

Propolis brune et Covid-19 : Quels intérêts ?

EN RÉSUMÉ

Nous rapportons et discutons l'intérêt, face à l'épidémie en cours de la Covid-19, d'une supplémentation en propolis brune de peuplier titrée en polyphénol à travers une observation rétrospective de terrain d'individus du 3^e âge vivant en résidence. La propolis ne réduit pas le risque léthal mais semble globalement favoriser des formes cliniques asymptomatiques ou l'absence de contamination à la Covid-19 ($p < 0,05$). La propolis semble diminuer l'inflammation induite par la Covid-19 et stimuler également le système immunitaire. Les polyphénols apparaissent susceptibles de jouer un rôle essentiel dans l'immuno-modulation et les actions anti-inflammatoires et antivirales de la propolis. Cela conforte l'intérêt d'une propolis caractérisée sur le plan botanique et titrée en polyphénol pour une action efficace.

Introduction

La maladie à coronavirus 2019 (Covid-19 pour Corona Virus Disease) est responsable de la pandémie qui ébranle le monde. C'est une maladie infectieuse émergente apparue en Chine à la fin 2019. L'agent pathogène est le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2). La recherche mondiale est très active et un grand nombre d'informations sur ce virus diffusent. Ainsi, le génome viral de la Covid-19 est composé d'ARN comme celui des virus de la polio, du VIH, d'Ebola et de la grippe. De plus, les principaux mécanismes viraux d'infection des cellules humaines et de réplication du virus semblent désormais assez bien définis.

Fort de ces connaissances, diverses cibles thérapeutiques potentiellement intéressantes se dessinent. Ainsi, en dehors du développement d'un vaccin qui demande des années de recherches, différentes cibles thérapeutiques sont explorées. Elles sont actuellement principalement au nombre de quatre. Ce sont :

- 1 l'inhibition de l'activation de la couronne de protéines dites « Spike » du coronavirus,
 - 2 l'inhibition de la fixation et de la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule humaine,
 - 3 l'inhibition de la réplication du génome viral,
 - 4 l'inhibition de l'exploitation par le virus de la machinerie de synthèse de la cellule humaine infectée.
- D'autres ont pour but de parer aux complications cliniques majeures dues à la « tempête cytokinique » déclenchée par le virus.



© Ph. Patrice Roux

Des molécules thérapeutiques présentes sur le marché sont en cours d'étude. C'est, par exemple, le Camostat pour l'inhibition des protéines Spike, la Chloroquine et l'Hydroxychloroquine pour barrer la fixation et la fusion membranaire, le Remdesivir pour bloquer la réplication de l'ARN, l'association Lopinavir/Ritonavir pour détériorer l'exploitation de la machinerie cellulaire, enfin, le Tocilizumab pour empêcher l'inflammation cytokinique. Cependant, certains travaux sont décevants comme pour le Lopinavir/Ritonavir, d'autres inquiètent pour leurs effets secondaires délétères, du type cardiaque pour la Chloroquine et l'Hydroxychloroquine. Parfois, les résultats sont contradictoires, c'est le cas pour le Remdesivir avec des études américaines et chinoises opposées.

Les résultats de ces premières études apparaissant chaotiques et l'hyper-information du public ont généré une confusion générale. Devant la progression de l'épidémie de la Covid-19, et parce que la propolis est connue du grand public pour stimuler les défenses immunitaires, un groupe d'individus vivant en résidence lors du confinement général survenu en France au printemps 2020, a décidé d'ajouter de la propolis à son régime alimentaire habituel. Nous rapportons et discutons les résultats rétrospectifs de cette observation de terrain de supplémentation en propolis.

Retour d'informations d'une observation rétrospective de terrain

Vingt-quatre individus du 3^e âge ont complété leur alimentation servie dans leur résidence avec de la propolis brune de peuplier titrant 400 mg/jour de polyphénol, répartie en deux prises au cours de quatre semaines consécutives au mois avril 2020.



➤ Dr Anne Becker,
Rohrbach les Bitche,



➤ Nicolas Cardinault,
Nutritionniste, Belleneuve



➤ Dr Claude Nonotte-Varly,
Pdt Association Francophone
d'Apithérapie, Hyères

Trente-cinq autres personnes de même profil et de la même résidence ont partagé les mêmes repas sans supplémentation.

Au cours de cette période, il est rapporté 38 % de malades Covid-19 chez les individus consommant la propolis versus 43 % chez ceux qui n'en consomment pas. Les diagnostics de maladie Covid-19 initialement clinique ont été confirmés dans un second temps par une sérologie Covid-19 positive. Le constat d'une évolution létale a été identique chez les consommateurs de propolis et les non utilisateurs (8 % versus 9 %).

Les formes cliniques asymptomatiques (avec séroconversion positive) et la proportion de sujets non malades (avec absence de séroconversion à Covid-19) sont plus importantes chez les consommateurs de propolis par rapport aux autres (respectivement 38 % versus 23 % et 33 % versus 21 %).

Les différents résultats entre consommateurs et non consommateurs de propolis qui précèdent ne sont pas statistiquement différents (tests Z non paramétriques de comparaison de deux proportions - $er < 1,96$).

Cependant, la proportion des formes cliniques très favorables (somme des proportions des sujets asymptomatiques et non malades) est significativement plus élevée chez les consommateurs de propolis (71 % versus 44 % - $er = 2,04$ - $p < 0,05$).

Les bilans biologiques réalisés chez les individus malades de la Covid-19 ont tous montré une leucopénie souvent associée à lymphopénie profonde.

Chez les individus ayant pris la propolis après le début des symptômes, et chez qui un bilan biologique a été réalisé dès le début de la maladie, une remontée très rapide des leucocytes a été constatée, notamment des lymphocytes, avec doublement des valeurs absolues en quelques jours. Cette constatation n'est pas observée chez ceux n'ayant pas pris de propolis.

Discussion

Les actions immuno-modulatrices et anti-inflammatoires de la propolis sont intimement intriquées dans la lutte contre les pathogènes.

De nombreuses données bibliographiques attestent de l'activité immuno-modulatrice des diverses propolis [1,2].

Cette activité peut varier selon l'origine botanique de la propolis, de sa méthode d'extraction, de la quantité de principes actifs administrée, de la voie d'administration et enfin du type d'études (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*) mis en place pour tester l'efficacité de l'extrait.

Plusieurs études montrent que la propolis exerce un effet stimulateur sur le système de défense non spécifique ou inné. Ainsi des souris supplémentées avec 0,2 ou 1 mg/ml de propolis ont des macrophages qui

produisent plus de cytokines $IL-1\beta$ et $TNF-\alpha$ [3]. Un autre travail montre que l'ingestion de 0,15 mg/g de propolis module la production des protéines du complément *in vivo* et *in vitro* [4]. La prise de propolis de *Baccharis* ou de six de ses composés isolés apparaît capable d'augmenter la motilité et le pouvoir de présentation des macrophages [5]. Les macrophages exercent leur activité destructive en partie par leur capacité à synthétiser de grandes quantités d'espèces oxygénées réactives (H_2O_2 , O_2^- , OH^\cdot), entraînant un stress oxydatif important sur les micro-organismes phagocytés, qui conduit à leur lyse. Plusieurs papiers ont bien démontré que l'ajout de propolis dans



une culture de macrophages entraîne une augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par ces cellules [6].

Les mécanismes inflammatoires et immunitaires sont difficiles à dissocier tant leur mécanisme respectif font intervenir un grand nombre de cellules et de molécules communes. Ainsi plusieurs études sur modèles murins ont mis en évidence que l'administration de propolis conduit à une inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires tels que $IL-1\beta$, $IL-6$, $TNF-\alpha$ ou $INF-\gamma$ par les splénocytes [7]. Cette activité expliquerait que des patients atteints d'asthme modéré supplémentés pendant 2 mois avec un extrait de propolis ont une réduction significative de leurs crises nocturnes et une amélioration de leur fonction ventilatoire.

Cette réduction de l'inflammation pulmonaire serait à mettre en rapport avec la diminution des cytokines pro-inflammatoires et d'autres molécules inflammatoires comme les prostaglandines et les leucotriènes [8].

La propolis exerce également son rôle immuno-modulateur en agissant sur notre système de défense adaptatif. Elle renforce la coopération entre les lymphocytes CD4 et CD8 et stimule la production plasmocytaire d'anticorps [9]. Cette dernière propriété a été particulièrement étudiée dans le cadre de la réponse immunitaire vaccinale en utilisant un extrait de propolis comme adjuvant au vaccin. Dans ces études d'utilisation de la propolis comme adjuvant, les auteurs constatent que la production d'anticorps est accrue, plus précoce et plus persistante. Cet effet serait lié à une stimulation de la production de $IFN-\gamma$, $IL-2$ et $IL-4$, signifiant une amélioration de la coopération entre les éléments de l'immunité humorale et cellulaire [10].

D'autres mécanismes participent à l'activité antivirale de la propolis

L'activité antivirale de la propolis et/ou ses constituants a été testée avec succès vis-à-vis de nombreux types de virus tels que myxovirus, poliovirus, coronavirus, rotavirus ou adénovirus [11,12]. L'efficacité des

différents extraits de propolis a suggéré de rechercher les molécules les plus pertinentes dans cette activité. La propolis de peuplier et quelques uns de ses composés (apigénine, chrysin, CAPE) ont montré un effet prophylactique contre le virus de la grippe à travers son action anti-neuraminidase, limitant la dissémination des particules virales dans l'organisme [13]. Une étude sur modèle murin a évalué l'effet de trois types différents d'extrait éthanolique de propolis sur le virus de l'herpès de type 1. Malgré leur différence de constituants biochimiques, les 3 extraits ont eu un effet antiherpétique direct [14]. Plusieurs études cliniques ont montré que l'utilisation de crèmes à base de propolis s'est révélée efficace pour réduire les durées des lésions, les douleurs et augmenter les intervalles entre 2 épisodes d'herpès labial et génital [15]. Il est rapporté que la propolis et/ou ses constituants exercent son activité antivirale en interagissant à plusieurs niveaux : sur la fixation et/ou la pénétration du virus dans la cellule hôte, sur la réplication virale et/ou sur sa dissémination [16]. Une étude a montré que les poliovirus et les virus de l'herpès seraient les plus sensibles à la propolis.

Propolis et Covid-19

Récemment plusieurs études ont étudié l'effet de la propolis et/ou ses constituants sur le virus SARS-Cov-2, Covid-19. Une étude *in silico* a montré que plusieurs molécules de la propolis dont le CAPE (présent dans la propolis brune de peuplier) seraient capables de se fixer sur une protéine indispensable au cycle de vie de ce virus [17]. Le virus SARS-Cov-2 a besoin pour pénétrer dans la cellule hôte de se fixer sur une protéine de surface ACE-2 (angiotensin-convertant enzyme) qui est associée à une protéine transmembranaire (TMPRSS2).

Des études *in vitro* ont déterminé que certains constituants de la propolis (CAPE, chrysin, pinocembrine, kampferol) ont une grande affinité de fixation sur ces protéines, limitant ainsi leur accessibilité au virus [18]. Une fois pénétré dans la cellule hôte, le virus active une voie de signalisation nucléaire (PAK1) qui a pour conséquence une immuno-suppression des lymphocytes T et B censés combattre le virus. Un certain nombre d'observations expérimentales, *in vitro* et *in vivo*, indique clairement la dépendance à PAK1 de la pathogénèse virale à coronavirus. Il a été montré que la propolis était un inhibiteur de la voie PAK1 [19].

Les inhibiteurs de PAK1 de la propolis semblent actifs contre le virus du Covid-19 par des effets inhibiteurs complémentaires à deux niveaux d'actions. Premièrement, l'inactivation de PAK1 supprime l'inflammation pulmonaire et la fibrose dépendante de CCL2 induite par le coronavirus (CCL2 est une cytokine de type chémokine qui a un pouvoir attractif sur certaines cellules immunitaires) [20]. Ceci a été récemment démontré à l'aide d'une phosphatase appelée PTEN. Deuxièmement, la PAK1 est respon-



Boulettes de propolis

sable du blocage du système immunitaire de l'hôte [21]. Ainsi, supprimer le frein de PAK1 par un inhibiteur de PAK1 permet de libérer le système immunitaire pour la production d'anticorps contre le virus Covid-19.

Parmi les inhibiteurs de PAK1, l'ester phénéthylque de l'acide caféique (CAPE) présent dans les propolis égyptienne et israélienne et l'acide caféique ont été les premiers ingrédients naturels capables de bloquer l'action de PAK1 [22]. Le CAPE inhibiteur de PAK1 intervient dans l'action anticancéreuse de ces propolis, de même que dans la propolis brune de peuplier. Cependant, l'actif bloquant PAK1 varie en fonction de l'origine de la propolis. L'ingrédient majeur de la propolis verte brésilienne est l'artépilline C, tandis que ceux de la propolis subtropicale d'Okinawa ou de Taïwan sont des polyphénols appelés Nymphaeols qui inhibent directement PAK1 [23]. Ce qu'il faut retenir, c'est que toute propolis contient sans aucune exception un inhibiteur PAK1.

CONCLUSION

Ainsi, toute propolis serait susceptible de bloquer l'inflammation et la fibrose pulmonaire induite par le coronavirus et de stimuler également le système immunitaire. Cependant, la propolis ne semble pas en mesure de diminuer les formes graves létales qui touche environ 8 % (versus 9 %) des individus du 3e âge de notre observation rétrospective. Ce taux est très proche du taux de létalité de 8,7 % rapporté par Santé Public France le 10 septembre 2020, sachant que les décès concernent pour 90 % des individus âgés de 65 ans et plus et que le décès survient à l'âge moyen de 84 ans. Peut-on dire que les différents mécanismes d'action de la propolis sont à l'origine de formes cliniques très

favorables observées chez les consommateurs de propolis de cette étude rétrospective de terrain (71 % versus 44 % - $r = 2,04$ - $p < 0,05$) ? La propolis mobilise-t-elle plus efficacement l'immunité de l'individu infecté par Covid-19, en favorisant une remontée plus rapide des cellules des lignées blanches ? Des travaux complémentaires sont nécessaires pour répondre à ces questions, pour éclairer les résultats de notre observation rétrospective. La puissance inhibitrice de PAK1 de la propolis varie d'un produit à l'autre, en fonction de la nature chimique des ingrédients et de leur contenu. De même, il faut tenir compte de la biodisponibilité et donc de la puissance d'action des inhibiteurs PAK1 des propolis, qui dépend de leur structure chimique [24]. L'usage d'une propolis caractérisée sur le plan

botanique et titrée en polyphénol est une précaution minimale de qualité à respecter. La propolis est réputée être un produit sûr, censée n'exposer qu'à des effets secondaires « mineurs » de type sensibilisation de contact. Nous devons cependant rapporter que 4 consommateurs de propolis traités par Fluidione ont présenté une diminution de l'action anticoagulante de cette molécule. Cette chute de l'action anticoagulante est caractérisée par une diminution de l'INR (International Normalized Ratio) en dessous de la valeur d'efficacité thérapeutique. Ce phénomène a disparu avec l'arrêt de la prise de propolis et il n'a pas été observé chez ceux qui ne consommaient pas de propolis, malades ou non du Covid-19.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Onlen Y, Tamer C, Oksuz H, et al. (2007) Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on *Pseudomonas keratitis* in rabbits. *Microbiol Res* 162, 62-68.
- [2] Park JH, Lee J K, Kim H S, et al. (2004) Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *Int Immunopharmacol* 4, 429-436.
- [3] Moriyasu, J, Arai, S, Motoda, R, et al. (1994) In vitro activation of mouse macrophage by propolis extract powder. *Biotherapy* 8, 364-365.
- [4] Dimov, V, Ivanovska, N, Manolova, N, et al. (1992) Immunomodulatory action of propolis. IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine* 10, 817-823.
- [5] Tatefuji, T, Izumi, N, Ohta, T, et al. (1996) Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 19, 966-970.
- [6] Orsi, R O, Funari, S R C, Soares, A M V C, et al. (2000) Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *The Journal of Venomous Animals and Toxins* 6, 205-219.
- [7] Ansoerge, S, Reinhold, D, Lendeckel, U. (2003). Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF-1 production of human immune cells. *Zeitschrift für Naturforschung* 58c, 580-589.
- [8] Khayyal M T, El-Ghazaly M A, El-Khatib A S, et al. (2003) A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. *Fundam Clin Pharmacol* 17, 93-102.
- [9] Sforzin J M. (2007) Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 113, 1-14.
- [10] Chu, W.H. (2006) Adjuvant effect of propolis on immunization by inactivated *Aeromonas hydrophila* in carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish & Shellfish Immunology* 21, 113-117.
- [11] Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, et al. (1999) Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 64, 235-240.
- [12] Schnitzler P, Neuner A, Nolkemper S, et al. (2010) Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res* 24 Suppl 1, S20-28.
- [13] Liu A L, Wang H D, Lee S M, et al. (2008) Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro antiviral activities. *Bioorg Med Chem* 16, 7141-7147.
- [14] Shimizu T, Takeshita Y, Takamori Y, et al. (2011) Efficacy of Brazilian Propolis against Herpes Simplex Virus Type 1 Infection in Mice and Their Modes of Antiherpetic Efficacies. *Evid Based Complement Alternat Med*. 976196.
- [15] Vynograd N, Vynograd I, and Sosnowski Z. (2000) A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine* 7, 1-6.
- [16] Amoros M, Simões C M, Girre L, et al. (1992) Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *J Nat Prod* 55(12), 1732-40.
- [17] Hashem H. (2020) In Silico Approach of Some Selected Honey Constituents as SARS-CoV-2 Main Protease (COVID-19) Inhibitors. *EJMO* 4(3) 196-2.
- [18] Da J, Xu M, Wang Y, et al. (2019) Kaempferol Promotes Apoptosis While Inhibiting Cell Proliferation via Androgen-Dependent Pathway and Suppressing Vasculogenic Mimicry and Invasion in Prostate Cancer. *Anal Cell Pathol*. PMID: 31871879
- [19] Xu J W, Ikeda K, Kobayakawa A, et al. (2005) Downregulation of Rac1 activation by caffeic acid in aortic smooth muscle cells. *Life Sci* 76(24) 2861-72.
- [20] Lu S, Strand K A, Mutryn M F. (2020) PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) Protects Against Ang II (Angiotensin II)-Induced Pathological Vascular Fibrosis and Remodeling-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 40:394-403.
- [21] Huynh N, Wang K, Yim M. (2017) Depletion of p21-activated kinase 1 (PAK1) up-regulates the immune system of APC^{Δ14/+} mice and inhibits intestinal tumorigenesis. *BMC Cancer*. 17:431.
- [22] Xu J.W., Ikeda K., Kobayakawa A., Ikami T. (2005) Downregulation of Rac1 activation by caffeic acid in aortic smooth muscle cells. *Life Sci*. 76:2861-2872.
- [23] Nguyen B.C., Yoshimura K., Kumazawa S., Tawata S., Maruta H. (2017) Frondoside A from Sea Cucumber and Nymphaeols from Okinawa Propolis: Natural anti-cancer agents that selectively inhibit PAK1 in vitro. *Drug Discov. Ther.* 11:110-114.
- [24] Maruta H, Ahn M.R. (2017) From bench (laboratory) to bed (hospital/home): How to explore effective natural and synthetic PAK1-blockers/Longevity-promoters for cancer therapy. *Eur. J. Med. Chem.* 142:229-243.