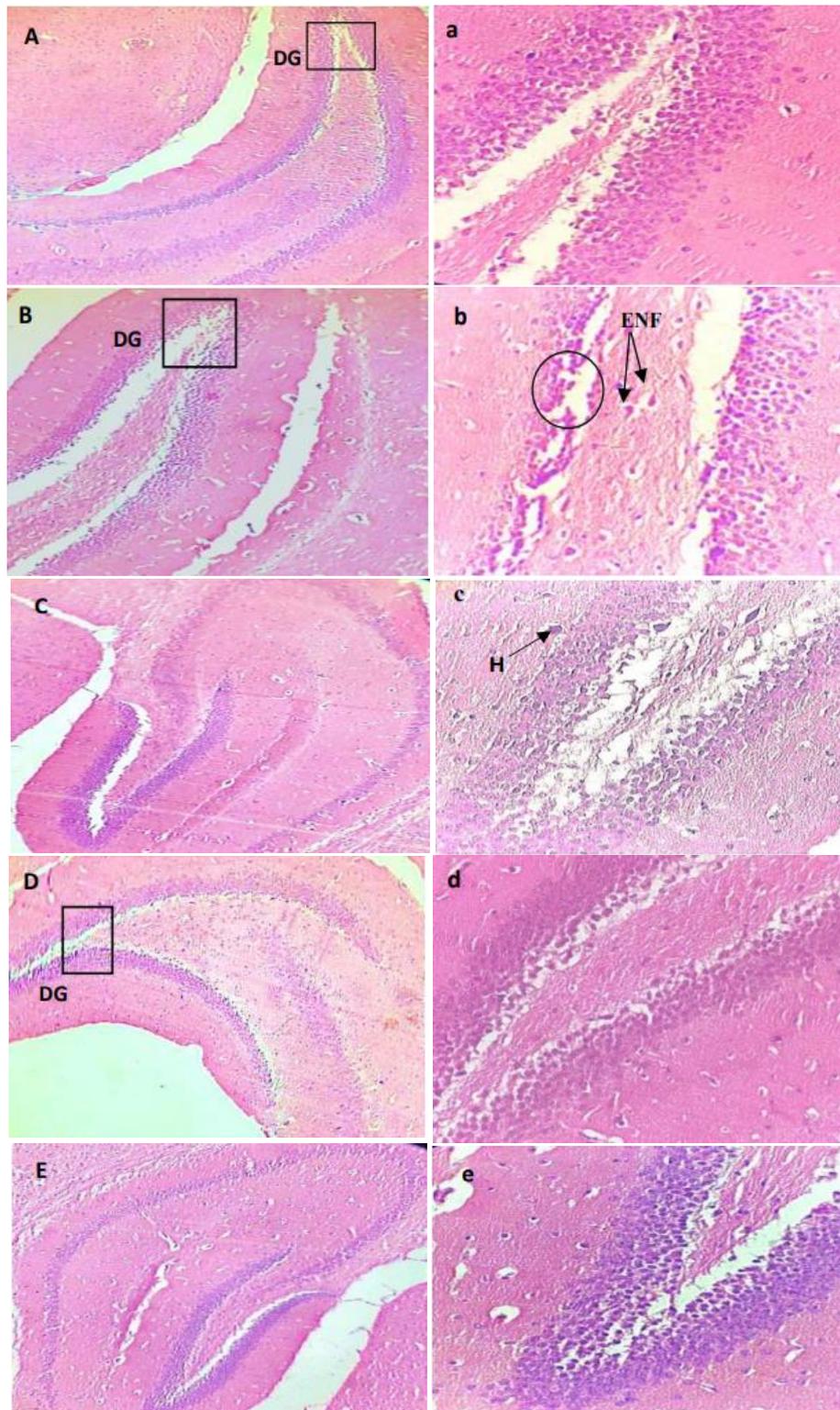


Figure 54 : Photomicrographie de l'Hippocampe coloré par H&E (X10-X40). (A, a) groupe témoin ; (B, b) groupe des souris modèle Alzheimer ; (C, c) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D, d) groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ;(E, e) groupe modèle Alzheimer traité par rivastigmine à 1,5mg/kg. DG : gyrus denté. ENF : Enchevêtrement neurofibrillaire. Perte neuronale (Cercle).

2.3.3.2.Cervelet :

Les coupes histologiques au niveau du cervelet chez les groupes (Alz-TrD1), (Alz-TrD2) et (STD) montrent une architecture et un bon positionnement des couches cellulaire. Ils sont presque similaires au groupe témoin. Par rapport au groupe Alzheimer qui montre des altérations au niveau des cellules du Purkinje, avec une présence des Hémorragies. (Figure 55)

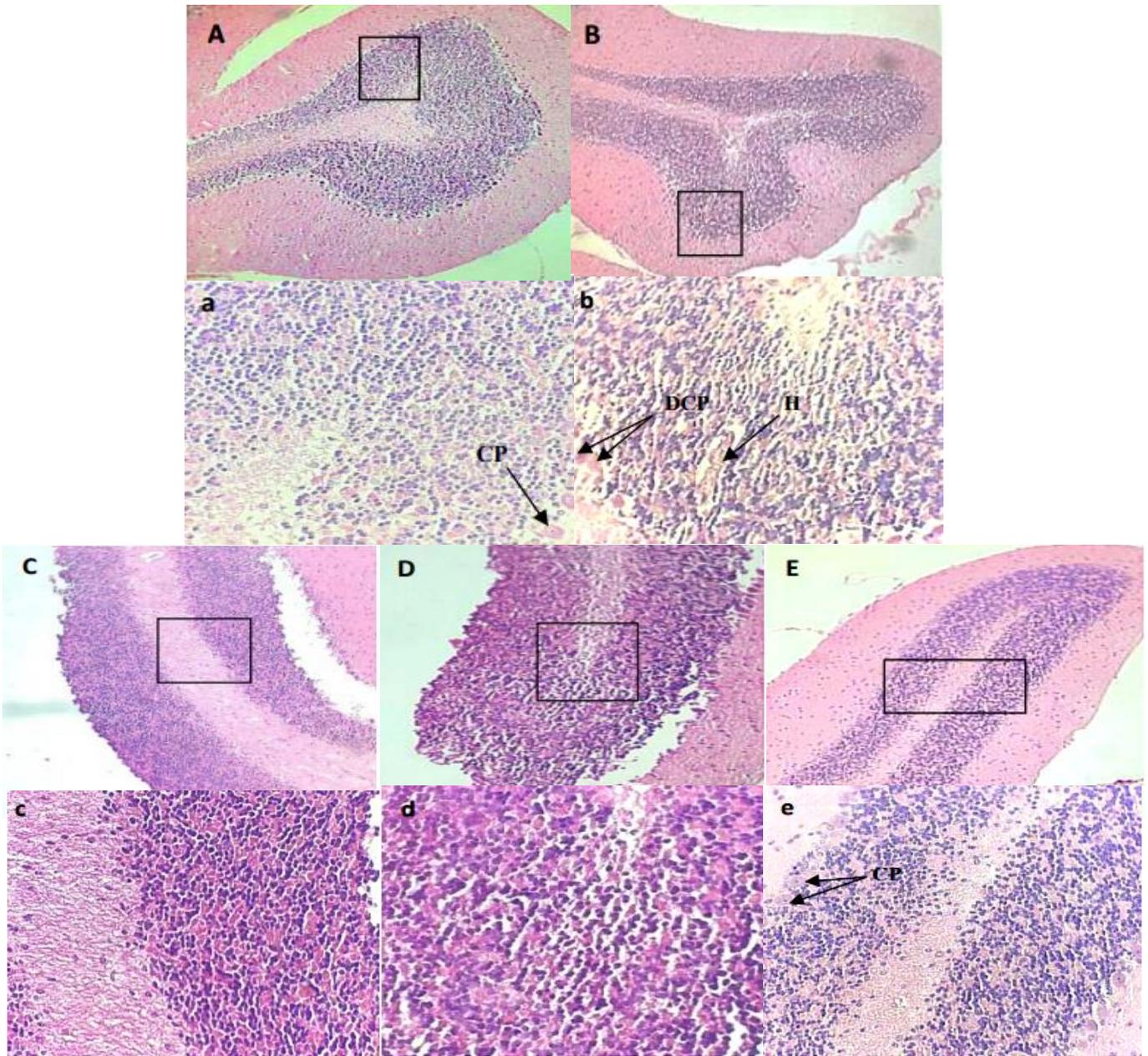


Figure 55: Photomicrographie de cervelet coloré par H&E (X10-X40) ;(A, a) groupe témoin ; (B, b) groupe Alzheimer ; (C, c) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg ; (D, d) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ;(E, e) groupe standard traité par rivastigmine à 1,5 mg/kg ; **CP** : Cellule de Purkinje. **DCP** : Dégénérescence de Purkinje. **H** : Hémorragie.

2.3.3.3.Cortex :

Etude microscopique des coupes histologiques au niveau du cortex, on a observé chez le group Alzheimer de dépôt de plaque amyloïde avec une visibilité des enchevêtrements neurofibrillaires. En revanche, les groups Alzheimer D1 traité par propolis à 150mg/kg, Alzheimer D2 traité par propolis à 300mg/kg et le groupe standard traité par Rivastigmine à 1,5mg/kg ont un cortex normal. **(Figure 56)**

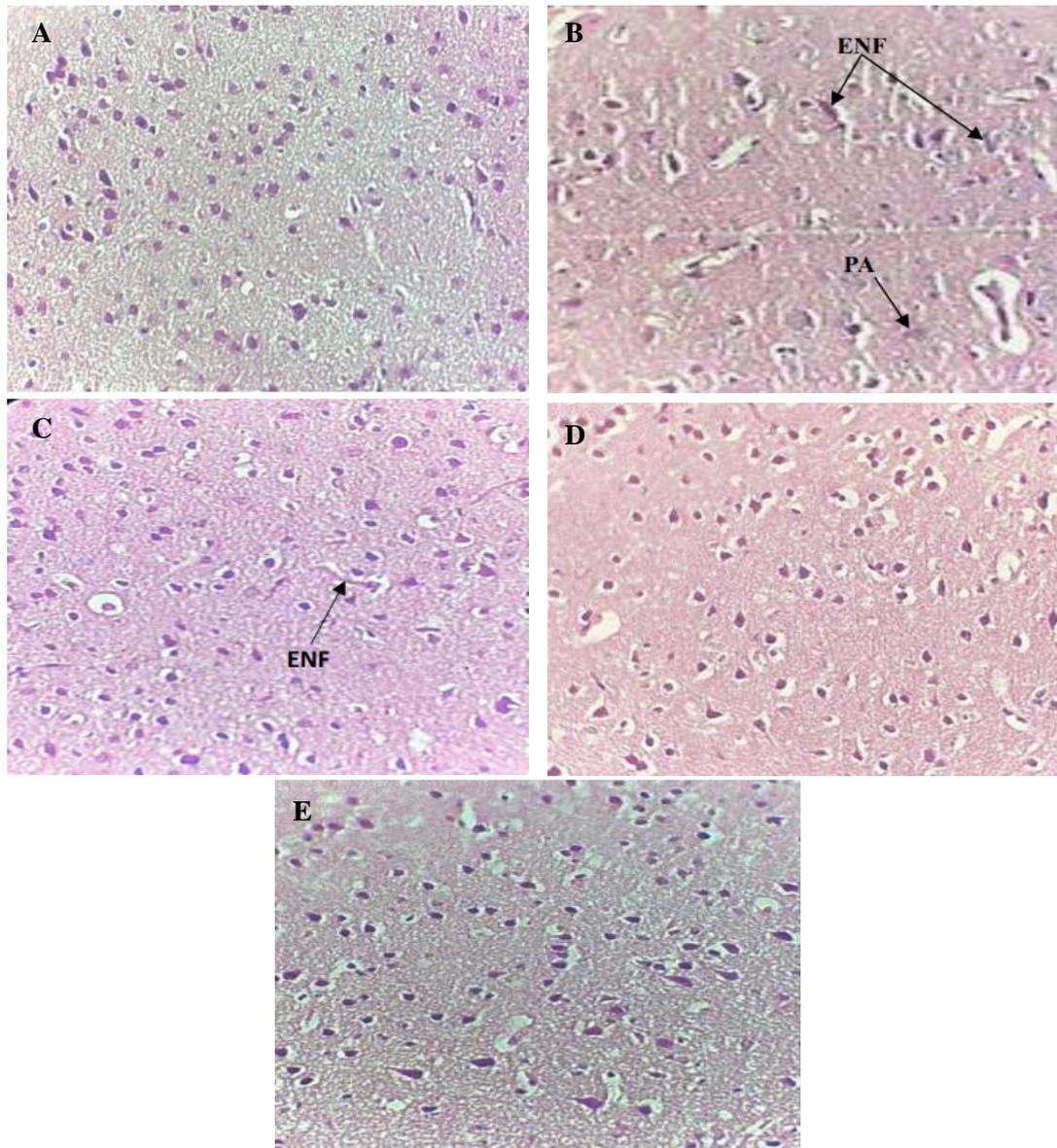


Figure 56 : Photomicrographie du cortex coloré par H&E. (X10-X40) ; (A) groupe témoin ; (B) groupe Alzheimer ; (C) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; (E) groupe standard traité par rivastigmine à 1,5mg/kg .**ENF** :Enchevêtrement neurofibrillaire. **PA** : Plaque Amyloïde. **H** : Hémorragie

2.3.4. Foie :

Etude microscopique des coupes histologiques au niveau du tissu hépatique, on a observé chez le group Alzheimer des damages cellulaire et hémorragie contrairement au groupe témoin où était l'observation plus claire et la densité cellulaire était plus importante. Concernant Alzheimer traité par propolis à 150mg/kg, Alzheimer traité par propolis à 300mg/kg et le groupe standard traité par Rivastigmine à 1,5mg/kg ont un tissu hépatique normal et sont presque similaire au groupe témoin. **(Figure 57)**

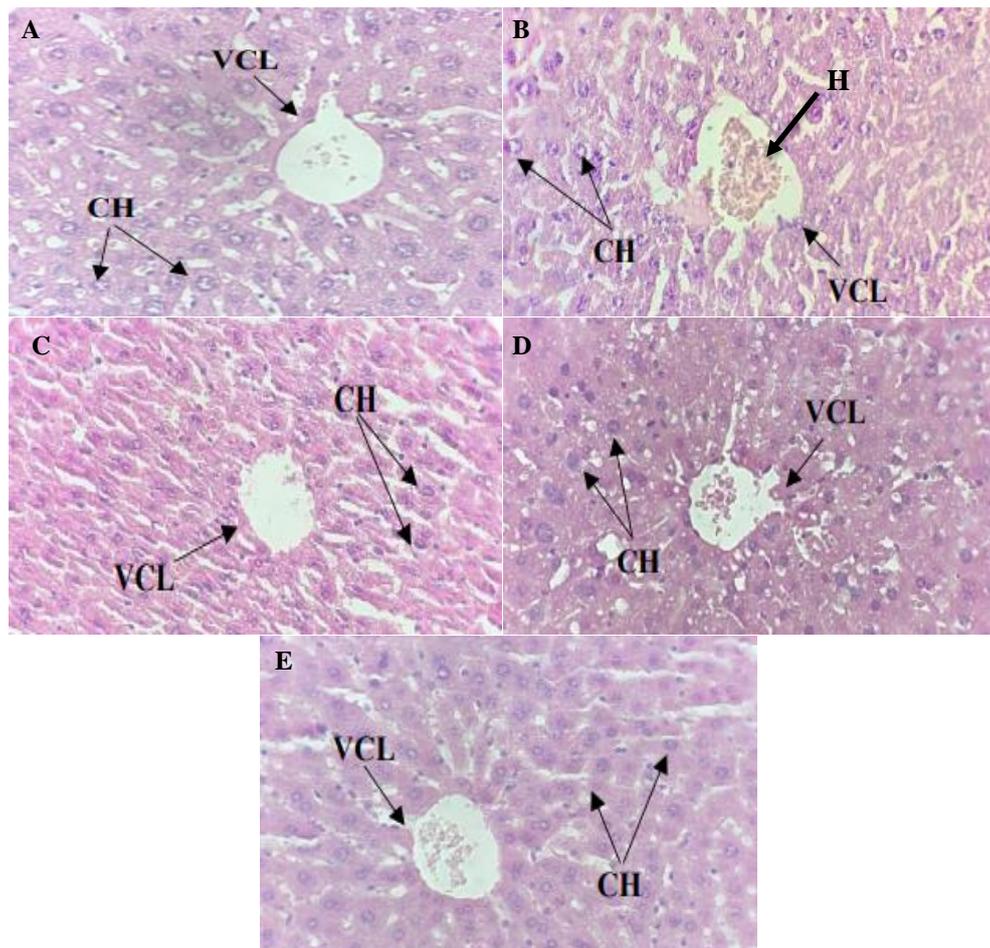


Figure 57 : Photomicrographie du tissu hépatique coloré par H&E(X40) ; **(A)** groupe témoin ; **(B)** groupe modèle Alzheimer ; **(C)** groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; **(D)** groupe modèle Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; **(E)**groupe modèle Alzheimer traité par rivastigmine à 1,5mg/kg. **VCL**: Veine centro-lobulaire.**CH** : Cellules hépatiques. **H** : Hémorragie.

2.3.5. Rein :

L'administration d'extraits aqueux de la propolis à 150 et 300mg/kg a visiblement prévenu la structure architecturale des reins chez les groupes traités (Alz-TrD1), (Alz-TrD2) de différentes manifestations provoquées par le chlorure d'aluminium. Une certaine hémorragie a été observé chez le group Alzheimer par rapport aux groupe témoin et les groupes traités par la propolis (Alz-TrD1) et (Alz-TrD2). (**Figure 58**)

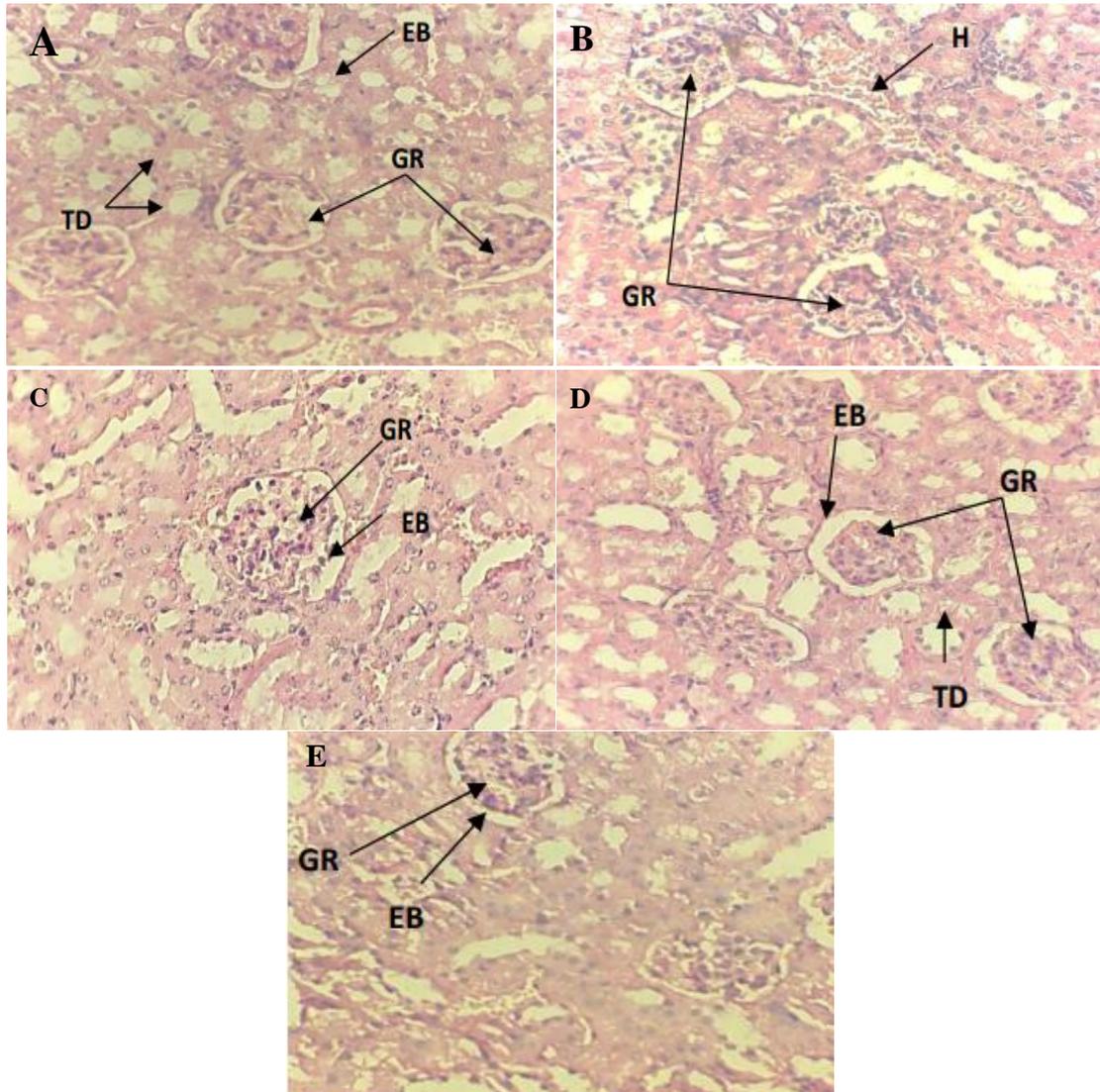


Figure 58 : Photomicrographie du tissu rénale coloré par H&E.(X10-X40) (A) groupe témoin ; (B) groupe Alzheimer ; (C) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 150mg/kg; (D) groupe Alzheimer traité par la propolis à dose de 300mg/kg ; (E)groupe standard traité par rivastigmine à 1,5 mg/kg. **GR** : Glomérule rénale ; **EB** : Espace de Bowman ; **TD** : Tubule distale ; **H** :Hémorragie.

II. Discussion :

La maladie d'Alzheimer est une pathologie neurodégénérative irréversible qui entraîne une altération progressive et définitive des cellules nerveuses. Elle se caractérise par un déclin progressif des fonctions cognitives.

Ce travail est pour l'objet d'évaluer *in vivo* l'activité neuroprotectrice de la solution aqueuse de la propolis sur la maladie d'Alzheimer à deux doses choisies 150 et 300mg/kg.

Afin de déterminer les effets secondaires du produit étudié, un test de toxicité a été effectué avant d'entamer notre expérimentation. L'administration intra gastrique de la solution aqueuse de la propolis à dose de 150mg/kg, 300mg/kg et 500mg/kg chez les souris n'a induit aucun signe de toxicité aux cours des 14 jours d'observation, cela signifie que la solution aqueuse du produit apicole étudié à dose choisie ne provoque aucune toxicité. Ces résultats s'accordent avec le travail de **(Ramadan et al, 2012)** qui est basé sur l'extrait éthanolique de la propolis à des doses (10, 100, 1000, 1000, 2000, et 5000 mg/kg), ainsi que les résultats que **(Nanaware et al, 2017)** ont trouvé après l'administration orale d'extrait éthanolique de la propolis indienne aux rats.

Durant toute la période d'expérimentation (90 jours), des mesures hebdomadaires du poids corporel des souris ont été effectuées ainsi que la solution consommée par les souris qui a été mesurée pour chaque lot.

Pendant la période du traitement préventif les souris modèle Alzheimer traité par propolis (ALZ-TrD1) et (ALZ-TrD2) présentent une stabilité, alors que les souris de modèle Alzheimer ont marquées par une augmentation hautement significative dans la masse corporelle comparativement au groupe témoin

Concernant la deuxième phase qui représente l'induction de la maladie, on a remarqué une stabilité de masse corporelle chez les souris modèle Alzheimer pendant toutes les semaines de cette période. Ces résultats s'approchent de ceux rapportés par **(Campos et al, 2022)** qui ont montré aucun changement corporel chez les souris induits par le chlorure d'Aluminium (AlCl₃) pendant la provocation de la neurotoxicité et ne s'accordent pas avec le travail de **(Khalil et al, 2020)** qui indiquent une perte de poids corporel chez les rats groupes Alzheimer qui ont reçu le chlorure d'Aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg par voie orale.

L'absence de changements significatifs dans le temps d'immobilité, la locomotion et le comportement anxieux des souris du groupe témoin est une indication cohérente qu'ils ne présentaient pas de déficit moteur ou motivationnel. Ces observations sont similaires avec le travail de **(Impellizeri et al, 2023)** qui ont notés les mêmes remarques chez les rats pendant leur étude.

Les résultats du test de Morris MSR démontrent un temps significativement élevé chez les souris modèle Alzheimer (ALZ) à atteindre la plateforme invisible comparé aux modèles Alzheimer traités (ALZ-TrD1), (ALZ-TrD2) et (STD). Ça correspond aux résultats de **(Chen et al, 2008)** qui révèlent chez le groupe traité par la solution aqueuse de la propolis à 100mg/kg une atténuation significative de l'amnésie induite par la scopolamine.

Enfin, la lecture microscopique des coupes histologiques des différents organes étudiées à savoir le cerveau, le foie et les reins nous a permis d'observer une différence remarquable entre les groupes d'expérimentation.

Dans le tissu cérébral on a basé sur trois régions : l'hippocampe la structure la plus touchée dans le cas de la maladie d'Alzheimer MA ainsi que le cervelet et le cortex cérébral.

Lecture microscopique au niveau de l'hippocampe indique la présence des enchevêtrements neurofibrillaires et des plaques amyloïdes chez les souris modèle Alzheimer (Alz) et une perte neuronale bien démontrée comparativement au groupe témoin (T) qui présente une condensation des neurones au niveau dans la région DG de l'hippocampe. Ceci correspond aux résultats de la recherche de **(Khalil et al, 2020)** qui ont révélé une organisation tissulaire normale dans la région de l'hippocampe. Le chlorure d'Aluminium (AlCl₃) s'accumule principalement dans l'hippocampe, dont qu'il est particulièrement vulnérable à la maladie d'Alzheimer et qu'il joue un rôle important dans les processus d'apprentissage et de mémorisation **(Impellizeri et al, 2023)**.

Les coupes histologiques au niveau du cervelet chez groupes modèles Alzheimer traité à 150 mg/kg et 300 mg/kg de la propolis et le groupe standard traité par Rivastigmine à 1,5 mg/kg montrent une architecture et un bon positionnement des couches cellulaires. Ils sont similaires au groupe témoin. Par rapport au groupe Alzheimer qui montre des altérations au niveau des cellules du Purkinje (Dégénérescence du Purkinje), avec une présence des Hémorragies. C'est aux résultats s'accordent avec le travail de **(Khalil et al, 2020)** qui ont notés presque les mêmes remarques.

Les échantillons de cerveau du groupe témoin ont révélé une organisation tissulaire normale dans la région du cortex cérébral contrairement au groupe des souris modèle Alzheimer (Alz). En revanche, les groupes modèles Alzheimer traité par propolis à 150 mg/kg et 300mg/kg, modèle Alzheimer traité par Rivastigmine à 1,5mg/kg (STD) ont marquée un cortex normal avec une structure cellulaire claire presque similaire à celle du groupe témoin. Ces remarques sont presque similaire au du travail de **(Ozdemir et al, 2023)** qui ont induit la maladie par Injection intracérébroventriculaire de streptozotocine.

Au niveau du tissu hépatique, on a observé chez le group Alzheimer des damages cellulaire et hémorragie contrairement au groupe témoin qui a une structure normale où était l'observation plus claire et la densité cellulaire était plus importante. Ces résultats s'accordent avec les travaux de **(Ramadan et al, 2012)**.

L'administration d'extraits aqueux de la propolis à 150 et 300mg/kg a visiblement prévenu la structure architecturale des reins chez les groupes traités (Alz-TrD1), (Alz-TrD2) de déférentes manifestations provoquées par le chlorure d'aluminium. Une certaine hémorragie a été observé chez le group Alzheimer par rapport aux groupe témoin et les groupes traités par la propolis (Alz-TrD1) et (Alz-TrD2). Ce résultat concorde avec les travaux **(Silva et al, 2020)** qui ont travaillé sur le traitement oral à la gelée royale sur le modèle Alzheimer rat induit par streptozotocine.

La propolis renferme au moins 200 composés, dont des acides et des esters phénoliques, des flavonoïdes, des stéroïdes, des aldéhydes aromatiques et des alcools, etc. **(Malekahmadi et al, 2023)** qui confère à cette substance des qualités thérapeutiques remarquables, parmi eux l'activité anticholinestérasiques **(Abdel-Rahman et al, 2020)**.

L'extrait de la propolis améliore le système de défense antioxydant en diminuant le malondialdéhyde dans le cerveau, qui est un facteur essentiel de la maladie d'Alzheimer, et inhibe l'activité de l'acetylcholineésterase AChE **(Hirata et al, 2021)**.

La propolis contribue à prévenir la mort cellulaire neuronale liée au stress oxydatif, qui est impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies neurodégénératives **(Takashima et al, 2019)**.

Conclusion

Et

Perspective

Les produits apicoles sont parmi les produits naturels qui font l'objet des plusieurs études scientifiques pour la recherche du nouveau traitement curatif et préventif de certaines pathologies neurodégénératives. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité neuroprotectrice in vivo de l'extrait aqueux de la propolis.

Dans notre expérimentation nous avons cherché à montrer l'effet neuropréventif de la propolis sur la maladie d'Alzheimer chez les souris souche NMRI suivant un protocole de 90 jours réparti en deux phases.

La première représente période de traitement préventif qui consiste à l'administration de l'extrait aqueux de la propolis à 150 et 300 mg / kg par gavage gastrique pendant 45 jours. Et la deuxième repose sur l'induction de la maladie d'Alzheimer avec l'administration de chlorure d'aluminium à 100 mg/kg par voie oral associé du D- galactose par voie intrapéritonéal durant 45 jours

Le test de toxicité réalisé avant d'entamer l'étude expérimental montre que l'extrait aqueux de la propolis n'a induit aucun signe de toxicité au cours des 14 jours d'observation.

Pendant la période de traitement préventif, l'évolution pondéral a montré une augmentation du poids corporel chez les souris modèle Alzheimer comparativement aux témoins. Les souris Alzheimer traité avec l'extrait aqueux de la propolis à 150 mg/kg (Alz -Tr D1) et 300 mg/kg (Alz- Tr D2) n'ont montré aucun changement.

Concernant la deuxième phase, on a remarqué une stabilité de masse corporelle chez les souris modèle Alzheimer et groupe témoin par rapport aux groupes traités par la propolis à 150 et 300mg/kg (Alz-Tr D1), (Alz-Tr D2) et par le traitement synthétique rivastigmine à 1,5 mg/kg (STD) qui ont indiqué une légère augmentation dans le poids.

La consommation d'eau est également faible chez les souris Alzheimer traité par la propolis à 300 mg/kg (Alz-Tr D2), group standard (STD) et groupe témoin par rapport aux group Alzheimer et Alzheimer traité (Alz-Tr D1) au cours de la période de traitement.

Les altérations neurologiques affectées chez les souris modèle Alzheimer se traduisent par des troubles comportementaux et l'incapacité d'apprentissage par rapport aux souris témoins.

Les résultats de la mémoire spatiale de travail (MST) indiquent le nombre d'erreur significativement élevé les souris modèle Alzheimer par rapport aux témoins. En effet, les résultats obtenus du test de mémoire spatiale de référence conditionné (MSR) démontrent un

temps de séjour dans le bras éclairé chez souris modèle Alzheimer significativement moins que chez le groupe témoin.

Les résultats de test de Morris (MST) indiquent que les souris modèle Alzheimer atteignent la plateforme visible dans un temps plus élevé avec une légère déférence comparativement au témoin les groupes modèles Alzheimer traité (Alz-TrD1) et (STD). Le groupe modèle Alzheimer traité (Alz-TrD2) nécessite une durée significativement élevée que les autres groupes. D'après les résultats obtenus durant le 5eme jour, le groupe témoin et les groupes modèles Alzheimer (STD), (Alz-TrD1) et (Alz-TrD2) détectent plateforme invisible plus rapidement du groupe modèle Alzheimer.

Les résultats des tests de comportements réaliser à la fin de protocole (Activité locomotrice, test de compartiment noir et blanc, labyrinthe en croix sureélever et test de la nage forcé) présente une perturbation comportementale chez les groupes d'expérimentations plus précisément chez les souris modèle Alzheimer.

Cette étude in vivo représente une étape initiale de l'activité neuroprotectrice de l'extrait aqueux de la propolis.

En perspective, il serait intéressant de procéder à la caractérisation des différentes molécules bioactives contenants dans l'extrait de ce produit apicole en déterminant leur mécanisme d'action dans la neuroprotection contre la maladie d'Alzheimer. Une étude in vitro serait également intéressante à mener afin de déterminer l'activité anti-cholinestérasique et anti-butyrylcholinestérasique de la solution aqueuse de la propolis.

*Références
bibliographiques*

-A-

- **Abida, I., Sadoudi, I., & Brihoum, H. E. (2021).** Recherche sur l'effet chimiopréventif et antinéoplasique de la propolis et ses constituants contre les cancers digestifs (Doctoral dissertation, Université de jijel)
- **Ahangari, Z., Mandana, N., Vatandoost, F., 2018.** Propolis: Chemical Composition and Its Applications in Endodontics. *Iran Endod J* 13, 285– 292
- **Ali Haimoud S., Allem R., Benyahla Djefaland K. et Lembarki N.E. 2022.** Évaluation in vitro et in vivo des activités biologiques des extraits de propolis et pollen., *Phytothérapie*, 20(1)63-71.
- **Altabbal S., Athamnah K., Rahma A., Farooq A., Eid W.H., Iratni R. and Al Dhaheri Y. 2023.** Propolis: A Detailed Insight of Its Anticancer Molecular Mechanisms. *Molecular and Cellular Studies of Natural Antioxidants as Potential Therapeutics for Cancer*, 16(3)450.

-B-

- **Ben Haim L. and Rowitch H. 2017.** Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(1)31-41.
- **Bonnet M., 2020.** Récupérations sensorimotrices après lésion du système nerveux central et périphérique : utilisation de biomatériaux et de cellules souches, Thèse de doctorat, Aix-Marseille Université, 360p.
- **Boufadi Y. M., Soubhye J., Nève J., Antwerpen P.V. and Riazi A. 2016.** Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts., *Iteration journal of food science technology*, 51(12) 2613-2620.
- **Breijyeh Z. and Karaman R., 2020.** Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment., *Breakthroughs in Medicinal Chemistry*, 25(24) 57-89.

-C-

- **Cardinault N., Cayeux M.-O., Percie P du Sert. (2012).** La propolis : origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*.10(5):298–304.
- **Cardinault, N., M.-O. Cayeux, et P. Percie du Sert. 2012.** « [Propolis :origine, composition and properties] ». *Phytothérapie (Paris, France)* 10 (5): 298- 304.

- **Chavda V.P., Chaudhari A.Z. , Teli D., Balar P.,Vora L.2023.** Propolis and Their Active Constituents for Chronic Diseases., *Biomedicines* , 11(2) 259.
- **Chieb,Y., Berrahal,R.,2021.**Etude de l'activité antimicrobienne da la propolis(mémoire). Université des Frères Mentouri, Constantine
- **Combes D., TanguyJ.Y., Anneveikr C. et Labriffe M.2020.**Pathologicalimaging of the hippocampus in geriatricpatients ,*GéraitriepsyologieNeuropsychéatrie*1(8) : 7- 17
- **Cui, Jing, Xueqin Duan, LitingKe, Xingxue Pan, Jia Liu, Xiaoping Song, Wuren Ma, Weimin Zhang, Yingqiu Liu, et Yunpeng Fan. 2022.** « Extraction, Purification, Structural Character and BiologicalProperties of Propolis Flavonoids: A Review ». *Fitoterapia* 157 (mars): 105106

-E-

- **E. A. Botteon¹, L. B. Silva¹, G. V. Ccana-Ccapatinta., T. S. Silva., S. R. Ambrosio., R. C. S. Veneziani., J. K. Bastos² & P. D. Marcato.(2021)** : Biosynthesis and characterization of gold nanoparticlesusingBrazilianred propolis and evaluation of itsantimicrobial and anticancer activities ., (11) : 1974 www.nature.com/scientificreports
- **El HousseiniN., (2013).** Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université De Nante.
- **El-Seedi HR, Eid N, Abd El-Wahed AA, Rateb ME, Afifi HS, Algethami AF, ZhaoC.2022.** Produits de l'abeille mellifère : études précliniques et cliniques de leurs propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices. *Écrou avant.* 8 :267-761

-F-

- **Folliot C.2021.** La maladie d'Alzheimer au fil des siècles biologie et et Histoire Alzheimer 363 (1) : 62-64
- **Folly-Adjon W. 2019.** Potentiel thérapeutique de la sérotonine et ses substances relatives dans les principales pathologies neurodégénératives, Thèse de doctorat, University of Limoges.
- **Fransergio F., dos Santos., Raquel P., Morais-Urano., Wilson R., Samarah G., Hallana A .2022.** A review on the anti-inflamatoryactivities of brazilian green, brown and redpropolis.*Foodbiochemistry* : 46(10)

- **Fransergio F., Raquel P., Wilson R.C., Samarah G., Pedro Sandoval dos Santos R. C., Hallana A. M., Henrique A. P., Ricardo F., Mario F. C., Márcio L. and. 2022.** A review on the anti-inflammatory activities of Brazilian green, brown and red propolis. *Food Biochemistry*, 46(10) 14350.

-G-

- **Gadouche L., Djebli N. and Zerrouki K. 2018.** Pomegranate juice attenuates neurotoxicity and histopathological changes of the nervous system induced by aluminum in mice. *Phytpthérapie*, 16(3)133-141.
- **Gharbi M., (2011).** Les produits de la ruche : Origine- Fonctions naturelles Composition propriétés thérapeutiques. Thèse pour l'obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Université
- **Gosztyla L., Brothers M., & Robinson R., 2010.** Alzheimer's Amyloïde-B an antimicrobial poptide : A Review of the Evidence *Jornal of Alzheimer'S Dideases* , 62. 1495-1506
- **Gosztyla M.L., Brotiers H.M., Robinson R. 2010.** Alzeimer's Amyloïde an Antimicrobial peptide. *Alzheimer'sdisease*

-H-

- **Haimoud A., Allem R., BenyahlaDjeffaland et N.E. Lembark. 2022.** Evaluation in vitro et in vivo des activités biologiques des extraits des propolis et pollen. *Phytothérapie* : 20(1). 63-71
- **Hamidouche K. 2018.** Intérêt de stratégie multi-cibles (cholinergique et sérotoninergique) pour le traitement de la maladie d'Alzheimer : étude in vivo et ex vivo dans différents modèles murins, Thèse de doctorat, Université de caen Normandie, 323p.
- **Huang, S., Zhang, C.-P., Wang, K., Li, G., Hu, F.-L., 2014.** Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules* 19, 19610–19632

-J-

- **Jacus J.P., Voltzenloge V., Farriée A.J, Antonie P et Curver L. 2023.** Updates on anosognoisia in Alzeimerdisease. *Gériantue et psychologie / Neuropsychiatrie du vieillissement* : 1(21). 107 – 115

- **Jaquemin C., 2023.** Quantification multiplexe de biomarqueurs et de leurs protéomes par spectrométrie de masse pour le diagnostic différentiel de maladies neurodégénératives, thèse de doctorat, Université de Paris-Saclay
- **Johnston, D., & Amaral, D. G. (2004).** Hippocampus. In G. M. Shepherd (Ed.), *The synaptic organization of the brain* (pp. 455–498). Oxford University Press

-K-

- **Karagecili H., Yilmaz M. A., Ertürk A., Kiziltas H., Güven L., Alwasel S.H. and Gulcin I. 2023.** Comprehensive Metabolite Profiling of Berdava Propolis Using LC-MS/MS: Determination of Antioxidant, Anticholinergic, Antiglaucoma, and Antidiabetic Effects., *Extraction, Separation and Identification of Compounds from Natural Sources*, 28(4), 1739.
- **Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., Musik, I., 2018.** Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly : Possible Medical Application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018, 1–29
- **Krell, R (1996).** Value-Added products from beekeeping. FAO Agricultural services. Bulletin, No 124

-L-

- **L. Ben Haim and D. H. Rowitch,** “Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation,” *Nature Reviews. Neuroscience*, vol. 18, no. 1, pp. 31–41, 2017-01
- **Lacharme, F., 2011.** Les produits cosmétiques biologiques : labels, composition et analyse critique de quelques formules (Thèse). Université Joseph Fourier
- **Letullier C., Manduchet A., Dlalal N., Hugou M., Georgé S., Sforcin J M., Cardinault N. ,2019.** Comparison of the antibacterial efficiency of propolis samples from different botanical and geographic origins with and without standardization. *Journal of Apicultural Research*.
- **Lilamand M., Cognalt M., Goutagy S., Hourregue C., Hugou J., Dumurgier J., et Paquet C. 2019.** Biomarkers of Alzheimer’s Disease in older and oldest patients. *Neuropsychologie* .1(17) 65-72

-M-

- **M. A. Cañizares, A. R. Albors, G. Singer, N. Suttie, M. Gorkic, P. Felts, and K. G. Storey**, “Multiple steps characterise ventricular layer attrition to form the ependymal cell lining of the adult mouse spinal cord central canal,” *Journal of Anatomy*, vol. 236, no. 2, pp. 334–350, 2020-02.
- **M. Cuvillier, A., 2015**. Miel, Propolis, Gelée royale, les abeilles alliées de notre système immunitaire (Thèse). Faculté des Sciences Pharmaceutiques.
- **Madoka T., Kenji I., Yoko Hirata PH.2019**. Neuroprotective effects of brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse Hippocampal cells. *Food and Chemical Toxicologie*
- **Mahsa Malekahmadi., Naseh Pahlavani., Jevad Heshmati., Zachary Stephen, Mohammed T., Jamshid G ., Amirmansour A.2023**. Effect of propolis supplementation on oxydative stress markers :A systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Herbal Medicine*.
- **Marcin O et Tomasz M.2023**. The effects of propolis on viral respiratory diseases .*Department of biotechnology* : 28(1). 359
- **Medić-Šarić M., Bojić M., Rastija V et Cvek J.(2013)**. Polyphonic profiling of croatian propolis and wine, *Food TechnolBiotechnol*, 52(2), pp 159-170
- **Mokhtaria, Yasmina Boufadi. 2014**. « Exploration du potentiel antimicrobien et antioxydant de la Propolis d’Algérie ». Mémoire, Mostaganem, Université Abdelhamid Ibn Badis
- **Moller J.H., Graeber ., M.B.1998**- The cause described by Aloie Alzeimer in 1911 historical and conceptuel perspective based on the clinicalrecond and neurohistorigical sections . *Eur A PsychiatryCliuNeurosci* 248 :11-122
- **Mosnier J.F., Brunon J. et Nuti C. 2007**. Anatomie pathologique des cavernomes du système nerveux central. *Neurochirurgie*, 53 :131-135.
- **Mostefa N., Djebli N., Pham Ngoc Khanh, Nguyen Xuan Ha, Hoang Thi Ngoc Anh, Vu Thi Ha, Tran Thu Huong, Dang Viet Anh and Nguyen Manh Cuong. 2023**. Anti-Alzheimer's Activity of Polyphenolic Stilbene-Rich Acetone Fraction of the Oil-Removed Seeds of *Passiflora edulis: in Vivo* and *in Silico* Studies, *Chemistry and Biodiversity*, 20(5) 202201051

-O-

- **Ouahab A., Grara N., Henaiaia K., Khaldi K et Bensouici C.2023.**Phytochemical Analyse, Antioxidant and Acetylcholin estérase Inhibitory Activity of propolis fromNortheastern Algeria. *Phytothérapie*
- **Ouahab A., Grara N., Menaiaia K., Khaldi K. and Bensouici C., 2023.** Phytochemical Analysis, Antioxidant, and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Propolis from Northeastern Algeria. *Phytothérapie*, 10 :31-40.
- **Ozlem Saral., Huseyin Sahin., Sinan Saral., Mehmet Alkanat., Kerimali Akyildiz., Atilla Topcu., Adnan Yilmaz. 2022.** Bee pollen increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor and suppresses neuroinflammation in adult rats with chronic immobilization stress. *Neuroscience letters*.766

-P-

- **Pasupuleti V R ,Sammugam L, Ramesh N , Hua Gan S. Honey, Propolis, and Royal Jelly. (2017):** A ComprehensiveReview of TheirBiological Actions and HealthBenefits .*OxidativeMedicine and Cellular Longevity* . Volume 2017 |Article ID 1259510 :1-21
- **Podcasy L.J. and Epperson C.N. , 2022.** Considering sex and gender in Alzheimer disease and other dementias. *Dialogues in clinical neuroscience*, 18: 437-446.
- **Podiasy J.L., Epperson .C.M.2022 .** Consideringsex and gender in Alzheimer disease an otherdenentias, *Dialogue in chiminal Neuroscience*.18(4) : 437- 446
- **Przybyłek I., Karpinski T M. (2019) :**AntibacterialProperties of Propolis. *Molecules*, 24(11):2047

-R-

- **Rehab F., Abdel- Rahman., Saleh I.Alqasoumi., Hanan A. Ogaly., Reham M. Abde-El salam ., Hossny A., Gamal S.2020.**Propolis ameliorates cerebral injury in focal cerecral ischemia /reperfusion (I/R) rat model via upregulation of TGF-B1.*Saudi pharmaceutical journal*. 28(1) : 116-126
- **Ripari, Nicolas, Arthur Alves Sartori, Mariana da Silva Honorio, Fernanda Lopes Conte, Karen Ingrid Tasca, Karina Basso Santiago, et José MaurícioSforcin. 2021.** « Propolis Antiviral and ImmunomodulatoryActivity: A Review and Perspectives for COVID-19 Treatment ». *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 73 (3): 281- 99

-S-

- **Santos L., Fonseca M., Sokolonski A., Deegan K., Araújo R., Umsza-Guez M, Josiane DV Barbosa, Ricardo D Portela .2020.**Propolis: types, composition, biologicalactivities, and veterinaryproduct patent prospecting . *J Scifood agriculture* .100 (4) . 1369-1982
- **Sedhana Nanaware., Madhuri Sheral., Arulmozhi Sinnathambi., K.R.Mahadik., Sathiyarayanan Lohidasan.2017.** Neuroprotective effect of indian propolis in B-amyloid inducedmemory defecit : impact on behavioral and biochemical parameters in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* : 93. 543-553
- **Seibert J.B. , Jessica P. B., Tatiane Roquete A. , Alicia P., Pauline P. , Juliana C. S.A., Mariana C. A., Benila M.S. , Geraldo C. B., Gustavo H. B. , Luiz F.and Orlando D.H. S., 2019.** Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative., *Food Chemistry*, 287 : 61-67.
- **Shahira M. , Mohamed A. Salem , Nihal M. El Mahdy , Mai F. Ragab .2021.** Rivastigmine Drug interactions In Naturally Occurring Chemicals Against Alzheimer's Disease, Tarun Belwal, Sey 93-108.
- **Sochocka M., Donskow L., Diniz B ., Brzuowska E ., et Leszek J.2019.**The Gut Microiome Alterations and inflamamation driven
- **Soltani E.K., Zaim K., Mokhnache K., Haichour N., Mezaache- Aichour S., Charef N. 2021.** Polyphenol contents , Antioxidant et antibactericalactivities of aqueous Algerian propolis extracts . *Phytothérapie*. 19 : 408- 415
- **Soltani E.K., Zaim K., Mokhnache K., Haichour N., Mezaache-Aichour S., Charef N. and Zerroug M.M. 2021.** Polyphenol Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous Algerian Propolis Extracts., *Phytothérapie*, 19 :408-415.
- **Soltani, E., 2017.** Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis (Thèse). Université Ferhat Abbas, Setif
- **Soo-Pac Chen., Lloyd Dafydd G., Vizacaychipi Marcela P. and Ma Daqing. 2011.** Statins: the role in the treatment and prevention of Alzheimer's neurodegeneration. *Journal of Alzheimer disease.*, 27(1)1-10.
- **Sowndhararajan, K., Deepa, P., Kim, M., Park, S.J., Kim. S.2018.**An overview of Références bibliographiques neuroprotective and cognitive enhancement properties of lignans from Schisandra chinensis.*Biomédecine & Pharmacotherapy*, 97:958–968.

- **SuhibAltabbal., KhawlaAthamnah., Aasha Rahma., Adil Farooq., Ali H. Eid., Yusra Al Dhaheri.2022.** Propolis : A Detailed insight of its anticancer molecular mechanisms. Pharmaceuticals : 16 (3)

-V-

- **Valverde A, 2020-** Influences biochimiques, anatomiques et congitives de la troncation exopeptidasique N- Terminiale du peptide AB, Thèse de doctorat , Université de coté d'Azur, Nice, 288p
- **Vogt N., Kerby L., Mofarland K., Harding J., Johnson C et al. 2017.** Gut microbrome alteration in Alzheimer's disease. Scientific Reporta. 7.13537

-X-

- **Xing ,Zhiheng ., He ,Zhongmei ., Wang ,Shuning ., Yan, Yu ., Zhu, Hongyan ., et al .2018.**ameliorative effects and possible molecular mechanisms of action of fibrauretine from fibraurea recisa pierre on D-galactose/ALCL3 mediated Alzheimer's disease.doi :10.1039.

-Y-

- **Yao-H.,Araki Y.,Yamashita F.,Saraki M., et Hashimoto M,2020.** Hippocampal atrophy associated with dementia risk factons and dement
- **Yiannopoulou Konstantina G. and Papageorgiou Sokratis G., 2020.** Current and Future Treatments in Alzheimer Disease. *Journal of Central Nervous System Disease* 12: 1–12.
- **Yoko Hirata., Masanari Motoyama., Shintaro Kimura., Madoka Takashima., Takanori Ikawa., Kentaro Oh-hashi., Yuji O. Kamatari.2021.**Artepillin C a major component of brazilian green propolis, inhibits endoplasmic reticulum stress and protein aggregation. *European journal of Pharmacology* .volume 912.

Références bibliographiques

- **(Anonyme, 2013)** : <http://projet-biocell-peur.blogspot.com/p/secretion-dadrenaline>. p3
- **(Anonyme, 2021)** : <https://www.neuromedia.ca/cervelet-anatomie-fonctions-et-troubles> p5
- **(Anonyme, 2022)** : <https://www.medchemexpress.com/Galanthamine.html> p17
- **(Anonyme, 2021)** : <https://dictionnaire.acadpharm.org/w/M%C3%A9mantin> p18
- **(Anonyme,2023)** :<https://www.mesarbustes.fr/punica-granatum-dente-di-leone-grenadier-fruit-grenade-aigre-douce.html> p19
- **(Anonyme, 2018)** : <https://nootriment.com/de/huperzia-serrata/> p19

- **(Anonyme, 2017)** :https://fleurs-fruits-feuilles-de.com/portulaca_oleracea.php p20

- **(Anonyme,2017)** : <https://www.quintadosouriques.com/fr/store/des-graines/des-fruits/passiflora-passionfruit/gulupa-passionflower-maracuja-chulupa-sweet-purple-fruit-de-la-passion/> p20

- **(Anonyme, 2017)** : <https://www.alamyimages.fr/photo-image-la-maladie-d-alzheimer-donepezil-molecule-pharmaceutique-formule-topologique> p17

- **(Anonyme, 2023)** : <https://pixabay.com/fr/illustrations/cerveau-lobes-neurologie-humain-1007686>. p6
- **(Anonyme, 2019)** : <https://www.shutterstock.com/fr/search/amygdale-c%C3%A9r%C3%A9brale> p8
- **(Anonyme, 2023)** : <https://www.docteurcliv.com/maladie/signes-de-la-maladie-d-alzheimer.aspx> p13

Annexes

Annexe 1

- L'évolution pondérale chez les lots expérimentaux durant les 90 jours d'expérimentation

	Phase 1	Phase 2
Témoin	28,51±1,19	29,71±1,37
Alz	31,17±1,21	32,82±1,37
STD	28,8±1,08	29,57±0,97
Alz-TrD1	30,48±1,43	32,08±1,89
Alz-TrD2	32,57±2,45	33,35±1,65

Annexe 2

- La consommation de la solution chez les lots expérimentaux durant les 90 jours d'expérimentation

	Phase 1	Phase 2
Témoin	288,33±19,66	319,16±34,98
Alz	342±20,74	366,66±17,51
STD	321,5±19,99	369,16±23,32
Alz-TrD1	341,67±26,20	411,66±35,44
Alz-TrD2	295,83±27,46	302,08±18,6

Annexe 3

- Test de l'activité locomotrice : Moyenne des quatre phases de l'activité locomotrice

	Moyenne des quatre phases
Témoin	50,2±11,41
Alz	40,29±8,11
STD	57,42±15,72
Alz-TrD1	53,67±9,22
Alz-TrD2	58,37±11,15

Annexe 4

- Test de labyrinthe en croix surélevé : Moyenne des quatre phases de labyrinthe en croix surélevé

	Moyenne des quatre phases
Témoin	258,85±35,75
Alz	266,65±24,12
STD	223,06±48,63
Alz-TrD1	220,68±36,9
Alz-TrD2	228,04±24,38

Annexe 5

- Test de double Compartiment noir/ blanc : Moyenne des quatre phases de double Compartiment noir/ blanc

	Moyenne des quatre phases
Témoin	218,18±34,09
Alz	154,54±31,89
STD	187,91±29,3
Alz-TrD1	218,81±28,39
Alz-TrD2	204,75±27,45

Annexe 6 :

Test de Persolt

	Moyenne des quatre phases
Témoin	211±42,36
Alz	156,5±27,57
STD	180,8±37,11
Alz-TrD1	181,5±21,8
Alz-TrD2	167,66±15,51

Annexe 7

- Test de mémoire spatiale de travail (MST)

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Test (J5)
Témoin	9±1,87	6,6±0,55	6,5±1,12	6,25±0,83	1,75±0,83
Alz	10±2,55	7,5±1,12	7,75±0,83	9,25±1,92	6±1,87
STD	10,5±2,06	10,5±1,5	6,5±1,66	7,5±1,8	6,4±1,52
Alz-TrD1	10,6±2,51	9,8±1,79	6,2±1,92	4,75±1,3	7±1,22
Alz-TrD2	10,3±1,64	7,25±2,68	3,67±1,63	4,75±1,48	3,75±1,3

Annexe 8

- Test de mémoire spatiale de référence conditionné (MSR)

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Test (J5)
Témoin	80±17,9	103±28,1	116±36,1	142±24,1	234±15,8
Alz	68,8±11,1	47,8±12,4	155±26,1	156±26,8	190±38,8
STD	108±32,9	97,3±24,6	152±24,7	163±15,2	183±31
Alz-TrD1	128±37,2	138±12,6	135±12,5	136±25,5	156±34
Alz-TrD2	157±23,5	124±37,7	244±29,5	179±21,5	187±24,9

Annexe 9

- Distinction de position

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Test (J5)
Témoin	12,8±2,59	10,4±1,14	6,2±2,59	5,8±2,28	4±1,58
Alz	13,8±3,63	11±3,24	10,5±2,06	7,4±2,07	7,4±1,14
STD	11,6±3,65	11,3±0,83	9±1,87	6,2±3,35	5,4±1,82
Alz-TrD1	10±3,08	7,8±1,79	7,6±2,97	5,4±1,95	5,25±4,26
Alz-TrD2	9,75±2,17	7±2,12	2±0,71	4,5±2,6	5,75±2,28

Annexe 10

- Test de Morris (MST)

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Test (J5)
Témoin	5,8±1,92	5±1,41	26,7±11,8	23,5±11	5,75±3,11
Alz	8,25±3,49	13±9,87	10,8±7,4	5,5±3,91	7,5±5,32
STD	3,33±0,41	6,25±2,17	3,75±1,92	7,5±4,8	6,75±2,28
Alz-TrD1	5,25±1,64	9±7	4,5±1,12	5±1,58	4,25±0,43
Alz-TrD2	5±1,22	3,33±1,63	3±0,71	3,33±0,41	15,3±3,56

Annexe 11

- Test de Morris (MSR)

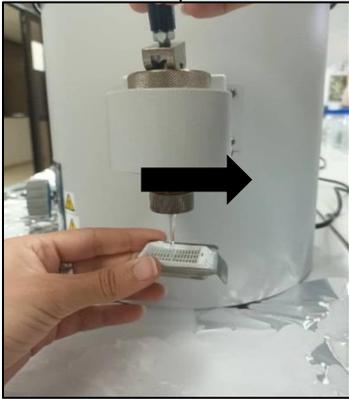
	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Test (J5)
Témoin	3,8±1,48	5,8±1,64	6,75±3,34	3,6±1,67	6,5±3,64
Alz	12,6±10,2	10,8±7,29	30±10,3	6,5±3,84	8,25±3,56
STD	6,75±1,3	6±0,71	4,5±2,5	4±2,35	5,25±4,32
Alz-TrD1	12±11,6	5,2±2,28	6,67±2,48	2,75±0,83	5,25±3,49
Alz-TrD2	7±1,22	6,5±1,8	9,33±4,97	2,75±0,43	5±2,12

Annexe 12 : Les étapes de l'étude histologique

1-Circulation



2-Inclusion



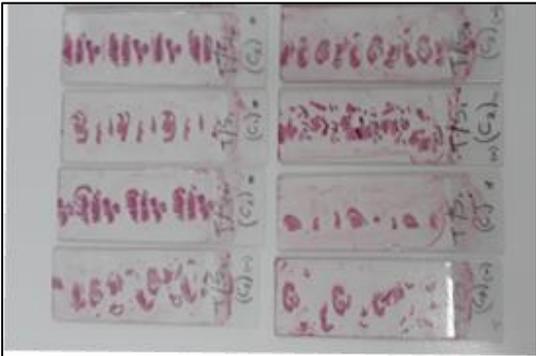
4-Coloration



3-Microtomie



5-Montage



6-Lecture microscopique



