

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

# Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

## Effet des extraits de *Pistacia lentiscus* sur les enzymes lysosomales dans le cas de l'arthrite goutteuse expérimentale

Présenté par :

Ayache Amel

Hamimi Safia

Composition du jury

Mme Berri Y.

M.A.A

Présidente

Mme Rahmani-Berboucha M.

M.A.A

Promotrice

Mme Zemouri S.

M.A.A

Examinatrice

Année Universitaire : 2015 /2016

# **Remerciements**

*Nous tenons en premier lieu à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir procuré la santé et la volonté d'entamer et de mener ce mémoire jusqu'à sa fin.*

*Nos remerciements s'adressent à la faculté des sciences de la nature et de la vie sous l'édige du Monsieur le Doyen Atmani D. ,également aux enseignants de la Faculté des Science de la Nature et de la Vie de Bejaia pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles afin d'assurer notre formation et encadrement durant ces longues années du premier cycle licence et du master.*

*Nous adressons notre profonde reconnaissance et nos chaleureux remerciements à notre promotrice Madame « RAHMANI. M» pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer notre thème, et avoir été un modèle pour nous, et une source de courage, conseils et confiance.*

*Nous voulons également remercier M<sup>lle</sup> Ayouni.K pour son immense contribution, encouragement et ses précieux conseils. Qu'elle trouve ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.*

*Nos sincères remerciements vont également à tout le personnel du laboratoire de Biochimie appliquée.*

*Et enfin à toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices, je vous aime.*

*A mes chers et adorables frères : Reda et Adel*

*Mes belles sœurs : Souhila et Nebia*

*Mes neveux : Syrine et Rayane*

*A ceux qui ne sont plus là avec nous, mais qui sont toujours présents dans nos cœur et notre mémoire, a mon petit ange : Anais*

*A toi Mehdi merci d'avoir été là, petit cousin*

*A toute la famille Ayache et Rehal*

*Mes cousines : Linda , Lina , Katia , Nariméne , Sousou*

*Mes cousins : Mohamed , Ramzy , Amer , Alilou*

*A mon binôme, copine, l'adorable SAFIA qui a tout partagé avec moi, merci du fond du cœur*

*A l'unique, la meilleure, la sœur que je n'ai jamais eu WAFIA, merci pour ton soutien, je t'aime*

*A tous mes Amis(es)*

*A toute la promotion master 2 pharmacologie moléculaire 2015-2016*

*AMEL*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la plus belle créature que Dieu a crée sur terre,*

*A cette source de tendresse, de patience et de générosité,*

*A ma mère*

*A mon très cher père*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être, ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mon très cher unique frère Karim*

*A mes très chères sœurs*

*Sabrina, Linda, Nawel, Souraya, Fouzia, Lamia et chère petite sœur Katia*

*La vie nous sépare parfois des gens qu'on aime ; ma chère sœur Mimah ou que tu sois tu es et tu resteras gravée à jamais dans ma mémoire, je te dédie ce modeste travail.*

*A toute la famille HAMIMI*

*Je dédie notamment ce travail à mon binôme la magnifique AMEL avec laquelle j'ai réalisé et j'ai partagé ce travail ; mille merci*

*A tous mes amis(es)*

*A toute la promotion master 2 pharmacologie moléculaire 2015-2016*

*SAFIA*

## *Liste des abréviations*

<b>A.G</b>	Acide Gallique
<b>A.T</b>	Acide Tanique
<b>ABTS</b>	Acide 2, 2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>ACTH</b>	Hormone adrénocorticotrope
<b>ADP</b>	Adénosine Di-phosphate
<b>AINS</b>	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Aluminium chloride
<b>AMP</b>	Adénosine mono-phosphate
<b>ANOVA</b>	Analyse de la variance
<b>Aq.</b>	Aqueux
<b>ASC</b>	Apoptosis-associated speck-like protein
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>BSA</b>	Bovine Serum Albumin
<b>CARD</b>	Caspase recruitment domain
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Tétrachlorométhane
<b>CMC</b>	Carboxy Methyl Cellulose
<b>Col.</b>	Colchicine
<b>COX</b>	Cyclooxygenase
<b>Et OH</b>	Ethanolique
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HCT116</b>	Cellules cancéreuses du colon humain
<b>HDL</b>	Lipoprotéine de haute densité
<b>IGg</b>	Immunoglobulines de type G
<b>IL1-β, 1, 6, 8</b>	Interleukine 1-β, 1, 6, 8
<b>Indo.</b>	Indométacine
<b>NF-Kβ</b>	Facteur nucléaire Kβ
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adénine dinucleotide phosphate
<b>NLRP3</b>	NLR family, pyrin containing 3
<b>OAT-4</b>	Organic anion transporter 4
<b>ONPG</b>	O rthoniphényl-β-D-galactopyranoside
<b>ORL</b>	Oto-rhino-laryngologiste

<b>OVA</b>	Ovalbumine
<b>PAMPs</b>	Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes
<b>PEA</b>	<i>Pistacia</i> Ecorce Aqueux
<b>PEF</b>	<i>Pistacia</i> Ecorce Ethanolique
<b>PFA</b>	<i>Pistacia</i> Feuille Aqueux
<b>PFE</b>	<i>Pistacia</i> Feuille Ethanolique
<b>PGA</b>	<i>Pistacia</i> Graine Aqueux
<b>PGE</b>	<i>Pistacia</i> Graine Ethanolique
<b>PGH<sub>2</sub></b>	Prostaglandine H <sub>2</sub>
<b>PMN</b>	Polymorphonucléaires
<b>PNN</b>	Polynucléaire Neutrophile
<b>RNS</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Spicies
<b>SDS</b>	Sodium dodecyl sulfate
<b>SEM</b>	Standard error of the mean
<b>TEA</b>	Triethanolamine
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming Growth Factor-beta
<b>THP-1</b>	Cellule monocytaire humaine
<b>TLR</b>	Toll-like receptor
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor-alpha
<b>TNF <math>\beta</math></b>	Tumor Necrosis Factor-beta
<b>UMS</b>	Urate monosodique

## *Liste des figures*

N°	Titre	page
<b>1</b>	Structure chimique de l'acide urique	<b>03</b>
<b>2</b>	Schéma de synthèse et d'élimination de l'acide urique	<b>04</b>
<b>3</b>	Lésions observées au cours de la goutte	<b>05</b>
<b>4</b>	Mécanisme de déclenchement de l'inflammation et activation de l'inflammasome	<b>09</b>
<b>5</b>	Structure de l'inflammasome NLRP3	<b>10</b>
<b>6</b>	Structure chimique de la colchicine	<b>13</b>
<b>7</b>	Structure de l'indométacine	<b>15</b>
<b>8</b>	Les différents traitements de l'arthrite goutteuse	<b>18</b>
<b>9</b>	Photographie des feuilles (a), graines (b) et écorces des racines (c) de <i>P.lentiscus</i>	<b>19</b>
<b>10</b>	Répartition géographique de <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>20</b>
<b>11</b>	Photographie des feuilles (a), graines (b) et écorces des racines (c) de <i>P.lentiscus</i>	<b>26</b>
<b>12</b>	Processus enzymatique d'hydrolyse de l'ONPG par la $\beta$ -galactosidase	<b>31</b>
<b>13</b>	Teneurs en phénols totaux des extraits des différentes parties de <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>32</b>
<b>14</b>	Teneurs en flavonoïdes des extraits des différentes parties de <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>33</b>
<b>15</b>	Teneurs en tannins des extraits des différentes parties de <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>34</b>
<b>16</b>	Effet des molécules de références, indométacine et colchicine sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des foies prélevés de souris injectées par des UMS	<b>35</b>
<b>17</b>	Effet des molécules de références, indométacine et colchicine sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par des UMS	<b>36</b>
<b>18</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des feuilles de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, de foies prélevées de souris injectées par des UMS	<b>37</b>
<b>19</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des feuilles de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par des UMS	<b>38</b>
<b>20</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des écorces des racines de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des foies prélevées de souris injectées par des UMS	<b>39</b>
<b>21</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des écorces de racines de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par des UMS	<b>40</b>
<b>22</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des graines de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, de foies prélevées de souris injectées par des UMS	<b>41</b>
<b>23</b>	Effet des extraits ethanologique et aqueux des graines de <i>P.lentiscus</i> et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales, $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par des UMS	<b>42</b>

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau I	Classification classique de <i>Pistacia lentiscus</i>	19
Tableau II	Traitements des souris.	27



# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction .....1**

## **I. Synthèse Bibliographique**

**I.1-Historique de la goutte.....2**

I.2-Physiopathologie de la goutte.....2

I.2.1-Acide urique.....2

I.2.2-Métabolisme de l'acide urique.....3

I.2.3-Elimination de l'acide urique.....3

**I.3-De l'hyperurémie à la goutte.....4**

II .3.1-Expression clinique de la goutte .....5

I.3.1.1-Goutte aiguë.....5

I.3.1.2-Goutte chronique.....5

I.3.2-Facteurs de risques de la goutte .....6

I.3.2.1-Hyperuricémie .....6

I.3.2.2-Alcool .....6

I.3.2.3-Age et Sexe .....6

I.3.2.4-Alimentation .....7

I.3.2.5-Autres facteurs de risque.....7

**I.4-Accès goutteux : mécanisme cellulaire et moléculaire de l'inflammation aiguë.....7**

I.4.1-Cristallogénèse .....	7
I.4.2-Inflammation aigue.....	8
I.4.2.1-Déclenchement de l'inflammation aigue .....	8
I.4.2.2-Amplification de l'inflammation aigue .....	8
I.4.2.3-Résolution spontanée de l'inflammation aigue.....	10
<b>I.5-Les lysosomes et ses enzymes.....</b>	<b>11</b>
I.5.1-Roles des enzymes lysosomales dans l'inflammation.....	13
<b>I.6-Traitements médicamenteux.....</b>	<b>13</b>
I.6.1-Traitements de la crise de goutte.....	13
I.6.1.1-Colchicine.....	13
I.6.1.2-Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	14
I.6.1.3-ACTH.....	15
I.6.1.4-Anti-IL-1.....	16
I.6.2-Traitements hypo-uricémiants.....	16
I.6.2.1-Inhibiteurs de la xanthine oxydase.....	16
I.6.2.1.1-Allopurinol.....	16
I.6.2.1.2-Fébuoxostat.....	17
I.6.2.1.3-Uricosurique.....	17
<b>I-7-Etude botanique de <i>Pistacia lentiscus</i> .....</b>	<b>18</b>
I.7.1-Description de la plante.....	18
I.7.2-Classification de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	19
I.7.3-Répartition géographique.....	19
I.7.4-Utilisation traditionnelle.....	20
I.7.5-Etude phytochimique de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	21

I.7.5.1-Feuilles.....	21
I.7.5.2-Fruits.....	21
I.7.6-Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	22
I.7.6.1-Activité antifongique et antimicrobienne.....	22
I.7.6.2-Activité antioxydante .....	22
I.7.6.3-Activité antihépatotoxique.....	23
I.7.6.4-Activité anti-cancéreuse.....	23
I.7.6.5-Activité antimutagène.....	23
I.7.6.6-Activité anti-inflammatoire.....	23

## **II. Matériel et Méthodes**

<b>II.1-Matériel.....</b>	<b>25</b>
II.1.1-Matériel du laboratoire .....	25
II.1.2-Produits chimiques .....	25
II.1.3-Les extraits de feuilles, écorce des racines et graines de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	25
II.1.4-Récupération des foies et de rates des souris.....	27
<b>II.2.Méthodes .....</b>	<b>28</b>
II.2.1-Dosage des composés phénoliques dans les extraits éthanoliques et aqueux des différentes parties de <i>P.lentiscus</i> .....	28
II.2.1.1-Dosage des phénols totaux.....	28
II.2.1.2- Dosage des flavonoïdes .....	28
II.2.1.3-Dosage des tannins.....	29
II.2.2-Evaluation de l'activité de la $\beta$ -galactosidase dans les homogénats de foies et de rates.....	30
II.2.2.1-Préparation des homogénats de foies et de rates.....	30
II.2.2.2-Dosage des protéines totales.....	30

II.2.2.3-Evaluation de l'activité de la $\beta$ -galactosidase.....	30
II.3-Evaluation des résultats.....	31
<b>III. Résultats et Discussion</b>	
<b>III.1-Résultats</b> .....	<b>32</b>
III.1.1-Teneur en composés phénoliques .....	32
III.1.1.1-Teneur en phénols totaux.....	32
III.1.1.2-Teneur en flavonoides.....	33
III.1.1.3-Teneur en tannins.....	33
III.1.2-Evaluation de l'effet des molécules de référence et des extraits de <i>P.lentiscus</i> sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates.....	34
III.1.2.1-Effet des molécules de références (colchicine et indométacine) sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates.....	34
III.1.2.2-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates.....	36
III.1.2.3-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des écorces de racines de <i>Pistacia lentiscus</i> sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates.....	38
III.1.2.4-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des graines de <i>Pistacia lentiscus</i> sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates.....	40
<b>III.2- Discussion</b> .....	<b>43</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>50</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>51</b>
<b>Annexes</b>	



La goutte, nommée littéralement « podogros », est une forme fréquente d'arthrite, caractérisée par l'accumulation de cristaux d'urate monosodiques (UMS) dans les articulations et les autres tissus. La présence intra-articulaire et péri-articulaire de cristaux d'UMS va déclencher une réaction inflammatoire, qui fait appel à l'immunité innée et mettant en jeu une réaction de défense de l'organisme (**Valeix et Guillot, 2013 ; Feng, 2015**).

Les avancées cliniques à la pathogénie de la goutte ont mené à l'exploration de nouvelles thérapeutiques. Ainsi, de nouveaux traitements de crise ou de fond voient le jour au fur et à mesure que les connaissances génétiques, physiologiques et biochimiques de la goutte viennent élargir l'arsenal thérapeutique antigoutteux, bien connu et constitué essentiellement de la colchicine et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), pour la crise de goutte et de l'allopurinol pour la goutte chronique, qui agissent respectivement sur l'interleukine  $\beta$ , Cyclooxygénase 2 (COX2) et la xanthine oxydase (**So et Busso, 2012**).

Cependant, l'approche thérapeutique par ces traitements synthétiques entraîne, à long terme chez les patients, des effets indésirables, engendrant de graves conséquences, ainsi le recours aux traitements par les composés phytochimiques, qui sont dévoués pour leurs vertus prodigieux, s'avèrent utiles et sans effets secondaires (**Smith, 1980**).

La phytothérapie, médecine traditionnelle qui a accompagné l'homme tout au long de son histoire, n'a pas perdu son intérêt. En effet ces dernières années, de nombreuses recherches sur les plantes médicinales ont pu être effectuées, notamment grâce à l'évolution des techniques d'analyses phytochimiques (**Bruneton, 1999**).

La richesse des plantes en métabolites secondaires sont souvent sollicitées dans la thérapeutique. Au fil des décennies de recherche, il a été démontré que les polyphénols sont répandus dans tout l'appareil végétatif des plantes. Ainsi ces molécules actives représentent un grand intérêt par leurs effets bénéfiques pour la santé, notamment comme agent anti-inflammatoire, anticancéreux, antioxydant et neuroprotecteurs (**Beta et al., 2005 ; Kamatou et al., 2009**).

Dans cette optique de recherche, nous nous sommes intéressés à l'efficacité des extraits éthanoliques et aqueux de différentes parties (feuilles, écorce des racines et graines) de la plante médicinale, *Pistacia lentiscus*, sur les enzymes lysosomales dans le cas de l'arthrite goutteuse, *in vivo*.

## **I.1-Historique de la goutte**

La goutte est l'une des maladies métaboliques les plus anciennes découvertes durant l'antiquité, touchant prioritairement les articulations. Les médecins grecs la nomma podagres, littéralement podogros, signifiant « qui a la goutte aux pieds », puis identifiée par la Haute-Égypte, en 2640 avant J.C (**Kuntz et Lioté, 2003 ; Bennesser et al., 2010**).

Hippocrate décrit avec justesse certains aspects épidémiologiques de la goutte comme sa prédisposition pour l'homme, sa rareté chez l'enfant et la femme non ménopausée et son lien avec une suralimentation (**Busso et So, 2010**).

Six siècles plus tard, Galien fut le premier à décrire les tofus et à attribuer qu'en plus de l'association déjà connu de la pathologie goutteuse avec un mode de vie de débauche et d'intempérance, il reconnaît le caractère héréditaire de la maladie (**Nuki et Simkin, 2006**).

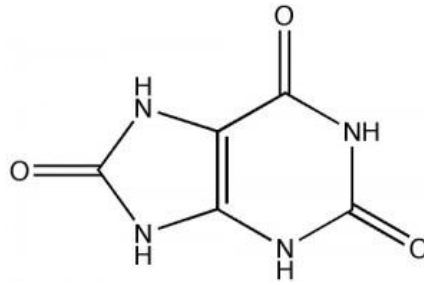
Au moyen âge, le terme gutta voit le jour car on croyait que la douleur et l'inflammation étaient la conséquence de l'une des humeurs qui « tombait telle une goutte de la tête dans une articulation », elle frappait les nantis et était la maladie des princes et des rois du fait de sa survenue après un repas riche et bien arrosé d'où l'appellation « la maladie des rois » (**Schlienger, 2014**).

## **I.2-Physiopathologie de la goutte**

La persistance de l'hyperuricémie pendant plusieurs années conduit au dépôt de cristaux d'urate monosodique (UMS), au sein du cartilage articulaire et surtout de la membrane synoviale. Ces microtophus peuvent se rompre et libérer les cristaux dans la cavité articulaire, mais sans pour autant déclencher systématiquement une crise aiguë (**Arnaud et al., 1900**).

### **I.2.1-Acide urique**

L'acide urique est un composé hétérocyclique de formule brute  $C_5H_4N_4O_3$ , d'un poids moléculaire de 168 Da et sa structure chimique est représentée dans la figure 1 (**Sekli-Belaidi, 2011**). C'est un acide faible, peu soluble, circulant sous la forme de monosodium d'urate, dont le seuil de solubilité se situe autour de 420 mmol/l (**Schlienger, 2014**). Il représente le terme ultime de la dégradation du noyau purique chez les primates, qui au cours de l'évolution, ont perdu les systèmes enzymatiques responsables du catabolisme complet de l'acide urique (**Hurtes et Maria, 2011 ; Richette, 2011**).



**Figure 1** : Structure chimique de l'acide urique (Sekli-Belaidi, 2011).

Les bases puriques, précurseurs de l'acide urique, proviennent de deux origines, une origine exogène formée par le catabolisme des acides nucléiques issus de l'alimentation et une origine endogène résultant, soit par catabolisme des acides nucléiques endogènes qui, comme les autres protéines, sont en renouvellement permanent (lyses cellulaires...), soit par la purinosynthèse, de novo (Fauvel, 1907 ; Arnaud *et al.*, 1992).

### I.2.2-Metabolisme de l'acide urique

L'acide urique est un produit terminal du catabolisme des bases puriques (adénine et guanine), le catabolisme complet des purines mène à l'acide urique par l'action successive d'une 5'nucleotidase, de la purine nucléoside phosphorylase et de la xanthine oxydase (Kuntz et Lioté, 2003 ; Schlienger, 2014).

Il est principalement hépatique, rénal et accessoirement intestinal. Au niveau hépatique, l'hypoxanthine issue de la dégradation de l'adénosine et de la guanine monophosphate redonne de l'inosine monophosphate, puis de l'adénosine monophosphate, puis de l'adénosine exportable vers les tissus périphériques (Wémeau *et al.*, 2014).

### I.2.3-Elimination de l'acide urique

L'élimination de l'acide urique est principalement rénale, elle comporte un processus complexe de filtration glomérulaire et de réabsorption au niveau du tube contourné proximal, ensuite une sécrétion au niveau du tube contourné distal (Hurtes et Meria, 2011). L'acide urique est éliminé dans les urines sous forme libre, peu soluble et sous forme de sel soluble, où les proportions de ces deux formes, libre ou salifiée, dépendent du pH urinaire. L'élimination intestinale est accessoire et se fait grâce à l'uricase de la flore bactérienne qui transforme l'acide urique en allantoiné (figure 2) (Seet *et al.*, 2010).

Par ailleurs, l'uricase qui est une enzyme efficace pour réduire les niveaux d'acide urique en oxydant l'acide urique en allantoiné (très soluble et excrétée sous forme inchangée dans les urines). L'urate oxydase est malheureusement une enzyme non fonctionnelle chez les



humains, qui est en conséquence de développement d'une hyper uricémie (Valeix et Guillot, 2013).

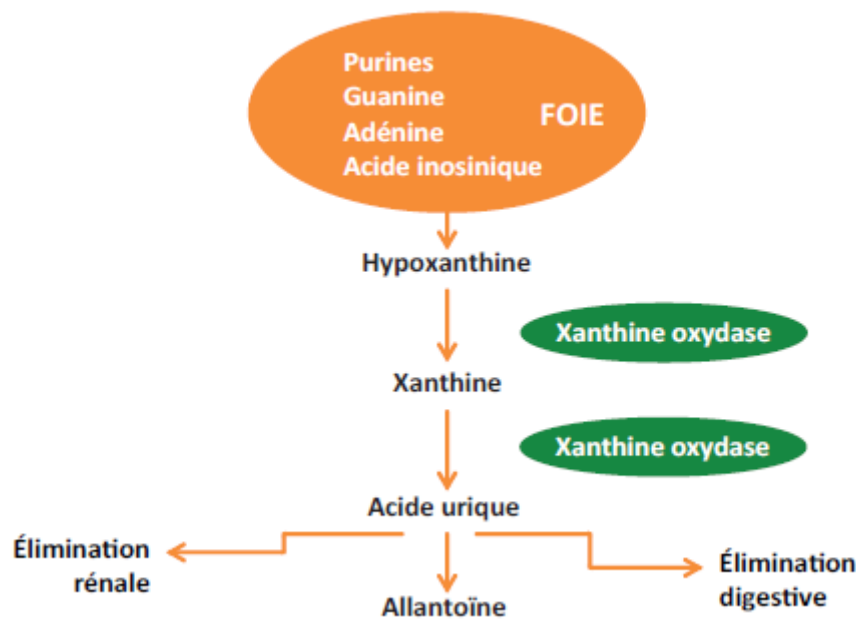


Figure 2 : Schéma de synthèse et d'élimination de l'acide urique (Berthélémy, 2014).

### I.3- De l'hyperurécémie à la goutte

La goutte est le rhumatisme inflammatoire le plus fréquent à l'échelle mondiale. Il s'agit d'une arthrite microcristalline, qui est liée aux dépôts de cristaux d'urates intra-articulaires (figure 3), mais aussi dans d'autres tissus et organes qui s'installent progressivement. Elle est la conséquence d'une hyperuricémie prolongée (Bardin, 2007 ; Sabina *et al.*, 2008).

La goutte se manifeste sous forme de crises douloureuses nocturnes, chaque crise est caractérisée par l'apparition d'une douleur très intense à type de brûlures, au niveau de l'articulation du gros orteil (elle est parfois localisée au niveau du genou, la cheville, des poignets ou des coudes). Cette douleur s'accompagne d'un malaise et d'une fièvre modérée (38 à 38.5°C). L'articulation touchée par l'inflammation est enflée, chaude, rouge et sensible au moindre contact (Hadjam, 2003 ; Sabina *et al.*, 2008).

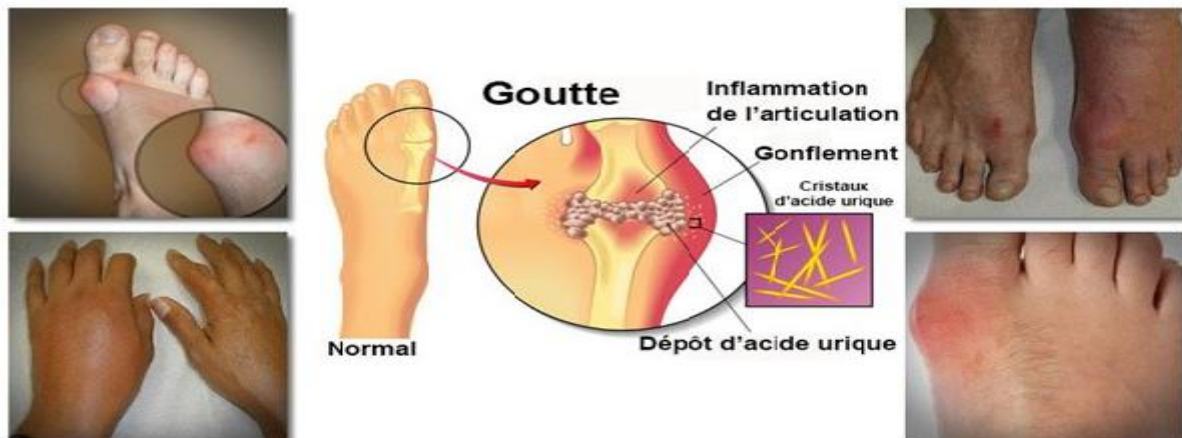


Figure 3 : Lésions observées au cours de la goutte (Bennesser *et al.*, 2010).

### I.3.1-Expression clinique de la goutte

#### I.3.1.1-Goutte aiguë

Correspond typiquement à une mono-arthrite aiguë, qui n'est que l'expression privilégiée de l'accumulation des cristaux d'urates dans l'ensemble des tissus et survient généralement après un facteur déclencheur (Busso et So, 2010).

Elle se caractérise par l'apparition nocturne, rapide (6-12h) et une inflammation articulaire douloureuse, qui peuvent être ubiquitaires au niveau de l'ensemble des bourses et tendons. Le passage de l'hyperurécémie à l'accès goutteux est globalement corrélé au degré et à la durée de l'hyperurécémie, mais chez près d'un tiers des patients, l'uricémie peut être normale lors de la crise aiguë (Wémeau *et al.*, 2014).

#### I.3.1.2-Goutte chronique

L'évolution se fait selon un continuum marqué par des crises répétées entrecoupées d'intervalles libres de plus en plus brefs, jusqu'à l'installation d'une goutte chronique, qui se caractérise par le développement de nodules de cristaux uratiques. Ces dernières prennent le nom de « tophi ». Ils peuvent se présenter dans tous les tissus (cœur, œil, ORL) et les articulations (Leclercq et Malaise, 2004).

Dans les stades avancés de la goutte, les manifestations cliniques se modifient, les crises deviennent volontiers polyarticulaires et les périodes intercritiques plus courtes. Les dépôts de cristaux uratiques au niveau des articulations osseuses finissent par produire des déformations articulaires de couleur blanche ou chamois, et de tailles qui varient de quelques millimètres à plusieurs centimètres de diamètre (**Ptascar et Flipo, 2011**).

### **I.3.2-Facteurs de risques de la goutte**

La prévalence et l'incidence de la goutte ont augmenté ces dernières décennies, de très nombreux facteurs déclencheurs d'atteinte d'une goutte ont été identifiés, chez l'homme et chez la femme (**Chalès, 2011**).

#### **I.3.2.1-Hyperuricémie**

L'hyperuricémie a pour origine un dysfonctionnement du métabolisme de l'acide urique, terme ultime du catabolisme des purines au sein de l'organisme. Cette maladie regroupe différentes étiologies : hyperuricémie idiopathiques et par excès de production ou défaut d'élimination rénale (**Valeix et Guillot, 2013**).

Elle représente le facteur majeur dans l'apparition d'une crise de goutte exprimée suite à un déficit métabolique, lors de la production ou excrétion de l'acide urique. Elle est définie comme une uricémie supérieure à 70mg/l (420  $\mu\text{mol/l}$ ) et le risque d'atteinte de cette pathologie dépend aussi de la durée de l'hyperuricémie (**Bardin, 2015 ; Lima, 2015**).

#### **I.3.2.2-Alcool**

L'impact de l'alcool sur l'hyperuricémie et la goutte est bien connu. Le métabolisme de l'alcool entraîne une dégradation de l'ATP en AMP, qui est partiellement convertie en acide urique. De plus, les lactates induits par la consommation d'alcool augmentent la réabsorption tubulaire des urates (**Wémeau et al., 2014**).

#### **I.3.2.3-Age et Sexe**

La prévalence de la goutte augmente de façon linéaire avec l'âge, ce qui s'explique par la lenteur de formation des dépôts cristallins pathogènes d'urate monosodique. L'âge moyen de début de la goutte est situé dans l'intervalle 45-55 ans, cependant, une première crise de goutte peut survenir dès l'adolescence, jusqu'à un âge très avancé. Le sujet âgé présente

souvent une atteinte polyarticulaire d'emblée ou touchant successivement plusieurs articulations si un traitement n'est pas débuté et suivi (Arnaud *et al.*, 1992 ; Bardin, 2007).

Le sexe intervient aussi dans la fréquence de la goutte. Cela est à mettre en rapport avec un effet uricosurique des œstrogènes. L'uricémie est ainsi plus basse chez la femme adulte que chez l'homme, jusqu'à la ménopause. A cette période, les taux d'uricémie de la femme rejoignent ceux de l'homme (Benesser *et al.*, 2010).

#### **I.3.2.4-Alimentation**

L'hyperuricémie augmente significativement avec la consommation d'aliments riches en purines. De même l'alimentation excessive en fructose augmente la production d'acide urique, due à la génération d'ADP, lors de son métabolisme hépatique (Lambotte et Ziza, 1998).

Par contre la consommation de protéines d'origine végétale (légumineuses) est associée à une diminution du risque de goutte. Les produits laitiers ont un effet protecteur sur l'hyper uricémie et la goutte, du fait de la capacité de la caséine et de la lactalbumine à augmenter l'excrétion urinaire d'acide urique (Chalès, 2011).

#### **I.3.2.5-Autres facteurs de risques**

La goutte est habituellement primitive familiale avec une prédominance masculine. Divers éléments du syndrome métabolique sont fréquemment associés à la goutte : obésité avec une augmentation du périmètre abdominal, (> 102 cm chez l'homme et 88cm chez la femme). L'hypertension artérielle, intolérance au glucose ou diabète, dyslipémie avec diminution du HDL-cholestérol et hypertriglycémie. Les patients goutteux sont donc à considérer à fort risque d'événements cardiovasculaires, ce qui explique la surmortalité observée (Armand, 1900 ; Lioté *et al.*, 2009).

### **I.4- Accès goutteux : mécanisme cellulaire et moléculaire de l'inflammation aiguë**

#### **I.4.1- Cristallogénèse**

La cristallogénèse des microcristaux d'urate, se forment lorsque le liquide biologique devient sursaturé en urate de sodium (Ghaemi-Oskouie *et al.*, 2011).

Le processus de cristallisation survient dans le plasma et le liquide synovial, à partir d'une concentration supérieure à 70mg/l ou 420 $\mu$ mol/l (**Man et al., 2014**). La solubilité des urates est favorisée par un milieu acide, une température basse et une faible hydratation des tissus. Ce qui pourrait justifier l'apparition majoritairement nocturne des crises de goutte (**Busso et al., 2010**).

Dans les tissus, et plus particulièrement, au sein du cartilage articulaire et de la membrane synoviale, les microcristaux d'urate monosodique, forment de petits dépôts appelés tophi, dont la croissance dépend de sursaturation en acide urique (**Ea, 2011**).

#### **I.4.2-Inflammation aigue**

L'inflammation aigue uratique se résume en trois étapes successives, à savoir, le déclenchement, l'amplification et la résolution spontanée.

##### **I.4.2.1-Déclenchement de l'inflammation aigue**

L'inflammation uratique est l'archétype de la réaction inflammatoire aigue. Elle fait intervenir les acteurs majeurs de l'immunité innée : monocytes, macrophages et polynucléaires neutrophiles (PNN) (**Dalbeth et Haskard, 2005**).

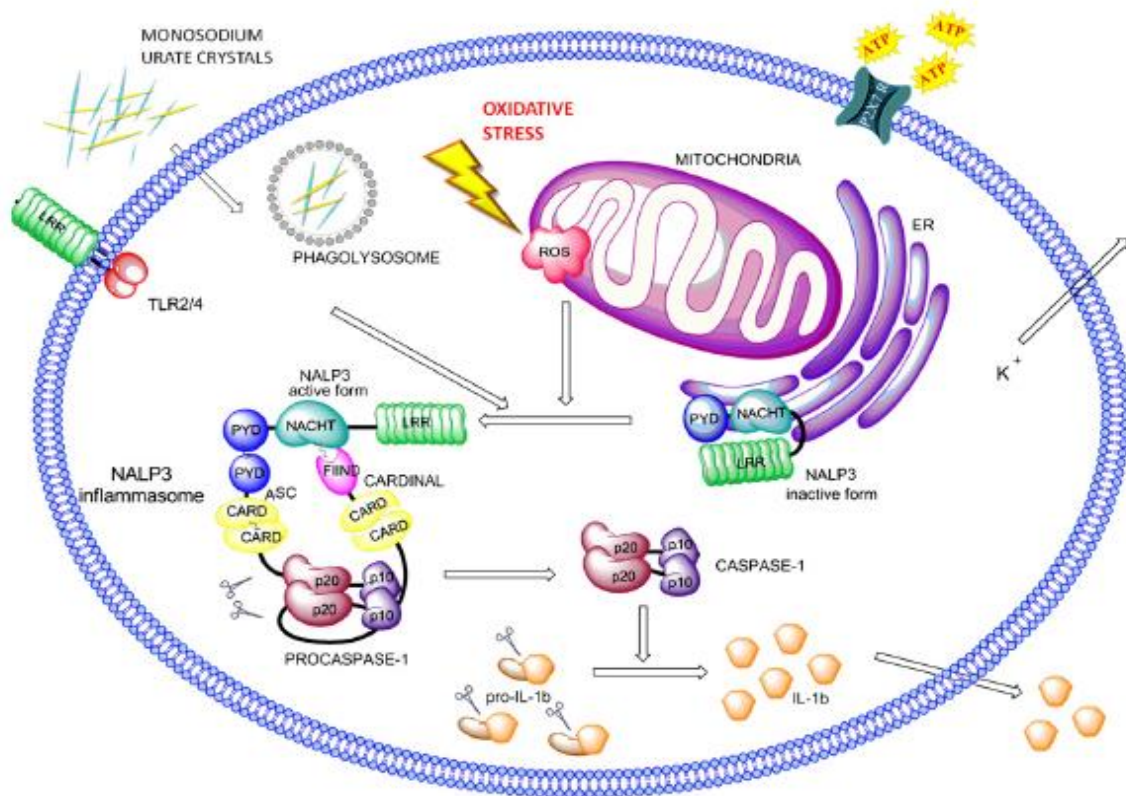
Le déclenchement de l'accès goutteux apparait suite à une irruption brutale de microcristaux d'urate monosodique au sein des articulations. Ils représentent un signal de "danger" qui stimule la maturation des cellules dendritiques, en augmentant leur capacité de présentation d'antigène (**Valeix et Guillot, 2013**).

Les cristaux interagissent directement avec les mastocytes et monocytes synoviaux. Leur phagocytose par les macrophages résidents peut être favorisée par l'opsonisation des cristaux d'UMS par des immunoglobulines G (IgG), des protéines matricielles et des fractions du complément (**Lioté et al., 1995**). Une fois activée les cellules synoviales citées vont produire et sécréter des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-1- $\beta$  et IL-8, qui ont un rôle de médiateurs intracellulaires et des chimiokines, dont le rôle est la régulation de la migration cellulaire (**Lioté, 2011**).

##### **I.4.2.2-Amplification de l'inflammation aigue**

Les chimiokines sécrétées par les mastocytes et monocytes synoviaux favorisent le recrutement des PNN et des mastocytes sanguins (**Ea, 2011**), qui sont munies d'un complexe

protéique oligomérique activant la “cascade” inflammatoire, notamment l’inflammasome. Il a un rôle prépondérant dans la réponse aux cristaux, en induisant la production de l’interleukine (IL)-1 $\beta$  (Pétrilli et Martinon, 2007). Deux signaux de stimulation sont nécessaires : le premier induit la production et l’accumulation de transcrite de la pro-interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) via facteur nucléaire-kappa B (Nf- $\kappa$ B) à la suite de la stimulation de récepteurs de l’immunité innée appartenant à la famille des Toll-like receptor (TLR) par des PAMPs. Le second signal, déclenché par la phagocytose de cristaux d’urate, aboutit au clivage de la pro-IL-1 $\beta$  en IL-1 $\beta$  via l’inflammasome (figure4) (Valeix et Guillot, 2013).



**Figure 4 :** Mécanisme de déclenchement de l’inflammation et activation de l’inflammasome (Punzi *et al.*, 2012).

L’inflammasome NLRP3 s’oligomérisse par des interactions homotypiques entre les domaines NACHT et présente son domaine Pyrin au domaine Pyrine de la protéine adaptatrice ASC qui interagit via son domaine CARD avec le domaine CARD de la pro-caspase 1 (figure5) (Zheng *et al.*, 2015) , entraînant l’activation de l’inflammasome qui sécrète IL-1 $\beta$  dans le milieu extracellulaire où elle orchestrent l’inflammation (Gicquel *et al.*, 2016).

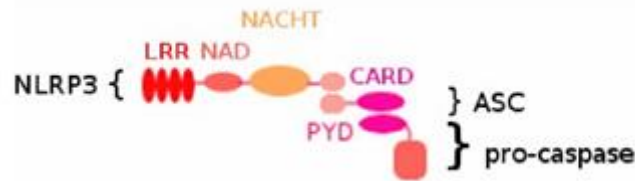


Figure 5 : Structure de l'inflammasome NLRP3 (Noél, 2014).

#### I.4.2.3-Résolution spontanée de l'inflammation aigue

Malgré l'intensité et la brutalité de l'accès, la crise de goutte est caractérisée par sa résolution spontanée et un retour ad integrum de l'articulation touchée. Les mécanismes d'arrêt de l'accès microcristallin commencent à être mieux connus et font appel à une transformation du monocyte en macrophage. Les IgG présentes à la surface cristalline ont pu être remplacées par de l'ApoE ou de l'albumine, rendant les cristaux incapables de déclencher une réponse inflammatoire (Dinarello *et al.*, 2012 ; Ea, 2011).

Le « switch » monocyte-macrophage est un autre mécanisme de la résolution spontanée de la crise de goutte. Il s'accompagne non seulement d'une perte de capacité à produire des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), mais aussi d'une production accrue de cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et TGF- $\beta$ ). Ainsi les macrophages stimulés produisent le TGF- $\beta$ , cytokine clé dans ce processus anti-inflammatoire, qui peut ainsi réduire l'activation endothéliale, limite le recrutement de PNN et de monocytes dans le tissu synovial, réduire aussi l'expression de cytokines comme l'IL-1 et son récepteur. Par ailleurs, la sécrétion du TGF- $\beta$ 1 est stimulée par l'ingestion de cellules apoptotiques par les macrophages (Richette, 2011).

Ainsi, plusieurs mécanismes inhibiteurs, principalement du TGF- $\beta$ , viennent interrompre le cours de l'inflammation microcristalline, du fait d'une différenciation macrophagique qui procède de l'ingestion ou du contact avec les premiers polynucléaires entrés en apoptose (Rose, 2006). L'apoptose des PNN et leur phagocytose par les macrophages permettent aussi de limiter la réaction inflammatoire goutteuse. La clairance des PNN apoptotiques peut être favorisée par la trans-glutaminase de type 2 (Tg2, protéine multifonctionnelle qui contribue à la clairance des corps apoptotiques (Dinarello *et al.*, 2012).

En effet, les macrophages exprimant la Tg2 augmentaient la phagocytose des PNN apoptotiques et réduisaient l'inflammation, *in vivo* (Man *et al.*, 2014).

### **I.5-Lysosomes et enzymes lysosomales**

Les lysosomes sont des vacuoles intra-cytoplasmiques que l'on retrouve dans toutes les cellules eucaryotes. Ils sont très hétérogènes, leur diamètre peut varier de 0,2 à 0,5 microns, ces organites se forment à partir des vésicules, qui bourgeonnent de l'appareil de Golgi ou d'une structure tubulaire à membrane lisse associée, à l'appareil de Golgi et au réticulum endoplasmique (Crine *et al.*, 1987 ; Boya, 2012).

Les lysosomes contiennent dans leur arsenal lytique une série d'endopeptidases et d'exopeptidases, qui ont en commun de n'exercer bien leurs activités qu'en milieu acide. Ensemble, ces enzymes lysosomales assurant avec efficacité la digestion des protéines dans le système phago-lysosome intracellulaire où le pH est maintenu entre 4 et 6, par un transfert actif d'ions H<sup>+</sup> (Crine *et al.*, 1987).

#### ➤ **β-galactosidase**

La β-galactosidase (EC 3.2.1.23) est une hydrolase lysosomale omniprésente qui clive spécifiquement les résidus β-galactosyle terminaux de glycoprotéines, glycosaminoglycanes, oligosaccharides et glycolipides eucaryotiques. Son activité optimale varie à pH 4 à 4,5, qui est proche d'un milieu normale d'un lysosome, elle se compose d'un polypeptide a 64kDa (Kurz *et al.*, 2000 ; Meera *et al.*, 2013).

Pour étudier la distribution intracellulaire de cette enzyme, une expérience a été menée par la préparation d'un anticorps polyclonal spécifique de la β-galactosidase lysosomale, en immunisant des lapins avec une préparation hautement purifiée de la β-galactosidase de foie et de rates. En utilisant ces anticorps, par une technique immunocytochimique. La β-galactosidase s'est montré présent dans tous les hépatocytes du foie et de rates (Hosni et Stenersen, 2000).

#### ➤ **Phosphatase acide**

Les phosphatases acides (EC 3.1.3.2) forment un groupe d'enzymes glycoprotéines de type I, qui catalysent l'hydrolyse de liaisons d'esters phosphoriques avec une activité optimale à pH acide autour de pH 3-5. Elles sont rencontrées aussi bien dans le règne animal que dans



le règne végétal et microbien (Kouadio *et al.*, 2007). Zylka et ses collaborateurs (2008) ont montré dans deux études indépendantes que l'injection de phosphatase acide prostatique (PAP) autologue, de la PAP humaine et de la PAP bovine recombinantes dans la moelle épinière des souris déficientes en PAP cause une diminution de la perception de la douleur. Les effets anti-nociceptif, anti-hyperalgésique et anti-allodynique de la PAP sont dépendants de l'activation d'un des récepteurs à adenosine A. Ainsi, la PAP agissant comme une ecto-5'-nucleotidase génère de l'adénosine dans le milieu externe et agit comme modulateur de la signalisation purinergique dans les neurones sensitifs de la moelle épinière.

#### ➤ **Cathepsine D**

La cathepsine D est synthétisée comme une simple chaîne polypeptide, dont le poids moléculaire est de 42KDa (Alan, 1980), active entre pH 3 et 5 sur divers protéines, notamment les protéoglycanes du cartilage. Elle scinde préférentiellement des liaisons établies entre des acides aminées à résidus hydrophobes volumineux (Metcalf et Fusek, 1993). La cathepsine D est une endoprotéinase intracellulaire, abondante située dans les endosomes et les lysosomes et vraisemblablement impliqué dans la dégradation des protéines endocytées et endogènes dans ces organelles (Puri et Factorovich, 1988).

#### ➤ **$\beta$ -glucuronidase**

La  $\beta$ -glucuronidase (EC 3.2.1.31), une hydrolase acide présente dans de nombreux organes et fluides corporels de l'homme et des animaux. La  $\beta$ -glucuronidase est localisée principalement dans les lysosomes chez l'homme et à la fois dans le réticulum endoplasmique et lysosomes de rongeurs. Elle est remarquablement stable à haute température (Jusqu'à 55°C) et à large gamme de pH (4-11) (Lu *et al.*, 2014).

L'expression et l'activité de  $\beta$ -glucuronidase diffère selon le foie, rate et sérum. Un tiers de la  $\beta$ -glucuronidase du foie est situé dans la lumière du réticulum endoplasmique, et il a été suggéré qu'elle joue un rôle dans le vélo hépatique. Elle est également présente dans la fraction lysosomale de la cellule et a un rôle dans l'hydrolyse de glucuronides d'hormones stéroïdes. Ainsi, l'activité de  $\beta$ -glucuronidase, peut modifier le taux net de formation glucuronide et peuvent influencer sur la voie du métabolisme, en dirigeant la conjugaison à des positions spécifiques (O'leary *et al.*, 2001).

### I.5.1-Rôle des enzymes lysosomales dans l'inflammation

Schumacher et Phelps (1971) ont étudié en microscopie électronique la séquence des événements qui suivent la mise en présence, *in vitro*, de polynucléaires et de microcristaux d'urate. Ces derniers sont rapidement phagocytés et sont alors localisés au sein du phagolysosomes, suivie par la disparition des membranes lysosomales, puis la lyse des polynucléaires. Ces observations suggèrent que les microcristaux induisent la mort cellulaire par le mécanisme dit « perforation par l'intérieur ». En altérant les membranes lysosomales, les microcristaux induiraient la libération des enzymes lysosomales dans le cytoplasme, qui provoqueraient l'autodestruction de la cellule, la nécrose du polynucléaire conduirait, alors au déversement dans la cavité articulaire du contenu du lysosome et du cytoplasme et à la libération des cristaux (Weissmann, 1966 ; Ignarro, 1974).

### I.6-Traitement médicamenteux

#### I.6.1-Traitement de la crise de goutte

##### I.6.1.1- Colchicine

La colchicine est un alcaloïde liposoluble extrait de la graine du colchique (*Colchicum autumnale*), appartient à la famille des poisons du fuseau. Sa structure chimique est complexe, il s'agit d'une structure tricyclique composée d'un cycle benzénique porteur de trois groupements méthoxy, associé à deux cycles de sept carbones (figure6) (Chang et Malawista, 1976).

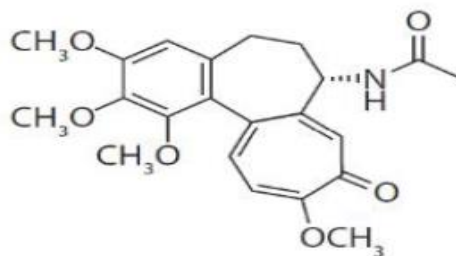


Figure 6 : Structure chimique de la colchicine (Barton *et al.*, 1945).

La colchicine est particulièrement efficace contre l'inflammation microcristalline goutteuse (**Graham et Roerts, 1953**). Elle exerce une capacité à bloquer la polymérisation des microtubules qui représentent l'un des principaux types de filaments protéiques constituants (**Sackett et verma, 1993**). Chaque molécule de colchicine se lie à une molécule de tubuline et entrave la polymérisation des microtubules. Cet arrêt de l'élongation du microtubule provoque une disparition rapide du fuseau mitotique et l'arrêt du processus de prolifération cellulaire (**Nuki, 2008**).

De plus, la colchicine diminue la mobilité des polynucléaires, leur activité métabolique, leur pouvoir d'adhésion, leur chimiotactisme et la lyse de leurs lysosomes (**Niel et Scherrmann, 2006**). Elle est utilisée dans le traitement de la goutte pour son activité anti inflammatoire, en entravant la phagocytose des cristaux de UMS par les polynucléaires et indirectement en réduisant la production d'acide lactique, maintenant ainsi le pH locale à des valeurs normales moins propices à la cristallisation (**Christop, 1989**).

La colchicine est surtout prescrite par voie orale, elle est rapidement et presque complètement absorbée au niveau de la portion jéjunoléale du tube digestif. Sa métabolisation se fait dans le foie ensuite l'élimination se fait par l'intermédiaire de la bile et des sécrétions intestinale (Environ 75%), qui se complète par une élimination urinaire (25%) (**Jacoulet, 1994**).

#### **I.6.1.2-Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens dans l'ensemble sont très efficaces dans le traitement des crises de goutte (**Bardin et al., 2007**). Ils inhibent la biotransformation en prostaglandine H<sub>2</sub>(PGH<sub>2</sub>) de l'acide arachidonique issu des phospholipides membranaires, par une enzyme, la cyclooxygénase (COX). Cette inhibition rend impossible la transformation de PGH<sub>2</sub> en prostaglandine par l'isomérase (**Lipsky et al., 1998**).

Les doses élevées de cette molécule sont prescrites pendant les quatre premiers jours d'une attaque. Ensuite, les doses standards sont par la suite utilisées pour un traitement permanent, car ils possèdent un index thérapeutique assez étroit en raison, notamment, de l'augmentation du risque de complications gastro-intestinales (**Lipsky et al., 1998 ; Kopke et Greeff, 2015**).

De nombreux anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent constituer une alternative aux traitements de la crise de goutte, tels que l'indométacine, qui est un acide 1-(4-

chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-H-indole-3-acétique (figure7), de formule chimique  $C_{19}H_{16}ClNO_4$  (Bard *et al.*, 2009). Elle est légèrement soluble dans l'alcool et encore moins dans l'eau, son pKa est de 4,5 et elle a un poids moléculaire de 357,79 Da, il est rapidement éliminé dans le plasma et sa demi-vie de 3-4 heure (Hart et Boardman, 1963).

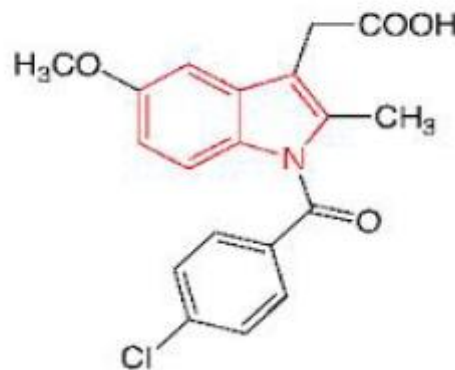


Figure 7 : Structure de l'indométacine (Noreen *et al.*, 1998).

Lors d'une inflammation, les leucocytes polymorphonucléaires (PMN), répondent par la génération des radicaux d'anion superoxyde et par la sécrétion des enzymes lysosomales, des prostaglandines stables et des thromboxanes. Les prostaglandines stables, à leur tour, empêchent le dégagement des enzymes lysosomales, des études ont montré que le traitement par l'indométacine inhibe l'activité de cyclo-oxygénase et par conséquent la synthèse de la prostaglandine et du thromboxane (Northover, 1977).

### I.6.1.3-ACTH

ACTH est une hormone adrénocorticotrope, qui a été redécouverte au milieu des années 1990 à travers plusieurs études, elle est utilisée dans le traitement des crises de goutte pendant plus de 60ans (Poujol *et al.*, 2013).

L'ACTH est apparentée aux mélanocortines, capable de stimuler leurs récepteurs de type 3, des études récentes ont démontré un lien entre l'inflammation uratique et ces récepteurs ce qui expliquerait l'effet de l'ACTH sur l'inflammation goutteuse (Daoussis *et al.*, 2013).

#### **I.6.1.4- Antis-IL-1**

Ces dernières années, l'évolution des connaissances de la physiopathologie de la goutte et du rôle central d'IL-1 $\beta$  donne lieu à une application thérapeutique par des antis IL-1 ou par des antagonistes du récepteur d'IL-1. Ces agents anti-IL1 sont apparus utiles pour traiter les patients ayant une réponse insuffisante, une contre-indication ou une intolérance aux traitements usuels (**Khanna et al., 2012**).

Dans toutes les études effectuées à ce jour, les inhibiteurs de l'IL-1 ont prouvé leur efficacité, que ce soit dans la prévention ou le traitement des crises de goutte. Cependant, des questions subsistent et restent sans réponse concernant leur profil de tolérance, au long cours et le profil des patients chez qui ce type de traitement doit être prescrit (**Dubost, 2011**).

#### **I.6.2-Traitements hypo-uricémiants**

L'objectif du traitement hypo-uricémies dans la goutte est d'amener l'uricémie en dessous de point de saturation de l'urate de sodium, c'est -à-dire en dessous de 360 $\mu$ mol/l (60mg/l), en permettant la dissolution des dépôts uratiques articulaires, ce qui engendre la guérison de la goutte (**Bardin, 2007**).

Les médicaments hypo-uricémiants, permettant de réaliser un traitement de fond de la goutte et des hyperuricémies, se différencient en deux groupes possédant chacun un mécanisme d'action propre : les inhibiteurs de l'uricosynthèse qui empêchent le catabolisme des bases puriques en acide urique et les uricosuriques qui augmentent l'élimination urinaire de l'acide urique (**Bardin, 2007**).

##### **I.6.2.1-Inhibiteurs de la xanthine oxydase**

###### **I.6.2.1.1-Allopurinol**

L'allopurinol est un inhibiteur de l'urico-synthèse, sa structure chimique est proche de l'hypoxanthine, il est facilement absorbée par l'intestin et subit une transformation hépatique, en oxypurinol, sous l'action de la xanthine oxydase (**Jacoulet et al., 1994**).

Il agit en inhibant la xanthine-oxydase, enzyme qui assure la transformation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique, ce qui induit une diminution plasmatique de l'acide urique et une augmentation de la xanthine et de l'hypoxanthine, base purinique, dont l'élimination est plus facile (**Mazières, 2002 ; Richette, 2011**).

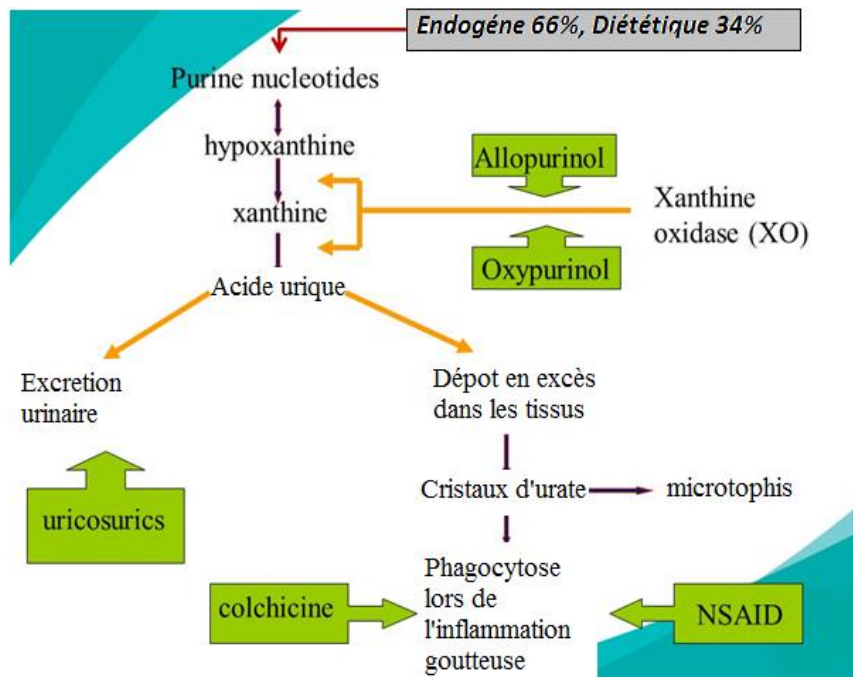
**I.6.2.1.2- Fébuoxostat**

C'est un puissant inhibiteur de la xanthine oxydase, il ne nécessite pas d'adaptation posologique tant que la clairance de la créatinine reste inférieure à 30ml/min. ses effets indésirables les plus fréquents sont les troubles digestifs dépendant de la dose ,des céphalées et des allergies cutanées parfois graves .Le fébuxostat n'est pas recommandé en cas d'insuffisance cardiaque congestive ,chez les patients sous action azathioprine ou mercaptopurine et dans le cas de cardiopathie ischémique (**Soberbille *et al.*, 2014**).

**I.6.2.1.3-Uricosuriques**

Ce sont des médicaments hypo-uricémiant, qui ont la propriété d'abaisser l'uricémie en augmentant l'uraturie (**Jacoulet *et al.*, 1994**).

Le probénécide et la benzbromarone sont des uricosuriques, favorisant l'élimination des urates ; ils diminuent la réabsorption tubulaire des urates par action enzymatique. Il inhibe le transporteur organique, Organic anion transporter 4 (OAT-4) par fixation compétitive. Ce transporteur se situe au niveau apical de la cellule tubulaire, permet la réabsorption des acides organiques, tels que l'acide urique (**Valeix et Guillot, 2013**). Leurs effets indésirables se limitent à des diarrhées et parfois voir apparaître des troubles gastro-intestinaux. Ces substances sont contre-indiquées en cas d'insuffisance rénale ou de lithiase rénale (**Arnaud *et al.*, 1992**).



**Figure 8** : les différents traitements de l'arthrite goutteuse (Anonyme).

Les effets secondaires des traitements médicamenteux de la goutte ont poussé les chercheurs à trouver des substituts naturels d'origine végétale, tels que les plantes médicinales susceptibles d'avoir des activités biologiques et pharmacologiques intéressantes. Parmi ces plantes, *Pistacia lentiscus* est un remède naturel utilisée traditionnellement dans toute la région méditerranéenne et notamment dans la localité de Bejaia pour le traitement de la toux, l'asme, des diarrhées et surtout comme anti-ulcère, anti-inflammatoire et antigoutteux.

## I.7-Etude botanique de *Pistacia lentiscus*

### I.7.1-Description de la plante

Le genre *Pistacia lentiscus* est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres de hauteur, caractérisé par la persistance de ses feuilles vertes, qui dégagent une odeur résineuse pénétrante de forme étroite, pointue et caduque en hiver (figure9) (Rameau *et al.*, 2008). Ces fruits globuleux d'environ 5mm de diamètre, initialement rouge avant de devenir noir à maturité, en mois d'octobre à novembre (Castola *et al.*, 2000 ; Gardeli *et al.*, 2008).



Figure 9 : Feuilles et fruits des *Pistacia lentiscus* (Bammou *et al.*, 2015).

### I.7.2-Classification de *Pistacia lentiscus*

Le nom pistachier vient du grec pistakê, lentisque vient du latin *lentus* qui signifie visqueux (Ducatillion, 2010). La taxonomie de *Pistacia lentiscus* est présentée dans le tableau I.

Tableau I: Classification classique de *Pistacia lentiscus* (Nahida *et al.*, 2012).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentisque</i>
Nom binomial	<i>Pistacia lentiscus</i>

### I.7.3-Répartition géographique

*Pistacia lentiscus* est retrouvée dans tout le bassin méditerranéen (figure10). En France, contrairement au pistachier térébinthe, le pistachier lentisque ne quitte pas la zone



méditerranéenne et s'éloigne peu du littoral, sauf dans quelques vallons chauds (**Bozorgi et al., 2013**). Il est très répandu en Corse, avec l'olivier sauvage, la myrte, la salsepareille (**Polese, 2010**), ainsi qu'au Maroc, la Turquie, l'Irak, l'Iran et l'Inde (**Hamlat et Hassani, 2008 ; Nahida et al., 2012**). En Algérie, la présence du pistachier est très répandue dans tout le littoral, les régions sublittorales et le bassin de la Soumam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj, 2001**).



**Figure 10** : Répartition géographique de *Pistacia lentiscus* (**Al-Saghir, 2006**).

#### **I.7.4-Utilisation traditionnelle**

*Pistacia lentiscus* a été traditionnellement utilisée dans diverses régions pour traiter différentes pathologies (**Benhammou et al., 2008**). Il constitue une source importante de substances actives. En effet, plusieurs parties de cette plante (les fruits, les écorces de racine et les feuilles) sont utilisées en médecine traditionnelle, depuis la civilisation grecque (**Ljubuncic et al., 2005**).

Les parties aériennes de cet arbuste ont été employées dans le traitement de l'hypertension, les toux, les gorges endolories, l'eczéma et les maux d'estomac (**Benhammou et al., 2008**).

La résine de *Pistacia lentiscus* connue comme mastic a été traditionnellement employée pour soulager les maux gastriques, dans les pays méditerranéens et du Moyen-Orient et comme édulcorant de soufflé. En Iran, la résine du lentisque est utilisée dans le but de traiter des maladies rénales, digestives et hépatiques (**Bozorgi et al., 2013**). En plus cette

résine a été traditionnellement considérée comme un agent anticancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate et de l'utérus (**Assimipoulou et al., 2005**).

De plus, les huiles extraites à partir de cette plante sont commercialisées destinées pour le traitement de la toux, pour leurs effets pharmacologiques en tant qu'antispasmodique, ou comme un remède d'application locale externe pour soigner les brûlures et les douleurs dorsales et aussi dans le traitement de l'eczéma (**Gardeli et al., 2008 ; Djerrou, 2013**).

### **I.7.5-Etude phytochimique de *Pistacia lentiscus***

*Pistacia lentiscus* est connue depuis toujours comme plante médicinale, elle a été traditionnellement considérée comme traitement contre diverses pathologies humaines. Cette diversité dans l'utilisation a poussé les chercheurs à mener plusieurs études phytochimiques, afin d'identifier les principes actifs des différentes parties de la plante (**Lopez-lazaro, 2009**).

#### **I.7.5.1-Feuilles**

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont une excellente source des composés bioactifs, à savoir les flavonoïdes, notamment les flavonoles glycosylés (quercetrine et myricetrine), luteoline, l'isoflavone genisteine, ainsi que les tannins et les terpénoïdes (**Castola et al., 2000 ; Gardeli et al., 2008**). Par ailleurs **Romani et ses collaborateurs (2002)**, ont révélé la richesse des feuilles de *Pistacia lentiscus* en métabolites secondaires, tels que l'acide gallique et dérivés galloyls, une très forte teneur en anthocyanes, à savoir delphinidine 3-O-glucoside et cyanidin 3-O-glucoside, en plus des flavonols, précédemment citées (**Romani et al., 2002**).

D'une autre part, les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de *Pistacia lentisque* ont montré la présence de longifolène,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinene,  $\gamma$ -cadinene, trans- $\beta$ -terpinéol,  $\alpha$ -acomeol,  $\gamma$ -muurolene, Sabinene et terpinén-4-ol. Cette huile représente 0,14- 0,17% du poids moléculaire des feuilles de *Pistacia lentiscus* (**Dob et al., 2006**).

#### **I.7.5.2-Fruits**

Les fruits de *Pistacia lentiscus* présentent aussi une très forte teneur en leucoanthocyanes, les tannins totaux, les tannins galliques et les flavonoïdes (**Bekkara et al., 2008**).

En effet, une étude phytochimique sur la composition des fruits de *Pistacia lentiscus* a permis d'identifier trois anthocyanes essentiellement : cyanidine 3-O-glucoside, Delphinidine 3-O-glucoside et de cyanidine 3-O-arabinoside.(**Abdelwahab et al., 2006; Bounar et al., 2013** ).

L'huile essentielle des graines de *Pistacia lentiscus* représente 0,2% du poids des fruits, où les monoterpènes à savoir,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -myrcene, limonène, et  $\alpha$ -phellandrène sont les composés caractéristiques de cette huile. Quelques sesquiterpènes, esters aliphatique, cétones, et des composés phénoliques ont été aussi identifiés(**Grant et al., 1990**).

### **I.7.6-Activités biologiques de *Pistacia lentiscus***

#### **I.7.6.1-Activité Antifongique et antimicrobienne**

Plusieurs travaux ont rapporté l'efficacité des extraits de *Pistacia lentiscus* comme agent antimicrobien et antifongique. En effet, l'activité antimicrobienne, *in vitro*, de *Pistacia lentiscus* a été qualitativement et quantitativement évaluée par la présence ou l'absence de zones inhibitrices (**Djenane et al., 2011**).

Par ailleurs, **Aksoy et ses collaborateurs (2006)**, ont révélé que le mastic a une activité antimicrobienne significative contre *Streptococcus* mutant. De même, les extraits obtenus à partir des feuilles de *P.lentiscus* présentaient une activité antifongique contre *Rhizoctania. Solani* et *Phythium ultimum* (**Kordali et al., 2003**). Aussi, l'huile essentielle de parties aérienne s'est avérée efficace contre la croissance mycélienne (**Benhammou et al., 2008**).

#### **I.7.6.2-Activité antioxydante**

Plusieurs études ont rapporté la capacité antioxydante des extraits des feuilles de *P.lentiscus* qui est due principalement à l'acide gallique et ses dérivés galloyls (**Benhammou et al., 2008 ; Atmani et al., 2009**), en piégeant les radicaux libres (ABTS<sup>+</sup>) et en inhibant la xanthine oxydase, impliqué dans la régénération des radicaux libres, ainsi l'inhibition de la peroxydation lipidique induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Barra et al ., 2007 ; Bhourri et al ., 2010**).

D'autre part, des auteurs ont rapporté l'existence d'une relation étroite entre les concentrations et la nature des composés phénoliques et les activités antioxydantes. Quant à l'huile essentielle, la faible activité antioxydante revient probablement au faible effet

inhibiteur exhibée par l' $\alpha$ - pinène et le limonène et sa faible concentration en composés phénoliques (Arab *et al.* , 2014).

### I.7.6.3-Activité antihépatotoxique

Les extraits de *Pistacia lentiscus* ont montrés une activité marquée contre l'hépatotoxicité du CCl<sub>4</sub> en réduisant l'activité de trois enzymes à savoir la phosphatase alcaline, l'alanine aminotransférase et aspartate aminotransférase et le taux de bilirubine .L'effet de l'extrait aqueux non bouilli a été plus prononcé que celui d'extrait bouilli (Janakat et Al-Merie, 2002).

### I.7.6.4-Activité anti-cancéreuse

Balan et ses collaborateurs ont rapporté que l'extrait éthanolique du Mastic de *Pistacia lentiscus* inhibe la prolifération et induit la mort des cellules HCT116 de cancer du côlon humain, *in vitro* (Nahida, 2012).

### I.7.6.5-Activité antimutagène

L'huile essentielle et les différents extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* présentent un effet inhibiteur sur la mutogénicité, *in vitro*. L'acide gallique, acide digallique et 1, 2, 3, 4,6-pentagalloylglucose, polyphénols isolés des fruits de *lentiscus*, induit une activité inhibitrice, contre les mutagènes dans des essais, *in vitro* (Bozorgi, 2013).

### I.7.6.6-Activité anti-inflammatoire

L'expérience de Chekchaki et ses collaborateurs (2015) sur l'effet de *Pistacia lentiscus* sur un asthme expérimental, en induisant une inflammation allergique provoqué par la sensibilisation à l'ovalbumine (OVA) est résorbé par l'effet anti-inflammatoire observé, aussi bien par l'huile de *Pistacia* que par son extrait aqueux, doté par sa richesse en tanins, flavonoïdes et phytostérols notamment sous forme d'huile.

L'extrait de résine de *Pistacia lentiscus* a montré une activité anti inflammatoire sur les cellules endothéliales aortiques humaines, par une inhibition significative des molécules d'adhésion sur l'expression de TNF- $\alpha$ . Il a été suggéré que cet effet peut être lié à l'inhibition de la protéine kinase, ce qui conduit à la diminution en superoxyde et la production du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par la NADPH oxydase (Bozorgi, 2013).

D'autre part, **Remila et ses collaborateurs (2015)** ont étudié l'effet des extraits de *P.lentiscus* sur une inflammation induite *in vitro*. D'après cette étude, il été rapporté que ces extraits exercent un effet anti-inflammatoire en inhibant la capacité des macrophages à produire les médiateurs pro-inflammatoires tels que les  $IL-1\beta$ ,  $TNF-\alpha$  et  $IL-17$ .

**II-Matériel et Méthodes****II.1-Matériel****II.1.1-Matériel du laboratoire**

Spectrophotomètre UV-Vis (SHIMADZU); Balance de précision (RADWAG, Max=220g, d=0,001g); Balance analytique (Sartorius, Max=61g, d=0,1mg); Bain marie(Memmert); Centrifugeuse (Sigma); Agitateur électromagnétique (VELP); pH mètre (HANNA); Homogénéisateur (Heidolph); Vortex (VELP); Micropipettes ;éprouvettes, erlenmeyers ; spatules ; pipettes ; poires ; béchers ; entonnoirs ; tubes à essais ; eppendorfs ; mortier en porcelaine,.....

**II.1.2-Produits chimiques**

Bovine Serum Albumine (BSA) ; Bleu de coomassie ; acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ) ; hydromethyl aminomethane (Tris) ( $C_4H_{11}NO_3$ ) ; Sodium carbonate ( $Na_2CO_3$ ) ; Sodium acétate ( $C_2H_3NaO_2$ ) ; Potassium phosphate Dibasic trihydrate ( $HK_2O_4P$ ) ; Potassium phosphate monobasic ( $KH_2PO_4$ ) ; Iron (III) chloride ( $FeCl_3$ ) ; Ethanol ;Chlorure d'hydrogène (HCl) ; aluminium chloride ( $AlCl_3$ ) (BIOCHEM Chemopharma) ;Acide acétique, 2-Nitrophenyl  $\beta$ -D-galactopyranoside (SIGMA-ALDRICH) ; Methanol (Scharlau); Sodio dodecilo sulfato (SDS) (Panreac); réactif de folin (CHIM-OZA).

**II.1.3- Extraits de feuilles, de graines et écorce des racines de *Pistacia lentiscus***

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été récoltées en mois de juin 2013 dans un endroit naturel loin de toute pollution au niveau de la région de Berbacha de la ville de Bejaia, tandis que la récolte des graines (fruits) et l'écorce des racines (figure11) a été faite en mois de novembre 2013.



**Figure 11** : Photographie des feuilles (a), graines (b) et écorces des racines (c) de *P.lentiscus* (originale).

Les différentes parties de *Pistacia lentiscus* (feuilles et écorces des racines) ont été séchées dans un endroit aéré à l'abri de la lumière et à température ambiante. Les feuilles et l'écorce des racines ont été broyées et tamisées jusqu'à obtention d'une poudre fine. Tandis que les graines ont donné après le broyage une pâte huileuse.

L'extraction appliquée dans cette étude est celle **Chiang et ses collaborateurs (1993)** modifiés par **Atmani et ses collaborateurs (2009)**, qui a consisté en l'extraction sélective par plusieurs solvants en trois grandes étapes : la première étape a été une macération des poudres fines obtenue, des feuilles et des écorces des racines de *P.lentiscus* dans l'éthanol. Après décantation, le surnageant a été mis à évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur, enfin la prise de la pesée de l'extrait éthanolique.

Dans la seconde étape l'extrait sec d'éthanol obtenu a été solubilisé, dans l'acétate d'éthyle et de l'eau, puis les deux phases organique et aqueuse ont été séparées et séchées, après décantation.

Enfin, la troisième étape d'extraction qui a consisté à remettre l'extrait organique d'acétate d'éthyle obtenu dans un mélange chloroforme/eau, pour obtenir après séparation, les extraits chloroforme et aqueux du chloroforme.

Les graines de leur part, ont été d'abord dilapidées par une extraction à l'hexane, suivie d'une extraction avec de l'éthanol et de l'eau, consécutivement. Cette méthode a été débutée par macération du broyat des graines dans l'hexane pendant 24h, après décantation, les deux phases ont été séparées : précipité de poudre et huile végétale des graines. Par la suite, la poudre végétale a été remise dans l'éthanol ou de l'eau pendant 24h. Après

décantation, l'extrait éthanolique est obtenu après évaporation au rotavapeur, tandis l'extrait aqueux a été réduit en poudre par lyophilisation.

#### II.1.4- Récupération des foies et des rates de souris

Des souris sont divisées en 22 lots, dont chaque lot comporte 8 souris d'un poids corporel homogène ont été utilisées dans une étude, *in vivo*, entrepris dans le laboratoire de Biochimie Appliquée durant le semestre II de l'année universitaire 2015, où l'inflammation a été induite par injection des UMS dans les pattes de souris. Ces dernières ont été traitées au préalable par différents traitements, notamment les molécules de références indométacine et colchicine, ainsi que les extraits éthanoliques et aqueux des différents parties de *P.lentiscus* et à différentes concentrations.

Le tableau suivant résume les différents groupes, et leurs traitements à différentes doses administrées (Rasool et Varalakshmi, 2006).

**Tableau II :** Traitements des souris, lors de l'induction dans le cas de l'arthrite goutteuse.

Groupes et traitements	Gavage 1h avant injection
Contrôle positif (UMS)	CMC (0,8%)
Contrôle négatif (eau physiologique)	CMC (0,8%)
Extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> -Des feuilles -De l'écorce des racines -Des graines	100mg/kg , 200mg/Kg ,400mg/kg
Extrait aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i> -Des feuilles -De l'écorce des racines -Des graines	50mg/kg, 100mg/kg , 200mg/kg
Molécules de référence : -Indométacine -Colchicine	3mg/kg 1mg/kg

Au bout du quatrième jour, les souris ont été sacrifiées et après dissection, les foies et les rates ont été récupérés, lavés avec une solution KCl, séchés, pesés et conservés à -80°C, jusqu'à utilisation ultérieure.



## II.2-Méthode

### II.2.1-Dosage des composés phénoliques dans les extraits éthanolique et aqueux des différentes parties de *P.lentiscus*

#### II.2.1.1-Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux dans les différents extraits est réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode de **Singleton et Rossi, 1965**.

##### ➤ *Principe*

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), qui est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). Cette coloration bleue, dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm. (**Ribéreau-Gayon et al., 1972 ; Beghlal et al., 2016**).

##### ➤ *Mode opératoire*

Un volume de 200 µl de chaque extrait de *Pistacia lentiscus* à une concentration 1mg/ml a été mis dans des tubes à essai ; ajouter 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans l'eau distillée (1/10), puis additionner un volume de 800µl de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7,5%. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30min, à température ambiante et à l'abri de la lumière et l'absorbance a été mesurée, à partir du spectrophotomètre UV-visible, à 760 nm. Effectuer la même opération pour l'acide gallique, à différentes concentrations en introduisant 200 µl de ce dernier dans une série de tubes à essais, puis ajouter les autres réactifs. Le blanc est représenté par le méthanol additionné du Folin-Ciocalteu, et de carbonate de sodium. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique/gramme d'extrait sec (mg Eq.AG/g). (**Annexe I**),

#### II.2.1.2-Dosage des flavonoïdes

##### ➤ *Principe*

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Pistacia lentiscus* est réalisée par la méthode chlorométrique de **Maksimovic et al., 2005**.

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et Aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972 ; Maksimovic et al., 2005**).

➤ **Mode opératoire**

Un volume de 2ml des différents extraits de *Pistacia lentiscus* ont été mélangés avec 1 ml du réactif  $AlCl_3$  (133mg  $AlCl_3$  et 400mg d'acétate de sodium dans 1ml d'eau distillée). Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV-visible, à 430 nm.

Effectuer la même opération pour la rutine à différentes concentrations, en introduisant 2 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajouter 1 ml d' $AlCl_3$  pour préparer une courbe d'étalonnage. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Pistacia lentiscus* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage, les résultats sont exprimés en mg d'équivalent rutine/ g d'extrait sec (mg Eq.R/g) (**Annexe II**).

### II.2.1.3-Dosage des tannins

➤ **Principe**

Le dosage des tannins contenus dans les extraits de *Pistacia lentiscus* a été réalisé selon le protocole d'**Hagerman et Butler (2002)**, en se basant sur la précipitation des protéines par utilisation de l'Albumine de sérum bovin (BSA).

➤ **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de chaque extrait (1mg/ml) a été mélangé à 2 ml de BSA (solubilisée dans un tampon contenant 200 mmol d'acide acétique et 170 mmol de NaCl, ajusté à pH=4,9). Après incubation à 4°C pendant 24 h, le mélange a été centrifugé à 3000g, durant 15 min dans le but de séparer le précipité et le surnageant. Le surnageant a été écarté, tandis que le précipité a été solubilisé dans un mélange de 4 ml de la solution SDS/TEA (5%, v/v de triéthanolamine et de 1%, p/v SDS). A ce dernier, un volume de 1 ml de  $FeCl_3$  (0.01M  $FeCl_3$  dans HCl à 0.01 M), a été additionné puis le mélange a subi une agitation et homogénéisation à l'aide d'un vortex suivie d'une incubation pendant 15min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 510 nm.

Les résultats des concentrations en tannins ont été exprimés en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait, calculés à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide tannique comme molécule de référence sec (**Annexe III**).

## **II.2.2-Evaluation de l'activité de la $\beta$ -galactosidase dans les homogénats de foies et de rates**

### **II.2.2.1-Préparation des homogénats de foies et de rates**

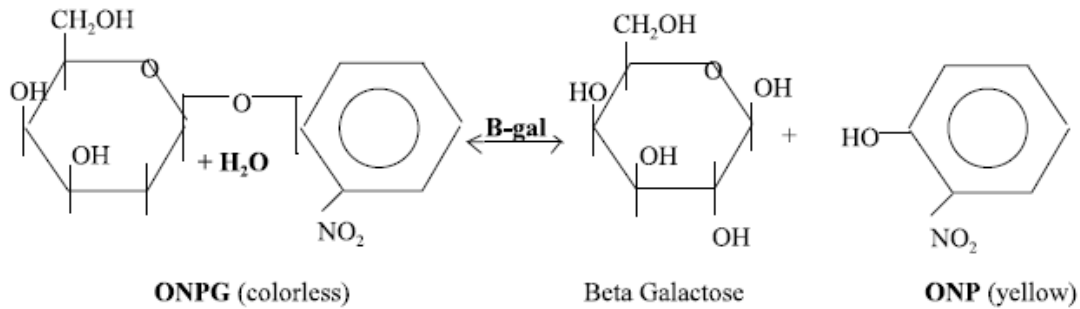
Les tissus des foies et des rates ont été broyés, à l'aide d'un Homogénéisateur en utilisant du tampon Tris-HCl (0,1M, pH 7,4) à 10% (p :v). Les homogénats ont été centrifugés à 6000g pendant 10 minutes à 4°C, la couche lipidique a été écarté avant de récupérer le surnageant final, qui a été conservé à -80°C.

### **II.2.2.2-Dosage des protéines totales**

Les protéines contenues dans les homogénats de foies et de rates ont été estimées selon est la méthode de **Bradford 1976**. Un volume de 50 $\mu$ l d'homogénat dilué a été ajouté à 1ml de la solution de Bradford et le mélange a été incubé pendant 10min à l'obscurité et à température ambiante. La lecture d'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 595nm et la concentration en protéines est déterminée en  $\mu$ g de BSA/ml par rapport à une courbe d'étalonnage réalisée dans des mêmes conditions, en utilisant la BSA comme protéine de référence (**Annexe IV**) et exprimée la concentration en  $\mu$ g Eq.BSA /ml d'homogénat.

### **II.2.2.3-Evaluation de l'activité de l'enzyme lysosomale, la $\beta$ -Galactosidase**

L'activité de la  $\beta$ -galactosidase est déterminée par la mesure de la concentration de O-nitrophényl après hydrolyse de l'ONPG (orhoniphényl- $\beta$ -D-galactopyranoside), en effet, ce dernier libère 2 phénols et la  $\beta$ -D-galactose après action de la  $\beta$  galactosidase (figure12).



**Figure12** : Processus enzymatique d'hydrolyse de l'ONPG par la  $\beta$ -galactosidase (Held, 2007).

L'évaluation de cette activité est déterminée selon la méthode de **Kawai et Anno (1971)**.

Dans des tubes à essais, un volume de 450 $\mu$ l d'ONPG a été incubé pendant 10min à 37°C, auquel est additionné un volume de 500 $\mu$ l d'homogénat de foie ou de rate. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 15min, puis la réaction a été stoppée par l'addition de 2ml de carbonate de sodium. La lecture d'absorbance a été mesurée à 290nm et la concentration du produit formé (O-nitrophénol = ONP) est déterminée en  $\mu$ g d'ONP/ml d'homogénat, par rapport à une courbe d'étalonnage réalisée dans des mêmes conditions, en utilisant l'ONP de référence (**Annexe V**). L'activité enzymatique est exprimée en  $\mu$ mole d'ONP/min/mg de protéine.

### II.3- Evaluation statistique des résultats

Tous les résultats sont exprimés en moyennes  $\pm$  l'erreur standard de la moyenne (S.E.M) pour les tests, *in vivo*, (Activité enzymatique de la  $\beta$ -galactosidase) et en moyenne  $\pm$  écartype pour les tests, *in vitro*, (les dosages).

L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le logiciel GraphPad Prism 5,03, par l'analyse de la variance (ANOVA), suivi du test de Dunnett's et tuckey. Les valeurs de  $P < 0,05$  sont considérées significatives.

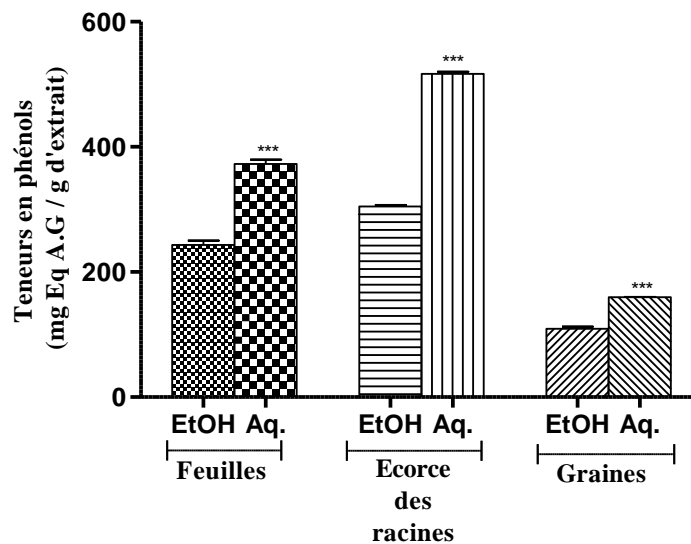
### III-Résultats et discussion

#### III.1-Résultats

##### III.1.1-Teneur en composés phénoliques

###### III.1.1.1-Teneur en phénols totaux

Les résultats des teneurs en phénols totaux des extraits éthanoliques et aqueux de feuilles, écorces des racines et graines de *Pistacia lentiscus* (figure13), sont calculées à partir d'une courbe étalon (Annexe I), réalisée avec une molécule de référence, à savoir l'acide gallique et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg Eq.AG/g).



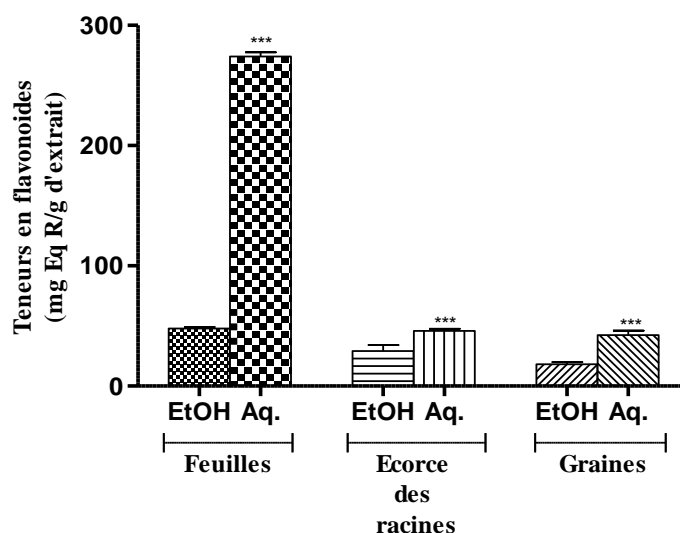
**Figure 13** : Teneurs en phénols totaux des extraits des différentes parties de *Pistacia lentiscus*. Les valeurs sont exprimées en moy±SEM (n=2).

On remarque que les plus fortes teneurs se sont révélées dans les extraits aqueux du chloroforme des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* ( $5,16 \pm 0,034$  mg Eq.AG/mg d'extrait), suivie de l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles et les extraits éthanoliques des deux parties ( $3,04 \pm 0,02$  ;  $2,43 \pm 0,06$  mg Eq.AG/mg d'extrait, respectivement).

Cependant, les extraits aqueux et éthanoliques des graines présentent les teneurs les plus faibles, à savoir  $1,59 \pm 0,008$  mg Eq.AG/mg d'extrait et  $1,09 \pm 0,036$  mg Eq.AG/mg d'extrait, respectivement, comparativement aux extraits des feuilles et des écorces des racines de la plante étudiée.

### III.1.1.2-Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes des extraits des différentes parties de *Pistacia lentiscus* a été réalisé, en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Leurs teneurs sont calculées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec une molécule de référence, à savoir la rutine (Annexe II), exprimées en mg de rutine par gramme d'extrait (mg Eq.R/g d'extrait). Les résultats du dosage sont illustrés dans la figure 14.

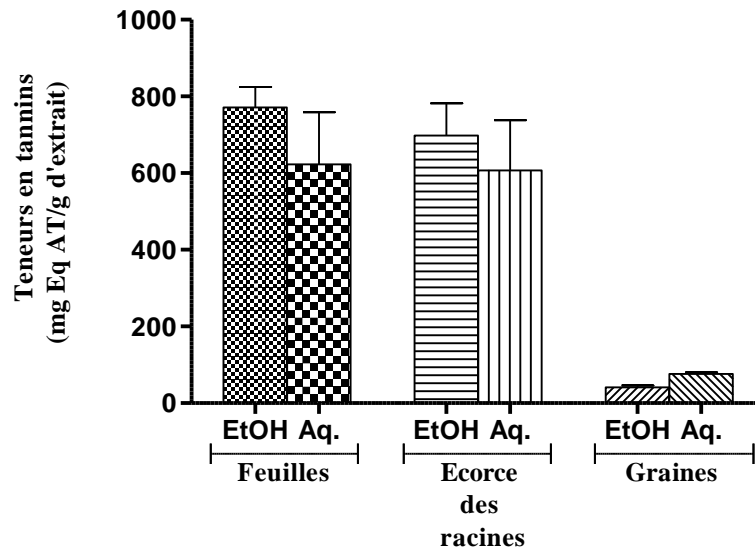


**Figure 14 :** Teneurs en flavonoïdes des extraits des différentes parties de *Pistacia lentiscus*. Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=2).

La figure ci-dessus montre que les flavonoïdes se sont concentrés principalement au niveau de la phase aqueuse du chloroforme des feuilles de *Pistacia lentiscus* (274,08 $\pm$ 3,65 mg Eq.R/g d'extrait). Par ailleurs, les autres extraits de la plante ont montré des teneurs en flavonoïdes, relativement inférieures à celle exhibée par l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus* et qui varient entre 45,91 $\pm$ 1,66 et 42,37 $\pm$ 3,75 mg Eq.R/g d'extrait.

### III.1.1.3-Teneur en tannins

Les résultats du dosage des tannins des différents extraits éthanoliques et aqueux de *Pistacia lentiscus* sont illustrés dans la figure 15. La concentration en tannins a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage, préparée avec de l'acide tannique (Annexe III). Les concentrations sont exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg Eq.AT/g d'extrait).



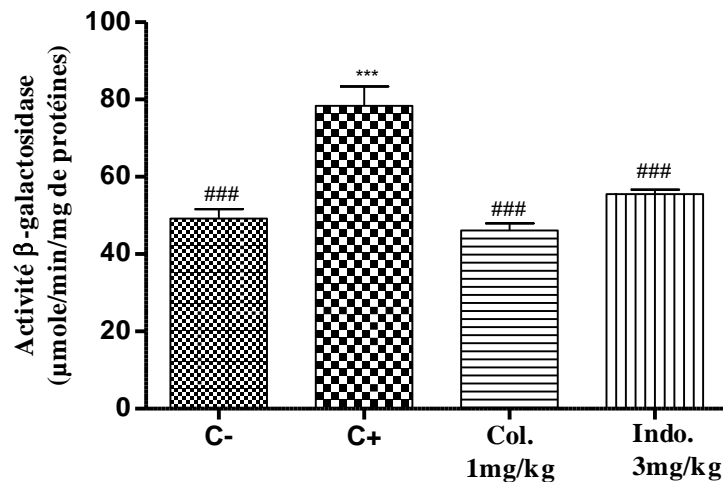
**Figure 15** : Teneurs en tannins des extraits des différentes parties de *Pistacia lentiscus*. . Les valeurs sont exprimées en moy±SEM (n=2).

Il en ressort des résultats obtenus que les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles et des écorces des racines ont de forte teneurs en tannins estimées à  $770,87 \pm 0,05$  ;  $622,60 \pm 135,74$  ;  $697,58 \pm 84,77$  et  $607,44 \pm 130,88$  mg Eq.AT/g d'extract, respectivement. Par ailleurs le taux des tannins dans les extraits des graines de *P.lentiscus* est faible, à savoir  $41,21 \pm 4,76$  et  $76,34 \pm 4,46$ , pour les extraits éthanoliques et aqueux, consécutivement.

### III.1.2-Evaluation de l'effet des molécules de référence et des extraits de *P.lentiscus* sur la $\beta$ -galactosidase des rates et des foies

#### III.1.2.1-Effet des molécules de références (colchicine et indométacine) sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates

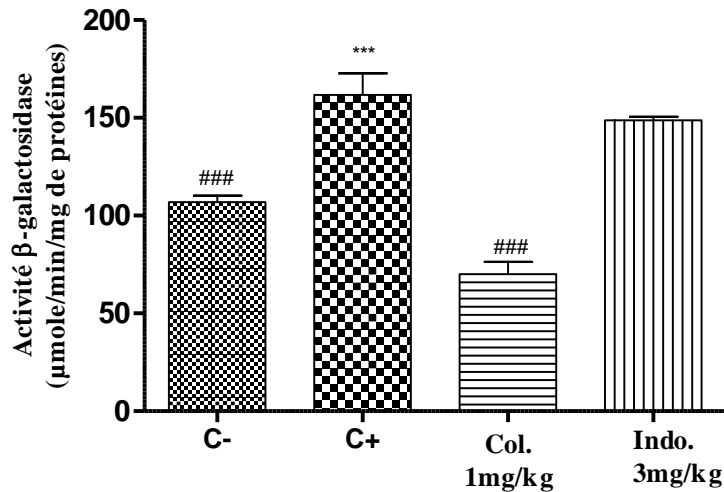
L'effet de traitement des souris par la colchicine et l'indométacine sur la libération des enzymes lysosomales de foies et de rates est illustré dans les figures 16 et 17, respectivement



**Figure 16** : Effet des molécules de références, indométacine et colchicine sur l'activité de l'enzyme lysosomales, β-galactosidase, des foies prélevés de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy±SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au contrôle positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

Les résultats représentés sur la figure 16 montrent clairement que l'induction de l'inflammation par les cristaux d'urate monosodique (C+) a augmenté le taux de libération des enzymes lysosomales d'une manière significative ( $p < 0,001$ ,  $78,38 \pm 4,97 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ), comparativement au contrôle négatif (C-) avec  $49,17 \pm 2,43 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ . Lors du traitement avec les molécules de références, à savoir la colchicine et l'indométacine, on a remarqué que ces dernières exercent de puissants effets réducteurs ( $46,12 \pm 1,86$  et  $55,58 \pm 1,11$ , respectivement), comparables au contrôle négatif ayant reçu le véhicule (CMC).





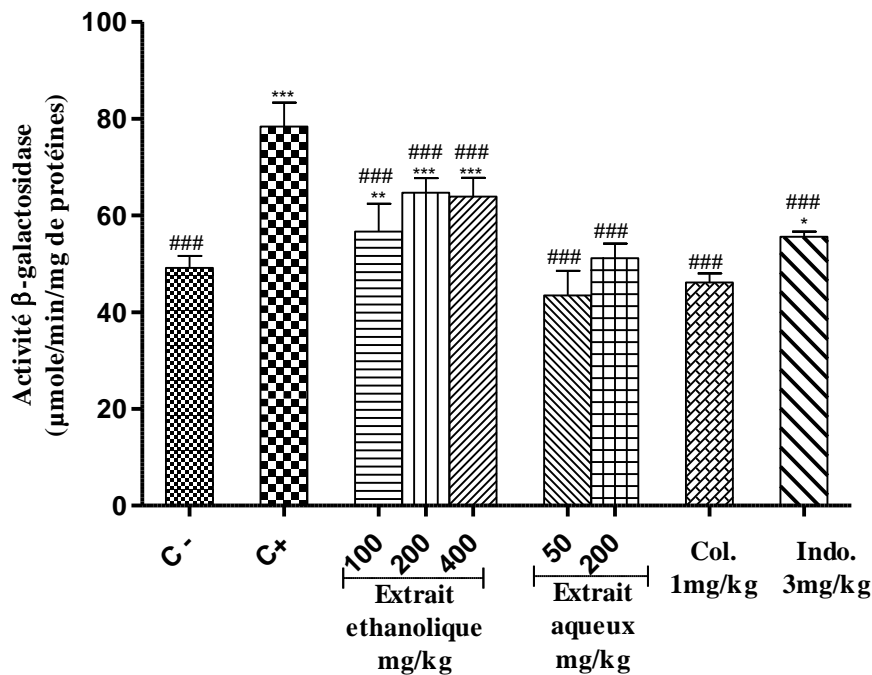
**Figure 17 :** Effet des molécules de références, indométacine et colchicine sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

De même, une augmentation significative de l'activité des enzymes lysosomales a été observée dans les homogénats de rates de souris traitées avec les MSU (C+) ( $P < 0,001$ ;  $161,78 \pm 10,93 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ) comparativement au contrôle négatif (C-) ( $106,88 \pm 3,35 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ).

Nous remarquons aussi que le traitement par la molécule de référence, colchicine, a réduit de manière significative la libération des enzymes lysosomales ( $P < 0,001$ ;  $70,04 \pm 6,36 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ), contrairement à l'indométacine qui n'a exercé aucun effet réducteur ( $148,67 \pm 1,8693 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ).

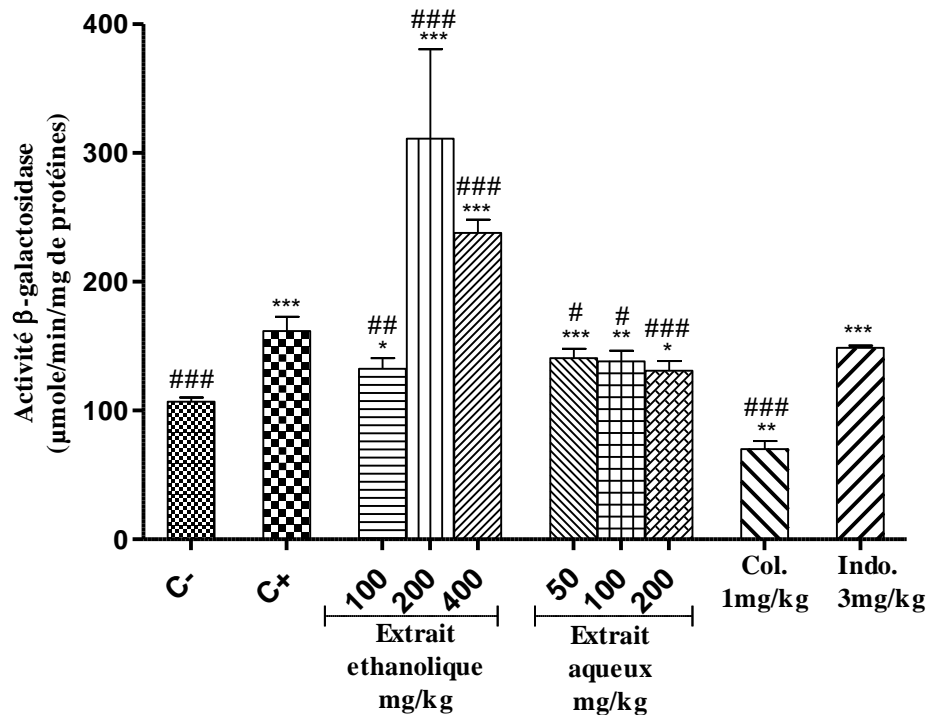
### III.1.2.2-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur la libération de la $\beta$ -galactosidase dans les foies et les rates

L'effet des extraits éthanoliques (100, 200 et 400 mg/kg) et aqueux (50, 100 et 200 mg/kg) des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur la libération des enzymes lysosomales (la  $\beta$ -galactosidase), dans les foies et les rates de souris injectées par la solution de MSU est illustré dans les figures 18 et 19, respectivement.



**Figure 18 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, de foies prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

On remarque que les extraits éthanoliques (100, 200, 400mg/kg) et aqueux (50et 200mg/kg) de feuilles de *P.lentiscus* ont réduit significativement ( $p < 0,001$ ) le taux des enzymes lysosomales avec  $56,66 \pm 5,74$  ;  $64,72 \pm 3,02$  ;  $63,91 \pm 3,87$  ;  $43,47 \pm 5,09$  et  $51,16 \pm 2,99$ , respectivement. Par ailleurs, les concentrations des enzymes lysosomales dans les foies des souris traitées avec l'extrait aqueux sont comparables à la molécule de référence, colchicine, qui révèle des activités enzymatiques de la  $\beta$ -galactosidase similaire au contrôle négatif.

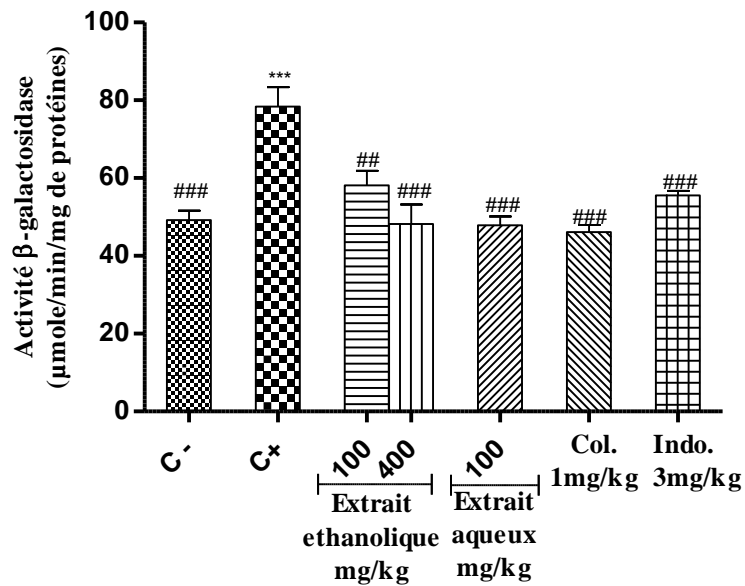


**Figure 19 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

La figure ci-dessus montre que les extraits aqueux de feuilles de *P.lentiscus* aux trois concentrations utilisées (50, 100 et 200 mg/kg) ont révélé un effet significatif ( $p < 0,05$ ), tandis que les extraits éthanoliques ont démontré qu'ils ne sont actifs qu'à la concentration de 100mg/kg. Par contre le traitement des souris avec l'extrait éthanoliques aux concentrations de 200 et 400 mg/kg a engendré une augmentation de la libération des enzymes lysosomales.

### III.1.2.3-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des écorces de racines de *Pistacia lentiscus* sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates

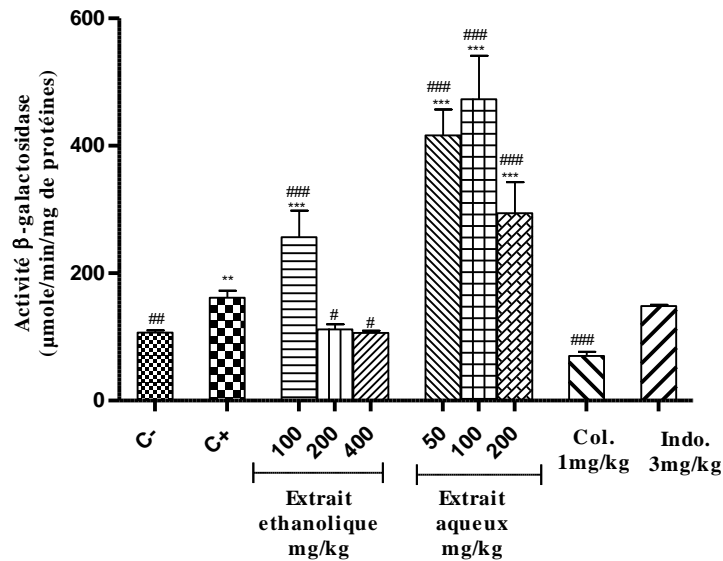
La figure 20 illustre l'effet des extraits éthanoliques (100 et 400 mg/kg) et aqueux (100 mg/kg) des écorces de racines de *Pistacia lentiscus* sur la libération des enzymes lysosomales de foies des souris de laboratoire traitées par les MSU.



**Figure 20 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des écorces des racines de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, des foies prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

Nous avons constaté que les extraits éthanoliques et aqueux aux différentes doses révèlent une baisse significative ( $p < 0,001$ ) avec  $58,15 \pm 3,73$  ;  $48,18 \pm 5,01$  ; et  $47,91 \pm 2,17$  respectivement, atteignant le seuil physiologique, et comparable aux molécules de références, à savoir la colchicine et l'indométacine ( $46,12 \pm 1,86$  et  $55,58 \pm 1,1193 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ , respectivement).

La figure ci-dessous montre l'effet des extraits éthanoliques (100, 200 et 400mg/kg) et aqueux (50, 100 et 200mg/kg) des écorces des racines sur la libération des enzymes lysosomales de rates.

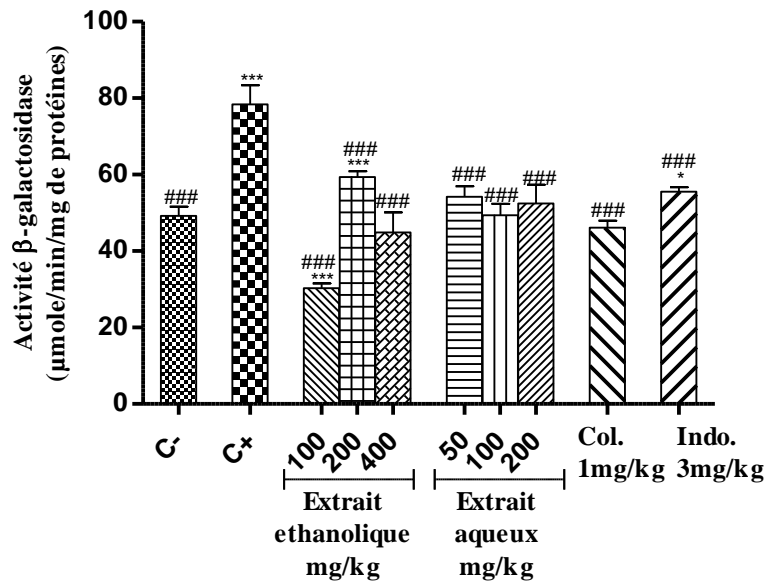


**Figure 21 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des écorces de racines de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

Les extraits éthanoliques aux doses 200 et 400mg/kg montrent une diminution significative ( $p < 0,05$ ) comparativement au contrôle positif. En outre à la dose de 100mg/kg, on remarque une augmentation de la libération des enzymes lysosomales, de même pour les extraits aqueux.

#### III.1.2.4-Effet des extraits éthanoliques et aqueux des graines de *Pistacia lentiscus* sur la libération de la $\beta$ -galactosidase de foies et de rates

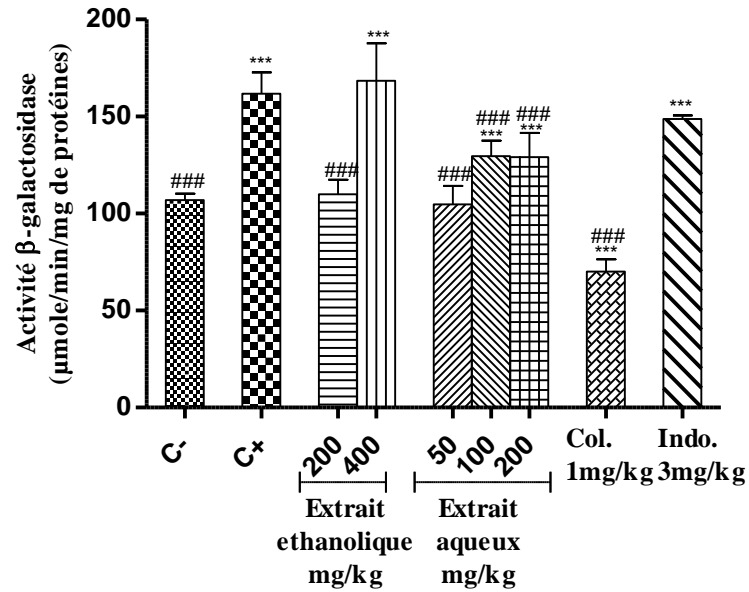
Les résultats des effets des graines de *Pistacia lentiscus* sur de la libération des enzymes lysosomales, sont illustrés dans les figures 22 et 23, respectivement.



**Figure 22 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des graines de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, de foies prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

Une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de libération des enzymes lysosomales a été observée entre les lots traités par les extraits de graines de *Pistacia lentiscus* et le lot injectés par une solution MSU (C+).

Le lot de souris traitées par l'extrait éthanolique à la dose de 400 mg/kg atteint l'état physiologique contrairement aux doses 100 et 200 mg/kg.



**Figure 23 :** Effet des extraits éthanolique et aqueux des graines de *P.lentiscus* et les molécules de références sur l'activité de l'enzyme lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, des rates prélevées de souris injectées par les cristaux d'urate monosodique (UMS). Les valeurs sont exprimées en moy $\pm$ SEM (n=6). Les comparaisons sont faites par rapport au control positif, les valeurs sont considérées significative à  $P < 0,05$ .

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait éthanolique à 200mg/kg diminue la libération des enzymes lysosomales de façon significative, ( $p < 0,001$ ) contrairement à la dose de 400mg/kg qui n'exerce aucun effet.

Une diminution significative ( $P < 0,001$ ) de la libération des enzymes lysosomales a été observé avec les différentes doses (50,100et 200mg/kg) des extraits aqueux, à savoir  $104,77 \pm 9,54$  ;  $129,60 \pm 7,89$  et  $129,11 \pm 12,39 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ , respectivement avec un effet comparable au seuil du control négatif.

### III.2-DISCUSSION

Les composés phénoliques sont des composés biologiquement actifs, incluant plusieurs classes, notamment les flavonoïdes, les tannins, les anthocyanines et les acides phénoliques. Ces derniers sont caractérisés par des structures en noyaux cycliques, avec des substitutions d'hydroxyle à de diverses positions, qui réagissent aisément avec les radicaux libres, empêchant de ce fait les dommages cellulaires (**Benhammou et al., 2008**).

Ces composés, dotés d'un rôle essentiel dans la prévention des maladies cardiovasculaire, cancer, diabète et les désordres dégénératifs (**Atmani et al., 2009 ; Cheynier et al., 2013 ; Dellai et al., 2013 ; Krinat et al., 2014**).

Il a été démontré que les extraits de *Pistacia lentiscus* incluent différents composés phénoliques tels que, l'acide gallique, les flavonoïdes, notamment flavonols (quercétine et myricétine) et lutéoline (**Kaliora et al., 2007**), qui sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et également pour leurs activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires et cytotoxiques (**Scalbert et al., 2005 ; Atmani et al., 2009 ; Singh et al., 2014 ; Remila et al., 2015**).

D'après les dosages des composés phénoliques, on constate que les phénols totaux sont présents dans les différentes parties de *Pistacia lentiscus*, avec des teneurs variables d'un extrait à un autre. Il paraît clairement que les taux de phénols totaux des extraits éthanoliques et aqueux des écorces de racines et des feuilles sont plus riches, par rapport aux fruits (graines).

En Algérie, le fruit, est utilisé dans la médecine traditionnelle comme anti-diarrhéique et les feuilles du *lentisque* sont appliquées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies, comme l'eczéma, les diarrhées et les infections de la gorge. La richesse en différents types de métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, qui sont connus pour leurs potentiels effets antioxydant, hépato-protecteur, anti-inflammatoires et anticancéreux sont à l'origine des utilisations rapportées en médecine traditionnelle (**Rodriguez-Pérez et al., 2013**).

D'après les résultats obtenus, on constate aussi que les phénols totaux sont présents dans les différentes parties de *Pistacia lentiscus*, avec des teneurs variables d'un extraits à un autre, il paraît clairement que les taux de phénols totaux des extraits éthanoliques et aqueux des écorces de racines et des feuilles sont plus riches par rapport aux fruits (graines).



La répartition inégales des polyphénols dans les différentes parties de la plante a été rapportée par plusieurs auteurs (**Atmani et al ., 2009** ; **Rodriguez-Pérez et al., 2013**) .De même **Bozorgi et ses collaborateurs (2013)** ont rapporté que le taux en composés phénoliques d'une plante dépend de plusieurs facteurs, tels que les conditions de croissance et le processus de maturation.

Cette richesse en composés phénoliques, notamment des feuilles de *Pistacia lentiscus* est confirmée par l'étude menée par **Amessis-ouchemoukh et ses collaborateurs(2014)**, qui ont caractérisé une variété de composés phénoliques, de différentes classes à savoir flavonoïdes (quercétine, kaempferol, myricitrine), acides phénoliques (acide gallique et acide quinique) et tannins (dérivés galloyls), révélés par une étude HPLC-MS. De plus l'étude menée par **Benhammou et ses collaborateurs (2008)** a démontré que le genre de *Pistacia lentiscus* est caractérisé par une richesse et variété de composés phénoliques.

Au vu des résultats obtenus, on note que les flavonoïdes de *P.lentiscus* se sont concentrés principalement au niveau de la phase aqueuse des feuilles, suivie de l'extrait éthanolique. A partir de cette analyse on déduit que la richesse de l'extrait aqueux du chloroforme en flavonoïdes est dû à la présence d'une fraction osidique, qui rend ces derniers très solubles dans l'eau (**Havsteen, 2002** ; **Singh et al ., 2014**). Nos résultats s'accordent bien avec les travaux réalisés par **Haddi et Marouf, (2014)** sur *Pistacia lentiscus* affirmant sa richesse en flavonoïdes dont les flavones, les flavonols glycosylés (la quercétine et la myricitrine).

La répartition en flavonoïdes est en fonction de la partie de la plante, ce qui est confirmé par les résultats d'analyse phytochimique, indiquant que les extraits de feuille exhibent des niveaux plus élevés en phénols et en flavonoïdes, par rapport aux fruits qui ont montré la teneur la plus élevée en tannins (**Remila et al., 2015**).

D'une autre part, on constate que contrairement aux résultats de dosage des phénols totaux et des flavonoïdes, qui ont montrés que ces deux classes de composés phénoliques se concentrent plus dans les phases aqueuses, les tannins quant à eux se condensent dans les extraits éthanoliques. Le même résultat a été obtenu par **Atmani et al ., 2009**.

Les tannins galliques sont tenus comme bon remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux, par voix interne et exercent une activité anti-diarrhéique. Ces propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques sont clairement démontrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et des dermatites, ce qui est en corrélation avec l'usage

traditionnel. En effet, des recherches réalisées par **Romani et ses collaborateurs (2002)** ont mentionnés que *Pistacia lentiscus* est utilisée pour le traitement des affections du tube digestif et pour traiter les affections dermatologiques.

Par ailleurs, les tannins sont des substances anti-nutritionnelles qui sont impliquées dans les mécanismes de défense, ils protègent la plante contre les attaques de microorganismes pathogènes (champignons et bactéries) et des prédateurs herbivores (animaux ou insectes folivores). Ils présentent, de ce fait, un avantage agronomique très important. De nombreuses études ont permis d'identifier certaines espèces arbustives qui sont relativement riches en tannins condensés tels que, *Pistacia lentiscus*, ce qui est en accord avec les résultats de dosage des tannins révéler dans notre étude (**Bammou et al., 2014**).

L'arthrite goutteuse est une réaction inflammatoire aigue intense, qui se produit en réponse d'un excès d'acide urique dans le corps menant à la formation de cristaux d'urate monosodique au niveau de l'articulation (**Margalit et al., 1997 ; Sabina et al., 2012**). Expérimentalement l'effet a été reproduit l'année précédente (2014 /2015), en injectant une quantité connu de cristaux d'urate monosodique (4mg) dans des pattes de souris. Après sacrifice les foies et les rates ont été prélevés et nous avons procédé au dosage d'une enzyme lysosomale, à savoir la  $\beta$ -galactosidase dans les homogénats de ces derniers.

Une caractéristique de l'arthrite goutteuse est l'accumulation des cristaux d'urate dans la cavité articulaire, en activant les cellules synoviales et le recrutement d'un grand nombre de neutrophiles dans l'articulation, qui activent la phagocytose des cristaux. Les conséquences de l'interaction des neutrophiles avec les cristaux monosodique incluent la synthèse et le dégagement d'une grande variété de médiateurs comme les enzymes lysosomales, les espèces réactives de l'oxygène (ROS), les prostaglandines E2, les chemokines tels que IL-8, IL-1 $\beta$ , ainsi les cytokines comprenant le facteur de nécrose de tumeur TNF- $\alpha$  (**Sabina et al., 2008**), l'autolimitation de l'inflammation aigue est entrainé par les macrophages, la nécrose des neutrophile et l'apoptose (**Lioté et Ea,2007**).

Les lysosomes sont des organelles cellulaires contenant diverses enzymes protéolytiques, qui digèrent une rangé de polymères biologiques y compris, les protéines, acides nucléiques et les lipides, il est présumé que la rupture de la membrane lysosomale est due à un effet direct des cristaux sur les lipides (**Schumacher et Phelps, 1971 ; Crine et al., 1987**). L'interaction entre les cristaux et la membrane peut également changer le métabolisme cellulaire et cause la sécrétion des médiateurs inflammatoires (**Sabina et al., 2008**).

Dans la présente étude, nous avons constaté une élévation significative ( $p < 0,001$ ) de la libération des enzymes lysosomales du groupe de souris traité avec les UMS, ce qui est en accord avec plusieurs travaux réalisés par **Sabina et al., 2008 ; Hoffmeister et al., 2011 ; Silva et al., 2013 et Jung et al., 2007**, où l'injection intradermique des UMS dans la patte de souris a abouti à une libération significative des enzymes lysosomales dans les homogénats de foies et de rates.

Le traitement avec les molécules de référence, à savoir la colchicine et l'indométacine ont révélé une activité réductrice significative. Dans la présente étude nous avons remarqué une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de la libération des enzymes lysosomales, en utilisant la colchicine (1mg/kg), ce qui concorde avec les travaux de **Becker et al., 1974 ; Pesanti et Axline, 1975 et Hoffstein et Weissmann, 1975**, qui ont révélé que la colchicine inhibe la libération des enzymes lysosomales à de faibles doses. En effet, la colchicine qui est un alcaloïde soluble dans l'eau, est l'un des traitements recommandés pour l'arthrite goutteuse, présente divers mécanismes anti-inflammatoires, en inhibant la migration des neutrophiles et d'autres leucocytes, par blocage de la formation des microtubules (**Merrill et al., 1997 ; Ben-Chétrit et Levy, 1998 ; Matsukawak et al., 1998 ; Delbeth et Haskard, 2005**). De plus, elle supprime l'expression de NF- $\kappa$ B (**Jackman et al., 2013**) et entraîne une diminution du nombre de récepteurs de TNF- $\alpha$  à la surface des macrophages et des cellules endothéliales (**Ding et al., 1990**).

D'une autre part, les résultats exhibés par la colchicine testée dans notre expérimentation, ne sont pas en accords avec les résultats de **Wright et Malawista, 1973**, qui ont révélé dans leurs travaux qu'elle inhibe la libération des enzymes lysosomales dans le sérum, mais n'a montré aucun effet dans le foie.

L'indométacine, de sa part, a été administrée à la dose de 3mg /kg. Les résultats ont montré une baisse significative ( $p < 0,05$ ) de la libération des enzymes lysosomales, des résultats comparable aux travaux de **Pragasam et al., 2011 ; Sabina et Rasool, 2012**.

L'indométacine est un anti-inflammatoire non stéroïdiens, afin de traiter l'arthrite goutteuse. Elle agit en diminuant la réaction inflammatoire dans les articulations atteintes par une inhibition de l'activité de la cyclo-oxygénase (COX) et par conséquent la synthèse de la prostaglandine et du thromboxane (**Ziltener et al., 2010**).

D'après Northover (1977), il est des fois imaginable que cette molécule pourrait moduler le processus de dégranulation, en empêchant le dégagement des PNN, en stimulant

les enzymes lysosomales par les ions de calcium, en bloquant la liaison du calcium à une fraction de la membrane des cellules endothéliales vasculaires, qui se traduit par la réduction de la disponibilité des ions de calcium à l'intérieur des cellules.

Dans cette étude, nous avons testé l'effet des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, écorces des racines et graines de *Pistacia lentiscus* sur la libération des enzymes lysosomales dans les homogénats de foies et de rates.

La médecine traditionnelle existe depuis des temps immémoriaux. Sa réputation pour son innocuité et efficacité, ainsi que sa disponibilité et son coût abordable lui ont permis une grande popularité. Les pratiques de cette médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à un autre et d'une région à l'autre. Plus important encore, l'industrie pharmaceutique a vu un changement de la recherche pour cibler spécifiquement les médicaments à base de plantes, qui incluent plus d'un composé actif et présentant moins d'effets secondaires (Yao *et al.*, 2012). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur une plante très réputée pour son utilisation en médecine traditionnelle, comme anti-goutte.

Les résultats ont révélé de très bons effets réducteurs de la libération des enzymes lysosomales, rapportant ainsi l'activité anti-inflammatoire et anti-goutte de cette plante. L'extrait de la plante *P.lentiscus* réduit la libération des enzymes lysosomales de façon comparable aux molécules de références, à savoir la colchicine et l'indométacine, donc, il est probable que ces extraits ont le même rôle que ces deux traitements. De ce fait, on suggère que ces extraits peuvent inhiber l'IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ainsi la COX-2, via la présence d'une variété de composés, qui peuvent agir sur différents sites ou interagir en synergie.

En effet, une étude réalisée par **Leiro et ses collaborateurs 2004**, qui ont examiné les effets des extraits aqueux des écorces de *Mangifera indica* appartenant à la famille des Anacardiaceae, qui contient un mélange défini de composants, y compris les polyphénols, les triterpènes, des acides gras et des oligo-éléments, sur l'expression de médiateurs de l'inflammation dans les macrophages murins, ce qui a réduit le taux des COX2 et prostaglandine E2 par l'inhibition de l'expression des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ ) et TNF- $\alpha$ . ce qui appuie la suggestion précédente.

Le traitement préparatoire des cellules THP-1 avec des extraits des feuilles et fruits de *Pistacia lentiscus* qui se sont avérés de bon scavenger du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, suggérant fortement que ces

extraits possèdent probablement un potentiel effet antioxydant des ROS intracellulaires. En effet, les composés phénoliques sont des antioxydants efficaces, qui neutralisent les espèces radicales, telles que les espèces réactives de l'oxygène/azote (ROS/RNS), par l'inhibition de quelques enzymes ou en chélatant des oligo-métaux, impliqués dans la production de ces radicaux libres, et modulent ou protègent le système de défense antioxydant. Des extraits de *P.lentiscus* se sont avérés de bons scavengers du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, soutenant de ce fait l'utilisation ethno-pharmacologique de cette usine en pathologies impliquant les ROS (**Remila et al., 2015**).

D'une autre part, l'acide gallique retrouvé dans les feuilles de *Pistacia lentiscus* inhibe à son tour la migration des leucocytes, en inhibant les molécules d'adhésion E-selectine dans les cellules endothéliales vasculaires, par l'inhibition de IL-1, TNF- $\alpha$  et le NF-kB (**Takatoshi et al., 1999**), ce qui pourrait être à l'origine de l'effet des extraits des feuilles dans notre étude.

Par ailleurs, **Serafini et ses collaborateurs (2009)**, ont conduit une étude sur les flavonoïdes et suggèrent qu'ils possèdent des activités anti-inflammatoire, *in vitro*, sur des modèles cellulaires impliquant l'inhibition de la synthèse et les activités des différents médiateurs pro-inflammatoires, tels que les cytokines, des molécules d'adhésion et l'inhibition des facteurs de transcription, tels que NF-kB et l'activation de la protéine-1.

D'autre part, il a été montré que les flavonoïdes ont la priorité d'inhibiteur la xanthine oxydase et de piéger de radicaux superoxydes. Les groupes hydroxyle en C-5 et C-7 et la double liaison entre C-2 et C-3 sont essentiels pour une forte activité inhibitrice (**Cos et al., 1998**). L'effet de l'extrait de l'écorce des racines de *P.lentiscus* est peu être due à la présence de ces flavonoïdes, notamment la quercétines et rutine, rapportés à avoir un effet de diminution du niveau de l'acide urique sérique chez des souris hyper-uricémiques, induit par l'oxonate de potassium.

De même, **Haddi et Marouf (2014)**, ont confirmé d'après leurs études que les flavonoïdes sont des inhibiteurs de la XO et agissent en tant qu'inhibiteurs concurrentiels par l'existence de la similitude entre le cycle A des flavonoïdes et le noyau purinique de l'hypoxanthine et de la xanthine. Ces substances empêchent la XO en bloquant la fixation du substrat dans les emplacements actifs de l'enzyme. On suggère ainsi que l'effet

anti-goutteux des extraits aqueux est en partie due à l'inhibition de la XO dans le foie et rate des souris, qui pourrait contribuer à la diminution des concentrations de l'acide urique et par conséquent réduire l'hyperuricémie, premier facteur de risque de la goutte.

Par ailleurs, la présence des tannins dans les fruits et les feuilles de *P.lentiscus* pourrait être en partie responsable de la diminution de la libération des enzymes lysosomales. Selon **Kim et ses collaborateurs (2006)**, l'acide gallique et ses dérivés sont responsables de l'inhibition de la fixation du NF-kB, facteurs essentiels pour l'expression des cytokines pro-inflammatoires telles que l'histamine, TNF- $\alpha$  et IL-6. En plus, la capacité des tannins d'inhiber la phospholipase A2, ce qui va participer à l'inhibition de prostaglandines et leucotriènes (**Da Costa et al., 2008**). Cela nous laisse suggérer le même mécanisme pour les extraits de la plante étudiée, *Pistacia lentiscus*, notamment pour les extraits de graines qui se sont démontrés à avoir un effet anti-inflammatoire puissant, en réduisant l'œdème des pâtes de souris après injection des UMS, mais qui ne révèlent pas un potentiel effet réducteur de la libération des enzymes lysosomales, qui est peut-être dû à l'inhibition de ces deux médiateurs.

Les résultats obtenus par notre étude nous ont permis de conclure que les extraits de *Pistacia lentiscus* ont un effet sur la libération des enzymes lysosomales. Ce qui explique et confirme les utilisations de cette plante dans la médecine traditionnelle et surtout comme plante anti-inflammatoire et antigoutteuse.

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des molécules actives, ayant montré leurs efficacités dans le traitement de diverses pathologies, tout en prévenant l'apparition des effets secondaires observés, lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. *Pistacia lentiscus* possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses.

L'objectif scientifique de cette étude est d'étudier et d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, des écorces de racines et des graines de *P.lentiscus*, sur un modèle d'expérimentation animale, cas de l'arthrite goutteuse. Il s'agit de l'évaluation de l'activité enzymatique de la  $\beta$  galactosidase, un exemple d'une enzyme lysosomale, impliquée dans la réaction immunitaire, en réponse aux cristaux d'urates monosodiques.

Les résultats obtenus des dosages quantitatifs des composés phénoliques des différentes parties de la plante, à savoir les feuilles, les écorces de racines et les graines indiquent la richesse du Pistachier lentisque en composés phénoliques, avec une répartition hétérogène d'une partie à l'autre de la plante.

Les résultats rassemblés au terme de cette évaluation, montrent clairement une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de la libération des enzymes lysosomales dans les homogénats de foies et de rates de souris traitées par les UMS, en présence des extraits des différentes parties de *P.lentiscus*. Sans doute que les composés phénoliques présents en concentrations très élevées dans ces extraits sont l'œuvre de cette activité biologique.

En effet, le traitement par les extraits éthanoliques et aqueux de feuilles de *P.lentiscus* ont réduit significativement ( $p < 0,001$ ) le taux des enzymes lysosomales, avec une manière comparable aux deux molécules de référence, à savoir l'indométacine et la colchicine. De même, les extraits éthanoliques et aqueux des écorces de racines aux différentes doses révèlent une baisse significative ( $p < 0,001$ ), atteignant le seuil physiologique.

A l'issue de cette étude, il ressort que, l'activité anti-inflammatoire révélé par les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles et des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* pourrait être expliquée par une réduction des enzymes lysosomales, tandis que les graines, d'autres mécanismes, peuvent contribuer à cette activité.

*Pistacia lentiscus*, constitue une source importante en composés phénoliques qui sont à l'origine de diverses activités biologiques. D'où l'intérêt de réaliser d'autres études complémentaires, afin de rechercher et d'identifier de nouvelles substances et d'élucider les différents mécanismes d'action.



-A-

- Abdelwahab, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A- M., Ghedira, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M-G., Chekir-Ghedira, L., (2006):** Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling, *Chemico-Biological Interactions* 165, 1-13.
- Aksoy, A., Duran, N., & Koksal, F. (2006).** In vitro and in vivo antimicrobial effects of mastic chewing gum against *Streptococcus mutans* and *mutans streptococci*. *Archives of Oral Biology*, 51(6), 476-481.
- Alan J.B., Neil D.R & J.Fred.W.** *Handbook of Proteolytic enzymes*, California : Academic press . 984p.
- AL-Saghir, M. G. (2006).** Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* (Anacardiaceae) (Doctoral dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University).
- Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Madani, K., & Segura-Carretero, A. (2014).** Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 61, 120-129.
- Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2014).** Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of *Pistacia Lentiscus*.
- Armand delpeuch (1900).** histoire des maladies. la goutte et le rhumatisme: carré et naud .aladie de buerger (thromboangéite oblitérante). *angéiologie*, 50(4), 62-71.
- Arnaud M., Bertin P., Treves R., Buxeraud J., Tixier M. (1992).** Métabolisme des purines, Goutte. *Traité EMC Endocrinologie-Nutrition*.
- Assimipoulou, A.N., Papageorgiou, V.P, (2005).** GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. *Biomedical Chromatography* 19, 285-311.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N. et Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chem.*, 112: 303-309.

-B-

- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E. H., Ibiqbijen, J., & Nassiri, L. (2015).** Valorisation du *lentisque* «*Pistacia lentiscus L.*»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86(1), 7966-7975.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bard, H., Vuillemin, V., Mathieu, P., & Lequesne, M. (2009).** Tendinobursites trochantériennes et ruptures du moyen glutéal. *Revue du rhumatisme*, 2(76), 151-158.
- Bardin, T. (2007) a.** Épidémiologie de la goutte. *Revue du Rhumatisme*, 74 :147–149.
- Bardin, T. (2007)b.** Progrès en pathologie microcristalline. *Revue du rhumatisme*, 74, 52-57.
- Bardin, T. (2007)c.** Traité de thérapeutique rhumatologique. *Flammarion Médecine-Sciences*.
- Bardin, T. (2015).** L'hyperuricémie débute à 360 micromoles (60mg)/L. *Revue du rhumatisme*, 1(82), 1-3.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., & Angioni, A. (2007).** Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(17), 7093-7098.
- Barton, B.N., Cook, J.W. et Loudon, J.D.(1945).** Colchicine and related compounds.
- Becker, E. L., & Showell, H. J. (1974).** The ability of chemotactic factors to induce lysosomal enzyme release II. The mechanism of release. *The Journal of Immunology*, 112(6), 2055-2062.
- Beghlal, D., El Bairi, K., Marmouzi, I., Haddar, L., & Mohamed, B. (2016).** Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus* (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(4), 305-310.
- Bekkara, F. A., Benhammou, N., & Panovska, T. K. (2008).** biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *Inula viscosa* from the tlemcen region of algeria. *advances in food sciences*, 30(3), 132 .
- Belhadj, S. (1999).** Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation. *Cahiers options méditerranéennes*, 56.
- Ben-Chetrit, E., & Levy, M. (1998, August).** Colchicine: 1998 update. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 28, No. 1, pp. 48-59). WB Saunders.
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), 022-028.
- Benkrid, S. (2014).** *Le déploiement, une phase à part entière dans le cycle de vie des entrepôts de données: application aux plateformes parallèles* (Doctoral dissertation, ISAE-ENSMA Ecole Nationale Supérieure de Mécanique et d'Aérotechnique-Poitiers).
- Benesser Alaoui, H., Tazi Mezalek, Z., Harmouche, H., Aouni, M., & Maaouni, A. (2010).** La goutte: nouvelles recommandations. *Espérance médicale*, 17(166), 119-133.
- Berthélémy, S. (2014).** Un patient se plaignant d'une crise de goutte. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(532), 44-47.

- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E et Sapirstein H.D.(2005).** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chem.* 82(4):390–393.
- Bhourri, Wissem, Derbel, Safa, Skandrani, Ines, et al. (2010).** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, vol. 24, no 2, p. 509-515.
- Boumar, R., Rebbas, K., Gharzouli, R., Djellouli, Y., & Abbad, A. (2013).** Ecological and Medicinal Interest of Taza National Park Flora (Jijel-Algeria). *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 2(2), 89.
- Boya, P. (2012).** Lysosomal function and dysfunction: mechanism and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 17(5), 766-774.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M. H., Shams-Ardekani, M. R., & Rahimi, R. (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brake, A. J., Fowler, A. V., Zabin, I., Kania, J., & Müller-Hill, B. (1978).** Beta-Galactosidase chimeras: primary structure of a lac repressor-beta-galactosidase protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(10), 4824-4827.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie phytochimie plante médicinales. Technique et documentation, 3 :286-347.
- Busso, N., & So, A. (2010).** Mechanisms of inflammation in gout. *Arthritis Res Ther*, 12(2), 206.

-C-

- Castola, V., Bighelli, A., & Casanova, J. (2000).** Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(1), 79-88.
- Chalès, G. (2011).** De l'hyperuricémie à la goutte : épidémiologie de la goutte. *Revue du rhumatisme*, 78, S109-S115.
- Chang, Y-H. et Malawista, S.E. (1975-1976).** Mechanism of Action of Colchicine.
- Chekchaki, N., Boumendjel, A., Debabi, S., Salem, L. H., & Messarah, M. (2015).** Effets anti-inflammatoires de *Pistacia lentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental. *Revue Française d'Allergologie*, 55(3), 269.
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013).** Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1-20.
- Chiang, H., Lo, Y., & Lu, F. (1993).** Xanthine oxidase inhibitors from the leaves.

**Christophe, a. (1989).** limites et risques de la phytothérapie (doctoral dissertation, universite de limoges).

**Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., & Berghe, D. V. (1998).** Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61(1), 71-76.

**Crine, P., Des Parois, L., & Lecavalier, H. (1987).** Un code postal pour les enzymes lysosomales.

-D-

**Da Costa, G., Lamy, E., e Silva, F. C., Andersen, J., Baptista, E. S., & Coelho, A. V. (2008).** Salivary amylase induction by tannin-enriched diets as a possible countermeasure against tannins. *Journal of chemical ecology*, 34(3), 376-387.

**Dalbeth, N., & Haskard, D. O. (2005).** Mechanisms of inflammation in gout. *Rheumatology*, 44(9), 1090-1096.

**Daoussis d., antoonopoulos i., yiannopoulos g., andonopoulos a p (2013).** l'acth comme traitement de première intention delagoutte aigue chez 181 patients hospitalisés. *revue du rhumatisme ed. française*; 80 : 393-396.

**Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A., & Chouchane, N. (2013).** Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus L.* leaves extracts. *Industrial Crops and Products*, 49, 879-882.

**Dinarello, C. A., Simon, A., & van der Meer, J. W. (2012).** Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nature reviews Drug discovery*, 11(8), 633-652.

**Ding, Aihao H., Porteu, Françoise, Sanchez, Elizabeth, et al (1990).** Downregulation of tumor necrosis factor receptors on macrophages and endothelial cells by microtubule depolymerizing agents. *The Journal of experimental medicine*, vol. 171, no 3, p. 715-727.

**Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., & Roncalés, P. (2011).** Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, 22(7), 1046-1053.

**Djerrou, Z., Djaalab, H., Riachi, F., Serakta, M., Chettou, A., Maameri, Z., ... & Hamdi-Pacha, Y. (2013).** Irritancy potential and sub-acute dermal toxicity study of *Pistacia Lentiscus* fatty oil as a topical traditional remedy. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(3), 480-489.

**Dob T, Dahmane D and Chelghoum C (2006).** Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus L.* from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 642-644.

**Dubost, J. J., Mathieu, S., & Soubrier, M. (2011).** Traitement de la goutte. *La Revue de médecine interne*, 32(12), 751-757.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Ducatillion, C., & Blanc-Chabaud, L. (2010).** *L'art d'acclimater les plantes exotiques: le jardin de la villa Thuret.* Editions Quae.

-E-

**EA H.K. (2011)** .Physiopathologie de l'inflammation goutteuse. *Presse médicale* - Tome 40 n°9 : 836-843.

**EA H.K(2011).** De l'hyperuricémie à la goutte : physiopathologie. *Revue du rhumatisme* Ed. Française ; 78 : 103-108. 20

-F-

**Fauvel, P. (1907).** *Mode d'action du salicylate de soude sur l'excretion urique.*

-G-

**Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107(3), 1120-1130.

**Ghaemi-Oskouie, F., & Shi, Y. (2011).** The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Current rheumatology reports*, 13(2), 160-166.

**Gicquel, T., Robert, S., Victoni, T., & Lagente, V. (2016).** L'inflammasome NLRP3: physiopathologie et application thérapeutique. *La Presse Médicale* ,45(4), 438-446.

**Graham, W., & Roberts, J. B. (1953).** Intravenous colchicine in the management of gouty arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 12(1), 16-19.

**Grant wyllie S, Joseph J Brophy, Vassilios Sarafis and Hobbs (1990).** Volatile Components of the Fruit of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of Food Science*, 55 (5), 1325–1326

-H-

**Haddi, R., & Marouf, A. (2014).** XANTHINE OXIDASE INHIBITORY EFFECTS OF PISTACIA LENTISCUS L. LEAVES EXTRACTS. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(2).

**Hadjam R.(2003)** . *Guide médical de la famille* . Alger :encyclopédia .379p.

**Hagerman, A. E. (2002).** Tannin chemistry. *Vanillin Method. Department of Chem. and Biochem. Miami University.*

**Hamlat, n., hassani, a., & ouafi, s. (2008).** analyse des polyphénols extraits des feuilles du *pistacia lentiscus* etude de l'activité antibactérienne. *revue des régions arides*, (21), 306-316.

**Hart, F. D., & Boardman, P. L. (1963).** Indomethacin: a new non-steroid anti-inflammatory agent. *British medical journal*, 2(5363), 965.

**Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2),67-202 .

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Held D. (2007).** Kinetic analysis of  $\beta$ -Galactosidase Activity using the powerwave™ HT and Gen5™ Data Analysis Software,.
- Hoffmeister, C., Trevisan, G., Rossato, M. F., de Oliveira, S. M., Gomez, M. V., & Ferreira, J. (2011).** Role of TRPV1 in nociception and edema induced by monosodium urate crystals in rats. *PAIN®*, 152(8), 1777-1788.
- Hoffstein, S., & Weissmann, G. (1975).** Mechanisms of lysosomal enzyme release from leukocytes. *Arthritis & Rheumatism*, 18(2), 153-165.
- Hønsi, T. G., & Stenersen, J. (2000).** Activity and localisation of the lysosomal marker enzymes acid phosphatase, N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase, and  $\beta$ -galactosidase in the earthworms *Eisenia fetida* and *E. veneta*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 125(3), 429-437.
- Hurtes, X., & Meria, P. (2011).** Atteintes uro-néphrologiques des hyperuricémies. *La Presse Médicale*, 40(9), 865-868.

### -I-

- Ignarro, I. J., Lint, T. F., & George, W. J. (1974).** Hormonal control of lysosomal enzyme release from human neutrophils: effects of autonomic agents on enzyme release, phagocytosis, and cyclic nucleotide levels. *The Journal of Experimental Medicine*, 139(6), 1395-1414.

### -J-

- Jackman, R. W., Cornwell, E. W., Wu, C. L., & Kandarian, S. C. (2013).** Nuclear factor- $\kappa$ B signaling and transcriptional regulation in skeletal muscle atrophy. *Experimental Physiology*, 98(1), 19-24.
- Jacoulet, P. (1994, December).** Double syndrome canalaire au membre supérieur par tophi goutteux: A propos d'un cas. In *Annales de Chirurgie de la Main et du Membre Supérieur* (Vol. 13, No. 1, pp. 42-45). Elsevier Masson.
- Janakat, S., & Al-Merie, H. (2002).** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1), 135-138. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1), 77-91.
- Jiang, Y., You, X. Y., Fu, K. L., & Yin, W. L. (2012).** Effects of extract from *Mangifera indica* leaf on monosodium urate crystal-induced gouty arthritis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Jung, S. M., Schumacher, H. R., Kim, H., Kim, M., Lee, S. H., & Pessler, F. (2007).** Reduction of urate crystal-induced inflammation by root extracts from traditional oriental medicinal plants: elevation of prostaglandin D2 levels. *Arthritis Research & Therapy*, 9(4), 1-9.

### -K-

- Kaliora, C.A., Stathopoulou, M.G., Triantafillidis, J.K., Dedoussis, G.V., Andikopoulos, N.K., (2007).** Traitement de mastic de Chios des patients présentant la maladie de Crohn active. *Monde J. Gastroenterol.* 13, 748-753.
- Kawai, Y., & Anno, K. (1971).** Mucopolysaccharide-degrading enzymes from the liver of the squid, *Ommastrephes sloani pacificus* I. Hyaluronidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 242(2), 428-436.

- Khanna, Dinesh, et al. (2012).** American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia." *Arthritis care & research* 64.10 (2012): 1431-1446.
- Kim, J. H., Campbell, B. C., Molyneux, R., Mahoney, N., Chan, K. L., Yu, J. & Cleveland, T. E. (2006).** Gene targets for fungal and mycotoxin control. *Mycotoxin research*, 22(1), 3-8.
- Krimat, S., Dob, T., Lamari, L., et al. (2014).** Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from. *Journal of Coastal Life Medicine*, vol. 2, no 6, p. 478-483.
- Kopke, A., & Greeff, O. B. (2015).** Hyperuricaemia and gout. *South African Family Practice*, 57(1), 6-12.
- Kordali, S., Cakir, A., Zengin, H., & Duru, M. E. (2003).** Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74(1), 164-167.
- Kouadio, E. J. P., Niamké, S., Kouamé, L. P., Dabonné, S., & Kamenan, A. (2007).** Purification et caractérisation de deux phosphatases acides du tubercule de taro (*Xanthosoma* sp.) et leur rôle dans la conservation post-récolte. *Base*.
- Kuntz, D., & Goutte, L. F. (2003).** *Encycl Méd Chir. Appareil locomoteur. Paris: Éditions scientifiques de médicales Elsevier SAS*, 23.
- Kurz, D. J., Decary, S., Hong, Y., & Erusalimsky, J. D. (2000).** Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *Journal of cell science*, 113(20), 3613-3622.
- L-**
- Lambotte, O., Ziza, J., Chazerain, P., Bensoussan, J., Caillard, P., & Mouren, X. (1998).** M-678p
- Leclercq, P., & Malaise, M. G. (2004).** La goutte. *Revue Médicale de Liège*, 59(5), 274-280.
- Leiro, J., Arranz, J. A., Parama, A., Alvarez, M. F., & Sanmartin, M. L. (2004).** In vitro effects of the polyphenols resveratrol, mangiferin and (-)-epigallocatechin-3-gallate on the scuticociliate fish pathogen *Philasterides dicentrarchi*. *Diseases of aquatic organisms*, 59(2), 171-174.
- Lima, R. D. C. L., Ferrari, F. C., de Souza, M. R., de Sá Pereira, B. M., de Paula, C. A., & Saúde-Guimarães, D. A. (2015).** Effects of extracts of leaves from *Sparattosperma leucanthum* on hyperuricemia and gouty arthritis. *Journal of ethnopharmacology*, 161, 194-199.
- Lioté, F. (2011).** Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du rhumatisme*, 78, S122-S128.
- Lioté, F. Et Ea, H-K. (2007).** Physiopathogenie de l'inflammation.
- Lioté, F., & Laredo, J. D. (2009).** La goutte et ses pièges en imagerie. *Journal de Radiologie*, 90(10), 1219.

- Liote, f., pertuiset, e., cochand-priollet, b., et al,( 1995).** methotrexate related b lymphoproliferative disease in a patient with rheumatoid arthritis. role of epstein-barr virus infection. *the journal of rheumatology*, vol. 22, no 6, p. 1174-1178.
- Lipsky, L. P., Abramson, S. B., Crofford, L., Dubois, R. N., Simon, L. S., & Van de Putte, L. B. (1998).** The classification of cyclooxygenase inhibitors. *The Journal of rheumatology*, 25(12), 2298-2303.
- Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H., & Bomzon, A. (2005).** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of Pistacia lentiscus in experimental liver disease. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1), 198-204.
- Lopez-Lazaro, M. (2009).** Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 9(1), 31-59.
- Lu, Q. Y., Zhang, L., Eibl, G., & Go, V. L. W. (2014).** Overestimation of flavonoid aglycones as a result of the ex vivo deconjugation of glucuronides by the tissue  $\beta$ -glucuronidase. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 88, 364-369.
- M-**
- Maksimović, Z., Malenčić, Đ., & Kovačević, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresource technology*, 96(8), 873-877.
- Man, S. M., Hopkins, L. J., Nugent, E., Cox, S., Glück, I. M., Turlomousis, P., ... & Bryant, C. E. (2014).** Inflammasome activation causes dual recruitment of NLRC4 and NLRP3 to the same macromolecular complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(20), 7403-7408.
- Margalit, A., Duffin, K. L., Shaffer, A. F., Gregory, S. A., & Isakson, P. C. (1997).** Altered arachidonic acid metabolism in urate crystal induced inflammation. *Inflammation*, 21(2), 205-222.
- Matsukawa, A., Yoshimura, T., Maeda, T., Takahashi, T., Ohkawara, S., & Yoshinaga, M. (1998).** Analysis of the cytokine network among tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, interleukin-8, and interleukin-1 receptor antagonist in monosodium urate crystal-induced rabbit arthritis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 78(5), 559-569.
- Mazières, B. (2002).** Guide pratique de rhumatologie. (DEPRECIATED).C Microcristalline. *Revue du Rhumatisme*, 74 :131-137.
- Merrill, Joan T., Diakolios, Constantine, Goodman, Susan, et al,(1997).**Inhibition of methotrexate-induced rheumatoid nodulosis by colchicine: evidence from an in vitro model and regression in 7 of 14 patients. *Journal of clinical rheumatology: practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*, vol. 3, no 6, p. 328-333.
- Metcalf, P., & Fusek, M. (1993).** Two crystal structures for cathepsin D: the lysosomal targeting signal and active site. *The EMBO journal*, 12(4), 1293.



-N-

- Nahida, A., & Siddiqui, A. N. (2012).** *Pistacia lentiscus*: A review on phytochemistry and pharmacological properties. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(4), 16-20.
- Niel, E., & Scherrmann, J. M. (2006).** Colchicine today. *Joint Bone Spine*, 73(6), 672-678.
- Noél Hanna Kazazian.** Master BioSciences(2014), Département de Biologie, Ecole Normale Supérieure de Lyon ; Immunity-In fection-Vaccination, Centre Internationale de Recherche en Infectiologie (CIRI), Lyon, France .2014-0 1-2 1.
- Noreen, Y., Ringbom, T., Perera, P., Danielson., H et Bohlin, L. (1998).** Development of a radiochemical cyclooxygenase-1 and -2 in vitro assay for identification of natural products as inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *J. Nat. Prod*, 61: 2-7.
- Northover, B. J. (1977).** Indomethacin—a calcium antagonist. *General Pharmacology: The Vascular System*, 8(5-6), 293-296.
- Nuki, G. (2008).** Colchicine: its mechanism of action and efficacy in crystal-induced inflammation. *Current rheumatology reports*, 10(3), 218-227.
- Nuki, G., & Simkin, P. A. (2006).** A concise history of gout, hyperuricemia, and their treatment. *Arthritis Research and Therapy*, 8(1), S1.

-O-

- O’Leary, K. A., Day, A. J., Needs, P. W., Sly, W. S., O’Brien, N. M., & Williamson, G. (2001).** Flavonoid glucuronides are substrates for human liver  $\beta$ -glucuronidase. *FEBS letters*, 503(1), 103-106.

-P-

- Pesanti, E. L., & Axline, S. G. (1975).** Phagolysosome formation in normal and colchicine-treated macrophages. *The Journal of experimental medicine*, 142(4), 903-913.
- Pétrilli, V., & Martinon, F. (2007).** The inflammasome, autoinflammatory diseases, and gout. *Joint Bone Spine*, 74(6), 571-576.
- Polese, J-M. (2010).** Arbres & Arbustes de Méditerranée. Ed: Edisud, p. 85
- Poujol d., ristori j-m., dubost j-j., soubrier m(2013).** les analogues de l'acth dans le traitement de l'inflammation aigue microcristalline, une cible à explorer ? *revue du rhumatisme ed. française* 2013: 332-333 .
- Pragasam, S. J., Kumar, S., Bhoumik, M., Sabina, E. P., & Rasool, M. (2011).** 6-Gingerol, an active ingredient of ginger suppresses monosodium ureate crystal-induced inflammation: an in vivo and in vitro evaluation. *Annals of Biological Research*, 2(3), 200-208.
- Ptascar, T., & Flipo, R. M. (2011).** La goutte: présentations cliniques et diagnostic. *Revue du rhumatisme*, 78, S116-S121.

**Punzi, L., Scanu, A., Ramonda, R., & Oliviero, F. (2012).** Gout as autoinflammatory disease: new mechanisms for more appropriated treatment targets. *Autoimmunity reviews*, 12(1), 66-71.

**Puri, J., & Factorovich, Y. F. A. T. (1988).** Selective inhibition of antigen presentation to cloned T cells by protease inhibitors. *The Journal of Immunology*, 141(10), 3313-3317.

-R-

**Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J. L., Azib, L., Richard, T., & Atmani, D. (2015).** Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacialentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274-286.

**Ribéreau-Gayon, P. (1972).** Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin. *Conn. Vigne Vin*, 6, 161-175.

**Richette, P. (2011).** Actualités des arthropathies microcristallines. *La Presse Médicale*, 40(9), 828-829. Richette, P., Ottaviani, S., & Bardin, T. (2011). Nouveaux traitements de la goutte. *La Presse Médicale*, 40(9), 844-849.

**Richette, P. (2011).** Goutte: mise en place et suivi du traitement hypo-uricémiant. *Revue du rhumatisme*, 78, S142-S147 .

**Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutierrez, A. (2013).** A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 77, 167-174.

**Romani, A; Pinelli P; Galardi C; Mulinacci N, 2002.** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus L.* *Phytochemical Analysis* 13, 79-86.

**Rose, D. M., Sydlaske, A. D., Agha- Babakhani, A., Johnson, K., & Terkeltaub, R. (2006).** Transglutaminase 2 limits murine peritoneal acute gout- like inflammation by regulating macrophage clearance of apoptotic neutrophils. *Arthritis & Rheumatism*, 54(10), 3363-3371.

**Rufino, A. T., Ribeiro, M., Judas, F., Salgueiro, L., Lopes, M. C., Cavaleiro, C., & Mendes, A. F. (2014).** Anti-inflammatory and chondroprotective activity of (+)- $\alpha$ -pinene: Structural and enantiomeric selectivity. *Journal of natural products*, 77(2), 264-269.

-S-

**Sabina, E. P., Chandal, S., & Rasool, M. K. (2008).** Inhibition of monosodium urate crystal-induced inflammation by withaferin A. *J Pharm Pharm Sci*, 11(4), 46-55.

**Sabina, E. P., Indu, H., & Rasool, M. (2012).** Efficacy of boswellic acid on lysosomal acid hydrolases, lipid peroxidation and anti-oxidant status in gouty arthritic mice. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(2), 128-133.

**Sackett, D. L., & Varma, J. K. (1993).** Molecular mechanism of colchicine action: Induced local unfolding of. beta.-tubulin. *Biochemistry*, 32(49), 13560-13565.

- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002).** Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(6), 276-282.
- Schlienger, J. L. (2014).** L'histoire des tourments de la podagre (goutte). *Médecine des Maladies Métaboliques*, 8(2), 230-234.
- Schumacher, H. R., & Phelps, P. (1971).** Sequential changes in human polymorphonuclear leukocytes after urate crystal phagocytosis. An electron microscopic study. *Arthritis & Rheumatism*, 14(4), 513-526.
- Seet, R. C., Kasiman, K., Gruber, J., Tang, S. Y., Wong, M. C., Chang, H. M., ... & Chen, C. P. (2010).** Is uric acid protective or deleterious in acute ischemic stroke? A prospective cohort study. *Atherosclerosis*, 209(1), 215-219.
- Sekli-Belaidi, F., (2011).** Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly.
- Silva, C. R., Fröhlich, J. K., Oliveira, S. M., Cabreira, T. N., Rossato, M. F., Trevisan, G., Froeder, A.L.,Bochi.,G.V.,Mo& Ferreira, J. (2013).** The antinociceptive and anti-inflammatory effects of the crude extract of *Jatropha isabellei* in a rat gout model. *Journal of ethnopharmacology*, 145(1), 205-213.
- Singh, M., Kaur, M., & Silakari, O. (2014).** Flavones: an important scaffold for medicinal chemistry. *European journal of medicinal chemistry*, 84, 206-239.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Souberbielle, J. C., Benhamou, C. L., Cortet, B., Rousière, M., Roux, C., Abitbol, V., ... & Breuil, V. (2014).** Rapport de la HAS sur les dosages de vitamine D: ne passons pas d'une situation extrême à une autre situation tout aussi extrême. *La Presse Médicale*, 43(1), 5-8.

-V-

- Valeix, N., & Guillot, X. (2013).** La goutte, une complication des hyperuricémies. *Actualités pharmaceutiques*, 52(524), 18-20.
- Valeix, N., & Guillot, X. (2013).** Thérapeutiques antigoutteuse et hypo-uricémiantes. *Actualités pharmaceutiques*, 52(524), 21-25.

-W-

- Weissmann, G. (1966).** Lysosomes and joint disease. *Arthritis & Rheumatism*, 9(6), 834-840.
- Wémeau, J. L., Schlienger, J. L., & Vialettes, B. (2014).** Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien. *Elsevier Masson*.
- Wright, D. G., & Malawista, S. E. (1973).** Mobilization and extracellular release of granular enzymes from human leukocytes during phagocytosis: inhibition by colchicine and cortisol but not by salicylate. *Arthritis & Rheumatism*, 16(6), 749-758.

-Y-

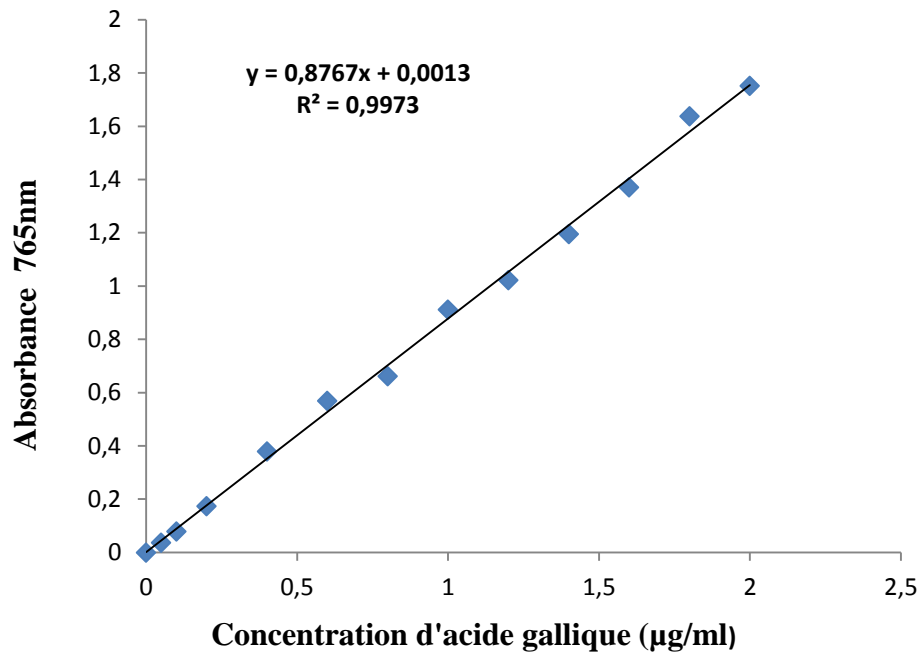
**Yao, X., Ding, Z., Xia, Y., Wei, Z., Luo, Y., feleder, Carlos. Et Dai, (2012).** Inhibition of monosodium Urate crystal-induced inflammation by scopoletin and underlying mechanisms. *International immunopharmacology*, 14:454-462.

-Z-

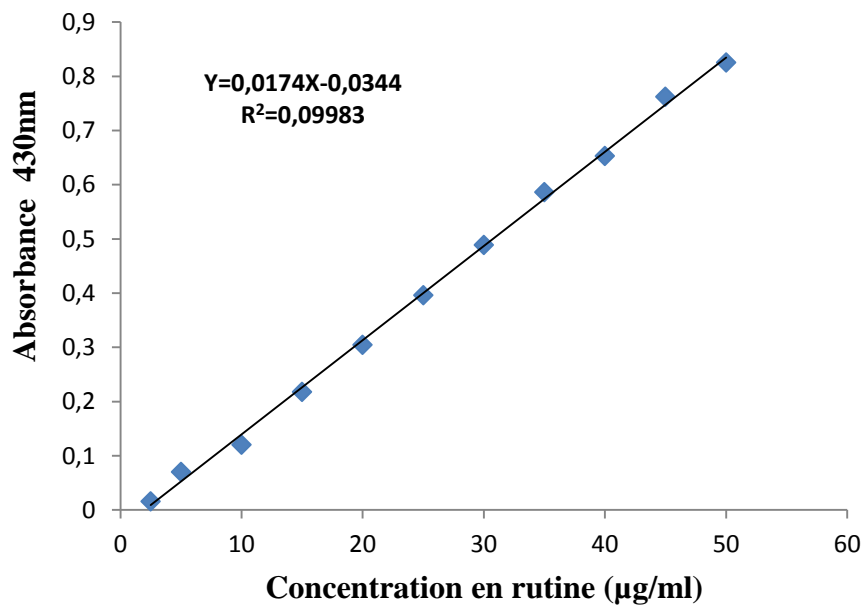
**Zheng, S. C., Zhu, X. X., Xue, Y., Zhang, L. H., Zou, H. J., Qiu, J. H., & Liu, Q. (2015).** Role of the NLRP3 inflammasome in the transient release of IL-1 $\beta$  induced by monosodium urate crystals in human fibroblast-like *synoviocytes*. *Journal of Inflammation*, 12(1).

**Ziltener, J. L., Leal, S., & Fournier, P. E. (2010).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs for athletes: an update. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, 53(4), 278-288.

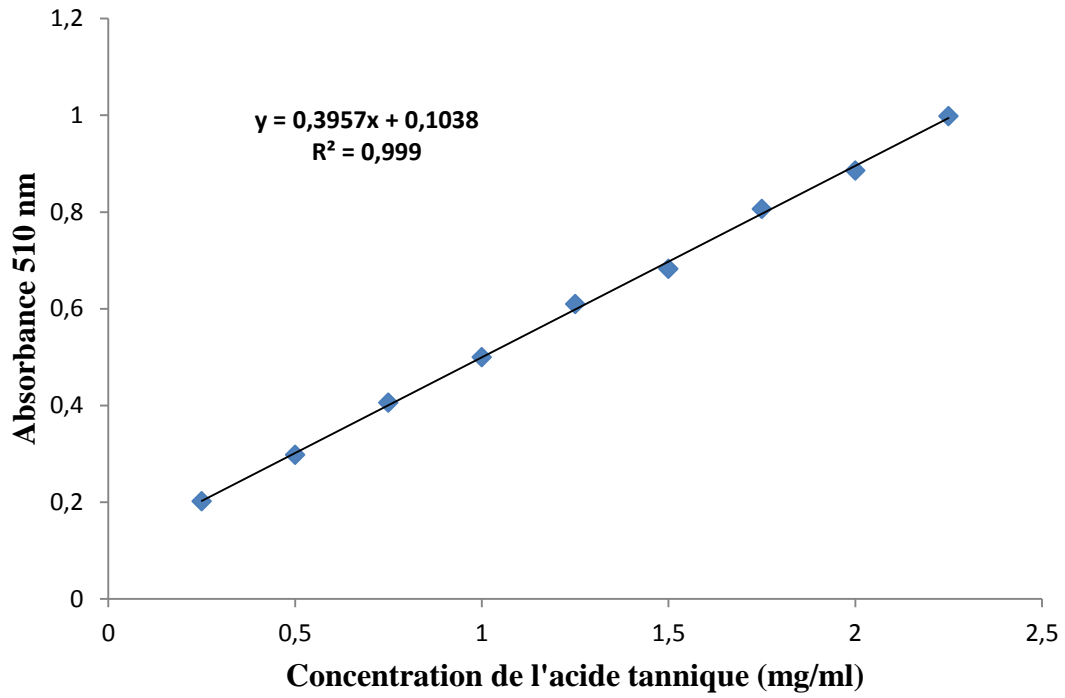
**Zylka, M. J., Sowa, N. A., Taylor-Blake, B., Twomey, M. A., Herrala, A., Voikar, V., & Vihko, P. (2008).** Prostatic acid phosphatase is an ectonucleotidase and suppresses pain by generating adenosine. *Neuron*, 60(1), 111-122.



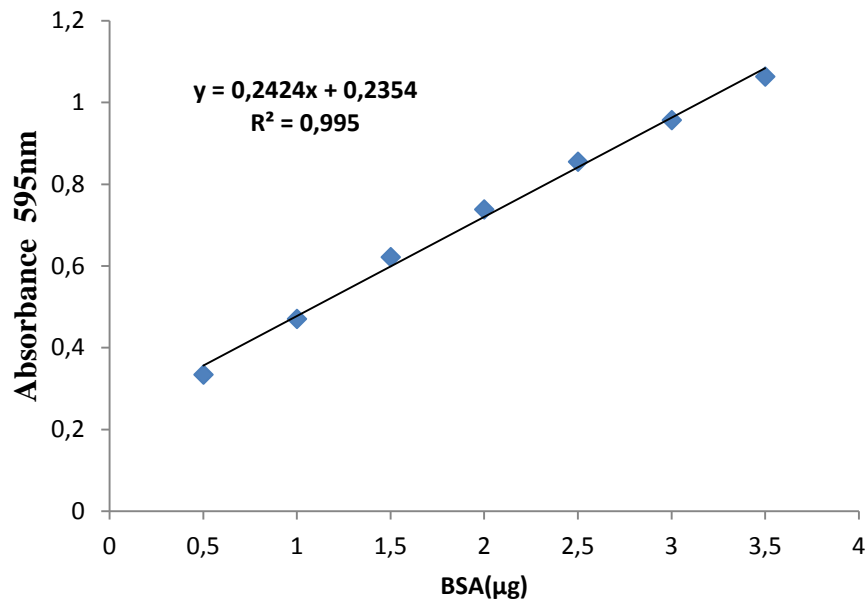
Annexe I : Courbe d'étalonnage des polyphénols.



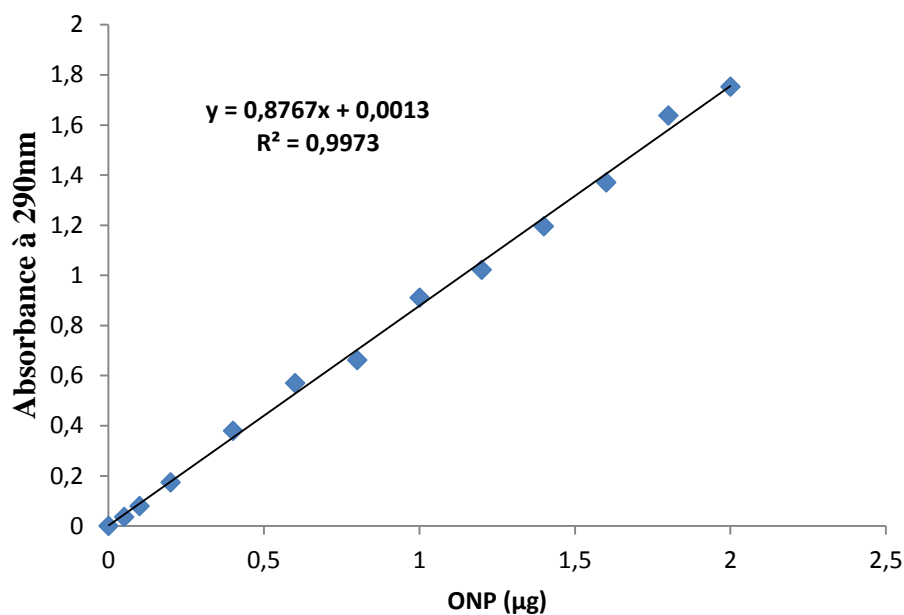
Annexe II : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



Annexe III : Courbe d'étalonnage des tannins.



Annexe IV : Courbe d'étalonnage des protéines totales.



Annexe V : courbe de O-nitrophényl.

Solutions	Réactifs
<b>Solution carbonate de sodium (dosage des phénols totaux)</b>	7,5g Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) 100ml d'eau distillée
<b>Solution Chlorure d'Aluminium(AlCl<sub>3</sub>) (dosage des flavonoïdes)</b>	133mg AlCl <sub>3</sub> 400mg d'acétate de sodium (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> ) 100ml d'eau distillée
<b>Solution de BSA (dosage des tannins)</b>	1mg/ml de Sérum Bovin Albumine dissous dans le tampon(A)
<b>Tampon (A)</b>	200mM d'acide acétique 170Mm NaCl PH ajusté à 4,9
<b>SDS/TEA</b>	5% Triéthanolamine (v/v) 5% SDS (w/v)
<b>Réactif de chlorure ferrique(FeCl<sub>3</sub>)</b>	2,7g FeCl <sub>3</sub> 0,9ml Hcl +1L eau distillée

Annexe VI : Préparation des solutions et des tampons de dosage des composés phénoliques.

## Résumé

*Pistacia lentiscus* est une plante médicinale locale, utilisée traditionnellement dans diverses régions pour traiter différentes pathologies telles que l'eczéma, maux d'estomac, toux et la goutte. Le présent travail est une évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, écorces des racines et graine de *P.lentiscus* dans le cas de l'arthrite goutteuse sur un modèle expérimental animal, par mesure de l'activité de la  $\beta$ -galactosidase dans les homogénats de foies et de rates de souris où l'inflammation a été induite, par injection intradermique des cristaux d'urate monosodique UMS (4mg /patte droite de souris). Le traitement par ces extraits éthanoliques aux doses 100, 200 et 400mg /kg et aqueux 50, 100 et 200 mg/kg a révélé une diminution significative  $P<0,001$  de la libération des enzymes lysosomales, comparable aux molécules de référence à savoir la colchicine (1mg/kg) et l'indométacine (3mg/kg), révélée notamment pour les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles et écorces de racines. L'analyse qualitative des composés phénoliques des extraits, par des méthodes chlorométriques, à savoir méthode de Folin-ciocalteu (polyphénols totaux), méthode du trichlorure d'aluminium (flavonoïdes) et méthode de précipitation des tannins par la BSA (tannins), a révélé la richesse de ces extraits en composés phénoliques. Les extraits de la plante étudiée pourraient contribuer à l'activité anti-inflammatoire, via la réduction de la libération des enzymes lysosomales, concernant les feuilles et les écorces des racines tandis que l'activité anti-inflammatoire des extraits de graines peut être liée à d'autres mécanismes.

**Mots clés :** Arthrite goutteuse, Urate monosodique (UMS), Enzymes lysosomales,  $\beta$ -galactosidase, *Pistacia lentiscus*,

## Abstract

*Pistacia lentiscus* is a local medicinal plant, used traditionally in many regions for the treatment of different diseases like eczema, stomach pain, cough and gout. This work is an evaluation of anti-inflammatory effect of ethanol and aqueous extract of *Pistacia lentiscus* leaves, root bark and seeds parts, in the case of gouty arthritis on an experimental animal model., by measurement of release of  $\beta$ -galactosidase in liver and spleen homogenate. The inflammation is induced by intradermal injection of monosodium urate crystals UMS (4mg/ mouse right paw). The treatment by ethanol extract at doses 100, 200 and 400 mg/kg and aqueous extract 50, 100 and 200 mg/kg demonstrated a significant decrease  $P<0,001$  in the release of lysosomal enzymes, comparable to reference molecules namely colchicine 1mg/kg and indomethacin, exhibited by leaf and root bark ethanol and aqueous extracts. Qualitative analysis of phenolics compounds by chlorometric methods, Folin-ciocalteu method (total polyphenols), aluminium trichloride method (flavonoïdes) and protein precipitation methods (tannins) revealed that extracts are rich on phenolic compounds. The plant's extracts can contribute in the anti-inflammatory activity by reduction of lysosomal enzymes concerning the leaves and root bark extracts, while the seeds anti-inflammatory activity can be attached to other mechanisms.

**Keywords :** Gouty arthritis, Monosodium urate (MSU), Lysosomal Enzymes,  $\beta$ -galactosidase, *Pistacia lentiscus*

## ملخص

*Pistacia lentiscus* عشبة طبية محلية، تستخدم تقليدياً في مختلف الأقاليم لعلاج عدة أمراض كالإكزيما، آلام البطن، السعال والقطرة. هذا العمل هو عبارة عن تقييم للنشاط المضاد للالتهاب للمستخلص الكحولي و المائي لأوراق، جذور و بذور *Pistacia lentiscus* في حالة التهاب المفاصل النقرسي على نموذج تجريبي حيواني، الإلتهاب يسببه الحقن داخل الأدمة لبلورات حمض اليولة أحادي الصوديوم ( 4 ملغ/ الرجل اليمنى للفأر)، و تقييم للنشاط المضاد للالتهاب لل بينا غالاكتوزيداز في الكبد و الطحال. العلاج بالمستخلص الكحولي بالجرعات 100، 200، 400 ملغ/كلغ و المائي 50؛ 100 و 200ملغ/كلغ أظهر تراجع واضح  $p>0,001$  في إفراز أنزيمات الليوزوم، يقارن بالأدوية المرجعية الكولشيسين 1 ملغ/كلغ و الأندوميتاسين 3 ملغ/كلغ، خصوصاً بالنسبة للمستخلصات الكحولية و المائية للجذور و البذور.

التحليل النوعي للمستخلصات بالطريقة الكلورومترية بينت وجود البوليفينول، الفلافونويد و tanins؛ التقدير الكمي لإجمالي البوليفينول ( بطريقة Folin-ciocalteu )، إجمال الفلافونويد (بطريقة ثلاثي كلورور الألبمينيوم ) tanins ( بطريقة ثلاثي كلورور الحديد) ، بينت أن هذه المستخلصات غنية بالمركبات الفينولية. مستخلصات النبتة قادرة على المساهمة في النشاط المضاد للالتهاب عبر الحد من أنزيمات الليوزوم فيما يخص الأوراق و الجذور بينما النشاط المضاد للالتهاب للبذور يمكن ان يرتبط بالية اخرى.

**الكلمات الأساسية :** الأنزيمات الليوزومية، بينا غالاكتوزيداز، التهاب المفاصل، بلورات أحادية الصوديوم (MSU)، *Pistacia lentiscus*,