

DÉDICACE

Afin d'être reconnaissant envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé, je dédie ce modeste travail de cette formation :

A ma très chère défunte mère, que dieu l'accueille en son vaste paradis.

A mon très cher père et ma deuxième mère qui m'ont comblé par leur courage.

A mes beaux-parents pour leur soutien.

A mes sœurs et mes frères Ahmed, Omar pour leurs encouragements.

A tous la promo master 2 LMD année 2015/2016 pour l'amitié, la fidélité et les souvenirs qu'on a partagés ensemble.

A mes fils Mohammed, Karim et Yacine.

Je tiens à dédier ce travail à ma chère épouse pour m'avoir partagé tous les instants de ce parcours, merci de tes encouragements, de ta confiance, de ton soutien quotidien réconfortant, de ta patience, de ta tolérance...mais vraiment ensemble que nous avons parcouru ce chemin qui nous conduit tous les deux vers de nouveaux horizon, mille merci pour tout.

A tous ceux qui, par un mot, par un geste, par supplication m'ont donné la force de continuer

....

REMERCIEMENT

Je remercie Dieu tout puissant d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers.

Je tiens à remercier le professeur A. Riazi, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire de recherche et m'a fournie tous ce qu'il faut pour réaliser ce travail de mémoire.

Je remercie grandement mon encadreur Dr. Y. Boufadi pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses valeureux conseils qui m'ont permis de mener à bon port ce travail.

Sans oublier aussi, de remercier Melle F. Tabet, mon co-encadreur pour son aide, et ses conseils.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements aux membres de jury Dr. S. Kadari et Dr. A. Chaalel de m'honorer de leurs présences et d'accepter de faire partie de jury.

Je tiens à remercier tous les enseignants(es) du département de Biologie et plus particulièrement ceux du master en nutrition et santé pour leurs abnégations et leurs compétences.

Je tiens aussi à remercier mon frangin Omar pour l'aide, le soutien et l'encouragement tout le long de ce cursus d'étude.

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Résumé

L'objectif de la présente étude est la mise en évidence de l'effet d'un extrait d'acétate d'éthyle de la propolis (EAP) de Tizirt (Tizi-Ouzou, Algérie) sur certains paramètres biochimiques chez les rats mâles Wistar rendus diabétiques par injection de streptozotocine (STZ : 60 mg/Kg i.p). Un total de 30 rats mâles Wistar (de poids moyen égal à 160 ± 18 g) a été divisé en six groupes de cinq rats, recevant respectivement 50, 100, 200 mg/kg d'EAP et 50 mg/kg de quercétine par voie orale et un groupe témoin négatif T (l'eau et la nourriture *ad libitum*), et un autre sert de témoin positif G1 (rendus diabétiques sans traitement). Les différents groupes d'animaux (G2 au G5) ont reçu des traitements des doses variables pendant une période de 90 jours. En fin d'expérience, les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction cardiaque afin de mesurer les paramètres d'homéostasies.

Les résultats obtenus indiquent que l'EAP à raison de 200 mg/kg diminue le taux de glycémie chez les rats diabétiques (3.33 gr/L). Le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1C) est également réduit sous l'effet de la propolis. L'effet de la propolis sur la glycémie et l'HbA1C est efficace. Le poids des rats diabétiques traités par la propolis (200mg/kg) augmente significativement par rapport aux rats diabétiques non traités. Par ailleurs, les concentrations en créatinine et en urée diminuent également chez les rats diabétiques sous l'effet de la propolis ; laissant penser à une amélioration de la fonction rénale. Le profil lipidique des rats diabétiques est également amélioré sous l'effet de la propolis. L'administration de la propolis permet de diminuer le taux sérique d'ASAT et ALAT pour les rats diabétiques traités par rapport aux non traités.

Mots clés : Diabète, propolis, quercétine, streptozotocine, homéostasie.

Abstract

The objective of this study is the demonstration of the effect of propolis ethyl acetate extract (EAP) of Tizirt (Tizi-Ouzou, Algeria) on some biochemical parameters in diabetic rats Wistar already injected by streptozotocin (STZ 60 mg / Kg ip). A total of 30 male Wistar rats, (average weight equal to 160 ± 18 g) were divided, into six groups (five animals each). Four groups received 50, 100, 200 mg / kg EAP or 50 mg / kg of quercetin orally for 90 days, and the fifth is used as negative control (T) and received only water and food ad libitum. The last groups served as positive control serves G1 (made diabetic without treatment). In the end of the experiment, blood samples were collected by cardiac puncture to measure parameters of homeostasis.

The results indicated that the EAP at 200 mg / kg reduced blood sugar levels in diabetic rats (3.33 g / L). Glycated hemoglobin (HbA1C) was also reduced under the effect of propolis. The effect of propolis on blood glucose and A1C is dose-dependent. The weight of diabetic rats treated with propolis (200mg / kg) significantly increased compared to the untreated diabetic rats. On the other hand, the concentrations of creatinine and urea decreased suggesting an improvement in renal function; the lipid profile of diabetic rats had also improved. The serum AST and ALT were reduced in the treated diabetic rats, compared to untreated.

Keywords: Diabetes - Extract of propolis – streptozotocin - antidiabetic effects.

Liste des abbreviations

- ADP: Adénosine diphosphate.
 - AMP: Adénosine monophosphate.
 - AMPK: Activated mono-phosphate kinase.
 - ATP : Adénosine triphosphate.
 - AZT : Azidothymidine.
 - CAPE : composé présentant le meilleur pouvoir antioxydant.
 - CD4 : Cluster de différenciation 4.
 - CD8 : Cluster de différenciation 8.
 - DID : Diabète insulino-dépendant.
 - DL : Dose létale.
 - DNID : Le diabète non insulino-dépendant.
 - DNT : Diabétique non traité.
 - DO : Densité optique.
 - EAP : Extrait d'acétate d'éthyle de la propolis.
 - ECP : Extrait chloroforme de la propolis.
 - EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique.
 - EEP : l'extrait éthanolique de la propolis.
 - GOT : Transaminase glutamique oxaloacétique.
 - GPT : Transaminase Glutamique pyruvique.
 - H₂O₂ : Eau oxygénée.
 - HbA1c : Hémoglobine glyquée.
 - HDL : High density lipoprotein.
 - IL-6 : Interleukine-6.
 - LDH : Lactate Dehydrogenase.
 - LDL : Low density lipoprotein.
 - MDH : Malate Dehydrogenase.
 - mg/kg : Milligrammes/kilogramme.
 - NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
 - NH₃ : Ammoniac.
 - NO synthase : L'oxyde nitrique synthase.
-

- O₂ : Oxygène.
 - OMS : Organisation mondiale de la santé.
 - ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity.
 - P : Propolis.
 - P/V : Brute/Solvant.
 - PAK1: Protein activated kinase 1.
 - pH : Potentiel hydrogène.
 - Q : Quercétine.
 - SGOT/ASAT : Sérum Glutamooxaloacétate Transférase /Aspartate-Aminotransférase.
 - SPGT/ALAT : Sérum Glutamopyruvate Transférase / Alanine-Aminotransférase.
 - STZ : streptozocine.
 - TNF- α : Cytokine pro-inflammatoires, Tumor Necrosis Factor- α .
 - TRAIL: (tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand).
 - V/V : Volume/Volume.
 - VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.
 - VLDL : Very low-density lipoprotein.
-

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les types de propolis les plus répandues avec leurs principales familles de composés polyphénoliques.

Tableau 2 : Les prises de poids au cours de l'expérimentation.

Tableau 3 : Le dosage de glycémie pendant la période d'expérimentation en gr/L.

Tableau 4 : Le dosage de glycosurie.

Tableau 5 : La variation de la glycémie en fonction de la glycosurie.

Liste des figures

Figure 1 : Le mécanisme physiopathologique du diabète type 2.

Figure 2 : Le développement du diabète type 2.

Figure 3 : La composition de la propolis.

Figure 4 : La propolis brute.

Figure 5 : Extrait de propolis.

Figure 6 : Extraction de la propolis.

Figure 7 : La variation du poids corporel sur treize (13) semaines.

Figure 8 : Les résultats de dosage de glycémie sur 90 jours.

Figure 9 : La variation de la glycémie par rapport à la glycosurie.

Figure 10 : Les résultats de glycémie.

Figure 11 : Les résultats de dosage d'Hb A1c.

Figure 12 : Les résultats de dosage d'urée.

Figure 13 : Les résultats de dosage de créatinine.

Figure 14 : Les résultats de dosage du cholestérol.

Figure 15 : Les résultats de dosage HDL et LDL.

Figure 16 : Les résultats de dosage des triglycérides.

Figure 17 : Les résultats de dosage des protéines totales.

Figure 18 : les résultats de dosage des transaminases.

Table des matières

Effet de la propolis de Tizirt sur les rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine

- Dédicace.
- Remerciement.
- Résumé.
- Abstract.
- Liste des abréviations.
- Liste des tableaux et des figures.

Introduction générale	1
------------------------------------	---

Chapitre I : Le diabète.

I.1. Généralités	3
I.2. Les différents types de diabète.....	
I.2.1. Diabète insulino-dépendant ou de type 1 (DID)	3
I.2.2. La physiologie de diabète type1	4
I.2.3. Le diabète non insulino-dépendant ou de type 2 (DNID).....	4
I.2.4. Physiopathologie du diabète de type 2	4
I.2.5. Diabète gestationnel	7

Chapitre II : La propolis.

II.1. Définition et généralité	9
II.2. Définition de l'apithérapie.....	9
II.3. Origine de la propolis	9
II.4. Composition de la propolis.....	10
II.5. Les caractéristiques botaniques de certain type la propolis.....	11
II.6. Propriétés pharmacologiques de la propolis.....	13
II.6.1. Activité antidiabétique de la propolis.....	13
II.6.2. Activité antimicrobienne	13

II.6.3. Activité antifongique.....	14
II.6.4. Activité antivirale.....	14
II.6.5. Activité antiparasitaire	14
II.6.7. Activité antioxydante	15
II.6.7. Activité anti-inflammatoire	15
II.6.8. Activité anti-angiogénique	15
II.6.9. Activité immuno-modulatrice	16
II.6.10. Activité anti-tumorale	16
II.6.11. Effets indésirables–toxiques	17

Chapitre III : Matériel et méthodes.

III.1. Le matériel végétal	18
III.1.1. Origine de la propolis utilisée	18
III.1.2. Préparation de l'extrait de propolis	18
III.2. Expérimentation animale	19
III.2.1. Animaux et conditions d'hébergement	19
III.2.2. Induction du diabète expérimental	20
III.2.3. Le traitement des rats diabétique	20
III.2.4. La surveillance du poids, la glycémie et la glycosurie	21
III.2.4.1. Pesé	21
III.2.4.2. Dosage du glucose sanguin	21
III.2.4.3. Prélèvement de sang chez le rat	22
III.3. Les paramètres biochimiques.....	22
III.3.1. Dosage de glucose sanguin	23
III.3.2. Dosage des protéines totales	24
III.3.3. Dosage de l'urée	24
III.3.4. Dosage de Créatinine	24
III.3.5. Dosage de transaminase (TGO).....	24
III.3.6. Dosage des transaminases (TGP).....	24
III.3.7. Dosage de l'albumine	26
III.3.8. Dosages des triglycérides	26
III.3.9. Dosage de cholestérol	26
III.3.10. Dosage du HDL et LDL	27
III.3.11. Dosage d'hémoglobine glyquée (HbA1c)	27
III.3.12. But du dosage d'hémoglobine glyquée	27

Chapitre IV : résultats et discussion.

IV.1. Détermination du poids corporel.....	28
IV.2. Dosage de la glycémie.....	29
IV.3. Dosage de la glycosurie.....	31

IV.4. Étude des dosages des paramètres plasmiques après sacrifice	32
IV.4.1. Le dosage de la glycémie.....	32
IV.4.2. Dosage d'hémoglobine glyquée	33
IV.4.3. Dosage de l'urée et la créatinine.....	34
IV.4.4. Dosage du cholestérol.....	35
IV.4.5. Les fractions du cholestérol LDL et HDL	36
IV.4.6. Dosage des triglycérides	37
IV.4.7. Dosage des protéines totales.....	38
IV.4.8. Dosage de l'albumine	39
IV.4.8. Dosage des transaminases TGO/ASAT et TGP/ALAT.....	40

Conclusion.

Références bibliographiques.

Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le nombre de diabétiques dans le monde devrait plus que doubler d'ici 2030 passants de 13,5 millions en 1995 à 370 millions soit 4,3% de la population mondiale. Les pays en voie de développement ne sont pas épargnés avec une progression de 84 à 228 millions de malades d'ici 2025 soit une hausse de 170%.

Durant la même période, le diabète continuera de progresser dans le monde développé (augmentation prévue de 40% entre 1995 et 2025) : c'est déjà la quatrième cause de mortalité. La population malade sera aussi de plus en plus jeune, femmes et hommes étant touchés indifféremment (OMS, 1998).

Plusieurs facteurs sont évoqués pour expliquer cette augmentation spectaculaire :

- l'accroissement et le vieillissement de la population (Gourdy et al., 2001).
- le mode de vie sédentaire (absence d'activité physique) (Helmrich et al., 1991).
- des mauvaises habitudes alimentaires (destruction du rythme et des horaires de repas favorisant le grignotage, consommation excessive de sucres et lipides pouvant entraîner une obésité, malnutrition) (Bennett et al., 1992).

Le diabète est donc un problème de santé public majeur, tant en terme de mortalité que de coût pour les systèmes de santé, auquel il convient d'apporter des réponses en développant des nouveaux axes de recherches thérapeutiques pour découvrir des médicaments potentiellement plus efficaces et moins toxiques. (Anonyme, actualité pharmaceutique, 2001).

Selon l'OMS (Guermaz, 2008), l'Algérie en compte 5 millions tout diabète confondu. Les traitements actuels du diabète visent à normaliser autant que possible la glycémie sans pour autant guérir la maladie. L'épidémie du diabète engendre des dépenses financières majeures pour les individus et pour la société, du fait de la maladie et surtout de sa grave complication (Ortiz, 1993).

La diminution du pouvoir d'achat des populations, le coût des médicaments et leurs effets secondaires non négligeables, qui dans de nombreux cas, sont plus graves que les troubles de la maladie elle-même et enfin la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse, ont fait que les populations du tiers monde (comme l'Algérie) et même ceux des pays développés

utilisent encore des plantes médicinales comme alternative thérapeutique, en particulier pour le diabète de type II, (Grimaldi, 2005).

Plusieurs travaux de recherche ont montré un intérêt certain pour ses plantes, connues comme source de nouvelles biomolécules hypoglycémiantes... l'insuline végétale n'étant pas encore connue (Chicouri, 1983). La phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor considérable du fait de la découverte d'un nombre important d'extraits de plantes antidiabétiques. L'utilisation des plantes est une pratique courante dans le monde. Aujourd'hui plus de 800 plantes ont été identifiées et étudiées comme traitement potentiel du diabète de type II. Les principaux principes actifs isolés et identifiés comme antidiabétiques sont : Les flavonoïdes, les mucilages, les glycanes, les triterpénoïdes, les alcaloïdes, les saponosides et tanins (Perez *et al.*, 1998 ; Wang et Ng, 1999).

La propolis une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur des bourgeons d'arbres tels que le peuplier, le chêne, l'aulne, etc., soit sur des conifères, amalgamés à une sécrétion salivaire des abeilles (Jianchun *et al.*, 2007).

Ce produit de la ruche est très précieux en raison de ses propriétés antioxydantes, antibactériennes, antivirales, anticancers et thérapeutiques liées à sa composition en polyphénols et flavonoïdes. A cet effet, la propolis est extensivement utilisée dans l'industrie alimentaire, la médecine, la cosmétologie et en médecine vétérinaire (Tosi *et al.*, 2006).

Le but de notre étude est d'étudier l'effet antidiabétique de la propolis sur les rats rendus diabétiques par streptozotocine. Cette étude est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique, dans laquelle nous avons essayé de faire une synthèse bibliographique de l'état actuel des connaissances sur :
 - la définition de diabète sucré.
 - La phytothérapie antidiabétique (propolis et ses propriétés pharmacologiques).
 - Le dosage des paramètres biochimiques.
- Une partie expérimentale, où nous avons effectué :
 - Dans un premier temps une acclimatation de l'animal.

- Recherche s'il existe un effet hypoglycémiant et anti hyperglycémiant de la propolis sur un modèle animal ; rats Wistar, avec un diabète induit à la streptozotocine.
- De même nous avons déterminé l'impact de cette thérapie sur certains paramètres d'homéostasie.

Pour en finalité, et à la lumière de nos résultats et ceux de la littérature, envisager la place d'un traitement biologique substitutif chez les rats rendus diabétique expérimentalement.

Chapitre I : Le diabète

I.1. Généralités

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie. A l'origine, le terme "diabète" désignait diverses maladies caractérisées par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense (Calop et al., 2008). Cette pathologie se distinguait par la saveur sucrée des urines et fut nommée diabète sucré (Sharma, 2008).

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone (Rodier, 2001). Le diabète type 1, insulino-dépendant (DID), est actuellement maîtrisé surtout après la synthèse de l'insuline recombinante (Johnson, 1983). Pour le diabète type 2 (DNID), le champ de recherche est encore ouvert.

I.2. Les différents types de diabète

I.2.1. Diabète insulino-dépendant ou de type 1 (DID)

C'est le diabète insulino-dépendant, juvénile, maigre, cétonique. Il survient à tout âge et est plus fréquent chez les jeunes entre 9-14 ans. Il est lié ou non à une destruction auto-immune progressive des cellules β des îlots de Langerhans, par infiltration des lymphocytes et de macrophages (insulite) qui conduit en quelques années à un état d'insulinopénie absolue. Dans ce type de diabète (Gaw et al., 2004 ; Grimaldi, 2005), représente 5 à 10% de tous les cas de diabète.

L'entrée dans la maladie caractérisée par une hyperglycémie supérieure à 2 g/L (la limite supérieure étant de 1,26 g/L à jeun), peut se traduire par une polyurie, une polyphagie, une polydipsie, une perte de poids, une fatigue, ou un profond déséquilibre de l'homéostasie glycémique accompagné de cétose ou d'acidocétose, pouvant aboutir à un coma. L'évolution de la maladie est marquée par des complications : microangiopathie, accidents vasculaires cérébraux, rétinopathie, cataracte, glaucome, hypertension, cardiopathie ischémique, Glomérulosclérose, neuropathie autonome, vasculopathie périphérique, gangrène... (Jaïdane et al., 2008).

I.2.2. La physiologie de diabète type 1

Insulinite auto-immune est une infiltration de cellules mononuclées (lymphocyte T) et pénétrant l'îlot de Langerhans du pancréas, cette présence d'un anticorps anti-ilots (ICA) est très spécifique pour un diabète et un élément prédictif de l'installation de diabète de type 2 qui conduit à la destruction totale des cellules du pancréas (Grimaud, 2007).

I.2.3. Le diabète non insulino-dépendant ou de type 2 (DNID)

C'est le diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité, gras, non-acidocétosique. C'est entre 40 à 80 ans qu'il est le plus fréquent. On le décrit plus rarement chez les adolescents et les enfants. Il résulte de la combinaison de deux anomalies métaboliques : un déficit de l'insulinosécrétion et une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles (foie, muscle, tissus adipeux) (Lubetzki *et al.*, 2000 ; Guillausseau et Michelin, 2003), il touche principalement les sujets plus âgés et souvent obèses (Amadou, 2006).

Le diabète de type 2 concerne 85 à 90% des patients diabétiques (Brian, 2006), il s'accompagne parfois par les symptômes suivants : polydipsie, polyurie, asthénie, polyphagie, amaigrissement et obésité, (Raccach, 2004 ; Calop *et al.*, 2008).

I.2.4. Physiopathologie du diabète de type 2

Le diabète type 2 est une pathologie complexe dont certains mécanismes spécifiques sont encore indéterminés. Il est reconnu que le diabète type 2 résulte d'un déséquilibre entre la sensibilité à l'insuline des tissus et la sécrétion de l'insuline par la cellule bêta du pancréas. La (fig. 1) représente l'évolution d'une glycémie normale vers l'apparition du diabète type 2 (Kasuga, 2006). Cette figure illustre l'influence négative des adipocytes sur le métabolisme du glucose. En effet, leur production d'adipokines, de cytokines pro-inflammatoires et d'acides gras libres favorise le développement de la résistance à l'insuline. La compensation de cette résistance à l'insuline par les cellules β permet de conserver une glycémie normale.

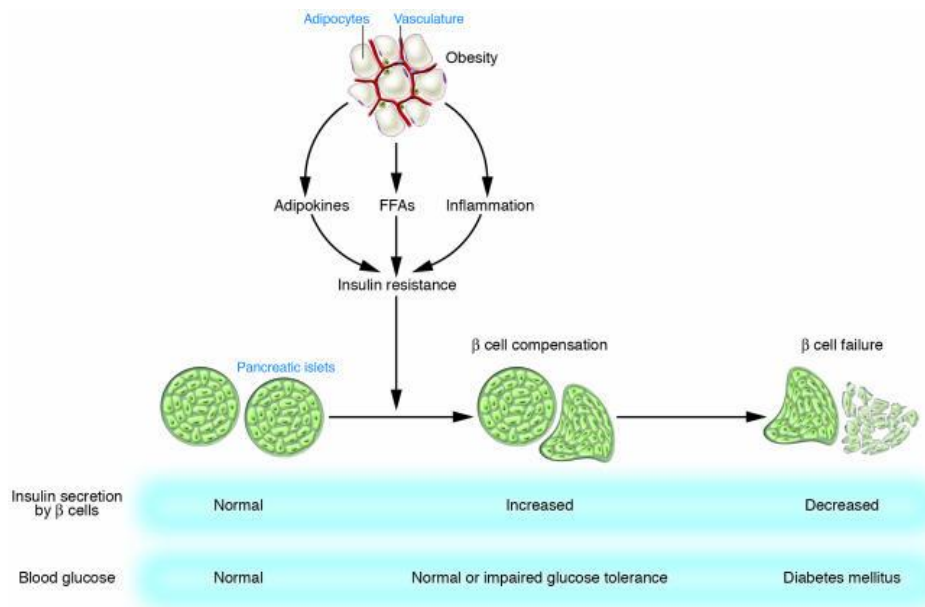


Figure 1 : Le mécanisme physiopathologique du diabète type 2 (Kasuga, 2006)

Cependant, il arrive un point où les cellules β ne suffisent plus et se dégradent entraînant ainsi une augmentation de la glycémie et l'apparition du diabète type 2. Il résulte donc d'une résistance à l'insuline et d'une sécrétion d'insuline insuffisante (Canadian Diabetes Association, 2008). La résistance à l'insuline peut s'expliquer par plusieurs mécanismes, ce qui est conséquent avec le fait que le diabète type 2 serait une maladie hétérogène (Savage, 2007).

Un apport énergétique augmenté accompagné d'une diminution de la dépense énergétique favorise un bilan énergétique positif. Ce bilan énergétique positif favorise le stockage des graisses (fig. 2), éventuellement, le stockage des graisses sera trop important ce qui engendrera une libération d'acides gras libres circulants et d'adipokines (Wilding, 2007).

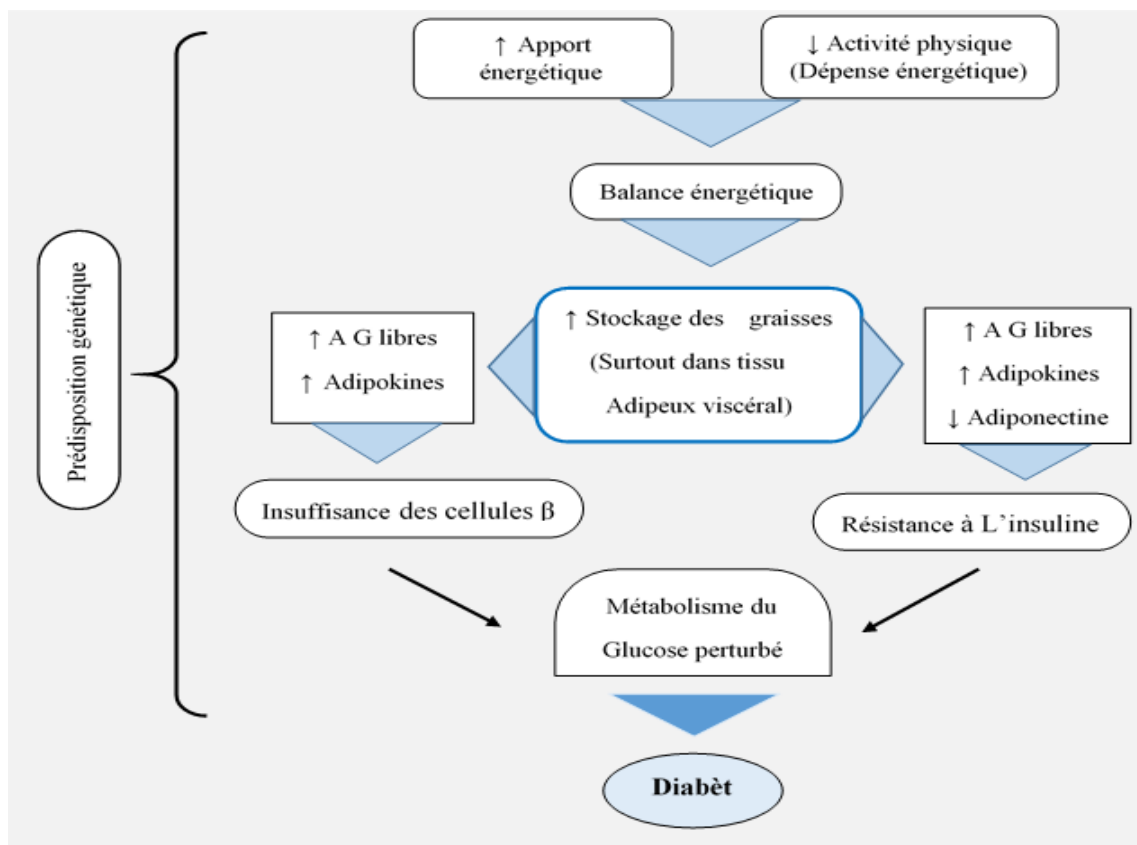


Figure 2 : Le développement du diabète type 2 (Wilding, 2007).

Cette augmentation des acides gras libres circulants favorisera la résistance à l'insuline notamment dans le foie et le muscle. Pour lutter contre cette résistance à l'insuline, le pancréas augmentera sa production d'insuline. Par contre, si cet état persiste trop longtemps, les cellules β décompenseront et se dégraderont, causant ainsi une augmentation de la glycémie et l'apparition du diabète. La résistance à l'insuline suivie de l'insuffisance des cellules β perturberont le métabolisme du glucose favorisant le développement du diabète type 2.

Il est reconnu que la présence d'un surplus de poids est associée à un risque accru de développer du diabète type 2 (Wilding, 2007). On observe que le surplus de poids et l'obésité sont associés à un risque graduellement augmenté du diabète type 2.

Cependant, il est à noter que la raison pour laquelle le diabète type 2 est absent chez certains individus avec un surplus de poids est encore indéterminée (Eckel, 2011).

En effet, la proportion du type de gras est à prendre en considération étant donné que le gras viscéral est davantage associé au diabète de type 2 que le gras sous-cutané (Wilding, 2007).

Les acides gras libres ont une influence importante sur le développement du diabète type 2. Ceux-ci sont libérés majoritairement au niveau du tissu adipeux central sous-cutané (Santosa, 2008). Ces acides gras libres circulants vont éventuellement s'accumuler dans le foie et le muscle (Samuel et al., 2010).

Si la capacité d'oxydation des lipides par la β -oxydation de ces tissus vient à être saturée, les lipides vont s'accumuler dans ces tissus sous forme d'un intermédiaire de lipides, le diacylglycérol (Boden, 2011). L'activation de la protéine kinase C sérine/thréonine par le diacylglycérol entraînera une phosphorylation de la sérine du récepteur à l'insuline altérant ainsi son fonctionnement. Ce phénomène explique pourquoi les acides gras libres ont été associés à une diminution de la sensibilité à l'insuline dans les muscles et le foie.

En parallèle, le tissu adipeux est le principal producteur de l'adiponectine, une adipokine, qui aurait comme effet d'améliorer la sensibilité à l'insuline (Nishida, 2007). Cependant, l'obésité est associée à un faible niveau d'adiponectine et empêche, par conséquent, la présence de son effet protecteur ce qui pourrait contribuer à augmenter la résistance à l'insuline. En effet, l'adiponectine, en se liant à des récepteurs d'adiponectine 1 et 2 au niveau du foie et des muscles, améliore la sensibilité à l'insuline en favorisant l'activité de l'AMP-activated kinase (AMPK), molécule favorisant l'oxydation des acides gras libres (Brochu-Gaudreau et al., 2010). Il s'agit donc d'un autre facteur favorisant une diminution de la sensibilité à l'insuline.

I.2.5. Diabète gestationnel

La définition actuelle du diabète gestationnel est celle proposée lors de la IV^{ème} conférence internationale du diabète gestationnel (Metzger, 1998), et par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Il s'agit d'un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quel que soit le traitement nécessaire et l'évolution dans le post partum. Le diabète gestationnel est en réalité une entité cliniquement hétérogène regroupant plusieurs situations dont le pronostic materno-fœtal est différent :

- Une anomalie de la tolérance glucidique apparue au cours de la grossesse, le plus souvent en seconde partie de grossesse et disparaissant, temporairement au moins, en post-partum. C'est la situation la plus fréquente.
- Un diabète patent préexistant à la grossesse et découvert à l'occasion de celle-ci. Le plus souvent, il s'agit d'un diabète de type 2 mais parfois également d'un diabète de type 1. Ce diabète est alors révélé par les modifications métaboliques induites par la gestation. Ce diabète persistera après l'accouchement.

Cette seconde situation entre jusqu'à présent dans la définition classique du diabète gestationnel mais correspond en fait à un authentique diabète généralement de type 2.

Chapitre II : La propolis

II.1. Définition et généralité

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

II.2. Définition de l'apithérapie

La commission scientifique d'apithérapie d'Apimondia (Fédération Internationale des Associations Apicoles) propose la définition suivante :

L'apithérapie est un concept médical, basé sur des appuis scientifiques corroborant des connaissances traditionnelles comprenant :

- des procédures et standards de production apicole à destination médicales ;
- des procédures de transformation des produits de la ruche, seuls, ou en association avec les plantes médicinales et leurs dérivés (Api-pharmacopée) ;
- des protocoles cliniques intégrant l'utilisation de l'Api-pharmacopée et/ou des abeilles (Api-médecine). ([Fédération Internationale des Associations Apicoles](#)).

L'apithérapie correspond à l'utilisation des produits récoltés, transformés ou sécrétés par l'abeille, et tout particulièrement pour l'heure : le pollen, la propolis, le miel, la gelée royale et le venin. Des produits essentiels pour les thérapeutiques de "terrain". En effet, Il a été scientifiquement démontré que tous les produits de la ruche peuvent s'avérer très bénéfiques pour la santé de l'Homme. L'utilisation thérapeutique du miel et de la propolis par exemple, remonte à la nuit des temps. L'usage de la cire, du pollen et de la gelée royale ont montré leur efficacité thérapeutique ([Donadieu,2006](#)).

II.3. Origine de la propolis

L'extraordinaire pérennité des abeilles que l'on estime à quelques 60 millions d'années tient aux moyens naturels qu'elles ont su trouver dans la nature pour faire face à toutes sortes de maladies et parasites. Les abeilles récoltent une résine présente sur les bourgeons, jeunes rameaux, blessures de certains arbres et arbustes prévue pour les protéger contre les attaques des micro-organismes mais aussi des insectes (un effet répulsif) (Gregoris, 2010).

En mélangeant cette résine à de la cire et à des enzymes sécrétées par leur système glandulaire, elles obtiennent une sorte de glu que l'on nomme : propolis. Les abeilles récoltent cette résine quand la température est voisine de 18–20 °C, la modifient avant de la déposer dans la ruche pour colmater les trous, pour en assurer une parfaite étanchéité associée à une excellente asepsie (Bogdano, 2010).

L'ouverture à l'entrée de la ruche est constamment ajustée et remodelée à l'aide de propolis afin d'ajuster ses dimensions et son orientation en fonction des conditions climatiques. Ce passage constitue par la même occasion une sorte de « sas de décontamination » à l'entrée de la ruche où chaque abeille rentrante ou sortante devra se poser, d'où le nom de propolis qui en grec signifie pro : « devant » et polis : « cité », l'abeille va aller chercher sa résine dans son écosystème et c'est bien de cet écosystème que va dépendre la composition de la propolis (Burdock, 1998).

II.4. Composition de la propolis

L'origine botanique dont sera issue la propolis constitue le principal facteur responsable de sa composition spécifique. L'autre facteur sera les modifications générées à travers les sécrétions hyopharyngiennes de l'abeille qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone) (Hégazi, 1997).

La propolis est constituée de 50 à 55 % de résines et baumes, de 30 % de cires et acides gras, de 10 % d'huiles essentielles, de 5 % de pollen et de 5 % de substances organiques et minérales. Parmi ces dernières, on retrouvera beaucoup de flavonoïdes et autres dérivés phénoliques ainsi que leurs esters, des dérivés aromatiques volatils, des minéraux (fer, calcium, zinc, cuivre, manganèse) et des vitamines (C, E et du groupe B). (Marcucci, 1995 ; Viuda-Martos et al., 2008).

La fraction polyphénolique est très différente d'une propolis à une autre et constitue ainsi une sorte d'empreinte spécifique qui permet d'identifier l'origine botanique de cette

propolis (Bankova, 2000 ; Sawaya et al., 2010). Chaque composé ayant des activités biologiques qui lui sont propres, les propriétés pharmacologiques de chaque type de propolis seront donc conditionnées par sa composition. En vue d'une utilisation chez l'homme, il est important de caractériser, de standardiser et de maîtriser la composition de chaque propolis utilisée (Bankova, 2005).

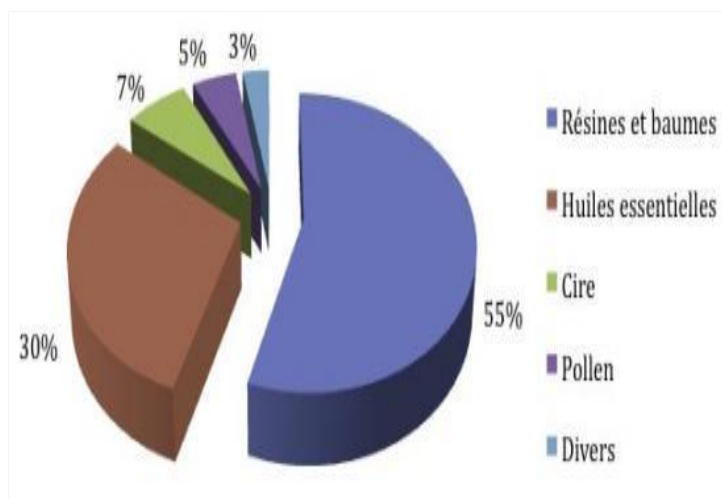


Figure 3 : La composition de la propolis.

II.5. Les caractéristiques botaniques de certain type la propolis

La provenance de la propolis dépend du lieu géographique, de l'écosystème, de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences de l'abeille (tableau 3).

La propolis est un matériau recueilli par les abeilles à partir de certaines plantes. Cette matière végétale a été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (Arjun et al., 2004).

Tableau 1 : Les types de propolis les plus répandues avec leurs principales familles de composés polyphénoliques.

Type de propolis	Origine géographique	Origine botanique	Principaux constituants
Propolis brune (Boufadi <i>et al.</i> , 2014)	Algérie, Tunisie	<i>Apis mellifica intermissa</i>	la chryssine, Kaempférol acacétine acide cinnamique et acide hydroxy méthoxycinnamique
Peuplier Ambrée à brune (Popova <i>et al.</i> , 2011)	Europe, Amérique du Nord, régions non tropicales de l'Asie, Nouvelle-Zélande	Populus spp. et principalement P. nigra L	Flavones, flavanones, acides phénols et ses esters et sesquiterpènes
Verte du Brésil (Salatino <i>et al.</i> , 2005)	Zone tropicale du Brésil	Baccharis spp. principalement B. dracunculifolia DC	Derivés prénylés de l'acide coumarique Acides diterpéniques, Lignan
Bouleau (Popravko, 1978)	Nord de la Russie	<i>Betula verrucosa</i>	Flavones, flavonols, flavonones et sesquiterpènes
Propolis rouge (Piccinelli <i>et al.</i> , 2011)	Cuba, Brésil, Mexique	Dalbergia ecastophyllum	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylée
Propolis rouge (Hernandez <i>et al.</i> , 2005)	Cuba, Venezuela	<i>Clusia rosea</i>	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylées
Méditerranéenne (Popova <i>et al.</i> , 2011)	Sicile, Grèce, Malte, Crête, Turquie	Famille des Cupressacea	Acides diterpéniques et principalement de type labdane
Pacifique (Trusheva <i>et al.</i> , 2011)	Zone pacifique (Taiwan, Okinawa, Indonésie)	<i>Macaranga tanarius</i>	Prényl-flavanones

II.6. Propriétés pharmacologiques de la propolis

La propolis est utilisée par l'homme sur le plan médical depuis des millénaires. Depuis une cinquantaine d'années, la littérature scientifique a rapporté et confirmé bon nombre d'activités santé de la propolis (Khalil, 2006 ; Lotfy, 2006). Malgré des différences de composition entre les propolis, un certain nombre de propriétés pharmacologiques et/ou d'effets santé commun font consensus.

II.6.1. Activité antidiabétique de la propolis

Une normalisation durable de la glycémie diminue le risque de développer des micro-maladies vasculaires et de réduire les complications de cette maladie. Les thérapies conventionnelles du diabète ont de nombreuses lacunes, par exemple les effets secondaires comme le stress oxydatif (Punitha et al., 2005) et l'intolérance à l'insuline (Raccach, 2004).

Il a été montré que des extraits de plantes notamment la propolis ont les mêmes efficacités que les médicaments antidiabétiques et sans effets secondaires, sans diminution de l'efficacité au fil du temps et sans complications diabétiques à long terme (Kim et al., 2006).

II.6.2. Activité antimicrobienne

L'activité bactéricide de la propolis et/ou de ses constituants est la plus largement documentée. 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+. Parmi les bactéries inhibées, on retrouve des *Staphylococcus (aureus et mutans)* (Lu, 2005) des *Streptococcus (mutans et sanguinis)* (Koo et al., 2002), des *Proteus (vulgaris et mirabilis)*, des *Pseudomonas* (Onlen et al., 2007), des *Salmonella* (Uzel et al., 2005), autant de souches qui sont impliquées dans les troubles des sphères otorhinopharyngées, gastro-intestinale, génitale ou buccale (Samet et al., 2007 ; Santos et al., 2008).

Les différentes études mécanistiques suggèrent que la propolis et/ou 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 ou par une inhibition du processus d'adhésion (Farooqui, 2010). Certaines études ont montré que des souches résistantes, voire multirésistantes aux antibiotiques, étaient sensibles à la propolis (Raghukumar et al., 2010). Il a également été montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en

association avec certains antibiotiques, augmente leur efficacité (streptomycine, ampicilline, gentamycine, cloxacilline...) (Fernandes et al., 2005; Sforcin, 2011).

II.6.3. Activité antifongique

La propolis exerce une activité fongicide contre les germes appartenant au genre *Candida*, mais aussi contre les champignons de type *Aspergillus* (Ozcan, 2004) et *Mycrosporium* (Dobrowolski et al., 1991) ainsi que contre les levures (Dalben-Dota et al., 2010). Une étude *in vitro* a montré un effet coopératif de la propolis pour lutter contre une souche mycosique d'Amérique du Sud en stimulant l'activité fongicide des macrophages (Murad et al., 2002).

II.6.4. Activité antivirale

Les études ont montré que la propolis et/ou ses constituants étaient efficaces contre de nombreux virus : myxovirus, poliovirus, coronavirus, rotavirus, adénovirus (Schnitzler et al., 2010). Ainsi, la propolis et certains de ses constituants (apigénine, chryisine) possèdent un effet prophylactique contre le virus de la grippe, en atténuent les symptômes à travers une action antineuraminidase (Liu et al., 2008) La propolis de peupliers et l'un de ses principaux composés, l'ester phényléthylique d'acide caféique (CAPE), ont un potentiel anti-VIH (comme agent anti-intégrase du virus) (Burke et al., 1995) et un effet additif avec l'AZT (azidothymidine), (inhibiteur de la transcriptase reverse). Des crèmes à base de propolis se sont révélées efficaces pour réduire les durées des lésions, les douleurs et augmenter les intervalles entre deux épisodes d'herpès labial et génital (Vynograd, 2002).

II.6.5. Activité antiparasitaire

Quelques études ont montré que la propolis était efficace contre les trichomonas (Xu, 2006), les trypanosoma (responsable de la maladie du sommeil), (de Castro, 1995), la leishmania (Machado, 2007) ou (Giardia lamblia (parasitose intestinale), (Abdel-Fattah, 2007) qui sont pour la plupart des parasites très répandus dans les pays tropicaux et subtropicaux.

II.6.6. Activité antioxydante

La propolis est une substance constituée de nombreux composés antioxydants : vitamines E et C et des polyphénols, (Ahn, 2004). Les études ont montré que l'activité

antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec son contenu en polyphénols (Gregoris, 2010). De ce fait, la propolis de peupliers plus riche en polyphénols possède un potentiel antioxydant supérieur à celui de la propolis verte du Brésil par exemple (Kumazawa, 2004).

Dans le même esprit, on trouve que la valeur ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity ou Capacité d'absorption des radicaux libres) d'une résine pure et entière de propolis est supérieure à celle de ses différentes sous-fractions organiques. *In vivo*, la propolis réduit significativement la lipoperoxydation dans différents organes (foie, rein, poumon, cerveau) et module l'expression des enzymes antioxydantes (catalase, superoxide dismutase, glutathion peroxydase) (Sobocanec, 2006). Le CAPE est le composé présentant le meilleur pouvoir antioxydant (Farooqui, 2010).

II.6.7. Activité anti-inflammatoire

Sur des modèles *in vivo* d'arthrite, d'œdème de la patte ou d'inflammation chronique et aiguë, la propolis exerce un effet anti-inflammatoire significatif (Ramos, 2007). Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés : inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire (IL-6) et inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation (cyclo-oxygénase, lipo-oxygénase, myéloperoxydase, NADPH-oxydase, ornithine décarboxylase) (Khayyal *et al.*, 1993). Le CAPE s'est révélé être le plus puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique à la base de la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines pro-inflammatoires (Rossiet *et al.*, 2002).

II.6.8. Activité anti-angiogénique

La propolis et plus spécialement l'artepelline C (propolis verte) et le CAPE (propolis de peupliers) réduisent l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo* via une limitation de la néovascularisation, une inhibition de la prolifération et de la migration cellulaires, et ce, de manière dose-dépendante (Keshavarz *et al.*, 2009).

II.6.9. Activité immuno-modulatrice

La propolis possède une action immunomodulatrice *in vitro* et *in vivo* sur l'ensemble des cellules immunitaires impliquées dans la réponse innée ou acquise (Orsatti *et al.*, 2010). Elle stimule le pouvoir de présentation des macrophages, l'activité lytique des macrophages et des natural killer contre les cellules tumorales. Elle augmente la production de cytokines

pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-8), renforce la coopération entre les lymphocytes CD4 et CD8 et stimule la production d'anticorps par les plasmocytes (Sforcin, 2007). Il a également été montré que la propolis exerçait une activité antiallergique.

La prise de propolis réduit les éternuements et irritations dans le cas de rhinite allergique par inhibition de la libération d'histamine (Shinmei *et al.*, 2009). La prise orale quotidienne de propolis pendant deux mois a permis une réduction du nombre et de la sévérité des crises nocturnes et une amélioration des fonctions ventilatoires chez des patients souffrants d'asthme. En parallèle, ces auteurs ont constaté une diminution des prostaglandines, des leucotriènes et des cytokines pro-inflammatoires et une augmentation de cytokines anti-inflammatoires chez ces patients (Khayyal *et al.*, 2003).

II.6.10. Activité anti-tumorale

De très nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont été entreprises sur l'activité anti-tumorale de la propolis ou de ses principaux constituants (Orsolich, 2010). Les résultats montrent un effet antiprolifératif vis-à-vis d'un très grand nombre de lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, prostate, poumon, foie, cerveau et rein) (Liao *et al.*, 2010 ; Valente *et al.*, 2011). On estime actuellement qu'environ 70 % des cancers sont dépendants de la voie de signalisation PAK1 pour leur croissance. Diverses études ont montré que l'extrait alcoolique de propolis et/ou ses principaux constituants étaient capables d'inhiber la voie de signalisation PAK1 en modulant l'expression et/ou l'activité d'un certain nombre de facteurs impliqués dans cette voie de signalisation. Dans la grande majorité des cas, l'effet antiprolifératif résulte d'une restauration du signal d'apoptose (Szliszka *et al.*, 2009 ; Avcı *et al.*, 2011).

Les différentes molécules de la propolis vont pouvoir agir à différents endroits pour induire l'apoptose soit par la voie intrinsèque, via la libération du cytochrome C mitochondrial, soit par la voie extrinsèque, via l'induction de ligands TRAIL, de protéines proapoptotiques, des caspases, des protéines p21 et p53 et l'inhibition des protéines antiapoptotiques. L'effet antiprolifératif peut également, selon les lignées considérées, résulter d'un arrêt du cycle cellulaire par inhibition des cyclines ou par blocage des récepteurs hormonaux (Popolo *et al.*, 2011).

II.6.11. Autres effets

La propolis montre un effet préventif contre les neutropénies, anémies et thrombopénies consécutives aux traitements de chimiothérapie et radiothérapie (Montoro et al., 2011 ; Benkovic et al., 2009). Ces traitements anticancéreux sont particulièrement toxiques envers certains organes (foie, cœur, rein, neurone). Des études in vitro et in vivo ont là aussi montré un effet protecteur de la propolis contre ces agents chimiques (Alyane et al., 2008). Des résultats similaires ont été trouvés avec des intoxications à différents xénobiotiques (paracétamol) (Gonzalez et al., 1994) et polluants environnementaux (métaux lourds) (Bhadoria, 2008).

Ces effets passent en partie par les propriétés antioxydantes de la propolis qui va protéger les cellules, contribuer au mécanisme de réparation de l'ADN et au mécanisme de défense endogène (surexpression des enzymes antioxydantes, maintien du glutathion intracellulaire). Une étude a également montré que la propolis pouvait prévenir l'insulinorésistance induite chez l'animal. Cet effet passerait par une modulation du métabolisme des lipides et du glucose, une inhibition de la production d'IL-1 β et de l'activité de la NO synthase (El-Sayed et al., 2009).

II.6.12. Effets indésirables–toxiques

La toxicité de la propolis est très faible. Chez le rat, la dose létale DL50 d'un extrait concentré de propolis a été évaluée à 15 g/kg. Une saisine de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) (2007-SA-0231), rapporte que la dose la plus élevée sans effets indésirables est de 1 400 mg/kg chez l'animal et qu'une supplémentation de 1,95 g/j pendant 30 jours n'a pas entraîné d'effets indésirables chez l'homme (Jasprica et al., 2007 ; Donadieu, 2008). Il peut exister cependant des cas d'allergies de contact (dermatose, eczéma) avec un allergène bien identifié : le 3,3-diméthylallyl caffeate (Gardana, 2001).

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Le matériel végétal

III.1.1. Origine de la propolis utilisée

La propolis utilisée dans ce travail est celle produite par la race d'abeilles *Apis mellifica intermissa* qui a été récoltée durant le printemps 2014 après la miellée de la région de Tizrit (Tizi Ouzou). La récolte de la propolis brute a été effectuée par la méthode des grilles. La propolis est stockée au congélateur à une température de -18°C.

III.1.2. Préparation de l'extrait de propolis

L'extrait de propolis a été préparé selon le protocole de (Boufadi et al., 2014) qui consiste à découper la propolis brute en petit morceaux, à les broyer avant d'en extraire les principes actifs avec de l'éthanol 95% (v/v) (dans les proportions propolis brute/solvant = 1/10 : P/V) dans un bain d'eau froide à ultrason pendant 1h30min (fig. 4et 5). Cette opération d'extraction est répétée 3 fois. La suspension est ensuite filtrée sur papier Whatman N°1 avant évaporation du solvant à sec sous pression réduite à une température de 60°C. Ce filtrat représente l'extrait éthanolique de la propolis (EEP).

Une partie de cet extrait éthanolique secs (EEP) a, par la suite, été mis en suspension dans 200 ml d'eau distillée et extrait avec 200 ml de chloroforme. La couche organique a été éliminée et la phase aqueuse a été extraite avec 200 ml d'acétate d'éthyle (EtOAc) trois fois. La phase organique d'EtOAc a été recueillie après évaporation complète du solvant acétate d'éthyle noté EAP (fig.06) (Boufadi et al., 2014).



Figure 4 : La propolis brute



Figure 5 : Extrait de propolis

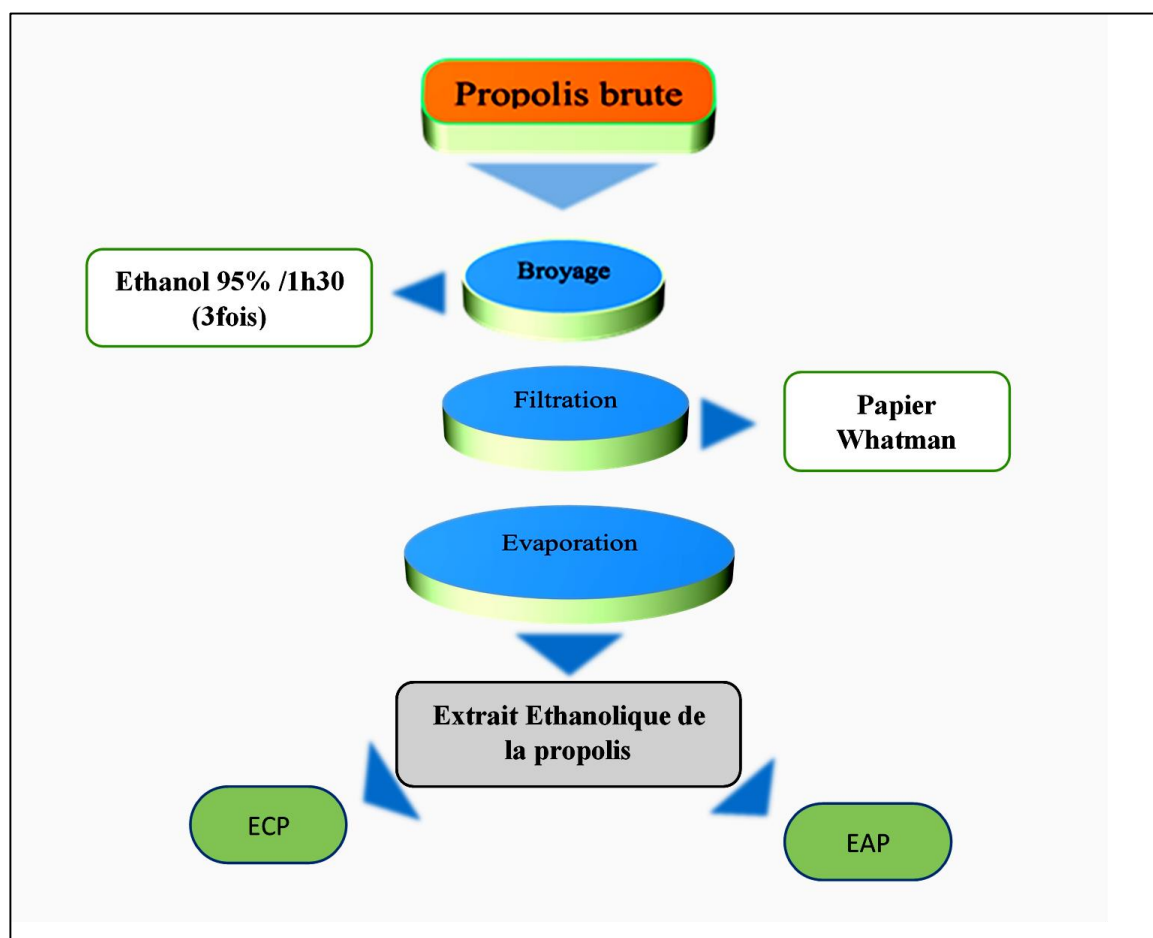


Figure 6 : Extraction de la propolis (Boufadi *et al.*, 2014)

III.2. Expérimentation animale

III.2.1. Animaux et conditions d'hébergement

Pour cette étude, nous avons utilisé 36 rats mâles Wistar (Institut Pasteur, Alger) pesant entre 150-180 gr. Dès leur réception, les rats ont été mis aléatoirement dans des cages métaboliques pour une période d'adaptation de 2 semaines à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité. Les animaux ont un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de la société de production des aliments pour animaux, Bouzaréa, Alger) et à l'eau. Après deux semaines d'acclimatation, les animaux ont été divisés en six groupes.

III.2.2. Induction du diabète expérimental

Après une mise à jeun pendant une nuit, le diabète a été induit chez les rats par injection intra-péritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ), diluée dans le citrate de sodium (pH 4.5), et à raison de 60 mg/Kg du poids corporel (Saini et Sharma, 2013). Après l'injection de la streptozotocine et pour prévenir à cet effet fatal, les rats reçoivent une solution de saccharose (10 %) pendant une nuit. Les rats dont le glucose sanguin est supérieur à 3 g/L et la glucosurie est positif, sont considérés comme diabétiques, les dosages répétés au moins trois fois.

III.2.3. Le traitement des rats diabétiques

Le test de tolérance au glucose montre une meilleure amélioration de la tolérance des animaux au glucose avec l'extrait de la propolis, un traitement étalé sur une durée de trois mois dans le but d'effectuer une hémoglobine glyquée.

Afin d'évaluer l'effet antidiabétique de l'extrait de la propolis :

Les lots des rats sont répartis comme suivants :

- Témoin : les rats normaux (témoin).
- Groupe 1 : les rats diabétiques non traités.
- Groupe 2 : les rats diabétiques traités par 50 mg/kg EAP.
- Groupe 3 : les rats diabétiques traités 100 mg/kg EAP.
- Groupe 4 : les rats diabétiques traités par 250 mg/kg EAP.
- Groupe 5 : les rats diabétiques traités par 50 mg/kg de quercétine.

III.2.4. La surveillance du poids, la glycémie et la glycosurie

III.2.4.1. Pesé

Les animaux sont pesés à l'aide d'une balance à précision selon un programme bien défini avant et après l'induction de diabète et chaque jour, jusqu'au dernier jour du traitement.

III.2.4.2. Dosage du glucose sanguin

L'évolution de la glycémie des rats des différents groupes est contrôlée avant et après l'induction du diabète et dès le premier jour du traitement, jusqu'à la fin.

Tous les prélèvements sanguins pour le dosage de la glycémie sont effectués au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue avec l'alcool, le rat est piqué à l'aide d'une aiguille fine, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette insérée dans le glucomètre (One Touch).

La glucoserie (glucose dans les urines) est effectuée par des bandelettes (Labstix) dotée de deux parties réactionnelles réservées pour le glucose et l'acétone, sur la boîte de bandelette, il y a une échelle colorimétrique pour la lecture comparative.

III.2.4.3. Prélèvement de sang chez le rat

Les prélèvements de sang sont effectués, sur des rats à jeun. Le recueil de sang a été effectué respectivement sur tubes héparines et EDTA.

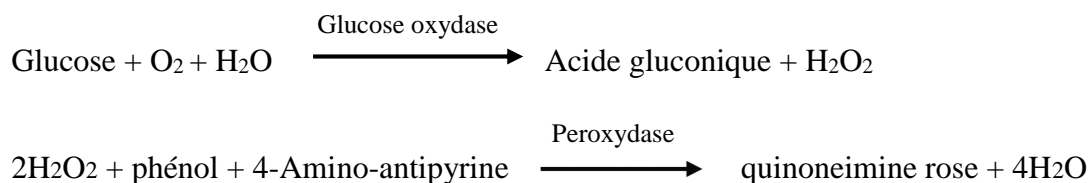
III.3. Les paramètres biochimiques

III.3.1. Dosage de glucose sanguin

Principe

Le glucose présent dans l'échantillon donne, selon les réactions couplées décrites ci-dessous, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie (Trinder, 1969) ;(Lott, 1975) ;

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



III.3.2. Dosage des protéines totales

Principe

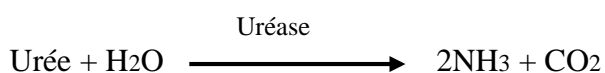
La méthode colorimétrique décrite par Gornall. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec le cuivre, en milieu alcalin pour donner un complexe coloré en bleu-violet quantifiable par spectrophotométrie à 550 nm, (Réaction du type Biuret).

Le réactif biuret contient de sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques Et maintient leur solubilité en solution alcaline (Tietz, 1999) ; (Clinical guide of laboratory test, 2006).

III.3.3. Dosage de l'urée

Principe

Urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent En formant un composé de couleur verte (dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnel à la concentration en urée (Young, 1990) ; (Sampson *et al.*, 1980).

III.3.4. Dosage de Créatinine

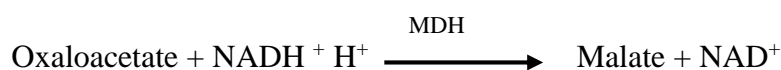
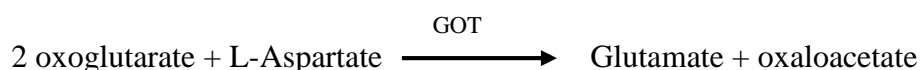
Principe

La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin en formant un complexe coloré (méthode de Jaffé). La vitesse de formation de ce complexe est mesurée en périodes initiales courtes, pour réduire l'interférence d'autres composés. Les échantillons de sérum et de plasma contiennent des protéines qui réagissent de façon non spécifique, cependant, les résultats peuvent être corrigés en soustrayant une valeur fixe. L'utilisation de cette correction est connue méthode de Jaffé compensée (Henry, 1984).

III.3.5. Dosage de transaminase (TGO)

Principe :

Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase. La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant :



GOT : Transaminase glutamique oxaloacétique.

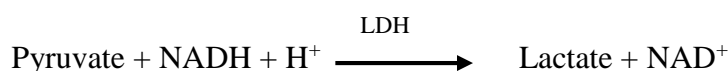
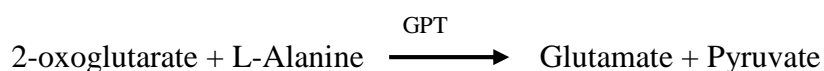
MDH : Malate Dehydrogenase.

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate amino transferase dans l'échantillon (Bergmeyer et Wahlefeld, 1978), (Bergmeyer et Horder, 1980).

III.3.6. Dosage de transaminase (TGP)

Principe :

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant :



GPT : Transaminase Glutamique pyruvique.

LDH : Lactate Dehydrogenase.

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transferase dans l'échantillon (Bergmeyer et Wahlefeld, 1978) ; (Bergmeyer et Horder, 1980).

III.3.7. Dosage de l'albumine

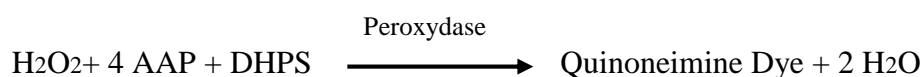
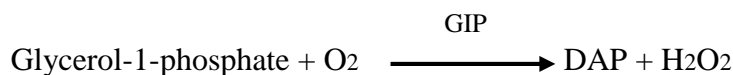
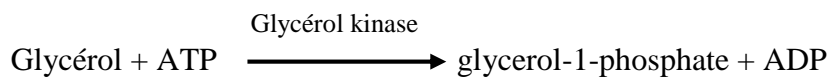
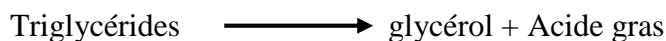
Principe

En milieu tamponné à PH= 4.2 le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurée à 620 nm est proportionnelle à la concentration en albumine dans le spécimen (Dumas, 1971) ;(Tietz, 2006).

III.3.8. Dosage des Triglycérides

Principe :

La présente procédure implique l'hydrolyse des triglycérides par la lipase. La concentration en glycérol est alors déterminée par dosage enzymatique couplée avec la réaction de Trinder qui se termine par la formation d'un colorant quinoneimine. La quantité du colorant formé, est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides dans l'échantillon (Henry, 1984).

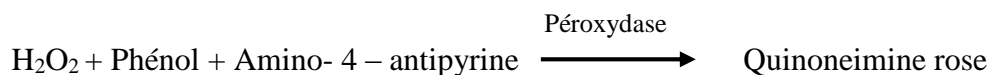
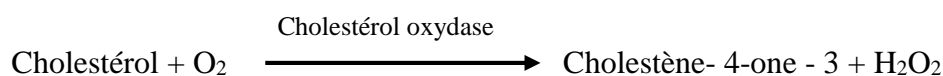
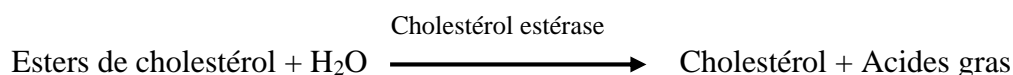


III.3.9. Dosage du Cholestérol total

Principe

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de l' amino 4-antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol (Trinder, 1969) ; (Richmond, 1973) ; (Fasce, 1982).

III.3.10. Dosage du Cholestérol (HDL et LDL)

Principe

Les chylomicrons et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium.

Le surnageant obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique (Burstein *et al.*, 1970).

III.3.11. Dosage d'hémoglobine glyquée (HbA1c)

Principe

Mesure photométrique du trouble amené par la réaction antigène-anticorps en méthode point final à 600 nm pour déterminer directement la concentration en de l'hémoglobine glyquée dans le sang total. L'hémoglobine normale et l'hémoglobine glyquée ont les mêmes taux d'adsorption non spécifique sur les particules de latex. En présence d'anticorps monoclonal des souris anti HbA1c humaine (Réactif R2), un complexe latex/HbA1c/anticorps anti HbA1c se forme. L'agglutination a lieu quand l'anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris interagit avec l'anticorps monoclonal (Fonfrede, 2006).

III.3.12. But du dosage de l'hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glyquée est un marqueur biologique indispensable pour le suivi du patient diabétique. Il permet d'évaluer le contrôle glycémique et d'ajuster la thérapeutique.

Le dosage de l'hémoglobine glyquée est l'examen de référence dans le suivi du diabète. Il permet de déterminer de façon rétrospective l'équilibre glycémique des patients diabétiques sur une durée d'environ 3 mois. L'hémoglobine glyquée correspond donc à l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par glycation. Le nombre de fonctions susceptibles de fixer un ose et le fait que d'autres oses que le glucose peut se fixer génère une multitude de forme glyquée de l'hémoglobine. (Mario, 2006).

La quantité d'hémoglobine glyquée dans le sang dépend de la durée de vie du globule rouge (120jours) et de la glycémie. Elle renseigne donc sur la qualité de l'équilibre glycémique des 120 jours précédant le dosage. La contribution de chacun de ces 120 jours sur la valeur de l'hémoglobine glyquée est différente, la glycémie moyenne des 30 jours précédant le dosage contribue à 50% du résultat alors que celle des jours 90 à 120 contribue seulement à 10%. Il est donc raisonnable de doser ce paramètre tous les 3 mois. L'hémoglobine est donc un index rétrospectif et cumulatif à long terme qui permet la surveillance du diabète. Elle s'exprime en pourcentage de l'hémoglobine totale. Le terme « hémoglobine glycosylée », souvent employé est impropre. En effet, la glycosylation est un mécanisme enzymatique de la biosynthèse protéique (Roszyk, et al., 2007).

II.6. Méthodes statistiques :

Pour le calcul de la moyenne, l'écart type, le minimum et le maximum ont été effectués avec le logiciel Excel version 2013 (Microsoft).

Les représentations graphiques des résultats, en histogrammes et en secteurs ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT version 2012.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Détermination de poids corporel

Durant la période d'expérimentation on a tracé un programme de prise de poids corporels à travers des périodes de temps bien déterminées avant et après l'induction du diabète et au cours du traitement, l'évolution du poids est représentée dans le tableau 12.

Le poids des rats à l'arrivée est de 150 à 180 gr qui atteignent après trois semaines d'une moyenne de 205 gr.

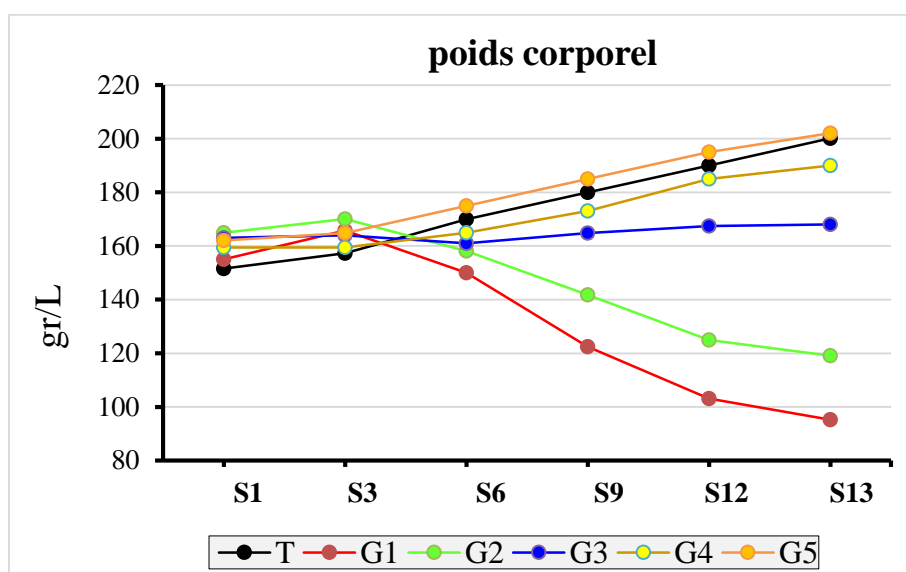


Figure 7 : La variation du poids corporel sur treize (13) semaines.

Avant l'induction du diabète, le poids des rats de tous les groupes est d'une augmentation légère, qui est normale et non significative, c'est le cas du groupe (T) pendant toute la période d'élevage, le groupe témoin a présenté un gain de poids corporel lié à la croissance normale des animaux d'une moyenne de (50 g).

Après l'induction du diabète, le poids des rats de tous les groupes baisse d'une façon hautement significative d'une moyenne de (20 g).

Le groupe (G1) présente une diminution continue de poids corporel de (47 g), qui s'accroît au cours de la période d'expérimentation, cette baisse est hautement significative en phase finale d'élevage qui conduit à l'amaigrissement de l'animal.

Cette perte de poids des rats diabétiques est due aux désordres métaboliques des glucides et des lipides, causés par le catabolisme des graisses et les tissus adipeux, notamment la

lipolyse, mais aussi par la dégradation du glycogène par la glycogénolyse suite à l'insulinodéficience.

Le groupe (G2), traité par la propolis 50 mg/kg, le traitement n'est pas efficace, ou la durée de traitement est insuffisante, car on observe une perte de poids.

Le groupe (G3) traité par la propolis 100 mg/kg, les rats maintiennent leurs poids corporels au fil du temps, ça veut dire qu'il y a une bonne compétition entre le traitement et le désordre métabolique causé par le diabète.

Le groupe (G5), les rats traités par la propolis 250 mg/kg, montre une augmentation de poids jusqu'à 50 g, qui est similaire à celui du groupe (T).

Le groupe (G6), rats traités par la quercétine a la dose 50 mg/kg, on a une amélioration de poids spectaculaire hautement significative de 60 g, qui est due à l'effet du traitement sur la correction du métabolisme glucidique, il est très probable que la composition chimique de la quercétine est bénéfique pour l'amélioration du poids ([Graphe 12](#)). c'est le cas des travaux effectués par ([Vats et al., 2004](#)) ; ([Oliveira et al., 2008](#)).

IV.2. Dosage de la glycémie

Le dosage de la glycémie est le marqueur majeur de notre expérimentation, c'est pour cette raison cette opération a été programmée à des moments bien déterminés avant et après l'induction du diabète et au cours du traitement, ce dosage a été fait chaque semaine, mais on a sélectionné des valeurs chaque trente (30 jours) mentionnées sur le [graphe 13](#).

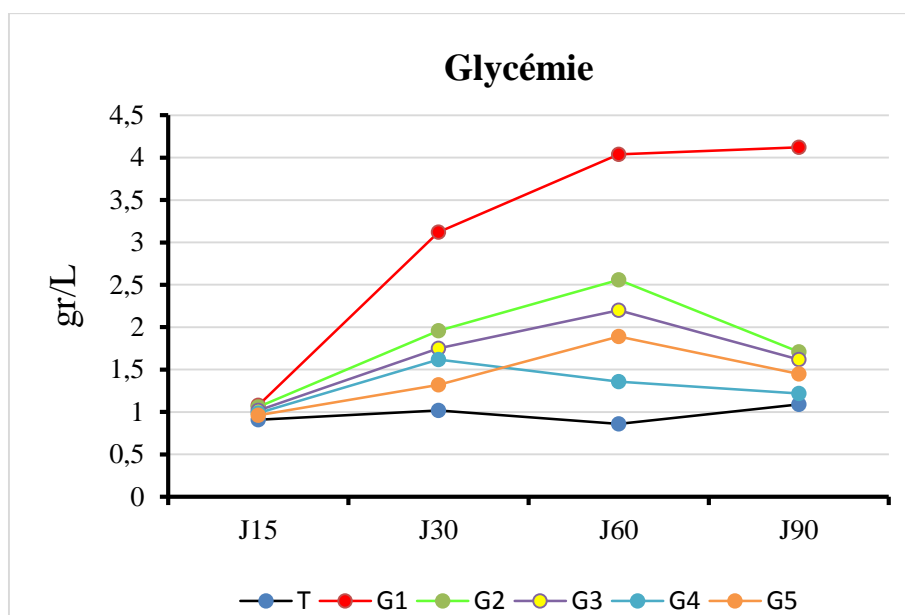


Figure 8 : Les résultats de dosage de glycémie sur 90 jours.

Avant l'induction du diabète, la glycémie des rats de tout le cheptel varie entre (0.80 et 1.10 g/L), suivant la quantité d'aliment prise par l'animal.

Après l'induction du diabète par la streptozotocine pour le groupe (G1 au G5), on note une augmentation importante de la glycémie (> 2.50 g/L), à la suite de la destruction des cellules Bêta du pancréas qui conduit à un déficit de production d'insuline.

On enregistre une augmentation importante de la glycémie (> 3 g/L) chez le groupe (G1), durant toute la période de notre étude (90 jours).

Cependant, les rats des groupes (G2), les rats diabétiques traités par la propolis à la dose 50 mg/kg, la glycémie a fait un pic de (2.70 g/L) en J60 puis commence à baissé jusqu'à (1.80 g/L) en J90, c'est presque similaire au groupe (G5) avec des chiffres moins, ça veut dire que la prolongation de traitement donne un bon résultat.

A l'opposé du groupe (G4) rats traités par la propolis a la dose 250 mg/kg, on observe une baisse de glycémie dès le début de traitement a (1.50gr/l) en J60 et (1.20 gr/L) en J90, qui est certainement due à une regulation du métabolisme glucidique par la substance active des flavonoides de propolis (Graphe 2), donc les résultats sont significatifs et se ressemblent aux travaux de (Li et al., 2011) ; (Münstedt et al., 2009).

IV.3. Dosage de la glycosurie

La recherche du glucose dans les urines a été toujours effectuée en parallèle avec la glycémie et on a remarqué que lorsque la glycémie augmente, la glycosurie l'est aussi chez les rats diabétiques (tableau 4). Les résultats obtenus par cette analyse, montrent une présence importante de glucose dans les urines des rats diabétique. Cette glycosurie reflète l'hyperglycémie et indique que la charge de glucose filtrée par le rein dépasse la capacité des tubules rénaux à réabsorber la totalité du sucre.

Le groupe (G1) des rats diabétiques non traités, la glycosurie est toujours positive (+ +++) en fonction du taux élevé de la glycémie (> a 2.50 gr/l), qui est due à une insulino-pénie, en comparaison avec le groupe (T), la glycosurie est toujours négative (-) avec une glycémie normale (< a 1.28 gr/l).

Les groupes (G1, G2, et G3) les rats diabétiques traités à la propolis et la quercétine à différentes doses, la glycosurie est un petit peu moindre (++) par rapport aux groupes (G1), ce qui signifie l'effet catabolisant de la propolis et la quercétine sur le sucre.

En revanche le groupe (G5) montre une disparition totale ou trace de glycosurie (- ou trace), cette diminution de la glycosurie est due à l'efficacité de la dose un peu plus concentrée de la propolis sur la regulation glucidique rénale qui informe que la glycémie est au-dessous du seuil (1.28 gr/L) (Tableau 4). Cette observation est en accord avec ce qui a été rapporté par (Gaw et al., 2004) ; (Goetz, 2007).

Tableau : le dosage de glycosurie.

Groupe T Témoin	-	-	-	-
	J1	J15	J30	J60 a J90
Groupe G1	-	-	++++	++++
Groupe G2, G3 et G6	-	-	++++	+
Groupe G5	-	-	++	- Ou trace

Tableau 5 : La variation de la glycémie en fonction de la glycosurie.

Glycémie en (gr/l)	1.20	1.35	2	3	4
Glycosurie en (+)	-	trace	++	+++	++++

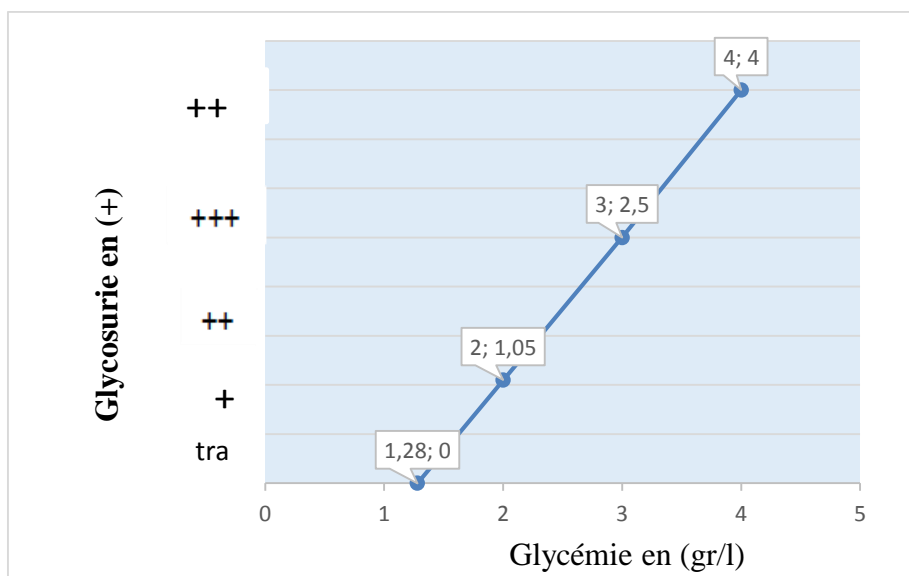


Figure 9 : La variation de la glycémie par rapport à la glycosurie.

IV.4. Étude des dosages des paramètres plasmiqes après sacrifice

IV.4.1. Le dosage de la glycémie

La glycémie est un paramètre métabolique crucial pour l'organisme, ce qui explique sa régulation fine. Les résultats du dosage de glycémie sont représentés dans le graphe 2.

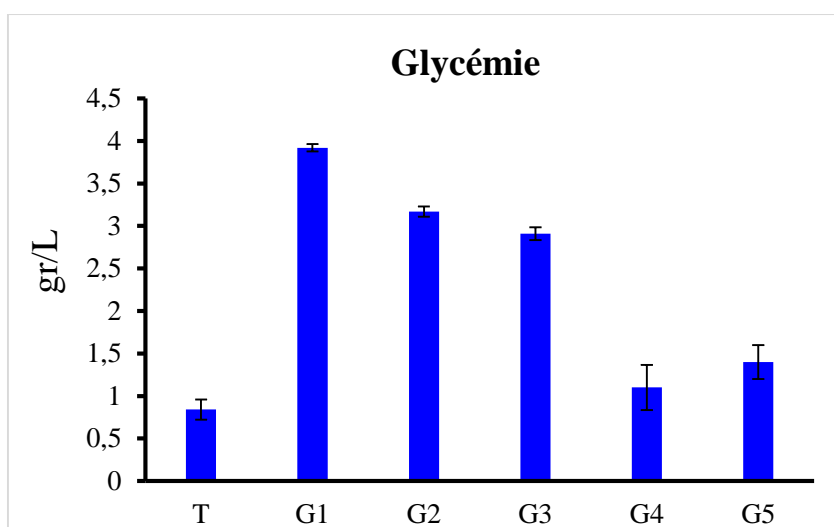


Figure 10 : Les résultats de glycémie.

Les groupes (G2 et G3), les rats diabétiques qui ont reçu 50 et 100 mg/kg de propolis, montrent une baisse de glycémie par rapport au groupe(G1) aux rats diabétiques non traités de 1.21 %, ce pourcentage sur la correction de la glycémie n'est pas assez intéressant.

A propos du (G6), rats traités par la quercétine a la dose 50 mg/kg, on remarque une baisse de glycémie jusqu'à (1.45 gr/L), la quercétine semble efficace pour la regulation du sucre sanguin.

Cependant le groupe (G5), rats traités par la propolis 250mg/kg, on constate qu'il y a une baisse remarquable de glycémie qui s'aligne au groupe (T) des rats normoglycémiques a glycémie égale de (0.84 gr/l).

La thérapie semble plus efficace à la dose un peu plus élevée de propolis, ce qui explique une regulation bien clair du métabolisme glucidique par la substance active des flavonoides de propolis, donc les résultats sont significatifs ([Graphe 2](#)), ces résultats concordent avec ceux ([Li et al., 2011](#)) ; ([Münstedt et al., 2009](#)).

IV.4.2. Dosage d'hémoglobine glyquée

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (ou HbA1c) permet de vérifier l'équilibre du diabète au fil du temps, elle est le reflet de la glycémie sur les trois derniers mois.

Le groupe G5 rats qui ont reçu 200 mg/kg propolis, montre une amélioration considérable de (18.57%) par rapport au groupe G1 rats diabétique non traités, cette valeur s'approche beaucoup du témoin (T), en effet la propolis prouve un effet positif sur la regulation de sucre de l'organisme à long terme.

Néanmoins la quercétine a prouvé une efficacité qui n'est pas mal sur la regulation du sucre sanguin, car l'espace est de (1.80 %) avec les rats (G1) ([graphe 5](#)). Ces travaux ressemble à ceux de ([Domerego et al., 2009](#)) ; ([Zamami et al., 2007](#)).

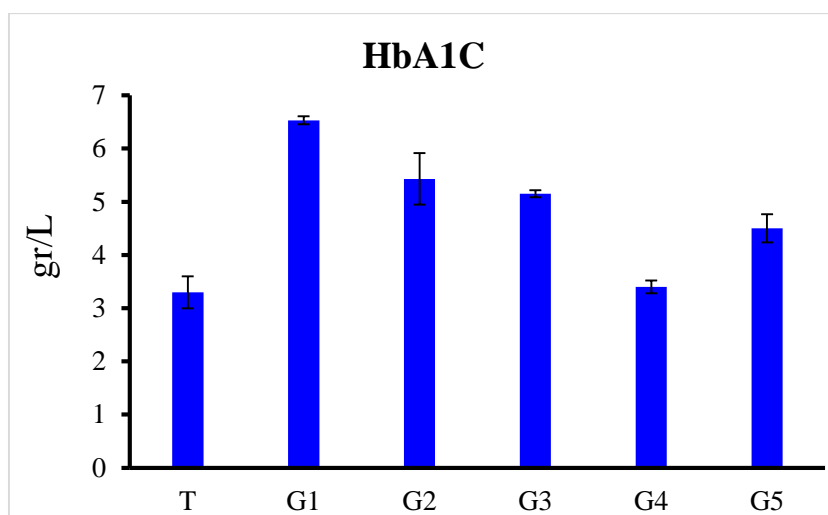


Figure 11 : Les résultats de dosage d'Hb A1C.

IV.4.3. Dosage de l'urée et la créatinine

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale, l'élévation de la concentration de ces deux paramètres est à relier au dysfonctionnement rénal chez les rats diabétiques due à la complication du diabète et la nephrotoxicité (Valente *et al.*, 2011).

Le groupe (G2 et G3), respectivement traités par la propolis 50 et 100 mg/kg, témoignent une bonne correction de la fonction rénale, de (0.40 gr/L) pour l'urée et (1 mg/L) pour la créatinine par rapport au groupe (G1), diabétique non traité.

Le groupe G6 rats traités par la quercétine (50 mg/kg), on a une diminution de taux d'urée de (0.30 gr/L) et un taux de créatinine de (2 mg/L), on comparaison avec le groupe (G2).

Concernant le groupe (G5) traité par la propolis 200 mg/kg, le rétablissement de la fonction rénale est très proche du groupe témoin (T), elle est de (0.50 gr/l) pour l'urée et de 1.5 mg/l pour la créatinine. Il apparaît que la thérapie employée par la propolis provoque une diminution de l'urémie et de la créatininémie de (0.80 mg/L).

Après tout, la dose de propolis plus élevé semble être la plus efficace, car elle provoque une diminution hautement significative des deux paramètres, dont les valeurs s'approchent de la normale, ce qui confirme que l'utilisation d'EAP de la propolis à différente dose n'a eu aucun effet toxique sur les reins durant le traitement (Graphe 6). Les chiffres obtenus correspondent à ceux qui ont été trouvé par (Bhadauria, 2011) ; (Garoui *et al.*, 2011).

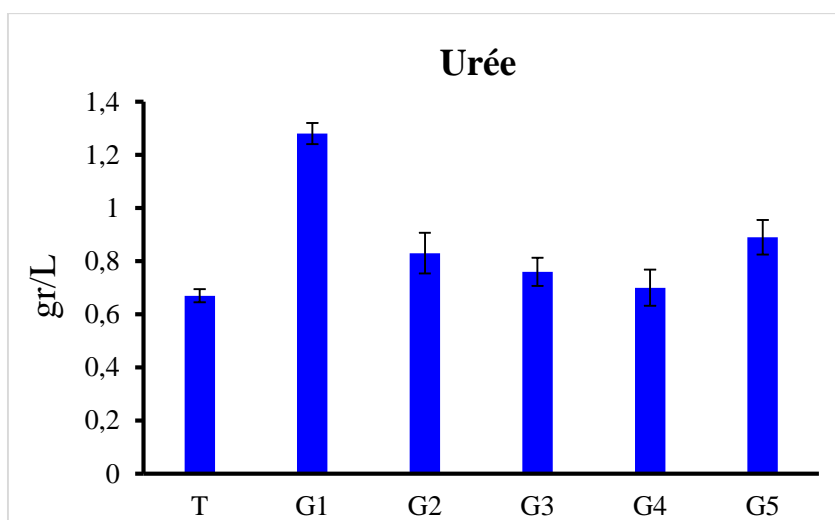


Figure 13 : Les résultats de dosage de l'urée.

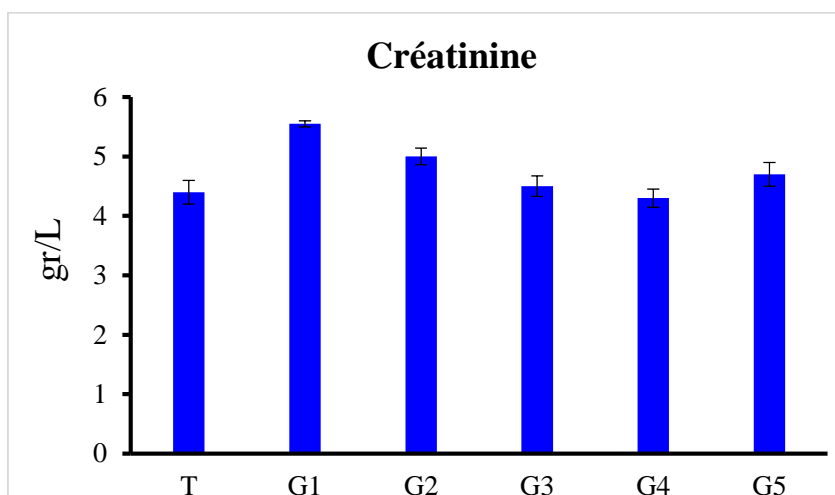


Figure 13 : Les résultats de dosage de la créatinine.

IV.4.4. Dosage du cholestérol

Lorsqu'on parle de cholestérol élevé, on se réfère habituellement au Cholestérol LDL mauvais cholestérol, par contre le HDL on l'appelle souvent bon cholestérol.

Le cholestérol est utile à nos cellules pour fabriquer certaines hormones, certaines vitamines et d'autres constituants comme la bile.

On note aussi que l'effet de la quercétine sur le cholestérol total a la dose 50 mg/kg, montre une baisse de (0.40 gr/L).

Le taux de cholestérol total se corrige avec l'augmentation de la dose du traitement, ce qui est montré par le groupe (G5) des rats traités par la propolis 200 mg/kg, par rapport au groupe (G1) diabétique non traités, cette correction est (14.23 %), cette diminution est significative ([Graphe 7](#)), cette regulation est équivalente avec les travaux de ([Percie, 2003](#)) ; ([El-Sayed, 2009](#)).

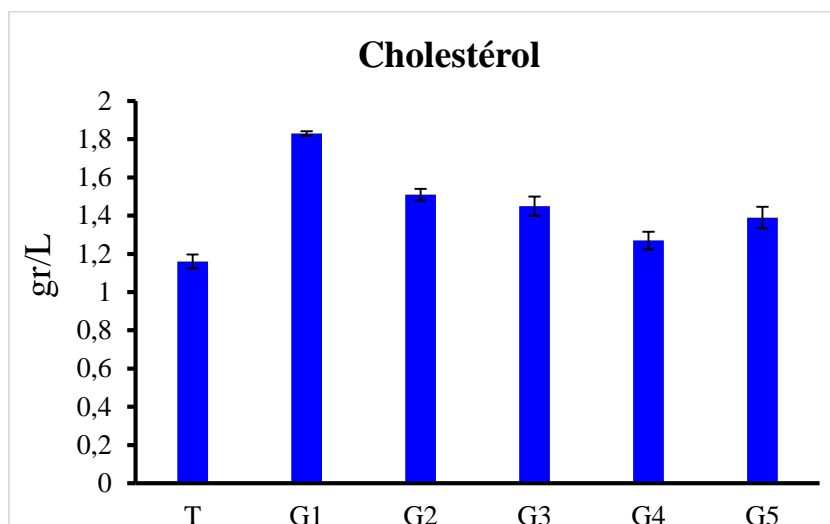


Figure 14 : Les résultats de dosage du cholestérol.

IV.4.5. Les fractions du cholestérol LDL et HDL

Réellement, quand le HDL augmente le LDL diminue et inversement, seulement le cholestérol total est en accord avec le LDL.

Concernant les fractions du cholestérol, les trois groupes (G2, G3 et G4) les rats qui ont reçu la propolis à différentes doses, montrent un résultat satisfaisant, une diminution de la fraction HDL et 0.52 gr/l pour la fraction LDL par rapport aux rats diabétiques non traités. Ce qui nous laisse comprendre que le taux du bon cholestérol baisse suite à l'inhibition de la lipolyse causée par le rétablissement de la production d'insuline, à l'exemple des travaux de ([Anilakumar et al., 2007](#)) ; ([Apimondia et al., 2001](#)).

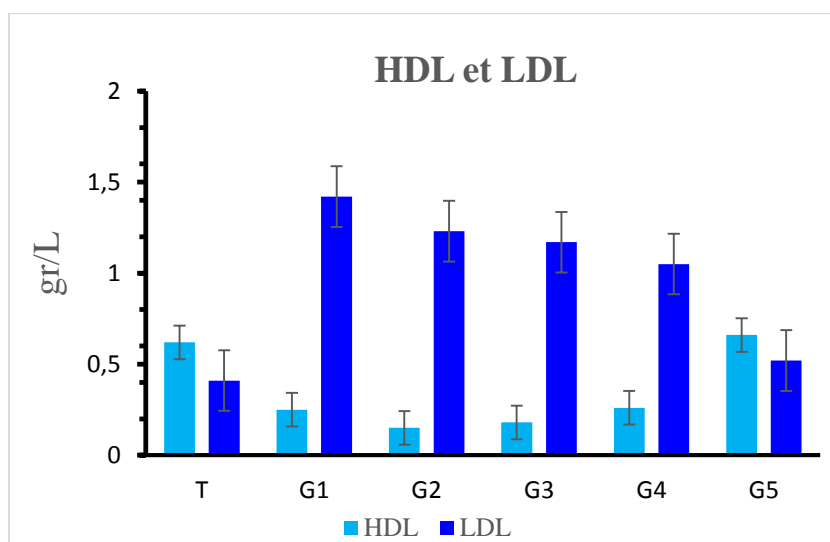


Figure 15 : Les résultats de dosage HDL et LDL.

IV.4.6. Dosage des triglycérides

Les triglycérides, fait partie de la classe des lipides. Ils constituent une réserve énergétique très importante. Ils sont composés de glycérol et d'acides provenant essentiellement des graisses alimentation, ou également de la synthèse hépatique, c'est un paramètre biochimique qui donne une bonne information sur le métabolisme lipidique.

Le groupe G5, les rats qui ont reçu 250 mg/kg de propolis ont montré une baisse de (0.30 gr/L), comparée aux rats diabétique non traités (G2).

En revanche, on observe une élévation du taux des triglycérides chez le groupe (G2) traité par la propolis 50mg/kg, par rapport au groupe (T) de (0.35 gr/L), qui baisse avec l'augmentation de la dose de la propolis à 100mg/kg mg/kg chez le groupe (G3) de (0.20 gr/L), (graphe 9), ce qui nous faire connaitre que l'effet du traite est faiblement efficace sur la lipolyse, pour régulariser le taux des lipides, par déficit de production d'insuline.

Ces variations ressemblent à la manière de ce que a été expliqué par (Daleprane et al. 2011) ; (Yao et al., 2004).

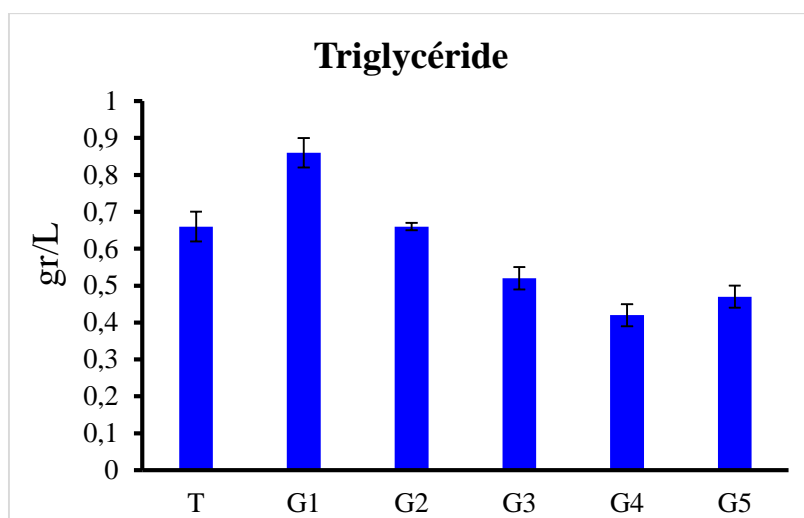


Figure 16 : Les résultats de dosage des triglycérides.

IV.4.7. Dosage des protéines totales

Le dosage de protéines sanguines est paramètre qui nous permet de prédire une inflammation, une insuffisance hépatique, un déficit immunitaire ainsi qu'un dysfonctionnement métabolique notamment la néoglucogenèse.

On a remarqué que le taux de protéines totales a baissés de (5 gr/L) chez le groupe (G1) rat diabétique non traité, par rapport au groupe (T), des rats normoglycémiques, ça veut dire que l'insulinémie engendre une hyperglycémie, qui conduit à la dégradation des protéines totales de l'organisme par la néoglucogenèse.

Concernant le groupe (G6), traité par la quercétine 50 mg/kg, montre une élévation remarquable des protéines totales, ce qui confirme une bonne regulation sur le métabolisme protéinique.

On a constaté aussi que plus on augmente la dose de la propolis, chez les groupes (G2, G3 et G4), 50, 100 et 250 mg/kg, on observe une élévation exponentielle des protéines totales, respectivement (48, 52 et 80 gr/L), ce qui nous laisse à supposer que la composition chimique de la propolis est protéinique.

Cette situation est semblable aux travaux effectués par (Donadieu, 2006) ; (Anilakumar et al., 2007).

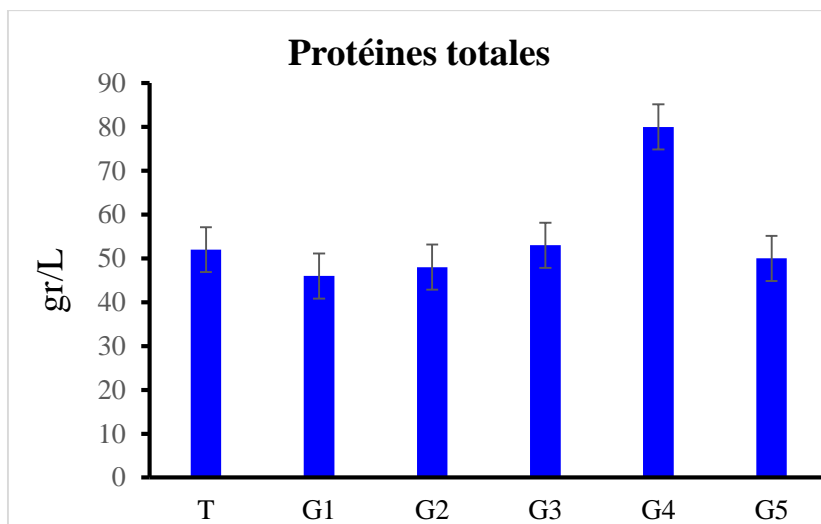


Figure 17 : les résultats de dosage des protéines totales.

IV.4.8. Dosage de l'albumine

L'albumine est une protéine fabriquée par le foie, elle joue un rôle de transporteur plasmique. On obtient une hyperalbuminémie en cas d'inflammation chronique ou une infection grave. On a constaté chez les groupes rats (G2, G3 et G4) traités par la propolis à différentes doses, que lorsqu'on augmente la dose, on note une diminution du taux d'albumine, respectivement de (22, 30 et 36 gr/L) par rapport au groupe (G2), et c'est de même pour la quercétine de (30 gr/L). Une accumulation d'albumine dans le sang indique une toxicité plasmique, Ce rétablissement métabolique de l'albumine prouve l'effet efficace de la propolis et la quercétine, ce qui a été effectué par les travaux de (Bolen *et al.*, 2001) ; (Kamal *et al.*, 2004).

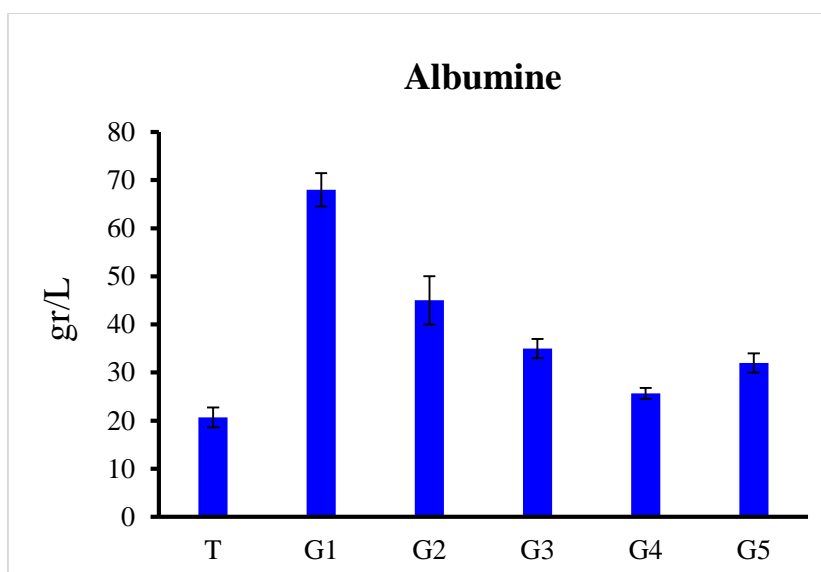


Figure 18 : Les résultats de dosage d'albumine.

IV.4.9. Dosage des transaminases TGO/ASAT et TGP/ALAT

Les transaminases sont deux paramètres plasmiques très intéressants pour préjuger la fonction hépatique ou lorsqu'il existe une lésion cellulaire, principalement au niveau du foie, du cœur, des reins ou des muscles. Les deux paramètres biochimiques s'articulent concomitamment, c'est-à-dire augmentent et diminuent dans la même circonstance.

Pour les groupes G2 et G3, rats diabétiques traités par la propolis à la dose respective 50 et 100 mg/kg, montrent une diminution de (12 %) par rapport aux rats diabétiques non traités (G1), qui promettent un bon signe de rétablissement de la fonction hépatique.

Le groupe (G6), rats qui ont reçus la quercétine s'alignent avec les chiffres des rats normaux (T) (TGO = 58 UI/L et TGP = 62 UI/L), donc la quercétine donne un bon résultat de la fonction hépatique.

Quant à la dose 200mg/kg de la propolis démontre un résultat record de 38 UI/l en TGO et 43 UI/l en TGP, ça veut dire que l'effet des flavonoïdes de la propolis améliore par excellence la réparation des lésions cellulaires de l'organisme et l'élimination des substances toxiques de l'organisme, ces effets ont été constaté par (Dobbs *et al.*, 2003) ;(Domerego *et al.*, 2009).

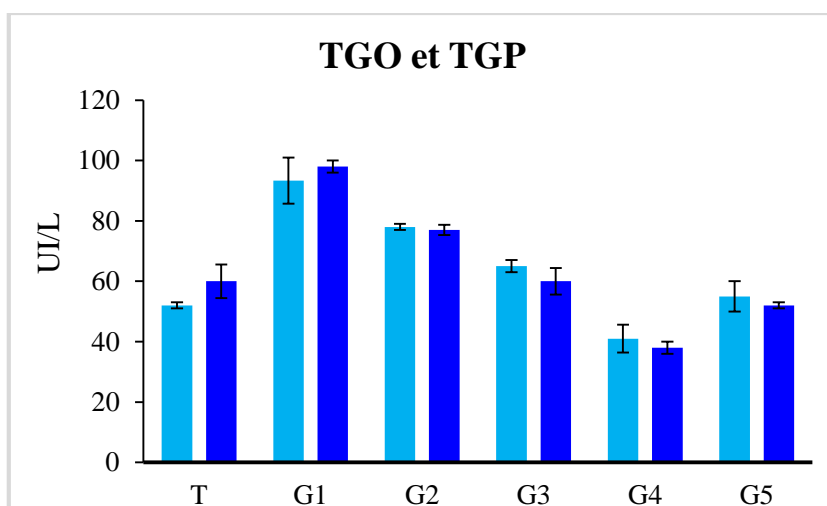


Figure 18 : Les résultats de dosage des transaminases TGO et TGP.

Conclusion et perspectives

A la lumière de ce travail expérimental, qui permet de démontrer que les remèdes biologiques issus des extraits de plantes ont une place non négligeable et présente un grand intérêt dans une vaste gamme d'applications dans le traitement du diabète Mellitus. Notre étude contribue à porter sur l'évaluation et l'impact des extraits EAP (extrait d'acétate d'éthyle) de la propolis et la quercétine sur la correction métabolique du rat rendu diabétique insulino-dépendant expérimentalement.

Les trois principaux objectifs poursuivis dans ce travail ont été atteints, on a commencé par l'induction du diabète expérimental par la streptozotocine, puis l'extraction des extraits de propolis de différentes plantes, et on a terminé par évaluer l'effet antidiabétique et l'impact de ces substances biologiques sur les paramètres plasmatiques.

Tout d'abord, on a réussi à obtenir des rats diabétiques par une seule injection de streptozotocine intrapéritonéale à la dose 60mg/kg de poids corporel, Le mécanisme d'action de la streptozotocine sur les cellules B du pancréas a été intensivement étudiée et est maintenant assez bien compris. L'action cytotoxique de cet agent diabéto-gène est médiée par des espèces réactives de l'oxygène, cependant, la streptozotocine pénètre dans la cellule B par l'intermédiaire d'un transporteur de glucose (GLUT2) et provoque l'alkylation de l'ADN, et par la suite la destruction des cellules B du pancréas, qui conduit à une insulino-pénurie et l'élévation de la glycémie à des valeurs supérieures à 3 gr/l après trois jours. (Szkudelski, 2001).

Le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1C) est également réduit sous l'effet de la propolis et de la quercétine. L'effet de la propolis sur la concentration en HbA1C est dose-dépendant. Le poids des rats diabétiques traités par la propolis (200mg/kg) augmente significativement par rapport aux rats diabétiques non traités. Par ailleurs, les concentrations en créatinine et en urée diminuent également chez les rats diabétiques sous l'effet de la propolis ; laissant penser à une amélioration de la fonction rénale. Le profil lipidique des rats diabétiques est également amélioré sous l'effet de la propolis. L'administration de la propolis permet de diminuer le taux sérique d'ASAT et ALAT pour les rats diabétiques traités par rapport aux non traités.

Pour confirmer nos résultats il serait souhaitable de répéter cette étude sur des échantillons quantitativement plus importants et a plusieurs doses pour repérer celle qui est adéquate pour un traitement efficace.

References Bibliographies

-A-

1. **Abdel-Fattah, N.S., Nada, O.H.** (2007). Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol* 37: 691–710.
2. **Ahmed, F., Urooj, A.** (2008). Antihyperglycemic activity of ficus glomerata stem bark in streptozotocin-induced diabetic rats. *Global journal of pharmacologie* 2(3):41-45.
3. **Ahn, M.R., Kumazawa, S., Hamasaka, T., et al.** (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J Agric Food Chem* 52: 7286–92.
4. **Akbarzadeh, A., Norouzi, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, S.H., Farhangi, A., Verdi, A., et al.** (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2): 60-64.
5. **Altman, P.L. et Katz, D.D.** (1979). Part 1, Mouse and Rat. Dans: Inbred and genetically defined strains of laboratory animals (Altman P.L. and Katz D.D., éd.). Bethesda MD: Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB), p. 236-237.
6. **Alyane, M., Kebsa, L.B., Boussenane, H.N., et al.** (2008). Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci* 21: 201–9.
7. **Amadou, A.** (2006). Étude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et d'*Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète. These de Doctorat. Université de Bamako 79 : 331– 4.
8. **Anilakumar, K.R., Krishna, K.R., Chandramohan, G., Khanum, F., Bawa, A.S.** (2007). Bees wax polyphenols as suppressor of CCl₄-induced oxidative stress in rats *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 51(4):361-367.
9. **Anonyme.** (2001), actualité pharmaceutique, n° 398, 30-43.
10. **Apimondia - standing commission of apitherapy.** (2001). *Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom]* v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN: 2- 9600270-0-0.
11. **Arjun, H., Banskota, Yasuhiro., Tezuka., Jeevan, K., Prasain., Katsumichi., Matsushige., Ikuo Saiki., et Shigetoshi., Kadota.** (2004). Chemical Constituents of Brazilian Propolis and Their Cytotoxic Activities. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7286-7292
12. **Aughsteen, A.A.** (2000). An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J of Electron Microscopy* 49(5):681-690.
13. **Avci, C.B., Gunduz, C., Baran, Y., et al.**(2011). Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 137: 41– 7.

-B-

14. **Balemans, W., and Van Hul, W.**(2002). Extracellular regulation of BMP signaling in vertebrates: a cocktail of modulators. *Dev Biol* 250, 231-250.
15. **Bankova, V.** (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol* 100: 114–7

16. **Bankova, V.S.C.S., Marcucci, M.C.** (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3–15.
17. **Benkovic, V., Knezevic, A.H., Dikic, D., et al.** (2009). Radioprotective effects of quercetin and ethanolic extract of propolis in gamma-irradiated mice. *Arh Hig Rada Toksikol* 60: 129–38.
18. **Bennett, P.H., Bogardus, C., Tuomilehto, J., Zimmet, P.** (1992). : Epidemiology and natural history of NIDDM: Non-obese and obese. In *International Textbook of Diabetes*, Alberti KGMM, Defonzo RA, Keen H, Zimmet P, eds. John Wiley & sons, Ltd. Chichester, England p148-176.
19. **Bergmeyer and Horder.**(1980). *Clin. Chem. Acta* 105-147 F.
20. **Bergmeyer and Wahlefeld.** (1978). *Clin. Chem.* 24, 58.
21. **Bhadoria, M.** (2011). Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 235358, 12 pages.
22. **Bhadoria, M., Nirala, S.K., Shukla, S.** (2008). Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chem Toxicol* 46: 2703–12.
23. **Biological Research**33 (2): 55-64.
24. **Boden, G.**(2011). Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr.Opin.Endocrinol.Diabetes Obes* 18:139-43.
25. **Bogdanov, S.** (2010). Propolis: biological properties and medical applications. *The propolis book* chap two.
26. **Bolen, D. W and Baskakov, I.** (2001). The osmophobic effect: natural selection of a thermodynamic force in protein folding. *J. Mol. Biol.* 310:955–963.
27. **Boufadi, Y.M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J., Boudjeltia, K.Z. and Van Antwerpen, P.** (2014) Characterization and Antioxidant Properties of 6 Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 2327-2345.
28. **Brian, L., Mealey.** (2006). DDS, MS. Periodontal disease and diabetes a two-way street. *American Dental Association* 137:265-315.
29. **Brochu-Gaudreau, K., Rehfeldt, C., Blouin, R., Bordignon, V., Murphy, B.D., Palin, M.F.**(2010). Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 37:11-32.
30. **Burdock, G.A.** (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36: 347–63.
31. **Burke, T.R. Jr., Fesen, M.R., Mazumder. A., and et al.** (1995). Hydroxylated aromatic inhibitors of HIV-1 integrase. *J Med Chem* 38: 4171–8.
32. **Burstein, M., and al.** (1970). *Lipid Res.*11. 583.

-C-

33. **Calop, J., Limat, S., Frnandez, C.** (2008). *Pharmacie clinique et thérapeutique*. 3ème Ed. Masson, Elsevier Masson, Paris. pp.417-427.
34. **Canadian Diabetes Association.** (2008). Clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. *Can J Diabetes*; 32(suppl. 1): S1-S201.

35. **Chen, V., Ianuzza, C.D.** (1981). Dosage effect of streptozotocin on rats' tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Can J Physiol Pharmacol* 60: 1251-1256.
36. **Chicouri, M.J.** (1983). *Diabetes*. Ed. M. A., Paris, pp: 9, 11, 59.
37. **Clinical guide of laboratory test.** (2006). 4t Ed, N.W. Tietz p. 916-921.
38. **Colliver, S.** (2002). Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*. 53 (377) : 209 -210.

-D-

39. **Daisy, P., Feril, G., Jeeva, K.** (2013). Hypolipidemic and hepatoprotective effects of cassia auriculata linn bark extracts on streptozotocin induced diabetics in male Wister albinos' rats. *Asian J Pharm Clin Res* 6 (2): 43-48.
40. **Daisy, P., Feril, G., KANI, J.** (2012). Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of cassia auriculata linn. Bark on streptozotocin induced diabetic wistar rats. *Int J Pharm Sci* 4 (4):312-318.
41. **Dalben-Dota, K.F., Faria, M.G., Bruschi, M.L., et al.** (2010). Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. *J Altern Complement Med* 16: 285–90.
42. **Daleprane, J.B. et al.** (2011). Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphénols from propolis J. *Nutr. Biochem.* Jul 15.
43. **De Castro, S.L., Higashi, K.O.** (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Ethnopharmacol* 46: 55–8.
44. **Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., et al.** (1991). Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 35: 77–82
45. **Domerego, R., Imbert, G., Blanchard, C.** (2009). *Les remèdes de la ruche* Editions Alpens, Monaco, 95p.
46. DONADIEU Y. et MARCHISET C. *La cire thérapeutique naturelle*, Paris, Maloine edit, 131p.
47. **Donadieu, Y.** (2006). *Aide-mémoire d'apithérapie*. Paris : Santeractive.
48. **Donadieu, Y.** (2008). *La propolis*. Paris : Dangles.
49. **Doumas, B.T., Watson, W.A., Briggs, H.G.** (2008). Albumin standards and the measurement of Soliman H, Craig G, et al. role of inducible nitric oxide synthase in induction of RhoA expression in hearts from diabetic rats. *Cardiovasc Res* 79: 322-30.

-E-

50. **Eckel, R.H., Kahn, S.E., Ferrannini, E., et al.** (2011). Obesity and type 2 diabetes: what can be unified and what needs to be individualized? *Diabetes Care* 34:1424-30.
51. **El-Sayed el, S.M., Abo-Salem, O.M., Aly, HA et al.** (2009). Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in strep-tozotocin-induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci* 22: 168–74.
52. **El-Sayed, el S.M., Abo-Salem, O.M., Aly, H.A., et al.** (2009). Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci* 22: 168–74.
53. **Farooqui, T., Farooqui, A.** (2010). Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. *Curr Nutr Food Sci* 6: 186–99.
54. **Farooqui, T., Farooqui, A.** (2010). Molecular mechanism underlying Food Sci 6: 186–199.
55. **Fasce, C.F.** (1982). *Clin. Chem.* 18901.

56. **Fernandes Junior, A., Balestrin, E.C., Betoni, J.E., et al.** (2005). Propolis : anti-Staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 563–6.
57. **Fonfrede, M.** (2006). Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable ? *Spectrabiologie*, 152 : 48-53. France. p1-16.

-G-

58. **Gardana, C., Simonetti, P.** (2011). Evaluation of allergens in propolis by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 25: 1675–82
59. **Garoui, EM., Troudi, A., Fetoui, H., Soudani, N., Boudawara, T., Zeghal, N.** (2011). Propolis attenuates cobalt induced-nephrotoxicity in adult rats and their progeny *Exp. Toxicol. Pathol.* Apr. 18.
60. **Gaw, A., Murphy, M.J., Cowan, R.A., O'reilly, D.St. J., Stewart, M.J., Shepherd, J.** (2004). *Biochimie Clinique*. Ed. Elsevier-SAS, France, pp : 30, 58, 60.
61. **Goetz, P.** (2007). Phytothérapie du Diabète. *Phytothérapie* 5: 212-217.
62. **Gonzalez, R.R., Rodriguez, D., Gonzalez, S., et al.** (1994). Hepatoprotective effects of propolis extract on paracetamol-induced liver damage in mice. *Phytother Res* 8: 229–32.
63. **Gornall, A.G., Bardawill, C.J., & David, M.** (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem* 177:751-66.
64. **Gourdy, P., Ruidavets, J.B., Ferriere, J., Ducimetière, P., Amouyel, P.H., Arveiler, D., Cottel, D., Lamany, N., Bingham, H., Hanaire-Broutin.**(2001). Prevalence of type 2 diabetes and impaired fasting glucose in the middle-aged population of the three region the Monica study 1995-7. *Diabetes Metab (Paris)* 27:p347-358.
65. **Gregoris, E., Stevanato, R.** (2010). Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food Chem Toxicol* 48: 76–82.
66. **Grimaldi, A.** (2005). *Traité de diabétologie*. Ed. Flammarion, Paris, pp: 1-116.
67. **Grimaud, D.** (2007). *Anesthésie réanimation du patient diabétique* Ed. Elsevier Masson, pp 3-11 et pp15-22.
68. **Guermaz, R., Zekri, S., Hatri, A., Kessal, F., Brouri, M.** (2008). Le diabète de type 2 en Algérie : poids actuel et à venir. *La Revue de Médecine Interne ; Volume 29, Supplément 1 : S49-S50.*
69. **Guillausseau, P.J., Michelin, M.L.** (2003). Physiopathologie du diabète de type 2. *La Revue de Médecine Interne* 24: 730-737.

-H-

70. **Helmrich, S.P., Ragland, D.R., Leung, R.W., Paffenbarger, R.S.Jr.**(1991).Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New Engl J Med* 325:p147-152.
71. **Henry, J.B.** (1984). *Clinical Diagnosis and management* 17th édition, Saunders Publisher.
72. **Hernandez, I.M., Fernandez, M.C., Cuesta-Rubio, O., et al.** (2005). Poly-prenylated benzophenone derivatives from Cuban propolis. *J Nat Prod* 68: 931-4.
73. **[Http://www.who.int/inf-pr-1998/fr/cp98-63.html](http://www.who.int/inf-pr-1998/fr/cp98-63.html)**

-J-

74. **Jaïdane, H., Goffard, A., Gharbi, j., Hober, D.** (2008).Vers une meilleure compréhension de la relation entre entérovirus et diabète de type 1. *Virologie* 12 (3) : 187-200.

75. **Jarrin, M., Sanchez, H., Fernández, P., García-Layana, A., López, M.** (2002). Streptozotocin Induced Diabetes in Wistar Rat: Is it a Good Model of Diabetic Retinopathy? *Invest Ophthalmol* 43.
76. **Jasprica, I., Mornar, A., Debeljak, Z., et al.** (2007). In vivo study of propolis supplementation effects on antioxidative status and red blood cells. *J Ethnopharmacol* 110: 548–54.
77. **Jianchun Sheng, Jing Zhou, Lin Wang, Juan XU.** (2007). Antioxidant activity of Ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis. *Eur Food Technol*.225: 249- 253.
78. **Johnson, I.S.** (1983). Human insulin from recombinant DNA technology. *American Association for the Advancement of Science. Science*, Vol 219, Issue 4585: 632-637.
79. **Jung, J.A., Kim, Y.W., Cheon, Y.W., Kang, S.R.** (2014). Effects of the Diabetic Condition on Grafted Fat Survival: An Experimental Study Using Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Archives of plastic surgery* 41(3):241-247.

-K-

80. **Kamal, J. K. A., Zhao, L and Zawail, A.H.** (2004). Ultrafast hydration dynamics in protein unfolding: human serum albumin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101:13411–13416.
81. **Kasuga, M.** (2006). Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J.Clin.Invest* 116:1756-1760.
82. **Kasuga, M.** (2006). Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J.Clin.Invest* 116:1756-60.
83. **Kazakevich, Y., and LoBrutto, R.** (2007). Publish HPLC for Pharmaceutical Scientists Will in January.
84. **Keshavarz, M., Mostafaie, A., Mansouri, K., et al.** (2009). Inhibition of corneal neovascularization with propolis extract. *Arch Med Res* 40: 59–61.
85. **Khalil, M.L.** (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 7: 22–31.
86. **Khayyal, M.T., el-Ghazaly, M.A., el-Khatib, A.S., et al.** (2003). A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. *Fundam Clin Pharmacol* 17: 93–102.
87. **Khayyal, MT., el-Ghazaly, M.A., el-Khatib, A.S.** (1993). Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Drugs Exp Clin Res* 19: 197–203.
88. **Kim, S.H., Hyun, S.H., Choung, S.Y.** (2006). Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J. Ethnopharmacol.* 104: 119–123.
89. **Koo, H., Rosalen, P.L., Cury, J.A., et al.** (2002). Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1302–9.
90. **Krishnan, K., Vijayalakshmi, N.R., Helen, A.** (2011). Methanolic extract of *costus igneus* (N.E.Br.) alleviates dyslipidemia in diabetic rats. *Asian J Pharm Clin Res.* 4,154-157.
91. **Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T.** (2004). Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84: 329-339.

-L –

92. **La propolis.** (May 14, 2016). Origine, composition et propriétés (PDF Download Available). https://www.researchgate.net/publication/256196162_La_propolis_origine_composition_et_proprietes

93. **Li, Y., Chen, M., Xuan, H., Hu, F.** (2011). Effects of encapsulated propolis on blood glycemic control, lipid metabolism, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 981896, 8 pages.
94. **Liao, Y.R., Hsu, J.Y., Chu, J.J., et al.** (2010). Caffeic acid phenethyl ester suppresses the induction of eotaxin in human lung fibroblast cells. *J Asthma* 47: 233–7.
95. **Liu, A.L., Wang, H.D., Lee, S.M., et al.** (2008). Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro anti-viral activities 16(15):7141-7.
96. **Loffy, M.** (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 7: 22–31.
97. **Lott, J.A.** (1975). *Clin. Chem.* 21. 1754.
98. **Lu, L.C., Chen, Y.W., Chou, C.C.** (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol* 102: 213–20.
99. **Lubetzki, J., Chanson, P., Guillausseau, P.J.,** (2000). *Endocrinologie et maladies métaboliques*. Flammarion, Paris, p : 334.
100. **Luton, J.P., Thomopoulos, P., Basdevant, A.** (1999). *Endocrinologie, Nutrition et Maladies Métaboliques*. Ed. Flammarion, Paris, pp : 178-192.

-M-

101. **Machado, G.M., Leon, L.L., De Castro, S.L.** (2007). Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of *Leishmania*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 73–7.
102. **March, S.O., et al.** (1996). Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Intern Med* 156: 637-42.
103. **Marcucci, M.C.** (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83–99.
104. **Mario, N., Lasnier, E.** (2006). Les difficultés d'interprétation du dosage de l'hémoglobine A1c. *Rev Francoph Lab* 382 : 39-43.
105. **Metzger, B.E., Coustan, D.R.** (1998). Summary and recommendations of the Fourth International Workshop Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care; Supp 12* : B161-7
106. **Montoro, A., Barquinero, J.F., Almonacid, M., et al.** (2011). Concentration-dependent protection by ethanol extract of propolis against gamma-ray-induced chromosome damage in human blood lymphocytes. *Evid Based Complement Alternat Med* 174853.
107. **Münstedt, K., Bargello, M., Hauenschild, A.** (2009). Royal jelly reduces the serum glucose levels in healthy subjects *J. Med. Food.* 12(5):1170-1172.
108. **Murad, J.M., Calvi, S.A., Soares, A.M., et al.** (2002). Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Ethno Pharmacol.*

-N-

109. **Nishida, M., Funahashi, T., Shimomura, I.** (2007). Pathophysiological significance of adiponectin. *Med.Mol.Morphol* 40:55-67.

-O-

110. **Oliveira, H.C., Dos-Santos, M.P., Grigulo, R., Lima, L.L., Martins, D.T.O., Lima, J.C.S., Stoppiglia, L.F., Lopes, C.F., Kawashita, N.H.** (2008). Antidiabetic activity of valairea macrocarpa extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 111: 515-519.
111. **Omari, N., Dahmani-ait, akli Y., Labrousse, F., Hadj bekkouche, F.** (2011). Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 80 : 907 – 938.
112. **Onlen, Y., Tamer, C., Oksuz, H., et al.** (2007). Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on *Pseudomonas keratitis* in rabbits. *Microbiol Res* 162: 62–8.
113. **Orsatti, C.L., Missima, F., Pagliarone, A.C., et al.** (2010). Th1/Th2 cytokines' expression and production by propolis-treated mice. *J Ethnopharmacol* 129: 314–8.
114. **Orsolich, N.** (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. *JAAS* 2: 1–20.
115. **Ortiz, L.E.** (1993). *Encyclopédie des herbes et des épices : Toutes les saveurs du monde*. Ed.Reader's Digest, Paris, p : 288.
116. **Ozcan, M.** (2004). Inhibition of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. *J Med Food* 7: 114–6.

-P-

117. **Percie du Sert, P.** (2003). *Ces pollens qui nous soignent* Guy Trédaniel Editeur, 2nde édition, 211p.the therapeutic activities of propolis : a critical review. *Curr Nutr*.
118. **Perez, G.R.M., Zavala, S.M.A., Perez, G.S., Perez, G.C.** (1998). Antidiabetic effect of compound islated from plants. *Phytomedicine* 5: 55-75.
119. **Piccinelli, A.L., Lotti, C., Campone, L., et al.** (2011). Cuban and Brazilian red propolis : botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 59: 6484-91.
120. **Popolo, A., Piccinelli, A.L., Morello S., et al.** (2011). Cytotoxic activity of nemorosone in human MCF-7 breast cancer cells. *Can J Physiol Pharmacol* 89: 50–7.
121. **Popova, M., Trusheva, B., Antonova, D., et al.**(2011).The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta. *Food Chem* 126: 1434-5.
122. **Popravko, S.A.** (1978). Chemical composition of propolis, its origin and standardization. In: *Remarkable Hive product: propolis*. Apimondia, Bucarest, pp. 15-8.
123. **Pribac1, G., Craciun, C., Szoke-Nagy, T., Simeoni, I., Lang, C., Rosioru, C., et al.** (2007). Comparative ultrastructural study of pancreatic beta cells from diabetic rats treated with fenugreek seed flour or ganoderma. *Annals of RSCB XVI* (1):62-80.
124. **Punitha, I.S.R., Rajendran, K., Shirwaikar, A., Shirwaikar, A.** (2005). Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocinnicotinamide induced diabetic rats. *ECAM*. 2(3): 375-381.

-R-

125. **Raccach, D.** (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie 1(1) : 29-42.
126. **Raccach, D.** (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie. 1(1) : 29-42.
127. **Ragbeetli, C., Ceylan, E.** (2010). Effect of Streptozotocin on Biochemical Parameters in Rats. Asian J. Chem 22(3):2375-2378.
128. **Raghukumar, R., Vali, L., Watson, D., et al.** (2010). Antimethicillinresistant Staphylococcus aureus (MRSA) activity of 'pacific propolis' and isolated prenylflavanones. Phytother Res 24: 1181–7.
129. **Ramos, A.F.N., Miranda, J.L.** (2007). Propolis: a review of its antiinflammatory and healing actions. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis 13: 697–710.
130. **Richmond.** (1973). Clin. Chem. 19, 1350.
131. **Rodier, M.** (2001). Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique, vol.25 - n°2 : 5-18.
132. **Rossi, A., Ligresti, A., Longo, R., et al.** (2002).The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. Phytomedicine 9: 530–5.
133. **Roszyk, L., Faye, B., Sapin, V., Thieblot, P., Tauveron, I.** (2007). HbA1c : dosage et interprétation. DFR, 14.

-S-

134. **Saini, S., Sharma, S.** (2013). Antidiabetic effect of helianthus annuus L seeds ethanolic extract in streptozotocin-nicotinamides induced type 2 diabetes mellitus. Int J Pharm Sci 5(2):382-387.
135. **Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G., et al.** (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evid Based Complement Alternat Med 2: 33-8.
136. **Samet, N., Laurent C., Susarla, S.M., et al.** (2007).The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. Clin Oral Investig 11: 143–7.
137. **Sampson, E.J., Baird, M.A., Burtis, C.A., et al.** (1980).A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC Study Group on urea candidate reference method. Clin Chem., 26, 816-826.
138. **Samuel, V.T., Petersen, K.F., Shulman, G.I.** (2010). Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. Lancet 375:2267-77.
139. **Santos, V.R., Gomes, R.T., de Mesquita, R.A., et al.**(2008). Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. Phytother Res 22: 1544–7.
140. **Santosa, S., Jensen, M.D.** (2008).Why are we shaped differently, and why does it matter? Am.J.Physiol Endocrinol.Metab 295:E531-E535.
141. **Savage, D.B., Petersen, K.F., Shulman, G.I.**(2007). Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. Physiol Rev 87:507-20.
142. **Sawaya, A.C., Abdelnur, P.V., Eberlin, M.N., et al.** (2010). Fingerprinting of propolis by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. Talanta 81: 100–8.

143. **Schnitzler, P., Neuner, A., Nolkemper, S., et al.** (2010). Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compound. *Phytother Res* 24(Suppl 1): S20–S8.
144. **Serum albumin with bromocresol green.** (1971). *Clin. Chim. Acta*, 31, p. 87-71.
145. **Sforcin, J.M.** (2007). Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 113: 1–14.
146. **Sforcin, J.M., Bankova V.** (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 133: 253–60.
147. **Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R., Roy, P.** (2008). Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chemistry* 110: 697–705.
148. **Shinmei, Y., Yano, H., Kagawa, Y., et al.** (2009). Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 31: 688–93.
149. **Simmons, M.L., et Brick, J.O.** (1970). *The Laboratory Mouse: Selection and Management*. Englewood Cliffs NJ: Prentice-Hall.
150. **Sobocanec, S., Sverko, V., Balog, T., et al.** (2006). Oxidant/antioxidant properties of Croatian native propolis. *J Agric Food Chem* 54: 8018–26.
151. **Spencer, K.E.V.** (1976). Laboratory procedures involving mice and rats. Dans: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, 5e éd. Edinburgh UK: Churchill Livingstone, p. 205-209.
152. **Szkudelski T.** (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.*, 2001; 50: 536-546.
153. **Szkudelski, T.** (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res* 50: 536-56.
154. **Szliszka, E., Czuba, Z.P., Domino, M., et al.** (2009). Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells. *Molecules* 14: 738–54.

-T-

155. **Tanko, Y., Yerima, M., Mahdi, M.A., Yaro, A.H., Musa, K.Y., Mohammed, A.** (2008). Hypoglycemic Activity of Methanolic Stem Bark of *Adansonia digitata* Extract on Blood Glucose Levels of Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 1(2): 32-36.
156. **Tietz, N.W.** (1990). *Clinical Guide to Laboratory Tests*, Second Edition W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA 554-556.
157. **Tietz, N.W.** (1999). *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A Burtis, E.R. Ash Wood, W.B Saunders p. 477-530 et p. 1074-1077.
158. **Tietz, N.W.** (2006). *Clinical guide laboratory test*, 4th Ed., p. 68-71.
159. **Tosi, E.A., Ciappini, M.C., Cazzolli, F., Tapiz, M.** (2006). Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA* 41.
160. **Trinder, P.** (1969). *Ann. Clin. Biochem.* 6, 24.
161. **Trinder, P.** (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann Clin. Biochem* 6: 24-27.
162. **Trusheva, B., Popova, M., Koendhori, E.B., et al.** (2011). Indonesian propolis : chemical composition, biological activity and botanical origin. *Nat Prod Res* 25: 606-13.

-U-

163. **Uzel, A., Sorkun, K., Oncag, O., et al.** (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res* 160: 189–95.

-V-

164. **Valente, M.J., Baltazar, A.F., Henrique, R., et al.**(2011) Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food Chem Toxicol* 49: 86–92.

165. **Vats, V., Yadav, S.P., Grover, J.K.** (2004). Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *J Ethnopharmacol* 90: 155-160.

166. **Vynograd, N., Vynograd, I., Sosnowski, Z.** (2000). A comparative multicentre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine* 7: 1–6.

-W-

167. **Wang, H.X., Ng, T.B.** (1999). Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and anti thrombotic activities. *Life Sciences* 65: 2663-2677.

-X-

168. **Xu, B.H., Shi, M.Z.** (2006). An in vitro test of propolis against *Trichomonas vaginalis*. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 24: 477–8.

-Y-

169. **YAO, L., JIANG, Y., D'ARCY, B et al.** (2004). Quantitative high-performance liquid chromatography analyses of flavonoids in Australian Eucalyptus honeys, *J Agric Food Chem*, January 2004.

170. **Young, D.S.** (1990). Third Ed., AACC Press, Washington DC.

-Z-

171. **Zamami, Y., Takatori, S., Koyama, T., Goda, M., Iwatani, Y., Doi, S.** (1984). Effet de la propolis sur la résistance à l'insuline chez les rats de fructose-potable *Yakugaku Zasshi*.

172. **Zhu, W., Chen, M., Shou, Q., Li, Y., Hu, F.** (2010). Biological activities of Chinese propolis and Brazilian propolis on streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2001, Article ID 468529, 8 pages.