

## SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES .....	ii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	iii
INTRODUCTION .....	1
MATERIELS ET METHODES .....	5
A. ETUDE PHYTOCHIMIQUE .....	5
1. Préparation de l'extrait .....	5
2. Criblage phytochimique .....	6
B. TESTS PHARMACOLOGIQUES .....	8
1. Préparation de la crème .....	8
2. Animaux d'expériences .....	9
3. Étude de l'effet de l'extrait FMB sur la cicatrisation .....	10
C. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS.....	11
RESULTATS .....	12
A. PARTIE CHIMIQUE.....	12
B. PARTIE BIOLOGIQUE .....	13
1. Effet de l'extrait FMB sur la Vitesse de cicatrisation .....	13
2. Effet de l'extrait FMB sur la phase de l'hémostase.....	14
3. Effet de l'extrait FMB sur la phase inflammatoire.....	15
4. Effet de l'extrait FMB sur la phase de granulation .....	15
5. Phase d'épithérialisation .....	16
DISCUSSION .....	17
CONCLUSION.....	19
REFERENCES BIBLIOGRAPHIES.....	20

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I : Tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait FMB .....	7
Tableau II : Composition de la crème de base .....	8
Tableau III. Résultats du criblage phytochimique réalisé sur l'extrait FMB.....	12

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1. Évaporateur EVAPOTEC TM Rotary utilisé pour obtenir l'extrait FMB. ....	5
Figure 2. Schéma récapitulatif de la préparation de l'extrait FMB. ....	6
Figure3. Deux plaies expérimentales circulaires de 10mm de diamètre créées de part et d'autre de la ligne médiane de la colonne vertébrale du rat. ....	10
Figure4. Vitesse de réduction de la surface de la plaie chez les rats traités. ....	14
Figure5. État des plaies au deuxième jour. ....	14
Figure6.Œdème de la berge, et pus au niveau de la surface des plaie .....	15
Figure7. Plaies humides, chez le lot témoin (à gauche) mais sèches et couvertes de bourgeons au cinquième jour.....	16
Figure8. Aspect de la plaie témoin (à gauche) et la plaie traitée avec l'extrait FMB.....	16

## LISTE DES ABREVIATIONS

**%** : Pourcent

**°C** : Degré Celsius

**Coll.** : collaborateurs.

**EHA** : Extrait Hydroalcoolique

**e.s.m** : Ecart type standard moyenne

**g :gramme**

**IGF1** : Insulingrowth factor 1

**IMVAVET** : Institut Malgache des VAccins VETerinaires

**LPGPC** : Laboratoire de Pharmacologie Générale de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

**mm<sup>2</sup>** : millimètre carré

**m** : Moyenne

**n** : nombre d'animaux utilisés

**PDGF** : Platelet Derived Growth Facteur

**p** : Seuil de signification

**R**: Rendement

**T** : Temperature

**TNFalpha** : Tumornecrosis factor alpha

**TGFbêta**: Transforming growth factor bêta

**UV**: Ultraviolet

**Vc**: vitesse de cicatrisation

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Un cicatrisant est une substance qui accélère la réparation des plaies superficielles de la peau quand il existe une perte de substance (MARIEB E.N., 2000 et TIMMON J., 2006). Une plaie est une rupture de la structure anatomique de la peau. Normalement, une plaie se referme en trois semaines si elle ne présente pas de complication. Cette fermeture est suivie d'une période de remodelage qui dure un à deux ans. Mais quand il existe une perte de substance ou lorsque les bords de la plaie sont écartés, ou cas d'infection, la cicatrisation doit être améliorée par un produit qui favorise l'épidermisation, en accélérant l'apparition d'une couche de cellules de l'épiderme qui constitue un bourgeonnement ou granulation, accélérant le processus de cicatrisation (TIMMON J., 2006).

Le processus cicatriciel est un phénomène extrêmement complexe faisant intervenir de multiples acteurs. Il doit permettre au tissu de retrouver ses propriétés fonctionnelles initiales, en particulier les propriétés mécaniques pour la peau (SMITH K L. et coll. 1998; LI W. et coll. 2005). Il comprend 3 phases qui se suivent mais qui se chevauchent dans le temps : la phase initiale vasculaire et inflammatoire, la phase de prolifération et la phase de remodelage.

La phase d'hémostase constitue la première phase de cicatrisation. Elle débute immédiatement après une blessure, vient ensuite la phase inflammatoire vasculodétersive. Lorsque des vaisseaux sanguins sont endommagés, les plaquettes entrent en contact avec le collagène subendothélial et libèrent des médiateurs qui provoquent une vasoconstriction afin de réduire la perte sanguine, et en même temps déclenchent la cascade de coagulation qui va arrêter l'hémorragie. Le caillot de fibrine formé permet la fermeture de la plaie et sert de matrice provisoire (WITTE M. B. et Coll., 1997). Ensuite des cytokines et des facteurs de croissance sont libérées en cascade, et les plaquettes libèrent également leur contenu et attirent des neutrophiles qui vont migrer vers la plaie pour éliminer les bactéries (MARTIN P., 1997). Après la phase inflammatoire, la phase proliférative ou de granulation débute à peu près quatre jours après la blessure. Elle est au début dermique, avec la formation de nouveaux vaisseaux sous forme de bourgeons (angiogenèse) d'où le nom de tissu de granulation (KARABINTA K.D.A., 2010). En pratique clinique on la distingue par un tissu rouge et rugueux dans le lit de la plaie. Cette phase permet à l'acquisition de spécificités morphologiques et biochimiques de cellules musculaires lisses par les fibroblastes, appelés myofibroblastes. Ces derniers ont la capacité de se contracter comme les cellules des muscles lisses ; et en se contractant ces myofibroblastes font rapprocher les bords de la plaie (KARABINTA K.D.A., 2010).

Après le début dermique, cette phase est ensuite épidermique avec la réépidermisation et le rétablissement de la fonction barrière de la peau.

Après la phase de vasoconstriction rapide, indispensable à l'hémostase immédiate, vient ensuite une vasodilatation qui permet aux cellules circulantes d'affluer sur le site de la plaie. Grâce aux médiateurs proinflammatoires comme les cytokines, les sélectines et les molécules d'adhésion sont exprimées à la surface des cellules endothéliales pour ralentir et capter les neutrophiles. Ainsi les neutrophiles et les monocytes sont attirés dans la plaie, non seulement par les facteurs libérés par les plaquettes, mais également par les peptides bactériens, les facteurs du complément et les produits de dégradation de la fibrine. Les neutrophiles sont les premiers leucocytes présents dans la plaie. Ils assurent la détersión des lésions et une action anti-infectieuse locale, avant d'être phagocytés par les macrophages présents dans la plaie. Une fois dans le milieu tissulaire, ils se différencient en macrophages et adhèrent aux protéines de la matrice extracellulaire, par les intégrines. Tandis que les monocytes se fixent sur les cellules endothéliales et migrent dans la plaie d'une façon similaire à celle des neutrophiles. Ils jouent également un rôle anti-infectieux et de détersión locale grâce à leur capacité de phagocytose ; ils participent aussi au remodelage matriciel. Comme les plaquettes, ils constituent aussi une source essentielle de cytokines dont l'insulin growth factor 1 (IGF1), le TGFbêta, le tumornecrosis factor alpha (TNFalpha) et le PDGF. Ces substances amplifient la réponse inflammatoire et stimulent la prolifération des fibroblastes, la production de collagène et plus généralement la formation du tissu de granulation (ROUPÉ K.M. et coll., 2010).

Ces deux phases se déroulent durant les 2 à 3 premières semaines de cicatrisation. Enfin, la troisième phase est la phase de remodelage. Cette phase est tardive et prolongée, elle peut durer au moins 18 mois. Au début de cette phase, l'épiderme retrouve son épaisseur normale et la croûte formée à partir du caillot sanguin tombe. Les fibres de collagène commencent à être mieux organisées; initialement fines et désordonnées, elles deviennent plus épaisses et alignées avec les autres fibres des marges de la plaie, le remodelage des tissus cicatriciels peut durer jusqu'à un an et parfois plus (SMITH K.L. et coll., 1998 ; HUNT T.K. et coll., 2000;REINKE J.M. et Coll.,2012).

Mais malgré toutes les modifications et le remodelage que subit le derme durant cette phase, la peau ne retrouvera jamais ni sa fonction ni sa force ou résistance originale (TORTORA G.J. et coll. 1994). En effet, la force de tension de la peau cicatrisée ne dépassera pas 80 % de sa force antérieure (CLARK R.A.F, 1985).

La complication immédiate de la cicatrisation est avant tout l'infection qui empêche l'amorce du processus de cicatrisation de se mettre en place. Pour prévenir ce genre de complications, il est parfois nécessaire de mettre en place un système de compression (comme des vêtements compressifs entre autres) qui permet de réduire au maximum l'expansion de la plaie qui a tendance à se faire de façon excessive. Aussi une désinfection de la plaie est nécessaire ainsi qu'un nettoyage qui consiste à éliminer les débris et les excès de sécrétion soit par geste chirurgical soit par médicaments protéolytiques, dont le but est de détruire les lambeaux de peau morte qui viennent polluer la plaie. Il peut être nécessaire, quand la cicatrisation ne se fait toujours pas, de favoriser le bourgeonnement et la granulation (prolifération de tissu neuf) et enfin l'épidémisation, c'est-à-dire la constitution d'une couche de cellules telles que celles de l'épiderme qui protège le tissu nouvellement constitué. Ainsi un cicatrisant accélère la cicatrisation soit en accélérant l'apparition du bourgeonnement, soit en accélérant la phase d'épithérialisation (LECHAUX D., 2010).

Suivant leurs caractéristiques biologiques et cliniques, on distingue 3 familles de lésions : lésions suintantes, les lésions non suintantes superficielles à moyennes et les lésions non suintantes moyennes à majeures. Selon le type des lésions, leurs traitements sont différents. Les lésions suintantes sujettes à macération comme les ampoules, la macération des plis et l'erythème fessier nécessitent un assèchement avec un soin non-occlusif, qui laisse bien passer l'air. Tandis que les lésions non suintantes superficielles à moyennes ont besoin d'hydratation avec un soin semi-occlusif, c'est-à-dire qui laissent passer les gaz comme la vapeur d'eau et empêchent le passage de bactéries, et perspirant comme le cas de lésion suite à une intervention chirurgicale (points de suture), coupures ou écorchures de la vie quotidienne après assèchement de la plaie. Enfin, les lésions non suintantes moyennes à majeures comme les gerçures, dartres, pulpites ou brûlures exigent une nutrition relipidante avec un soin occlusif qui fait barrière (MUSTOE T.A. et coll., 2006).

À Madagascar comme à travers le monde, les plantes médicinales occupent une place importante dans les soins de santé primaire. Leur pouvoir thérapeutique est connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique quand ils traitaient, soulageaient ou prévenaient leurs maladies (N'GUESSAN K. et coll., 2009), ce qui a mené plusieurs scientifiques à authentifier leur utilisation conduisant à des synthèses ou à des hémisynthèses de nouvelles molécules pour les préparations pharmaceutiques (MADHU C. et coll., 2012).

Plusieurs plantes sont connues avoir une propriété cicatrisante, et sont utilisées dans les traitements des plaies comme *Acacia nilotica*L. (MIMOSACEAE); *Anacardium occidentale* L.

(ANACARDIACEAE);*Euphorbia hirta*L.(EUPHORBIACEAE);*Xylopia aethiopica*(ANNONACEAE) (COULIBALY A., 2001; DIARRAI, 1991 ; SAMAKÉ B.F., 1999) ; *Leptadenia madagascariensis*, *Centella asiatica* (RAKOTOBE E. et coll., 1993).

D'après les enquêtes que nous avons effectuées dans les zones rurales d'Antanarivo Madagascar ainsi qu'aux Comores, la plante codée FMB est utilisée par la population en cas de blessure lors des travaux dans les champs en application directe sur la plaie pour que le saignement s'arrête rapidement et qu'elle se cicatrice vite. En analysant ces données, nous avons déduit que les feuilles de cette plante pourraient avoir une activité hémostatique et accélère la cicatrisation. L'objectif de cette étude est d'étudier l'activité cicatrisante de l'extrait codé FMB des feuilles de cette plante en suivant la réduction de la surface de la plaie et en observant les différentes étapes de la cicatrisation.

## **MATERIELS ET METHODES**

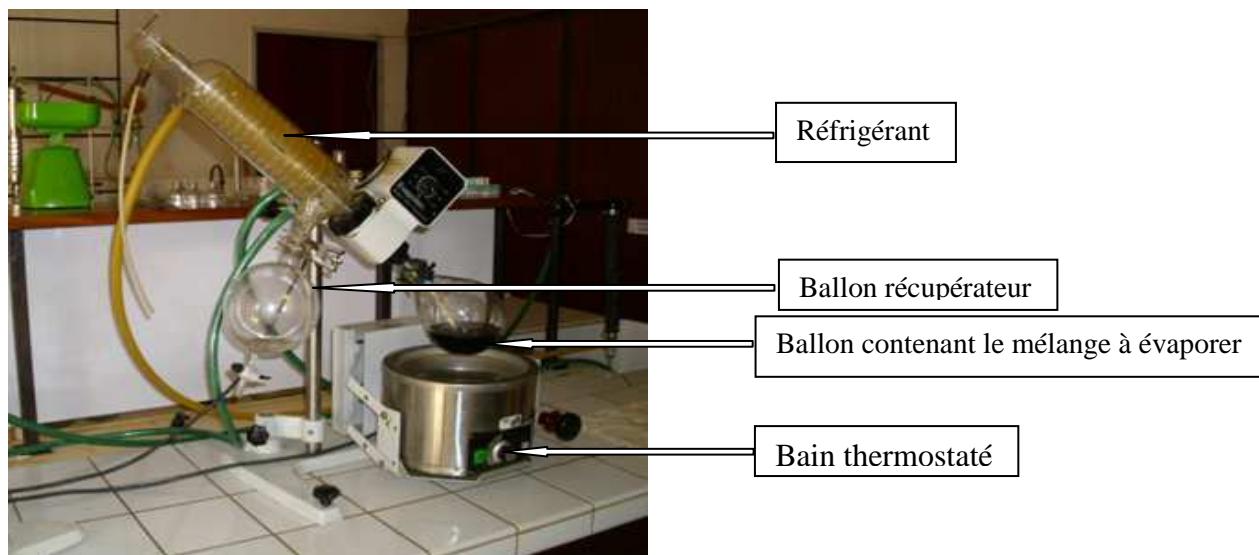
## MATERIELS ET METHODES

### A. ETUDE PHYTOCHIMIQUE

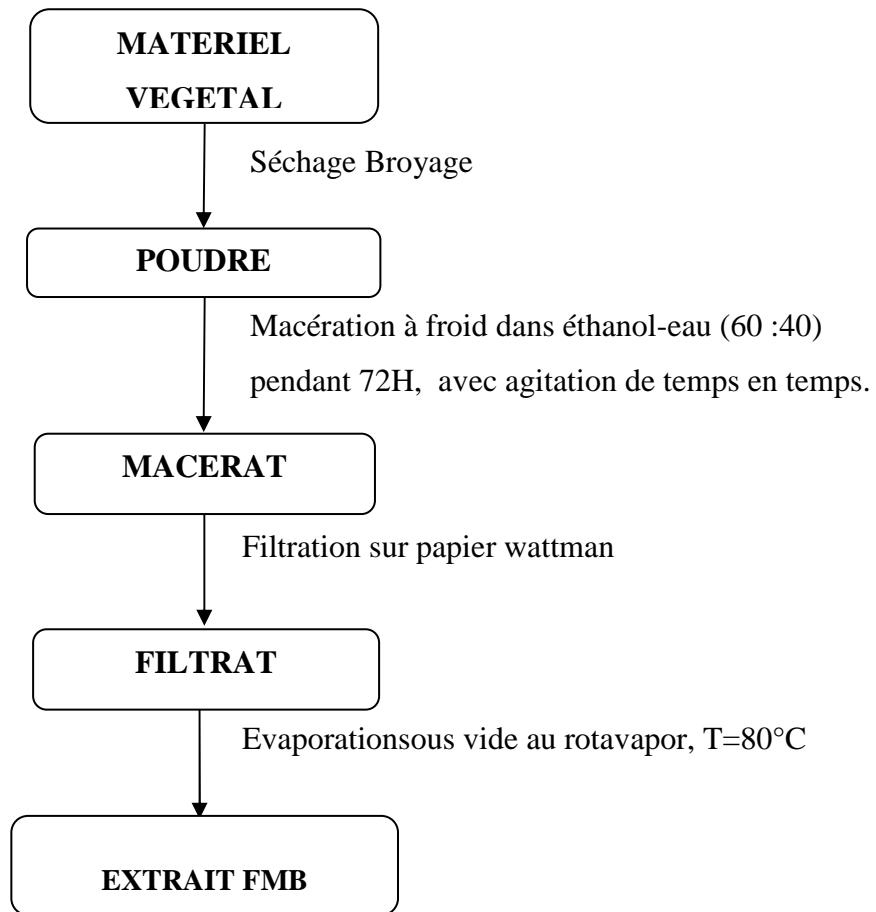
#### 1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante codée FMBsont utilisées par la population dans les zones ruralesd'Antananarivo de Madagascar ainsi qu'aux Comores en cas de blessure lors des travaux dans les champs. Les feuilles utilisées dans ce travail ont a été récoltées au mois de décembre 2014 à Antananarivo Madagascar. Elles ont été étalées et séchées à l'ombre dans un endroit aéré pendant 15 jours. Ensuite, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON, Série 2000). Puis 500 g de la poudre ont été macérés à la température ambiante dans un mélange éthanol-eau (60 :40) pendant 72H en agitant trois fois par jour. Le macérât ainsi obtenu a été filtré avec un papier filtre Wattman, et le filtrat a ensuite été évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapor (EVAPOTEC<sub>TM</sub> Rotary) (figure1) à la température de 80°C jusqu'à l'épuisement total du solvant afin d'obtenir l'extraitFMB (figure 1). Cet extrait a été pesé et le rendement de l'extraction a été calculé selon la formule:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{poids de l'extrait(g)} \times 100}{\text{poids de la matière végétale (g)}}$$



**Figure 1.** ÉvaporateurEVAPOTEC<sub>TM</sub> Rotary utilisé pour obtenir l'extrait FMB.



**Figure 2.**Schéma récapitulatif de la préparation de l'extrait FMB.

## 2. Criblage phytochimique

Cette manipulation a eu pour objectif de déterminer les différentes familles chimiques contenues dans l'extrait et d'estimer leur abondance relative en utilisant des réactifs spécifiques qui réagissent avec les familles chimiques correspondantes en formant un complexe soluble coloré ou un complexe non soluble ou précipité (tableau I) (IGAN C., 1982; FONG H.H.S et coll., 1997). L'abondance relative des familles chimiques présentes dans l'extrait a été représentée par les signes suivants:

- (+) : Présence de la famille chimique recherchée à faible quantité
- (++) : Présence de la famille chimique recherchée à moyenne concentration
- (+++) : Présence de la famille chimique recherchée à forte concentration

**Tableau I : Tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait FMB(FONG H.H.S et coll., 1997)**

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observation
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl <sub>3</sub> Méthanol	Précipitation bleue
COMPOSES PHENOLIQUES		Gélatine 1%	précipitation
STEROIDES ET TRITERPENES	LIERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> )	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> )	Anneau de séparation rouge
DESOXY-2-SUCRE	KELLER KILLIANI	FeCl <sub>3</sub> 10% + acide acétique glacial	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH-SMITH	HCl concentré+bain marie	Coloration rouge violacée
ANTHOCYANES		HCl à froid	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3 Volumes d'éthanol	trouble
SUCRES REDUCTEURS		Liqueur de Fehling+ Bain-marie	Précipitation rouge brique
SUCRES RARES	PESEZ	Xanthydrol	Coloration rouge
COUMARINES		NaOH 10%	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	HCl + Agitation	persistante d'une mousse (3cm d'épaisseur) après 30mn

## B. TESTS PHARMACOLOGIQUES

### 1. Préparation de la crème

L'extrait FMB a été appliqué par voie topique sous forme de crème à 10% pour étudier son activité cicatrisante. La crème de base a été constituée de deux phases: une phase grasse à base de l'huile d'olive, et une phase aqueuse à base de l'eau (tableau II).

**Tableau II : Composition de la crème de base**

Phases	Composition	Rôles	Quantité
Phase aqueuse	Eau distillée	Phase aqueuse	300 ml
	bicarbonate	Conservateur	100 mg
Phase grasse	Huile d'olive	Phase huileuse	600 ml
	Cire d'abeille	Épaississant	15g
	Acide stéarique	Emulsifiant et stabilisant	3g
	alcool stéaryle	Epaississant lipophile	3g

La préparation de la crème FMB s'est déroulée en trois étapes successives (AKHTAR N. et coll., 2011) :

La première étape a été la préparation des deux phases séparément. L'huile d'olive, acide stéarique, alcool stéaryle et l'épaississant qui a été la cire d'abeille ont été chauffés à la température de 80°C jusqu'à la fonte de la cire d'abeille. En même temps l'eau distillée et le bicarbonate ont été chauffés à la même température que l'huile dans un autre récipient. Dans la deuxième étape, la phase aqueuse a été versée petit à petit dans l'huile tout en fouettant sans arrêt. Enfin dans la troisième étape, l'extrait a été incorporé dans la crème de base pour obtenir la préparation à 10%. Pour cela 1g d'extrait a été incorporé dans 9g de crème de base.

## 2. Animaux d'expériences

Des rats de souche Wistar élevés à l'IMVAVET ont été utilisés. Ces rats ont été acclimatés aux conditions de l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie pendant 1 semaine avant la manipulation. Ils ont été nourris avec de la provende de porc LFL®1420, et ont eu un accès libre à l'eau. Ils ont été exposés à un cycle de lumière et d'obscurité de 12/12h à la température de 20°C environ. Ils ont ensuite été répartis en 2 lots de 3 rats : un lot témoin traité avec la crème de base et un lot traité avec la crème contenant l'extrait FMB.

Pour provoquer la plaie, les animaux ont été anesthésiés avec de l'éther diéthylique, ensuite la partie dorsolombaire de l'animal a été rasée et nettoyée. Sur cette surface rasée, deux plaies circulaires de 10mm de diamètre ont été provoquées de part et d'autre de la colonne vertébrale (figure3) à l'aide d'un dispositif à base ronde fabriqué avec une lame de rasoir sertie sur une tige ronde de 10mm de diamètre (MANJUNATHA B.K. et coll., 2005).

Tout de suite après la provocation de plaie, et avant l'application quotidienne de la crème, la surface de la plaie a été mesurée par planimétrie directe à l'aide d'un papier millimétré transparent placé sur la plaie. La surface a été déterminée en traçant le contour de la plaie à l'aide d'un crayon à pointe fine sur le papier (KARABINTAK.D.A., 2010). Les rats ont été placés individuellement dans une cage jusqu'à la fin de l'expérience.

Tous les matins à une heure fixe, la plaie a été nettoyée avant de mesurer la surface et d'appliquer la crème. Un coton imbibé d'eau a été placé sur la plaie pour ramollir la croûte, puis cette dernière a été détachée doucement afin d'augmenter la surface de la plaie. La crème de base a ensuite été appliquée sur la plaie des animaux témoins et la crème contenant l'extrait FMB a été appliquée sur la plaie des animaux du 2<sup>ème</sup> lot par un léger massage circulaire.



**Figure3.** Deux plaies expérimentales circulaires de 10mm de diamètre créées de part et d'autre de la ligne médiane de la colonne vertébrale du rat.

### 3. Étude de l'effet de l'extrait FMB sur la cicatrisation

Pendant l'étude de la cicatrisation, les paramètres suivants ont été mesurés :

La vitesse de cicatrisation, la phase hémostase, la phase inflammatoire, phase de bourgeonnement et la phase d'épithérialisation.

La vitesse de cicatrisation a été calculée en mesurant par planimétrie directe la surface des plaies aux jours 0, 3, 6, 9, 12 et 14. La vitesse de la contraction de la plaie a été calculée selon la formule:

$$V = \frac{S_n - S(n-1)}{T_n - T(n-1)}$$

Avec  $V$  : vitesse de la contraction de la plaie ( $\text{mm}^2/\text{jour}$ )

$S_{n-1}$  : surface de la plaie le jour d'avant

$S_n$  : surface de la plaie au jour  $n$

$T_{n-1}$  : Temps au jour d'avant ( $n-1$ )

$T_n$  : Temps au jour  $n$

(KARABINTA K.D.A., 2010)

Et le pourcentage de rétrécissement (Pr) des plaies a été calculé selon la formule suivante:

$$Pr. J_n = \frac{M. J_1 - M. J_n}{M. J_1} \times 100$$

Avec :

$J_n$  :  $n^{\text{ième}}$  jour

$J_1$  : premier jour

$M. J_1$  : surface au 1<sup>er</sup> jour

$M. J_n$  : surface au  $n^{\text{ième}}$  jour

L'effet de l'extrait FMB 10% sur l'hémostase a été étudié en suivant le temps de saignement de la plaie et l'apparition de l'épaisseur de la croûte sur la plaie, 24 heures après l'excision et l'application du produit par rapport au lot témoin.

Vingt quatre heures après l'excision de la peau, l'effet de l'extrait sur la phase inflammatoire a été étudié en observant sa durée. La rougeur et l'œdème des berges de la plaie ainsi que l'abondance de l'exsudation à la surface de la plaie ont été observés.

Durant toute l'étude, une observation macroscopique de la plaie a été effectuée, le jour d'apparition de bourgeonnement, couleur et l'abondance de cette granulation ont été observés pendant le traitement.

Enfin, l'effet de l'extrait sur cette phase a été étudié en observant le temps de fermeture complète de la plaie des animaux traités avec l'extrait FMB par rapport aux animaux du lot témoin.

## C. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écarts- types standards moyens (moyenne  $\pm$  e.s.m) et analysés en comparant les moyennes obtenues chez les animaux du lot traité par rapport à celles obtenues chez le lot témoin en utilisant le test 't' de Student avec un degré de signification limité à  $p < 0,05$ .

## **RESULTATS**

## RESULTATS

### A. PARTIE CHIMIQUE

Le poids de l'extrait FMB obtenu avec 500 grammes de matière végétale est de 109 grammes, ce qui donne un rendement de 21,8%.

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait FMB révèle la présence d'alcaloïdes, de tanins et de sucres réducteurs en forte teneur ; tandis que les composés phénoliques ; les polysaccharides, les stéroïdes et les triterpènes sont présents en moyenne quantité; et enfin, les flavonoïdes et les coumarines sont présents en très faible quantité (Tableau III).

**Tableau III.** Résultats du criblage phytochimique réalisé sur l'extrait FMB.

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR
ALCALOÏDES	+++
TANNINS	+++
SUCRES REDUCTEURS	+++
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES	++
POLYSACCHARIDES	++
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	++
FLAVONOÏDES	+
COUMARINES	+

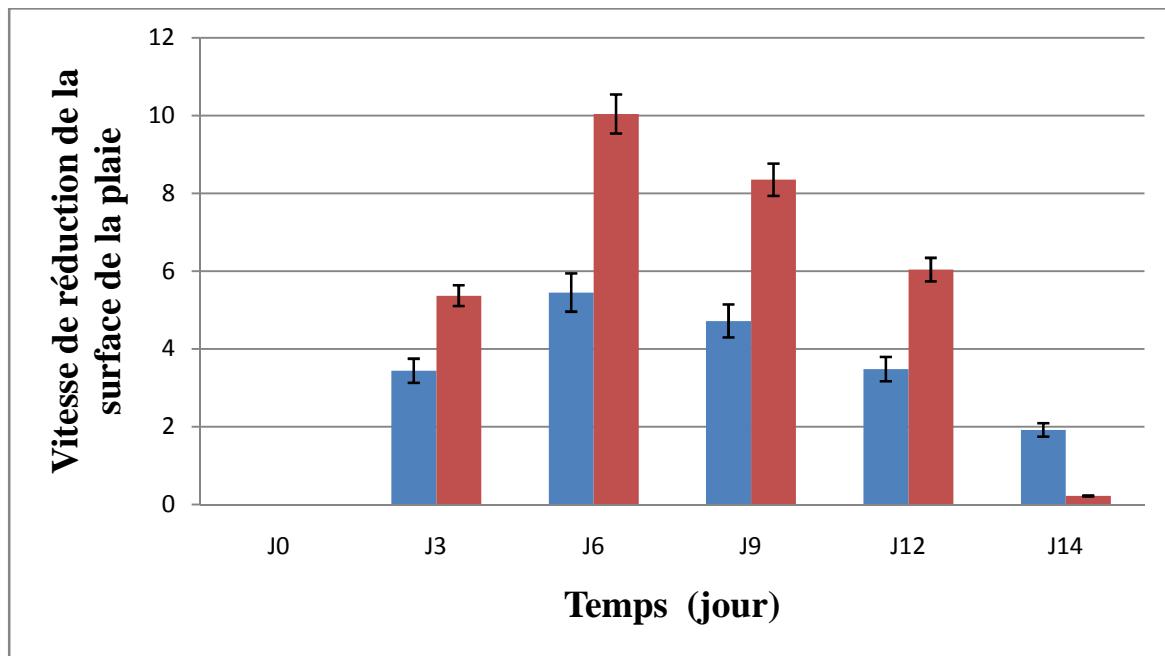
## **B. PARTIE BIOLOGIQUE**

### **1. Effet de l'extrait FMB sur la Vitesse de cicatrisation**

La vitesse de cicatrisation a été calculée en mesurant la surface de la plaie tous les trois jours et rapportant cette surface en fonction du temps.

La vitesse de cicatrisation des plaies traitées avec la crème contenant l'extrait FMB est supérieur à celle des plaies témoins, et au 14<sup>ème</sup> jour les plaies traitées avec l'extrait sont fermées tandis que celles du lot témoin ferment au 18<sup>ème</sup> jour.

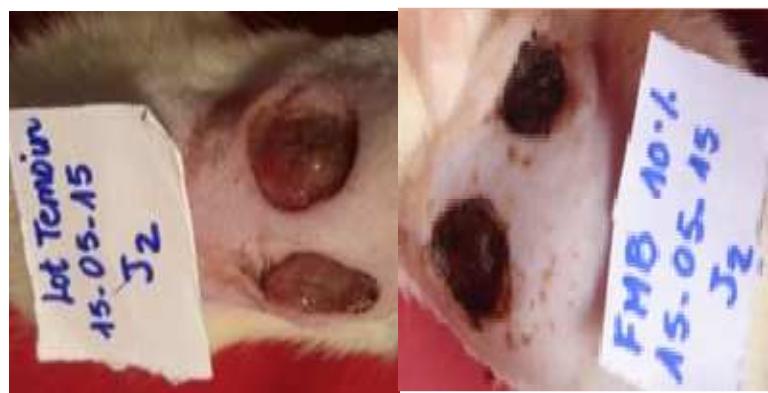
Au jour J<sub>0</sub> (juste après l'excision), la surface des plaies est égale à  $85,93\text{mm}^2 \pm 0,66\text{mm}^2$ . La vitesse de rétrécissement de la surface des plaies traitées avec l'extrait est supérieure à celle des animaux du lot témoin dans les six premiers jours, avec une vitesse de rétrécissement de  $10,04 \pm 1,71 \text{ mm}^2/\text{jour}$  des plaies traitées avec l'extrait FMB, contre  $5,45 \pm 1,14\text{mm}^2/\text{jour}$  chez les témoins ( $p<0,05$ ). Au 9<sup>ème</sup> jour la vitesse de rétrécissement des plaies commence à diminuer et devient  $8,35 \pm 0,42\text{mm}^2/\text{jour}$  chez les animaux traités avec l'extrait contre  $4,72 \pm 0,58\text{mm}^2/\text{jour}$  chez les animaux du lot témoin. Les plaies rétrécissent de 62,38% chez le lot traité avec l'extrait et 28,69% chez le lot traité avec la crème de base ( $p<0,05$ ) (figure4).



**Figure4.** Vitesse de réduction de la surface de la plaie chez les rats traités après application topique de la crème contenant l'extrait FMB (■) et la crème de base (■) en fonction du temps ( $m \pm e.s.m$  ;  $n=3$  ;  $p < 0,05$ ).

## 2. Effet de l'extrait FMB sur la phase de l'hémostase

Vingt quatre heures après l'application de la crème, les plaies évoluent différemment chez le lot témoin et le lot traité avec l'extrait. Sur les plaies traitées avec la crème contenant de FMB, la croûte apparaît au 2<sup>ème</sup> jour contrairement aux plaies traitées avec la crème de base (témoins) qui sont encore humides (figure5).



**Figure5.** État des plaies au deuxième jour : sans croûte chez le lot témoin (à gauche) et avec croûte chez le lot traité avec l'extrait FMB (à droite).

### 3. Effet de l'extrait FMB sur la phase inflammatoire

La durée de la phase inflammatoire a été déterminée en observant la rougeur et l'œdème au niveau de la berge des plaies et de la présence de l'exsudat au niveau de la surface des plaies. D'après les observations effectuées sur les plaies, l'application de l'extrait FMB réduit la durée de la phase inflammatoire. La rougeur et œdème des plaies traitées avec l'extrait FMB disparaissent au 5<sup>ème</sup> jour du traitement, tandis que les plaies traitées avec la crème de base (lot témoin) présentent encore une inflammation jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour.



**Figure6.**Œdème de la berge, et pus au niveau de la surface des plaie traitée avec le crème de base (à gauche) et croûte au niveau de la surface la plaie traitée avec l'extrait FMB (à droite) 2 jours après l'excision.

### 4. Effet de l'extrait FMB sur la phase de granulation

Cette phase a été évaluée par la présence des granulations sur la plaie. Au cinquième jour, les plaies traitées avec l'extrait FMB présentent des granulations, par contre les plaies du lot témoin sont encore rouges et ne présentent aucune granulation (figure7).



**Figure7.** Plaies humides, chez le lot témoin (à gauche) mais sèches et couvertes de bourgeons au cinquième jour de traitement chez le lot traité avec de l'extrait FMB (à droite).

## 5. Phase d'épithérialisation

Au quatorzième jour, les plaies traitées avec la crème contenant l'extrait FMB présentent un épiderme contrairement aux plaies traitées avec la crème de base qui prennent 4 jours de retard (figure 8).



**Figure8.** Aspect de la plaie témoin (à gauche) et la plaie traitée avec l'extrait FMB (à droite) au quatorzième jour du traitement.

# **DISCUSSION**

## DISCUSSION

Notre travail consiste à étudier l'activité cicatrisante de l'extrait FMB appliqué par voie topique sous forme de crème à 10% sur des plaies provoquées expérimentalement chez le rat. Le choix de cette plante a été basé sur des informations ethnobotaniques que nous avons obtenues lors de nos enquêtes sur terrain.

La planimétrie directe a permis d'étudier d'une manière quantitative l'évolution de la surface de la plaie dans le temps (BENSEGUENI A. et coll., 2007). D'après les résultats que nous avons obtenus, les plaies traitées avec l'extrait FMB ferment plutôt que celles traitées avec la crème de base. L'extrait FMB accélère la fermeture de la plaie, il raccourcit la durée de la phase inflammatoire et accélère l'apparition des granulations.

Dans le jour qui suit la première application de l'extrait, les plaies traitées avec l'extrait FMB sont recouvertes par des croûtes épaisses contrairement aux plaies du lot témoin. Cette apparition très vite de la croûte sur les plaies traitées serait un facteur qui accélère la fermeture de la plaie car le caillot de fibrine formé sert de matrice provisoire et permet la fermeture de la plaie (MARTIN P., 1997). Ce qui serait à l'origine de l'apparition des granulations plus tôt au niveau de la surface des plaies traitées par rapport aux plaies témoins. Cette apparition rapide du tissu de granulation pourrait s'expliquer par l'amplification de la réponse inflammatoire et de la stimulation de la prolifération des fibroblastes, la production de collagène (ROUPÉ K.M. et coll., 2010). Et cette prolifération des fibroblastes expliquerait à son tour la rapidité de la fermeture des plaies traitées avec l'extrait car la contraction de la plaie est due aux myofibroblastes du tissu de granulation qui peuvent se contracter comme les muscles lisses (REINKE J.M. et SORG H., 2012).

Pendant la phase de bourgeonnement, une angiogenèse prend également place. Cette néovascularisation améliore l'apport en éléments essentiels à la restructuration de la peau comme l'oxygène et les éléments nutritifs (REINKE J.M. et Coll., 2012).

Ce raccourcissement de la phase inflammatoire pourrait être dû aux polysaccharides présents dans l'extrait. D'après les résultats obtenus par NERGÅRD C. S. (2005), TOGOLA A. et ses collaborateurs (2007) les polysaccharides activent le système immunitaire notamment le complément, les macrophages, les lymphocytes B et T à l'origine de l'amplification de la phase inflammatoire. DIALLO D. (2000) qui a travaillé sur l'extrait polysaccharidique de *Entada africana* et KARABINTA K.D.A. (2010) qui a travaillé sur les polysaccharides d'*Opilia acetidifolia* ont montré également que cette famille chimique empêche l'infection des plaies, ce qui accélère la cicatrisation.

D'autre part, les flavonoïdes accélèrent aussi la cicatrisation en réduisant la durée de la phase inflammatoire. L'étude de l'activité *Hibiscus rosasinensis* L. riche en flavonoïdes (TSUCHIYA H. et Coll., 1996 ; BHASKAR A. et Coll., 2012) possède également une activité cicatrisante. GOSH S. et ses collaborateurs (2012) ont isolé un flavone 2- (3,4-dihydroxy-phényl)-5,7-dihydroxy-chromène-4-one sur la feuille de *Pedilanthustithymaloides* L qui favorise la cicatrisation d'une plaie probablement en raison de sa capacité à inhiber la voie de certains médiateurs de l'inflammation.

L'action cicatrisante pourrait également être due à l'action synergique de ces différentes familles chimique, Alcaloïdes ; Tanins ; Sucres réducteurs ; de Composés Phénoliques ; de Polysaccharides ; de Stéroïde ; des Triterpènes et des Flavonoïdes.

# **CONCLUSION**

## CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait FMB possède une activité cicatrisante chez les rats. Cette activité est due à l'effet des tannins ; des flavonoïdes et/ou des polysaccharides qu'ils contiennent.

Pour élucider les mécanismes impliqués sur l'activité cicatrisante de l'extrait FMB, des études histologiques de tissu cicatriciel seront nécessaires.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIES

AKHTAR N., MEHMOOD A., KHAN A.B. (2011).  
Exploring cucumber extract for skin rejuvenation.  
*Atric.J. Biotech.*, **10** (7), 1206-1216.

BENSEGUENI A., BELKHIRI A., BOULEBDA N., KECK G. (2007).  
Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat.  
*Sci.Technol.* **26**:83-87.

BHASKAR A., NITHYA V. (2012).  
Evaluation of the wound healing activity of hibiscus rosasiensisL(Malvaceae) in Wistar albino rats.  
*Ind. J. Pharmacol.*, **44**(6):694-698.

CLARK R.A.F. (1985).  
Cutaneous tissues repair: basic biological consideration.  
*J.Am. Acad. Dermatol* **13**:701-725.

COULIBALY A. (2001).  
Étude des plantes utilisées dans le traitement des plaies au Mali : polysaccharides de *Biophytumpetersianum*Klotz (OXALIDACEAE).  
*Thèse de pharmacie. Bamako.* 101p.

DIARRA I. (1991).  
Contribution à l'étude de quelques aspects des dermatoses en médecine traditionnelle au Mali.  
*Thèse de pharmacie. École nationale de Médecine et de Pharmacie. Bamako.* 130p.

DIALLO D.(2000).  
Ethnopharmacologicalsurvey of medical plants in Mali and phytochemicalstudy of four of them: *Glinusoppositifolus* (Aizoaceae), *Diosporosabyssinica* (Abenaceae), *Entadaafricana* (Mimosaceae), *Tichiliaemiteca* (Meliaceae).  
*Thèse de doctorat, Université de Laussanne, Suisse,* p221.

FONG H. S., TINWAN, FARNSWORTH N.R. (1997).

Phytochemical screening.

*Rev. University of Illinois (Chicago): 73-126.*

GHOSH S., SAMANTA A., MANDAL.N.B, BANNERJEE. S, CHATTOPADHYAY D.(2012) .

Evaluation of the wound healing activity of methanol extract of *Pedilanthustithymalooides* (L.)Poit leaf and its isolated active constituents in topical formulation.

*J.Ethnopharmacol.,142(3):714-22.*

HUNT T. K., HOPF. H.,HUSSAIN. Z. (2000).

Physiology of wound healing.

*Adv. Skin Wound Care,13 (2): 6-11.*

IGAN C. (1982).

Practical manuals of the industrial utilization of medical plants and aromatic plants.

*Rev. Fac. Pharm. Bucharest (Roumania): 1-34.*

KARABINTA K.D.A. (2010).

Propriété cicatrisante des feuilles d'*Opiliaceltidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. exWalp. (OPILIACEAE).

*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Bamako- Mali: 62-64.*

LI W., DASGEB B., PHILLIPS T., LI Y., CHEN M., GARNER W., WOODLEY D. T. (2005).

Wound-healing perspectives.

*J. Dermatol.Clin.,23 (2): 181-192.*

MADHU C. HINDU K., SUDEEP THI.C.D., MANEELA.P., REDDY.K.V., SREE.B.B. (2012).

Antiulcer activity of aqueous extract of *Aegle marmelos* leaves on rats.

*J. Pharm. Res., 4(2): 132-135.*

MANJUNATHA B.K. VIDYA S.M., RASHMI K.V., MANKANI K.L.,(2005).

Evaluation of wound healing potency of *Vernonia arborea* Hk.

*Ind.J. Pharm., 37 (4): 223 – 226.*

MARIEB E.N. (2000).

Essential of human Anatomy and physiology.

*6<sup>ème</sup> Ed. Addison Wesley Longman.charleroi, Belgique :414-29.*

MARTIN P. (1997).

Wound healing--aiming for perfect skin regeneration.

*Sci.276 (5309): 75-81.*

MUSTOE T.A., O'SHAUGHNESSY K., KLOETERS O. (2006).  
Chronicwoundpathogenesis and currenttreatmentstrategies: a unifyinhypothesis.  
*Plast.Reconstr.Surg.,117*(7):35-41.

NERGÅRD. C. S. (2005).  
Immunomodulatingpecticpectic polymers, Thesis for the degree of Doctor  
Scientiarum,Departement of Pharmacognosy, School of Pharmacy, University of Oslo,  
Norway.  
*Unipub AS, 80p.*

N'GUESSAN K., KADJA B., ZIRIHI G. N., TRAORÉ D., AKÉ-ASSI L. (2009).  
Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes  
Utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire).  
*J. Sci. Nat., 6*(1): 1-15.

RAKOTOBE E., RASOLOMANANA C.J.C, RANDRIANASOLO S.S. (1993).  
Pharmacopée de l'Ambongo et du Boina.  
*Ed. CIDST (Antananarivo): p.7.*

REINKE J.M., SORG H. (2012).  
Woundrepair and regeneration.  
*Eur.Surg.Res.,49*:35-43.

ROUPÉ K.M., NYBO M., SJÖBRING U., ALBERIUS P., SCHMIDTCHEN A.,  
SØRENSEN O.E. (2010).  
Injury is a major inducer of epidermalinnate immune responsesduringwoundhealing .  
*J.Invest.Dermatol.,130*:1167-1177.

SAMAKÉ B. F. (1999).  
Étude des plantes utilisées dans le traitement des plaies : polysaccharides et leur activité sur  
le complément.  
*Thèse de Pharmacie. Bamako. 139p.*

SMITH K. L, DEAN S. J. (1998).  
Tissue repair of the epidermis and dermis.  
*J. Hand.Ther.: 95-104.*

TIMMON J. (2006).  
Skin functions and wound healing physiology.  
*J. Wounds essential, 1*:1-7.

TOGOLA A., INNGJERDINGEN M. , DIALLO D., BARSETT H., ROLSTAD B.,  
MICHAELSEN T. E., PAULSEN, B. S. (2007).  
Polysaccharides with complement fixing and macrophage stimulation activity from  
*Opiliaaceltidifolia*, isolation and partial characterization.  
*J.Ethnopharmacol.,115*: 423-431.

TORTORA G. J., GRABOWSKI S. R., PARENT J. (1994).  
Principes d'anatomie et de physiologie.  
*Anjou: Centre Éducatif et Culturel inc., 1203 p.*

TSUCHIYA H., SATO M., MIAZAKI T., FUJIWARA S., TANIGAKI S., OHYAMA M., TANAKA T., LINUMA M. (1996).

Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

*J.Ethnopharmacol.*, 50(1) :27-34.

WITTE M. B., BARBUL A. (1997).

General principles of wound healing.

*SurgClin North Am*, 77 (3): 509-528.

### **Webographie:**

LECHAUX D. (2010).

Le miel et la cicatrisation des plaies.

<https://www.abcd-chirurgie.fr/mediastore/fcKEdior/file/TAP.pdf>

# ETUDE DE L'ACTIVITE CICATRISANTE DE L'EXTRAIT HYDROALCOOLIQUE DE LA PLANTE CODEE FMB CHEZ LE RAT

**Auteur :** FAOUZIA Mouchitadi

**Adresse :** Lot VS 52HD/B Avaratra'ankatso

Antananarivo Madagascar

**E-mail:** Mouchitadi@yahoo.fr

**Année :** 2016

**Encadreur: Pr RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainirainy** Université d'Antananarivo

**Laboratoire:** Laboratoire de Pharmacologie

Générale et de Pharmacocinétique

**B.P.:** 8357

**E.mail:** [frandimbi@gmail.com](mailto:frandimbi@gmail.com)

Domaine des Sciences et Technologies

## RESUME

Notre objectif a été d'étudier l'activité cicatrisante de l'extrait FMB appliqué sous forme d'une crème à 10% sur des plaies expérimentales chez les rats de race Wistar. L'effet cicatrisant de l'extrait a été étudié en observant les différentes phases de la cicatrisation des plaies et la contraction des plaies en mesurant leurs surfaces par planimétrie directe. Dans les six premiers jours, la vitesse de rétrécissement des plaies traitées avec l'extrait est supérieure à celle du lot témoin, elle est égale à  $10,04 \pm 1,71 \text{ mm}^2/\text{jour}$  contre  $5,45 \pm 1,14 \text{ mm}^2/\text{jour}$  chez les témoins ( $p < 0,05$ ). L'extrait diminue la phase inflammatoire, elle ne dure que quatres jours chez les plaies traitées avec l'extrait contre septes jours chez le lot témoin. Il accélère aussi la réparation tissulaire en formant le tissu de granulation au bout de cinquièmes jours chez les plaies traitées avec l'extrait contre huitièmes jours chez les témoins, enfin il accélère l'épithérialisation, les plaies traitées avec l'extrait se ferment au quatorzièmes jour contre dix huitièmes jour pour les plaies témoins. Ces résultats montrent que l'extrait FMB possède une activité cicatrisante. La présence des tannins ; des flavonoïdes et/ou des polysaccharides pourrait être responsable de cette activité.

**Mots clés:** Cicatrisante, granulation, épithérialisation, rat de race Wistar

## ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the wound healing activity of a 10% FMB extract cream on Wistar rats. Wounds of 10mm diameter were created at thedorsal sideof the rats and the cream was applied topically. Thedifferent phase of wound healing was observed macroscopically and the rate of healing was calculated by measuring the surface area of the wound by direct planimetry. There was a faster rate of wound surface area reduction during the first six days. The wounds surface area reduced at the rate of  $10.04 \pm 1.71 \text{ mm}^2/\text{day}$  for the animals treated topically with the FMB extract cream  $5.45 \pm 1.14 \text{ mm}^2/\text{day}$  for the control group animals ( $p < 0.05$ ). The duration of the inflammation phase of wound healing was less four days for the treated animals, than thatseven days of the non-treated animals. The wounds treated with the 10% FMB extract cream were completely closed on the fifth days while the wounds of the control group animals closed on the eight days. The extract decreases the inflammation phase, accelerates tissue repair in forming granulation tissue and accelerates epithelialization. These results show that the 10% cream form of FMB extract has a wound healing activity. The presence of tanins ;flavonoïdes and/ ous polysaccharides could be responsible for this activity.

**Keywords:** wound healing, inflammation, granulation, epithelialization, rat.