

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بوهران
Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biologie Moléculaire

Effet antioxydant de la gelée royale chez la souri Balb/c rendue allergique aux protéines de lait de vache

Présenté par :

Fillali Kaouther Nour el yakine
Zinelabidine Imane

Devant le jury :

Mme Chabane F	MCA	ESSB Oran	Présidente
Mme Guendouz M	MAA	ESSB Oran	Encadreur
Mme Boukhari Benahmed Daidj	MCB	ESSB Oran	Examinatrice 1
Mme Bouderbala H	MAA	ESSB Oran	Examinatrice 2

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Après avoir rendu grâce à Allah le Tout Puissant et le Miséricordieux qui nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements à notre encadreur Mme Guendouz Malika, maître de conférences classe B à l'école supérieure en sciences biologiques d'Oran, qui nous a guidé et encouragé au cours de ce travail, également pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa patience.

Nos hommages les plus respectueux s'adressent à Mme Chabane F qui nous a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury. Nous adressons également tous nos remerciements à Mme Boukhari Benahmed Daidj N et Mme Bouderbala H d'avoir accepter d'être examinatrices de notre mémoire.

Nous adressons enfin une pensée spéciale aux professeurs qui nous ont enseignés.

Dédicace

A Dieu, En qui j'ai toujours cru, En qui je croirai toujours.

A mes parents, sans qui je n'aurais jamais réalisé tout ce parcours.

Merci d'être toujours là pour moi, Puisse Allah vous garder longtemps auprès de nous et vous bénir infiniment.

A ma sœur Mériem et mon frère Youcef et ma chère Imane Pour leurs soutiens et leurs encouragements Continus.

Fillali Kaouther Nour el yakine

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma famille, qui m'a doté d'une éducation digne,
Son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A ma très chère mère,

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit, votre affection ma couvre, votre bienveillance ma guide et votre présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon cher père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

A vous mes frères, Nassim, Abd el madjid, Mohamed et mes belles sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé.

Sans oublier mon binôme Nour el yakine pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

Puisse Allah, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Imane Zinelabidine

Résumé

L'allergie aux protéines de lait de vache (APLV) est considérée comme un problème de santé publique. La compréhension de cette pathologie a permis de chercher d'autres pistes thérapeutiques telles que la thérapie antioxydante qui a connu une grande évolution ces dernières années. La gelée royale constitue un modèle naturel riche en antioxydants qui peut lutter contre le stress oxydant et prévenir les réponses allergiques.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet antioxydant de la gelée royale dans l'APLV en utilisant la souris Balb/c comme modèle expérimental.

La gelée royale (GR) utilisée dans ce travail a d'abord fait l'objet d'une évaluation de ses propriétés antioxydantes par le test de DPPH. Ensuite et en vue de l'étude de son effet antioxydant, 30 souris femelles Balb/c âgées de 4 semaines sont réparties en 3 groupes de 10 souris chacun. Un groupe témoin positif et un groupe témoin négatif et un groupe dont les souris reçoivent la gelée royale comme un prétraitement par un gavage gastrique à une dose de 1g/kg, les souris du groupe témoin positif sont gavées à l'eau physiologique pendant 7 jours consécutifs, toutes les souris de l'expérience excepté les témoins négatifs, sont sensibilisés par voie intrapéritonéale à la β -Lactoglobuline allergène majeur du lait de vache. Au 35^{ème} jours de l'expérimentation, un prélèvement du sang et des organes (foie et intestin) est effectué afin de mesurer la teneur en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) pour évaluer la peroxydation lipidique au niveau tissulaire et sérique. Enfin, l'impact de la GR sur l'inflammation allergique intestinale a été évalué par l'examen histologique et morphométrique.

Vu la situation exceptionnelle que vit le monde aujourd'hui suite à la pandémie causée par le Covid-19, ainsi que l'état de confinement instauré par notre gouvernement, le travail au niveau du laboratoire a été impossible, et nous nous sommes retrouvé dans l'incapacité de poursuivre notre travail expérimental. Seuls les résultats concernant l'étude histologique sur l'effet de la GR sur l'architecture intestinale, ont été obtenus.

En nous basant sur des expériences qui ont mis en évidence lien entre le stress oxydant et l'allergie aux protéines du lait de vache, nous avons déduit que la gelée royale grâce à ses propriétés antioxydantes et antiallergique peut moduler la réaction allergique et prévenir l'action délétère de la β -Lg en réduisant l'augmentation de la peroxydation lipidique. Elle prévient aussi l'altération de la muqueuse intestinale induite par l'immunisation.

Mots clés: Antioxydants, La gelée royale, APLV, Stress oxydant, β -Lactoglobuline.

Summary

Cow's milk protein allergy (CMPA) is considered a public health problem. Understanding this pathology has made it possible to look for other therapeutic options such as the antioxidant therapy, which has undergone a great evolution in recent years. Royal jelly (RJ) is a natural substance rich in antioxidants that can cope with oxidative stress and prevent allergic responses.

The aim of our work is to assess the antioxidant effect of royal jelly in CMPA using Balb/c mice as an experimental model.

The RJ used in this work was first evaluated for its antioxidant properties by the DPPH test. Then, with a view to studying its antioxidant effect, 30 female Balb/c mice, aged 4 weeks, are divided into 3 groups of 10 mice each. A positive control group, a negative control group and a group whose mice receive royal jelly as a pretreatment by gastric gavage at a dose of 1g/kg, mice of the positive control group received by gavage physiological water for 7 consecutive days, all experimental mice except negative controls, are sensitized by the intraperitoneal route to β -Lactoglobulin (β -Lg), a major allergen of cow's milk, on the 35th day of the experiment, a sampling of blood and organs (liver and intestine) is performed to measure the content of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and assess lipid peroxidation in sera and tissues. Finally, the impact of RJ on allergic intestinal inflammation is assessed by histological and morphometric examination.

Given the exceptional situation the world is experiencing today following the pandemic caused by Covid-19, as well as the state of containment established by our government, work at the laboratory 1 was impossible, and we found ourselves in the inability to continue our experimental work. Only the results concerning the histological study on the effect of GR on the intestinal architecture were obtained.

Based on several experiences that have shown the link between oxidative stress and cow's milk protein allergy, we have deduced that royal jelly, thanks to its antioxidant and antiallergic properties, can modulate the allergic reaction and prevent the deleterious action of β -Lg by reducing the increase in lipid peroxidation. It can also prevent damage of the intestinal lining caused by immunization.

Keywords: Antioxidants, Royal jelly, CMPA, Oxidative stress, β -Lactoglobulin

ملخص

تعتبر حساسية بروتينات حليب البقر مشكلة صحية هامة، لقد أتاح فهم هذه الحالة المرضية البحث عن طرق علاجية أخرى مثل العلاج بمضادات الأكسدة التي شهدت تطورا كبيرا في السنوات الأخيرة، غذاء ملكات النحل يعتبر نموذج غني بمضادات الأكسدة التي يمكن أن تقاوم الإجهاد التأكسدي وتمنع الحساسية. الهدف من هذا العمل هو تقييم تأثير مضادات الأكسدة المتواجدة في غذاء ملكات النحل على حساسية بروتينات حليب البقر باستخدام فئران التجارب

الهلام الملكي المستخدم في هذا العمل يتم أولا دراسة خصائصه المضادة للأكسدة بواسطة عدة اختبارات بعد ذلك لغرض دراسة تأثير هذا الأخير على الحساسية يتم تقسيم 30 فرد من أنثى الفئران إلى ثلاث مجموعات تحتوي كل واحدة على عشرة فئران، مجموعة الشواهد الايجابية و مجموعة الشواهد السلبية و مجموعة ثالثة أين تتلقى الفئران غذاء ملكات النحل كعلاج مسبق عن طريق تغذية معدية مباشرة بجرعة 1 غ/كغ، يتم تغذية الشواهد الايجابية بالماء الفيزيولوجي لمدة 7 أيام متتالية، يتم تحسيس جميع فئران التجربة ما عدا الشواهد السلبية داخل الصفاق بمسببات الحساسية البيتاكتوغلوبولين في اليوم 35 من التجربة يتم أخذ عينات من الدم و الأعضاء الأمعاء و الكبد من أجل إجراء اختبار لقياس محتوى المواد التفاعلية حمض ثيوباربيتريك لتقييم بيروكسيد الدهون على مستوى المصل و الأنسجة و أخيرا يتم تقييم تأثير الهلام الملكي على التهاب الأمعاء التحسسي عن طريق الفحص النسيجي و المورفولوجي.

نظرا للوضع الاستثنائي الذي يشهده العالم اليوم بعد الوباء الناجم عن فيروس كورونا وكذلك حالة الاحتواء التي انشأتها حكومتنا كان العمل على مستوى المخبر مستحيلا ووجدنا أنفسنا غير قادرين على مواصلة العمل التجريبي، تم الحصول فقط على النتائج المتعلقة بالدراسة النسيجية للأمعاء.

بناء على التجارب التي أظهرت صلة بين الإجهاد التأكسدي و حساسية بروتين حليب البقر لقد استنتجنا إن غذاء ملكات النحل بفضل خصائصه المضادة للأكسدة و المضادة للأكسدة يمكن أن تعدل رد الفعل التحسسي و تمنع التأثير الضار للبيتاكتوغلوبولين عن طريق خفض مستوى بيروكسيد الدهون كما انه يمنع تلف بطانة الأمعاء بسبب التحسيس.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، غذاء ملكات النحل، حساسية بروتين حليب البقر، الإجهاد التأكسدي، بيتاكتوغلوبولين

Tables de matières

Introduction	1
Rappel bibliographique	
Chapitre I: Physiopathologie de l'allergie aux protéines de lait de vache (APLV)	
1. Historique	3
2. Allergie aux protéines de lait de vache.....	3
3. Epidémiologie de l'allergie aux protéines de lait de vache	4
4. Mécanismes immunologiques de l'allergie aux protéines de lait de vache.....	4
4.1. Réaction d'hypersensibilité de type I (immédiat , à médiation IgE).....	4
4.1.1. Phase de sensibilisation	4
4.1.2. Phase effectrice	6
4.2. Réaction d'hypersensibilité de type IV (retardée , à médiation cellulaire).....	6
5. Relation entre le stress oxydatif et la réponse allergique.....	6
6. Stress oxydatif.....	8
6.1. Les radicaux libres	8
6.2. Les antioxydants.....	9
Chapitre II : la gelée royale	
1. La gelée royale.....	11
2. Les propriétés physico-chimiques de la gelée royale	11
2.1. Propriétés physique	11
2.2. Composition chimique	12
3. Propriétés thérapeutiques de la gelée royale.....	12
3.1. Activité antioxydante	12
3.2. Activité immunomodulatrice et antiallergique.....	15
4. Effet secondaire de la gelée royale	16
Matériels et méthodes	
1. Etudes des propriétés antioxydantes de la gelée royale	17
1.1. Echantillonnage et préparation des échantillons.....	17
1.2. Extraction des antioxydants	17
1.3. Dosage des antioxydants	17
1.3.1. Dosage des composés phénoliques	17
1.3.2. Dosage des flavonoïdes	18
1.3.3. Dosage des flavenoles.....	18

1.4. Evaluation de l'activité antioxydante	18
1.4.1. Activité antiradicalaire DPPH	18
2. Evaluation de l'effet antioxydant de la gelée royale chez des souris Balb/c rendue allergique à la β -Lactoglobuline	19
2.1. Animaux	19
2.1.1. Constitution des lots	19
2.2. Protocole d'immunisation à la β -Lactoglobuline	19
2.2.1. Rôle de l'adjuvant	20
2.3. Prélèvement de sang et des organes	20
3. Détermination de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	20
3.1. Au niveau sérique.....	20
3.2. Au niveau tissulaire.....	22
4. Etude histologique	22
4.1. Traitement des échantillons.....	22
4.1.1. Fixation	22
4.1.2. Déshydratation	22
4.1.3. Clarification	22
4.1.4. Inclusion.....	22
4.2. Traitement des lames	23
4.2.1. Etalement sur les lames.....	23
4.2.2. Déparaffinage.....	23
4.2.3. Réhydratation.....	23
4.2.4. Coloration	23
5. Analyse statistique	24

Résultats et discussion

1. Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes.....	26
1.1. Composés phénoliques	26
1.2. Teneurs en Flavonoïdes.....	27
1.3. Teneurs en flavonols	27
1.4. Évaluation de l'activité antioxydante	28
1.4.1. Activité antiradical DPPH	28
2. Evaluation de l'effet antioxydant de la gelée royale chez des souris Balb/c sensibilisées à la β -Lactoglobuline	29

3. Etude histologique	31
Conclusion	35
Références bibliographiques	36

Liste des figures

Figure 01 : Mécanismes cellulaire de l'allergie alimentaire IgE médiée.....	7
Figure 02 : Les différentes classes d'antioxydant	10
Figure 03 : Une cellule royale contenant une larve de future reine et la gelée royale.....	11
Figure 04 : Diagramme représentatif du protocole expérimental	21
Figure 05 : Observation microscopique d'un fragment de jéjunum d'une souris du groupe témoin négatif.....	33
Figure 06 : Observation microscopique d'un fragment de jéjunum d'une souris du groupe témoin positif ayant reçu per os une solution saline puis sensibilisées à la β -Lg	33
Figure 07 : Observation microscopique des fragments de jéjunums des souris ayant reçu per os la gelée royale à une dose de 1g/kg pendant 7 jours puis sensibilisées à la β -Lg	34

Liste des tableaux

Tableau 01 : L'incidence et la prévalence d'APLV en Algérie.....	5
Tableau 02 : Les radicaux libres oxygénés impliqués dans le stress oxydant.....	10
Tableau 03 : La composition chimique de la gelée royale	13
Tableau 04 : Composition de la solution mère du tampon phosphate salin PBS.....	25
Tableau 05 : Composition du colorant à l'hématéine de Harris.....	25

Liste d'abréviations

AAL : Acides aminés libres

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

Al(OH)₃ : Hydroxyde d'aluminium

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

AO : Agents oxydants

APLV : Allergie aux protéines de lait de vache

BHT : Butyl-hydroxy toluène.

CMH : Complexe Mageur d'Histocompatibilité

DDA : Acide dihydroxydécénoïque

DNP-KLH : Dinitrophenylated keyhole limpet hemocyanin

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

GAE : Gallic acid equivalent

GR : Gelée royale

H₂DA : Acide hydroxy-2-décanoïque

IgA : Immunoglobuline A

IgE : Immunoglobuline E

IL4: Interleukine 4

IPLV : Intolérance aux protéines de lait de vache

LB : Lymphocyte

LT: Lymphocyte

MDA : Malondialdéhyde.

Mg : Milligramme

ml : Millilitre

MRJP 3: Protéine majeure de la gelée royale

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

OVA : Ovalbumin

PBS : Tampon phosphate saline.

PH : Potentiel d'hydrogène

PLV : Protéines de lait de vache

ROS: Reactive Oxygen Species

SAB: Sérum albumine bovine

SDS : Dodécylsulfate de sodium

TBA : Acide thiobarbiturique.

TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique

Th1: Lymphocyte T helper 1

Th2: Lymphocyte T helper 2

ug EAG/ mg : Microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme.

β -Lg : Beta-lactoglobuline

Introduction

L'allergie alimentaire est un problème de santé publique dans les pays industrialisés et reste un sujet à controverse dans le monde scientifique et médical. Son incidence a été estimée à 4 % pour la population adulte et à 8 % pour les enfants (Sicherer & Sampson, 2014). Parmi les 170 allergènes alimentaires identifiés, les protéines de lait de vache (PLV) sont les premières responsables d'allergie alimentaire chez l'enfant et débute, le plus souvent, chez le nourrisson dans les premiers mois de vie. En Algérie, la prévalence de l'APLV est estimée à 3,64 % (Boughellout et al., 2015).

L'allergie aux protéines du lait de vache (APLV) occupe une place importante en allergologie pédiatrique alimentaire. Il s'agit d'une réaction exagérée et inadaptée du système immunitaire face à des protéines du lait de vache (PLV) qu'on peut trouver dans le lait premier âge, mais aussi dans le lait maternel lorsque la maman allaitante consomme des laitages (Dupont, 2008), C'est une réaction d'hypersensibilité immédiate médiée par les IgE mais peut également faire intervenir d'autres classes d'anticorps et/ou des mécanismes cellulaires responsables des manifestations retardées chroniques (Wal, 2011).

Lors de l'APLV, l'éviction de l'allergène est reconnue comme une forme de gestion efficace de la maladie, cependant l'éviter ne revient pas à un véritable traitement vu les conséquences que cela peut avoir sur la santé. Pour faire face à ce problème, l'immunothérapie spécifique à l'antigène qui consiste à administrer une quantité croissante d'allergène sur une période prolongée (Tordesillas et al., 2017) et les thérapies préventives qui se basent sur l'administration de nutriments à propriétés immunomodulatrices et antioxydantes sont prometteuses.

Beaucoup de chercheurs ont récemment démontré le rôle des radicaux libres oxygénés (ERO) dans la pathogenèse des allergies alimentaires (Kamer et al., 2010; Amin et al., 2015). Ces ERO sont produits en permanence mais en faible quantité, pour que la balance antioxydants/ prooxydants soit en équilibre. Si tel n'est pas le cas, par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Desmier, 2016).

La compréhension de cette allergie et les développements scientifiques dans l'alimentation permettent de proposer des prises en charge adaptées et de nouvelles thérapies dites « les thérapies antioxydantes ». Récemment, des études expérimentales sur des animaux ont montré qu'une supplémentation en substances antioxydantes telles que la vitamine E, les caroténoïdes et la taurine, permettent de diminuer très significativement la production d'anticorps antigénique de type IgE (Bando et al., 2003; Sato et al., 2004; Sato et al., 2010; Grar et al., 2015; Ainad-Tabet et al., 2019).

Actuellement, la tendance est à l'utilisation de la médecine traditionnelle, plus précisément, l'apithérapie qui est une discipline qui s'intéresse à l'emploi d'une variété de produits de la ruche (miel, pollen, gelée royale, propolis et cire) à des fins diététiques et thérapeutiques pour l'homme (Ballot-Fluri, 2010).

En effet, diverses études scientifiques s'intéressent particulièrement à la GR, ce qui lui redonne la vraie place que les anciens lui avaient attribuée. Cette miraculeuse substance a été longtemps utilisée pour renforcer le système immunitaire du fait de ses multiples effets immunomodulateurs (Nagai et al., 2006), antioxydants (Maqsoudlou et al., 2018) et anti-allergique (Okamoto et al., 2003). Une recherche menée sur la gelée royale réalisée par (Guendouz et al., 2017) a permis de montrer que cette dernière pouvait être un prétraitement efficace contre l'APLV.

Par ailleurs, la gelée royale agit contre les problèmes respiratoires et l'asthme, elle supprime les réactions allergiques du type I grâce à la restauration de la fonction des macrophages et des réponses des cytokines Th1/Th2 (Mehebodini et al., 2018).

Les acides gras insaturés, les acides aminés et les gamma-globulines, les enzymes, les protéines et les vitamines E et A aident le système immunitaire à combattre les infections, le cancer, les allergies et les inflammations. La plupart de ces composés se trouvent dans la GR, ce qui peut donc stimuler le système immunitaire.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude immunologique visant à contribuer à l'évaluation de l'effet antioxydant de la gelée royale sur l'allergie aux protéines de lait de vache. Cette étude nécessite au préalable la mise en place d'un modèle expérimental, notre choix a reporté sur la souris femelle de souche Balb/c.

Ce travail a donc pour but:

- Etudier les propriétés antioxydantes de la gelée royale.
- D'évaluer l'effet antioxydant de la gelée royale chez des souris Balb/c sensibilisées à la β -Lactoglobuline.
- Evaluer les effets de la gelée royale sur l'aspect histologique de l'intestin.

Rappels bibliographiques

Chapitre I: Physiopathologie de l'allergie aux protéines de lait de vache (APLV)

1. Historique

Au début du vingtième siècle, la littérature allemande permet de retrouver les premières descriptions de symptômes tels que des diarrhées ou des retards de croissance chez les enfants nourris aux protéines lactées bovines. En 1905, le premier cas de choc anaphylactique mortel après ingestion de lait de vache a été publié. En 1910, le terme « allergie au lait de vache » a été proposé pour la première fois en posant l'hypothèse d'une première exposition au lait de vache responsable de la modification de la réactivité au lait lors des prises suivantes. À partir des années 1950, des publications rapportent l'augmentation de l'allergie ou intolérance au lait de vache (APLV/IPLV).

Cette dernière est probablement liée à la diminution de l'allaitement maternel et à l'augmentation de l'utilisation de formules à base de lait de vache (Molkhou, 2006). De plus, la transmission de protéines lactées à l'enfant au cours de l'allaitement a bien été confirmée et le mécanisme de sensibilisation *in utero* étudié et détaillé par différentes équipes. Dans la seconde moitié du vingtième siècle, les mécanismes immunologiques de l'allergie alimentaire ont été analysés, grâce aux progrès réalisés en immunologie (Navarro & Schmitz, 1993).

2. Allergie aux protéines de lait de vache (APLV)

L'APLV est définie par la survenue de manifestations cliniques dues à une réponse immunologique anormale après ingestion des protéines lactées bovines (Dupont et al., 2010).

Parmi les protéines responsables de l'APLV, les trois allergènes principaux sont l' α lactalbumine, la β -Lg et la caséine (Wal, 1998; Natale et al., 2004; Tsabouri et al., 2014) ainsi que d'autres protéines telles que la sérum albumine bovine (SAB) et la lactoferrine (présente sous forme de traces) qui sont aussi des allergènes potentiels (Sharma et al., 2001; Fritsche, 2003; Negaoui et al., 2016).

À la différence des autres allergies, l'APLV est transitoire (Saïdi et al., 1995). Elle se résorbe spontanément dans la majorité des cas entre 3 à 5 ans (Juchet et al., 2003; Sicherer & Sampson, 2010). Cependant, l'étude de Spergel et al. (2013) montre que le taux de résolution spontanée à l'âge de 5 ans est plus faible de l'ordre de 50 % avec une acquisition de tolérance qui peut se poursuivre jusqu'à l'adolescence.

Les symptômes ne sont pas spécifiques et peuvent recouvrir des manifestations allant de légères à sévères qui affectent souvent différents organes (la peau, les voies respiratoires, le tractus gastro-intestinal et la circulation systémique) ou même des réactions généralisées

(irritabilité, troubles du sommeil, une mauvaise croissance ou choc anaphylactique) (Wal, 2011; Wood et al., 2013; Salvatore & Vandenplas, 2016).

3. Epidémiologie de l'allergie aux protéines de lait de vache

La fréquence de l'APLV a considérablement augmenté au cours des dernières années (Molckhou, 2003); classée comme la quatrième allergie alimentaire derrière l'œuf, l'arachide et le poisson, elle représente 12,6 % des allergies alimentaires de l'enfant, en touchant 2 à 3 % des nourrissons.

Dans la population générale mondiale, l'incidence de l'APLV varie de 0,1 à 7,5 % (Osborne, 2011; Ponvert, 2014). En Algérie peu de données sont disponibles sur l'incidence et la prévalence de l'APLV, cependant quelques cliniciens et biologistes s'y sont intéressés (Tableau 01).

4. Mécanisme immunologique de l'APLV

Le mécanisme de l'APLV peut impliquer une réaction d'hypersensibilité immédiate (IgE-médiée) (Wal, 2011), retardée (non IgE-médiée) ou encore mixtes IgE/non IgE-médiés (Fiocchi et al., 2010; Katz et al., 2010; Pramil & Rancé, 2011; Koletzko et al., 2012; Kim & Burks, 2015).

4.1. Réaction d'hypersensibilité de type I (immédiate, à médiation IgE)

La réaction allergique aux protéines de lait de vache IgE médiée s'effectue classiquement en deux phases:

4.1.1. Phase de sensibilisation

Les allergènes sont présentés par les cellules dendritiques aux lymphocytes T naïfs, qui vont se différencier en CD4 Th2 activés dans un environnement cytokinique Th2 (IL4) (Hadis et al., 2011). Ces derniers vont à leur tour activer les lymphocytes B, entraînant une induction et leur différenciation terminale en plasmocytes sécréteurs d'IgE spécifiques d'allergène. Les IgE spécifiques circulent dans l'organisme et se fixent sur leurs récepteurs de haute affinité (FcεRI), exprimés par les basophiles circulants et les mastocytes muqueux (Adel-Patient, 2016). Cette première étape n'occasionne aucun signe clinique (cliniquement muette), son rôle est de préparer l'organisme à réagir de façon immédiate lors d'un futur contact avec le même allergène.

Tableau 01 : L'incidence et la prévalence d'APLV en Algérie.

La région	L'année	L'étude
Annaba	2010	Une étude qui a concernée 822 nourrissons montre une prévalence de l'APLV de 4,9 %. L'APLV apparaît dans un âge précoce, 60 % ont développé l'APLV le premiers mois de vie et 82,5 % des nourrissons les trois premiers mois de vie. 70 % des enfants allergiques ont au moins un parent atopique (Boughellout et al., 2010).
Alger	2013	Une étude réalisée sur une cohorte de 995 nouveaux –nés suivis jusqu'a l'âge de un an dans un milieu urbain a trouvée une incidence globale de APLV de 1.8% et une incidence de APLV par IgE - Médie a 1,1% (Ibsaine et al., 2013).
Constantine	2015	Une autre étude réalisée sur 770 enfants âgés de 0 à 3 ans a fait apparaître une prévalence de l'APLV de 3,64% prédominances masculines (Boughellout et al., 2015).

4.1.2. Phase effectrice

Lors d'une seconde exposition, les protéines lactées arrivent au niveau de la muqueuse du tube digestif. L'antigène fixe l'IgE spécifique sur le mastocyte via un récepteur de haute affinité (FcεRI) et le pontage de deux IgE délivre un signal d'activation du mastocyte et entraîne la libération des médiateurs de inflammation (Burks, 2003; Untersmayr & Jensen-Jarolim, 2006; Molkhov, 2009; Reber et al., 2017) (figure 1). Ces médiateurs sont à l'origine des symptômes cutanés (eczéma, urticaire), gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhée, syndrome allergique oral) et/ou respiratoires (rhino conjonctivite, asthme) (Wal, 2011; Wood et al., 2013)

4.2. Réaction d'hypersensibilité de Type IV (retardée, à médiation cellulaire)

Elle implique des lymphocytes T spécifiques qui en présence de l'allergène entraînent la production de cytokines inflammatoires (LT CD4+) ou activent la cytotoxicité (LT CD8+).

Les réactions cliniques sont retardées étant donné qu'elles se produisent 24 à 48 heures après l'ingestion de lait de vache. Jusqu'à maintenant, il n'y a pas de tests fiables de laboratoire pour diagnostiquer les réactions retardées, non IgE-médiées.

Cette réaction d'hypersensibilité de type IV peut entraîner une atteinte de la muqueuse intestinale conduisant parfois à une atrophie villositaire totale. La sévérité des lésions dépend du rapport des cellules Th1/Th2, en sachant que les lésions les plus sévères sont associées aux réponses Th1 (Lafitedupont, 2011). La majorité des signes sont gastro-intestinaux, mais d'autres manifestations touchant la peau et les voies respiratoires peuvent se produire (Tsuge et al., 2006; Fiocchi et al., 2010; Vrdoljak et al., 2014).

5. Relation entre le stress oxydatif et la réponse allergique

Le stress oxydatif a été mis en cause dans la pathogenèse de nombreuses maladies allergiques, sans que l'on sache encore s'il est la cause ou la conséquence de ces maladies (Kamer et al., 2010; Celik et al., 2012; Sivaranjani et al., 2013; Amin et al., 2015; Dilek et al., 2016). Il a récemment suscité un nombre important d'études évaluant le rôle du stress oxydatif et les dommages tissulaires comme lien possible entre l'allergie inflammatoire et les complications allergiques.

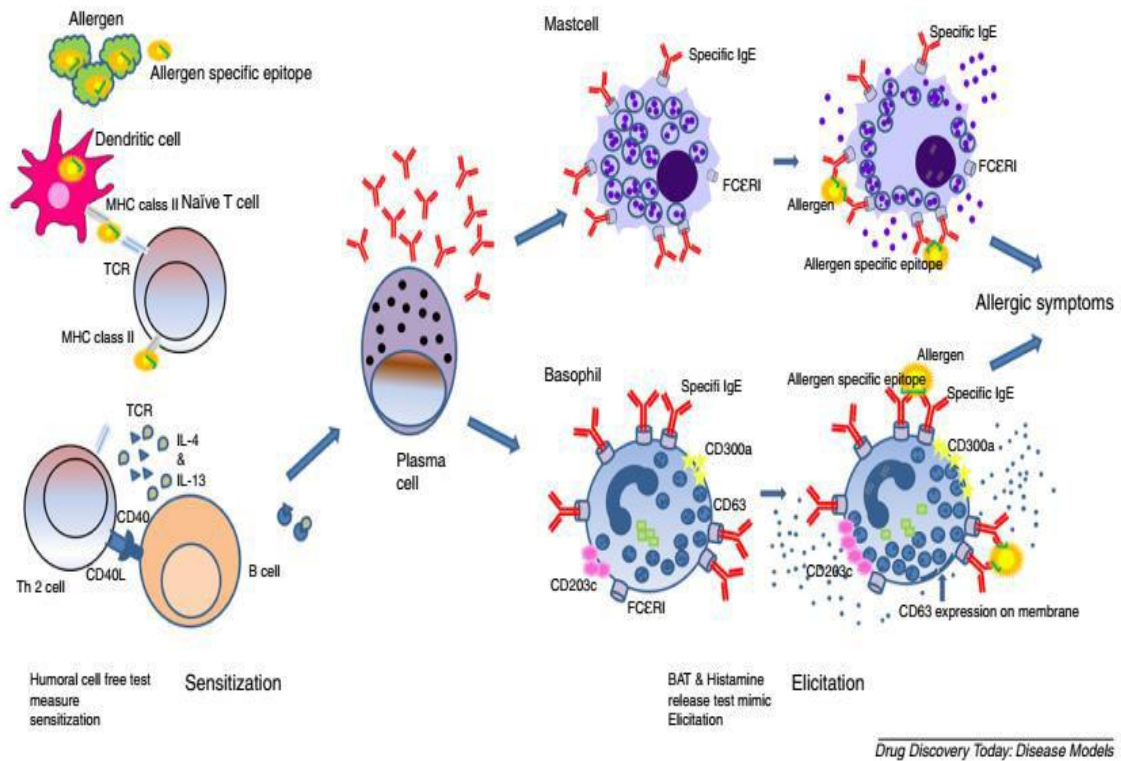


Figure 01 : Mécanisme cellulaire de l’allergie alimentaire IgE médiée (Broekman et al., 2015).

En effet des études réalisées sur des enfants allergiques ont souligné le rôle potentiel des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la pathogénèse des allergies alimentaires (Kamer et al., 2010). Les ERO participent de manière contrôlée à la réponse allergique en modulant et amplifiant de nombreuses réponses cellulaires. Cependant, ces ERO en surproduction incontrôlée peuvent, avoir des effets délétères sur la cellule et endommager les tissus conduisant ainsi à un état de stress oxydatif (Favier, 2003; Halliwell & Gutteridge, 2007).

Au cours d'une réaction allergique, les mastocytes activés sont capables de générer des espèces radicalaires, favorisant ainsi, un état de stress oxydatif (Matsui et al., 2000; Ekoff & Nilsoon, 2011). L'équipe d'Amin et al. (2015) a montré le rôle des espèces radicalaires dans la genèse de la pathologie chez des patients atteints d'allergie alimentaire. Ceci a été confirmé par la mesure de l'augmentation de la peroxydation lipidique. D'autre part, et au cours de l'inflammation intestinale chronique, l'infiltration de la lamina propria par les cellules inflammatoires (macrophages) est associée à la libération d'une grande quantité de ERO (Kruidenier et al., 2003).

Récemment, les travaux d'Ainad Tabat. (2019) montrant une corrélation entre le stress oxydatif et le développement de l'APLV induite par la β -Lg avec une augmentation significative de la peroxydation lipidique au niveau de la muqueuse intestinale chez les souris Balb/c.

6. Stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels. (Bensakhria, 2018).

6.1. Les radicaux libres

Les différents radicaux libres oxygénés ou ROS (Reactive Oxygen Species) ou ERO (Espèces Réactives de l'Oxygène) impliqués dans le stress oxydant sont rapportés dans le tableau 2.

Ces radicaux libres ont des propriétés physico-chimiques bien établies dont des potentiels oxydants propres à chaque radical. A titre d'exemple, Le radical peroxy a la capacité d'engendrer une réaction d'oxydation particulièrement délétère pour l'organisme, La peroxydation des lipides notamment présents dans les membranes cellulaires. Cette réaction

conduit à la dégradation des membranes induisant alors la destruction de la cellule (Delattre et al., 2005)

Par ailleurs, les ERO, comme les radicaux des ions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le réactif radical hydroxyle (HO^{\bullet}) peuvent aussi réagir avec les macromolécules biologiques sensibles et produisent la peroxydation des lipides, des dommages de l'ADN et l'oxydation des protéines, d'où le stress oxydatif (Livingstone, 2001; Delattre et al., 2005, Shi et al., 2005). Les défenses anti-oxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène (Valko et al., 2007).

6.2. Les antioxydants

Un antioxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (Halliwell, 1990; Bensakhria, 2018). Un nouveau concept beaucoup plus général a défini un antioxydant comme "une substance qui retarde, empêche ou élimine les dommages oxydatifs à une molécule cible" (Gutteridge & Mitchell, 1999; Medina-Navarro et al., 2010). Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé, susceptible d'éliminer les radicaux libres et chélater les métaux « red ox » à des niveaux physiologiquement appropriés (Rahman, 2007).

L'activité ou le potentiel antioxydant d'une molécule constitue sa capacité à diminuer ou empêcher l'oxydation d'autres substances chimiques. Ces réactions d'oxydations qui attaquent nos composants organiques comme les protéines, les sucres, l'ADN ou encore les membranes de nos cellules, sont à l'origine de perturbations métaboliques, du vieillissement tissulaire accéléré, du cancer et beaucoup d'autres maladies (García-Tenesaca et al., 2017).

Afin de maintenir l'homéostasie redox de la cellule, il existe de nombreux systèmes de défense antioxydante endogènes ou exogènes, enzymatiques ou non (Rezaie et al., 2007) (Figure 2).

Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), les polyphénols, et le lycopène. (Favier, 2006).

Tableau 02 : Les radicaux libres oxygénés impliqués dans le stress oxydant
(Delattre et al., 2005)

Nom	Formule chimique
Radical superoxyde	O_2°
Radical perhydroxyle	HO_2°
Radical hydroxyle.	OH°
Radical peroxyde	RO°
Radical alkoxyde	RO_2°

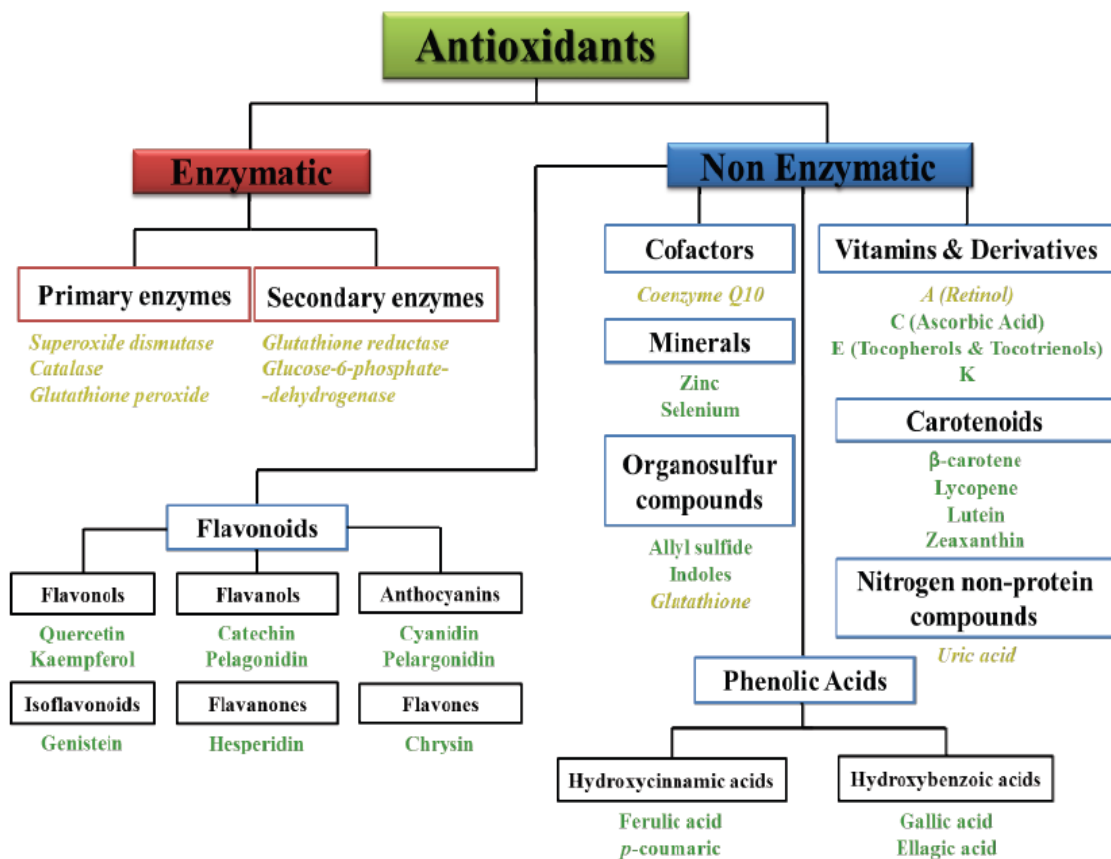


Figure 02 : Différentes classe d'antioxydant, exogène (bleu) endogènes (jaune). Adapté de
(Pietta, 2000; Ratnam et al., 2006; Godman et al., 2011).

Chapitre 02 : la gelée royale

1. La gelée royale

La gelée royale (GR) est une substance centrale de la ruche, elle assure son existence et son fonctionnement. Elle est sécrétée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des jeunes nourrices âgées de 5 à 15 jours.

La GR sert à nourrir toutes les larves pendant les trois premiers jours et le long de la vie des larves qui sont sélectionnées à devenir reines (Rigal, 2012; Fratini et al., 2016) (Figure 3). Ces dernières seront beaucoup plus résistantes aux maladies et vont vivre beaucoup plus longtemps (4 à 5 ans au lieu de 45 jours environ). Une reine peut déposer jusqu'à 2000 oeufs par jour, soit son propre poids, en période de reproduction. Chaque cellule royale peut contenir de 200 à 300 mg de gelée royale (Corbara, 2002).



Figure 03 : Une cellule royale contenant une larve de future reine et la gelée royale
(Ramanathan et al., 2018)

2. Propriétés physicochimiques de la gelée royale

2.1. Propriétés physique

La gelée royale est une substance épaisse et laiteuse, Elle est partiellement soluble dans l'eau et fortement acide (pH 3,4-4,5), avec une densité de 1,1 g/ml (Ramadan & Al Ghamdi, 2012). Elle a une odeur piquante et un peu fruité et un goût amer (Moselhy et al., 2013; Shirzad et al., 2013). Sa couleur est blanchâtre à jaune qui augmente pendant le stockage

(Isidorova et al., 2009; Barnutiu, 2011; Ramadan & Al Ghamdi, 2012). Ces caractéristiques sensorielles sont d'importants critères de qualité (Popesco et al., 2008; Pavel, 2011).

2.2. Composition chimique

La composition de la gelée royale dépend de la race d'abeilles qui la produit (Rigal, 2012), elle est composée majoritairement de lipides, de sucres, de protéines, d'acides aminés, de vitamines et de minéraux (Ahmed et al., 2014) et d'environ 3% de substances indéterminées (Philippe, 1999).

Les relations quantitatives entre les différents composants de ce produit peuvent être variables et dépendent de nombreux facteurs, y compris l'origine, la race de l'abeille (Shibi et al., 1993; Jianke et al., 2003; Lian-Fei, 2016), l'âge de l'ouvrière (Ali, 1994), l'intervalle de récolte et le nombre de coupes de la reine greffées (Ali, 1994; Sharaf El-Din, 2010; Ali, 2017), la saison, les conditions régionales et le type de flore pollinifère Wongchai & Ratanavalachai, 2002; Ramadan & Al-Ghamdi, 2012).

La composition chimique générale de la gelée royale est décrite dans le tableau 3.

3. Propriétés thérapeutiques de la gelée royale

De nombreuses études ont montré les différentes activités pharmacologiques de la gelée royale. En effet, elle possède un pouvoir vasodilatateur (Shinoda et al., 1978), hypotenseur (Pan et al., 2019), antimicrobien (Boukraa, 2008; Melliou & Chinou, 2014), anti-inflammatoire (Kohno et al., 2004; Karaca et al., 2012), hypocholestérolémiant (Viuda-Martos et al., 2008; Kashima et al., 2014; Chiu et al., 2017), antitumoral (Zhang et al., 2017), hépatoprotecteur (Zimmermann, 2002; El-Nekeety et al., 2007), anti-allergique (Okamoto et al., 2003; Guendouz et al., 2017), mais aussi des effets antioxydants et immunomodulateurs (Nagai et al., 2006; Gasic et al., 2007; Özkök & Silici, 2017; Abdel-Hafez et al., 2017; Balkanska, 2018).

3.1. Activité antioxydante

La gelée royale ralentit les effets du vieillissement cellulaire de la peau grâce à sa richesse en produits antioxydants. Elle contient des oligoéléments et des vitamines qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis des radicaux libres. En plus de la vitamine C, la gelée royale contient de la vitamine E sous forme de trace qui possède des propriétés anti-radicalaires et anti-inflammatoires, expliquant son action protectrice contre les effets nocifs du soleil (Martini & Seiller, 2006).

Tableau 03 : Composition générale de la gelée royale.

Composition	Quantité (en pourcentage de GR fraîche)	Bibliographie
Eau	60%-70% <ul style="list-style-type: none"> • Son activité est supérieure à 0,92. 	Sabatini et al., 2009; Ramadan & Al Ghamdi, 2012; Xue et al., 2017
Lipides	3%-8% dont: <ul style="list-style-type: none"> - Acides gras libres (80 – 90 %) dont: <ul style="list-style-type: none"> • Acide 10-hydroxy-2 décénoïque (10H2DA): 32% • Acide gluconique: 24% • Acide-10 hydroxydécénoïque: 22% • Acides dicarboxyliques et autres:5% • Stéroïdes: 4 – 10% • Cires: 5 –6% • Phospholipides: 0,4-0,8% • Stéroïdes:3–4% 	Ramadan & Al Ghamdi, 2012
Protéines	9%-18% dont : <ul style="list-style-type: none"> • MRJP 1 à MRJP 5 représente : 90% des protéines de la GR par un groupe de 9 protéines MRJP (major royal jelly proteins). • Peptides : Royalisine - Jelleines • Enzymes : <ol style="list-style-type: none"> 1- Endopeptidase - Exopeptidase 2- Glucose-oxydase (un précurseur de l'α-glucosidase et la glucose déshydrogénase). 	Sabatini et al., 2009; Barnuțiu et al., 2011; Han et al., 2011; Ramadan & Al Ghamdi., 2012; Xue et al., 2017; Ramanathan et al., 2018; Maqsoudlou et al., 2018; Okumus Yukunc., 2019
Acides aminés libres (AAL)	AAL totaux: 0,73%. <ul style="list-style-type: none"> - 2,3 % dont (en mg/g de gelée royale): <ul style="list-style-type: none"> • Prolines: 2,4-5,4% • Lysine: 0,6-2,2% • Acide glutamique: 0,5-0,9% • B-alanine: 0,3-0,5% • Phénylalanine: 0,2-0,6% • Acide aspartate: 0,2-0,5% 	Boselli et al., 2003

	<ul style="list-style-type: none"> • Serine: 0,1-0,3% <p>Autres : traces</p>	
Sucres	<p>11-23%</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fructose: 2,3-7,8% • Glucose: 3,4-7,7% • Sucrose: 1,7% • Erlose: < 0,3% • Maltose: < 1,4% <p>Tréhalose, mélibiose, ribose, gentiobiose, isomaltose, raffinose, melezitose: traces</p>	(Sesta, 2006; Daniele et al., 2012)
Minéraux	<p>0,8-3% dont :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Potassium, Phosphore, Soufre, Sodium, Calcium, Aluminium, Magnésium, Zinc, Fer, Cuivre et Manganèse. <p>En mg/100g GR :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Potassium: 200-1000 - Magnésium: 20-100 mg/100g - Iron : 1-11 mg/100g - Zinc: 0.7-8 mg/100g - Copper : 0.33-1,6 mg/100g <ul style="list-style-type: none"> • Nickel, Chrome, Etain, Tungstène, Antimoine, Titane et Bismuth : traces. 	Stocker et al., 2005 ; Sabatini et al., 2009 ; Maghsoudlou et al., 2019)
Vitamines	<p>En mg/100g</p> <ul style="list-style-type: none"> • B1 (Thiamine): 0,1-0,7 • B2 (Riboflavine) : 0,5-2,5 • B3 (Niacine): 4,5-19 • B5 (acide Pantothénique): 3,6-23 • B6 (Pyridoxine): 0,2-5,5 • B8 (Biotine): 0,15-5,5 • B9 (Acide Folique): 0,01-0,06 • B12: 0,5 • D : 0,2 • A : 1,10 • E : 5,00 • C (Acide Ascorbique): 2 	Sabatini et al., 2009; Barnuțiu et al., 2011 ; Xue et al., 2017 ; Maghsoudlou et al., 2019)

De plus, la présence des composés phénoliques dans la gelée royale lui permet d'exercer une activité antioxydante contre la peroxydation des lipides (Cousin, 2014).

Récemment, l'étude de Maqsoudlou et al. (2018) montre que l'activité antioxydante de la GR est liée aux composés phénoliques, aux protéines et aux peptides de cette dernière, toutefois, le mécanisme exact de son effet antioxydant reste encore inconnu.

Nagai et al. (2001) et Maqsoudlou et al. (2018) ont notamment testé le pouvoir antioxydant de la gelée royale par détermination de la production de l'anion superoxyde, ils ont montré que la gelée royale a un pouvoir antioxydant très élevé. D'autre part, la GR protège l'ADN des dommages oxydatifs au niveau des tissus en réduisant les niveaux de 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (un marqueur du stress oxydant) au niveau de l'ADN (Inoue et al., 2003) et module le stress oxydatif et l'apoptose dans le foie et les reins (Cemek et al., 2010).

4.2. Activité immunomodulatrice et antiallergique

Jusqu'à présent, la plupart des effets immunomodulateurs de la gelée royale ont été attribués à ses composants protéiques, en particulier la protéine majeure de la gelée royale 3 (MRJP 3) (Kohno et al., 2004; Fang et al., 2010) et apalbumin 1 (Majtan et al., 2006). La MRJP 3 a été décrite comme la composante anti-inflammatoire et immunosuppressive dominante de la gelée royale car elle supprime la production de cytokines (en particulier l'IL-4) des lymphocytes T qui favorisent la réponse antiallergique (Okamoto et al., 2003; Kohno et al., 2004).

Une étude faite par Kataoka et al. (2001) a démontré que l'administration intrapéritonéale de la gelée royale diminue le risque de sensibilisation allergique ainsi que le taux des anticorps IgG1 et IgE spécifiques à l'OVA ainsi que la production des cytokines de type Th2, telles que les IL-4, IL-5.

La GR supprime les réactions allergiques de type I grâce à la restauration de la fonction des macrophages et l'amélioration des réponses cellulaires Th1/Th2 chez les souris immunisées à la DNP-KLH (Dinitrophenylated keyhole limpet hemocyanin) (Oka et al., 2001).

Les études menées in vitro chez le rat ont montré que les acides gras à chaîne courte de la gelée royale (contenant 8-12 atomes de carbone) ont une activité modulatrice sur les cellules immunitaires et que les acides gras isolés de la gelée royale: l'acide 10-hydroxy-2-décanoïque (10H2DA) et l'acide 3,10-dihydroxydécénoïque (3,10-DDA) inhibent la production d'IL-2 par les LT activés. Seul le 10H2DA inhibe la présence à la surface des LT des récepteurs aux IL-2. De plus, le 10H2DA inhibe la maturation des cellules dendritiques «cellules

présentatrices d'antigène», entraînant une moindre stimulation des LT (Gasic et al., 2007 ;Vucevic et al., 2007).

5. Effets secondaires de la gelée royale

La gelée royale est contre-indiquée chez les personnes allergiques aux produits de la ruche (Maghsoudlou et al., 2018). Ainsi une dose trop forte et trop prolongée peut provoquer des troubles hormonaux (Toth, 1965; Majtan et al., 2006; Viuda-Martos et al., 2008; Ballot - Flurin, 2009)

.

Matériels et méthodes

1. Etudes des propriétés antioxydantes de la gelée royale

1.1. Echantillonnage et préparation des échantillons

La gelée royale utilisée dans le cadre de ce travail est fraîchement récoltée de la ruche d'abeilles de race *Apis mellifera intermissa*, dans la région de Boumerdes tout en respectant les conditions d'hygiène. Dès sa récolte, la gelée royale est mise en flacons de verre propres, secs et sombres et fermes hermétiquement à une température de 2 à 4 C°.

1.2. Extraction des antioxydants

1,5 g de gelée royale est pesée dans un bécher puis 30 ml de solvant d'extraction (éthanol 80%) est ajouté. L'extraction est réalisée en premier lieu par un malaxage, avec un ultra turrax pendant 5 min, puis en deuxième lieu avec une agitation magnétique durant 20 heures à température ambiante. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre et les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur à 6°C (Moreno, 2000).

1.3. Dosage des antioxydants

1.3.1. Dosage des composés phénoliques

- **Principe**

Pour l'analyse des composés phénoliques de la gelée royale, un dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu. Le réactif du Folin-ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (Boizot & Charpentier, 2006).

- **Mode opératoire**

Un volume de 100µl d'extrait est mélangé avec 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 50% avec l'eau distillée) et du 2,2ml de carbonate de sodium à 2%. Après 30 min d'incubation, la lecture de l'absorbance est faite à 720nm (Naithani et al., 2006).

Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100g d'échantillons (mg EAG/100g) en utilisant la courbe standard d'acide gallique.

1.3.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le contenu en flavonoïdes est déterminé par la méthode colorimétrique décrite par Marquele et al. (2005).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1ml d'extrait est mélangé avec 1ml de la solution de chlorure d'aluminium à (2%). Après 30min d'incubation, l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à une longueur de 415nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalents quercétine/100g d'échantillons (mg EQ/100g) en utilisant la courbe standard de quercétine.

1.3.3. Dosage des flavonoles

- **Principe**

Le taux des flavonoles dans la GR est déterminé par la méthode décrite par (Adedapo et al., 2008).

- **Mode opératoire**

Un volume de 500µl d'extrait est ajouté à 500 µl d'acétate de sodium (50%) et 750µl de chlorure d'aluminium AlCl₃ (2%). La lecture de l'absorbance est faite à 440 nm après 2 heures et demie d'incubation.

Les résultats sont exprimés en mg équivalents quercétine/100g d'échantillons (mg EQ/100g) en utilisant la courbe standard de quercétine.

1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

1.1.4. Activité anti radicalaire DPPH

- **Principe**

Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl est un radical libre stable de couleur violacée, en présence des antioxydants le radical DPPH sera réduit par un transfert d'hydrogène et change de couleur vers le jaune (Chaabi, 2008).

La capacité antioxydante de la gelée royale à réduire le radical DPPH est évaluée par la méthode décrite par (Adedapo et al., 2008).

• Mode opératoire

Un volume de 0,1ml d'extrait est additionné à 1ml de la solution alcoolique de DPPH (80mM). Après 30min d'incubation à température ambiante, la lecture de l'absorbance est faite à 517nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100g d'échantillons (mg EAG/100g) en utilisant la courbe standard d'acide gallique.

2. Evaluation de l'effet antioxydant de la gelée royale chez des souris Balb/c rendue allergique à la β -Lactoglobuline

2.1. Animaux

Notre étude a été réalisée sur des souris Balb/c femelles obtenues auprès de l'institut Pasteur d'Alger. Ces souris ont été soumises à une période d'adaptation d'une semaine, au niveau de l'animalerie de l'Ecole Supérieure en Sciences Biologique d'Oran à une température de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$. Les souris vivent dans des cages en plastique munies de biberons et d'une mangeoire et sont abreuvés à l'eau et nourris ad libitum à l'aide d'un aliment commercial pour les rongeurs. Les expériences sont effectuées en respectant le bien-être de l'animal, évitant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats.

2.1.4. Constitution des lots

Pour les besoins de l'ensemble de cette deuxième partie de notre travail, 30 femelles âgées entre 4 semaines et pesant en début de manipulation 20 ± 1.5 g sont utilisées. Les animaux ont été répartis en 3 lots comme suit :

- Lot 1 (n=10): Constitué de souris ne recevant aucun traitement (T-).
- Lot 2 (n=10): Constitué de souris recevant l'eau physiologique pendant 7 jours par voie orale (gavage) puis sensibilisées à β -Lactoglobuline par une injection intrapéritonéale (T+).
- Lot 3 (n=10): Constitué de souris recevant la gelée royale à raison de 1g/kg pendant 7 jours par voie orale (gavage) puis sensibilisées à β -Lactoglobuline par une injection intrapéritonéale.

2.2. Protocole d'immunisation à la β -Lactoglobuline

Les souris sont immunisées par voie intrapéritonéale avec 100 μl de PBS pH 7,4 contenant 10 μg de β -Lg + 2 mg Al (OH)₃.

Les injections intrapéritonéales ont lieu à J₀, puis sous forme de rappels et dans les mêmes conditions aux 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jours du protocole (Négaoui et al., 2009).

2.2.1. Rôle de l'adjuvant

Nous avons utilisé de l'hydroxyde d'aluminium Al(OH)₃ comme adjuvant pour sa contribution à la stimulation de la réponse Th 2 (Petrovsky & Aguilar, 2004).

2.3. Prélèvements des échantillons sanguins et des organes

Au 35^{ème} jour du protocole d'immunisation, on procède au prélèvement du sang des animaux par ponction au niveau du sinus rétro orbitaire de l'œil à l'aide d'une pipette Pasteur. Le sang est centrifugé à 2000 x g pendant 15 min à 4 °C. Le sérum recueilli est aliquoté dans des micro tubes Eppendorf qui sont conservés à 80 °C jusqu'à utilisation. Les animaux sont sacrifiés par dislocation cervicale, puis rapidement le foie et l'intestin sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de PBS 1/10 et sont conservés à -80 °C.

3. Détermination de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La détermination des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisée par la mesure du malondialdéhyde (MDA), considéré comme un principal marqueur de la détermination des radicaux libres. Cette méthode repose sur une réaction en milieu acide entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) par la formation d'un pigment absorbant (complexe de condensation chromogénique) à 532 nm, extractible par des solvants organiques comme le butanol.

3.1. Au niveau sérique

Les teneurs des TBARS sériques sont déterminées par la méthode de (Quantanilha et al., 1982). 100µl d'échantillon sont dilués dans 0,9 ml de NaCl (0,9 %) puis à cette solution sont ajoutées 20µl de buthyl-hydroxy toluène (BHT) (BHT 2 % dans de l'éthanol) et 1 ml de TBA (15 % de TCA et 0,375 % de TBA dans du HCl 0,5 N). Après incubation à 85 °C pendant 30 min et refroidissement dans la glace, les échantillons sont centrifugés à 2000 x g pendant 10 min à 4 °C. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=535$ nm.

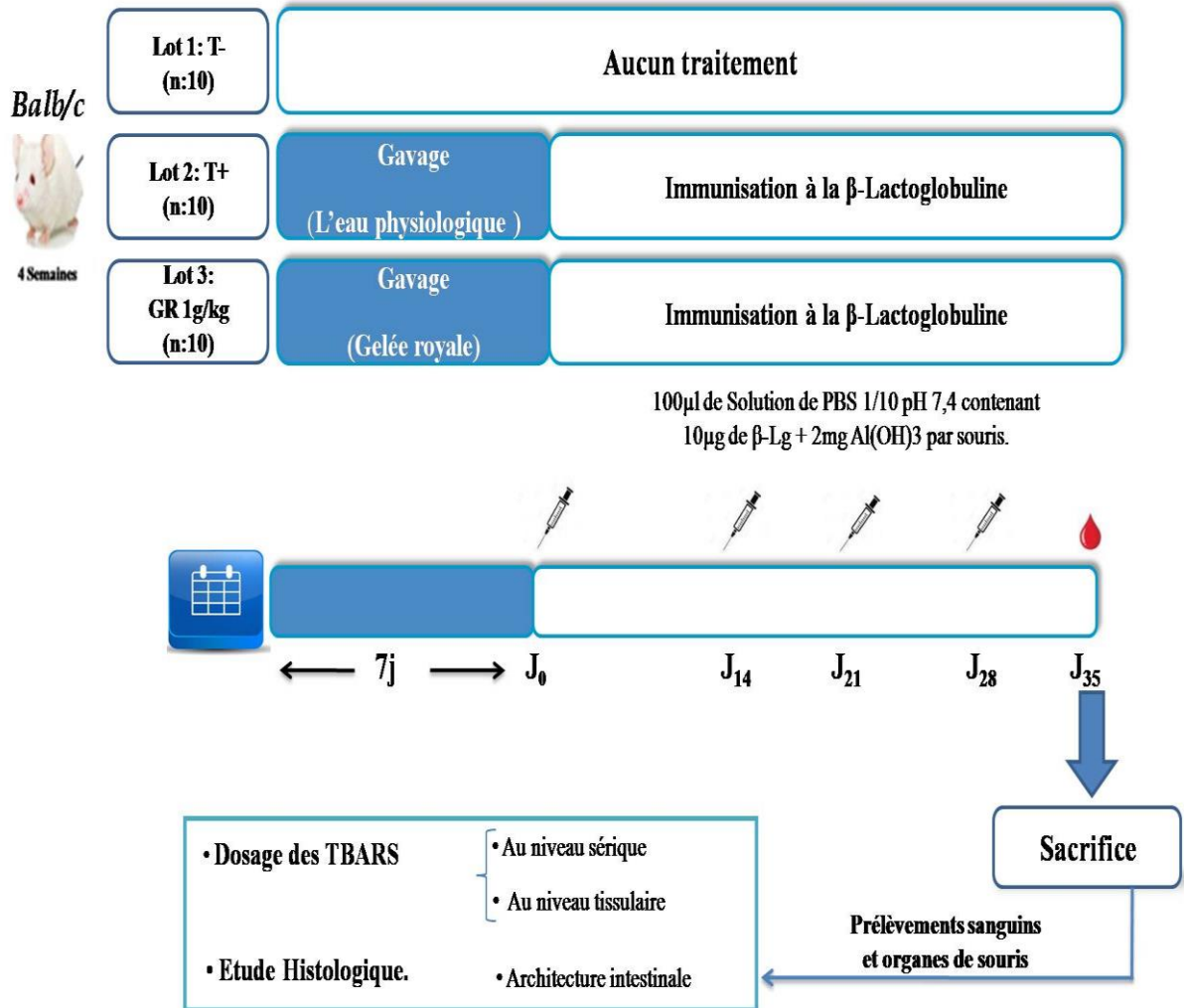


Figure 04 : Diagramme représentatif du protocole expérimental

3.2. Au niveau tissulaire

Les homogénats tissulaires (foie et intestin (jéjunum)) sont préparés à raison de 100 mg de tissu broyé dans 0,9 ml de tampon. 200µl d'homogénat sont déposés dans des tubes Sovirels, puis 200µl de SDS (8,1 %), 1500µl d'acide acétique à 20 % (pH 3,5) et 1500µl d'une solution aqueuse de TBA (0,8 %), sont ajoutés. Le volume final du milieu réactionnel est ajusté à 4 ml avec de l'eau distillée. Les tubes sont incubés à 100 °C pendant 60 min, puis placés dans un bain glacé pendant 5 min afin de stopper la réaction. 1 ml d'eau distillée et 4 ml de butanol sont additionnés. Les tubes sont vigoureusement agités, centrifugés à 1000 x g, pendant 10 min (Ohkawa et al., 1978).

La lecture de la phase organique (supérieure) est effectuée à une longueur d'onde $\lambda=532$ nm. La concentration des MDA est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions.

4. Etude histologique

Cette étude a pour but de vérifier l'existence d'un éventuel effet protecteur de la gelée royale au niveau de la structure histologique de l'épithélium intestinal, particulièrement les modifications de l'architecture villositaire jéjunale induites par la sensibilisation à la β -Lg.

4.1. Traitement des échantillons

Les échantillons utilisés sont soumis préalablement à différents traitements qui sont:

4.1.1. Fixation

Les tissus sont fixés dans du formol à 10% tamponné. Les solutions de formaldéhyde sont les fixateurs les plus répandus.

4.1.2. Déshydratation

Après fixation, les tissus sont déshydratés dans 3 bains successifs d'acétone. Chaque bain dure 45 minutes.

4.1.3. Clarification

Cette opération s'effectue après la déshydratation, les pièces sont placées dans 2 bains de xylène. Chaque bain dure 45 minutes.

4.1.4. Inclusion

L'inclusion est effectuée avec de la paraffine, les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure chacun à une température de 56°C puis coulés dans

des moules métalliques. Ensuite, des cassettes en plastique seront fixés dessus et le volume sera complété avec de la paraffine, puis mis au congélateur pendant 15 minutes pour une bonne solidification.

4.2. Traitement des lames

Après l'inclusion à la paraffine, les blocs contenant les fragments sont coupés à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 5 μm .

4.2.1. Etalement sur lames

Une fois les coupes réalisées, elles sont mises sur une lame de verre recouverte de colle (2g d'albumine + 50 ml de glycérine dans 1000 ml d'eau distillé) puis placées sur une plaque chauffante réglée à une température convenable, inférieure à celle du point de fusion de la paraffine. A l'aide d'une pince, les plis de la paraffine sont tirés légèrement de chaque côté, ensuite l'ensemble coupe-lame est retiré de la plaque, égoutté puis séché au papier Joseph. Avant de procéder à la coloration des lames, il faut les déparaffiner et les réhydrater.

4.2.2. Déparaffinage

Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 10 minutes.

4.2.3. Réhydratation

Elle se fait dans 3 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 90°, 70°). Chaque bain dure 2 minutes; le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante.

4.2.4. Coloration

Les lames sont colorées à l'hémalum-éosine qui représente la plus simple des colorations combinées. On a fait agir successivement un colorant nucléaire « basique » l'hématéine, et un colorant cytoplasmique « acide », l'éosine. La coloration du noyau est bleu-noir et le cytoplasme rose à rouge. La préparation du colorant hématéine de Harris est indiquée dans le tableau 5 (Hould, 1984).

La coloration des lames s'effectue comme suit:

1. Mettre les lames dans l'hématéine de Harris durant 2 à 3 minutes.
2. Laver les lames à l'eau du robinet pendant 5 minutes.
3. Colorer les lames à l'éosine alcoolisée (2g d'éosine dans 100ml d'alcool éthylique) pendant 10 secondes.
4. Rincer les lames dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70° puis 95°.

5. Mettre les lames dans du toluène pendant 1 minute.
6. Mettre entre les lames et lamelle une goutte de baume de Canada ou d'eukitt.
7. Laisser sécher puis observer au microscope optique.

5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($X \pm ES$). Les comparaisons de deux moyennes sont réalisées en moyen d'un test t de student. Les comparaisons de plusieurs moyennes sont réalisées par l'analyse de variance (ANOVA). Le seuil de signification retenu est celui qui est habituellement considéré, soit 5 %.

L'analyse statistique est effectuée à l'aide d'un logiciel GraphPad Prism (version 5.01).

Tableau 04 : Composition chimique de la solution PBS

Composants	Quantités
Na ₂ HPO ₄	1 1.6g
KH ₂ PO ₄	2 2g
NaCl	80g
KCl	2 2g
Eau ultra pure	1000 ml

Tableau 05 : Composition du colorant à l'hématéine de Harris (Hould., 1984).

Composants	Quantités
Hématoxyline	5g
Alun de potassium	100g
Ethanol absolu	50 ml
Eau distillée	1000 ml
Faire bouillir le mélange	
Oxyde mercurique	2,5g
Chauffer la solution et filtrer avant usage	

Résultats et discussion

1. Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié la composition de la gelée royale en composé phénolique et d'évaluer son activité antioxydante.

1.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent la base des principes actifs des plantes médicinales (Macheix et al., 2005), Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (Vârban et al., 2009).

Nous suggérons que les résultats du dosage des composés phénoliques de la gelée royale soient compris entre 0,15-23,5 mg EAG/g.

Les résultats de notre étude ont été supposés sur la base d'une multitude d'études récentes qui ont toutes caractérisé la gelée royale dans plusieurs pays géographiquement distincts

Une étude faite par Pavel et al. (2014) montre que la gelée royale Roumaine contient ($23,49 \pm 6,36$ mg EAG/g) de polyphénols. Cette quantité est semblable à celles mentionnées dans l'étude de Nagai et al. (2004) concernant la gelée royale japonaise (21,2mg EAG/g). En plus, l'étude menée récemment par Balkanska, (2018) sur la gelée royale Bulgare à montré une teneur de $18,07 \pm 4,39$ mg EAG/g. Alors que les travaux de Nabas et al. (2014) sur la gelée royale de Jordanie, ont mentionné une teneur inférieure de polyphénole (23,30 μ g EAG/g).

En outre, Liu et al. (2008) ont rapporté que la teneur des polyphénols totales dans la gelée royale Taiwanaise était comprise entre 0,150 et 2,19 mg EAG/ g

D'un autre coté, la gelée royale de quelque pays méditerranéens contient moins de polyphénols par rapport aux données précédentes. En effet, la gelée royale marocaine contient un taux de composés phénoliques situé entre 3 à 9 mg EAG/g, et un taux de 3,1 mg EAG/g pour celle de l'Espagne et du Portugal (El-Guendouz et al., 2020). Cependant, La présence des polyphénols est minime dans la gelée royale analysée en Algérie et en Turquie (0,75 mg EAG/g et 0,059mg EAG/g respectivement) (Ait Soura & Mecellem, 2017; Özkö & Silici, 2017).

A l'instar du miel, la composition chimique de la gelée royale est relativement constante quelles que soient les races d'abeilles (Bărnăuțiu et al., 2012), mais la variation des teneurs en composés phénoliques rapportées dans la littérature peut être attribuées dans les pays cités peut revenir aux différentes origines géographiques, elle dépend aussi de divers facteurs, notamment les espèces végétales utilisées par les abeilles, la source de florale, la période de la

récolte, et les facteurs environnementaux. (Kucuk et al., 2007). Les conditions de stockage, de transport, les techniques d'extraction et la nature et le volume du solvant utilisés pour le dosage influencent aussi sur la quantité des polyphénols (Uçar & Barlak, 2019).

Les composants phénoliques possèdent des propriétés antioxydantes, anti-agrégantes plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-tumorales et anti-thrombotiques. C'est ce qui justifie son utilisation croissante en thérapeutique (Martin & Andriantsitohaina, 2002).

1.2. Teneurs en Flavonoïdes

Dans la gelée royale, la plupart des composés phénoliques sont sous forme de flavonoïdes ces derniers sont connus pour posséder des propriétés antioxydantes qui peuvent jouer un rôle clé dans les activités pharmacologiques de la GR.

Les composés phénoliques de la gelée royale comprennent du phénol et des groupes carboxyliques (De Paula et al., 2017). Parmi les composés flavonoïdes, diverses structures ont pu être distinguées, telles que les flavones (l'apigénine et ses glycosides, La lutéoline, la chrysin et l'acacétine), les flavanones (la naringénine, l'héspéridine et l'isosakuranétine), les flavonols (le kaempférol et l'isorhamnétine) et les isoflavonoïdes (la génistéine et la formononétine) (López-Gutiérrez et al., 2014; Ahmad et al., 2020).

La teneur en flavonoïdes des différents produits de la ruche, y compris la gelée royale, varié entre 1,39 à 987,33 mg EQ/100g.

La gelée royale algérienne contient une teneur en flavonoïdes de 5,33 mg EQ/100g (Ait Soura & Mecellem, 2017). Tandis que, cette teneur est inférieure à celle de Jordanie 128mg EQ /100g) (Nabas et al., 2014).

La différence entre les deux études peut revenir à différents facteurs la date de récolte, la durée de stockage, l'utilisation de standards différents, la méthode et le volume du solvant utilisé pour le dosage.

1.3. Teneurs en flavonols

Les Flavonols comptent parmi les sous-classes des flavonoïdes les plus importantes, ils sont présents dans la majorité des fruits et légumes et les extraits des plantes (Kuresh et al., 2002).

Il existe peu d'études qui aient analysé les flavonols contenus dans la GR. La gelée royale décrite en Algérie contient 0,0248 mg EQ/g de flavonols (Ait Soura & Mecellem, 2017).

Les flavonols sont connus pour leurs multiples fonctions biologiques telles que les activités antiallergénique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antithrombotique, antioxydante, cardioprotectrice et vasodilatatrice (Manach et al., 2005).

2. Évaluation de l'activité antioxydante

2.1. Activité antiradical DPPH

Le radical DPPH est généralement l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin et al., 2008).

L'activité antioxydante mesurée par DPPH de la gelée royale est probablement comprise entre 0,59 à 37,23 mg EAG/g, d'un autre coté elle doit être en corrélation avec le contenu des polyphénols totales.

D'après Pavel et al. (2014), l'activité antioxydante de la gelée royale Romaine est de 37,23 mg EAG/g et $24,90 \pm 6,41$ mg EAG/g pour la GR de la Bulgarie. Cependant, cette activité est minime dans la gelée royale analysée en Algérie, en Turquie et en Lituanie (1,85mg EAG/g, 0,59mg EAG/g et 0,82mg EAG/g respectivement) (Ait Soura & Mecellem, 2017; Özkö & Silici, 2017).

L'étude de Balkanska (2018) révèle un pourcentage d'inhibition du radical libre (DPPH) entre 10,17 à 39,39% de la gelée royale de la Bulgarie.

Ces différences peuvent revenir aux différentes origines géographiques, c'est pour cela l'activité antiradicalaire dépend de la nature des composés phénoliques disponibles. Aussi la nature de l'extrait utilisé pour le dosage peut changer la valeur de l'activité antioxydante.

Certains auteurs ont rapporté que les fractions protéiques et phénoliques de la GR ont un pouvoir antioxydants élevées et une activités de piégeage des radicaux libres contre les espèces réactives de l'oxygène (Nagai & Inoue, 2004; Silici et al., 2009; Özkök & Silici, 2017). Les propriétés antioxydantes ont été attribuées à certaines biomolécules et composés de GR tels que les protéines d'albumine, l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (10-HDA) ainsi que les composés polyphénoliques (Guo et al., 2005; Liu et al., 2008; Balkanska, 2018).

2. Evaluation de l'effet antioxydant de la gelée royale chez des souris Balb/c sensibilisées à la β -Lactoglobuline

Ce travail nous a permis d'étudier une éventuelle corrélation entre le stress oxydatif et le développement de l'APLV induite par la β -Lg avec le test de TBARS en mesurant le MDA, un produit final de la peroxydation lipidique.

Un modèle de souris femelle de la souche Balb/c est utilisé durant cette deuxième partie de travail, cette souche se caractérise par un complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) proche à celui de l'Homme et par une balance Th1/Th2 facile à mettre en évidence que chez l'Homme (Magnan et al., 1997).

Pour la sensibilisation des souris à la β -Lg, nous avons choisi la voie intrapéritonéale en présence d'hydroxyde d'aluminium, car elle est facile d'utilisation et permet d'introduire l'antigène directement au niveau systémique. Elle est efficace, optimise les réponses immunitaires et entraîne une production importante d'IgE spécifiques (Dearman, 2003; Chen et al., 2013).

Les résultats suggérés dans cette étude sont basés de la littérature.

Les travaux de Grar, (2017) montrent que la sensibilisation intrapéritonéale à la β -Lg induit une augmentation significative de la peroxydation lipidique au niveau hépatique et intestinal par rapport aux souris non sensibilisées. En revanche, aucune différence significative n'est constatée au niveau sérique.

L'étude d'Amin et al. (2015) montre une augmentation de la peroxydation lipidique reflétée par un taux élevé du MDA est retrouvée dans le sérum de tous les enfants allergiques. De même, les résultats précédents semblent supporter l'hypothèse de l'implication des ROS dans la réaction allergique (Yang et al., 2013).

La supplémentation de l'organisme par des antioxydants exogènes tel que la vitamine E, le β -carotène et aussi la taurine avant la sensibilisation à la β -Lg entraîne une inhibition significative de l'augmentation de la peroxydation lipidique qui se traduit par une diminution des teneurs en TBARS au niveau intestinale et hépatique (Grar, 2017; Ainad-Tabet, 2019).

Dans cette étude, nous suggérons que l'administration de la GR pourrait réduire l'augmentation de la peroxydation lipidique induite par la β -Lg aux niveaux hépatique et intestinal.

Plusieurs hypothèses postulent pour expliquer l'activité antioxydante de la GR au niveau hépatique et intestinale, la première est que la GR a la capacité de réduire la réponse allergique de type Th2 en diminuant le nombre des mastocytes et par conséquent la production des ERO. Guendouz et al. (2017), ont montré une diminution significative du nombre des mastocytes intestinaux et du taux d'histamine plasmatique chez les souris qui ont reçu la gelée royale à 0,5g/kg, 1g/kg et 1,5g/kg pendant 7 jours et ensuite sensibilisées à la β -Lg.

Yang et al. (2013) ont montré que la dégranulation des mastocytes induite par les allergènes alimentaires et plus particulièrement par l'ovalbumine dépend de la production des ERO. Les ERO influencent de manière importante l'évolution de l'inflammation allergique (Kim et al., 2005; Ghosh et al., 2006; Springer et al., 2007) en stimulant la libération de l'histamine par les mastocytes (Niu et al., 1996; Kim et al., 2005; Ghosh et al., 2006). De même, une étude récente montre que l'histamine stimule la production des espèces oxydatives et plus particulièrement le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par les cellules épithéliales (Rada et al., 2014). Cependant, jusqu'à présent, le mécanisme par lequel les ERO influencent la signalisation des mastocytes reste encore mal compris (Kim et al., 2013).

La deuxième hypothèse serait que la GR augmente l'activité enzymatique antioxydante et diminue la peroxydation lipidique. Mahmoud & Fenghour, (2016) ont montré que la supplémentation de la gelée royale chez les rats traités par le formaldéhyde a provoqué une amélioration du statut antioxydant au niveau hépatique et une baisse de la peroxydation lipidique hépatique.

L'efficacité antioxydante de la GR a été évaluée dans diverses études. Dans l'étude réalisée par Kanbur et al. (2009) et dans l'étude réalisée par Kaynar et al. (2012), il a été rapporté que les enzymes antioxydantes sont significativement plus élevées dans les groupes ayant reçu la GR par rapport aux autres groupes.

El Nekeety et al. (2007), ont également reporté que la supplémentation en gelée royale diminue l'expression des gènes du cytochrome CYP3A14, diminue l'action des enzymes catalysant la peroxydation lipidique et augmente la glutathion peroxydase.

Les effets protecteurs de la gelée royale sont probablement dus à la présence de composés phénoliques qui sous leurs nombreuses formes sont les principaux composants responsables des propriétés fonctionnelles de nombreux aliments, comme les capacités antioxydantes et anti-inflammatoires (Kerem et al., 2006; Wu et al., 2006; Almaraz-Abarca et al., 2007; Arzi et al., 2015). D'autre part, les composés phénoliques sont connus pour leurs capacités de

recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres, ceci peut donc participer directement à une réduction de l'utilisation du GSH (Babu et al., 2006; Wu et al., 2006)

De même, La GR contient également des oligoéléments et des vitamines qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis les radicaux libres. En plus, de la vitamine C, la gelée royale renferme de la vitamine E à l'état de trace et qui possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-radicalaires (Zimmermann, 2002).

En outre, une étude récente montre l'effet antioxydant de la protéine majeure de la gelée royale 2 (MRJP2), cette protéine protège les cellules de mammifères et d'insectes via la protection directe de la cellule contre le stress oxydatif, ce qui entraîne une réduction de l'activité de la caspase-3 et l'apoptose cellulaire induite par le stress oxydatif. De plus, la MRJP2 présente une activité de protection de l'ADN contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Park et al., 2019).

Nagai et al. (2006), montrent l'activité antioxydante des hydrolysats protéiques de la GR sur les radicaux libres. Les peptides seraient donc bien à l'origine de l'activité antioxydante de la gelée royale. Cependant, les peptides ne seraient pas les seuls responsables de cette activité.

D'après les études mentionnées précédemment l'activité antioxydante de la GR est probablement due aux composés phénoliques, aux vitamines, aux protéines et aux peptides.

3. Etude histologique

La dernière partie de notre travail consiste à l'évaluation de l'effet protecteur de la gelée royale contre les altérations tissulaires au niveau du jéjunum provoquées par la protéine sensibilisante (β -Lg).

En effet comme le montre la figure 6 les souris ayant reçu une solution d'eau physiologique puis sensibilisées à la β -Lg (T+) présentent des villosités jéjunales élargies et atrophiées ainsi qu'une infiltration des lymphocytes intra-épithéliaux au niveau du chorion. Par ailleurs les souris n'ayant reçu aucun traitement (T-) présentent des villosités plus longues et plus fines (Figure 5). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Addou et al. (2004); Negaoui et al. (2009); Grar et al. (2015); Haddi et al. (2018); Ainad-Tabet et al. (2019). Cette infiltration lymphocytaire intra-épithéliale suggère une réponse allergique inflammatoire.

Quant au groupe de souris prétraitées à la GR puis sensibilisées à la β -Lg, l'analyse histologique révèle une architecture intestinale nettement améliorée comparée au T+, les villosités sont longues et fines et l'infiltration lymphocytaire intra-épithéliale est moins prononcée (Figure 7). Les mêmes résultats ont été constatés par Guendouz et al. 2017, ceci

confirment que la gelée royale exerce des effets protecteurs contre les lésions tissulaires intestinales.

Les travaux de Karaca et al. (2010) ont montré que l'administration de la gelée royale par voie orale diminue le nombre des mastocytes et réduit le domaine de l'érosion du côlon chez les rats atteints de la colite.

L'effet protecteur de la gelée royale a été aussi étudié par Kaynar et al. (2012), qui ont montré que l'administration orale de la gelée royale diminue les dommages intestinaux induits par le méthotrexate (un agent chimiothérapeutique).

D'après Ghanbari et al. (2016), la gelée royale exerce des effets protecteurs contre les lésions tissulaires. Toutefois, le mécanisme exact de son effet reste encore inconnu.

Nous supposons que l'amélioration de l'architecture intestinale est principalement due aux composés phénoliques (principalement les flavonoïdes) de la gelée royale qui en ayant des capacités antioxydantes et anti-inflammatoires préviennent les lésions tissulaires.

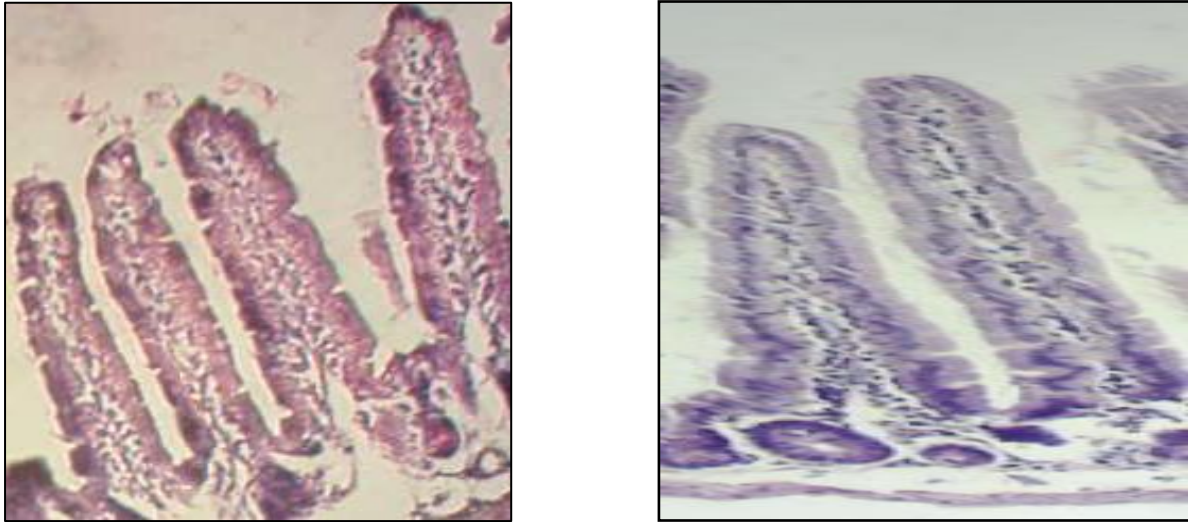


Figure 05 : Observation microscopique d'un fragment de jéjunum d'une souris du groupe témoin négatif (coloration à l'hémalun-éosine) (G×100).



Figure 06 : Observation microscopique d'un fragment de jéjunum d'une souris du groupe témoin positif ayant reçu per os une solution saline puis sensibilisées à la β -Lg (coloration à l'hémalun-éosine) (G×100).

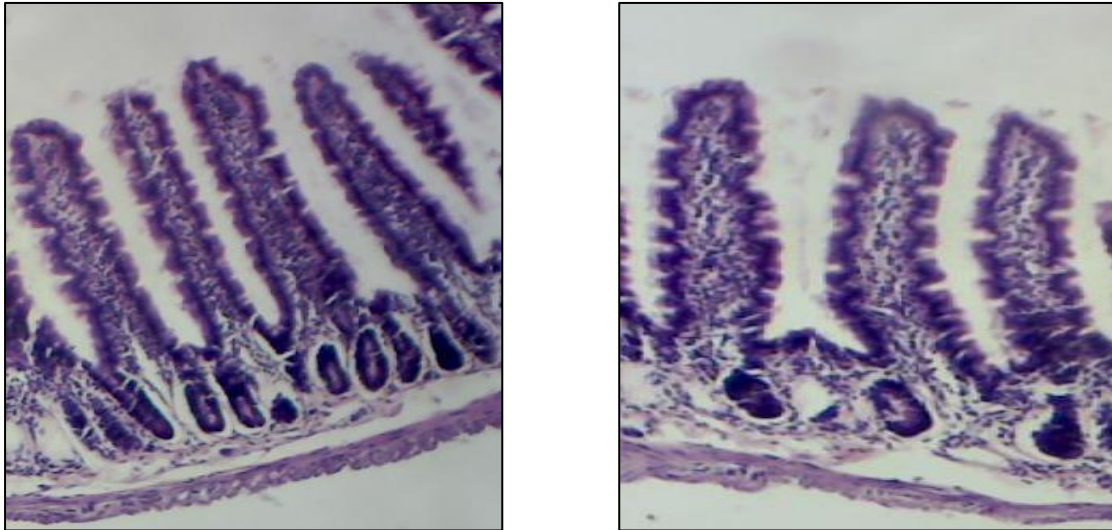


Figure 07 : Observation microscopique des fragments de jéjunums des souris ayant reçu per os la gelée royale à une dose de 1g/kg pendant 7 jours puis sensibilisées à la β -Lg (coloration à l'hématoxyline-éosine) (G \times 100).

Conclusion

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer les propriétés antioxydantes de la gelée royale et étudier son effet vis-à-vis du stress oxydant induit par l'APLV chez les souris femelles de la souche Balb/c.

La première partie de ce travail a été consacrée à la quantification des antioxydants et à l'évaluation de l'activité antioxydante de la gelée royale par le test de DPPH. La composition en antioxydant, spécifiquement les composés phénoliques, diffère fortement en fonction de l'origine géographique. Ces derniers sont connus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé, comme leur pouvoir antioxydant, anti inflammatoire et plus récemment pour leur potentiel anti-allergique.

Dans la seconde partie de ce travail, un dosage des TBARS a été prévu pour mettre en évidence l'implication du stress oxydant dans le déclenchement de l'APLV. Malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser cette partie du travail, à cause de l'état d'urgence sanitaire préconisé par le gouvernement pour lutter contre la progression du COVID-19.

Cependant, nous avons pu évaluer l'effet du prétraitement avec de la gelée royale, administrée par voie orale à une dose de 1g/kg pendant 7 jours, sur l'architecture intestinale des souris Balb/c sensibilisées à la β -Lg. Cette dernière a permis de prévenir l'action délétère induite par l'immunisation à la β -Lg. Cet effet protecteur est lié aux capacités immunomodulatrices et antioxydantes de la gelée royale.

Notre pays possède une biodiversité végétale immense, et une caractérisation de la gelée royale algérienne est nécessaire pour valoriser les produits apicoles locaux. De plus, il est important d'étudier l'activité préventive de la gelée royale sur d'autres types d'allergies ainsi que ses propriétés thérapeutiques contre différentes maladies telles que les maladies auto-immunes et les cancers. D'autre part, des études plus approfondies seront nécessaires pour mieux comprendre le lien existant entre l'APLV et le stress oxydatif.

Références bibliographiques

Abdel-Hafez SMN, Rifaai RA, Abdelzaher WY. Possible protective effect of royal jelly against cyclophosphamide induced prostatic damage in male albino rats; a biochemical, histological and immuno-histo-chemical study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017; 90: 15-23.

Addou S, Tomé D, Kheroua O, Saidi D. Parenteral immunization to β -lactoglobulin modifies the intestinal structure and mucosal electrical parameters in rabbit. *International Immunopharmacology*, 2004; 4: 1559-1563.

Adedapo AA, Florence JO, Srinivas K, Anthony AJ, Patrick MJ. Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurnia aurea*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2008; 8:53.

Adel-Patient K. Allergies alimentaires: mécanismes, biomarqueurs et impact de différents facteurs environnementaux. *Innovations Agronomiques*, 2016; 52: 1-14.

Ahmad S, Campos MG, Fratini F, Altaye S Z, Li J. New Insights into the Biological and Pharmaceutical Properties of Royal Jelly. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020; 21(2):382.

Ahmed WM, Khalaf AA, Moselhy WA, Safwat GM. Royal jelly attenuates azathioprine induced toxicity in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014;37:431-437.

Ainad Tabet S. Etude de l'effet immunomodulateur de la taurine sur la réaction allergique chez les souris Balb/c immunisées à la β -Lactoglobuline. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella, 2019; 166p.

Ainad-Tabet S, Grar H, Haddi A, Negaoui H, Guermat A, Kheroua O, Saïdi S. Taurine administration prevents the intestine from the damage induced by beta-Lactoglobulin sensitization in a murine model of food allergy. *Allergologia et Immunopathologia*, 2019; 47(3): 214-220.

Ait soura G, Mecellem E. Étude comparative des paramètres physicochimiques et propriétés antioxydantes des produits de la ruche: gelée royale, miel, pollen, propolis et cire d'abeille. mémoire de fin cycle master. Université A. MIRA - Bejaia, 2017; 69p.

Ali MAM. Factors affecting royal jelly production. M.sc. Thesis, Faculty of Agriculture, in Shams University, Cairo, Egypt, 1994; 161p.

Ali MAM. Relationship Between Number of Grafted Queen Cell Cups and Amount of Produced Royal Jelly in Honey Bee Colonies *Apis mellifera* L. *Egypt Acad J Biolog Sci*, 2017; 10: 65-70.

Almaraz-Abarca N, da Graça Campos M, Avila-Reyes JA, Naranjo-Jimenez N, Herrera Corral J, Gonzalez-Valdez LS. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *J Food Compost Anal*, 2007; 20: 119-124.

Amin MN, Liza KF, Sarwar S, Ahmed J, Adnan T, Chowdhury MI, Hossain MZ, Islam

MS. Effect of lipid peroxidation, antioxidants, macro minerals and trace elements on eczema. Archives of Dermatological Research, 2015; 307: 617-623.

Arzi A, Houshmand GH, Goudarzi M, Khadem Haghigian H, Rashidi Nooshabadi MR. Comparison of the Analgesic Effects of Royal Jelly with Morphine and Aspirin in Rats Using the Formalin Test. J Babol Univ Med Sci, 2015; 17: 50-56.

Babu PVA, Sabitha KS, Shyamaladevi CS. Therapeutic effect of green tea extract on oxidatif stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. Chemico-Biological Interactions, 2006; 162:114-120.

Balkanska R, Karadjova I, Ignatova M. Comparative analyses of chemical composition of royal jelly and drone brood. Bulg Chem Commun, 2014; 46: 412-416.

Balkanska R. Correlations of Physicochemical Parameters, Antioxidant Activity and Total Polyphenol Content of Fresh Royal Jelly Samples. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci,2018 ; 7(4): 3744-3750.

Ballot-Flurin C. Miels et gelée royale: leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. Phytothérapie, 2009; 7: 87-90.

Ballot-Flurin C. Les bienfaits de l'apithérapie. Editions Eyrolles, Paris, 2010 ; 157p.

Bando N, Yamanishi R, Terao J. Inhibition of immunoglobulin E production in allergic model mice by supplementation with vitamin E and beta-carotene. Biosci Biotechnol Biochem, 2003; 67: 2176-2182.

Barnuțiu LI, Mărghitaș LA, Dezmirean DS, Mihai CM, Bobi O. Chemical composition and antimicrobial activity of Royal Jelly. Animal Science and Biotechnologies, 2011; 44(2), 109-117.

Bensakhria A. Toxicologie Générale; chapitre IX: Stress oxydatif, Université Alger, 2018; (70-86).

Boizot N, Charpentier J-Paul. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques, 2006; 79-82.

Boselli E, Caboni MF, Sabatini AG, Marcazzan GL, Lercker G. Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. Apidologie, 2003; 34: 129-137.

Boughellout H, Benatallah L, Zidoune MN. Prévalence de l'allergie aux protéines du lait de vache chez des enfants âgés de moins de 3 ans de la ville de Constantine (Algérie). Revue française d'allergologie, 2015; 55: 288-292.

Boughellout H, Zidoune MN. Prévalence de l'allergie aux protéines du lait de vache chez les nourrissons dans la région d'Annaba, 2010; P148.

Boukraa L. Additive activity of royal jelly and honey against Pseudomonas aeruginosa. Altern Med Rev, 2008; 13: 330-333.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Gorand A, Igc R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 2008; 111: (4) 925–929.

Broekman HCH, Eiwegger T, Upton J, Bøgh K L. IgE - the main player of food allergy. *Drug Discov Today: Dis Model*, 2015; 17-18: 37-44.

Burks W. Peanut allergy: a growing phenomenon. *The american society for clinical investigation* .2003; 111(7): 950–952.

Celik M, Tuncer A, Soyer OU, Saçkesen C, Tanju Besler H, Kalayci O. Oxidative stress in the airways of children with asthma and allergic rhinitis. *Pediatric Allergy Immunology*, 2012; 23: 556-561.

Cemek M, Aymelek F, Buyukokuroglu, M E, Karaca T, Buyukben A, Yilmaz F. Protective potential of royal jelly against carbon tetrachloride induced toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48(10), 2827-2832.

Chaabi M. Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Université Mentouri de Constantine, 2008; 250p.

Chen C, Sun N, Li Y, Jia X A. BALB/c mouse model for assessing the potential allergenicity of proteins: Comparison of allergen dose, sensitization frequency, time point and sex. *Food and Chemical Toxicology*, 2013; 62: 41-47.

Chiu HF, Chen BK, Lu YY, Han YC, Shen YC, Venkatakrisnan K, Golovinskaia O, Wang CK. Hypocholesterolemic efficacy of royal jelly in healthy mild hypercholesterolemic adults. *Pharmaceutical Biology*, 2017; 55: 497-502.

Corbara B. La cité des abeilles, Editions Gallimard, 2002; 112p.

Cousin L. L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de POITIERS, 2014; 77: 21-39.

Daniele G, Casabianca H. Sugar composition of French royal jelly for comparison with Commercial and artificial sugar samples. *Food Chem*, 2012; 134(2):1025–9.

De Paula R, Rabalski I, Messia MC, Abdel-Aal ESM, Marconi E. Effect of processing on phenolic acids composition and radical scavenging capacity of barley pasta. *Food Research International*, 2017; 102: 136–143.

Dearman RJK . Evaluation of protein allergenic potential in mice: dose response analyses. *Clin Exp Allergy*, 2003; 33:1586-94.

Delattre-Beaudeau J, Bonnefont-Roisselot. Radicaux libres et stress oxydant : aspects iologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 2005; 1-405.

Desmier T. Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie .Université De Limoges, 2016; 174 p.

Dilek F, Ozceker D, Ozkaya E, Guler N, Tamay Z, Kesgin S, Yazici M, Kocyigit A. Oxidative Stress in Children with Chronic Spontaneous Urticaria. *Oxid Med Cell Longev*, 2016; 3831071.

Dupont C, Kalach N, Soulaines P, Legoue-Morillon S, Piloquet H, Benhamou PH . Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: a pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 2010; 125(5):1165-7.

Dupont C. L'allergie aux protéines du lait de vache. *Journal de pédiatrie et de puériculture* ,2008; 21, 156—157.

Ekoff M, Nilsson G. Mast cell apoptosis and survival. *Adv Exp Med Biol*, 2011; 716: 47-60.

El-Guendouz S, Alexandra M Machado, Smail Aazza, Badiaâ Lyoussi, Maria G. Miguel, Maria C. Mateus, and A. Cristina Figueiredo. Chemical Characterization and Biological Properties of Royal Jelly Samples From the Mediterranean Area. *Natural Product Communications*, 2020; 15(2): 1–13.

El-Nekeety AA, El-Kholy W, Abbas NF, Ebaid A, Amra HA, Abdel-Wahhab MA. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicon*, 2007; 50: 256-269.

Fang Y, Feng M, Li JK. Royal jelly proteome comparison between *A. Mellifera ligustica* and *A. cerana cerana*. *Journal of Proteome Research*, 2010; 9: 2207-2215.

Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique* ; 2003 :108-115.

Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K, Bozzola M, Bradsher J, Compalati E, Ebisawa M, Guzmán MA, Li H, Heine RG, Keith P, Lack G, Landi M, Martelli A, Rancé F, Sampson H, Stein A, Terracciano L, Vieths S. World Allergy Organization (WAO) diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. *Pediatr Allergy Immunol*, 2010; 21:1-125.

Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiol Res*, 2016; 192: 130-141.

Fritsche R. Role for technology in dairy allergy. *Aust J Dairy Technol*, 2003; 58: 89-91.

García-Tenesaca M., Navarrete E.S.; Iturralde G.A.; Villacrés Granda I.M.; Tejera E., Beltrán-Ayala P., Giampieri F., Battino M. & Alvarez-Suarez J.M. Influence of Botanical Origin and Chemical Composition on the Protective Effect against Oxidative Damage and the Capacity to Reduce In Vitro Bacterial Biofilms of Monofloral Honeys from the Andean Region of Ecuador. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017; 19 (1): 45.

Gasic S, Vucevic D, Vasilijic S, Antunovic M, Chinou I, Colic M. Evaluation of thimmunomodulatory activities of royal jelly components in vitro. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2007; 29: 521-536.

Ghanbari E, Nejati V, Khazaei M. Improvement in serum biochemical alterations and oxidative stress of liver and pancreas following use of royal jelly in streptozotocin induced

diabetic rats. *Cell J*, 2016b; 18: 362-370.

Ghosh S, Janocha AJ, Aronica MA, Swaidani S, Comhair SAA, Xu W, Zheng L, S Kaveti S, Kinter M, Hazen SL, Erzurum SC. Nitrotyrosine proteome survey in asthma identifies oxidative mechanism of catalase inactivation. *J Immunol*, 2006; 1: 5587-5597.

Godman, M, Bostick RM, Kucuk O, Jones DP. Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: Past, present and future. *Free Radic Biol Med*, 2011; 51: 1068-1084.

Grar H, Dib W, El Mecherfi KE, Negaoui H, Gourine H, Benattia Bekkaddour S, Amier L, Kaddouri H, Kheroua O, Saidi D. Supplementation with β -carotene or vitamin E protects against increase in anaphylactic response in β -lactoglobulin-sensitized Balb/c mice: *in vivo* study. *Eur Food Res Technol*, 2015; 241:393–398.

Grar H. Etude des propriétés immunomodulatrices et antioxydantes du β -carotène et de la vitamine E chez la souris Balb/c rendue allergique à la β -Lactoglobuline. Thèse de doctorat en sciences. Université Oran 1 Ahmed Benbela, 2017; 171p.

Guendouz M, Haddi A, Grar H, Kheroua O, Saidi D, Kaddouri H. Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. *Pharmaceutical Biology*, 2017; 55 (1), 2145-2152.

Guo H, Kozuma Y, Yonekura M. Isolation and properties of antioxidative peptides from water-soluble royal jelly protein hydrolysate. *Food Sci. Technol. Res*, 2005; 11(2):222-230.

Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill, *Br Med Bull*, 1999; 55: 49-75.

Haddi A, Guendouz M, Ainad Tabet S, Mehedi N, Kheroua O, Saidi D. Polyunsaturated fatty acids affect intestinal anaphylactic response in BALB/c mice sensitized (with β -lactoglobulin. *Revue française d'allergologie*, 2018; 58: 437-443.

Hadis U, Wahl B, Schulz O, Hardtke-Wolenski M, Schippers A, Wagner N, Müller W, Sparwasser T, Förster R, Pabst O. Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3+ regulatory T cells in the lamina propria. *Immunity*, 2011; 34: 237-46.

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th Edition. Oxford: Oxford University Press, 2007: 20-31.

Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 1990; 9: 1-32.

Han B, Li C, Zhang L, Fang Y, Feng M, Li J. Novel royal jelly proteins identified by gel based and gel-free proteomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011; 59, 10346-10355.

Hould R. *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Paris Montréal, Maloine-Décarie 1984 ; 147-156.

Ibsaine O, Djenouhat K, Lemdjadani N, Berah H. Incidence de l'allergie aux protéines du lait de vache au cours de la première année de vie. *Nutr Santé*, 2013; 2:9–16.

Inoue S, Koya-Miyata S, Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Royal jelly prolongs the life span of C3H/HeJ mice; correlation with reduced DNA damage. *Exp. Gerontol*, 2003; 38(9): 965-969.

Isidorova V A, Czyzewskaa U, Isidorovab A. G, Bakier S. Gas chromatographic and mass spectrometric characterization of the organic acids extracted from some preparations containing lyophilized royal jelly. *Journal of Chromatography B*, 2009; 877: 3776-3780.

Jianke L, Shenglu C, Boxiong Z, Su SK. The optimal way of royal jelly production. *American Bee Journal*, 2003; 143: 221-223.

Juchet A, Chabber B, Micheau P, Piot M, Bremont R. Évolution naturelle de l'allergie alimentaire chez l'enfant (Natural history of food allergy in children). *Rev Fr Allergol*, 2003; 43: 186-191.

Kamer B, Kulig K, Lewkowicz P, Kamer-Bartosńska A, Tchórzewski H. Evaluation of TLR4 expression and chosen parameters of oxidative-antioxidative balance in young children with food allergy. *Folia Histochem Cytobiol*, 2010; 48: 346-350.

Kanbur M, Erasian G, Beyaz L, Silici S, Liman B C, Altinordulu S, Atasever A. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2009; 61(2): 123-132.

Karaca T, Bayiroglu F, Yoruk M, Kaya MS, Uslu S, Comba B, Mis L. Effect of royal jelly on experimental Colitis induced by acetic acid and alteration of mast cell distribution in the colon of rats. *Eur J Histochem*, 2010; 54: 35.

Kashima Y, Kanematsu S, Asai S, Kusada M, Watanabe S, Kawashima T, Nagaoka S. Identification of a novel hypocholesterolemic protein, major royal jelly protein 1, derived from royal jelly. *PLoS One*, 2014; 9: e105073.

Kataoka M, Arai N, Taniguchi Y, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Analysis of antiallergic function of royal jelly. *Natural Med*, 2001; 55: 174-180.

Katz Y, Rajuan N, Goldberg MR, Eisenberg E, Heyman E, Cohen A, Leshno M. Early exposure to cow's milk protein is protective against IgE-mediated cow's milk protein allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2010; 126: 77-82.

Kaynar L, Cetin A, Hacıoglu S, Eser B, Koçyigit I, Canöz O, Tasdemir A, Karadag C, Kurnaz F, Saraymen R, Silici S. Efficacy of royal jelly on methotrexate-induced systemic oxidative stress and damage to small intestine in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2012; 9: 412-417.

Kerem Z, Chetrit D, Shoseyov O, Regev-Shoshani G. Protection of lipids from oxidation by epicatechin, trans-resveratrol, and gallic and caffeic acids in intestinal model systems. *J Agric Food Chem*, 2006; 54: 10288-10293.

Kim DK, Kim HS, Kim AR, Kim JH, Kim B, Noh G, Kim HS, Beaven MA, Kim YM, Choi WS. DJ-1 regulates mast cell activation and IgE-mediated allergic responses. *J Allergy Clin Immunol*, 2013; 131: 1653-1662.

Kim EH, Burks W. Immunological basis of food allergy (IgE mediated, non-IgE-mediated, and tolerance). *Chem Immunol Allergy*, 2015; 101: 8-17.

Kim TH, Yoon H J, Lim CM, Kim EK, Kim MJ, Koh Y. The role of endogenous histamine on the pathogenesis of the lipopolysaccharide (LPS)-induced, acute lung injury: A pilot study. *Inflammation*, 2005; 29: 72-80.

Kohno K, Okamoto I, Sano O, Arai N, Iwaki K, Ikeda M. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004; 68: 138-145.

Koletzko S, Niggemann B, Arato A, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, Mearin ML, Papadopoulou A, Ruemmele FM, Staiano A, Schäppi MG, Vandenplas Y. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2012; 55: 221-229.

Kruidenier L, Kuiper I, Lamers CB, Verspaget HW. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localisation, and association with mucosal antioxidants. *J Pathol*, 2003; 201: 28-36.

Kucuk M, Kolayli S, Karaoglu S, Ulusoy E, Baltaci C, Candan F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*. 2007; 100(2):526–34.

Kuresh AY, Jeremy PES, Hagen S, Rice-Evans C. Dietary Flavonoids as Potential Neuroprotectants. *Biol Chem*, 2002; 383: 503-519.

Lafitedupont A. Les Différents Lait Et Leur Complexité. Les Protéines Du Lait De Vache: Aspect Nutritionnel Et Allergie Alimentaire. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie .Université De Limoges, 2011; 146p.

Larre C, Perot M, Lupi R. Réduction de la réponse allergique par polyphénols. Colloque Adebitech Innovation - Protéines-Prod, Nov 2016, Romainville, France, 2016 ; hal-01604124f.

Cao LF, Zheng HQ, Pirk CWW, Hu FL, Xu ZW. High Royal Jelly-Producing Honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 2016; 109: 510-4.

Liu JR, Yang YC, Shi L, Peng C. Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *J Agric Food Chem*, 2008; 56: 11447–11452.

Livingstone DR. Contaminant –stimulated Reactive oxygen species production and oxyditive damage in aquatic organisms .*Marine pollution bulletin*, 2001; 42(8): 656-666.

López-Gutiérrez N, Aguilera-Luiz M, Romero-González R, Martínez Vidal J, Garrido Frenich A. Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlow™-liquid chromatography–Orbitrap high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr B* 973, 2014: 17–28.

Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 2005; 93p.

Magnan A, Vervloet D. Allergies: determinants of T2 lymphocyte polarization and desensitization mechanisms. *Rev Mal Respir*, 1997; 14: 173-181.

Mahmoud A, Fenghour M. Etude de l'effet protecteur d'un produit de la ruche, la gelée royale sur le Stress oxydatif et l'inflammation induit par le formaldéhyde chez le rat. Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, 2016 ; 109p.

Majtan J, Kovacova E, Bilikova K, Simuth J. The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1major honeybee royal jelly protein-on TNF alpha release. *International Immunopharmacology*, 2006; 6: 269-278.

Manach C, Mazur A, Scalbert A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 2005; 16: 77-84.

Maqsoudlou A, Mahoonak AS, Mohebodini H, Toldra F. Royal jelly: Chemistry, storage and bioactivities. *Journal of Apicultural Science*, 2019; 63: (1).

Maqsoudlou A, Sadeghi Mahoonak A, Mora L, Mohebodini H, Toldrá F, Ghorbani M. Peptide identification in alcalase hydrolysed pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly. *Food Research International*, 2018; 116: 905-915.

Marquele FD, Mambro VMDi, Georgetti SR, Casagrande R, Valimb YML, Fonseca MJ V. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005; 39: 455-462.

Martin S, Andriantsitohaina R. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 2002; 51 :304-315.

Martini MC, Seiller M. Actifs et additifs en cosmétologie. 3^{ème} édition. Paris: Editions Tec & Doc; Cachan: Éditions Médicales Internationales, 2006; XXVIII-1051p.

Matsui T, Suzuki Y, Yamashita K, Yoshimaru T, Suzuki-Karasaki M, Hayakawa S, Yamaki M, Shimizu K. Diphenyleneiodonium prevents reactive oxygen species generation, tyrosine phosphorylation, and histamine release in RBL-2H3 mast cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 276: 742-748.

Medina-Navarro R, Durán-Reyes G, Díaz-Flores M, Vilar-Rojas C. Protein Antioxidant Response to the Stress and the Relationship between Molecular Structure and Antioxidant Function. *PLoS One*, 2010; 5: 1-11.

Melliou E, Chinou I. Chemistry and Bioactivities of Royal Jelly. In: *Studies in Natural Products Chemistry*, 2014; 43: 261-290.

Mohebodini H, Maqsoudlou A, Dastar B, Tahmasebi G. Royal jelly production, amount of royal jelly thiamine and hypopharyngeal glands development in Iranian honeybee (*Apis mellifera* Meda) colonies fed with different levels of thiamine. *Journal of Animal Researches*, 2018; 31 :152-159.

Molkhou P. Actualité sur l'allergie et l'intolérance aux protéines lactées. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 2006; 19: 119-130.

Molkhou P. La « marche atopique » ou le devenir d'un allergique. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 2003;16:359-64.

Molkhou P. La dermatite atopique (DA) et l'allergie alimentaire (AA) en 2008. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 2009; 22: 5-13.

Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000; 71: 109-114.

Moselhy WA, Fawzy AM, Kamel A. An evaluation of the potent antimicrobial effects and unsaponifiable matter analysis of the royal jelly. *Life Science Journal*, 2013; 10(2): 290-296.

Nabas Z, Haddadin M, Haddadin J, Nazer I. Chemical composition of royal jelly and effects of symbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. *Pol J Food Nutr Sci*, 2014; 64 (3):171-180.

Nagai TR, Inoue R, Suzuki N, Nagashima T. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. *J Med Food*, 2006; 9: 363-367.

Nagai TR, Inoue R. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry*, 2004; 84: 181–186.

Nagai TR, Sakai M, Inoue R, Suzuki N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*, 2001; 75(2): 237-240.

Naithani V, Nair S, Kakkar P. Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 2006; 39: 176-181.

Natale M, Bisson C, Monti G, Peltran A, Garoffo LP, Valentini, Fabris C, Bertino E, Coscia A, Conti A. Cow's milk allergens identification by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2004; 48: 363-369.

Navarro J, Schmitz J. Allergies alimentaires. (Progrès en pédiatrie, n° 10). Paris: Doin, 1993. 257p.

Negaoui H, El Mecherfi K E, Tadjer SA, Grar H, Kheroua O, Saidi D. Bovine lactoferrin allergenicity as studied in murine model of allergy. *Food and Agricultural Immunology*, 2016; 27: 71-723.

Negaoui H, Kaddouri H, Kheroua O, Saidi D. A Model of Intestinal Anaphylaxis in Whey Sensitized Balb/c Mice. *Am J Immunol*, 2009; 5: 56-60.

Niu XF, Ibbotson G, Kubes P. A balance between nitric oxide and oxidants regulates mast cell dependent neutrophil-endothelial cell interactions. *Circ Res*, 1996; 79: 992-999.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidases in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1978; 85: 351-358.

Oka H, Emori Y, Kobayashi N, Hayashi Y, Nomoto K. Suppression of allergic reactions by royal jelly in association with the restoration of macrophage function and the improvement of Th1/Th2 cell responses. *Int Immunopharmacol*, 2001; 1: 521-532.

Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sci*, 2003; 73: 2029-2045.

Okumus Yukunc G. Royal Jelly: Proteins and Peptides. *Journal of Apitherapy and Nature/Apiterapi ve Doğa Dergisi*, 2019; 2(2): 59-70.

Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, Gurrin LC, Lowe AJ, Matheson MC, Ponsonby AL, Wake M, Tang ML, Dharmage SC, Allen KJ. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *J Allergy Clin Immunol*, 2011; 127: 668-76.

Özkök D, Silici S. Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food Sci. Biotechnol.* 2017; 26(1): 201-206.

Pan Y, Rong Y, You M, Ma Q, Chen M, Hu F. Royal jelly causes hypotension and vasodilation induced by increasing nitric oxide production. *Food Science & Nutrition*, 2019; 7(4): 1361-1370.

Park MJ, Kima BY, Parka HG, Denga Y, Yoonb HJ, Choib YS, Kwang SL, BR Jina. Major royal jelly protein 2 acts as an antimicrobial agent and antioxidant in royal jelly. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2019; 22: 684–689.

Pavel CI, Mărghitaş LA, Bobiş O, Dezmirean DS, Şapcaliu A, Radoi I, MădaşBiological MN. Activities of royal jelly. *Animal Science and Biotechnologies*, 2011; 44(2): 108-118.

Pavel CI, Mărghitaş LA, Dezmirean DS. Comparison between local and commercial royal jelly, use of antioxidant activity and 10-hydroxy-2-decenoic acid as quality parameter. *J Apic Res.* 2014; 53(1):116-123.

Pavel CI, Marghitash LA, Dezmireana DS, Bobis O, Barnuliu L, Şapcaliu, A. Changes in royal jelly composition during storage and possible freshness parameters. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 2011; 68(1-2): 245-248.

Petrovsky N, César Aguilar J. Vaccine adjuvants: Current state and future trends. *Immunology and Cell Biology*, 2004; 82: 48–496.

Philippe J. M. Le guide de l'apiculteur. Troisième Edition EDISUD, 1999.

Pietta P. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, 2000; 63: 1035-1042.

Ponvert C. Quoi de neuf en allergologie pédiatrique en 2009 ? Partie 1:épidémiologie, diagnostic précoce et prévention (une revue de la littérature internationale de fin 2008 à fin 2009). *Revue Française d'Allergologie et d'immunologie clinique*. Oct 2010;50(6): 51638.

Popescu O, Marghitasl A, Dezmireand L. A study about physicochemical composition of fresh and lyophilized royal jelly. *Zootehnie și Biotehnologii*, 2008; 41(2): 328-332.7

Pramil A, Rancé F. Intérêt des prick-tests aux hydrolysats dans l'allergie IgE-dépendante aux protéines du lait de vache chez l'enfant. *Rev Fr Allergol*, 2011; 51: 531-4.

Quantanilha AT, Packer L, Szyszlo DJA, Racnelly TL, Davies KJA. Membrane effects of vitamin E deficiency bioenergetic and surface charge density of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci*, 1982; 393: 32-47.

Rada B, Boudreau HE, Park JJ, Leto TL. Histamine Stimulates Hydrogen Peroxide Production by Bronchial Epithelial Cells via Histamine H1 Receptor and Dual Oxidase. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014; 50: 125-134.

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, 2007; 2: 219-236.

Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: a review. *J Funct Foods*, 2012; 4: 39-52.

Ramanathana ANKG, Naira AJ, Sugunanb VS. A review on Royal Jelly proteins and peptides *Journal of Functional Foods* , 2018; 44: 255–264.

Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*, 2006; 113: 189-207.

Reber LL, Hernandez JD, Galli SJ. The pathophysiology of anaphylaxis. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 2017; 140: 335-348.

Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Dig Dis Sci*, 2007; 52: 2015-2021.

Rigal M. Miel et gelée royale : utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie Thèse de doctorat en pharmacie, Université de limoges; 2012; 160p.

Sabatini AG, Marcazzan GL, Caboni MF, Bogdanov S, de Almeida-Muradian LB. Quality and standardisation of royal jelly. *JAAS*, 2009; 1: 1-6.

Saïdi D, Heyman M, Kheroua O, Boudraa G, Bylsma P, Kerroucha R, Chekroun A, Maragi JA, Touhami M, Desjeux JF. Jejunal response to beta-lactoglobulin in infants with cow's milk allergy. *CR Acad Sci III*, 1995; 318: 683-690.

Salvatore S, Vandenplas Y. Hydrolyzed Proteins in Allergy. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 2016; 86: 11-27.

Sato Y, Akiyama H, Matsuoka H, Sakata K, Nakamura R, Ishikawa S, Inakuma T,

Totsuka M, Sugita-Konishi Y, Ebisawa M, Teshima R. Dietary Carotenoids Inhibit Oral Sensitization and the Development of Food Allergy. *J Agric Food Chem*, 2010; 58: 7180-7186.

Sato Y, Akiyama H, Sukanuma H, Watanabe T, Nagaoka MH, Inakuma T, Goda Y, Maitani T. The feeding of β -carotene down regulates serum IgE levels and inhibits the type I allergic response in mice. *Biol Pharm Bull*, 2004; 27: 978.

Sesta G. Determination of sugars in Royal jelly by HPLC. *Apidologie*, 2006; 37:84-90.

Sharaf El-Din HA. Studies on royal jelly production in honeybee production in honeybee colonies. M.Sc. Thesis Faculty of Agriculture, Cairo University, Cairo, Egypt, 2010; 227p.

Sharma S, Kumar P, Betzel C, Singh TP. Structure and function of proteins involved in milk allergies. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001; 756: 183-187.

Shi XF, Ding F, Zhu QY, Xue J, Lu FM, Gu Y, Lin ST. Use of Ascorbate-Rich Dialysate to Attenuate Oxidative Stress in Maintenance Hemodialysis Patients. 2005; 27(2): 213-9.

Shibi C, Shengming H, Fuhai L, Puxiu L. Studies on the Relationship Between the Bee Races and the Yield of Royal Jelly. *Honey Bee. Royal jelly. Environment China*, 1993; 40-53.

Shinoda M, Nakajin S, Oikawa T, Sato K, Kamogawa A, Akiyama Y. Biochemical studies on vasodilative factor in royal jelly. *Yakugaku Zasshi*, 1978; 98: 139-145.

Shirzad M, Kordyazdi R, Shahinfard N, Nikokar M. Does Royal jelly affect tumor cells. *Journal of Herb Med Pharmacology*, 2013; 2(2): 45-48.

Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 2014; 133: 291-307.

Sivaranjani N, Venkata Rao S, Rajeev G. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2013; 7: 2683-2685.

Spergel JM. Natural history of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2013; 131: 813-814.

Springer J, Groneberg DA, Dinh QT, Quarcoo D, Hamelmann E, BraunDullaes RC, Geppetti P, Anker SD, Fischer A. Neurokinin-1 receptor activation induces reactive oxygen species and epithelial damage in allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy*, 2007; 37: 1788-1797.

Stocker A, Schramel P, Kettrup A, Bengsch E. Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2005; 19: 183-189.

Tordesilas L, Berin MC, Sampson HA. Immunology of Food Allergy. *Immunity*, 2017; 47:23-50.

Toth NM. The effect of royal jelly on sucklings, dystrophics, convalescents and immatures. XX Th. Apimondia Congress, Bucharest, Romania, 1965; 568-569.

Tsabouri S, Douros K, Priftis KN. Cow's milk allergenicity. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2014; 14: 16-26.

Tsuge I, Kondo Y, Tokuda R, Kakami M, Kawamura M, Nakajima Y, Komatsubara R, Yamada K, Urisu A. Allergen-specific helper T cell response in patients with cow's milk allergy: simultaneous analysis of proliferation and cytokine production by. *Clinical and Experimental Allergy*, 2006; 36: 1538-1545.

Uçar M, Barlak Y. The Antioxidant Activity of Water, DMSO and Methanol Extracts of Royal Jelly from Bursa Province in Turkey. *Pharmaceut Drug Regula Affair J*, 2019; 2(1): 787-98.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006; 160: 1-40.

Vârban D I , Duda M , Vârban R , et Muntean S. Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*, 2009; 66(2): 225-229.

Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Pérez Alvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci*, 2008; 73: 117-24.

Vrdoljak D, Miškulin M, Vlahović J, Pavlović N. Cow's milk allergy in the population of infants and early preschoolers from the Vukovar – Srijem County. *Food in health and disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics*, 2014; 3: 84-89.

Vucevic D, Melliou E, Vasilijic S, Gasic S, Ivanovski P, Chinou I, Colic M. Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell-mediated immune response in vitro. *Int Immunopharmacol*, 2007; 7: 1211-1220.

Wal JM. Cow's milk allergens. *Allergy*, 1998; 53: 1013-1022.

Wal JM. Alergenicity of milk proteins. *Inovations Agronomiques*, 2011; 13: 25-43.

Wongchai V, Ratanavalacha T. Seasonal variation of chemical composition of royal jelly produced in Thailand. *Thammasat Int J Sc Tech*, 2002; 7: 1-8.

Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM, Henning AK, Mayer L, Burks AW, Grishin A, Stablein D, Sampson HA. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol*, 2013; 131: 805-812.

Wu Y, Zhou C, Li X, Song LY, Wu XM, Lin WY, Chen H, Yong BH, Zhao J, Zhang, Sun H, Zhao Y. Evaluation of anti-inflammatory activity of the total flavonoids of *Laggera pterodonta* on acute and chronic inflammation models. *Phytother Res*, 2006; 20: 585-590.

Xue XF, Wu L, Wang K. Chemical composition of royal jelly. In *Bee Products-Chemical and Biological Properties*; Alvarez-Suarez, JM., Ed. Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017; 181-187.

Yang B, Yang C, Wang P, Li J, Huang H, Ji Q, Liu J, Liu Z. Food allergen-induced mast cell degranulation is dependent on PI3K-Mediated reactive oxygen species production and

upregulation of store-operated calcium channel subunits. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2013; 78: 35-43.

Zhang S, Shao Q, Geng H, Su S. The effect of royal jelly on the growth of breast cancer in mice. *Oncology Letters*, 2017; 14 (6):7615-7621.

Zimmermann A. Liver regeneration: the emergence of new pathways. *Med Sci*; 2002; *Monit*, 8: 53-63.

College year : 2019/2020

Presented by : Fillali Nour el yakine
Zinelabidine Imane

The antioxidant effect of royal jelly on Balb/c mice made allergic to cow's milk proteins

End of cycle dissertation for obtaining an engineer diploma in biotechnology: molecular biology

Cow's milk protein allergy (CMPA) is considered a public health problem. Understanding this pathology has made it possible to look for other therapeutic options such as the antioxidant therapy, which has undergone a great evolution in recent years. Royal jelly (RJ) is a natural substance rich in antioxidants that can cope with oxidative stress and prevent allergic responses.

The aim of our work is to assess the antioxidant effect of royal jelly in CMPA using Balb /c mice as an experimental model.

The RJ used in this work was first evaluated for its antioxidant properties by the DPPH test. Then, with a view to studying its antioxidant effect, 30 female Balb/c mice, aged 4 weeks, are divided into 3 groups of 10 mice each. A positive control group , a negative control group and a group whose mice receive royal jelly as a pretreatment by gastric gavage at a dose of 1g/kg, mice of the positive control group received by gavage physiological water for 7 consecutive days, all experimental mice except negative controls, are sensitized by the intraperitoneal route to β -Lactoglobulin (β -Lg), a major allergen of cow's milk, on the 35th day of the experiment, a sampling of blood and organs (liver and intestine) is performed to measure the content of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ,and assess lipid peroxidation in sera and tissues. Finally, the impact of RJ on allergic intestinal inflammation is assessed by histological and morphometric examination.

Given the exceptional situation the world is experiencing today following the pandemic caused by Covid-19, as well as the state of containment established by our government, work at the laboratory l was impossible, and we found ourselves in the inability to continue our experimental work. Only the results concerning the histological study on the effect of GR on the intestinal architecture were obtained.

Based on several experiences that have shown the link between oxidative stress and cow's milk protein allergy, we have deduced that royal jelly, thanks to its antioxidant and antiallergic properties, can modulate the allergic reaction and prevent the deleterious action of β -Lg by reducing the increase in lipid peroxidation. It can also prevent damage of the intestinal lining caused by immunization.

Keywords: Antioxidants, Royal jelly, CMPA, Oxidative stress, β -Lactoglobulin