

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SIKKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

Contribution à l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire de la résine de *Pinus halpensis*

Présenté Par : Merrouche Fatima
Hebache Souad

Membre de Jury :

Pr Djerou Zouhir (Pr)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Dr Belambri Sahra Amel (MCA)	Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Pr Slimani Souheila (Pr)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Bismillahirrahmanirrahim

Remerciement

*Nous remercions d'abord et avant tout Dieu Tout-Puissant
qui nous a permis d'atteindre ce jour-là.*

*Nous tenons ensuite à remercier notre promotrice Dr
Belambri Sahra Amel pour nous avoir guidées et orientées et
surtout pour ses efforts pour nous aider à réaliser ce travail. et un
grand merci pour le président de jury et notre examinatrice pour
avoir accepté de venir évaluer notre mémoire*

*Merci beaucoup pour toute personne ayant aidé de près ou de loin
à réaliser ce modeste travail.*

Merci

Liste des figures et des tableaux

1. Liste des figures

- **Figure 1:** Phénomène de diapédèse leucocytaire
- **Figure 2 :** les médiateurs de l'inflammation.
- **Figure 3 :** l'arbre de *Pinus halepensis*.
- **Figure 4 :** Méthode de gemmage traditionnelle.
- **Figure 5 :** Méthode de gemmage moderne.
- **Figure 6 :** Récolte de la résine.
- **Figure 7 :** Test de l'œdème de l'oreille.
- **Figure 8 :** photos de test de la péritonite.
- **Figure 9 :** photos de test de l'immersion de la queue.
- **Figure 10 :** Effet de la solution de résine de *P. halepensis* sur le nombre de leucocytes recrutés au site de l'inflammation.
- **Figure 11 :** Inhibition de la migration de neutrophiles vers la cavité péritonéale par la résine de *Pinus halepensis* (Application locale et administration par voie orale).
- **Figure 12 :** Evolution de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène après l'application (A) : orale et (B) : locale de la solution de résine de *P. halepensis* en fonction de temps,
- **Figure 13 :** Effet analgésique de la résine de *P. halepensis* par application locale(A) et par administration orale(B) suite au test de l'immersion de queue.

2. Liste des tableaux

- **Tableau 1 :** les types d'inflammations selon leurs causes.
- **Tableau 2 :** les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.
- **Tableau 3 :** classification des résines.
- **Tableau 4 :** composition chimique de résine.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA : acide arachidonique

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdiens

COX : Cyclo-oxygénase

IL : Interleukine

LOX : Lipo-oxygénases

LT : Leucotriènes

PAF : Facteur d'activation plaquettaire

PG : Prostaglandines

PID : Pourcentage d'inhibition de la douleur

PLA2 : phospholipase A2

PMNs : Polymorpho-nucléaires neutrophiles

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

Δ O : Développement œdémateux

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre 1 : Inflammation	
1. Réaction inflammatoire.....	3
2. Facteurs déclenchant la réaction inflammatoire.....	3
3. Mécanisme de survenue de l'inflammation.....	3
4. Signes cardinaux de l'inflammation.....	4
4.1. Rubor : la rougeur.....	4
4.2. Tumor : l'œdème ou le gonflement.....	4
4.3. Calor : la chaleur.....	4
4.4. Dolor : la douleur.....	4
4.5. Functio laesa : perte de fonction.....	4
5. Etapes de l'inflammation.....	4
5.1. Phase vasculaire	4
5.2. Phase cellulaire.....	5
5.3. Diminution de l'amplitude.....	5
5.4. Formation et persistance des lésions.....	5
5.5. Détersion.....	6
5.6. Réparation.....	6
6. Types d'inflammation.....	6
6.1. Selon l'agent causal.....	6
6.2. Selon le mécanisme.....	7
6.3. Selon la nature de l'infiltrat cellulaire.....	7
6.4. Selon la durée et l'intensité.....	7

a. Inflammation aigue.....	7
b. Inflammation chronique.....	7
7. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	8
8. Médiateurs de l'inflammation.....	8
8.1. Histamine	8
8.2. Cytokines pro-inflammatoires.....	8
8.2.1. TNFα (Tumor Necrosis Factor α).....	8
8.2.2. IL-1 (Interleukine-1).....	8
8.2.3. IL-6 (Interleukine-6).....	8
8.3. Chimioquinas	8
8.4. Autres médiateurs de l'inflammation.....	9
8.4.1. Médiateurs lipidiques de l'inflammation.....	9
8.4.2. Protéines de la phase aigüe.....	9
8.4.3. Système des kinines : La bradykinine	9
8.4.4. Enzymes et le système de la plasmine.....	9
8.4.5. Protéines microbicides et les dérivés oxygénés.....	9
9. Médicaments anti-inflammatoire.....	10
9.1. Anti-inflammatoires stéroïdien.....	10
9.2. Antiinflammatoires non stéroïdien (AINS).....	11
9.2.3. Les médicaments biologiques.....	11
9.2.4. Les antiinflammatoires traditionnels.....	11
 Chapitre 2 : Pinus halpensis	
1. le pin d'Alep (pinus halpensis).....	13
2. Systématique de l'espèce	13

3. Résine de pinus halepensis.....	14
3.1. Récolte de la résine.....	14
3.2 Composition chimique de résine.....	15
3.3. Propriété pharmacologiques.....	16
Matériel et méthodes.....	18
1. Materiel.....	18
1.1. Animeaux d'étude.....	18
1.2. Matériel végétal.....	18
1.3. Solutions de travail.....	18
2. Méthodes.....	19
2.1. Solubilisation de la résine.....	19
2.2. Etude in vivo de l'activité anti-inflammatoire de la solution préparée	19
2.2.1. l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	19
2.2.2. induction de la péritonite chez les rats par la carrageenane.....	20
2.2.3. Etude in vivo de l'activité analgésique de la résine de pinus halpensis.....	21
3. Etude statistique.....	22
Résultats et discussion.....	24
1. Résultats.....	24
1.1. Effet de la résine sur la péritonite induite par la λ-carrageenane.....	24
1.2. Effet de la résine sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	26
1.3. Evaluation de l'activité analgésique de la solution de résine de P.halpensis.....	28
2. Discussio.....	30
Conclusion.....	34
Références.....	35

Résumé

La résine de *Pinus halepensis* est largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et dans la zone Méditerranéenne pour ses propriétés thérapeutiques. L'objectif de cette étude était d'évaluer le pouvoir anti inflammatoire *in vivo* de la résine de l'espèce *Pinus halepensis* Mill et de confirmer son usage traditionnel par application locale et par administration orale. Pour cela deux modèles d'inflammation aigüe et un test d'analgésie ont été utilisés pour tester l'activité anti-inflammatoire de la solution préparée. Le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène a montré que la résine solubilisée donne une réduction très significative voire une prévention totale de l'œdème, aussi bien avec l'application locale qu'avec l'administration orale. Cet effet anti-inflammatoire obtenu est bien mieux que celui donné par les anti-inflammatoires de référence (Diclofenac gel et l'aspirine). D'autre part, la péritonite induite chez les rats par l'injection intrapéritonéale de la λ -carragénane (1%) a montré que la solution résineuse appliquée sur l'abdomen du rat, inhibe le nombre de neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale de près de 66% ($p < 0,01$). Cette inhibition qui est pratiquement similaire à celle obtenue avec le Diclofenac qui de 63% ($p < 0,01$). L'administration orale de la résine induit une réduction du recrutement des leucocytes au niveau de la cavité péritonéale 75% qui est tout aussi important que celui induit par l'acide salicylique administrée à la même dose qui a réduit la péritonite de près de 72%. Par contre, le test d'immersion de la queue réalisé dans nos conditions expérimentales n'a pas donné des résultats significatifs avec aucun des produits testés et ce pour des raisons purement de manipulation, où les rats sont trop agités et ne supportent pas l'immersion de leur queue dans l'eau chaude. Ainsi, les résultats de la présente étude approuvent que la résine de *P. halepensis* solubilisée dans l'huile d'olive possède des activités anti-inflammatoires très significatives ce qui confirme son utilisation par la médecine traditionnelle Algérienne.

Mots clés : *Pinus halepensis*, Résine, Anti-inflammatoires, analgésique, Inflammation, utilisation traditionnelle.

Abstract

Pinus halepensis resin is widely used in traditional medicine in Algeria and the Mediterranean area for its therapeutic properties. The objective of this study was to evaluate the anti-inflammatory power in vivo of the resin of the species *Pinus halepensis* Mill and to confirm its traditional use by topical application and oral administration. For this, two acute inflammation models and an analgesia test were used to test the anti-inflammatory activity of the prepared solution. The test for xylene-induced ear edema showed that solubilized resin gives a very significant reduction or even total prevention of edema, both with local application and oral administration. This anti-inflammatory effect obtained is much better than that given by the reference anti-inflammatory drugs (Diclofenac gel and apirine). On the other hand, peritonitis induced in rats by intraperitoneal injection of λ --carraginnane (1%) showed that the resinous solution applied to the rat abdomen inhibited the number of neutrophils recruited in the peritoneal cavity by almost 66% ($p < 0.01$). This inhibition which is practically similar to that obtained with Diclofenac which is 63% ($p < 0.01$). Oral administration of the resin induces a reduction in leukocyte recruitment in the peritoneal cavity by 75% which is just as important as that induced by salicylic acid administered at the same dose which reduced peritonitis by nearly 72%. On the other hand, the tail immersion test carried out under our experimental conditions did not give significant results with any of the products tested, for purely handling reasons, where the rats are too agitated and do not tolerate the immersion of their tail in hot water. Thus, the results of the present study approve that the resin of *P. halepensis* solubilized in olive oil has activity ... the results of the present study approve that the resin of *P. halepensis* solubilized in olive oil has very significant anti-inflammatory activities which confirms its use by traditional Algerian medicine.

Keywords : *Pinus halepensis*, Resin, Anti-inflammatories, Analgesic, Inflammation, traditional use.

ملخص

يستخدم راتنج الصنوبر الحلبي في الجزائر وفي منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط في الطب التقليدي على نطاق واسع وذلك لخصائصه العلاجية. كان هدفنا من هذه الدراسة هو تقييم فعالية راتنج الصنوبر الحلبي كمضاد للالتهابات وتأكيد جدوى استخدامه في الطب التقليدي سواء عن طريق الفم او بالتطبيق الموضعي ولهذا قمنا باستخدام نموذجين للالتهاب الحاد واختبار آخر للقدرة على تسكين الألم للمحلول المحضر

أظهر اختبار وذمة الأذن التي يسببها الزيلين أن الراتنج المنحل في زيت الزيتون يعطي انخفاضا كبيرا يصل لحد الوقاية الكاملة من الوذمة سواء مع التطبيق الموضعي أو الإعطاء عن طريق الفم. هذا التأثير الهام المضاد للالتهابات الذي تم الحصول عليه هو أفضل بكثير من التأثير الذي قدمته الأدوية المرجعية المضادة للالتهابات (ديكلوفيناك والأسبيرين). من ناحية أخرى أظهر اختبار التهاب الصفاق الناتج عن حقن الكرا جينان (1%) داخل الصفاق أن التطبيق الموضعي لمحلول الراتنج على بطن الفئران يخفض عدد الكريات البيضاء التي تم تجنيدها داخل الصفاق بنسبة تقارب 66% وبشكل يقارب ما تحصلنا عليه مع ديكلوفيناك. أما إعطاء محلول الراتنج عن طريق الفم فقد أدى الى خفض عدد الكريات البيضاء في تجويف الصفاق بنسبة 75% وهو تأثير فعال لا يقل أهمية عن ذلك الناجم عن حمض الساليسيليك الذي تم اعطاؤه بنفس الجرعة مما يقلل من التهاب الصفاق بنسبة 72% تقريبا. من ناحية أخرى فإن اختبار غمر الذيل الذي تم اجراؤه في ظل ظروفنا التجريبية لم يعط نتائج مهمة مع أي من المنتجات التي تم اختبارها لأسباب مناوله بحتة حيث كانت الجرذان مضطربة للغاية ولا تسمح بغمر ذيلها في الماء الساخن. وبالتالي فإن نتائج الدراسة الحالية توافق على أن راتنج الصنوبر الحلبي المذاب في زيت الزيتون يمتلك قدرة كبيرة جدا مضادة للالتهاب مما يؤكد فعالية استخدامه في الطب التقليدي الجزائري

الكلمات المفتاحية: الصنوبر الحلبي. الراتنج. مضادات الالتهاب. مسكنات الألم. الاستعمال التقليدي.

Introduction

La réaction inflammatoire est une réponse des tissus vivants et vascularisés contre les différents types d'agression. Elle vise à éliminer l'agent agresseur, réparer les tissus endommagés et à garder l'homéostasie. Quand la réaction inflammatoire s'achève avec l'élimination des stimuli nocifs et la réparation du tissu lésé, il s'agit de l'inflammation aiguë, considérée comme physiologique. Par contre, si la réaction se pérennise ou n'arrive pas à éliminer l'agent agresseur, elle bascule vers la chronicité qui est la base pathologique de différentes maladies inflammatoires telle que l'arthrite rhumatoïde ou la goutte.

Les médicaments anti-inflammatoires disponibles à nos jours et surtout les AINS et AIS sont généralement des molécules de synthèse qui provoquent plusieurs effets secondaires indésirables. Alors que la phytothérapie peut fournir des remèdes très efficaces et moins dangereux. Généralement, les plantes riches en phénols, stérols et terpènes sont doté d'un pouvoir anti-inflammatoire très important et peuvent être exploités en pharmacologie.

Les arbres résineux, notamment celle du groupe "*halepensis*" qui couvre une grandes surfaces des forêts de la méditerranée représentent une véritable richesse forestière. La résine qui coule des troncs de ces arbre suite à une coupure ou face à une agression par des insectes par exemple, est très utilisée en médecine traditionnelle Algérienne surtout la région de Kabylie. En effet, cette résine est très utilisée après l'avoir dissoute dans de l'huile d'olive, comme antiseptique des voies respiratoires et urinaires, antifongique, antimicrobien, anti-tumoraux, anti-inflammatoire et comme analgésique.

Nous avons alors orienté notre travail dans ce sens, et nous avons choisi de travailler sur la résine de *Pinus halepensis* pour essayer de confirmer et évaluer son activité anti-inflammatoire et analgésique. Pour ce faire, nous avons utilisé des modèle d'inflammation expérimentale chez le rat, à savoir l'œdème de l'oreille induit chez le rat par le xylène et la péritonite induite par la λ -carrageennane ainsi que le test d'immersion de la queue du rat pour déterminer le pouvoir analgésique de la résine.

Chapitre 1

Inflammation

1. Réaction inflammatoire

C'est un processus physiologique primordial de l'immunité innée chez les organismes multicellulaires qui assure une défense à large spectre contre différents type d'agressions qui provoquent des altérations tissulaires. Elle n'a lieu que dans les tissus vivants et vascularisés. Elle permet d'éliminer ou d'isoler l'agent agresseur et d'assurer la réparation rapide des tissus endommagés (Batteux 2003)

L'inflammation prend son nom selon l'organe ou elle survient se terminant par -ite ; par exemple : amygdalite, appendicite, artérite, méningite, otite, endocardite...etc. (Batteux 2003)

2. Facteurs déclenchant la réaction inflammatoire

Les facteurs qui déclenchent la réaction inflammatoire sont très divers et varient notamment selon leur nature et leur origine :

2.1. Des stimuli spécifiques : par exemple des antigènes étrangers, des auto-antigènes ou des complexes immuns (Clos 2012)

2.2. Des stimuli non spécifiques : peuvent être physiques comme des microcristaux ou un traumatisme, ou bien chimiques comme des métaux, des solvants, des médicaments, des acides ou des bases (Clos 2012)

2.3. Des stimuli biologiques : comme les toxines, les produits de dégradation tissulaire ou bien des pathogènes microbiens (Batteux 2003)

3. Mécanisme de la réaction inflammation

Le mécanisme de l'inflammation est resté inconnu jusqu'au 19ème siècle quand Metchnikov à découvert les phagocytes. L'inflammation est un processus hautement régulé qui survient selon un ordre chronologique bien défini par l'activation coordonnée des voies de signalisations qui régulent les niveaux de médiateurs inflammatoires dans les cellules résidentes dans les tissus et les cellules recrutés dans le sang. (Jacek Hawiger1 2019)

Lors d'une agression, les macrophages des tissus infectés vont être les premiers à agir. En plus de leur rôle phagocytaire ; ils produisent des cytokines comme les IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 et d'autre molécules qui vont recruter des neutrophiles du sang vers les tissus infectés, et stimulent la dégranulation des mastocytes qui a leurs tours libèrent des molécules inflammatoires comme l'histamine et le TNF- α qui en combinaison avec d'autres médiateurs de l'inflammation produisent l'état inflammatoire locale qui se caractérisent par plusieurs symptômes. (Parham 2003)

Le mécanisme de l'inflammation peut-être récapitulé en quatre points :

- D'abord les récepteurs reconnaissent les stimuli nuisibles.
- Par la suite les voies inflammatoires sont activées.
- Puis les médiateurs inflammatoires sont libérés.
- En fin, les cellules inflammatoires sont recrutées (Linlin Chen1 2017)

4. Signes cardinaux de l'inflammation

Les signes de l'inflammation sont décrits depuis 2000 ans par le médecin romain Auleus Cornelus Celsus : « rubor », « calor », « dolor » et « tumor » puis un cinquième signe « functio leasa » a été rajouté par R.Virchow en 1858 (Asif J Iqbal1 2016)

4.1. Rubor : la rougeur : causée par l'apport accru du sang dans la région (Parham 2003)

4.2. Tumor : l'œdème ou le gonflement : provoqué par l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sous l'effet vasodilatateur de l'histamine ce qui facilite la transsudation du plasma, de protéines plasmatiques et des globules blancs depuis les capillaires vers le tissu conjonctif adjacent (Parham 2003)

4.3. Calor : la chaleur : due à l'apport du sang dans la zone de l'inflammation et aux cytokines secrétées par les macrophages (prostaglandines) qui augmentent la température corporelle (Parham 2003)

4.4. Dolor : la douleur : la sensation de douleur est due à la dilatation du tissu ce qui stimule les neurones nociceptifs. (Parham 2003)

4.5. Functio leasa : perte de fonction : perte de la fonction des organes ou des tissus atteints.

5. Etapes de l'inflammation

La réponse inflammatoire s'articule autour de 6 grandes étapes successives (figure 01) :

5.1 Phase vasculaire : les différents stimuli déclenchent une vasodilatation, un afflux de sang et une exsudation plasmatique, ce qui permet alors de :

- Drainer vers le foyer infecté des leucocytes, des protéines sériques, des médiateurs chimiques, des moyens de défense et des facteurs de coagulation.
- Diluer les toxines accumulées dans la lésion.
- Limiter le foyer inflammatoire par une barrière de fibrine qui est formé à partir du fibrinogène.
- Éviter la propagation de micro-organismes infectieux.
- Ralentir le courant circulatoire par hémocoagulation ce qui facilite la phase cellulaire.
- Libérer des médiateurs chimiques par les cellules déjà présentes ou infiltrées pour amplifier l'inflammation (Clos 2012).

5.2. Phase cellulaire : les macrophages résidents sont les premières cellules à agir face aux agents pathogènes ; puis les polynucléaires neutrophiles vont rejoindre le site inflammatoire par diapédèse à travers les capillaires sanguins grâce au ralentissement du flux sanguin et en se fixant sur les molécules d'adhésion (les selectines et les intégrines), guidés par le gradient de concentration de chimiokines (Clos 2012).

Plus tard, deux autres types de leucocytes gagnent le site inflammatoire qui sont les lymphocytes ainsi que les monocytes, ces dernières, se différencient alors en macrophage au niveau du site inflammatoire (S.H.Ngyuyen 2007)

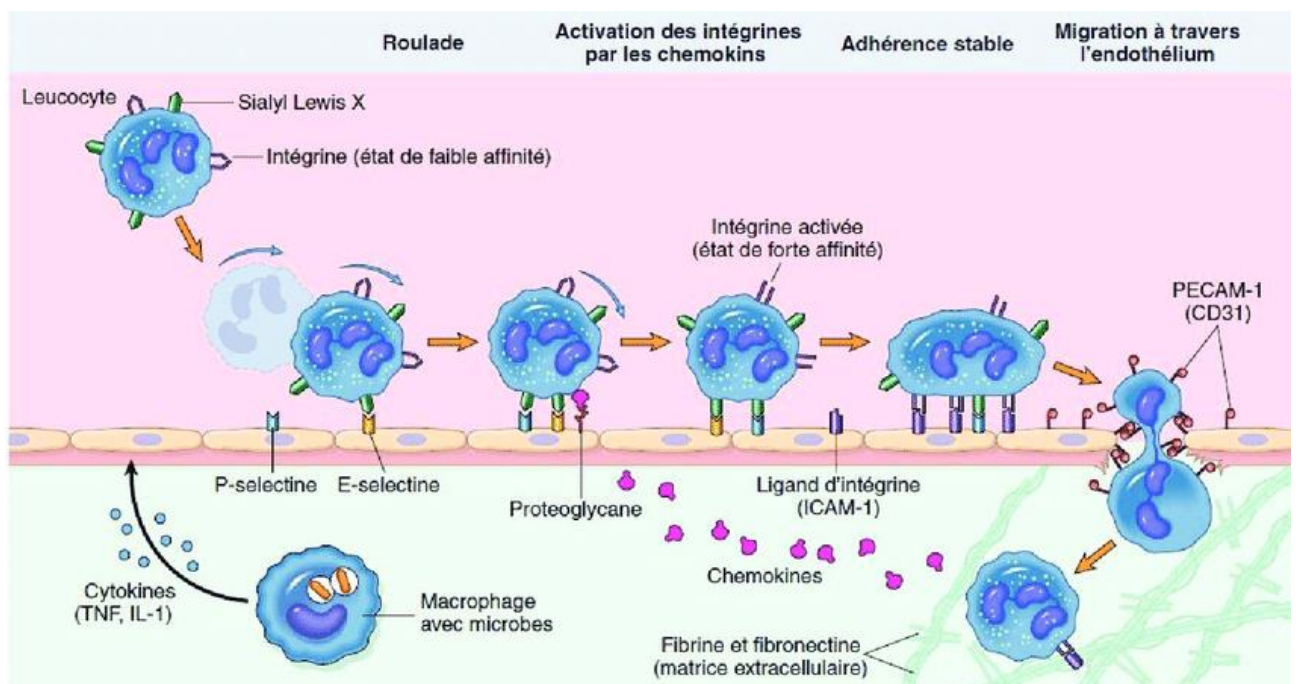


Figure 1 : Phénomène de diapédèse leucocytaire faisant intervenir les phases de capture, d'adhérence labile et de roulement, d'adhérence forte et de transmigration. TNF, tumor necrosis factor ; IL-1, interleukin 1 ; ICAM-1, intercellular adhesion molecule 1 ; PECAM-1, platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (Mury 2018).

5.3. Diminution de l'amplitude : La diminution de l'amplitude de la réaction inflammatoire est assurée par les lipides anti-inflammatoires (les résolvines et les protectines) qui sont des dérivés des acides gras polyinsaturés (l'acide arachidonique) qui sont à leur tour issu de l'hydrolyse des phospholipides membranaires. Ces lipides anti-inflammatoires sont libérés par les macrophages au cours de la phagocytose des polynucléaires apoptotiques sur le site inflammatoire (Clos 2012)

5.4. Formation et persistance des lésions : cette étape survient au niveau du tissu conjonctif et les lésions sont dues à la libération des enzymes de lysosomes et des granules et par la formation des produits oxygénés toxiques lors de la phagocytose (Clos 2012)

5.5. Détersion : Pendant laquelle les agents agresseurs sont éliminés. La détersion est dite interne si elle est faite par les macrophages et externe quand les déchets sont rejetés par la peau ou dans un conduit naturel (Clos 2012)

5.6. Réparation : dans cette étape toutes les traces de la réaction inflammatoire vont disparaître grâce à la cicatrisation, la régénération des tissus abimés et l'angiogenèse (Clos 2012)

6. Types d'inflammation

La réponse inflammatoire peut être classée en plusieurs types en fonction de différents critères :

6.1 Selon l'agent causal : Le tableau 01 résume les différents types de l'inflammation classée selon l'agent causal qui a provoqué l'inflammation :

Tableau 1: les différents types d'inflammation selon leurs causes (acek Hawiger1 2019).

Types d'inflammation	Cause d'inflammation	Exemples de maladies
Inflammation microbienne	Bactéries, virus, champignons, protozoaires	Abcès ; Pneumonie ; Septicémie
Inflammation auto-immune	Attaque auto-immune aberrante par autoanticorps et/ou lymphocytes B et T auto réactifs	diabète de type 1 ; Sclérose en plaques ; Polyarthrite rhumatoïde ; Psoriasis ; Lupus érythémateux disséminé
Inflammation allergique	Allergènes (p. ex. pollen, acariens, squames animales, champignons, piqûres et piqûres d'insectes)	Dermatite atopique/eczéma ; Rhume des foins ; Asthme ; dermatite de contact ; Anaphylaxie ; Réactions d'hypersensibilité aux médicaments
Inflammation métabolique	accumulation excessive de métabolites (par exemple : acide urique)	Athéroscléroses ; Goute.
Inflammation physique	Traumatisme, brûlure, radiation.	Blessure post-traumatique ; brûlures chimiques, électriques et thermiques (brûlures) ; Lésions radiologiques

Inflammation constitutive	Erreurs congénitales de l'immunité innée	Maladies auto-inflammatoires telles que la fièvre méditerranéenne familiale ; Syndrome d'Aicardi-Gouttières ; Maladie intestinale et cutanée auto-inflammatoire liée à la mutation NEMO
---------------------------	--	---

6.2. Selon le mécanisme : dans ce cas, l'inflammation peut être soit une inflammation à prédominance vasculaire ou cellulaire.

6.3. Selon la nature de l'infiltrat cellulaire : polynucléaires ou macrophages, il s'agit alors d'inflammation non immune ou immune (Clos 2012).

6.4. Selon la durée et l'intensité : Il s'agit alors d'inflammation aiguë et inflammation chronique

a. Inflammation aiguë : se distingue par sa rapidité, sa courte durée, elle est locale et elle évolue vers la guérison lorsque le stimulus disparaît. L'inflammation aiguë se caractérise par une réaction microcirculatoire qui présente une vasodilatation et une exsudation plasmatique intenses et par une mise en jeu explosive des médiateurs humoraux et par l'envahissement du foyer inflammatoire par les polynucléaires neutrophiles (Clos 2012).

b. Inflammation chronique : au-delà de six semaines, l'inflammation bascule vers la chronicité, les signes de début sont identiques à ceux de l'inflammation aiguë mais les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes ; elle se caractérise par la formation de granulome inflammatoire qui contient peu ou pas de polynucléaires neutrophiles et qui est constitué de lymphocytes, plasmocytes, monocytes, macrophages, fibroblastes et des mastocytes. Le macrophage est la cellule clef qui permet le passage de l'inflammation aiguë à la chronicité. L'inflammation chronique est la conséquence de plusieurs facteurs :

- à la persistance d'une substance pathogène que l'organisme est incapable d'éliminer.
- le mécanisme inflammatoire continue alors que la substance qui l'a déclenché a été éliminée. (Clos 2012).
- l'auto-immunité et la présence continue d'antigènes reconnus par les autoanticorps, exemple de la polyarthrite rhumatoïde (Asif J Iqbal 2016).
- inflammation non résolutive, exemple : incapacité d'éliminer les macrophages des lésions athérosclérotiques dans les artères principales (Asif J Iqbal 2016).

-l'exposition prolongée à des agents toxiques exogènes (Asif J Iqbal 2016).

7. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les cellules qui participent à la réaction inflammatoires sont des cellules résidentes dans le tissu où se déroule l'inflammation plus les cellules sanguines circulantes ou recrutées au foyer inflammatoire. Ces cellules sont citées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : les cellules impliquées dans l'inflammation (*M Abbal 2009*).

Cellules sanguines circulantes	Cellules résidentes tissulaires
Polynucléaires neutrophiles	Macrophages
Monocytes	Histiocytes
Polynucléaires éosinophiles	Mastocytes
Basophiles	Cellules endothéliales
Plaquettes	Fibroblastes
Lymphocytes	
Plasmocytes	

8. Médiateurs de l'inflammation

8.1. Histamine : c'est une amine vasoactive stockée dans les granules des mastocytes et des basophiles et qui est libérée suite à l'activation de ces cellules par le contact avec les DAMP ou PAMP ou par les anaphylaxies. (Francois 2021)

8.2. Les cytokines pro-inflammatoires : sont des petites protéines sécrétées par les cellules en réponse à divers stimuli, permettent la communication entre les cellules immunes et l'orientation de la réponse (Mayol 2021)comme entre autres :

8.2.1. TNF α (Tumor Necrosis Factor α) : Cette cytokine est produite par les macrophages, les cellules dendritiques résidentes et les mastocytes. Elle stimule l'expression de molécules d'adhérence et la production de chimiokines par les cellules endothéliales permettant le recrutement des leucocytes sanguins vers le foyer inflammatoire. Elle active la production de facteurs de croissance, qui seront indispensables à la réparation du tissu endommagé. (Revillard 2001)

8.2.2. IL-1 (Interleukine-1) : elle est sécrétée par les leucocytes, les cellules endothéliales et les fibroblastes, L'IL-1 agit directement sur les centres de l'hypothalamus qui contrôlent la température corporelle.et facilite la migration des leucocytes en favorisant l'expression des molécules d'adhérences. Et induit aussi une diminution de l'appétit et favorise un certain type de sommeil. (GILROY2 2023)

8.2.4. Les chimiokines : sont des cytokines impliquées dans la migration cellulaire. Elles sont sécrétées par de nombreuses cellules sentinelles après stimulation par des signaux de dangers. Elles forment alors un gradient qui guide la migration leucocytaire. (Linlin Chen1 2017)

8.3. Autres médiateurs de l'inflammation (figure 02)

8.4. Médiateurs lipidiques de l'inflammation : Lorsque qu'une cellule (phagocyte ou mastocyte) détecte un signal de danger, la phospholipase A2 est activée. Elle transforme les acides gras de la membrane plasmique de la cellule en **leucotriènes**, **prostaglandines** et **Platelet Activating Factor (PAF)** ; Qui sont chimiotactiques pour les neutrophiles et les macrophages, et induisent la dilatation des vaisseaux et augmentent leur perméabilité, facilitant l'arrivée des leucocytes sur le site de l'inflammation. (Flamand 2022)

8.4.2. Protéines de la phase aigüe : Elles sont produites par les hépatocytes. : **CRP** (C-Réactive Protein) et **SAP** (Sérum Amyloid-P). Toutes les deux sont de puissantes opsonines favorisant la phagocytose des pathogènes par les macrophages. (Zamora 2022)

8.4.3. Système des kinines : La **bradykinine** est produite à la suite de l'activation du facteur de Hageman (ou facteur XII) du système de coagulation sanguine, lorsqu'il rencontre du collagène après une lésion vasculaire. C'est est un vasoactif puissant. (Khadeeja Adam SY 2019)

8.4.4. Enzymes et le système de la plasmine : Le **lysozyme** : produit par les macrophages dégrade les protéoglycanes de la paroi bactérienne. **L'urokinase, la collagénase, l'élastase et les métalloprotéinases (MMP)** : détruisent la matrice extracellulaire, ce qui favorise le remodelage tissulaire. L'urokinase permet le clivage du plasminogène en **plasmine**. Cette dernière induit le remodelage tissulaire et favorise l'angiogenèse en déclenchant la libération de cytokines qui induisent la prolifération et la migration des cellules endothéliales. (Mayol 2021)

8.4.5. Protéines microbicides et les dérivés oxygénés : Les **défensines** et **cathélicidines** sont de petits peptides capable de s'insérer dans les membranes et de former des canaux perméables capables de lyser les pathogènes. **La lactoferrine** est libérée par les neutrophiles activés. Elle séquestre le fer et en prive donc les pathogènes, ce qui inhibe leur croissance. (Linlin Chen1 2017)
Les cellules phagocytaires activées produisent des **dérivés toxiques de l'oxygène** (eau oxygénée, oxygène singulet) et détruisent ainsi le pathogène phagocyté. Elles secrètent aussi de **l'oxyde nitrique (NO)** toxique pour les bactéries extracellulaires (Mayol 2021)

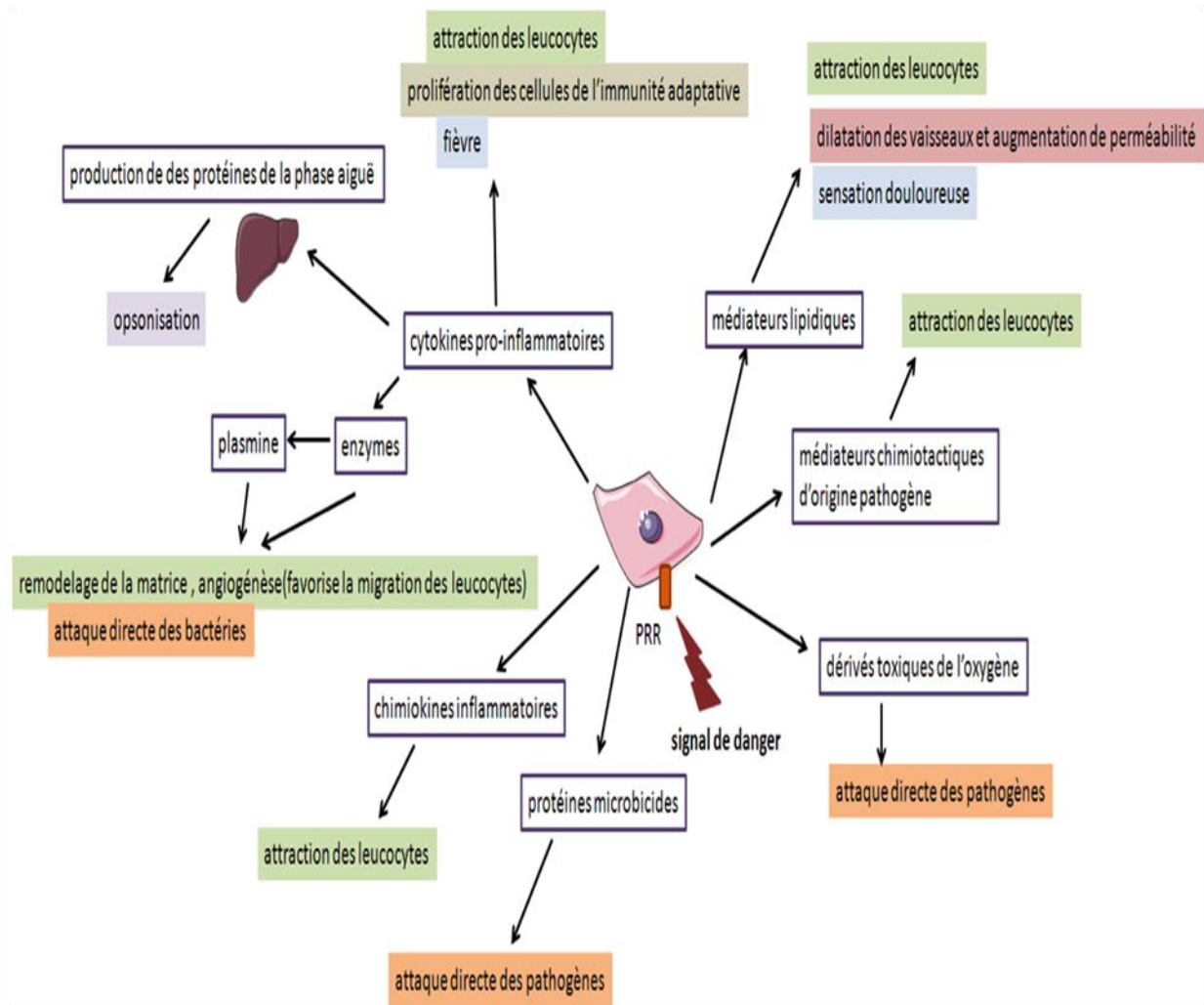


Figure 2 : les médiateurs de l'inflammation (Mayol 2021)

9. Médicaments anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires sont parmi les plus prescrits en médecine. Ils appartiennent à différentes familles de structures et de mécanismes d'action très différents. Les plus anciens, les AINS et les glucocorticoïdes, gardent une place de premier choix dans de nombreuses maladies inflammatoires. La colchicine et le méthotrexate ont des indications plus spécifiques. Quant aux biothérapies, ils ont véritablement révolutionné le traitement de maladies chroniques sévères comme la polyarthrite rhumatoïde et autres arthropathies inflammatoires, le psoriasis, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Crohn et rectocolite) et l'asthme sévère (Scheen 2022).

9.1. Les anti-inflammatoires stéroïdien

Les anti-inflammatoires stéroïdiens agissent soit en inhibant les enzymes responsables de la synthèse des médiateurs chimiques de l'inflammation (les prostaglandines, thromboxanes), soit en

inhibant la transcription des gènes codant des molécules pro-inflammatoires (cytokines, molécules d'adhérence) (Scheen 2022).

9.2. Anti-inflammatoires non stéroïdien (AINS) : Ils agissent en inhibant les cyclooxygénases.

9.3. Médicaments biologiques : L'utilisation des agents anti-TNF α et de petites molécules, inhibitrices des JANUS kinases et de la tyrosine kinase 2, ouvrent également des alternatives dans des maladies sévères, résistantes aux autres agents anti-inflammatoires

9.4. Anti-inflammatoires d'origine naturelle : depuis son existence, l'homme utilisait les plantes qui existent dans son environnement comme remèdes pour différentes maladie et leurs symptômes. Ce qui a permis avec le développement de la science de découvrir chaque fois une nouvelle molécule après avoir effectué plusieurs recherches.

Chapitre 2

Pinus halpensis

I. La plante d'étude : *Pinus halpensis*

Le pin d'Alep, aussi appelé parfois pin blanc est un arbre résineux qui se trouve dans les régions côtières de la méditerranée. Il est capable de s'adapter aux plusieurs types de sol et aux climats variés. Le pin d'Alep est un arbre de 5 à 20m de hauteur et d'une longévité qui peut attendre 300 ans. Son tronc est tortueux avec une écorce de couleur gris argent. Ses aiguilles mesurent de 6 à 10 cm de longueur et sont groupé par deux. Ses fruit sont des cônes de 8 à 12 cm de longueur, qui renferment des graine environ 5 mm de longueur (Figure 3) (Bernard 2013).

2. Systématique de l'espèce

Le pin d'Alep ou *pinus halepensis* est un conifère de la famille des pinacées fut décrit par le botaniste écossais Philip Miller en 1768. C'est un arbre circum méditerranéen que l'on trouve à l'état spontané autour du bassin méditerranéen, sauf en Egypte. Mais c'est en Afrique du nord qu'il semble avoir actuellement son centre de gravité, et surtout en Algérie et en Tunisie. En Algérie le pin d'Alep couvre 35% de la surface boisée au nord. (Bernard 2013)

Le pin d'Alep "*Pinus halepensis Mill*" est l'essence caractéristique de l'étage bioclimatique méditerranéen semi -aride, il appartient à :

. **Embranchement** : Phanérogame.

. **Sous embranchement** : Gymnospermes

. **Classe** : Conifères.

. **Ordre** : Coniféroles pinoidines.

. **Sous ordre** : Abiétales.

. **Famille** : Pinacées.

. **Genre** : Pinus.

. **Sous genre** : Eupinus.

. **Espèce** : *pinus halepensis*.

. **Non scientifique** : *pinus halepensis*.

. **Nom commun** : pin d'Alep.

. **Nom Arabe** : Sanaoubar al-halabi.

. **Nom Berbère** : Azoumbei, tayada.

. **Nom Espagnol** : pi blanc, pi bord, pincarrasco, pinoblanquillo.

.Nom Italien : pino di aleppo. (Bentouati 2006)



Figure 3 : L'arbre de *pinus halepensis* (photographe original, 2023)

3. Résine de *Pinus halepensis*

La résine est le principal produit de cette espèce. Elle s'écoule d'abord fluide, puis se concrète en s'oxydant en masse solide cassantes jaunâtre et translucide insolubles dans l'eau mais soluble dans l'alcool, Fusible mais non volatiles. La résine de pin d'Alep, appelée aussi la gomme est un ensemble d'acide résinique, synthétisés dans des canaux résinifères, puis stockés par l'arbre (Modungo.F 2006).

3.1. Récolte de la résine

Il est possible d'extraire de la résine brute directement à partir du bois vivant par le processus connu sous le nom de gemmage (Fancés 2020). L'obtention de résine peut se faire par la collecte des gouttes de résine exsudant naturellement de l'arbre (récolte de perle de résine sur les troncs) ou par gemmage, La saison de gemmage doit nécessairement suivre le cycle biologique de l'arbre, c'est -à-dire du printemps jusqu'à la fin de l'été (Fancés 2020). La technique utilisée consistant à réaliser une blessure au niveau de l'écorce de l'arbre afin qu'il sécrète de la résine de manière à la collecter. Lors d'un gemmage traditionnel, une care est réalisée à l'aide d'un outil spécial appelé le hapchot (Fancés 2020). La résine coule de cette blessure vers un pot en terre cuite placé en bas de la care et coincé entre une lamelle de zinc et un clou (figure : 4). Un produit acide, classiquement de l'acide sulfurique, est placé sur la plaie afin d'empêcher la cicatrisation, de stimuler la production de résine et d'augmenter la durée de l'écoulement limité à quelque jour en condition naturelle . (Fancés 2020)

Le gemmage moderne s'oriente vers l'utilisation de technique de récolte en vase clos, c'est - à - dire sans contact direct entre la résine et l'environ externe. La pique est réalisée à l'aide d'une perceuse équipée d'une scie à cloche, puis un récipient en plastique est fixé au niveau de l'entaille (Figure 05). Un activateur chimique de type acide organique naturel est utilisé en remplacement de l'acide sulfurique.



Figure 4 : Méthode de gemmage

Traditionnelle (Fancés 2020)



Figure5 : Méthode de gemmage

Moderne (Fancés 2020)

3.2. Composition chimique de résine

Elle correspondant à des mélanges liposoluble de composés terpénoides volatils et /ou non volatils et des composés phénolique (tableau 04) qui sont sécrétés dans les structures spécialisées localisées à l'intérieur ou à la surface des organes de la plante (Langenheim 2003)

Tableau 4 : La composition chimique de résine (Fleiegmann J 1992).

Famille chimique	Constituants
Huile essentielle (0.2-0.5%)	Carbure monoterpénique α -pinène (10-50%).camphène 12%, β -pinène (10-25%), β -myrcène,terpinolène,acétate de bornyle , β -phellandrène, β -caryophyllène
Flavonoïde (0.5à0.7%)	Dihydroflavonol : C-6,0-7-diméthylaromadendrine, chalcone et Dihydropinosylvine
Terpénoïde	Monoterpènes : α -pinène, β -pinène et limonène, 3 carène, myrcène et terpinolène. Acide diterpénique : acide abiétique et déhydroabiétique
Tanin	Tanin condensés(Catéchique)

3.3. Propriétés pharmacologiques

La résine de l'espèce *Pinus halepensis* est connue pour ses propriétés en médecine traditionnelle algérienne. Elle est utilisée notamment comme antiseptique puissant et pour son action dynamisante. Pour l'usage externe elle est mélangée soit à de l'huile d'olive soit à du miel pour être appliquée sur la poitrine et le dos ou sur les parties infectées pour la prévention et le traitement des maladies infectieuses fongique par exemple. Pour l'usage interne les forme habituelles d'administration de la résine du pin sont en poudre avec du miel ou en liquide avec l'huile d'olive une fois par jour contre les maladies respiratoire (Boulaacheb 2009).

Matériel et Méthodes

Matérielle et méthodes

1. Matériel

1.1. Animaux d'étude

Cette étude est réalisée sur des rats Albinos wistar de sexe mal dont le poids varie entre 200 et 210g fournies par l'institut Pasteur, Alger. Ils sont utilisés après une période d'adaptation d'un mois et placés dans des cages où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation au sein de l'animalerie du département des S.N.V université 20 août 1955 Skikda, Algérie.

1.2. Matériel végétal

Dans cette étude, nous avons essayé d'évaluer le pouvoir anti-inflammatoire de la résine de *Pinus halepensis*, appelée communément gomme de pin. La résine du *Pinus halepensis* a été récoltée dans la wilaya de Skikda durant le mois de mars en faisant des incisions verticales dans le tronc de l'arbre à l'aide d'outils pointus



Figure 6 : Récolte de la résine (photographie originale, 2023)

1.3. Solutions de travail

Les solutions de travail utilisées dans cette étude sont préparées comme suit :

- Solution de lavage péritonéal : Na cl 0.9% stérile.
 - Solution de xylène pure
 - Solution turk, préparée en mélangeant 1 ml de violet de gentiane avec 1ml d'acide acétique
- Le volume est complété à 100 ml avec de l'eau distillée.
- λ- carraginnane (1 %). préparé dans du Na cl 0.9% stérile.
 - Solution d'aspirine : 400mg d'aspirine poudre dissoute dans 10ml du Na cl 0.9% stérile.

2. Méthodes

2.1. Solubilisation de la résine

La résine étudiée a été préparée selon la méthode folklorique utilisée dans la région de la Kabylie. Pour cela, la résine récoltée a été séchée, broyée puis tamisée pour ensuite la solubiliser dans de l'huile d'olive à concentration adéquate (4% (p/v) pour l'administration orale et 20% (p/v) pour l'application cutanée) dans un bain marie. Les solutions obtenues sont conservées à température ambiante et à l'abri de la lumière.

2.2. Etude in vivo de l'activité anti-inflammatoire de la solution préparée

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire de la résine en ayant recours à différents modèles d'inflammation expérimentale induite chez le rat à savoir, l'œdème de l'oreille induit par le xylène, la péritonite induit par la λ -carrageenane et le test d'immersion de la queue.

2.2.1. Œdème de l'oreille induit par le xylène

L'œdème de l'oreille induit par le xylène a été utilisé comme modèle d'inflammation expérimentale aigue chez le rat pour évaluer l'effet -inflammatoire de la résine de pin solubilisée dans l'huile d'olive (Atta 1998). Pour cela, la résine solubilisée a été administrée aux rats par voie orale (200mg/kg) et par application locale sur l'oreille droite une heure avant l'induction de l'inflammation par l'application de 50 μ l de xylène pure sur la face interne et externe de l'oreille droite et gauche de chaque rat, celle-ci étant considérée comme contrôle.

Dans cette étude, 5 groupes de 6 rats ont été formés comme suit :

Groupe Contrôle (+) : Les rats ont reçu 50 μ l de xylène et ne sont traités par aucune substance.

Groupe test 1 : Les rats ont reçu 1ml de la solution de résine par voie orale, une heure avant l'application de xylène.

Groupe test 2 : Les rats ont reçu 50 μ l de la solution de résine par application cutanée, une heure avant l'application de xylène.

Groupe Référence 1 : Les rats ont reçu par voie cutanée du gel Diclofenac (anti-inflammatoire de référence) en quantité suffisante pour couvrir toute la surface interne et externe de l'oreille une heure avant l'application du xylène.

Groupe Référence 2 : Les rats ont reçu 1ml de la solution d'acide salicylique (anti-inflammatoire de référence) par voie orale, une heure avant l'application du xylène.

L'épaisseur des deux oreilles (droite et gauche) des rats est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital (figure 10) avant l'application du xylène (t₀) et toutes les 60 minutes durant 4h (t₁, t₂, t₃, et t₄) après administration du xylène, l'augmentation de l'épaisseur étant indicateur de l'inflammation de l'oreille.

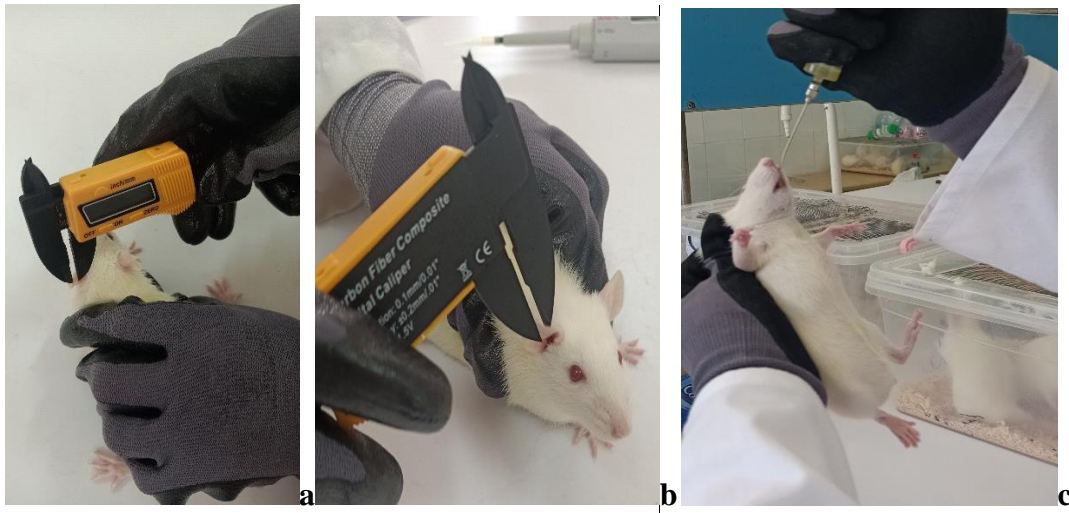


Figure 7 : Test de l'œdème de l'oreille : Mesure de l'épaisseur de l'oreille a, b. gavage des rats : c. (Photos originales).

2.2.2. Induction de la péritonite chez les rats par la λ -carrageenane :

Le pouvoir anti-inflammatoire de la résine étudiée est également évalué par le test de la péritonite induite par la λ -carrageenane chez les rats selon la méthode décrite par Prekar et ses collaborateurs (2015) à laquelle certaines modifications ont été introduites. La péritonite est induite par injection de 0.2ml de solution de λ -carrageenane (1%) dans la cavité péritonéale des rats qui ont reçu ou non un traitement adéquat. Des groupes de 6 rats sont formés comme indiqué :

Groupe contrôle (+) : Les rats reçoivent l'injection de λ -carrageenane et aucun autre traitement.

Groupe contrôle (-) : Les rats reçoivent l'injection de l'NaCl 0.9% stérile et aucun autre traitement.

Groupe Test 1 : Administration de 1ml (200mg/kg) de la solution de résine par voie orale (gavage) une heure avant l'induction de la péritonite.

Le Groupe Test 2 : Application de la résine sur la zone péritonéale en quantité suffisante pour couvrir toute la surface et ce, une heure avant l'induction de la péritonite.

Groupe référence 1 : Administration de 1ml de l'Acide salicylique (200mg/kg) par voie orale 1 heure avant l'induction de la péritonite

Groupe référence 2 : Application du Diclofenac gel sur la zone péritonéale en quantité suffisante pour couvrir toute la surface et ce, 1 heure avant l'induction de la péritonite.

Quatre heures après l'injection de la λ -carrageenane, les rats sont sacrifiés par asphyxie au chloroforme, suivi immédiatement par l'ouverture de la cavité péritonéale qui sera lavée par puis on 3ml de l'eau physiologique à 0.9% (figure 11) Le liquide résultant du lavage péritonéal est récupéré à l'aide d'une micropipette et soumis à un comptage sur une lame de Malassez après coloration à la solution turk, pour déterminer le nombre de neutrophiles présents.

Le nombre de leucocytes est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Nbr} = \text{N} * \text{F} * 1000 * \text{V}$$

Nbr : nombre total de leucocyte.

N : nombre de leucocyte par champs de lecture.

V : volume du liquide aspiré depuis la cavité péritonéale.

F : Facteur de dilution.

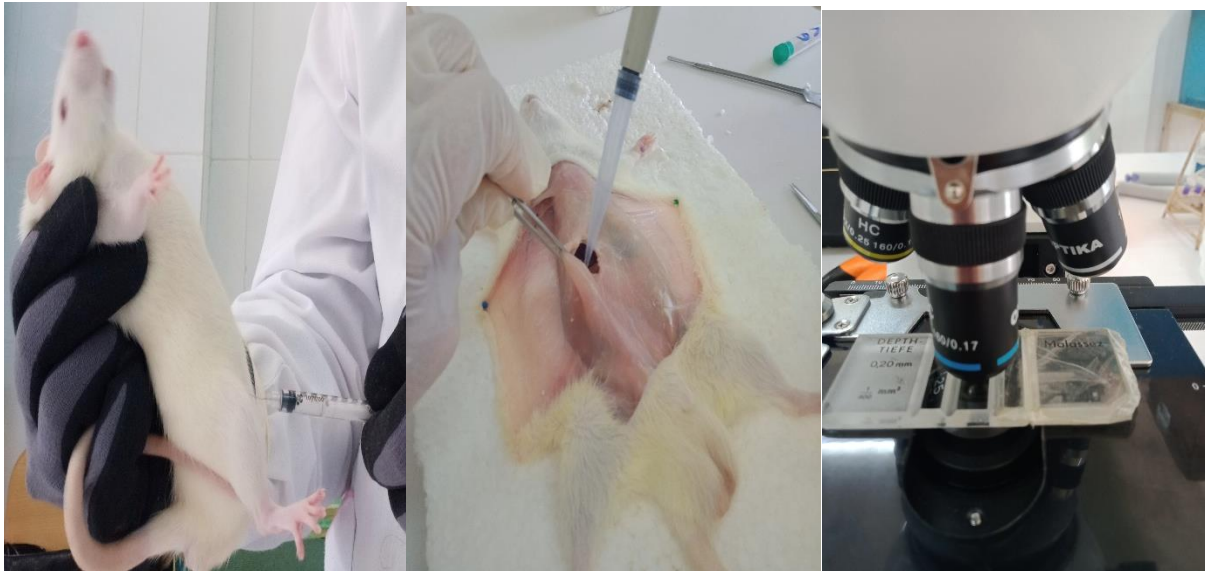


Figure 8 : photos de test de la péritonite (photos originales.2023).

2.2.3. Etude in vivo de l'activité analgésique

Le pouvoir analgésique de la résine a été également évalué dans cette étude et ce par le test de l'immersion de la queue des rats selon le Protocol de Arselan et ses collaborateurs (2015). Le test consiste en l'immersion du bout de la queue des rats (environ 2cm) dans de l'eau chaude maintenu à 55°C et à mesurer le temps de latence (temps au bout duquel le rat réagit en retirant la queue de l'eau) à temps t0 (avant application de toute substance) puis chaque 30 minutes (pendant deux heures) puis après 3 heures après l'administration des substances d'étude. Cinq groupes de six rats sont formés comme indiqué ci-dessous :

Groupe témoins : Le temps de latence est mesuré avant que les rats ne subissent tout traitement.

Groupe test 1 : Administration orale de 1ml de la solution de la résine une heure avant la première immersion.

Groupe Test 2 : Application local sur la queue des rats de la solution de la résine une heure avant la première immersion.

Groupe référence 1 : Administration orale de 1ml de l'acide salicylique (200mg/kg) une heure avant la première immersion.

Groupe référence 2 : Application locale sur la queue du voltarene gel une heure avant la première immersion.



Figure 9 : photos de test de l'immersion de la queue (photos originale 2023).

3. Etude statistique

Les résultats in vivo sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues \pm l'écart moyen (SEM) $[M \pm SEM]$, n=6. Le test T de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets des différentes substances testées in vivo et les différences sont considérées significatives pour $p < 0,05$: (*), $p < 0,01$: (**).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Résultats

Dans notre étude, nous avons voulu évaluer l'effet anti-inflammatoire de la résine de *Pinus halepensis* et confirmer son usage traditionnel (l'application locale et l'administration par voie orale). Pour cela, l'activité de la résine, solubilisée dans de l'huile d'olive (suivant la méthode utilisée en médecine folklorique) a été évaluée en réalisant deux modèles in vivo d'inflammation aiguë chez le rat à savoir, la péritonite induite par injection de la λ -carrageenane et l'œdème de l'oreille induit par le xylène. Nous avons également étudié le pouvoir analgésique de la résine en appliquant le test de l'immersion de la queue.

1.1. Effet de la résine sur la péritonite induite par la λ -carrageenane

Dans cette étude, la péritonite induite par l'injection de la λ -carrageenane chez les rats est utilisée comme modèle d'inflammation aiguë pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de la solution huileuse de la résine de *P.halepensis*. Quatre heures après l'induction de la péritonite, le nombre de leucocytes présents dans la cavité péritonéale est déterminé. Le comptage des cellules présentes dans le liquide de lavage péritonéale des rats du groupe contrôle négatif (témoin) qui ont reçu une injection intra-péritonéale de NaCl 0,9 % stérile était faible et ne dépasse pas les $1,05 \times 10^6 \pm 0,36$ leucocytes/rat (Figure 14). Par contre, le liquide péritonéale récupéré des rats du groupe contrôle (+) était très riches en neutrophiles qui était près de 21.37×10^6 neutrophiles (Figure 10).

L'application de la solution résineuse sur l'abdomen des rats induit une réduction très significative ($p < 0,01$) du développement de la péritonite chez les rats qui ont montré seulement près de 7.75×10^6 leucocytes dans leurs cavités péritonéales (figure 10) qui correspond à une inhibition de l'inflammation de près de 64 % (figure 11) qui est pratiquement le même effet obtenu avec le Diclofenac gel qui a réduit la péritonite chez les rats de près de 66% (figure 10 et 11).

L'administration orale de la solution de résine *P. halepensis* induit une réduction encore plus importante ($p < 0,01$) du développement de la péritonite chez les souris avec $4.93 \times 10^6 \pm 1.44$ leucocytes (figure 14). En effet, le nombre de neutrophiles récupérés de la cavité péritonéale de ces rats traités était réduit de près 75 % (figure 15). La résine étudié a donc montré un effet très efficace qui est même supérieur à l'aspirine, anti-inflammatoire de référence utilisé à la même dose, qui a montré une inhibition de près de 73% (figure 15).

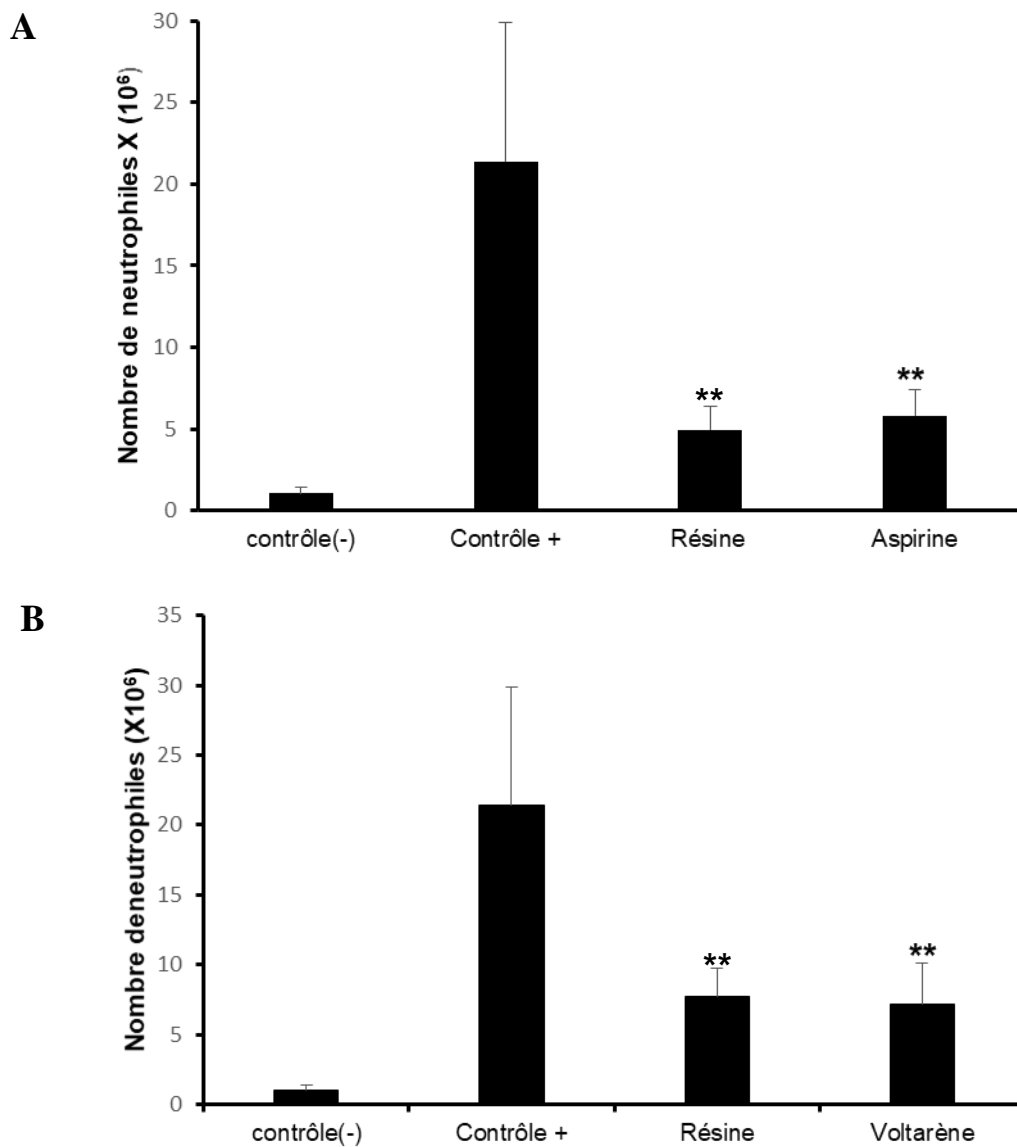


Figure 10 : Effet de la solution de résine de *P. halpensis* sur le nombre de leucocytes recrutés au niveau de la cavité péritonéale après l'injection de 0.2ml de la λ -carrageenane 1% en IP (A) : les rats sont traités par 1ml de solution de résine par voie orale (B) : les rats sont traités par application cutanée de la solution de résine sur la zone péritonéale. Les deux histogrammes représentent la moyenne (n=6) \pm SEM ; ** : p<0.01 ; * : p<0.05 (test de student).

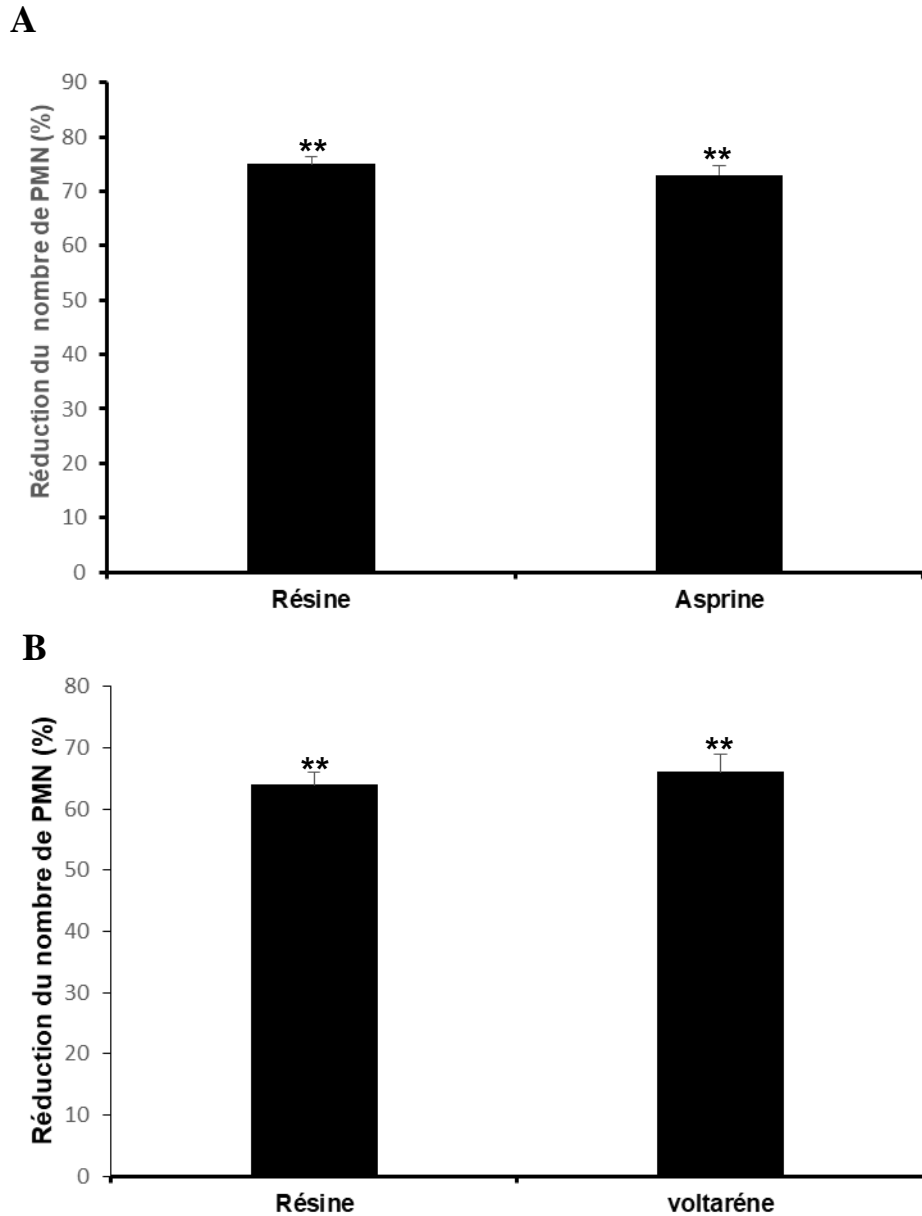


Figure 11 : Inhibition de la migration de neutrophiles vers la cavité péritonéale par la résine de *Pinus halepensis* (Application locale et administration par voie orale). Les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour n = 6. ** p<0,01, * p<0,05, par rapport au contrôle + (Test t de Student).

1.2. Effet de la résine sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'inflammation aiguë induite par le xylène est caractérisée par des symptômes classiques, comme la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur. La mesure de l'œdème est donc un excellent outil pour la quantification de l'inflammation cutanée induite par le xylène. L'épaisseur de l'oreille de chaque rat est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital. Les résultats obtenus avec le contrôle positif indiquent que l'épaisseur de l'oreille avant tout traitement est de l'ordre de 0.17 cm.

L'application du xylène induit un œdème de l'oreille qui atteint le maximum au bout d'une heure qui est de près de 0.47 ± 0.04 cm (figure12). L'enflément a tendance à baisser avec le temps, où il arrive à 0.38 ± 0.05 cm après 2h pour finir à 0.33 ± 0.04 cm au bout de 4h (figure12).

Les rats traités oralement par la résine n'ont pas développé d'œdème de l'oreille. En effet, l'épaisseur de l'oreille des rats est restée inchangée durant tous les temps de mesure (0.2 cm) induisant ainsi une prévention totale de l'inflammation. Cette inhibition totale de l'évolution de l'œdème par la résine est même meilleure que celui obtenu par l'acide salicylique qui a donné un maximum d'inhibition de $91\% \pm 0.028$ mm.

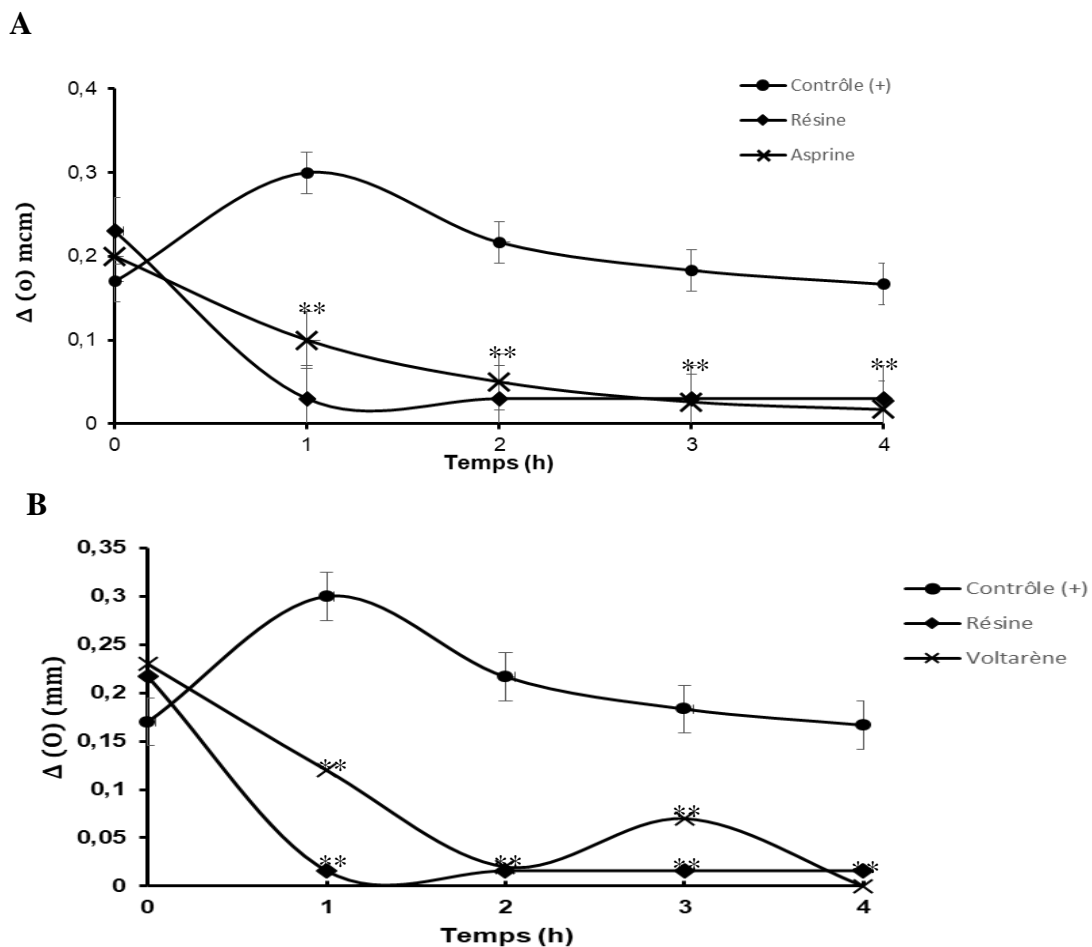


Figure 12 : Evolution de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène après l'application (A) : orale et (B) : locale de la solution de résine de *P.halpensis* en fonction de temps, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour n=6 ;** : $p < 0.01$;* : $p < 0.05$ par rapport au contrôle +

L'application de la solution de résine sur l'oreille du rat a très fortement inhibé le développement de l'inflammation. En effet, nous avons observé une réduction de l'épaisseur de l'oreille de plus de $92\pm 0.04\%$. Cet effet inhibiteur est très proche de celui du Diclofenac qui a totalement prévenu l'inflammation de l'œdème.

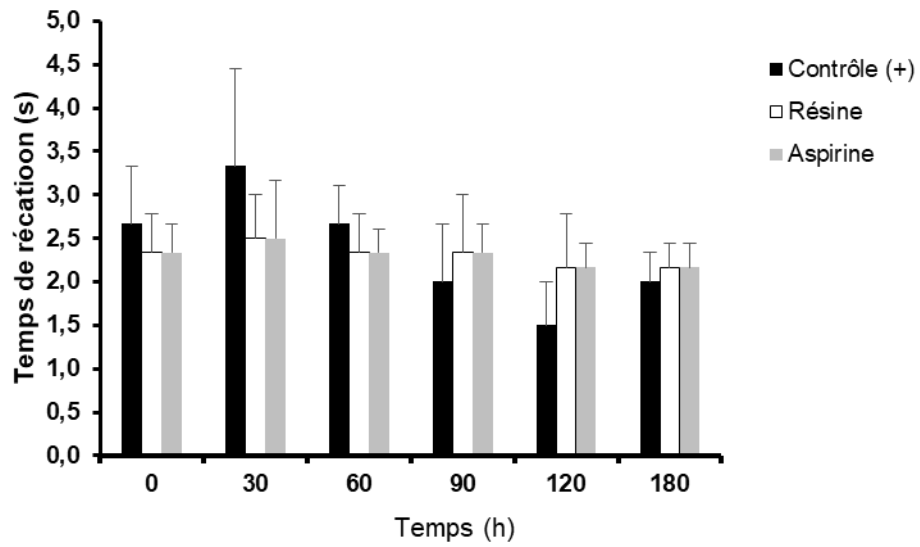
Les résultats apportés par ce test suggèrent que la résine administrée oralement est plus efficace que celle appliquée de manière locale, pourtant la dose administrée localement est 5 fois plus concentrée.

1.3. Evaluation de l'activité analgésique de la solution de résine de *P.halpensis*

Le test d'immersion de la queue est réalisé cette fois pour évaluer l'effet analgésique de la résine du pin d'Alep. L'immersion de la queue des rats dans l'eau chaude provoque le retrait de la queue par un geste brusque du rat. Le temps de l'apparition du réflexe est mesuré pour chaque rat.

Les résultats apportés par ce test n'ont pas été concluants (figure 13). En effet, aucune des substances testées, y compris les anti-inflammatoires de référence, n'a donné de réduction significative du temps de réaction des rats au contact de l'eau chaude. Les conditions de réalisation seraient probablement à l'origine de ce résultat

A



B

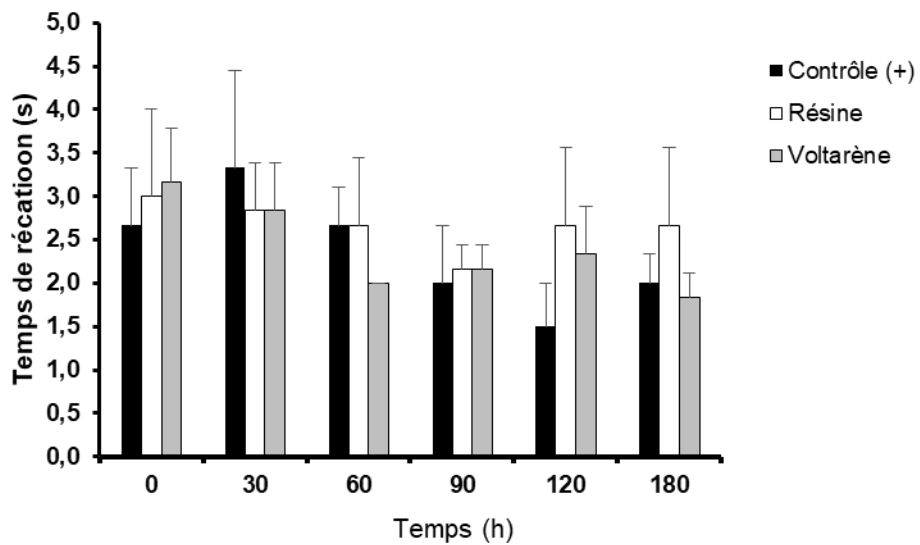


Figure 13 : Effet analgésique de la résine de *P. halepensis* par application locale(A) et par administration orale(B) suite au test de l'immersion de queue, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour n= 6. (**) Si $p < 0,01$, (*) si $p < 0,05$ par rapport au control (+) (test de student)

2. Discussion

La présente étude a été consacrée à l'évaluation des activités anti-inflammatoires et analgésique de la résine de *Pinus halepensis* utilisée traditionnellement en Algérie. Pour ce faire, nous avons eu recours à des modèles d'inflammation expérimentales in vivo (test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène, la péritonite induite par la carrageenane et le test d'immersion de la queue de l'animal) qui ont révélé que la résine de *Pinus halepensis* est pourvue d'un puissant effet anti-inflammatoire qui est même meilleur que celui obtenu avec les anti-inflammatoires de référence utilisés.

2.1. Effet de la résine de *P.halepensis* sur la péritonite induite par le λ -carrageenane

Dans cette étude, Nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire de la résine du *P. halepensis* solubilisée dans de l'huile d'olive tel qu'elle est utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Nous avons eu recours à la péritonite induite chez les rats par l'injection de la λ -carrageenane comme modèle d'inflammation aigue. Cette méthode est largement utilisée pour l'évaluation des effets anti-inflammatoires de différentes substances et molécules. En effet, la λ -carraginnane est un polysaccharide soufré qui fait participer beaucoup de médiateurs qui induisent la réaction inflammatoire en deux phases. D'abord une phase initiale, qui se produit entre 0 et 2,5 heures après l'injection qui est attribuée à l'action de médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et la bradykinine sur la perméabilité vasculaire. Puis une phase tardive, qui est le résultat de la surproduction des prostaglandines dans les tissus, médiée par la cyclo-oxygénase et qui peut continuer au-delà de 5 heures après injection de la carrageenane (SENE 2016).

L'analyse de nos résultats révèle que la résine de *P. halepensis* possède une activité anti-inflammatoire qui dure pendant tout la période du test (4h). Ceci pourrait être dû la présence des composés phénoliques comme les tanins ainsi que les terpenoïdes qui seraient probablement pourvus d'activité antagoniste à l'histamine, à la sérotonine, à la bradykinines et à la biosynthèse des PG (Nour Yahfoufi 2018). Il se produit alors une coupure dans l'enchaînement de la cascade des médiateurs de l'inflammation réduisant le recrutement des leucocytes au niveau du site inflammatoire (Atta 1998). Ceci expliquerait le nombre très réduit des leucocytes récupérés dans la cavité péritonéale des rats traités à la résine (voie locale ou orale). D'ailleurs l'effet obtenu avec la résine était plus puissant que celui anti-inflammatoires de référence.

2.2. Effet de la résine de *P.halpensis* sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'inflammation aiguë est caractérisée par des symptômes classiques, comme la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur. L'œdème de l'oreille induit par le xylène présente les mêmes symptômes. L'oreille des rats devient rouge et commence à gonfler après l'application de xylène. La mesure de l'œdème est donc un excellent outil pour la quantification de l'inflammation cutanée. L'œdème de l'oreille induit par le xylène est une méthode largement utilisée pour étudier le processus inflammatoire. L'application locale du xylène induit une réaction inflammatoire aiguë caractérisée par une vasodilatation, infiltration des leucocytes polynucléaires dans les tissus, une augmentation dans l'IL-1 β et la formation de l'œdème ainsi que l'augmentation de l'activité de la myeloperoxydase et de l'activité de la PLA2 (Ravelo-Calzado, et al. 2011). La PLA2 catalyse l'hydrolyse des phospholipides membranaires en AA, ce dernier est impliqué dans la synthèse des PG et LT, ce qui constitue la première étape dans la réaction inflammatoire (José C. Zanini Jr. 1992). L'activité anti-inflammatoire de la résine de *P. halepensis*, appliquée localement et administrée par voie orale pourrait être due à sa richesse en composés phénoliques. En effet, la teneur élevée en tannins de la résine de *P. halepensis* est en partie responsable de cet effet. Les tannins auraient un rôle anti-inflammatoire crucial, ces composés seraient capables de prévenir et/ou d'atténuer les manifestations du processus inflammatoire, en agissant à différents niveaux (Nour Yahfoufi 2018). L'acide gallique par exemple et ses dérivés auraient des vertus anti-inflammatoires en agissant sur la synthèse et/ou la production de médiateurs inflammatoires tels que TNF- α , et IL-6 (Nour Yahfoufi 2018). De plus, la capacité des tannins à inhiber la PLA2 est déjà établie, ce qui va participer à l'inhibition de PG et des LT (Kim 2012). Par ailleurs, la diminution de l'œdème de l'oreille est probablement due aussi à la présence de composés dotés d'activité anti-oxydante comme l'anthocyanine, sachant que les espèces oxygénées réactives produites au cours de l'inflammation par les cellules phagocytaires et durant le métabolisme de l'AA peuvent également activer la PLA2 (Athina Geronikaki 2007).

A partir des résultats de notre étude, il serait possible de conclure que la résine de *Pinus halpensis* est riche en composés dotés d'un puissant effet anti-inflammatoires curatif et préventif au même temps, car il a prévenu l'inflammation et a empêché l'apparition presque totale d'œdème de l'oreille de manière plus efficace que les médicaments de référence utilisés.

2.3. Effet analgésique de la résine de *P. halpensis*

Le test de l'immersion de la queue du rat dans de l'eau chaude n'a pas donné de résultats significatifs avec nos conditions de travail, pourtant des résultats obtenus précédemment avec le même test ont montré un effet analgésique de la résine très important et très significatif. Ceci pourrait être dû aux conditions de travail qui auraient pu stresser les rats et les rendre très agités, si

bien que le rat soulève sa queue dès son immersion dans le récipient d'eau chaude. D'ailleurs le même résultat est obtenu avec les anti-inflammatoires de référence et ce malgré l'utilisation de dispositif spécial pour garder les rats en position stable et de libérer la queue lors de l'immersion dans l'eau. Les conditions de travail doivent être revues et mises au point pour les rendre plus favorables à la réalisation de ce test.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Nous avons réalisé ce travail dans le but d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de la résine de *Pinus halepensis* largement utilisée en Algérie pour ses propriétés curatives. Nous avons appliqué deux modèles d'inflammation expérimentale chez le rat à savoir la péritonite induite par la λ -carrageenane et l'œdème de l'oreille induit par le xylène. Nous avons aussi réalisé le test de l'immersion de la queue pour évaluer l'effet analgésique de la résine.

Les résultats obtenus au terme de cette étude permettent d'attribuer à la résine de *Pinus halepensis* un effet anti-inflammatoire très puissant et d'efficacité toute aussi importante voir plus puissante que celle des anti-inflammatoires de référence. En effet, le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène a montré que la résine solubilisée dans l'huile d'olive donne une réduction très significative voire une inhibition totale de l'œdème. Il est à noter que l'administration orale avait une inhibition plus importante que l'application cutanée pour ce test. De plus, la péritonite induite chez le rat par l'injection intra-péritonéale de la λ -carrageenane (1%) a révélé que la solution résineuse appliquée sur l'abdomen de rat inhibe de près de 64% de neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale alors qu'une inhibition plus importante a été obtenue par son administration orale (75%) et ceci en donnant des résultats proches de celles des molécules de référence (64 et 73% pour l'aspirine et le diclofenac respectivement). Par ailleurs, le test d'immersion de la queue n'a pas donné des résultats concluants pour des raisons qui restent purement expérimentales. La richesse de la résine de *Pinus halepensis* en composés phénoliques et en tanins serait très probablement responsable des propriétés observées. Ces résultats qu'une première étape dans l'exploration de l'effet anti-inflammatoire de la résine de *Pinus halepensis*. Des essais complémentaires et plus approfondis sont indispensables pour pouvoir mettre en évidence et approfondir les activités suggérées par les résultats de cette étude. Il serait très intéressant d'œuvrer afin d'identifier des principes actifs ainsi que leurs mécanismes d'action.

Références

1. Acek Hawiger, Jozef Zienkiewicz. «Decoding inflammation, its causes, genomic responses, and.» *immunology* , 2019.
2. AJ, Scheen. «Les médicaments anti-inflammatoires : des anciens classiques aux biothérapies et inhibiteurs de JAK.» *med liege*, 2022.
3. Asif J Iqbal1, Edward A Fisher, David R. Greaves1. «Inflammation – a critical appreciation of the role of myeloid cells.» *author manuscript*, 2016.
4. Athina Geronikaki, Dimitra Hadjipavlou-Litina, Alla Zablotskaya, Izolda Segal . «Organosilicon-Containing Thiazole Derivatives as Potential Lipoxygenase Inhibitors and Anti-Inflammatory Agents.» 2007.
5. Atta, A et Alkofahi,A. «nociceptive and antiinflammatory effects of some jordanian medicinal plant extracts.» *journal of ethnopharmacologie*, 1998.
6. Batteux, Bernard Weil , Frederic. *immunopathologie et reaction inflammatoire*. De Boeck, 2003.
7. Bentouati. «croissance,productivité et aménagement des forets de pin d'alep du massif de ouled yagoub kenchela.» 2006.
8. Bernard, P. *Le pin d'Alep en France*. Quae, 2013.
9. Boulaacheb, Nacira. «les paysages vegetaux du djebel megrisdiversité des écosystemes,richesse floristiques,ampleur de l'anthropisation.» *geographie physique et environnement*, 2009.
10. Audrey Zamora. «Caractérisation des mécanismes de dérégulation de la résolution de l'inflammation au cours du lymphoedème secondaire : restauration par approche ciblée.» 2022.
11. Clos, Jean. *l'immunité chez les animaux et les végétaux*. lavoisier, 2012.
12. Fancés, Manon. «etude de la mise au point d'un vernis industriel a base de colophane et d'huile végétal.» 2020.
13. Flamand, Nicolas. « Biosynthèse de médiateurs lipidiques dérivés des lipoxygénases par les leucocytes : importance dans l'inflammation.» 2022.

14. Fleiegmann J, Schorder. «molecular analysis of chalcone and dihydropimosylvin synthase fromscots pine.» 1992.
15. Francois, Jean. «dynamicimmune inflammation prcision medicins.the good and the bad inflammation.» 2021.
16. GILROY, MELANIE BENNETT , DEREK W. «Lipid Mediators in Inflammation .» 2023.
17. <https://www.medecinepourtous.com/search/label/medecine%20generale>. s.d.
18. Jacek Hawiger, Jozef Zienkiewicz. «Decoding inflammation, its causes, genomic responses, and.» 2019.
19. JM DeSimone , MM Meguid , M Kurzer , J. Westervelt. «L'indométhacine diminue les adhérences péritonéales induites par la carraghénane.» 1988.
20. José C. Zanini Jr., Yara S. Medeiros, Alexandre B. Cruz, Rosendo R. A. Yunes, João B. Calixto. «Action of compounds from Mandevilla velutina on croton oil-induced ear oedema in mice. A comparative study with steroidal and nonsteroidal antiinflammatory drugs.» *ohytotherapy research*, 1992.
21. Khadeeja Adam SY , Maëlle Briottet , Isabel Valsecchi , Sephora John , Françoise Botterel 2 et Valérie Urbach 1. «IMPACT DES MEDIEATEURS LIPIDIQUES DE LA RESOLUTION DE L'INFLAMMATION SUR LA.» 2019.
22. Kim, Sungun. «Antioxidant and anti-inflammatory compounds isolated from acer tegmentosum.» *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012.
23. Langenheim, J.H. «Plant resins : chemistry, evolution, ecology and ethno-botany.» *TimberPress. Portland, Etats-Unis*, 2003.
24. Linlin Chen, Huidan Deng, Hengmin Cui¹, Jing Fang, Zhicai Zuo, Junliang. «Inflammatory responses and inflammation-associated diseases.» 2017.
25. M Abbal, L Alric, A Cantagrel, B Delisle. «REACTION INFLAMMATOIRE : ASPECTS.» 2009.
26. Marion Mathieu, Annick Guimezanes.
«Séminaire Ketty Schwartz « Inflammation et maladies : clés de compréhension ».» 2012.
27. 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.
28. Mayol, Katia. «Les médiateurs de l'inflammation.» *plateforme acces.institut francais de l'education*, 2021.

29. Modugno, F., Ribechini, E., Colombini, M.P. « Aromatic resin characterisation by gas chromatography mass spectrometry : Raw and archaeological materials.» *Journal of Chromatography.* , 2006.
30. Mury, Pauline. «Mécanismes et impact de l'activité physique et de la sédentarité sur les facteurs de.» 2018.
31. Nahal.I. «Le pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.). Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole.» *Annales de l'Ecole eaux et forêts*, 1962.
32. Nour Yahfoufi, Nawal Alsadi, Majed Jambi, Chantal Matar. *The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols.* 2018.
33. Parham, Peter. *le systeme immunitaire.* DE boeck, 2003.
34. Ravelo-Calzado, Yazmín, Vivian Molina-Cuevas, Sonia Jiménez-Despaine, et Yohani Pérez-Guerra. «Effects of D-002 on xylene-induced oedema in ear.» *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 2011.
35. Revillard. *immunologie.* 4e. De boeck, 2001.
36. S.H.Ngyuyen. *manuel d'anatomie et de physiologie.* 3e. lamarre, 2007.
37. Sene, Madièye. «Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis.*» 2016.
38. <http://www.futura-science.com/fr/comprendre/dossier/doc/aquitaine-le-gemmage264/c3/221/p1>. s.d.