

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة باجي مختار - عنابة

Université Badji Mokhtar - Annaba-



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Toxicologie Cellulaire

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie fondamentale et appliquée

Intitulée

Utilisation d'une substance d'origine naturelle dans le traitement de certaines pathologie chroniques (cancers, arthroses, etc).

Présentée par : Aouadi Lara

Membre du juré :

KADRI Skandar EL Hadi	Prof.	Université Badji Mokhtar - Annaba	Président
DAHDOUH Faouzi	MCA	Ecole normal supérieure d'enseignement technologique- ENSET Skikda	Directeur de thèse
BERREBBAH Houria	Prof.	Université Badji-Mokhtar-Annaba	Co-directrice de thèse
BOUARICHA Houda	MCA	Université Badji-Mokhtar-Annaba	Examinatrice
REGGAMI Yassine	MCA	Université 20 Août 1955-Skikda	Examinateur
GASMI Yousria	Prof.	Université Chadli Bendjedid El Tarf	Examinatrice

Année universitaire : 2025/2026.

REMERCIEMENTS

Avec un grand contentement que s'achève mon parcours académique, je tiens par la présente à exprimer mes plus sincères remerciements pour :

Mon directeur de thèse, Dr Dahdouh Faouzi, pour sa disponibilité et son accompagnement.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers le Pr. Djebar - Berrebbah Houria pour sa contribution constructive dans l'élaboration de cette thèse de Doctorat.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Pr. Kadri Skandar El Hadi d'avoir accepté de présider le jury. Je souhaite également remercier tous les membres du jury :

, Pr. Gouasmia Yousria Professeur à l'université d'El Tarf pour avoir pris part à ce jury de soutenance et ce malgré la distance.

Dr Bouaricha Houda MCA à l'Université d'Annaba qui n'a pas hésité à accepter de faire partie de ce jury, je la remercie vivement.

Dr Reggami Yassine MCA à l'Université de Skikda, qui malgré ses nombreuses charges a bien voulu examiner ce travail je lui suis très reconnaissante.

Je remercie chaleureusement ma famille pour son appui constant

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon père, le Pr. Aouadi Saoudi, pour son soutien indéfectible et ses encouragements constants

Résumé :

Le venin d'abeille est une toxine composée principalement de peptides et d'enzymes. Lorsqu'il est administré à des doses appropriées, il agit comme un actif pharmacologique avec diverses activités notamment anti-inflammatoires et anti-oxydantes, lui conférant des effets thérapeutiques sur différentes pathologies.

Cette étude vise à évaluer les effets réparateurs et néphroprotecteurs du venin d'abeille sur l'insuffisance rénale chronique.

L'étude est menée sur 40 souris réparties sur quatre groupes expérimentaux. L'insuffisance rénale chronique est induite par administration de 50 mg/kg d'Adénine par voie intrapéritonéale sur une durée de 28 jours. Le venin d'abeille, est administré par voie intrapéritonéale à une dose de 0,76mg/kg sur une durée de sept jours, après induction de la pathologie. Nos résultats montrent qu'outre une baisse du poids corporel et de la consommation alimentaire, l'Adénine induit une augmentation des paramètres sériques comme la créatinine, l'urée, la bilirubine, d'acide urique ainsi que les paramètres du stress oxydant comme l'activité Catalase et Glutathion-S-transférase ainsi que le taux du Glutathion. Parallèlement, cette molécule est à l'origine d'une diminution du taux d'Albumine sérique, de la clairance de la Créatinine et du taux de malondialdéhyde, ces modifications se conjointent avec la dégénérescence des glomérules, la dilatation des tubules, le détachement de la membrane basale glomérulaire, l'infiltration des cellules inflammatoires et la présence de nécrose.

L'administration du venin d'abeille a permis d'inverser les valeurs des paramètres biochimiques et les bios marqueurs du stress oxydatif perturbés par l'Adénine, combiné avec la restauration des glomérules, une réduction du diamètre des tubules dilatés, une élimination des nécroses et suppression des infiltrations inflammatoires. Confirmant ainsi le pouvoir néphroprotecteur et antioxydant du venin d'abeille ainsi que le rôle thérapeutique potentiel de cette molécule sur une pathologie grave progressive et incurable.

Mot-clé : venin d'abeille, insuffisance rénale chronique, adénine, histopathologie, stress oxydant.

Abstract :

Bee venom is a toxin composed mainly of peptides and enzymes. When administered in appropriate doses, it acts as a pharmacological agent with multiple activities, notably anti-inflammatory and antioxidant, giving it therapeutic effects in various pathologies.

The aim of this study is to evaluate the reparative and nephroprotective effects of bee venom in chronic renal failure.

The study will be carried out on 40 mice divided into four experimental groups. Chronic renal failure was induced by intraperitoneal administration of 50 mg/kg adenine for 28 days. Bee venom was administered intraperitoneally at a dose of 0.76 mg/kg for seven days after induction of the disease. Our results show that, in addition to a reduction in body weight and food consumption, adenine induces an increase in serum parameters such as creatinine, urea, bilirubin and uric acid, as well as oxidative stress parameters such as catalase and glutathione-S-transferase activity and glutathione levels. At the same time, this molecule reduces serum albumin levels, creatinine clearance and malondialdehyde levels, these modifications are conjoined with the degeneration of glomeruli, the dilation of tubules, the detachment of the glomerular basement membrane, the infiltration of inflammatory cells and the presence of necrosis.

The data are combined with the restoration of the glomeruli; the reduction in the diameter of the dilated tubules; the elimination of necrosis; and the removal of inflammatory infiltrates.

Administration of bee venom reversed the values of biochemical parameters and biomarkers of oxidative stress disturbed by adenine, combined with the restoration of glomeruli, a reduction in the diameter of dilated tubules, an elimination of necrosis and suppression of inflammatory infiltrations. Thus confirming the nephroprotective and antioxidant power of bee venom and the potential therapeutic role of this molecule in a serious, progressive and incurable disease.

Keywords : bee venom, chronic renal failure, adenine, histopathology, oxidative stress.

الملخص:

سم النحل هو سم يتكون أساساً من الببتيدات والإنزيمات. عند إعطائه بجرعات مناسبة، فإنه يعمل كنشاط دوائي مع أنشطة مختلفة، لا سيما مضادات الالتهاب ومضادات الأكسدة، مما يعطيه تأثيرات علاجية على مختلف الأمراض.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الآثار التعويضية والوقائية الكلوية لسم النحل على الفشل الكلوي المزمن. أجريت الدراسة على 40 فأراً مقسمة إلى أربع مجموعات تجريبية. تم تحفيز الفشل الكلوي المزمن عن طريق إعطاء 50 ملغم/كغم من الأدينين داخل الصفاق على مدى 28 يوماً. تم إعطاء سم النحل داخل الصفاق بجرعة 0.76 ملجم/كجم لمدة سبعة أيام بعد تحريض المرض. أظهرت نتائجنا أنه، بالإضافة إلى انخفاض وزن الجسم واستهلاك الطعام، يحفز الأدينين زيادة في مستويات الامصال مثل الكرياتينين واليوريا والبيليروبين وحمض البوليك، وكذلك مستويات الإجهاد التأكسدي مثل نشاط الكاتالاز والغلوتاثيون-S-ترانسفيراز ومستويات الجلوتاثيون. وفي الوقت نفسه، يقلل هذا الجزيء من مستويات الزلال في المصل ومستويات تصفية الكرياتينين ومستويات مالونديالدهيد، تترافق هذه التعديلات مع انحلال الكبيبات، وتوسع الأنابيب، وانفصال الغشاء القاعدي الكبيبي، وتسلل الخلايا الالتهابية ووجود نخر. يتم دمج هذه البيانات مع استعادة الكبيبات، وتقليل قطر الأنابيب المتوسعة، والقضاء على النخر وإزالة الارتشاح الالتهابي.

أدى إعطاء سم النحل إلى عكس قيم البارامترات الكيميائية الحيوية والمؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي الذي عطله الأدينين، جنباً إلى جنب مع استعادة الكبيبات، وانخفاض في قطر الأنابيب المتوسعة، والقضاء على النخر وقمع الارتشاح الالتهابي. مما يؤكد قوة سم النحل الواقية للكلية والمضادة للأكسدة والدور العلاجي المحتمل لهذا الجزيء في مرض خطير ومتفقم وغير قابل للشفاء.

الكلمات المفتاحية: سم النحل، الفشل الكلوي المزمن، الأدينين، التشريح المرضية، الإجهاد التأكسدي.

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1: Classement des différents stade de l'IRC selon le DFG chez l'Homme	8
Tableau 2: Variation du poids relatif des reins des groupes expérimentaux.....	32
Tableau 3: Suivi de la consommation d'eau des souris	33
Tableau 4: Suivi de la consommation alimentaire des souris	33

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: Coupe longitudinale du rein	3
Figure 2: Arrangement interne et externe, droit et gauche du néphron	4
Figure 3: Anatomie interne des abeilles ouvrières	10
Figure 4: Mécanisme catalytique de l'adénine	20
Figure 5: Principe colorimétrique du test DPPH	27
Figure 6: Electrophorèse SDS-PAGE du BV	29
Figure 7: Détermination de la DL ₅₀ du venin d'abeille	30
Figure 8: Pourcentage d'inhibition de BV et de l'acide ascorbique	31
Figure 9: Activité anti-inflammatoire des concentrations croissantes du venin d'abeille et du Diclofénac	31
Figure 10: Variation du poids corporel des souris des différents groupes expérimentaux	34
Figure 11: Taux de créatinine sérique chez les souris témoins et traitées	40
Figure 12: Clairance de créatinine chez les souris témoins et traitées	36
Figure 13: Taux de l'urée sérique chez les souris témoins et traitées	37
Figure 14: Taux de bilirubine totale sérique chez les souris témoins et traitées	38
Figure 15: Taux d'acide urique sérique chez les souris témoins et traitées	39
Figure 16: Evolution du taux d'albumine sérique chez les souris témoins et traitées	40
Figure 17: Evolution du taux de protéines totales sérique témoins et traitées	41
Figure 18: Evolution du taux du manon-dialdéhyde dans le tissu rénal chez les souris témoins et traitées	42
Figure 19: Evolution du taux du GSH dans le tissu rénal chez les souris témoins et traitées ..	43
Figure 20: Activité de la catalase dans le tissu rénal chez les souris témoins et traitées	44
Figure 21: Activité de la GST dans le tissu rénal chez les souris témoins et traitées	45
Figure 22: Photographie rein du groupe témoin	46
Figure 23: Photographie rein du groupe adénine	46
Figure 24: Photographie des reins du groupe adénine avec une couleur pale	46
Figure 25: Photographie des reins du groupe adénine avec une morphologie hypertrophique	47
Figure 26: Photographie des reins du groupe adénine+venin	47
Figure 27: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe témoin	48
Figure 28: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe venin d'abeille	48
Figure 29: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du lot adénine	49
Figure 30: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine avec des tubules dilatés	49
Figure 31: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine avec des tubules dilatés et des glomérules dégénérées	50
Figure 32: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine+venin	50

SOMMAIRE :

1	Préambule :	1
2	Anatomie des reins :	3
3	Fonctions des reins :	4
3.1	Fonction exocrine :	4
3.2	Fonction homéostatique :	5
3.2.1	L'homeostasie des sels minéraux :	5
3.2.2	L'équilibre acido-basique :	6
3.2.3	L'homeostasie de l'eau :	6
3.3	Fonction endocrine :	6
3.3.1	PRODUCTION DE RÉNINE :	6
3.3.2	PRODUCTION D'ÉRYTHROPOÏÉTINE :	6
3.3.3	ACTIVATION DE LA VITAMINE D :	6
3.3.4	MÉTABOLISME DES PROSTAGLANDINES :	6
3.3.5	REGULATION DE LA GLYCEMIE :	7
3.3.6	DEGRADATION DE LA GASTRINE :	7
3.3.7	L'URODILATINE :	7
4	Définition de l'insuffisance rénale chronique :	7
5	Epidémiologie de l'Insuffisance Rénale Chronique :	7
6	Les stades de l'Insuffisance Rénale Chronique :	8
7	Progressions et complications de l'Insuffisance Rénale Chronique :	9
<input type="checkbox"/>	Maladies tubulo-interstitielles et glomérulaire :	9
<input type="checkbox"/>	Maladies cardio-vasculaires :	9
<input type="checkbox"/>	Perturbation du métabolisme :	9
<input type="checkbox"/>	Un déficit immunitaire :	10
8	Généralités sur le venin d'abeille :	10
8.1	Enzymes :	11
8.1.1	La Phospholipase A2 :	11
8.1.2	La Hyaluronidase :	11
8.1.3	La Phosphatase acide :	11
8.2	Peptides	11
8.2.1	La Melittine :	11
8.2.2	Le MCD :	12
8.2.3	L'Apamine :	12
8.2.4	La Secapine :	13

8.2.5	La Procamine :	13
8.2.6	L'Adolapine :	13
8.2.7	La Tertiapine :	13
8.2.8	La Minimine :	13
8.2.9	L'Apideacine :	13
8.2.10	La Dipeptidyl peptidase IV :	13
8.2.11	La Vitellogenine :	13
8.3	Autres composants du venin d'abeille :	13
9	Rappel sur l'acupuncture :	14
10	Rappel sur le stress oxydant :	15
11	Les principales espèces réactives de l'oxygène :	15
12	Le Système Antioxydant Endogène :	15
12.1	La SOD :	15
12.2	La catalase :	15
12.3	La GPX :	16
12.4	La GST :	16
12.5	Le GSH :	16
12.6	L'acide urique :	16
13	Les cibles des ROS :	17
13.1	acide desoxyribonucleique (ADN) :	17
13.2	les lipides :	17
13.3	LES PROTEINES :	17
13.4	Action antioxydante du venin d'abeille :	17
	Objectif du travail.....	19
1	Matériel biologique :	20
2	Matériel chimique :	20
2.1	L'adénine :	20
2.2	Le venin d'abeille :	20
3	Conditions d'élevage :	21
4	Induction de l'Insuffisance Rénale Chronique :	21
5	Traitement de l'insuffisance Rénale Chronique :	21
6	Sacrifice et prélèvement sanguin :	22
7	Prélèvement des organes :	22
8	Dosage des paramètres biochimiques (selon la fiche technique de Biosystems) :	22
8.1	Dosage de la bilirubine totale :	22

8.2	Dosage de l'urée :	22
8.3	Dosage protéines totales :	22
8.4	Dosage d'albumine :	23
8.5	Dosage d'acide urique :	23
8.6	Dosage d la créatinine	23
9	Dosage des paramètres du stress oxydatif :	23
9.1	Dosage du GSH	23
9.2	Dosage du MDA	24
9.3	Dosage de l'activité GST	24
9.4	Dosage de l'activité CAT	25
9.5	Dosage des protéines au niveau du tissu rénal :	25
10	Etude histologique :	25
11	Activité biologique du venin d'abeille :	26
11.1	Activité anti-inflammatoire :	26
11.2	L'activité antiradicalaire (test de DPPH) :	26
12	L'analyse statistique :	28
1	Caractéristiques du venin d'abeille :	29
1.1	Analyse par électrophorèse SDS-PAGE:	29
1.2	Détermination de la DL ₅₀ du venin d'abeille :	30
1.3	Pouvoir anti-radicalaire :	30
1.4	Activité anti-inflammatoire :	31
2	Suivi des paramètres physiologiques :	32
2.1	Détermination du poids relatif des reins des souris :	32
2.2	Suivi de la consommation alimentaire et la consommation d'eau des souris durant le traitement :	32
2.3	Evolution du poids corporel des souris :	33
3	Variation des métabolites :	34
3	Etude du stress oxydatif :	41
4	Examen morphologique des reins :	45
6	Examen histopathologique :	47
	DISCUSSION	51
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	59
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	61
	ANNEXE	73

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BV : Venin d'abeille.

CAT : Catalase.

CI50 : Concentration inhibitrice médiane.

COX : cyclooxygénase.

DCF_s : Le dichlorofluorescéine.

DFG : Débit de filtration glomérulaire.

DHOA : 2,8-dihydroxyadrénaline.

DL₅₀ : Dose létale médiane.

DTNB : 5,5'-Dithiobis (acide 2-nitrobenzoïque).

EDTA : L'acide éthylènediaminetétraacétique.

GATA : Guanine-adenine-thymineadenine binding protein.

GBD : Global Burden of Disease.

GP-x : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

GST : Glutathion-S-transférase.

HCL : Le chlorure d'hydrogène.

HDL : Lipoprotéines de haute densité.

IMC : Indice de masse corporelle.

IRA : Insuffisance rénale aigu.

IRC : Insuffisance rénale chronique.

IRT : Insuffisance rénale terminale.

MCD : Peptide de dégranulation des mastocytes.

MDA : Manon dialdéhyde.

MDRD : Modification of diet in renal disease.

NAD⁺ : Le coenzyme Nicotinamide adénine dinucléotide.

NADH : Le coenzyme nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PTH : Parathormone

PLA2 : phospholipase A2.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SDS-PAGE : L'électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du laurylsulfate de sodium.

SOD : Superoxyde dismutase.

TBA : Le tribromure de tétrabutylammonium.

TCA : L'acide trichloroacétique.

TRIS : L'hydroxyméthylaminométhane.

UNESCO : Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture.

Chapitre I : **INTRODUCTION**

1 Preamble :

De nos jours on témoigne un intérêt grandissant pour la médecine alternative et complémentaire, qui peut être employée seule ou en complément des traitements conventionnels. Malgré la difficulté à définir ces pratiques et l'absence de reconnaissance en tant que discipline formelle, la médecine alternative est perçue comme un savoir-faire ancestral (Fontanarosa et Lundberg 1998). Elle a néanmoins prouvé son efficacité pour apaiser certains symptômes, diminuer les effets indésirables des traitements médicaux intensifs, améliorer l'état de santé, la qualité de vie et le bien-être des patients. Cette popularité est encouragée par des critiques virulentes du système de santé moderne, au profit d'une approche plus naturelle et respectueuse de l'environnement (Ernst 2000).

Ainsi, le BV qui fait actuellement l'objet de nombreuses études pour ses effets thérapeutiques, fait partie de cette thérapie douce de la médecine alternative qui utilise ce produit (BV) à des fins pharmacologiques et curatives (Ernst 2008). L'acupuncture à base de produits de l'abeille est utilisée pour ses actions anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne depuis l'antiquité (Abd El-Wahed *et al.* 2018).

Le venin d'abeille est composé de 214 molécules, mais à ce jour seulement 138 ont été identifiées. Wehbe *et al.* (2019) citent la mélitine, la phospholipase A2 ; une des enzymes les plus présentes dans la composition du BV et d'autres composants peptidiques et non peptidiques ainsi que des lipides, des composants organiques et minéraux et des substances volatiles

Les autres composants agissent comme promoteurs de la melitine et conservent tout de même une activité anti-inflammatoire, antioxydante, antivirale, antibactérienne, neuroprotectrice, analgésique, antiasthmatique, anti-âge, anti-athérosclérotique, neuroprotectrice et anti-polyarthrite rhumatoïde (Carpena *et al.* 2020).

Selon Wehbe *et al.*(2019) ; Msiska *et al.* (2020) le BV est préconisé contre la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques, les maladies cardio-vasculaires, le diabète militus, la fibrose hépatique, divers cancers tels que les cancers du sang, du sein, du foie, des poumons, et de la prostate et une efficacité marquante contre des virus comme le HIV, le virus du Nil occidental, le virus de l'hépatite C, et le SARS-CoV-2.

Les travaux d'Elshater *et al.*(2014) ;Muhammad *et al.* (2015) et Kim *et al.*(2020) ont mis la lumière sur le pouvoir néphroprotecteur du BV grâce à son action anti-inflammatoire cent

INTRODUCTION

fois plus puissante que la cortisone (Gomati et Boopathy 2023) ;cette propriété est due à l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine via l'inhibition de l'activité cyclo-oxygénase et une augmentation du potentiel de la membrane mitochondriale, ce qui lui confère le pouvoir de neutraliser les électrons non appariés générateur de radicaux libres (Zaworra and Nauen 2019) et de supprimer l'interleukine-6 (Nascimento de Souza *et al.* 2017).

2 Anatomie des reins :

Le rein est un organe vital présent en pair de couleur rougeâtre, situé au sein du rétropéritoine dans la partie postérieure de la cavité abdominale de part et d'autre de la colonne vertébrale, chez l'adulte les reins mesurent environ 12 cm de hauteur, 6 cm de largeur et 4 cm d'épaisseur et pèse environ 150 g chacun, présentant une activité exocrine et endocrine fondamentale (Bessaguet et Desmoulière 2020 ; Pallabi 2018).

Les reins sont surmontés d'une glande surrénale et chaque rein est organisé en une série de lobes (8 à 10), qui comporte 2 régions bien distinctes : le cortex et la médulla. Le cortex est généralement brun rougeâtre et a un aspect granuleux qui comporte tous les glomérules, les tubules contournés et les canaux collecteurs corticaux.

La médulla est plus claire et présente un aspect strié qui résulte de la disposition parallèle des cellules de l'épithélium, des boucles de Henlé, des canaux collecteurs médullaires et des vaisseaux sanguins de la médulla (Bessaguet et Desmoulière 2020 ; Tanner 2008), Figure (1)&(2).

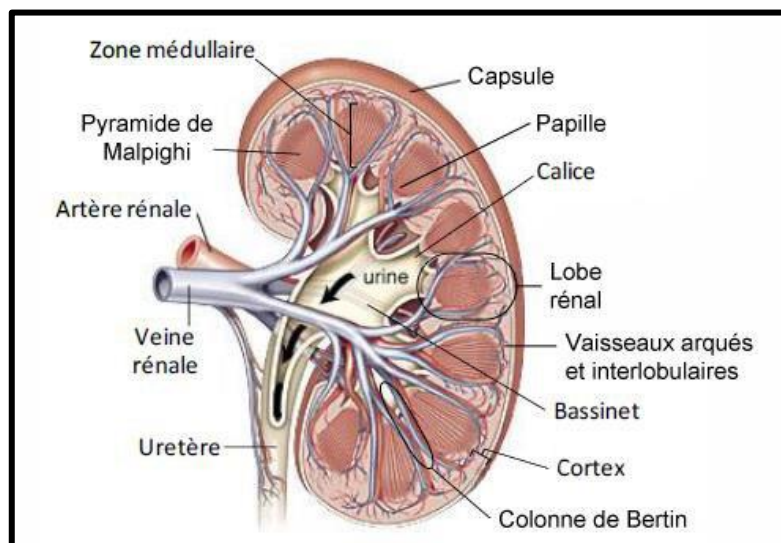


Figure 1: Coupe longitudinale du rein. (Bignon. 2017).

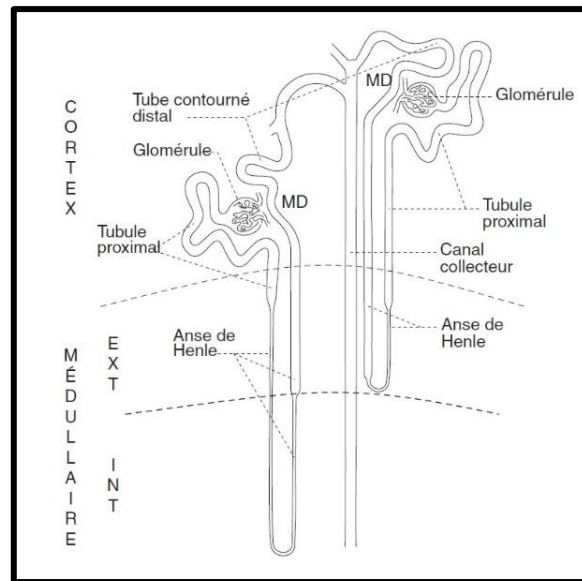


Figure 2: Arrangement interne et externe, droit et gauche du néphron. (Blanchard. 2009)

Histologiquement le rein humain contient environ 0.7 à 1.5 million de néphron ;il est l'unité fonctionnelle du rein, qui se compose d'un corpuscule rénal et d'un tubule rénal (Bessaguet et Desmoulière 2020). Le corpuscule rénal est constitué d'un glomérule entouré de la capsule de Bowman, le tubule est formé successivement d'un tube proximal, une anse de Henlé, un tube distal et un tube collecteur.

Le bord interne des reins situé face à la colonne vertébrale présente une cavité appelée sinus rénal dans laquelle passent les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques, les nerfs et l'uretère. Ces différents éléments sortent du rein par le hile rénal.

L'extrémité médullaire forme une papille rénale, chaque papille draine son urine dans un calice mineur, les calices mineurs s'unissent pour former un calice majeur et l'urine s'écoule dans le bassinnet du rein qui est relié à la vessie par l'uretère (Rayner *et al.* 2016 ; Delanaye 2019).

3 Fonctions des reins :

3.1 Fonction exocrine :

Le rein est un organe richement vascularisé, il reçoit le 1/4 du débit cardiaque. Alors que 20 % du plasma est filtré produisant 170 litres de filtrat glomérulaire par jour ; 99% est réabsorbé au fur et à mesure qu'ils circulent dans les néphrons, de sorte que seulement 1,5 litre d'urine est produit par jour (Rayner *et al.* 2016 ; Davis et Freeman. 1976).

L'urine se compose de :

- l'urée qui est le principal produit final azoté du métabolisme des protéines (Rérat et al. 1979).
- de l'acide urique soit le produit final du métabolisme des purines (Fernandez-Villaverde, Guerron-Quintana, Rubio-Ramirez et Uribe 2014;).
- la créatinine connue comme le produit final du métabolisme musculaire (Syariah et Ilmu).
- D'autres produits du métabolisme et des toxiques ou composés étrangers tel des médicaments (Delanaye 2019).

De ce fait pour effectuer sa principale fonction qui est l'excrétion de l'urine, trois processus sont impliqués dans la formation de l'urine : la filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire et la sécrétion tubulaire (Delanaye 2019).

3.2 Fonction homéostatique :

Les néphrons assurent à l'organisme le maintien de son équilibre par un mécanisme de détection et d'excrétion des électrolytes et de l'eau à travers les parois capillaires dans l'espace de Bowman (Zhuo et Li 2013). Le matériel passe de la lumière du capillaire glomérulaire à l'espace de Bowman, à travers l'endothélium capillaire, la membrane basale et l'épithélium capillaire par l'intermédiaire de la pression cardiaque, la force osmotique colloïdale des protéines plasmatiques, la pression hydrostatique dans l'espace de Bowman et la perméabilité du glomérule (Guyton 1991 ;Tucker et Blantz 1977).

La filtration glomérulaire est sensible à la taille, à la forme des molécules (Guyton 1991) et à la charge électrique par le biais des sialo-protéines chargées négativement, en créant un obstacle électrique au passage des macromolécules anioniques (Rennke et Venkatachalam 1977 ;Rennke *et al.* 1978) et c'est le cas de l'albumine (Brenner *et al.* 1978).

3.2.1 L'homéostasie des sels minéraux :

Le potassium filtré par les glomérules est activement réabsorbé dans les deux premiers tiers du tubule proximal et est excrété passivement par l'intermédiaire d'un gradient électrique (Schaefer et Wolford 2005).

La réabsorption du chlorure est active dans l'anse ascendante de Henlé pour assurer l'électroneutralité (Rinderknecht 1946).

Le rein est le principal organe de contrôle du taux de phosphore sérique (Nadkarni and Uribarri 2014), le phosphore est réabsorbé principalement dans le tubule contourné proximal par un mécanisme dépendant du sodium (Knox *et al.* 1977).

3.2.2 L'équilibre acido-basique :

Les reins assurent la régulation de l'équilibre acido-basique par la rétention du bicarbonate et l'excrétion des H^+ en cas d'acidose, ou l'excrétion de bicarbonate et la rétention des H^+ en cas d'alcalose (Dussol 2014).

3.2.3 L'homéostasie de l'eau :

La réabsorption de l'eau se produit à partir de l'anse descendante de Henlé, 60 à 80 % du filtrat glomérulaire est réabsorbé indépendamment des besoins de l'organisme, (Gottschalk et Mylle 1997; Sands et Layton 2014). L'excrétion de l'eau se poursuit au niveau des tubules proximaux en agissant sur le volume et la concentration de l'urine selon les besoins hydriques de l'organisme (Head 1968 ;Chuang *et al.* 1978).

3.3 Fonction endocrine :

3.3.1 Production de rénine :

La rénine est une protéase qui déclenche la formation de l'angiotensine I, ensuite transformée par l'enzyme de conversion en angiotensine II. Cette dernière provoque une vasoconstriction, une augmentation de la sécrétion d'aldostérone et d'hormone antidiurétique, ainsi qu'une stimulation de la corticosurrénale. Ces effets entraînent la réabsorption du sodium, la rétention d'eau, la diminution du taux de filtration glomérulaire et la stimulation de l'ingestion de sel et d'eau, ce qui contribue à l'élévation de la pression artérielle. (Sparks *et al.* 2014).

3.3.2 Production d'érythropoïétine :

L'érythropoïèse est assurée par l'érythropoïétine (EPO) (Jelkmann 2013) synthétisée par les fibroblastes du cortex rénal, sous effet de l'hypoxie (Jelkmann 2011).

3.3.3 Activation de la vitamine D :

L'interaction entre les rayons ultraviolets de la lumière du soleil et le 7-déhydrocholestérol dans la peau synthétise la Vitamine D₃ (Norman 2008). Pour être fonctionnelle la vitamine D₃ doit d'abord être hydroxylée dans le foie en (25-OH-D₃) puis hydroxylé par la 1-alpha-hydroxylase du tubule proximal du rein en 1-alpha,25(OH)₂D₃ (Norman 2008) ou la forme active de la vitamine D. La vitamine D est une pro hormone qui agit au niveau des glandes parathyroïdes, les os, les reins et l'intestin pour équilibrer l'homéostasie du calcium sérique et du phosphore, (Ross et Kingdom 1985). Chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique, le 25(OH)D₃ est mal hydroxylé (Norman 2008).

3.3.4 Métabolisme des prostaglandines :

La COX est une enzyme qui entre dans le processus menant à la synthèse des prostaglandines (Chiolero *et al.* 2000); qui est une substance d'une nature lipidique

INTRODUCTION

caractéristique des cellules des mammifères, à laquelle on attribue un rôle dans la vasodilatation et l'inflammation.

Au niveau rénal les prostaglandines sont impliquées dans la régulation vasculaire par augmentation du flux sanguin rénal, le maintien de l'homéostasie hydrosodée et la synthèse et la sécrétion de rénine au niveau juxta-glomérulaire (Foufelle et Ferré 2007).

3.3.5 Régulation de la glycémie :

Le rein est le principal site d'élimination de l'insuline de la circulation systémique, les mécanismes de l'élimination de l'insuline sont la filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire proximale et la dégradation de l'insuline, lors de l'IRC une suppression du métabolisme cellulaire de l'insuline survient (Duckworth *et al.* 1998).

3.3.6 Dégradation de la gastrine :

La gastrine est une hormone produite par les cellules G de l'estomac. Elle induit la sécrétion d'acide chlorhydrique gastrique, ayant un pH très bas elle provoque des ulcères gastroduodénaux, de ce fait le rein est l'organe responsable de son inactivation. Chez les sujets atteints d'IRC des niveaux élevés de gastrine sont observés (Davidson *et al.* 1973; Liang *et al.* 2014).

3.3.7 L'urodilatine :

Le rein produit l'urodilatine qui régule l'homéostasie des sels et de l'eau et inhibe la réabsorption du sodium et détend les muscles lisses de l'artère rénale. Ceci entraîne une diurèse et une vasodilatation des vaisseaux rénaux, coronaires et pulmonaires et abaisse la pression artérielle (Forssmann *et al.* 2001).

4 Définition de l'insuffisance rénale chronique :

L'IRC est une anomalie structurelle et fonctionnelle rénale qui surgit sur une durée de 3 mois ou plus, causée par une inflammation des glomérules (une glomérulonéphrite) qui se manifeste par une baisse du DFG $<60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ et une élévation d'au moins 5% d'albuminurie. (Eckardt *et al.* 2009)

Généralement les altérations rénales qui mènent à l'IRC ne présentent des symptômes que lorsque la défaillance est permanente à tendance irréversible. (Eckardt *et al.* 2009)

Epidémiologie de l'insuffisance rénale chronique :

Le profil épidémiologique de l'IRC en 2017 dans le monde est de 843,6 millions de personnes soit 10 % de la population mondiale, avec une inclination progressive, de plus

INTRODUCTION

l'IRC est considérée comme la douzième cause de mortalité dans le monde selon le GBD (Kovesdy 2022).

En Algérie, on estime que 3,5 millions de personnes sont atteintes d'IRC, les facteurs favorisants sont l'âge (plus de 60 ans), l'obésité (IMC >30) la grossesse, et une prédominance du diabète mellitus et l'hypertension artérielle (Berkache *et al.* 2021).

5 Les stades de l'insuffisance rénale chronique :

L'IRC est classée selon le DFG des patients ; et le DFG est estimé à partir du taux de créatinine sérique selon l'équation MDRD :

$$\text{DFG} = 175 \times \text{Scr}^{-1.154} \times \text{age}^{-0.203} \times 1.212 \text{ [si noir]} \times 0.742 \text{ [si femelle]}.$$

Où le DFG est exprimé en ml/min/1.73 m² et le taux de créatinine sérique Scr est exprimé en mg/dl (Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada 2018) Tableau 1.

Tableau 1: Classement des différents stades de l'IRC selon le DFG chez l'Homme. (Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada 2018).

STADE DE L'IRC	DFG	PHASE DE L'IRC	TAUX D'ALBUMINERIE mg/g
/	>120	/	<30
STADE 1	≥90	Altération de l'épuration suivi par une atteinte rénale	≤30
STADE 2	60-89	Insuffisance rénale légère	≤30
STADE 3A	59-45	Insuffisance rénale modérée	30-300
STADE 3B	44-30	Insuffisance rénale modérée à sévère	30-300
STADE 4	29-15	Insuffisance rénale sévère	≥300
STADE 5	>15	Insuffisance rénale terminale	>300

6 Progressions et complications de l'insuffisance rénale chronique :

Les études cliniques décrivent les atteintes qui précèdent l'IRC. Ainsi, cette pathologie commence par une réduction des fonctions excrétrices et/ou endocriniennes et/ou métaboliques, suivi des lésions rénales qui affectent le DFG.

Les atteintes qui font progresser l'IRC sont les troubles des tubules rénaux (Syndrome de Fanconi), les troubles du métabolisme liés à la malnutrition (obésité, anémie, manque de potassium, de magnésium), les troubles héréditaires (cystinurie, capital néphrotique réduit, prévalence ethnique), Consommation de drogue ou toxicité médicamenteuse, les troubles glomérulaires (diabète, maladies auto-immunes), les troubles vasculaires (athérosclérose, hypertension, ischémie, vascularite, microangiopathie thrombotique), vieillesse, infections répétées des voies urinaires et des tubules rénaux et les troubles cognitifs (Cipriani *et al.* 2013).

Quant aux complications, elles sont dues à l'état de chronicité et les conditions qui s'ensuivent, qui sont liées à la baisse du DFG, de l'albumine sérique, des nombres de néphrons et à la dégradation de la fonction rénale normale, ce qui engendre des :

❖ Maladies tubulo-interstitielles et glomérulaire :

Acidose tubulaire rénale, diabète insipide néphrogénique, infections des voies urinaires, lithiase rénale, maladies kystiques et congénitales, reins polykystiques ou dysplasiques, hydronéphrose, une pyélonéphrite, hyperéchogénicité rénale, sténose, la glomérulosclérose.

❖ Maladies cardio-vasculaires :

Infarctus du myocarde, syndrome coronarien aigu, accident vasculaire cérébral, insuffisance cardiaque et mort subite d'origine cardiaque, hypertension, troubles de la coagulation, hypertrophie ventriculaire et enfin une cardiomyopathie.

❖ Perturbation du métabolisme :

Dyslipidémie, augmentation du taux du cholestérol total, des triglycérides et des lipoprotéines avec un faible taux de HDL-C, et l'athérosclérose.

Il est rapporté également : un déséquilibre électrolytique provoquant une déshydratation, une urémie, une anémie, une baisse du taux de 1,25-dihydroxyvitamine D et de PTH, un déséquilibre du métabolisme osseux et une hypoparathyroïdie, ainsi qu'un métabolisme anormal du glucose entraînant le diabète et l'obésité, l'ulcération du pied diabétique, et l'amputation des membres inférieurs.

INTRODUCTION

❖ Un déficit immunitaire :

Fibrose interstitielle, pneumonie, septicémie, des altérations des mécanismes de défense primaire, risque élevé d'infections urinaires d'origine bactériennes ou virales et une Colite active. (Tzanakaki et al. 2014)

7 Généralités sur le venin d'abeille :

Les femelles des hyménoptères y compris les abeilles produisent du venin à des fins défensive et protectrice. Le venin produit par les abeilles ouvrières dans les glandes acides caudales est sécrété par le dard, génère une réponse allergique et toxique voir létale, à l'état naturel il se présente comme un liquide incolore, visqueux, ayant une odeur forte semblable au miel avec un goût amer Figure (3).

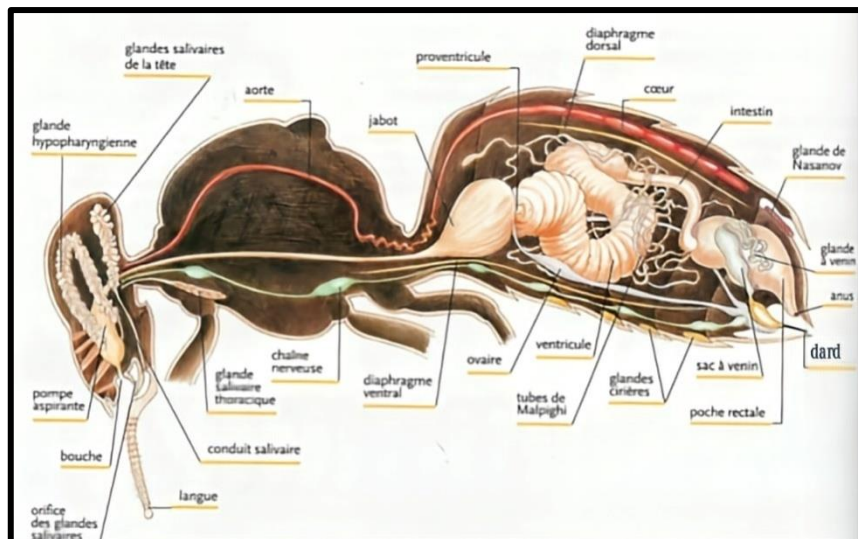


Figure 3: Anatomie interne des abeilles ouvrières

(Snodgrass, R. E.1956).

Le BV est composé de 85% d'eau et 15% de substances solides à faible poids moléculaire, chimiquement le BV est un mélange complexe de peptides et d'enzymes et d'autres composants, spécialement la mélittine et la PLA₂, qui sont les plus présentes dans la composition du BV, les plus toxiques, mais qui peuvent s'avérer d'une efficacité pharmacologique importante avec une activité anti-inflammatoire et antioxydante majeure. (Tareq Al-Ameri *et al.* 2022 ; Carpena *et al.* 2020)

INTRODUCTION

7.1 Enzymes :

7.1.1 La Phospholipase A2 :

C'est une enzyme de nature alcaline elle représente 12 à 15 % du poids sec du BV. Elle est composée de 128 AA et quatre ponts disulfures d'une structure monomérique avec un poids moléculaire de 15-18 kDa, elle possède une activité catalytique et utilise le calcium comme substrat, son effet cytotoxique provient de son pouvoir hydrolytique qui lui confère ses propriétés antitumorale et antivirale en dissociant la liaison acyle sn-2 des phospholipides membranaires, en effet, des travaux effectués sur la maladie de Parkinson ont confirmé un effet anti-inflammatoire, neuroprotecteur et neurorégénérateur de la PLA2 (Wehbe *et al.* 2019).

7.1.2 La Hyaluronidase :

C'est une enzyme qui représente 1,5 à 2 % du poids sec du BV. Elle est composée de 350 AA et ne joue pas un rôle thérapeutique spécifique, son rôle majeur est la dégradation de l'acide hyaluronique des membranes biologiques ; par conséquent elle perfore les membranes et les tissus, notamment le tissu conjonctif local et augmente la perméabilité vasculaire, elle permet ainsi la propagation efficace du BV (Wehbe *et al.* 2019).

7.1.3 La Phosphatase acide :

ou Api m3 : est une enzyme de nature glycoprotéique, elle représente 1-2% du poids sec du BV, elle possède des propriétés hypoallergénique et immuno-thérapeutique en inhibant la sécrétion des IgE spécifiques(Carpena *et al.* 2020).

7.2 Peptides

7.2.1 La Melittine :

Composée de 26 AA avec un poids moléculaire de 2,8465 kDa elle représente 50 à 60 % du poids sec du BV, d'une nature cationique, amphipathique et une configuration linéaire et hélicoïdale avec une terminaison carboxyle hydrophile et une terminaison amine lipophile. C'est la molécule substantielle du BV, la plus étudiée et ayant les activités biologiques les plus notables, notamment une activité antibactérienne, anti-inflammatoire, antisécrétoire, anticancer, anti-arthrite, antivirale, pro-apoptotique, anti-apoptotique, analgésique, anti-fibrotique, antidiabétique, cicatrisante et antifongique.

Seule la région hydrophile carboxyle possède une action lytique, responsable du clivage des membranes biologiques dont les séquences sont chargées négativement, lui

permettant une insertion inclusive dans toutes les cellules biologiques y compris les cellules sanguines, les bactéries, les mycètes et les tumeurs.

La mélittine bloque la réplication virale par induction de l'interféron (I-IFN), la libération des cytokines pro-inflammatoires telles que le IL-1, TNF, IL-6 et IL-17 et la libération de radicaux libres, en tant qu'anticancéreux la mélittine agit de différentes manières soit par l'inhibition des facteurs de nécrose tumorale TNF- α , et de la matrice-métalloprotéinase-9 (MMP-9), soit par l'induction de la mort cellulaire par activation de l'apoptose via les voies de signalisations caspase et l'inhibition de JAK-STAT, en même temps elle agit comme une antiangiogénèse naturelle lors de l'angiogénèse tumorale.

Enfin la PLA2 nécessite la mélittine pour son activité. En revanche la mélittine reste la molécule la plus toxique du BV et responsable avec le MCD de la réaction allergique et la sensation de douleur lors de la pique (Wehbe *et al.* 2019 ; Sig *et al.* 2019).

7.2.2 Le MCD :

Ou peptide 401 : composé de 22 AA avec un poids moléculaire de 2,5872 kDa, il est à l'origine de l'inflammation lors de la pique qui donne lieu à la rougeur et la douleur.

Il provoque la dégranulation des mastocytes accompagnée par la libération d'histamine à faible dose de BV, et à forte dose le blocage de l'histamine, son mode d'action est l'origine de ses propriétés immunologique, anti-inflammatoire, anti-allergique, antifongique et antibactérienne (Sig *et al.* 2019).

7.2.3 L'Apamine :

Elle est composée de 18 AA reliés par deux liaisons disulfures avec un poids moléculaire de 2,1114 kDa. L'apamine constitue la partie neurotoxique du BV capable d'affecter le système nerveux central, car elle traverse efficacement la barrière hémato-encéphalique, inhibe les canaux K⁺ activés par le calcium, réduisant alors la perméabilité membranaire aux K⁺, ce qui entraîne une réduction du potentiel membranaire du muscle lisse couplé par un potentiel d'action neuronal répétitif.

L'apamine supprime la cyclo-oxygénase-2, les cytokines pro-inflammatoires et bloque l'activation du NF- κ B ce qui lui confère un rôle anti-inflammatoire (Sig *et al.* 2019).

7.2.4 La Secapine :

Elle est composée de 25 AA avec un poids moléculaire de 2,8665 kDa. Les travaux de Carpena *et al.*(2020) ont mis en évidence son action neurotoxique antimicrobienne, anti-fibrinolytique et anti-élastolytique.

7.2.5 La Procamine :

Elle est constituée de petits peptides de 5 AA, elle représente 1-2% du poids sec du BV (Carpena *et al.* 2020).

7.2.6 L'Adolapine :

Elle est composée de 103 AA et représente 1 % du poids sec du BV.

L'adolapine bloque la synthèse des prostaglandines et inhibe l'activité de la cyclooxygénase. Elle est aussi capable d'inhiber la lipoxigénase des plaquettes humaines, ce qui lui confère des effets anti-inflammatoire, antirhumatismale, antipyrétique, analgésique, anticoagulante et anti-nociceptif (Carpena *et al.* 2020).

7.2.7 La Tertiapine :

Composée de 21 AA d'un poids moléculaire de 2,460 Da, elle représente 0.1% du poids sec du BV (Carpena *et al.* 2020).

7.2.8 La Minimine :

Elle est composée de 48-52 AA et d'un poids moléculaire de 6 kDa, elle représente 2–3% du poids sec du BV, son activité biologique est encore inconnue (Carpena *et al.* 2020).

7.2.9 L'Apideacine :

Elle est composée de 18 AA, c'est un polymère de proline, sa formule lui confère un rôle antibactérien et antioxydant (Carpena *et al.* 2020).

7.2.10 La Dipeptidyl peptidase IV :

ou Api m5 : a un poids moléculaire de 102 kDa elle dégrade les dipeptides N-terminaux (Carpena *et al.* 2020).

7.2.11 La Vitellogenine :

ou Apim12 est la molécule ayant le poids moléculaire le plus élevé dans le BV 200 kDa, en outre, elle a montré des activités antimicrobienne et antioxydante (Carpena *et al.* 2020).

7.3 Autres composants du venin d'abeille :

Lysophospholipase <1%, Glucosidase 0,6%, Histamine 0.5–2%, Dopamine 0.1–1%, Noradrenaline 0.1–0.5%, acide aminobutyrique 1%.

Macromolécule : Glucides 2–4% et Phospholipides 1–3%.

Composés volatils : Éthers complexes 4–8%.

Minéraux : P, Ca, Mg (Carpena *et al.* 2020).

8 Rappel sur l'acupuncture :

L'acupuncture est un terme qui tire son origine du latin selon lequel «*acus*» veut dire aiguille et «*punctura*» veut dire piqûre, c'est la branche de la médecine alternative qui consiste en l'injection de molécules dans l'organisme, en ciblant des zones spécifiques appelées points d'acupuncture pour des fins pharmaceutiques, thérapeutiques et apaisantes (Zhang *et al.* 2018).

L'acupuncture est une pratique d'origine chinoise qui remonte à la dynastie Han, durant le règne de l'empereur jaune, ses dialogues avec son médecin contribuent dans l'apparition du « Huang Di Nei Jing » ; un document taoïste rédigé en deux parties Su Wen (IIe siècle av. J.-C.) et Ling Shu (Ier siècle av. J.-C.) déploie et développe les principales théories de la médecine traditionnelle chinoise y compris l'acupuncture. Un autre document le Grand Compendium d'Acupuncture et de la moxibustion, apparu pendant la dynastie Ming, présente l'acupuncture moderne avec les 365 points d'acupuncture et de moxibustion (White et Ernst 2004 ; Stux 1987). L'acupuncture objet de notre étude en est une branche.

Dans les pays asiatiques, la route de la soie permit à l'acupuncture de se propager, tandis que dans le reste du monde les commissions diplomatiques et religieuses au XVIIIe permettaient aux occidentaux de connaître l'acupuncture. En 1888 Philipp Terč fut le premier à étudier l'efficacité thérapeutique du BV sur une maladie qui était le rhumatisme et a rédigé son article scientifique « Report about a Peculiar Connection » L'acupuncture moderne débuta donc par le traitement de pathologies rhumatologiques, qui sont des pathologies auto-immunitaires inflammatoires, causant des problèmes et douleurs articulaires allant jusqu'à la perclusion (Zhu *et al.* 2021).

Cependant, contrairement aux autres femelles des insectes de l'ordre des hyménoptères, les abeilles meurent après avoir piqué, posant un risque de biodiversité lors de l'usage thérapeutique du BV directement des abeilles, de ce fait Markovic et Molnar en 1954, mettent en usage un système de collecte de BV électrique, dès lors les recherches scientifiques approfondies sur la composition et les effets thérapeutiques du BV ont apparu (Zhang *et al.* 2018).

9 Rappel sur le stress oxydant :

Le métabolisme mitochondrial lors de la chaîne respiratoire s'achève par la production de l'oxygène, et l'oxygène en présence d'électrons libres se transforme en espèces réactives de l'oxygène (ROS) ; des molécules chimiquement très instables et actives en raison de la présence d'électrons de valence non appariés. A faible concentration ces molécules ont un grand rôle physiologique car elles participent à la protection de l'organisme contre les bactéries, à la régulation des voies de signalisation, au maintien du statut redox et à la synthèse hormonale. Ces ROS seront dégradées par les anti-oxydants (Brieger *et al.* 2012). Néanmoins elles dépasseront le système anti-oxydants lorsqu'elles sont produites à des concentrations élevées et à un rythme permanent. Les ROS s'attaquent ainsi aux biomolécules, causant un dysfonctionnement définitif et évoluent en composants pathogéniques (Liebert et Jones 2006).

10 Les principales espèces réactives de l'oxygène :

Le peroxyde d'hydrogène, l'anion superoxyde et l'oxygène singulet sont des produits radicalaires du métabolisme normal de l'organisme. Ils font partie des réactions d'oxydoréductions fonctionnelles et seront dissipés immédiatement par le système anti-oxydant endogène. Toutefois lors d'un déséquilibre qui surpasse les anti-oxydants plus un déficit nutritionnel qui engendre un manque de vitamines (A-C-E) et les oligoéléments (cuivre- zinc-manganèse-sélénium et les polyphénols) ces radicaux libres dits primaires vont s'attaquer à d'autres molécules et structures et évoluent en molécules plus toxiques pour l'organisme (Brieger *et al.* 2012; Guerra-Araiza *et al.* 2013).

11 Le Système Antioxydant Endogène :

11.1 La SOD :

C'est la principale enzyme antioxydante qui protège l'organisme contre le stress oxydant

L'Homme possède trois isoformes de la SOD :

La SOD1 Cu Zn : cytosolique, la SOD2 Mn : mitochondriale de manganèse, la SOD3 Cu Zn : extracellulaire de cuivre et de zinc (Schreibelt *et al.* 2007).

11.2 La catalase :

Une enzyme antioxydante dont l'activité est assurée par un groupement héminique et le NADPH. Elle catalyse le peroxyde d'hydrogène (Putnam *et al.* 2000).

11.3 La GPX :

Un groupe enzymatique constitué de 4 isoformes, leur activité catalytique est assurée par le sélénium. Elles se différencient principalement par la structure et le milieu d'expression, alors que la GPx1 agit dans la matrice mitochondriale et le cytosol, la GPx3 est active en milieu extracellulaire. Les GPx2 et GPx4 agissent au niveau des organes vitaux (Ighodaro et Akinloye 2018).

11.4 La GST :

La GST est formée de familles d'isoenzymes dont la fonction catalytique consiste à faire baisser le pKa basique 9,0 du pont disulfure lors de la formation du GSH oxydé GS-SG puis de former des liaisons avec les molécules toxiques de nature hydrophobes électrophiles en milieu aqueux qui peuvent être des ROS ou des xénobiotiques à un pKa de 6,5 lorsque le GSH est lié au site actif (Nebert et Vasiliou 2004).

Le stress oxydant active les protéines kinases qui envoient un signal pro-apoptotique aux cellules, ce signal est inhibé par la GST (Tew et Ronai 1999).

11.5 Le GSH :

Le tripeptide glutathion (L-g-glytamyl-L-cysteiny-L-glycine) possède un potentiel antioxydant majeur chez les cellules aérobies animales, il participe dans plusieurs réaction d'oxydoréduction permettant à l'organisme d'éliminer divers substances toxiques en jouant un rôle de substrats des peroxydases et des S-transférases (Njålsson et Norgren 2005).

Le GSH se présente sous deux formes GSH forme réduite et GSSG forme oxydée. Le rapport entre les deux formes est utilisé pour déterminer le statut du stress oxydant et la capacité défensive des cellules face au stress oxydant (Kaplowitz *et al.* 1996).

11.6 L'acide urique :

C'est un métabolite qui possède la capacité de piéger les radicaux superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et hydroxyle (OH), et les oxydants, tels que l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, l'acide hypochloreux (HOCl) et les aldéhydes. Il protège la membrane cellulaire de l'oxydation lipidique (Sautin et Johnson 2008).

12 Les cibles des ROS :

12.1 Acide desoxyribonucleique (ADN) :

Les altérations provoquées par les ROS à l'ADN conduisent à des dommages au niveau des bases nucléiques, des ruptures simples ou double brin, des liaisons intra brins et inter brins et dénaturation des bases pyrimidiques, puriques (Piette 1991).

12.2 Les lipides :

La membrane cellulaire est largement constituée d'acides gras polyinsaturés qui assurent la fluidité et la perméabilité aux cellules. Néanmoins ces structures sont les plus vulnérables aux attaques radicalaires comme OH ou oxoferryl. Les agressions des ROS provoquent la peroxydation des acides gras polyinsaturés qui une fois dénaturés, font perdre à la cellule son intégrité. De plus, les ROS vont réagir avec l'oxygène libre de la chaîne lipidique pour créer le radical pyroxyde (Bayir 2005).

En plus du système antioxydant endogène comme la GPx, la GST et le GSH ; le tocophérol (vitamine E) et l'ubiquinol sont des sources antioxydantes exogènes qui peuvent agir comme piègeurs de radicaux libres et protéger les lipides membranaires (Betteridge 2000).

12.3 LES PROTEINES :

Les ROS endommagent les protéines selon différentes lignes d'action. Les ROS oxydent les groupements thiols des protéines, ils carbonylent les protéines et ils réagissent avec les acides aminés soufrés de la chaîne peptidique et forment les radicaux thiyles et sulfoxydes et les ponts disulfures (Helmut Sies, Carsten Berndt 2017). Ces altérations provoquent une perturbation de l'activité enzymatique, des voies de signalisation intracellulaire et des facteurs de transcription (Carney *et al.* 1991).

12.4 Action antioxydante du venin d'abeille :

L'inflammation est un processus d'autodéfense corporel, qui génère les ROS afin de neutraliser les agents pathogènes, mais dès que l'agression survient à un rythme permanent, l'inflammation devient un processus de pathogénèse ; des pathologies chroniques surviennent telles que la polyarthrite rhumatoïde, le diabète, l'asthme, la sclérose latérale, le parkinson et l'acné (Wehbe *et al.* 2019 ; Pasquier 1995), or l'inflammation chronique est propice à l'installation du stress oxydant continu. Un tel état est considéré comme agresseur pour les cellules de l'organisme qui épuise le système anti-oxydant endogène (Pasquier 1995).

Le BV et spécialement la mélittine agit en tant qu'agent anti oxydant d'une manière directe et indirecte, la mélittine (par différents mécanismes) possède une action anti-

INTRODUCTION

inflammatoire soit en entrant en compétition avec les récepteurs de type Toll qui médient l'expression génétique des NF- κ B et MAPK des familles de protéines, précurseurs inflammatoires, en bloquant l'expression de ces derniers (Carpena *et al.* 2020), soit en agissant sur les cytokines inflammatoires, l'interleukine-6 (IL-6), l'IL-8 et le facteur de nécrose tumorale (TNF- α et l'interféron (IFN-)). A l'heure actuelle seul le mode d'action biologique de la mélittine et certains composants du BV est connu, tandis que le mécanisme d'action exact expliqué par des réactions chimiques et biochimique reste obscur (Wehbe *et al.* 2019).

Objectif du travail

L'IRC est connue comme une altération de la structure et de la fonction rénale qui aboutit à l'accumulation des métabolites azotés. Le processus par lequel les lésions rénales se développent reste toujours méconnu, mais on soupçonne l'implication d'un état inflammatoire et oxydatif. Les complications de cette pathologie, comprennent une nécrose tubulaire, un épaississement de la membrane basale glomérulaire et des lésions de l'interstitium. L'IRC est qualifiée comme une maladie incurable engendrant des déficiences hydroélectrolytiques et endocriniennes ainsi que d'autres pathologies chroniques. Pour stopper sa progression vers l'IRT les traitements de suppléance rénale sont préconisés ; toutefois ils sont évalués comme dispendieux et toxiques pour l'organisme, de surcroit ils offrent une survie moyenne de 28,3 mois seulement.

Notre travail vise à évaluer l'effet thérapeutique du venin d'abeille sur l'insuffisance rénale chronique (IRC) chez les souris. Pour cela nous avons procédé à :

- Analyser les effets biochimiques et histopathologiques du venin d'abeille sur les reins de souris atteintes d'IRC afin d'identifier d'éventuelles améliorations de la fonction rénale.
- Évaluer les mécanismes d'action du venin d'abeille en étudiant ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes dans le cadre de l'IRC.
- Déterminer la toxicité et la tolérance du venin d'abeille chez les souris traitées, en identifiant les doses optimales pour un effet bénéfique sans effets secondaires significatifs.
- Explorer le potentiel du venin d'abeille comme traitement complémentaire à la prise en charge conventionnelle de l'IRC, en vue d'éventuelles applications cliniques futures.

En combinant des approches expérimentales et analytiques, cette recherche ambitionne d'apporter des données nouvelles sur l'usage du venin d'abeille dans la néphroprotection et d'ouvrir des perspectives thérapeutiques innovantes pour le traitement de l'insuffisance rénale chronique.

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

1 Matériel biologique :

Les souris « Swiss » blanches de sexe masculin de la souche balb/c de poids d'environ 30 g ont servi de modèle biologique, elles proviennent de l'institut Pasteur d'Alger.

2 Matériel chimique :

2.1 L'adénine :

Afin d'induire l'IRC nous avons eu recours à l'adénine une des purines dont le catabolisme final donne l'acide urique (figure 4). L'adénine est acquise du laboratoire N « EURL BIOSPHERE LAB » ADENINE référence : 504450010 cdt 10 G.

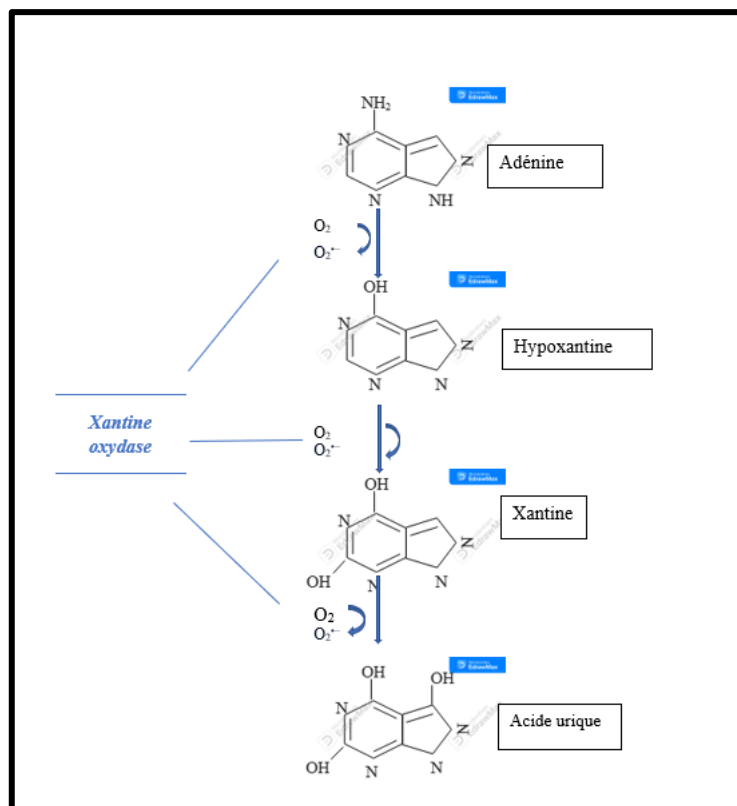


Figure 4: Mécanisme catalytique de l'adénine.

2.2 Le venin d'abeille :

Le BV utilisé provient d'abeilles de l'Atlas tellien de l'espèce *apis mellifera intermissa* provenant de la start-up d'apiculture « NehlaTech » (wilaya de M'sila) l'extraction est effectuée par stimulus électrique selon une méthode rapportée par Azevedo-Marques *et al.* (1992) après lyophilisation, le BV est récupéré sous forme de poudre blanchâtre.

3 Conditions d'élevage :

Les souris « Swiss » sont placées au niveau de l'animalerie, dans une chambre aérée avec une température de 25°C et un taux d'humidité de 50-60% et des conditions de lumière et d'obscurité conformes à leur rythme circadien de base. Au total 148 souris sont exploitées pour l'expérience, dont 40 sont destinées à l'étude de l'effet du BV sur l'IRC divisées en quatre groupes expérimentaux et le reste est utilisé pour la détermination de la DL₅₀, les souris ont libre accès à l'eau (eau du robinet) et à la nourriture (un mélange de céréales : maïs, blé, orge, sels minéraux et oligoéléments).

Le conditionnement et le traitement des souris est conforme aux normes dictées par le comité d'éthique de l'université d'Annaba.

4 Induction de l'insuffisance rénale chronique :

L'adénine est dissoute dans une solution saline (NaCl 0,9%) chauffée dans un bain Marie à 60°C pendant 10 min, elle est administrée aux souris par voie intrapéritonéale.

Les souris des groupes adénine et adénine+venin sont traitées par la solution d'adénine quotidiennement durant 28 jours à une dose de 50mg/kg (Al Za'abi *et al.* 2015).

5 Traitement de l'insuffisance rénale chronique :

Le BV est analysé par la méthode SDS-PAGE avant de procéder au traitement de l'IRC, le traitement de l'IRC quant à lui est effectué en deux étapes, dont la première est consacrée à l'estimation de la dose thérapeutique du BV par le test de toxicité aiguë où 56 souris réparties en 7 groupes dont un groupe témoin reçoivent 200 µl de solution saline contenant du BV à des doses de 2,5 ; 4,5 ; 6,5 ; 10, 14, 17 et 21 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale

Les souris traitées par le BV reçoivent une dose de 0,76 mg/kg calculée à partir de la DL₅₀. Les témoins reçoivent 200 µl de solution saline.

Le taux de mortalité est enregistré après 24 h de traitement.

Les souris des groupes adénine+venin et venin reçoivent des injections intrapéritonéales dans une solution saline (NaCl 0,9%) durant 7 jours après l'induction de l'IRC.

➤ La méthode SDS-PAGE :

Le SDS-PAGE est une méthode d'analyse qualitative et quantitative des protéines et des conjugués contenant des protéines, elle s'appuie sur Le PEG-maléimide (MAL) pour pégyler

MATERIEL ET METHODES

de manière spécifique les protéines thérapeutiques en faisant réagir un résidu cystéine libre pour créer une structure thiosuccinimide.

La combinaison « Protéine C-S=PEG-MAL » est stable et homogène (Zhang *et al.* 2015).

6 Sacrifice et prélèvement sanguin :

Les souris du groupe adénine sont sacrifiées 24h après la fin du traitement, c'est-à-dire le 30^{ème} jour où elles ont fini de recevoir leur traitement à l'adénine et ont été privées de la nourriture et de l'eau, tandis que les souris des groupes témoin, adénine+venin et venin, sont sacrifiées 24h après la fin du traitement qui a duré 7 jours, c'est-à-dire le 37^{ème} jour. Le sang de tous les groupes est collecté dans des tubes héparinés et passé directement à centrifugation à 5000 tours/min pendant 10 min à 4°C, ensuite le sérum de chaque souris est récupéré dans un tube Eppendorf pour effectuer le dosage des paramètres biochimiques.

7 Prélèvement des organes :

Après la mise à mort des souris les reins sont prélevés, rincés abondamment par une solution saline (NaCl à 0,9%) et pesés. Un rein est conservé dans une solution de formaldéhyde 10 % et l'autre est conservé à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.

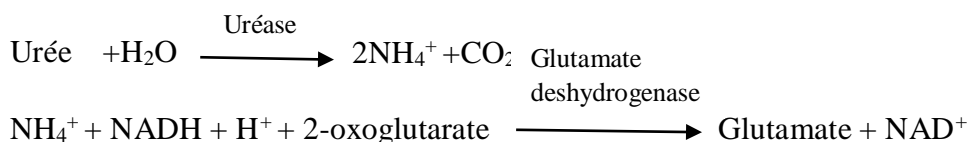
8 Dosage des paramètres biochimiques (selon la fiche technique de Biosystems) :

8.1 Dosage de la bilirubine totale :

Faire réagir la bilirubine totale contenue dans l'échantillon avec 3,5-dichlorophényldiazonium, pour obtenir un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie (Biosystems BA 200) à 535nm (Thaler *et al.* 2008).

8.2 Dosage de l'urée :

L'urée de l'échantillon consomme le NADH du réactif qui est quantifiable par spectrophotométrie (Biosystems BA 200) à 340 nm (Talke et Schub 1965) selon la réaction suivante :



8.3 Dosage des protéines totales :

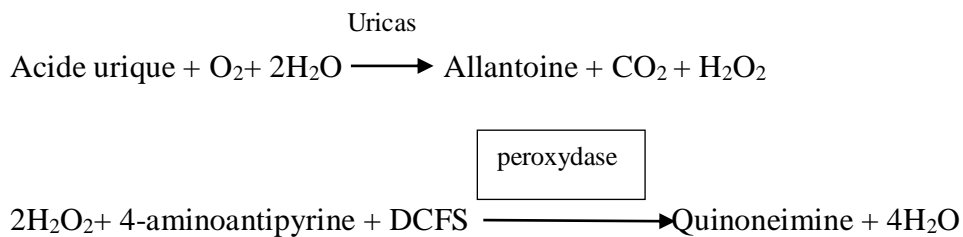
Dans un pH alcalin la protéine réagit avec le Cu²⁺ le complexe obtenu est quantifiable par spectrophotométrie (Biosystems BA 200) à 540nm (Gornall, Bardawill et David 1942).

8.4 Dosage d'albumine :

L'albumine réagit avec le vert de bromocresol dans un pH acide pour donner un complexe quantifiable par le spectrophotomètre (Biosystems BA 200) à 546 nm (Biggs et Pathology 1965)

8.5 Dosage d'acide urique :

A l'issue de la réaction ci-dessous l'acide urique donne un complexe coloré quantifiable par spectrophotomètre (Biosystems BA 200) à 505 nm (Sanders *et al.* 1980) :



8.6 Dosage de la créatinine (méthode de Jaffé) :

La créatinine de l'échantillon réagit avec le picrate à pH alcalin pour donner un complexe coloré selon la méthode de Jaffé modifié par Rartels et Böhmer (1971) qui consiste à mesurer la vitesse de la formation du complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie (Biosystems BA 200) à 492 nm.

9 Dosage des paramètres du stress oxydatif :

Le stress oxydatif est évalué à partir du tissu rénal des souris où un rein de chaque souris des différents lots est broyé dans un tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4) ensuite centrifugé à 15000 tours/min pendant 10 min à 4°C, le surnageant est récupéré dans des tubes Eppendorf selon les besoins de chaque paramètre et conservé à -20°C.

9.1 Dosage du GSH (selon la méthode de Weckbecker et Cory (1988)) :

Récupérer 400µl du surnageant, ajouter 800µl Tris/EDTA et 0,02 ml DNTB.

Laisser reposer 5min (à température ambiante).

Lire au spectrophotomètre à 412nm (JENWAY 7305) (cuves en plastique).

Le taux de GSH est déterminé selon la formule ci-dessous :

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \text{mg de protéine}}$$

DO : la densité optique.

1 : le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation.

1,525 : le volume total des solutions utilisé dans le dosage.

MATERIEL ET METHODES

13,1 : coefficient d'absorbance du groupement _SH à 412nm.

0,8 : le volume en ml du surnageant utilisé.

0,5 : le volume en ml du surnageant utilisé.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

9.2 Dosage du MDA (selon la méthode de Draper et Hadley (1990)) :

Récupérer 250µl du surnageant, ajouter 1,25ml de TCA (100g/l).

Chauffer au bain marie à 100°C pendant 15min.

Refroidir dans un bain de glace.

Centrifuger à 10000 tours/min pendant 10 min.

Récupérer 1ml du surnageant+500µl de TBA (6,7 g/l).

Ajouter 0,75 de Butanol.

Agiter au vortex.

Centrifuger 10000/min pendant 10min, récupérer 500µl

Lire au spectrophotomètre à 532 nm (JENWAY 7305).

Le taux de MDA est déterminé selon la formule ci-dessous :

$$MDA \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mg}} \text{ de protéine} \right) = \frac{\Delta\text{DO} \times \text{Vt}}{156 \times \text{Vs}} \text{ mg de protéine}$$

ΔDO : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

156 : coefficient d'extinction molaire du TBA.

Vt : volume total dans la cuve : 1ml (volume total du butanol récupéré renfermant les complexes TBA/MDA).

Vs : volume du surnageant utilisé dans le dosage :0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

9.3 Dosage de l'activité GST (Méthode de Habig *et al.* (1974)) :

Récupérer 100µl, ajouter 600µl CDNB.

Lire à 340 nm (JENWAY 7305) chaque 1 min pendant 5min

L'activité GST est déterminée selon la formule ci-dessous :

$$\text{GST} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \text{ de protéine} \right) = \frac{\Delta\text{DO} \times \text{V}}{9,6 \mu\text{l} \times \text{d} \times \text{v} \times \text{mg de protéine}}$$

ΔDO : la densité optique.

V : volume totale dans la cuve.

9,6 µl⁻¹ : coefficient d'extinction.

d : épaisseur de la cuve.

v : volume du surnagent.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

9.4 Dosage de l'activité CAT (Méthode de Clairborne 1985) :

Dans une cuve de quartz récupérer 50µl d'homogénat, ajouter 750µl de tampon phosphate+ 200µl H₂O₂ à température ambiante.

La lecture se fait à 0, 15, 30, 45, 60 secondes à une longueur d'onde 240 nm (JENWAY 7305).

L'activité CAT est déterminée selon la formule ci-dessous :

$$CAT \left(\frac{\frac{\mu mol}{min}}{mg \text{ de protéine}} \right) = \frac{\Delta DO}{0,04 \times mg \text{ de protéine}} \text{ (Prokić et al. 2017)}$$

ΔDO : la densité optique.

0,04 : le coefficient d'extinction de l'eau oxygénée.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

9.5 Dosage des protéines au niveau du tissu rénal :

Les concentrations en protéines du tissu rénal sont déterminées selon la méthode de Bradford ;(1976), la méthode consiste à faire réagir des groupements amines (-NH₂) des protéines avec une solution de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleu.

La lecture est effectuée à 595 nm (JENWAY 7305). La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme d'étalon d'albumine sérique bovin (1mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (Allahyari *et al.* 2021).

10 Etude histologique :

Les coupes transversales effectuées sur les reins fixés au formaldéhyde, sont déshydratées par l'éthanol 70% (5 bains), l'éthanol 95% (10 bains), l'éthanol 100% (1 minute) +l'éthanol 100% (1 minute) et nettoyées dans du xylène/toluène (2 minutes + 2 minutes), ensuite enveloppées dans de la paraffine pour former des blocs tissulaires, les blocs sont placés sur des lames dans des supports de coloration et vont être déparaffinés et réhydratés par l'éthanol à 100% (2 minutes), puis à l'éthanol 100% (2 minutes), à Éthanol 95% (2 minutes), à Éthanol 70% (2 minutes) enfin rincer 5 minutes à l'eau. Enfin on arrive à la coloration; dans l'hématoxyline de Harris (4 minutes), rinçage à l'eau (5 minutes), décoloration à l'HCL (HCL 1% dans éthanol 95%) 5 bains, rinçage à l'eau pendant 8 minutes puis rinçage des tissus à l'ammoniaque (2 minutes) puis rinçage à l'eau (5 minutes) puis imprégnation dans Éosine (2 minutes)(Cardiff *et al.* 2014).

11 Activité biologique du venin d'abeille :

11.1 Activité anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* du venin d'abeille est évaluée en utilisant l'essai de dénaturation de l'albumine de sérum bovin (BSA) selon la méthode décrite par Kandikattu *et al.* (2013). Les échantillons, contenant différentes concentrations de Diclofénac, sont incubés à 37 °C pendant 15 minutes, puis transférés dans un bain-marie à 72 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement, la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 7305) ; Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé en comparant l'absorbance du contrôle avec celle de la solution testée et du blanc.

11.2 L'activité antiradicalaire (test de DPPH) :

Principe :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode couramment employée dans l'évaluation de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se distingue par sa capacité à générer des radicaux libres stables. Cette stabilité est attribuée à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• entraîne une coloration violet foncé de la solution, Lorsqu'un agent antioxydant réduit les radicaux DPPH• où cède des électrons aux radicaux DPPH•, cela se manifeste par une diminution de l'intensité de la coloration de la solution, En conséquence, la décoloration observée est souvent utilisée comme indicateur de l'efficacité de l'agent antioxydant dans la neutralisation des radicaux libres (Intan 2004).

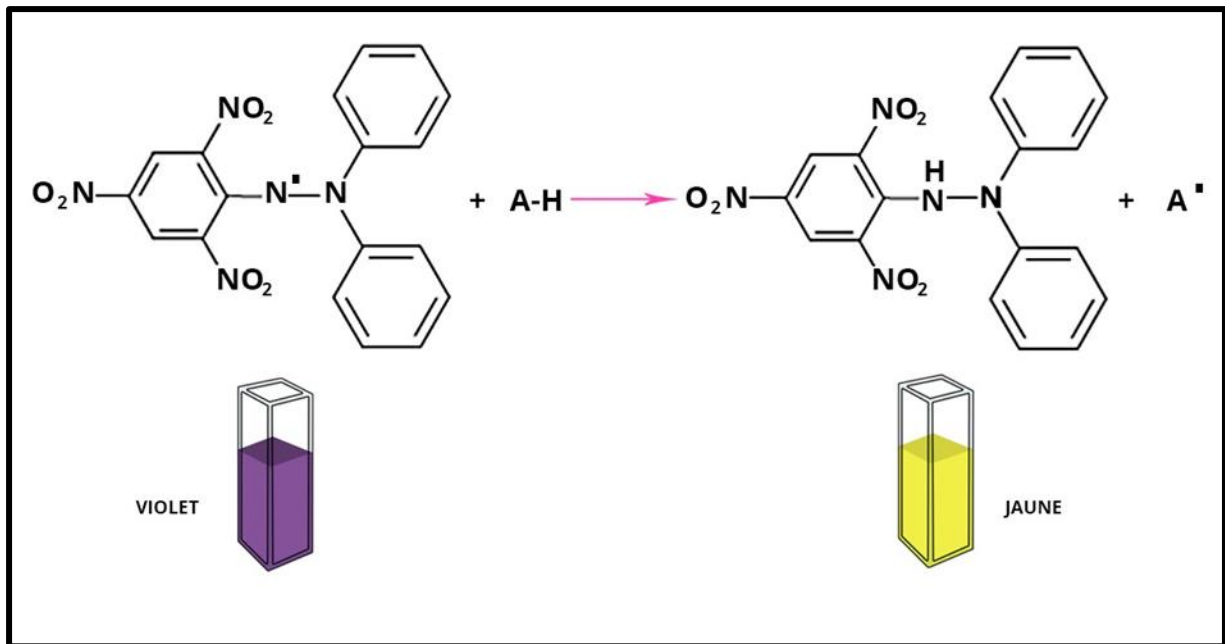


Figure 5: Principe colorimétrique du test DPPH

Protocole expérimental :

Dans notre recherche, nous avons évalué ce test en suivant le protocole de Jang *et al.* (2008):

- Dissoudre 118,3 g de DPPH dans 100 ml de méthanol pour obtenir une concentration de 3 mM.
- Préparez une série des concentrations dans l'eau distillée (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62 ug/ml) pour le venin d'abeille, dans les mêmes conditions opératoires la même série pour l'acide ascorbique comme standard.

Dans des tubes à essai introduire un volume de 100 ul de l'échantillon avec un volume de 1900 ul de DPPH.

Contrôle positif : représenté par la solution d'acide ascorbique un antioxydant standard est de couleur jaune.

Contrôle négative : de couleur violette est composé de 1900 ul de la solution méthanolique de DPPH et de 100 ul d'eau distillé (figure 5).

Le blanc : méthanol

- Placé les tubes à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min.
- Après incubation, mesurer l'absorbance de chaque mélange réactionnel et le blanc (méthanol) à une longueur 517 nm.

Les résultats qui permettent d'évaluer l'activité antiradicalaire sont exprimés en pourcentages d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\% PI = (densité\ optique\ de\ blanc - Densité\ optique\ l'échantillon / Densité\ optique\ de\ blanc) \times 100.$$

La valeur de CI50 est calculée pour déterminer la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux.

Plus la valeur de la CI50 est basse, plus l'activité antioxydante des échantillons est élevée.

Les CI50 sont calculée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés (Jadid *et al.* 2017).

12 L'analyse statistique :

L'analyse statistique des résultats exprimés par la moyenne avec plus ou moins l'écart type. (M±SEM) (*Standard Error of the Mean*) est réalisée par le logiciel Prisme GraphPad 10.3.0 version 2024 appliquant le test One-Way ANOVA suivi par le test *t-student*.

Les différences exprimées :

En # pour comparer entre les groupes adénine avec Adénine+venin d'abeille.

En * pour comparer entre les groupes adénine et Adénine+venin d'abeille avec les groupes témoin.

Où :

/* Significatives lorsque ($p < 0.05$)

/* Hautement significatives lorsque ($p < 0.01$)

/* Très hautement significatives lorsque ($p < 0.001$)

Avec la valeur p : seuil de signification.

Chapitre III :RESULTATS

1 Caractéristiques du venin d'abeille :

1.1 Analyse par électrophorèse SDS-PAGE :

La figure (6) illustre les résultats de l'électrophorèse par SDS-PAGE. Des échantillons du BV de l'espèce *Apis mellifera intermissa* sont analysés par la technique SDS-PAGE. Les composants peptidiques vont migrer en fonction de leur poids moléculaire.

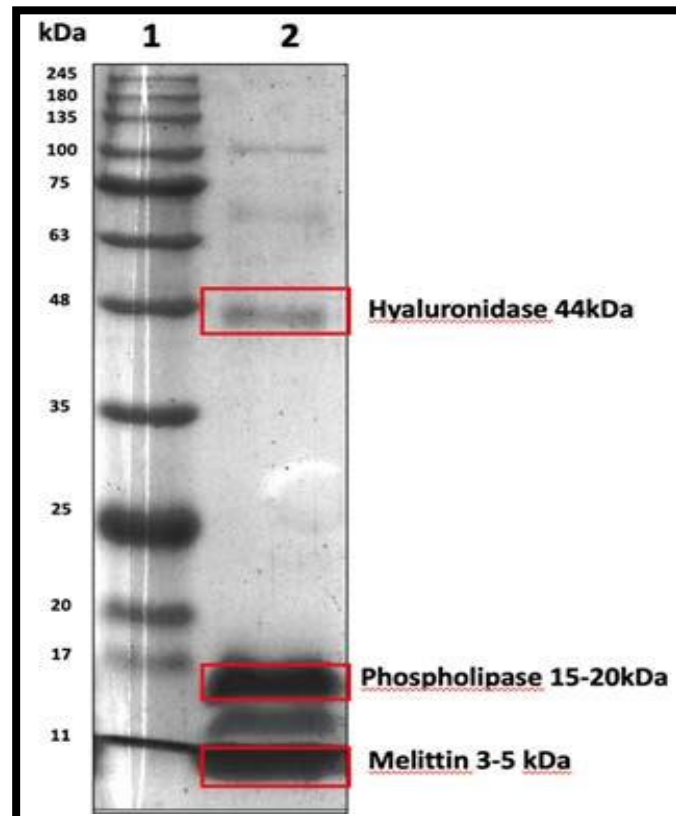


Figure 6 : Electrophorèse SDS-PAGE du BV.

Pour cela 3 colonnes sont utilisées :

La colonne 1 : Poids moléculaire référentiel des composants du BV.

La colonne 2 : 3mg/ml.

La colonne 3 : 5mg/ml.

✚ Chaque poids moléculaire correspond à un composant peptidique distinct :

LA DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV : 97kDa

Acide phosphatase : 66kDa

Hyaluronidase : 44kDa

RESULTATS

Apamine : 17kDa

Phospholipase A2 :15kDa

Adolapine :10kDa

Mellitine :3,6kDa

1.2 Détermination de la DL₅₀ du venin d'abeille :

La DL₅₀ est réalisée selon la méthode de Finney (1952), qui s'appuie sur le test du « Probit » afin de déterminer la DL₅₀ et la dose thérapeutique du venin d'abeille La figure (7).

L'axe des X représente le logarithme décimal des doses.

L'axe des Y représente le pourcentage de mortalité selon « le Probit ».

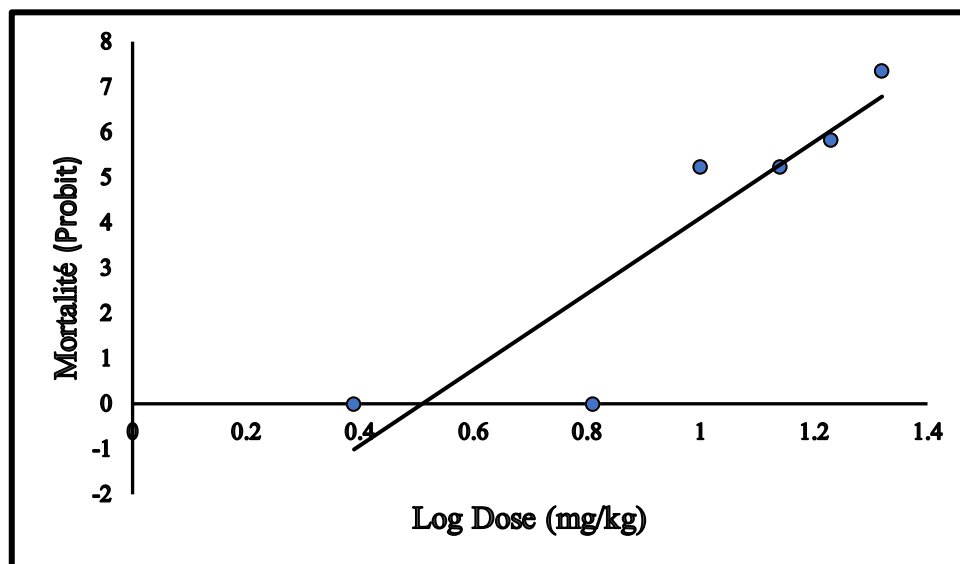


Figure 7 : Détermination de la DL₅₀ du venin d'abeille.

Nous constatons que la valeur de la DL₅₀ est située aux alentours de 11,48 mg/kg selon le tableau du probit.

1.3 Pouvoir anti-radicalaire :

La figure (8) illustre le pouvoir anti-radicalaire du BV par rapport à l'acide ascorbique. Nous constatons une similitude dans l'évolution des graphes de l'acide ascorbique et le BV, dont le pourcentage d'inhibition augmente dans une première phase pour atteindre environ 1% puis s'ensuit une phase stationnaire (plateau) pour le reste des concentrations testées.

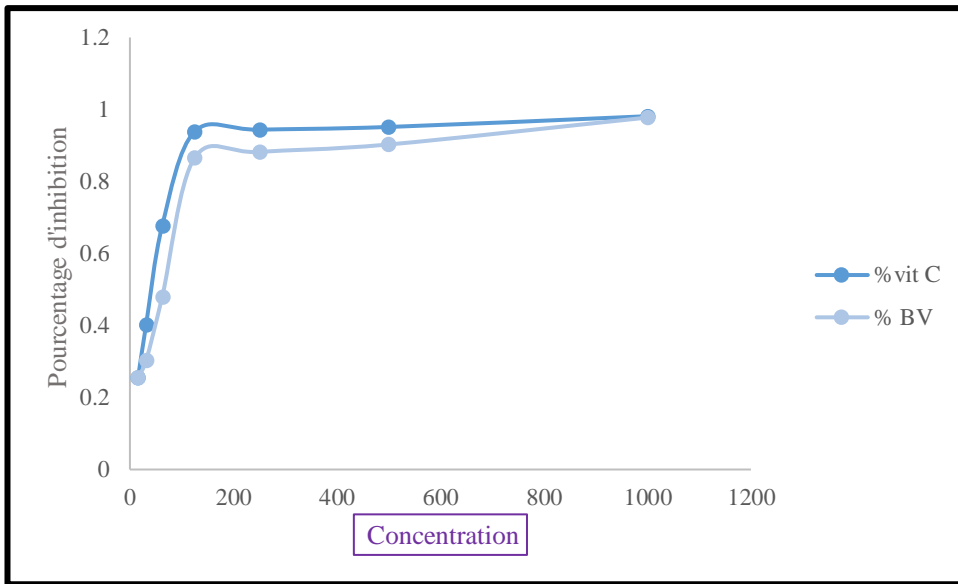


Figure 8 : Pourcentage d'inhibition du BV et de l'acide ascorbique.

1.4 Activité anti-inflammatoire :

La figure (9) représente le potentiel anti-inflammatoire des concentrations croissantes du BV et l'extrait du Diclofénac.

Nous constatons que l'activité anti-inflammatoire du BV est supérieure à celle du Diclofénac est ce pour toutes les concentrations testées. Ainsi pour la plus faible concentration 12,5 l'activité du BV est de 73% alors que pour le Diclofénac elle est de 70 %. Il en est ainsi pour la plus forte concentration 200 des molécules testées, où l'activité antiinflammatoire du BV est de 87% alors qu'elle n'ait que de 77% pour le Diclofénac.

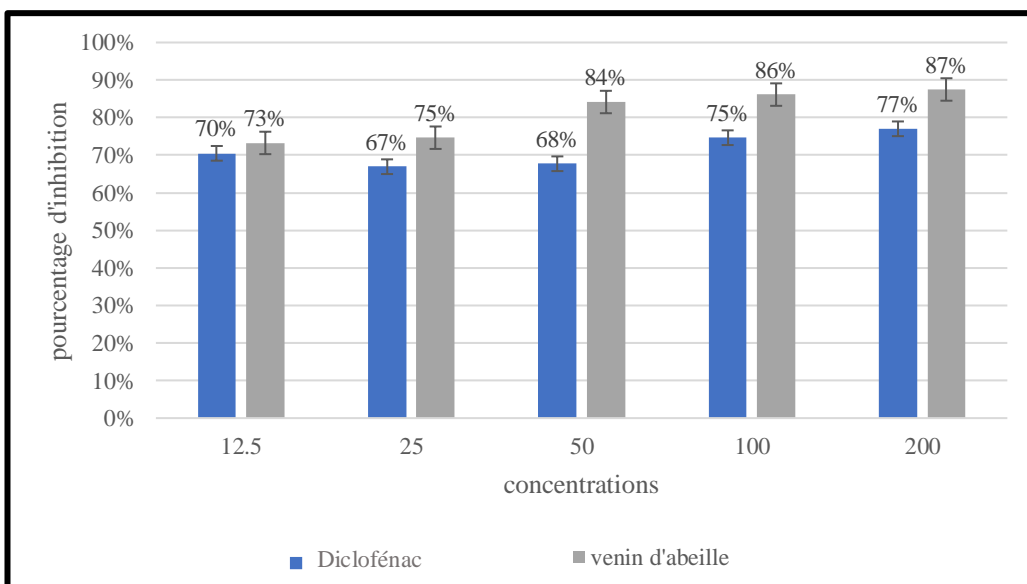


Figure 9 : Activité anti-inflammatoire des concentrations croissantes du venin d'abeille et du Diclofénac.

RESULTATS

2 Suivi des paramètres physiologiques :

2.1 Détermination du poids relatif des reins des souris :

Le tableau (2) représente l'évolution du poids des reins des souris témoins et traitées.

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p < 0,05$) du poids relatif des reins après induction de l'IRC par rapport aux témoins et une diminution significative ($p < 0,05$) du poids relatif des reins après traitement au venin d'abeille par rapport aux traités à l'Adénine.

Nous constatons que le poids absolu des reins tend à augmenter en présence d'Adénine (0,49g chez les témoins contre 0,68g chez le groupe Adénine), en revanche chez les traitées par le BV le poids des reins tend à diminuer après traitement avec le BV, le poids des reins est quasi équivalent à celui des témoins (0,42g).

Nous constatons également que le poids relatif des reins augmente en présence d'Adénine par rapport aux témoins (0,013g chez les témoins contre 0,022g chez le groupe adénine), en revanche chez le groupe traité par le BV le poids relatif des reins diminue à 0,016g.

Tableau 2 : Variation du poids relatif des reins des groupes expérimentaux.

Groupes expérimentaux	Témoin	Adénine	Venin d'abeille	Adénine+venin d'abeille
Poids absolu des reins	0,49 ±0,08	0,68 ±0,15**	0,47±0,1	0,42±0,2**###
Poids relatif des reins	0,013 ±0,02	0,022±0,05 *	0,012±0,02	0,016±0,04ns#

2.2 Suivi de la consommation alimentaire et la consommation d'eau des souris durant le traitement :

Les tableaux (3&4) rapportent les variations de la consommation alimentaire et de la consommation d'eau des souris des groupes expérimentaux. Nous remarquons une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la consommation alimentaire et d'eau après induction de l'IRC par rapport aux témoins et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) après traitement au venin d'abeille par rapport aux traités à l'Adénine.

Nous constatons qu'après 28 jours de traitement à l'Adénine la consommation d'eau diminue chez le groupe Adénine à 98 ml contre 185 ml chez les témoins, en revanche après le traitement par le BV la consommation d'eau augmente à 158 ml.

RESULTATS

Tableau 2: Suivi de la consommation d'eau des souris.

Groupes expérimentaux	Témoin	Adénine	Venin d'abeille	Adénine + venin d'abeille
Consommation en eau J-1	175 ± 18,05	179 ±	/	174 ± 16,22
Consommation en eau J-28	185 ± 17,50	98 ± 1,99 ***	182 ± 3,24	107 ± 5,94 *** ns
Consommation en eau J-35	179 ± 19,78	/	183 ± 0,24	158 ± 14,33 **

Nous constatons qu'après 28 jours de traitement à l'Adénine la consommation alimentaire diminue chez le groupe Adénine à 33g contre 80g chez les témoins, en revanche après le traitement par le BV la consommation alimentaire augmente à 68g.

Tableau 3: Suivi de la consommation alimentaire des souris.

Groupes expérimentaux	Témoin	Adénine	Venin d'abeille	Adénine+ venin d'abeille
Consommation alimentaire J-1	70± 5,35	75± 2,96	/	78± 2,78
Consommation alimentaire J-28	80± 1,38	33± 1,17 ***	74± 5,92	35± 1,28 *** ns
Consommation alimentaire J-35	79± 4,06	/	82± 2,15	68± 8,5 **

2.3 Evolution du poids corporel des souris :

La figure (10) représente les variations du poids corporel des souris témoins et traitées.

Les résultats mettent en évidence une diminution hautement significative ($p < 0,01$) du poids corporel après induction de l'IRC par rapport aux témoins, en revanche après traitement au BV le poids corporel augmente de manière hautement significative ($p < 0,01$) par rapport aux traités à l'Adénine.

Nous constatons qu'au 28ème jour de traitement à l'Adénine le poids corporel du groupe Adénine est de 13 g contre 35 g chez les témoins, en revanche après le traitement par le BV le poids corporel augmente à 27g.

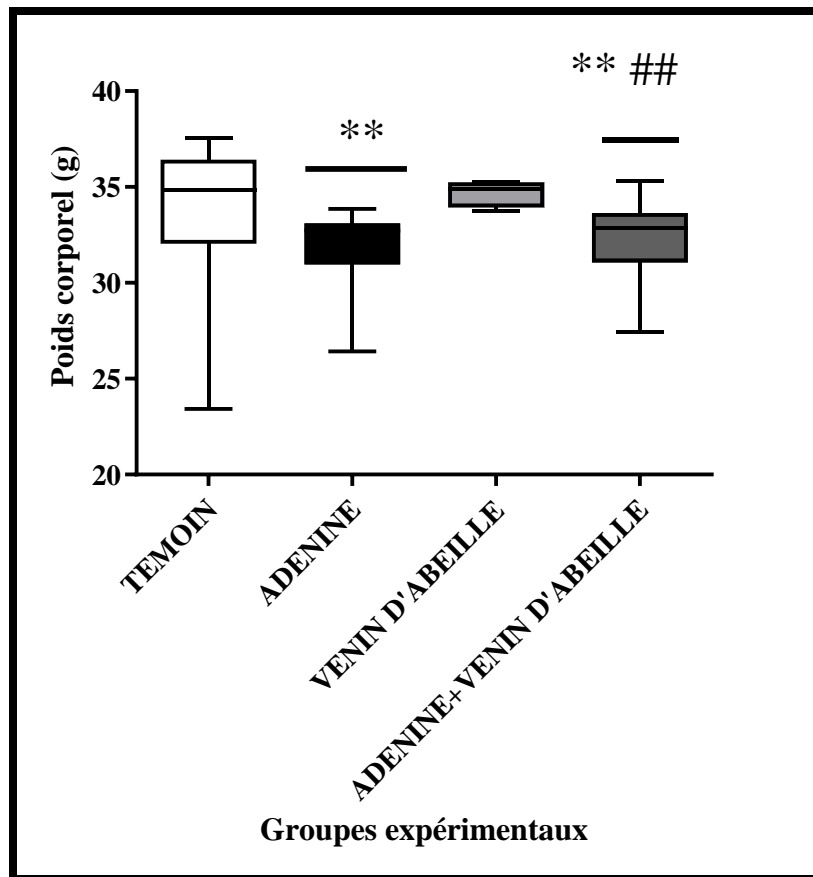


Figure 10 : Variation du poids corporel des souris des différents groupes expérimentaux.

3 Variation des métabolites :

3.1 Créatinine sérique : La figure (11) représente l'évolution du taux de créatinine. Nous constatons une augmentation très significative ($p < 0,01$) du taux sérique de créatinine pour le groupe Adénine par rapport au groupe témoin. Après traitement par le BV, le taux de créatinine diminue de manière très significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe adénine.

Nous constatons que la créatinine sérique augmente au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 6mg/l alors que pour le groupe témoin elle n'est que de 3,3 mg/l, et après traitement par le BV le taux de créatinine sérique augmente, il est de l'ordre de 4,2mg/l.

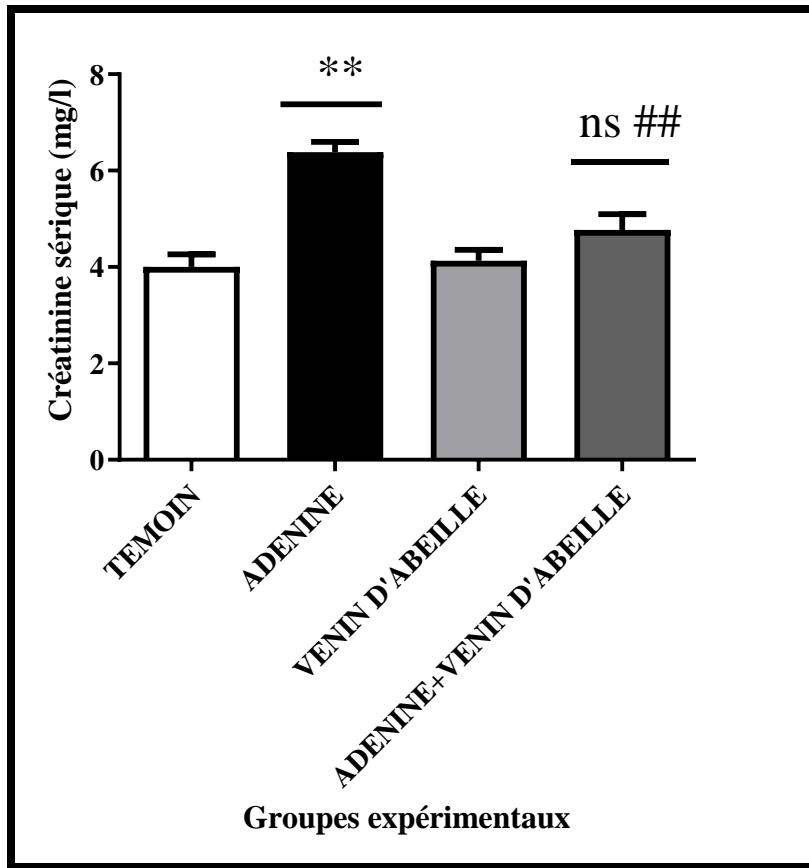


Figure 11 : Taux de créatinine sérique chez les souris témoins et traitées

3.2 Clairance de la Créatinine : La figure (12) représente les valeurs de la clairance de la Créatinine. Nous remarquons une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la clairance de la Créatinine pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe témoin, et après traitement par le BV la clairance augmente de manière très significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe Adénine.

Nous constatons que la clairance de la Créatinine diminue au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 0,2 ml/min alors que pour le groupe témoin elle est de 0,42ml/min, après traitement par le BV la clairance de la Créatinine augmente jusqu'à 0,3 ml/min.

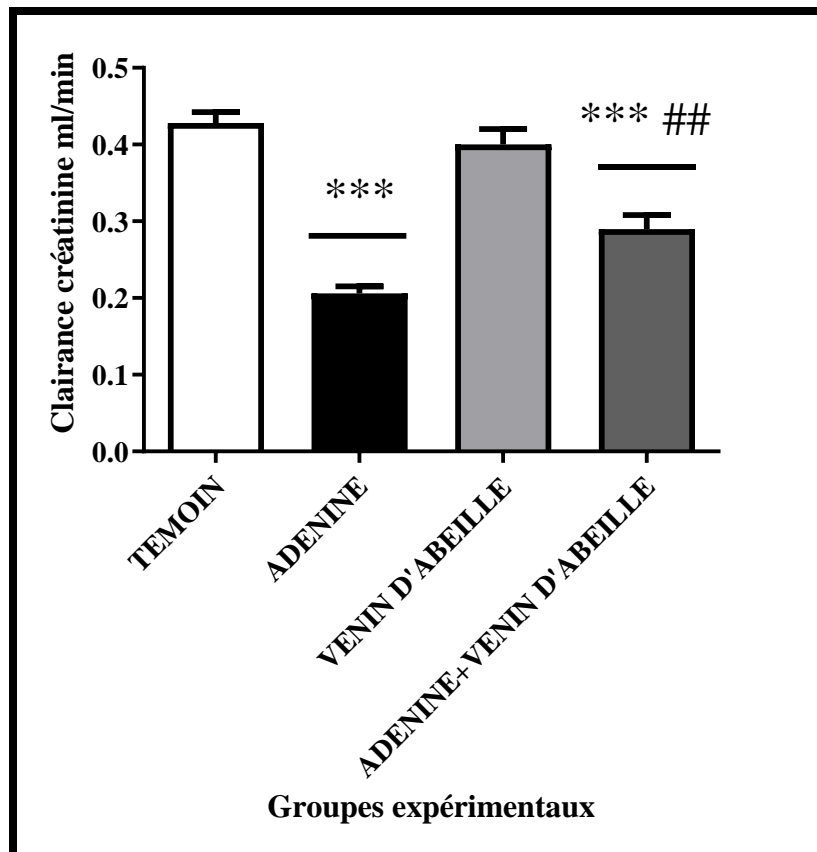


Figure 12 : Clairance de la Créatinine chez les souris témoins et traitées

3.3 Urée sérique : La figure (13) met en évidence l'évolution de l'urée sérique chez les souris témoins et traitées. Nous constatons une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$), de l'urée sérique pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe témoin, après traitement par le BV le taux d'urée sérique diminue de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe adénine.

Ainsi, le taux d'urée sérique augmente au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 0,8g/l alors que pour le groupe témoin il n'est que de 0,27g/l. Après traitement par le BV le taux d'urée sérique est de 0,4g/l.

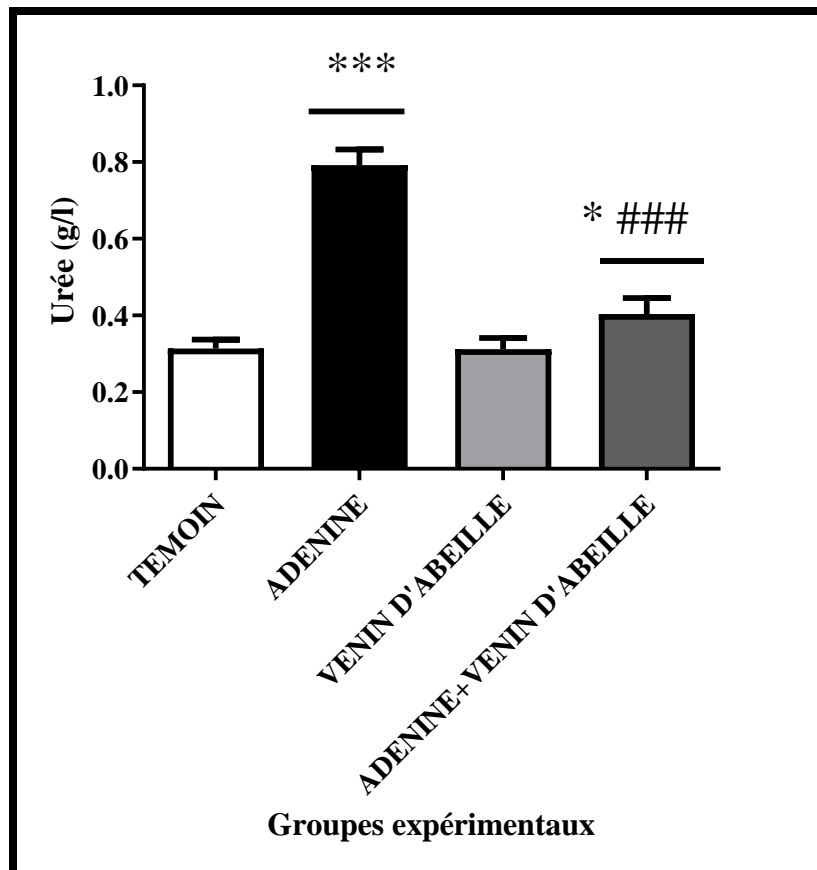


Figure 13 : Le taux de l'urée sérique chez les souris témoins et traitées

3.4 Bilirubine totale : La figure (14) illustre l'évolution du taux de bilirubine totale. Nous remarquons une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$), du taux sérique de bilirubine totale pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe Témoin, après traitement par le BV le taux de bilirubine sérique totale diminue de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe Adénine.

La bilirubine sérique totale augmente au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 50mg/l alors que pour le groupe témoin elle n'est que de 10 mg/l. Après traitement par le BV le taux de bilirubine sérique est de 30mg/l.

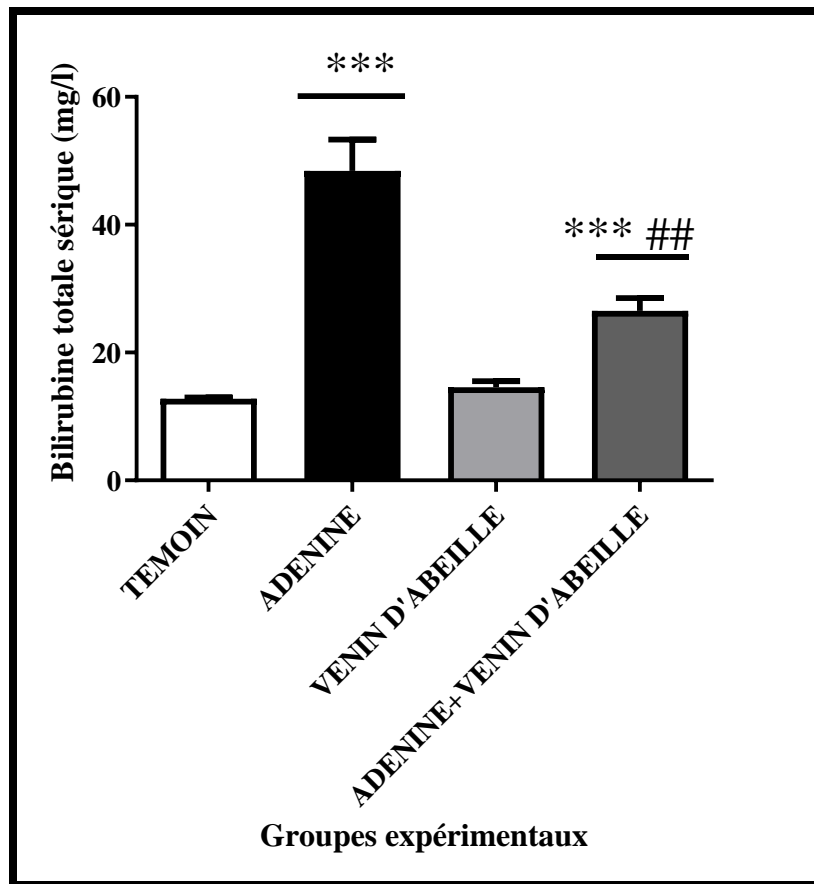


Figure 14 : Taux de bilirubine totale sérique chez les souris témoins et traitées.

3.5 Acide urique : La figure (15) représente l'évolution du taux d'acide urique chez les souris témoins et traitées. Nous constatons une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux sérique d'acide urique pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe témoin, après traitement par le BV le taux d'acide urique diminue de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe Adénine.

Ainsi, le taux d'acide urique sérique augmente au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 65mg/l alors que pour le groupe témoin elle n'est que de 12 mg/l. Après traitement par le BV le taux d'acide urique sérique est de 35mg/l.

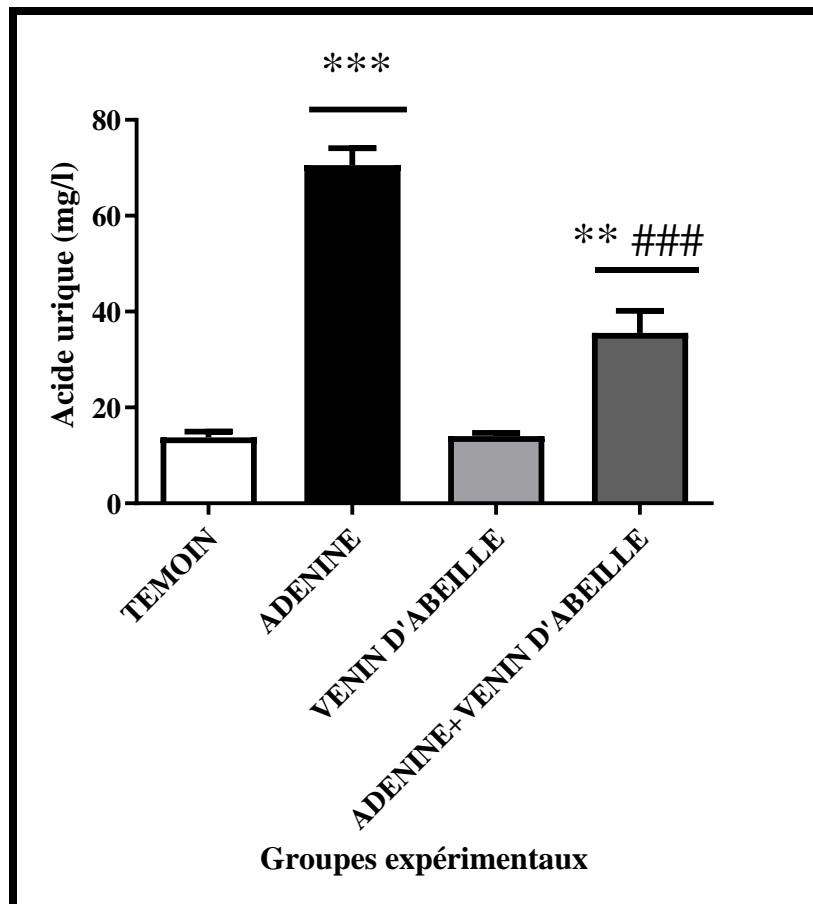


Figure 15 : Taux d'acide urique sérique chez les souris témoins et traitées.

3.6 Albumine sérique : La figure (16) met en évidence l'évolution du taux d'albumine sérique chez les souris témoins et traitées. Nous constatons une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du taux d'albumine sérique pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe Témoin, après traitement par le BV le taux d'albumine sérique augmente de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe Adénine.

Le taux d'albumine sérique diminue au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 18g/l alors que pour le groupe témoin il est de 70g/l. Après traitement par le BV le taux d'albumine sérique augmente jusqu'à 55g/l.

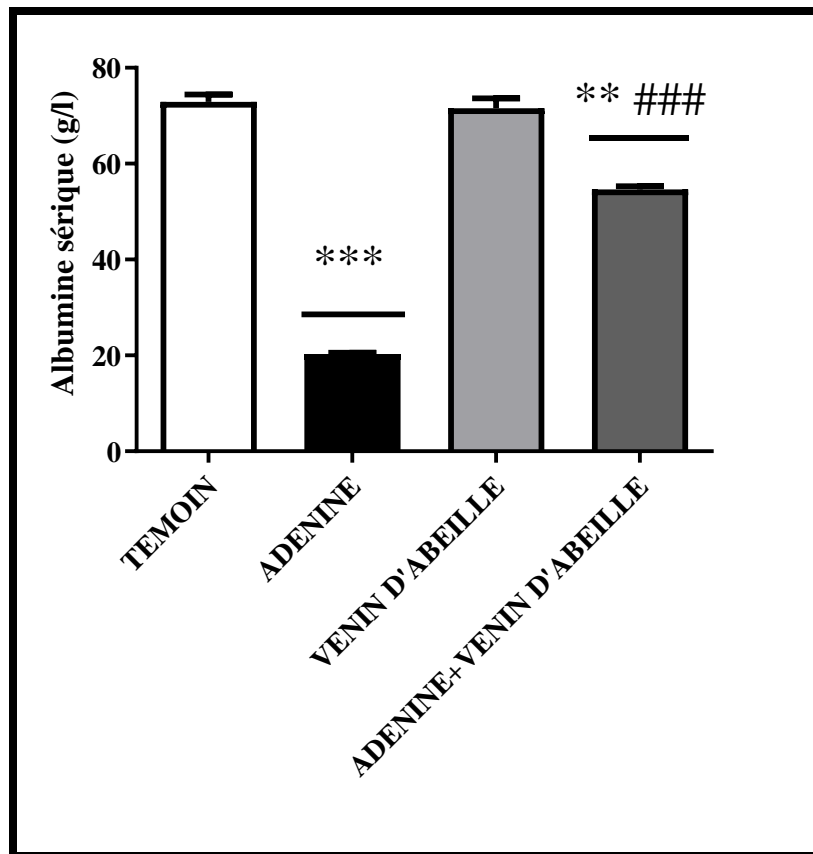


Figure 16 : Evolution du taux d'albumine sérique chez les souris témoins et traitées

3.7 Protéines totales sériques : La figure (17) représente le suivi des variations du taux de protéines totales une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du taux des protéines totales sériques pour les groupes traités à l'Adénine par rapport au groupe Témoin, après traitement par le BV le taux des protéines totales sérique augmente de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe Adénine.

Le taux de protéines totales sérique diminue au sein des groupes traités à l'Adénine pour atteindre 50g/l alors que pour le groupe témoin il est de 95 g/l, après traitement par le BV le taux des protéines totales sérique augmente jusqu'à 70g/l.

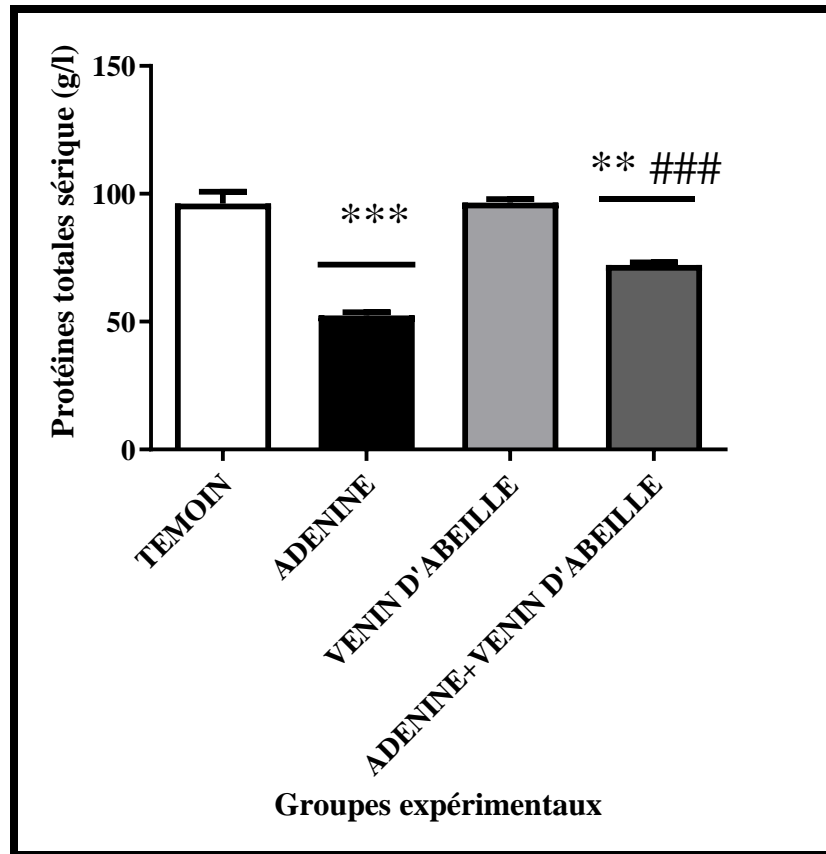


Figure 17 : Evolution du taux de protéines totales sériques.

3 Etude du stress oxydatif :

La figure (18) met en évidence l'évolution du taux de MDA chez des groupes expérimentaux. Chez les traitées à l'adénine nous constatons une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport aux témoins, le taux du MDA a diminué d'une manière significative ($p < 0,05$) par rapport au groupe adénine suite au traitement au venin d'abeille.

Nous constatons que le taux de MDA augmente suite au traitement à l'Adénine jusqu'à 30 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine alors que pour le groupe témoin il n'est que de 5 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine, après le traitement par le BV le taux de MDA diminue à 20 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine.

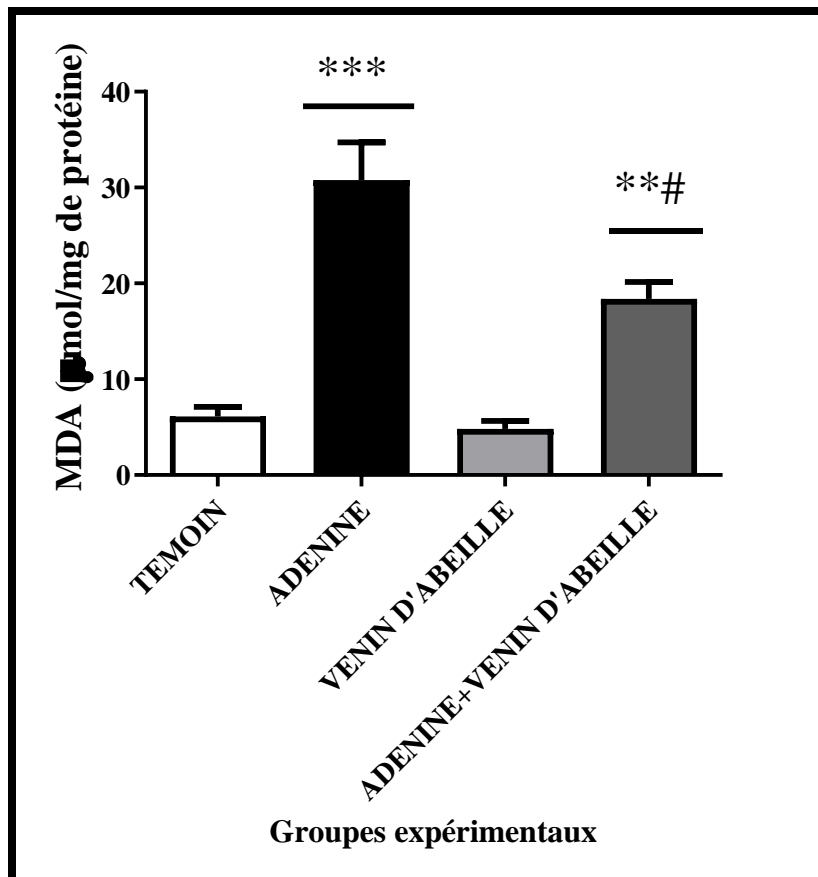


Figure 18 : Evolution du taux du manon-dialdéhyde au niveau du tissu rénal chez les souris témoins et traitées.

La figure (19) met en évidence l'évolution du taux de GSH chez des groupes expérimentaux. Chez les traitées à l'adénine nous constatons une diminution très significative ($p < 0,01$) par rapport aux témoins, le taux du GSH augmente d'une manière significative ($p < 0,05$) par rapport au groupe adénine suite au traitement au venin d'abeille.

Nous constatons que le taux de GSH diminue suite au traitement à l'Adénine jusqu'à $1,7 \mu\text{mol/mg}$ de protéine alors que pour le groupe témoin il est de $2,5 \mu\text{mol/mg}$ de protéine, après le traitement par le BV le taux de GSH augmente à $2,1 \mu\text{mol/mg}$ de protéine.

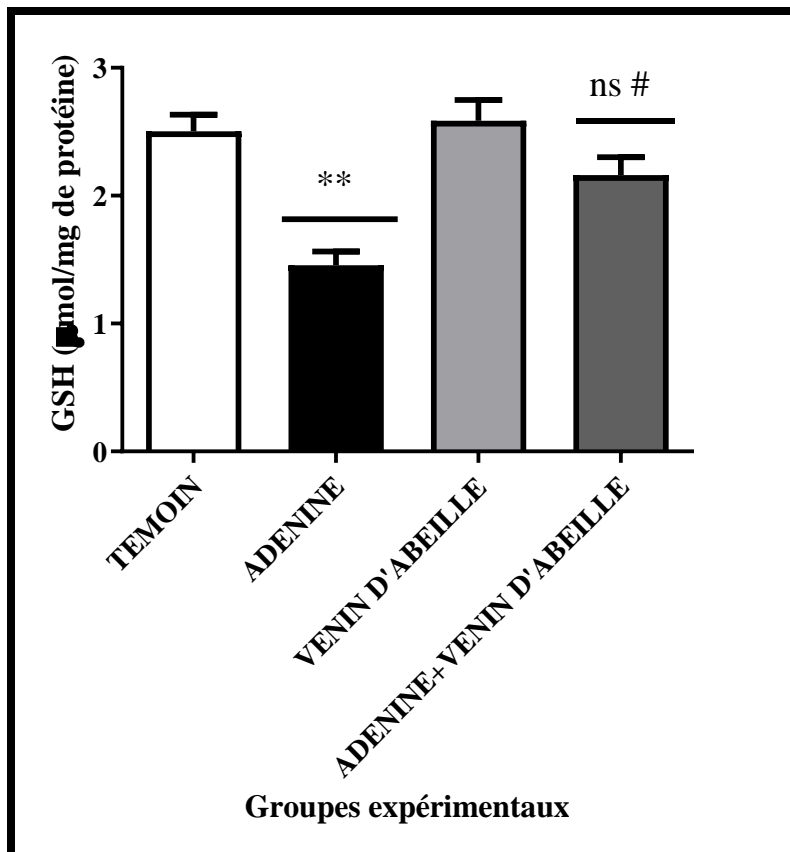


Figure 19 : Evolution du taux du GSH dans le tissu rénal chez les souris témoins et traitées.

La figure (20) met en évidence les variations de l'Activité Catalase chez les souris témoins et traitées. Chez les traitées à l'adénine nous constatons une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport aux témoins, l'activité CATALASE augmente d'une manière très significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe adénine suite au traitement au venin d'abeille.

Nous constatons que l'activité CATALASE diminue suite au traitement à l'Adénine jusqu'à $19 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine alors que pour le groupe témoin elle est de $32 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine, après le traitement par le BV l'activité Catalase diminue à $29 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine.

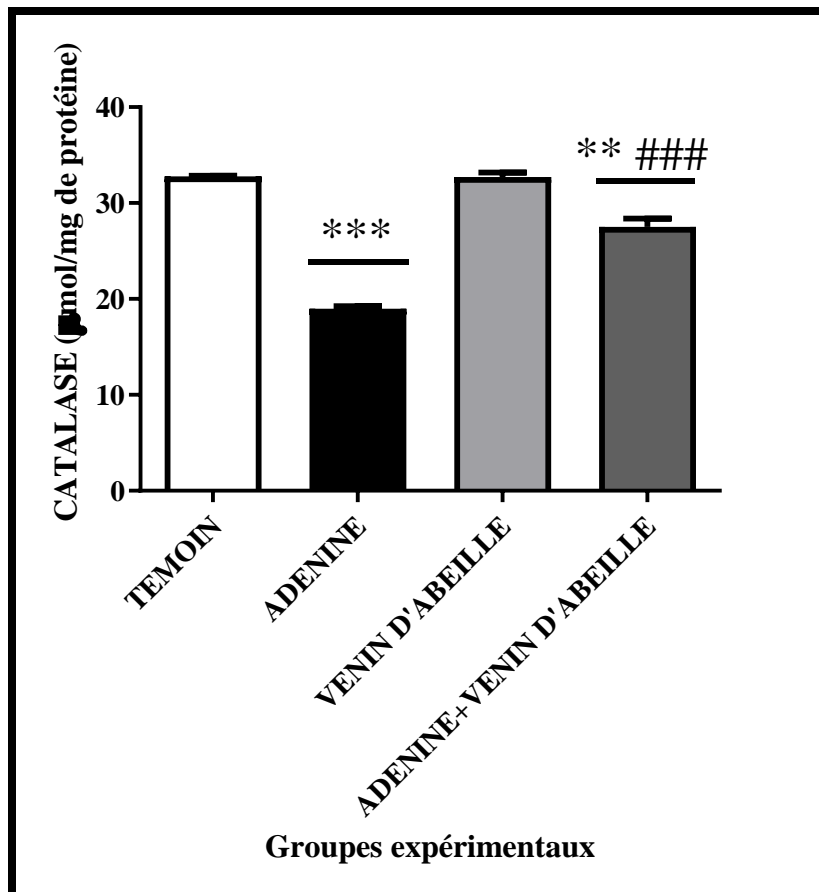


Figure 20 : Activité de la catalase dans le tissu rénal chez les souris.

La figure (21) met en évidence l'évolution d'activité GST chez des groupes expérimentaux. Chez les traitées à l'adénine nous constatons une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport aux témoins, l'activité GST augmente d'une manière significative ($p < 0,05$) par rapport au groupe adénine suite au traitement au venin d'abeille.

Nous constatons que l'activité GST diminue suite au traitement à l'Adénine jusqu'à $0,2 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine alors que pour le groupe témoin elle est de $0,45 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine, après le traitement par le BV l'activité GST augmente à $0,3 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine.

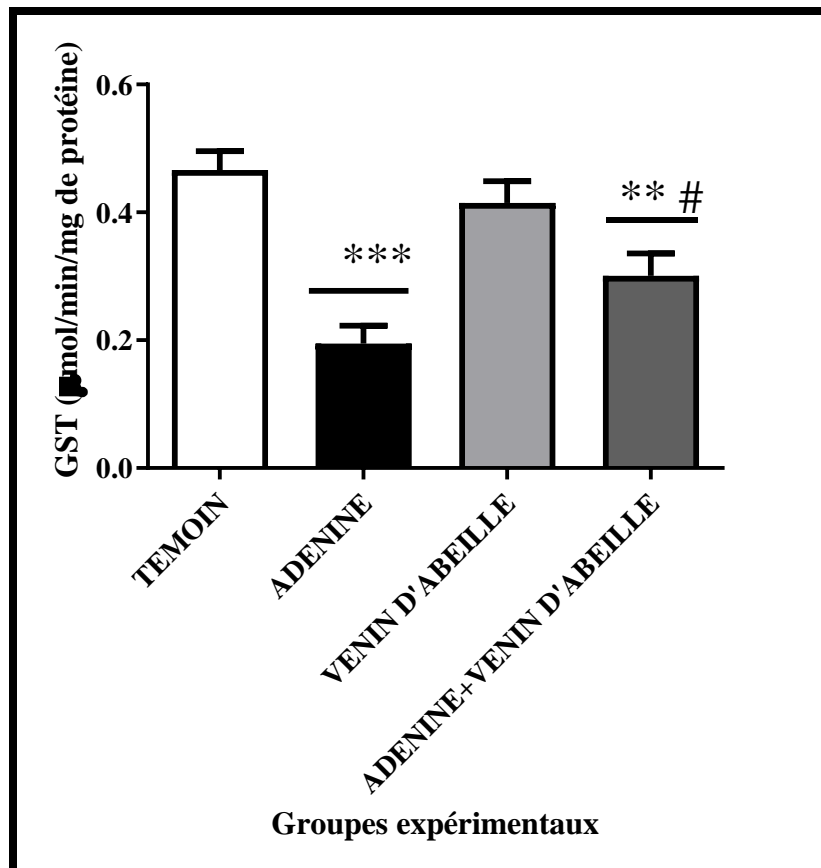


Figure 61 : Activité de la GST dans le tissu rénal chez les souris.

4 Examen morphologique des reins :

Les figures (22, 23, 24, 25 & 26) illustrent la morphologie des reins des souris témoins et traitées. Ainsi, les figures (22) et (23) représentent un rein témoin avec une morphologie ne présentant aucune anomalie.

En revanche les figures (24) et (25) illustrent l'état des reins des souris traitées avec l'Adénine. Nous remarquons une hypertrophie et une coloration pâle des reins.

La figure (26) représente l'effet du traitement au venin d'abeille sur la morphologie des reins. Nous constatons ainsi une diminution du volume des reins et une coloration proche de celle des témoins.



Figure 22 : Photographie des reins du groupe témoin.

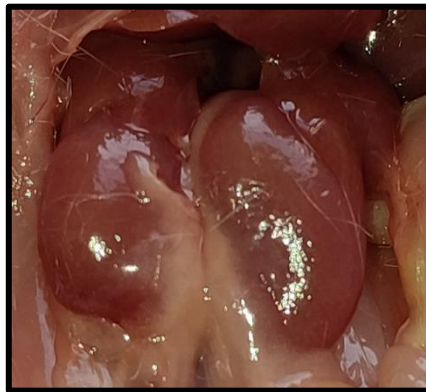


Figure 23 : Photographie des reins du groupe venin d'abeille.



Figure24 : Photographie des reins du groupe Adénine avec une couleur pale.

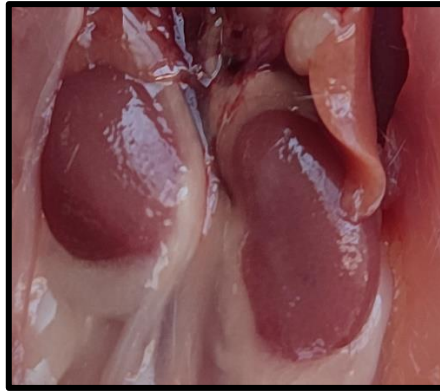


Figure 25 : Photographie des reins hypertrophiés du groupe Adénine.

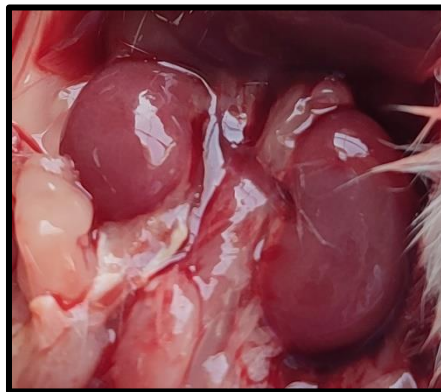


Figure 26 : Photographie des reins du groupe Adénine+venin.

6 Examen histopathologique :

Les figures (27, 28, 29, 30, 31 & 32) représentent les résultats de l'examen histopathologique des reins des souris des groupes expérimentaux.

La figure (27) représente une structure rénale avec des glomérules et de tubules homogènes de taille normale. IL en est de même pour la figure (28).

Tandis que les figures (29, 30,31) représentent l'état du tissu rénal des souris traitées avec l'Adénine.

Nous remarquons des anomalies structurales avec une dégénérescence glomérulaire et tubulaire une dilatation des tubules, des nécroses avec infiltration de cellules inflammatoires une dilatation de la membrane basale et un élargissement de l'espace de Bowman

Ces lésions ont été réduites voir supprimées après traitement par le venin d'abeille, comme le montre la figure (32) où nous remarquons une régénération des glomérules et des tubules une diminution de la nécrose, une absence des cellules inflammatoires et un rétrécissement des tubules et l'espace de Bowman.

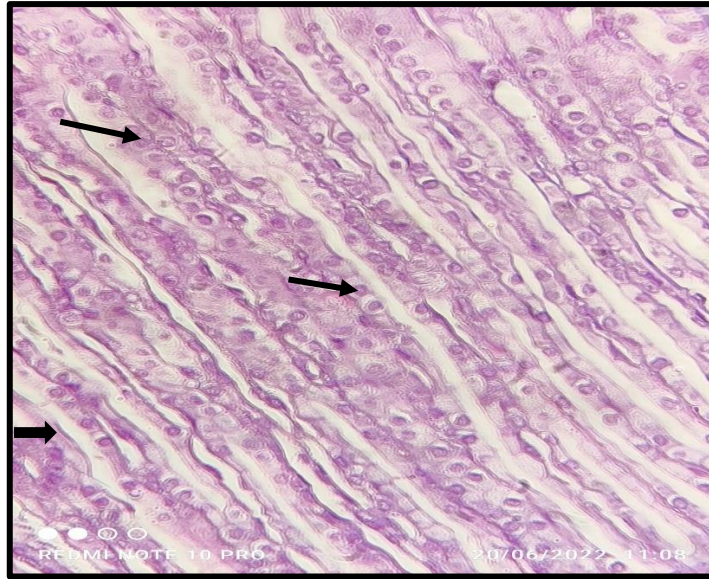


Figure 27 : Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe témoin. (Coloration H&E- $\times 40$, $1\text{cm}=25\mu\text{m}$).

→ : Tubule rénal.

→ : Glomérule rénal.

La figure montre une coupe histologique du tissu rénal du groupe témoin après coloration H&E et au grossissement $\times 40$, on observe une architecture rénale normale avec un alignement des glomérules et des tubules.

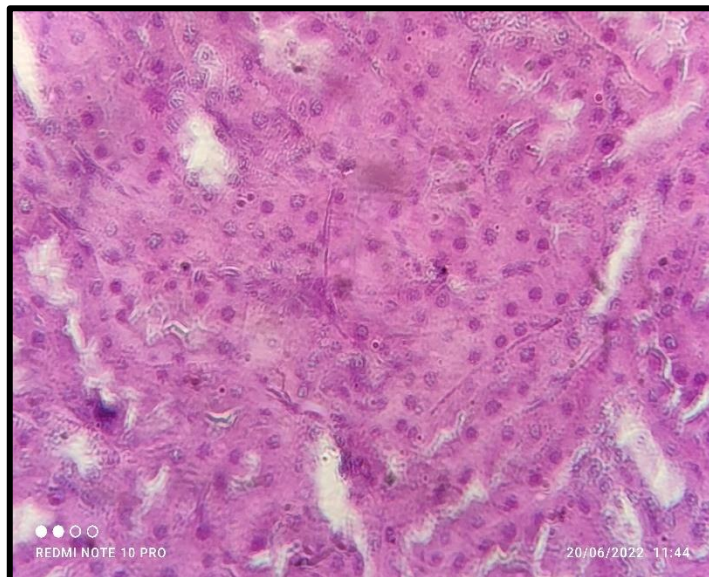


Figure 28 : Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe venin d'abeille. (Coloration H&E- $\times 40$, $1\text{cm}=25\mu\text{m}$).

RESULTATS

La figure montre une structure corticale rénale normale, typique d'un rein sain de souris du groupe BV avec la coloration H&E et au grossissement $\times 40$; révélant un parenchyme homogène, sans altération visible ni infiltration inflammatoire.

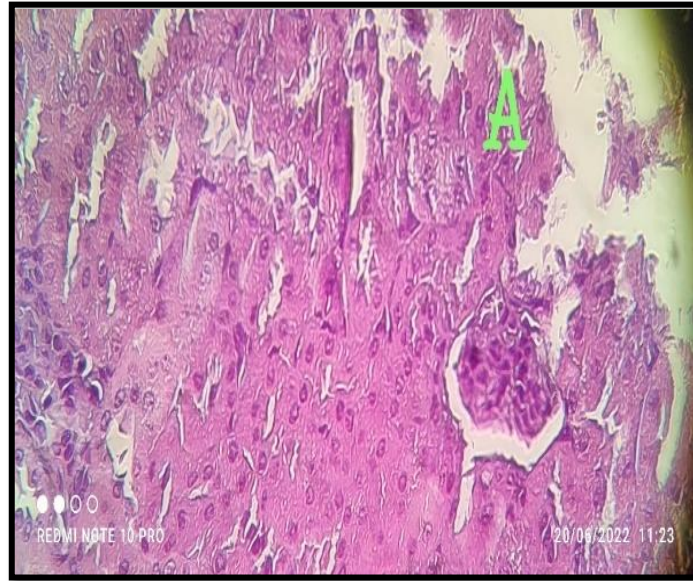


Figure 29 : Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine. (Coloration H&E- $\times 40$, $1\text{cm}=25\mu\text{m}$).

A : Détachement de la membrane basale glomérulaire.

La figure montre un détachement du parenchyme rénal, visible à la coloration H&E et au grossissement $\times 40$, on note la présence d'une fibrose tubulaire, accompagné de tubules rénaux irréguliers et d'un interstitium élargi.

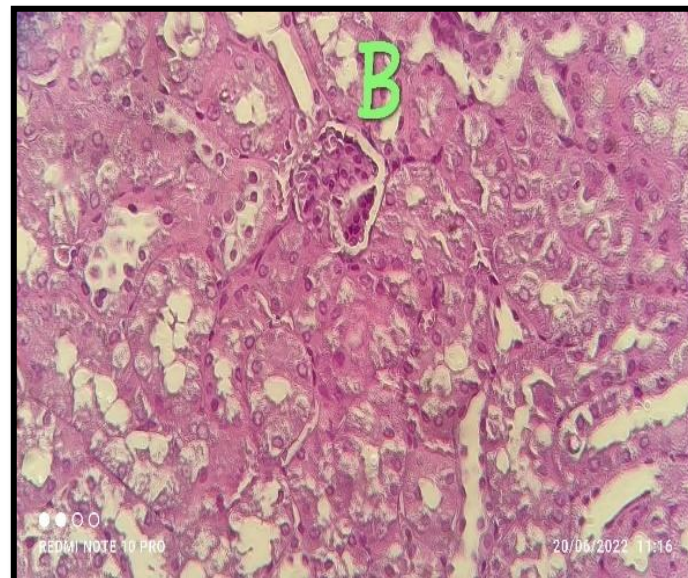


Figure 30 : Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine avec des tubules dilatés. (Coloration H&E- $\times 40$, $1\text{cm}=25\mu\text{m}$).

B : Nécrose.

La figure après coloration H&E avec un grossissement $\times 40$, on note présence de nécrose, des altérations glomérulaires, une dilatation tubulaire, une fibrose interstitielle avec un parenchyme rénal désorganisé.

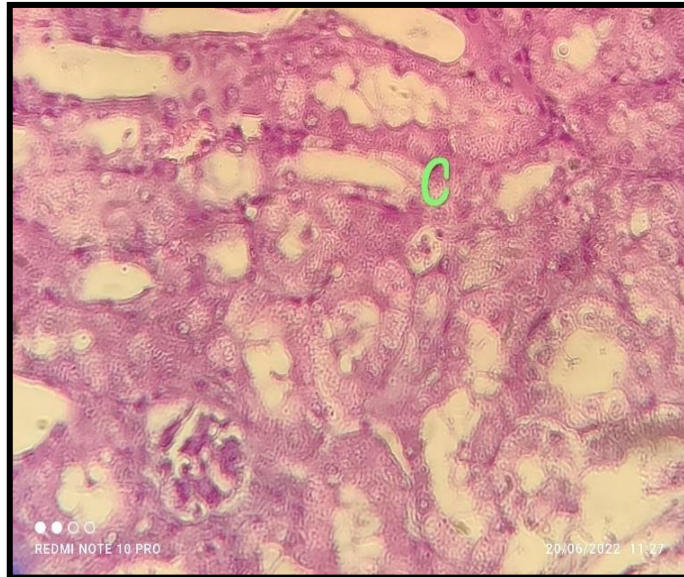


Figure 31 : Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine avec des tubules dilatés et des glomérules dégénérés. (Coloration H&E- $\times 40$, 1cm=25 μ m).

C : Cellule inflammatoire.

La figure montre un tissu rénal avec coloration H&E avec un grossissement $\times 40$, on note la présence d'une fibrose glomérulaire, des tubules contournés proximaux dilatés, avec une atrophie tubulaire, une perte d'intégrité épithéliale.

Le tissu interstitiel plus rosé, avec des cellules inflammatoires signe d'une inflammation interstitielle chronique.



Figure 7: Coupe histologique du tissu rénal d'une souris du groupe adénine+venin. (Coloration H&E- $\times 40$, 1 cm=25 μ m).

La figure montre un tissu rénal avec coloration H&E avec un grossissement $\times 40$, des lésions glomérulaires et tubulaires atténuées, un interstitium moins fibrosé, une réorganisation de l'architecture rénale.

Chapitre IV : DISCUSSION

DISCUSSION

Notre étude s'intéresse au traitement de l'IRC par un produit naturel, en l'occurrence le venin d'abeille.

Au préalable nous avons effectué une analyse par SDS-PAGE des échantillons de venin d'abeille pour confirmer la présence de composants actifs et nous avons ainsi détecté des molécules dont le poids moléculaire est similaire à celui rapporté par Carpena *et al.* (2020) indiquant une conformité des composants peptidiques du BV. En effet le BV interagit avec plusieurs enzymes, hormones et biosystèmes soit par stimulation ou par inhibition, également il est capable de neutraliser les effets délétères générés par les ROS lors des pathologies chroniques (Zhang *et al.* 2018).

Dans un second temps, nous avons choisi d'induire la pathologie en injectant de l'Adénine aux souris. L'Adénine sous l'action de la xanthine oxydase est catalysée en DHOA, un produit obstruant du tissu tubulo-interstitiel (Ali *et al.* 2013) provoquant une baisse de l'élimination des métabolites telles que la créatinine, l'acide urique, l'urée et l'albumine (Ali *et al.* 2020), cette baisse correspond idéalement à la baisse du DFG ; une caractéristique particulière de l'IRC à laquelle on attribue des anomalies structurelles, physiologiques et fonctionnelles (Wasung *et al.* 2015). L'effet de l'adénine chez les souris est similaire à l'état d'IRC chez l'Homme (Diwan *et al.* 2013) qui s'accompagne comme chez les souris d'une baisse de la consommation alimentaire suivi d'une baisse du poids corporel. Ces observations sont également rapportées par Tradit *et al.*(2010). Après induction de l'IRC, Suryavanshi *et al.* (2020) explique cette baisse du poids par une interaction de l'adénine avec le CYP450 impliquant le système ubiquitine-protéasome qui provoque la fonte musculaire, le CYP450 provoque également une dyslipidémie en interagissant avec la lipase hépatique.

En parallèle l'insulinorésistance un statut de dysfonctionnement hormonal rénal mise en place suite à l'IRC, provoque un excès de leptine qui va agir sur le système rénine-angiotensine-aldostérone en augmentant l'anorexigène connue comme supprimeur d'appétit (Iorember 2018).

L'adénine provoque un déclin de la barrière intestinale, un état identifiable de l'IRC induisant à la perte des : thiamine, riboflavine, vitamine PP (Pellagra Preventive), niacine, pyridoxine, acide pantothénique, acide folique, acide ascorbique, hydroxyvitamine D, zinc, sélénium, fer (Iorember 2018).

Nos résultats montrent que l'administration du BV pendant 7 jours est associée à une reprise significative de la prise alimentaire suivie d'un gain du poids corporel. Ces résultats

DISCUSSION

peuvent s'expliquer par le pouvoir du BV à atténuer l'insulinorésistance (Zahran *et al.* 2021). En outre le BV serait responsable d'une récupération du système rénine-angiotensine-aldostérone (Hoffman et Dukes 2008) qui va probablement stimuler la production d'orexigène et réguler la production des anorexigènes.

Dans notre travail en plus de la consommation alimentaire, l'apport hydrique est largement touché après induction de l'IRC par l'adénine, Sontrop *et al.*(2013) montrent que l'IRC est toujours inversement corrélée avec la consommation d'eau, Clark *et al.* (2016) explique cette baisse par une stimulation de la vasopressine, une hormone qui agit comme un antidiurétique, elle incite la réabsorption de l'eau et du sodium. C'est ainsi, que l'utilisation du venin d'abeille est préconisée pour remédier à cela. Des études de Hermann *et al.*(1993) ont mis en évidence une inhibition significative de la vasopressine et l'angiotensine I et II après un traitement au BV, ce qui explique la récupération de l'apport hydrique chez les souris du groupe Adénine+Venin que nous avons observée.

Nous avons également observé que l'administration de l'Adénine provoque une augmentation du taux de créatinine sérique par rapport aux témoins parallèlement à une baisse de la clairance de la créatinine. La créatinine est un indicateur majeur de l'activité normale des reins utilisé dans la méthode MDRD pour déterminer le DFG (Iseki *et al.* 2004). Le taux de créatinine ainsi que la clairance de créatinine résultent de l'apport protéique et la dégradation musculaire (Chowdhury 2023). Les sujets diagnostiqués d'une IRC présentent une faible clairance de créatinine et un fort taux sérique de créatinine, ces données s'expliquent par une réduction massive du nombre des néphrons, ce déclin du nombre de néphrons, est due à l'obstruction des tubules rénaux induite par l'adénine, après administration du BV le taux de créatinine diminue et la clairance de créatinine augmente ceci peut indiquer une récupération du DFG soutenue par une récupération du capital néphrotique et une désobstruction des tubules rénaux, ces résultats sont en accord avec ceux de Kim *et al.*(2013); Elshater *et al.*(2014); Kim *et al.*(2020) qui ont utilisé le BV dans le rétablissement des taux de créatinine sérique et la clairance de créatinine suite à une néphrotoxicité induite. Bien que Kim *et al.* (2020) ont testé l'efficacité du BV contre l'IRA, une pathologie rénale réversible contrairement à l'IRC ou le DFG est généralement irréversible.

La fonction rénale est déterminée par les niveaux sériques de créatinine et d'urée. Plus ces taux augmentent plus l'insuffisance rénale est sévère (Da Silva Junior *et al.* 2017). L'urée constitue le principal composant de l'urine, il se forme au niveau du foie en dégradant par

DISCUSSION

désamination les acides aminés puis arrive à la médulla interne des reins par le biais des transporteurs d'urée, où l'urine est concentrée (Klein *et al.* 2012), (Dantzler *et al.* 2014).

L'administration de l'adénine pendant 4 semaines chez les souris a permis de mettre en place d'un état d'IRC avec urémie, mentionné également dans les travaux de Diwan *et al.*(2013) et Ali *et al.*(2013) et comparable à l'IRC avec urémie chez l'Homme.

Les niveaux urémiques élevés qui s'ajoutent aux niveaux élevés de créatinine sérique marquent une sévère atteinte histologique rénale due au dépôt du 2,8-dihydroxyadénine au tissu rénal, le BV que nous avons administré aux souris a induit une baisse du taux d'urée et de créatinine sérique. Nos résultats sont en cohérence avec les travaux de Muhammad *et al.*(2015), l'amélioration des taux de créatinine et de l'urée sérique est probablement due à la présence de la mélittine qui une fois isolée du BV et administrée à des souris par voie i.p. induit une baisse des taux sérique de l'urée et de la créatinine (Gattea Al-Rikabi *et al.* 2019),

La bilirubine est le produit catabolique final de l'hème produit au niveau du foie. Dans notre travail l'administration de l'adénine induit une augmentation du taux de bilirubine, en accord avec les travaux de Li *et al.*(2020); Allahbadia *et al.*(2022). La bilirubine sérique totale est un antioxydant endogène qui protège l'organisme des agressions radicalaires et la génération des ROS en agissant comme un piègeur de radicaux libres, ce qui lui confère un puissant rôle dans la protection contre les maladies qui progressent sous influence des ROS tel que l'IRC (Wu *et al.* 1991). Nos résultats montrent que l'hyperbilirubinémie est corrélée positivement avec le taux de MDA et négativement avec l'activité CAT, et le taux de GSH (Kawamoto *et al.*2014); Moolchandani *et al.*(2016). Hassan *et al.*(2021) a corrigé le taux de bilirubine sérique total chez les lapins albinos mâles suite à l'hyperbilirubinémie induite par la cisplatine, il en est de même des travaux d'Abd *et al.*(2022) qui a observé une baisse du taux de bilirubine totale sérique après injection du BV chez les rats albinos présentant une bilirubinémie induite par le carbimazole et a également enregistré des niveaux bas d'urée, d'acide urique et de créatinine sérique suite à l'administration du BV. Tous ces résultats sont attribués au pouvoir du BV à restituer la structure et la fonction rénale par reconstitution des tubules rénaux médiée par la régulation de la production des cytokines pro-inflammatoires et la suppression du stress oxydatif (Abd *et al.* 2022). De plus le groupe recevant uniquement le venin d'abeille n'a subi aucune altération ce fait s'explique par le pouvoir hépato-protecteur, néphroprotecteur du BV avec absence totale d'une activité hémolytique chez les souris saines contrairement à d'autre venins animaux (Elfiky et Albitar 2023).

DISCUSSION

Dans le modèle d'IRC induite par l'adénine l'augmentation de l'acide urique figure comme biomarqueur notable d'une atteinte des fonctions rénales déjà parce qu'il est le métabolite des purines dont l'adénine (Huang *et al.* 2022) puis en raison de sa nature cristalline très peu soluble lui permettant l'obstruction de l'épithélium tubulaire, entravant le canal collecteur du néphron empêchant l'excrétion des déchets accompagné par une réaction inflammatoire qui s'achève par une diminution du DFG (Weaver 2019).

La dégradation de l'adénine en acide urique est catalysée par la xanthine oxydase suivant plusieurs étapes où l'adénine est convertie en hypoxanthine puis en xanthine et enfin en acide urique ;*in vivo* comme *in vitro* cette réaction est prolifique du radical superoxyde, lorsque l'organisme est sujet à une accumulation d'adénine la dégradation de celui-ci évolue en une source potentielle de stress oxydant (Olson *et al.* 1974 ; Cramer 2014). L'obstruction des tubules rénaux empêche l'excrétion d'acide urique qui agit comme piègeur de radicaux libres, quand les ROS se trouvent en libre circulation dans l'organisme ils introduisent en cascade un état inflammatoire amorcé par TNF- α (Fathallah-Shaykh et Cramer 2014).

Dans notre étude l'administration du BV a induit une réduction du taux d'acide urique sérique chez les souris qui ont reçu préalablement l'adénine toutefois nous n'avons pas noté une modification du taux d'acide urique sérique chez les souris ayant reçu uniquement le BV par rapport au témoin contrairement à d'autres travaux qui ont noté une augmentation d'acide urique (Muhammad *et al.* 2015;Elfiky et Albitar 2023). Nos résultats sont en accord avec ceux de Amra *et al.* (2018) qui ont rapporté cette baisse par la désobstruction de l'épithélium tubulaire rénal modulée par le BV permettant l'excrétion des différents déchets métabolique.

La lésion des capillaires glomérulaires, de la membrane basale glomérulaire et l'affaissement des podocytes, est confirmée par la présence d'une albuminurie et d'une diminution d'albumine sérique (Pamela *et al.* 2023) suite à l'atteinte de la réabsorption tubulaire des protéines (Lorbach *et al.* 2020). Il est connu que l'albumine est la protéine majoritaire du plasma (Bonfanti *et al.* 2004). La baisse du taux d'albumine sérique est proposée comme bioindicateur du DFG (Cheng *et al.* 2023). Ainsi nous avons mis en évidence une baisse du taux d'albumine sérique, ce résultat est également rapporté par (Chen *et al.* 2022).

L'administration du venin d'abeille pendant 7 jour sa induit une augmentation significative du taux d'albumine. Ce résultat corrobore celui de Elshater *et al.* (2014). Et prouvent l'arrêt des fuites de l'albumine sérique à travers la membrane basale glomérulaire et

DISCUSSION

dévoilent le pouvoir du BV à interrompre la glomerulosclérose et à réparer les dommages glomérulaires ainsi que l'affaissement podocytaires (D'amico et Bazzi 2003).

Sur le plan macroscopique les reins des groupes Témoin et venin apparaissent d'une couleur rouge-brun et une morphologie ferme caractéristique des reins normaux avec un poids rénal normal tandis que les reins du groupe adénine présente une couleur exsangue et une morphologie hypertrophique et un poids rénal élevé. L'observation macroscopique révèle un aspect des reins hypertrophique chez les traitées par l'adénine en accord avec les travaux de Webster *et al.* (2017), cette caractéristique d'un état inflammatoire aigu est attribuable à la présence des leucocytes et neutrophiles (Solak *et al.* 2013). L'aspect des reins du groupe adénine+venin présente une couleur vermeille comparable au lot témoin avec une couleur et une morphologie normale comparable aux reins sains avec un poids rénal réduit (Pfaller et Rittinger 1980).

L'administration de l'adénine génère des atteintes et lésions nécrotiques aux tubules accompagnés de dilatation des tubules due probablement au dépôt des cristaux de DHOA, une dégénérescence glomérulaire, une séparation de la capsule de Bowman, une vacuolisation inflammatoire répartis due à l'infiltration des leucocytes et neutrophiles avec une coloration intense due à l'hypoperfusion. Ces mêmes altérations sont observées par Ali *et al.*(2013) et Ali *et al.* (2016).

Selon Langenberg *et al.* (2008) les lésions tubulaires et glomérulaires nécrotiques sont une particularité de l'IRC. Le dysfonctionnement rénal sévère se concilie toujours avec des lésions histopathologiques du tissu rénal Trevisani *et al.*(2021).

Chez les souris qui ont reçu un traitement adénine+venin , nos résultats ont révélé une amélioration de l'aspect histopathologique en accord avec les travaux de Kim *et al.*(2020),l'amélioration structurelle après administration du BV concerne les lésions des tubules et la bordure en brosse ainsi que la baisse des vacuoles inflammatoires. Les auteurs expliquent ces résultats par le pouvoir néphroprotecteur structurel du BV qui entraîne une baisse des facteurs nécrotiques et inflammatoires (-interleukine (IL)-1, l'IL-6-).

Les altérations morphologiques et histopathologiques des reins sont dues au DHOA, qui empêche l'excrétion des métabolites azotées suite à l'occlusion des tubules rénaux (Al Za'abi *et al.* 2015).

Les dommages au niveau du tissu rénal (la dégénérescence des glomérules et les cellules en état de nécrose, les cellules inflammatoires et l'élargissement de la membrane

basale) la manifestation clinique d'un état inflammatoire (Suryavanshi *et al.* 2020) confirmé par l'activation des cytokines pro-inflammatoires comme l'induction des : TNF- α , l'IL-6, la COX-2 le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 ainsi que l'IL-10 par un stress oxydatif accru (Santana *et al.* 2013).

Le métabolisme de l'adénine s'effectue par l'oxydation de la xanthine en acide urique la réaction catalytique est concomitante avec la perte de deux électrons ; le transfert d'électrons en présence de l'O₂ produit le radical superoxyde (O₂⁻) et qui peut par la suite générer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le radical hydroxyle (OH) (Kelley *et al.* 2010).

Selon Gyurászová *et al.*(2020) ; Pedraza-Chaverri *et al.*(2016) l'administration de l'adénine conduit à l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN, et aboutit à des lésions rénales. Dans notre travail, nous avons montré que l'administration de l'adénine est l'origine d'un stress oxydatif via la génération des ROS. Le stress oxydatif et l'inflammation sont connus pour être des caractéristiques constantes de l'IRC (Suárez-Álvarez *et al.* 2016)

D'une manière générale, de divers travaux indiquent que l'IRC induite par l'adénine conduit à une augmentation de plusieurs biomarqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation, comme le stipule d'ailleurs les travaux de Ali *et al.*(2017); Nemmar *et al.*(2017). Ainsi Nemmar *et al.*(2016) ont montré que l'activité catalase est inhibée suite à l'administration de l'adénine en accord avec nos résultats qui ont également montré une inhibition de l'activité catalase après l'administration de l'adénine.

De plus nos résultats révèlent une augmentation du taux de MDA chez les traités par l'adénine corroborant ainsi les travaux de Alfarajat *et al.* (2023); Ali *et al.*(2020), qui confirment l'induction d'un stress oxydant après traitement avec l'adénine à travers l'induction d'une peroxydation lipidique.

D'un autre côté, nous avons également mis en évidence une inhibition de l'activité GST après traitement avec l'adénine, parallèlement à la réduction du taux de GSH, conformément aux travaux de Alfarajat *et al.*(2023); Nemmar *et al.*(2016).

Les niveaux de GSH ont diminué de manière significative suite à l'administration de l'adénine des résultats similaires sont rapportés par Wang *et al.*(2012); Ali *et al.* (2016).

L'organisme possède son système d'autodéfense contre les attaques radicalaires constitué d'un système enzymatique comme les activités GST et CAT et d'autres molécules comme le GSH (Khan et Ahmed 2009). Cependant lors d'une néphrotoxicité aigue les défenses intrinsèques seront épuisées et surpassées par les ROS. Le BV s'avère comme un

DISCUSSION

composé néphroprotecteur, anti-inflammatoire, anti-oxydant et antitumoral (Wehbe *et al.* 2019). Il est réputé pour être veinotonique (Son *et al.* 2007), il stimule le système circulatoire contribuant à la solubilisation du DHOA et à l'élimination des déchets du métabolisme et des métabolites azotés restituant ainsi la microcirculation rénale optimale, en supprimant l'inflammation et l'anoxie tissulaire.

Nos essais sur le BV seul révèlent à une diminution du taux du MDA dans le tissu rénal, en accord avec les travaux de (Kim *et al.* 2020; Abd *et al.* 2022 ; Elshater *et al.* 2014) qui ont également rapporté une réduction du taux du MDA au niveau du tissu rénal suite à une néphrotoxicité induite. D'autre part nous avons montré que le BV augmente le taux du GSH et de l'activité CAT dans le tissu rénal. Ces résultats corroborent ceux de Abd *et al.* (2022); Elshater *et al.* (2014) qui ont rapporté une amélioration de l'activité CAT suite à l'administration du BV il en est de même concernant le taux du GSH.

Nous avons également testé l'efficacité du BV sur l'activité GST où nous avons confirmé une augmentation de cette dernière chez les souris, en parfait accord avec les travaux de Bava *et al.* (2023); Elkomy *et al.* (2021) chez les lapins.

Dans notre étude, nous avons montré une diminution du nombre des cellules inflammatoires et nécrosées. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lee *et al.* (2015); Lee et Bae (2016) qui ont mis en évidence une régression des facteurs inflammatoires après traitement par le BV.

Les macrophages activés mobilisent plusieurs médiateurs inflammatoires notamment le TNF- α et l'IL-6, qui jouent un rôle important dans la pathogenèse des lésions rénales induites par l'adénine (Wang *et al.* 2008). Les travaux de Kim *et al.* (2013) ont montré que le traitement par le BV des souris ayant développé une IRA diminuait l'expression des cytokines pro-inflammatoires, ainsi que l'infiltration de macrophages dans le rein, en accord avec nos résultats qui confirment le potentiel du BV à atténuer de manière significative le stress oxydant la nécrose cellulaire conformément également avec des travaux antérieures sur le pouvoir anti-oxydant du BV (Muhammad *et al.* 2015, Sobral *et al.* 2016). D'autres études *in vivo* ont mis en évidence une stimulation de l'activité SOD (Carpena *et al.* 2020).

Ces résultats confirment l'effet du BV sur l'activité antiradicalaire et anti-inflammatoire qui illustrent le pouvoir anti-oxydant, anti-inflammatoire et

DISCUSSION

néphroprotecteur du BV via le piégeage de radicaux libres et des peroxydes d'hydrogène. Ce potentiel réside dans le pouvoir du BV à réagir avec les électrons non appariés des ROS notamment en agissant sur la voie Cytochrome P450 (Korshunov *et al.* 1999; Pereverzev *et al.* 2003; Zaworra et Nauen 2019).

Ainsi le BV détient son pouvoir antioxydant de la mélittine, la PLA2, l'apamine et la vitellogénine, des travaux *in vitro*, ont mis en lumière un processus de piégeage du DPPH, et des TBARS suggérant une sorte de blindage des cellules contre la peroxydation lipidique, d'autres études *in vivo* ont noté des résultats positifs sur l'activité de la SOD (Carpena *et al.* 2020).

Chapitre V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPETIVES

L'objectif de ce travail est d'étudier le pouvoir thérapeutique du venin d'abeille sur l'insuffisance rénale chronique, un dysfonctionnement rénal généralement irréversible qui engendre la rétention des métabolites et se synchronise avec un état inflammatoire et oxydatif.

L'insuffisance rénale chronique induite par l'adénine provoque l'accumulation des déchets azotés causée par le dépôt de cristaux d'adénine, suivi par une inflammation des cellules rénales, et un stress oxydant, parallèlement à une perte du poids en raison d'une diminution de la prise alimentaire et une baisse du poids relatif des reins. Par ailleurs l'accumulation des métabolites azotés qui correspond à une augmentation du taux de créatinine sérique ainsi que d'autres paramètres sériques tel l'urée, l'acide urique, la bilirubine totale directe, s'accompagne par une baisse du débit de filtration glomérulaire.

D'un autre coté l'IRC induite entraîne une baisse du taux des protéines totales et de l'albumine sérique chez les souris.

Le statut de stress oxydant est concomitant avec l'IRC marqué par une augmentation de la peroxydation lipidique, et une baisse de l'activité des enzymes antioxydantes testées :CAT, GST ainsi l'antioxydant non enzymatique majeur le GSH.

Toutefois, l'administration du venin d'abeille a permis :

- Une augmentation du DFG marquée par une baisse de tous les paramètres sériques évoqués précédemment.
- Une augmentation du taux sérique des protéines totales et de l'albumine.
- Une restauration de l'activité catalase et le glutathion-S-transférase
- Une augmentation du taux du glutathion
- Une baisse du taux de MDA.

En conclusion le venin d'abeille exerce un effet néphroprotecteur par la suppression de l'inflammation et le stress oxydant rénal, il est capable de rétablir le fonctionnement des tubules rénaux et de corriger l'activité excrétoire. Ainsi, le venin d'abeille constitue une excellente alternative et une perspective optimiste à l'égard de l'IRC ; une pathologie qui suscite l'intérêt du fait de son caractère irréversible et l'éventualité de déclencher d'autres pathologies.

En perspective il serait judicieux d'étudier de manière approfondie :

- Le potentiel thérapeutique du venin d'abeille sur l'IRC de manière à évaluer sur un long terme son effet curatif afin de s'assurer de son innocuité.

CONCLUSION ET PERSPETIVES

Il serait intéressant d'étudier l'activité SOD et GP-x ainsi que le taux des TAC (Total antioxidant capacity) &TOS (Total oxidant status).

- Mesurer le facteur inflammatoire sérique TNF- α .
- Il est également nécessaire d'examiner le mécanisme d'action et la pharmacodynamique du venin d'abeille ainsi que le rôle de chaque composant du venin sur la pathologie rénale.
- Cette étude incite à reconsidérer l'activité anthropique qui participe intentionnellement dans le déclin des abeilles.

REFFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abd El-Wahed AA, Khalifa SAM, Sheikh BY, et al (2018) Bee Venom Composition: From Chemistry to Biological Activity. *Stud Nat Prod Chem* 60:459–484.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64181-6.00013-9>
- Abd SA, Rehim E, Abu E, et al (2022) Ameliorative Effects of Bradykinin Potentiating Factor Separated From Honey Bee Venom on Liver and Kidney of Hypothyroidic Male Rat ' s Model . 70:61–70
- Al Za'abi M, Al Busaidi M, Yasin J, et al (2015) Development of a new model for the induction of chronic kidney disease via intraperitoneal adenine administration, and the effect of treatment with gum acacia thereon. *Am J Transl Res* 7:28–38.
https://doi.org/10.1096/fasebj.29.1_supplement.938.3
- Alfarajat SMF, Mostafa ME, Abdel-Mogib M, et al (2023) Reno-protective Effect of Citrus sinensis by Regulating Antioxidant Capability and Gene Expression in Adenine-Induced Chronic Kidney in Rats. *Biointerface Res Appl Chem* 13:1–11.
<https://doi.org/10.33263/BRIAC134.349>
- Ali BH, Al-Salam S, Al Za'abi M, et al (2013) New model for adenine-induced chronic renal failure in mice, and the effect of gum acacia treatment thereon: Comparison with rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 68:384–393. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.05.001>
- Ali BH, Al Za'abi M, Adham SA, et al (2016) Therapeutic Effect of Chrysin on Adenine-Induced Chronic Kidney Disease in Rats. *Cell Physiol Biochem* 38:248–257.
<https://doi.org/10.1159/000438626>
- Ali BH, Al Za'abi M, Al Suleimani Y, et al (2020) Gum arabic reduces inflammation, oxidative, and nitrosative stress in the gastrointestinal tract of mice with chronic kidney disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 393:1427–1436.
<https://doi.org/10.1007/s00210-020-01844-y>
- Ali BH, Cahliková L, Opletal L, et al (2017) Effect of aqueous extract and anthocyanins of calyces of Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) in rats with adenine-induced chronic kidney disease. *J Pharm Pharmacol* 69:1219–1229. <https://doi.org/10.1111/jphp.12748>
- Allahbadia G, Human F, Singh M (2022) The Feasibility of Potential Utilization of Bilirubin as a Biomarker & Therapeutic Target for Treatment of Diabetic Kidney Disease : A Narrative Review
- Allahyari M, Samadi-Noshahr Z, Hosseinian S, et al (2021) Camel Milk and Allopurinol Attenuated Adenine-induced Acute Renal Failure in Rats. *Iran J Sci Technol Trans A Sci* 45:1539–1548. <https://doi.org/10.1007/s40995-021-01155-8>
- Amra E-SA, Lashein FE-DM, Seleem AA, Badr AH (2018) Counter effect of bee venom and its extracted bradykinin-potentiating factor on acrylamide and chips administration-induced complications in the liver and kidney of male mice. *J Basic Appl Zool* 79:.
<https://doi.org/10.1186/s41936-018-0049-z>
- Azevedo-Marques MM, Ferreira DB, Costa RS (1992) Rhabdomyonecrosis experimentally induced in Wistar rats by Africanized bee venom. *Toxicon* 30:344–348.
[https://doi.org/10.1016/0041-0101\(92\)90875-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90875-6)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bava R, Castagna F, Musella V, et al (2023) Therapeutic Use of Bee Venom and Potential Applications in Veterinary Medicine. *Vet Sci* 10:1–24. <https://doi.org/10.3390/vetsci10020119>
- Bayir H (2005) Reactive oxygen species. *Crit Care Med* 33:. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12>
- Berkache K, Bengharez Z, Poitier B, et al (2021) End-stage kidney disease in Sidi Bel Abbes, Algeria: Epidemiological profile of hemodialysis patients from 2015 to 2018. *Clin Epidemiol Glob Heal* 12:100808. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2021.100808>
- Bessaguet F, Desmoulière A (2020) Les reins. *Actual Pharm* 59:57–60. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.03.017>
- Betteridge DJ (2000) What is oxidative stress? *Metabolism* 49:3–8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- Biggs G, Pathology C (1965) Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. 87–96
- Bonfanti U, Zini E, Minetti E, Zatelli A (2004) Free light-chain proteinuria and normal renal histopathology and function in 11 dogs exposed to *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, and *Babesia canis*. *J Vet Intern Med* 18:618–624. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<618:FLPANR>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<618:FLPANR>2.0.CO;2)
- Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD (1978) Glomerular permselectivity: Barrier function based on discrimination of molecular size and charge. *Am J Physiol - Ren Fluid Electrolyte Physiol* 3:455–460. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1978.234.6.f455>
- Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Krause KH (2012) Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Med Wkly* 142:. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>
- Cannell JJ, Vieth R, Willett W, et al (2008) Cod liver oil, vitamin A toxicity, frequent respiratory infections, and the vitamin D deficiency epidemic. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 117:864–870. <https://doi.org/10.1177/000348940811701112>
- Cardiff RD, Miller CH, Munn RJ (2014) Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb Protoc* 2014:655–658. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot073411>
- Carney JM, Starke-Reed PE, Oliver CN, et al (1991) Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin-trapping compound N-tert-butyl- α -phenylnitron. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:3633–3636. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.9.3633>
- Carpena M, Nuñez-Estevez B, Soria-Lopez A, Simal-Gandara J (2020) Bee venom: An updating review of its bioactive molecules and its health applications. *Nutrients* 12:1–27. <https://doi.org/10.3390/nu12113360>
- Chen R, Xu L, Zhang X, et al (2022) Protective effect and mechanism of Shenkang injection on adenine-induced chronic renal failure in rats. *Acta Cir Bras* 37:. <https://doi.org/10.1590/acb370304>
- Cheng T, Wang X, Han Y, et al (2023) The level of serum albumin is associated with renal prognosis and renal function decline in patients with chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 24:1–18. <https://doi.org/10.1186/s12882-023-03110-8>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chiolero A, Würzner G, Burnier M (2000) Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: Moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques? *Néphrologie* 21:425–430
- Chowdhury MNK (2023) Fluctuation of serum creatinine: preoperative and postoperative evaluation of chronic kidney disease patients. *J Clin Nephrol* 7:012–017. <https://doi.org/10.29328/journal.jcn.1001102>
- Chuang EL, Reineck HJ, Osgood RW, et al (1978) Studies on the mechanism of reduced urinary osmolality after exposure of renal papilla. *J Clin Invest* 61:633–639. <https://doi.org/10.1172/JCI108974>
- Cipriani S, Ricci E, Chiaffarino F, et al (2013) Epidemiology and risk factors. *Endometrial Cancer Prev Diagnosis Treat* 1:1–16. <https://doi.org/10.1016/j.cqn.2012.09.004>
- Ckd DOF, Graded N (2013) Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl* 3:19–62. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.64>
- Clark WF, Sontrop JM, Huang SH, et al (2016) Hydration and chronic kidney disease progression: A critical review of the evidence. *Am J Nephrol* 43:281–292. <https://doi.org/10.1159/000445959>
- D'amico G, Bazzi C (2003) Pathophysiology of proteinuria Nephron molecules extending toward each other from two adjacent foot processes are likely to interact in the slit through homophilic interactions and covalent cross. *Kidney Int* 63:809–825
- da Silva Junior GB, Vasconcelos Junior AG, Rocha AMT, et al (2017) Acute kidney injury complicating bee stings – A review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 59:1–7. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201759025>
- Dantzer WH, Layton AT, Layton HE, Pannabecker TL (2014) Urine-concentrating mechanism in the inner medulla: Function of the thin limbs of the loops of henle. *Clin J Am Soc Nephrol* 9:1781–1789. <https://doi.org/10.2215/CJN.08750812>
- Davidson WD, Springberg PD, Falkenburg NR (1973) Renal Extraction and Excretion of Endogenous Gastrin in the Dog. *Gastroenterology* 64:955–961. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(73\)80007-1](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(73)80007-1)
- Davis O. J, Freeman H. R (1976) Mechanisms Regulating Renin Release. *Physiol Rev* 56:1–56
- Delanaye P (2019) *Kidney function, Third Edit.* ACADEMIC PRESS, INC.
- Diwan V, Mistry A, Gobe G, Brown L (2013) Adenine-induced chronic kidney and cardiovascular damage in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 68:197–207. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.05.006>
- Duckworth WC, Bennett RG, Hamel FG (1998) Insulin degradation: Progress and potential. *Endocr Rev* 19:608–624. <https://doi.org/10.1210/er.19.5.608>
- Dussol B (2014) Acid-base homeostasis: Metabolic acidosis and metabolic alkalosis. *Nephrol Ther* 10:246–257. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2014.05.004>
- Eckardt KU, Berns JS, Rocco M V., Kasiske BL (2009) Definition and Classification of CKD: The Debate Should Be About Patient Prognosis-A Position Statement From KDOQI and KDIGO. *Am J Kidney Dis* 53:915–920. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.04.001>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ELFIKY A, ALBITAR D (2023) Safety Study of Bee Venom Injected in Albino Rabbits. *J Egypt Soc Parasitol* 53:151–156. <https://doi.org/10.21608/jesp.2023.297362>
- Elkomy A, El-Hanoun A, Abdella M, El-Sabroun K (2021) Improving the reproductive, immunity and health status of rabbit does using honey bee venom. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 105:975–983. <https://doi.org/10.1111/jpn.13552>
- Elshater A-E, Mohi Eldin M, Salman M, Kasem N (2014) The curative effect of Bee Venom and Propolis on oxidative stress induced by γ -irradiation on blood and tissues of rats. *Egypt Acad J Biol Sci C, Physiol Mol Biol* 6:53–69. <https://doi.org/10.21608/eajbsc.2014.16047>
- Ernst E (2000) The role of complementary and alternative medicine in cancer. *Lancet Oncol* 1:176–180. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(00\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(00)00031-0)
- Ernst E (2008) The Recent History of Acupuncture. *Am J Med* 121:1027–1028. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.04.037>
- Fathallah-Shaykh SA, Cramer MT (2014) Uric acid and the kidney. *Pediatr Nephrol* 29:999–1008. <https://doi.org/10.1007/s00467-013-2549-x>
- Fernandez-Villaverde, Gueron-Quintana, Rubio-Ramirez et Uribe (2015) (2014) 濟無No Title No Title No Title. *Pap Knowl Towar a Media Hist Doc*
- Fontanarosa PB, Lundberg GD (1998) Alternative medicine meets science. *Jama* 280:1618–1619. <https://doi.org/10.1001/jama.280.18.1618>
- Forssmann WG, Meyer M, Forssmann K (2001) The renal urodilatin system: Clinical implications. *Cardiovasc Res* 51:450–462. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(01\)00331-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(01)00331-5)
- Foufelle F, Ferré P (2007) Unfolded protein response: Its role in physiology and physiopathology. *Medecine/Sciences* 23:291–296. <https://doi.org/10.1051/medsci/2007233291>
- Gattea Al-Rikabi Z, Alsafar M, Sajir Naser H, et al (2019) Internal Section, Kashkol (2019) Impact of Using Different Concentrations of Bee Venom on Hematological Measures, Liver and Kidney Functions in Laboratory Mice. *J Int Pharm Res* 5:380–386
- Gomati R, Boopathy U (2023) *Journal of Advanced Zoology*. *J Adv Zool* 44:1770–1780
- Gornall, A GBardawill CJ, David MM (1942) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 27:751–767
- Gottschalk CW, Mylle M (1997) Micropuncture study of the mammalian urinary concentrating mechanism: evidence for the countercurrent hypothesis. *J Am Soc Nephrol* 8:153–164
- Guerra-Araiza C, Álvarez-Mejía AL, Sánchez-Torres S, et al (2013) Effect of natural exogenous antioxidants on aging and on neurodegenerative diseases. *Free Radic Res* 47:451–462. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.795649>
- Guyton AC (1991) Blood Pressure Control—Special Role of the Kidneys and Body Fluids. *Science* (80-) 252:1813–1816. <https://doi.org/10.1126/science.2063193>
- Gyurászová M, Gurecká R, Bábíčková J, Tóthová Ľ (2020) Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Identification of Biomarkers. *Oxid Med Cell Longev* 2020:.
<https://doi.org/10.1155/2020/5478708>
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249:7130–7139
- Hassan SA, Alazragi RS, Salem NA (2021) Potential Therapeutic effect of Bee Venom on Cisplatin-Induced Hepatotoxicity. *J Pharm Res Int* 33:200–210.
<https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i29a31579>
- Head JM (1968) The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at HOUSTON ACADEMY OF MEDICINE on September 19, 2013. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. 2010–2012
- Helmut Sies, Carsten Berndt and DPJ (2017) Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*. *Annu Rev Biochem* 86:715–748
- Hermann K, von Eschenbach CE, von Tschirschnitz M, Ring J (1993) Plasma concentrations of arginine vasopressin, oxytocin and angiotensin in patients with hymenoptera venom anaphylaxis. *Regul Pept* 49:1–7. [https://doi.org/10.1016/0167-0115\(93\)90377-K](https://doi.org/10.1016/0167-0115(93)90377-K)
- Hoffman DL, Dukes EM (2008) The health status burden of people with fibromyalgia: A review of studies that assessed health status with the SF-36 or the SF-12. *Int J Clin Pract* 62:115–126. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01638.x>
- Huang Y, Wu CX, Guo L, et al (2022) Effects of polysaccharides-riched Prunus mume fruit juice concentrate on uric acid excretion and gut microbiota in mice with adenine-induced chronic kidney disease. *Curr Res Food Sci* 5:2135–2145.
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.028>
- Ighodaro OM, Akinloye OA (2018) First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med* 54:287–293.
<https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Intan (2004) The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 50:211–219
- Iorember FM (2018) Malnutrition in chronic kidney disease. *Front Pediatr* 6:.
<https://doi.org/10.3389/fped.2018.00161>
- Iseki K, Kinjo K, Iseki C, Takishita S (2004) Relationship between predicted creatinine clearance and proteinuria and the risk of developing ESRD in Okinawa, Japan. *Am J Kidney Dis* 44:806–814. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.07.007>
- Jadid N, Hidayati D, Hartanti SR, et al (2017) Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using DPPH assay. *AIP Conf Proc* 1854:.
<https://doi.org/10.1063/1.4985410>
- Jang MH, Piao XL, Kim JM, et al (2008) Inhibition of cholinesterase and amyloid- β aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. *Phyther Res* 22:544–549.
<https://doi.org/10.1002/ptr>
- Jelkmann W (2013) Physiology and pharmacology of erythropoietin. *Transfus Med Hemotherapy* 40:302–309. <https://doi.org/10.1159/000356193>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Jelkmann W (2011) Regulation of erythropoietin production. *J Physiol* 589:1251–1258. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.195057>
- Kaplowitz N, José C, Fernández-Checa, et al (1996) GSH transporters: Molecular characterization role in GSH homeostasis. *Biol Chem Hoppe Seyler* 377:267–273
- Kawamoto R, Ninomiya D, Hasegawa Y, et al (2014) Association between serum bilirubin and estimated glomerular filtration rate among elderly persons. *PLoS One* 9:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115294>
- Kelley EE, Khoo NKH, Hundley NJ, et al (2010) Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radic Biol Med* 48:493–498. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.012>
- Khan MR, Ahmed D (2009) Protective effects of *Digera muricata* (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food Chem Toxicol* 47:1393–1399. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.03.020>
- Kim H, Hong JY, Jeon WJ, et al (2020) Bee Venom Melittin Protects against Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Mice via the Regulation of M2 Macrophage Activation. *Toxins (Basel)* 12:. <https://doi.org/10.3390/toxins12090574>
- Kim H, Lee G, Park S, et al (2013) Bee venom mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity by regulating CD4 +CD25+Foxp3+ regulatory T cells in mice. *Evidence-based Complement Altern Med* 2013:. <https://doi.org/10.1155/2013/879845>
- Klein JD, Blount MA, Sands JM (2012) Molecular mechanisms of urea transport in health and disease. *Pflugers Arch* 464:561–572. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1157-0>
- Knox FG, Osswald H, Marchand GR (1977) Phosphate transport along the nephron. *Am J Physiol - Ren Fluid Electrolyte Physiol* 2:. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1977.233.4.f261>
- Korshunov SS, Krasnikov BF, Pereverzev MO, Skulachev VP (1999) The antioxidant functions of cytochrome c. *FEBS Lett* 462:192–198. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)01525-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01525-2)
- Kovesdy CP (2022) Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl* 12:7–11. <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2021.11.003>
- Langenberg C, Bagshaw SM, May CN, Bellomo R (2008) The histopathology of septic acute kidney injury: A systematic review. *Crit Care* 12:1–7. <https://doi.org/10.1186/cc6823>
- Lee G, Bae H (2016) Anti-inflammatory applications of melittin, a major component of bee venom: Detailed mechanism of action and adverse effects. *Molecules* 21:. <https://doi.org/10.3390/molecules21050616>
- Lee WR, Pak SC, Park KK (2015) The protective effect of bee venom on fibrosis causing inflammatory diseases. *Toxins (Basel)* 7:4758–4772. <https://doi.org/10.3390/toxins7114758>
- Li L, Nakano D, Zhang A, et al (2020) Effects of post-renal anemia treatment with the HIF-PHD inhibitor molidustat on adenine-induced renal anemia and kidney disease in mice. *J Pharmacol Sci* 144:229–236. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.09.004>
- Liang CC, Muo CH, Wang IK, et al (2014) Peptic ulcer disease risk in chronic kidney disease: Ten-year incidence, ulcer location, and ulcerogenic effect of medications. *PLoS*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- One 9:1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087952>
- Liebert MA, Jones DP (2006) Jones2006 (1). 8:
- Lorbach SK, Hokamp JA, Quimby JM, Cianciolo RE (2020) Clinicopathologic characteristics, pathology, and prognosis of 77 dogs with focal segmental glomerulosclerosis. *J Vet Intern Med* 34:1948–1956. <https://doi.org/10.1111/jvim.15837>
- Moolchandani K, Priyadarssini M, Rajappa M, et al (2016) Serum bilirubin: a simple routine surrogate marker of the progression of chronic kidney disease. *Br J Biomed Sci* 73:188–193. <https://doi.org/10.1080/09674845.2016.1182674>
- Msiska O V., Kanyerere GZ, Marie-Anne d'Almeida, et al (2020) Current Research Trends in Biological Science Vol. 3. *Curr Res Trends Biol Sci Vol 3*. <https://doi.org/10.9734/bpi/crtbs/v3>
- Muhammad MMA, Mouchira M, Naglaa RA (2015) Physiological effects of Bee Venom and Propolis on irradiated Albino rats. *Danish J Agric Anim Sci* 11–21
- Nadkarni GN, Uribarri J (2014) Phosphorus and the kidney: What is known and what is needed. *Adv Nutr* 5:98–103. <https://doi.org/10.3945/an.113.004655>
- Nascimento de Souza R, Silva FK, Alves de Medeiros M (2017) Bee Venom Acupuncture Reduces Interleukin-6, Increases Interleukin-10, and Induces Locomotor Recovery in a Model of Spinal Cord Compression. *JAMS J Acupunct Meridian Stud* 10:204–210. <https://doi.org/10.1016/j.jams.2017.04.003>
- Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (2018) PromoScience Eligability. *Ann Intern Med* 150:604–612
- Nebert DW, Vasiliou V (2004) Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum Genomics* 1:460–464. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-1-6-460>
- Nemmar A, Karaca T, Beegam S, et al (2017) Lung oxidative stress, DNA damage, apoptosis, and fibrosis in adenine-induced chronic kidney disease in mice. *Front Physiol* 8:1–10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00896>
- Nemmar A, Karaca T, Beegam S, et al (2016) Prolonged pulmonary exposure to diesel exhaust particles exacerbates renal oxidative stress, inflammation and DNA damage in mice with adenine-induced chronic renal failure. *Cell Physiol Biochem* 38:1703–1713. <https://doi.org/10.1159/000443109>
- Njålsson R, Norgren S (2005) Physiological and pathological aspects of GSH metabolism. *Acta Paediatr Int J Paediatr* 94:132–137. <https://doi.org/10.1080/08035250410025285>
- Norman, A W (2008) From vitamin D to hormone D: Fundamentals of vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 88:491S-499S
- Olson JS, Ballou DP, Palmer G, Massey V (1974) The mechanism of action of xanthine oxidase. *J Biol Chem* 249:4363–4382. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)42428-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)42428-9)
- Pallabi P (2018) Volume 2 • Issue 1 • 1000109 *J Morphol Anat*, an open access journal
Citation: Pallabi P (2018) Some Information about the Morphology and Anatomy of the Human Kidney. *J Morphol Anat* 2:109
- Pamela A, Perini-perera S, Del-angel-caraza J, et al (2023) Proteinuria and Electrophoretic Pattern in Dogs with Comorbidities Associated with Chronic Kidney Disease

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pasquier C (1995) Stress oxydatif et inflammation. *Rev Fr des Lab* 1995:87–92.
[https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(95\)80364-5](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(95)80364-5)
- Pedraza-Chaverri J, Sánchez-Lozada LG, Osorio-Alonso H, et al (2016) New Pathogenic Concepts and Therapeutic Approaches to Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *Oxid Med Cell Longev* 2016:. <https://doi.org/10.1155/2016/6043601>
- Pereverzev MO, Vygodina T V., Konstantinov AA, Skulachev VP (2003) Cytochrome c, an ideal antioxidant. *Biochem Soc Trans* 31:1312–1315. <https://doi.org/10.1042/bst0311312>
- PFALLER W, RITTINGER M (1980) *Quantitative Morphology of the Rat Kidney*. Pergamon Press Ltd
- Piette J (1991) New trends in photobiology. Biological consequences associated with DNA oxidation mediated by singlet oxygen. *J Photochem Photobiol B Biol* 11:241–260.
[https://doi.org/10.1016/1011-1344\(91\)80030-L](https://doi.org/10.1016/1011-1344(91)80030-L)
- Prokić M, Borković-Mitić S, Krizmanić I, et al (2017) Comparative study of oxidative stress parameters and acetylcholinesterase activity in the liver of *Pelophylax esculentus* complex frogs. *Saudi J Biol Sci* 24:51–58. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.003>
- Putnam CD, Arvai AS, Bourne Y, Tainer JA (2000) Active and inhibited human catalase structures: Ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *J Mol Biol* 296:295–309. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3458>
- Rartels H, Böhmer M (1971) Eine mikromethode 7air kreatininbestimmung. *Clin Chim Acta* 32:81–85. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(71\)90467-0](https://doi.org/10.1016/0009-8981(71)90467-0)
- Rayner H, Milford D, Thomas M (2016) Understanding kidney diseases. *Underst Kidney Dis* 1–300. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23458-8>
- Rennke HG, Patel Y, Venkatachalam MA (1978) Glomerular filtration of proteins: Clearance of anionic, neutral, and cationic horseradish peroxidase in the rat. *Kidney Int* 13:278–288. <https://doi.org/10.1038/ki.1978.41>
- Rennke HG, Venkatachalam MA (1977) Glomerular permeability: in vivo tracer studies with polyanionic and polycationic ferritins. *Kidney Int* 11:44–53.
<https://doi.org/10.1038/ki.1977.6>
- Rérat A, Lisoprawski C, Vaissade P, Vaugelade P (1979) Métabolisme de l'urée dans le tube digestif du porc : données préliminaires qualitatives et quantitatives. *Bull Acad Vet Fr* 132:333–346. <https://doi.org/10.4267/2042/65480>
- RINDERKNECHT H (1946) The mode of action of some antibiotics. *Pharm J* 102:256
- Ross R, Kingdom U (1985) Results Table 1 shows the circulating levels of Ca , P , PTH , 1 , 25- (OH) 2 D 3 and CaBP . The number of observations are lower than the theoretical maximum of 8 owing to sample loss during preparation and the sudden death of one pig in the low P grou. 17:78–81
- Sanders GTB, Paskan AJ, Hoek FJ (1980) Determination of uric acid with uricase and peroxidase. *Clin Chim Acta* 101:299–303. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(80\)90257-0](https://doi.org/10.1016/0009-8981(80)90257-0)
- Sands JM, Layton HE (2014) Advances in understanding the urine-concentrating mechanism. *Annu Rev Physiol* 76:387–409. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170350>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Santana AC, Degaspari S, Catanozi S, et al (2013) Thalidomide suppresses inflammation in adenine-induced CKD with uraemia in mice. *Nephrol Dial Transplant* 28:1140–1149. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs569>
- Sautin YY, Johnson RJ (2008) Uric acid: The oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* 27:608–619. <https://doi.org/10.1080/15257770802138558>
- Schaefer TJ, Wolford RW (2005) Disorders of potassium. *Emerg Med Clin North Am* 23:723–747. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2005.03.016>
- Schreibelt G, van Horssen J, van Rossum S, et al (2007) Therapeutic potential and biological role of endogenous antioxidant enzymes in multiple sclerosis pathology. *Brain Res Rev* 56:322–330. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.07.005>
- Sig AK, Güney M, Öz Sig Ö, Şan H (2019) Bee venom: A medical perspective. *Turkish J Clin Lab* 10:414–421. <https://doi.org/10.18663/tjcl.451586>
- Sobral F, Sampaio A, Falcão S, et al (2016) Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. *Food Chem Toxicol* 94:172–177. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.008>
- Solak Y, Yilmaz MI, Sonmez A, et al (2013) Neutrophil to lymphocyte ratio independently predicts cardiovascular events in patients with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 17:532–540. <https://doi.org/10.1007/s10157-012-0728-x>
- Son DJ, Lee JW, Lee YH, et al (2007) Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacol Ther* 115:246–270. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004>
- Sontrop JM, Dixon SN, Garg AX, et al (2013) Association between water intake, chronic kidney disease, and cardiovascular disease: A cross-sectional analysis of NHANES data. *Am J Nephrol* 37:434–442. <https://doi.org/10.1159/000350377>
- Snodgrass, Robert E. *Anatomy of the honey bee*. Cornell University Press, 1956.
- Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, et al (2014) Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol* 4:1201–1228. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130040>
- Stux G (1987) 2 History of Acupuncture
- Suárez-Álvarez B, Liapis H, Anders HJ (2016) Links between coagulation, inflammation, regeneration, and fibrosis in kidney pathology. *Lab Invest* 96:378–390. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.164>
- Suryavanshi S V., Gharpure M, Kulkarni YA (2020) Sodium copper chlorophyllin attenuates adenine-induced chronic kidney disease via suppression of TGF-beta and inflammatory cytokines. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 393:2029–2041. <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01912-3>
- Syariah KB, Ilmu G No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析Title. 1–6
- Talke VM, Schub~xt GE (1965) Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach WARBURG *. *Inst f Physiol Chemie* 69:174–175
- Tanner GA (2008) Part VI: Renal Physiology and Body Fluids. Chapter 23: Kidney Function.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Med Physiol 377–402

Tareq Al-Ameri D, Sabah Alhasan A, Rahim Kadkim H (2022) A Review On Bee Venom And Its Medical Uses. *Volatiles Essent Oils* 9:555–560

Tew KD, Ronai Z (1999) GST function in drug and stress response. *Drug Resist Updat* 2:143–147. <https://doi.org/10.1054/drup.1999.0086>

Thaler M, Luppia PB, Schlebusch H (2008) Die bilirubinbestimmung - Eine aktuelle übersicht. *LaboratoriumsMedizin* 32:1–10. <https://doi.org/10.1515/JLM.2008.005>

Tradit AJ, Altern C, Tong Y, et al (2010) PROTECTION OF CHINESE HERBS AGAINST ADENINE-INDUCED CHRONIC RENAL FAILURE IN RATS Chinese Medicine , Changchun city , Jilin province , China ., 2 Department of Nephrology , The First China ., 3 Department of Nephrology , The First Affiliated Hospital to . 7:331–338

Trevisani F, Di Marco F, Capitanio U, et al (2021) Renal histology across the stages of chronic kidney disease. *J Nephrol* 34:699–707. <https://doi.org/10.1007/s40620-020-00905-y>

Tucker BJ, Blantz RC (1977) An analysis of the determinants of nephron filtration rate. *Am J Physiol* 232:477–483. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1977.232.6.f477>

Tzanakaki E, Boudouri V, Stavropoulou A, et al (2014) Causes and complications of chronic kidney disease in patients on dialysis. *Heal Sci J* 8:343–349

Wang J, Wang F, Yun H, et al (2012) Effect and mechanism of fucoidan derivatives from *Laminaria japonica* in experimental adenine-induced chronic kidney disease. *J Ethnopharmacol* 139:807–813. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.12.022>

Wang Y, Wang Y, Cai Q, et al (2008) By homing to the kidney, activated macrophages potently exacerbate renal injury. *Am J Pathol* 172:1491–1499. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070825>

Wasung ME, Chawla LS, Madero M (2015) Biomarkers of renal function, which and when? *Clin Chim Acta* 438:350–357. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.08.039>

Weaver DJ (2019) Uric acid and progression of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 34:801–809. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3979-2>

Webster AC, Nagler E V., Morton RL, Masson P (2017) Chronic Kidney Disease. *Lancet* 389:1238–1252. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32064-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32064-5)

Weckbecker G, Cory JG (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Lett* 40:257–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)

Wehbe R, Frangieh J, Rima M, et al (2019) Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. *Molecules* 24:1–13. <https://doi.org/10.3390/molecules24162997>

White A, Ernst E (2004) A brief history of acupuncture. *Rheumatology* 43:662–663. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keg005>

Wu TW, Carey D, Wu J, Sugiyama H (1991) The cytoprotective effects of bilirubin and biliverdin on rat hepatocytes and human erythrocytes and the impact of albumin. *Biochem Cell Biol* 69:828–834. <https://doi.org/10.1139/o91-123>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Zahran F, Mohamad A, Zein N (2021) Bee venom ameliorates cardiac dysfunction in diabetic hyperlipidemic rats. *Exp Biol Med* 246:2630–2644. <https://doi.org/10.1177/15353702211045924>
- Zaworra M, Nauen R (2019) New approaches to old problems: Removal of phospholipase A2 results in highly active microsomal membranes from the honey bee, *Apis mellifera*. *Pestic Biochem Physiol* 161:68–76. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.014>
- Zhang C, Liu Y, Feng C, et al (2015) Loss of PEG chain in routine SDS-PAGE analysis of PEG-maleimide modified protein. *Electrophoresis* 36:371–374. <https://doi.org/10.1002/elps.201400373>
- Zhang S, Liu Y, Ye Y, et al (2018) Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. *Toxicon* 148:64–73. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.012>
- Zhu J, Li J, Yang L, Liu S (2021) Acupuncture, from the ancient to the current. *Anat Rec* 304:2365–2371. <https://doi.org/10.1002/ar.24625>
- Zhuo JL, Li XC (2013) Proximal nephron. *Compr Physiol* 3:1079–1123. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110061>

ANNEXE

Préparation des solutions :

Dosage du glutathion :

- Solution EDTA (0,02M) : dissoudre 5,613g EDTA dans 750 ml d'eau distillée.
- Tampon Tris + EDTA (0,4 M Tris + 0,02 M EDTA), pH 9,6 : dissoudre 48,45g Tris + 5,84 g EDTA dans 1000 ml d'eau distillée.
- Solution DNTB 0,01 M) : dissoudre 200 mg DNTB dans 50 ml de méthanol absolu.
- Solution d'acide salicylique (0,25%) : dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée.

Dosage du MDA :

- Solution TCA (20%) : dissoudre 20 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée
- Solution Tris : dissoudre 0,15 g de tris dans 50 ml d'eau distillée.
- Solution TBA (0,67%) : dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 ml de la solution tris.

Dosage du CAT :

- Tampon phosphate (0,1M) :

Solution A : dissoudre 35,8 g de Na₂HPO₄ dans 1l d'eau distillée.

Solution B : dissoudre 13,8g de NaH₂PO₄ dans 1l d'eau distillée.

Mélanger 61,5 ml de la solution A et 438,5 ml de la solution B, et ajouter 21,39 g de saccharose.

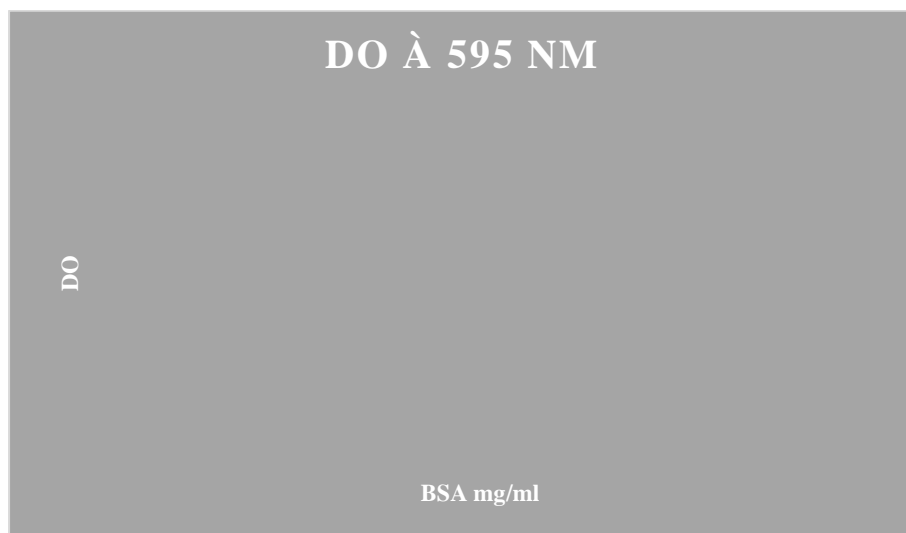
Dosage du GST :

- Solution CDNB (0,02M) : dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 ml d'éthanol absolu.
- Solution GSH (0,1M) : dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 ml d'eau distillée.

Dosage des proteines par la méthode de Bradford :

- Solution d'albumine de sérum de bovin-BSA- (1mg/ml) : dissoudre 5 mg de BSA dans 5ml d'eau distillée.
- Réactif de Bradford : dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1l de solution).

<i>BSA ml</i>	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
<i>DO à 595 nm</i>	0	0,05	0,1	0,15	0,20	0,25



Courbe de la gamme d'étalonnage.

Production scientifique :

Lara Aouadi, Faouzi Dahdouh & Houria Djebbar-Berrebbah (2024) Possible curative effect of venom collected from Algerian bees (*Apis mellifera intermissa*) on adenine-induced chronic kidney damage in mice, Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 11:1, 135-147, DOI: 10.1080/2314808X.2024.2327163

Faouzi DAHDOUH, Khaled BELHAMZAOUI, **Lara AOUADI**, Waleed ALDAHMAH, Abdel Halim HARRATH, Gabriel PLAVAN, Mohamed EL-AMINE SMAALI, Houria DEJEBAR-BERRABAH (2023) Bee Venom Causes Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Changes in the Kidney of Mice, Physiol. Res. 72: 455-463, doi: 10.33549/physiolres.935125

Communication :

*International seminar on the valorisation of agronomic ecological and food resources 18-20th october 2022, University august 20th 1955, Skikda, Algeria.

Effet du venin d'abeille sur l'amélioration de l'acide urique chez les souris.

Aouadi Lara, Dahdouh Faouzi

*Laboratory animal science African conference, 24-25 june 2023, USTHB Algiers, Algeria.

L'utilisation du mus musculus dans le traitement de l'IRC avec le venin d'abeille.

Aouadi Lara, Dahdouh Faouzi, Berrebbah Houria

*The 1st international seminar on biologyphysiology and physiopathology, October 18-19 th 2023, Hassiba Benbouali university of Chlef, Chlef, Algeria.

Aouadi Lara Dahdouh Faouzi Berrebbah Houria

Effet amélioratif du venin d'abeille sur la créatinémie et l'IRC.

*2nd National Conference on Applied Science and Advanced Materials, 2023, October 23-25, 2023, ENSET, Skikda, Algeria.

The effect of bee venom on adenine inducing renal hypercreatinemia in male mice

Aouadi Lara, Dahdouh Faouzi

*Le premier colloque doctoral national des sciences biologiques, 08-09 novembre 2023, Université Saad Dahleb 1, Blida, Algérie.

Utilisation du venin d'abeille dans le traitement de l'IRC chez les souris males.

Aouadi Lara, Dahdouh Faouzi, Berrebbah Houria

*1er Séminaire National sur la Vitalité de la Biodiversité et l'Ecosystème des Milieux Naturels, 06-07 Décembre 2023, ENSET, Skikda, Algérie.

Selenium nanoparticles and bee venom (*Apis mellifera intermissa*) improved kidney function in adenine-induced acute nephrotoxicity in mice.

Dahdouh Faouzi, Belhamzaoui Khaled, **Aouadi Lara**, Chebli Abdelhak, Namane Imen and Djebbar-Berrebbah Houria.

*1st Applied research in food sciences health and environment, December 17-18TH 2023, UBMA, Annaba, Algeria

Protective effect of selenium nanoparticles on adenine-induced oxidative kidney injury in mice.

Dahdouh Faouzi, Belhamzaoui Khaled, **Aouadi Lara**, Chebli Abdelhak, Namane Imen and Djebbar-Berrebbah Houria.