

Table des matières

Table des matières	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux	iii
INTRODUCTION	1
MATERIELS ET METHODES	5
A. PARTIE CHIMIQUE	6
1. Préparation de l'extrait HT15	6
2. Criblage phytochimique	7
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	9
1. Préparation de la crème	9
2. Provocation des plaies	10
3. Étude de l'effet cicatrisant de HT15	11
a. Étude de l'effet de HT 15 sur la vitesse de cicatrisation.....	11
b. Étude de l'effet de HT 15 sur la contraction de la berge des plaies.....	12
c. Étude de l'effet de HT15 sur les différentes phases de la cicatrisation	12
C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RESULTATS	12
RÉSULTATS.....	13
A. PARTIE CHIMIQUE	13
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	13
1. Effet de HT15 sur la vitesse de cicatrisation.	13
2. Effet de HT 15 sur la contraction de la berge des plaies.....	15
3. Effet de HT 15 10% pendant la phase d'inflammation	16
4. Effet de HT 15 10 % sur la phase de prolifération cellulaire	17
DISCUSSION	18
CONCLUSION	20
BIBLIOGRAPHIE	21
WEBOGRAPHIE	25

Liste des figures

Figure 1. Procédure d'extraction de HT15	7
Figure 2 : Procédé de préparation de la crème de base	10
Figure 3. Vitesse de cicatrisation des plaies traitées avec HT 15	14
Figure 4. État des plaies J0 (après excision) et J14	14
Figure 5. Contraction des berges des plaies traitées avec HT 15 10 %	15
Figure 6. Etat des plaies pendant la phase inflammatoire.....	16
Figure 7. Etat des plaies pendant la phase de prolifération.....	17

Liste des tableaux

Tableau I. Classification des plaies selon leur profondeur	1
Tableau II. Tests utilisés pour détecter les familles chimiques présentes dans HT 15	8
Tableau III : liste des ingrédients et leur proportion pour la crème de base.	9
Tableau IV : les familles chimiques présentes dans HT 15	13

Liste des abréviations et sigles

°C	Degré Celsius
coll.	collaborateurs
CSB	Centre de santé de base
EHA	Extrait Hydroalcoolique
e.s.m.	erreur standard à la moyenne
FbGF	Facteur de croissance fibroblastique
FT	Facteur Tissulaire
g	gramme
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
LPGPC	Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
ml	millilitre
MEC	Matrice extracellulaire
mm ² /j	millimètre carré par jour
n	effectif (nombre de rats utilisés)
p	seuil de signification
PAF	Platelet Activating Factor
PAR	Protease Activated Receptor
PDGF	Platelets derivate growth factor
TGF	Transforming growth factor
vWF	Facteurs de Willebrand

INTRODUCTION

La peau est le plus grand organe du corps humain, elle recouvre environ 2 m² de surface et assure l'homéostasie de notre organisme dans son ensemble (LIU H., 2012). La peau joue un rôle de protection contre les agents extérieurs. La perte de son intégrité entraîne une blessure (DARRE T., 2014). Les blessures peuvent atteindre toutes les catégories d'âges touchant les hommes plus que les femmes (HAMEL D. et coll., 2012). Au Canada 15 % des citoyens âgés de 12 ans et plus ont subi une blessure suffisamment grave pour limiter leurs activités quotidiennes en 2009-2010 (<http://www.statcan.gc.ca>, 2016).

A Madagascar, les hôpitaux et les CSB reçoivent des patients atteints d'accident de travail ou ménagère nécessitant des soins particuliers. Les statistiques obtenues auprès de la CHU d'Antananarivo au service d'urgence d'ORL concernant les plaies faciales au cours de l'année 2009-2010, montrent que sur 128 patients, 107 patients montrent une bonne cicatrisation après traitement (RAZAFINDRAKOTO R.M.J. et coll., 2011).

Les plaies détériorent la structure de la peau. Elles peuvent être d'origine chimique, thermique, et mécanique (BOQUET E., 2010). Elles sont classées en quatre selon la profondeur sur les tissus atteints (tableau I) (MENKE M.N. et coll., 2008).

Tableau I. Classification des plaies selon leur profondeur

Catégorie de blessure	description
I	Peau intacte mais érythème persistant, atteinte sur la couche superficielle du derme seulement.
II	Perte partielle de l'épaisseur de la peau impliquant l'épiderme et/ou le derme.
III	Destruction de la structure de la peau (épiderme, derme et hypoderme), la lésion atteint les tissus sous-cutanés
IV	Perte totale de l'épaisseur de la peau avec extension des dégâts sur les muscles, os et autres structures de support.

La cicatrisation repose sur un équilibre entre synthèse tissulaire et dégradation tissulaire (DIEGELMANN R.F., 2004). Deux cas peuvent se présenter lors de la cicatrisation cutanée : quand la détersion de la plaie se fait en une seule fois et le processus de réparation se déroule normalement, on parle d'une plaie aigüe. En revanche, la plaie est chronique lorsque la détersion est répétée, la nécrose, l'inflammation et l'exsudat font obstacle au déroulement normal de la cicatrisation (DOMINIQUE E., 2005). La cicatrisation implique à la fois la

régénération épithéliale et la formation du tissu conjonctif. Il comprend quatre phases en cascade : la phase vasculaire, la phase inflammatoire, la phase de ré-épithérialisation et prolifération cellulaire, et enfin la phase de remodelage.

- L'hémostase est la première réaction de l'organisme en cas de blessure. Il commence par une vasoconstriction rapide pour arrêter le saignement. Ensuite, l'endothélium des vaisseaux lésés exprime des facteurs pro-coagulants à leurs surfaces : le facteur tissulaire (FT), une protéine qui initie la cascade de coagulation. En même temps les cellules endothéliales libèrent des molécules qui activent les plaquettes et les leucocytes comme ICAM (Intercellular Adhesion Molecule), PAF (Platelet Activating Factor), facteurs de Willebrand (WF) et la thrombine (BERRI F., 2014). Les plaquettes activées libèrent le contenu de leurs granules : la thrombospondine, la fibronectine et le facteur plaquettaires, avec d'autres protéines apportées par le sang (fibrinogène, thrombine, facteur Willebrand) qui forment un caillot de fibrine. Le réseau fibrine fibronectine constitue un réservoir nutritionnel local des facteurs de croissance libérés dans la plaie et favorise la migration des cellules inflammatoires (les neutrophiles et macrophages) vers le tissu lésé (<http://medecine-pharmacie.univrouen.fr.>, 2014). Une intégration parfaite des mécanismes hémostatiques permet d'arrêter le saignement (SCHAFF M., 2012).

Les facteurs de croissance et les différents éléments libérés par les plaquettes lors de la phase vasculaire sont les précurseurs de réactions dans les différents stades de la cicatrisation notamment la phase inflammatoire, l'angiogenèse et la phase de remodelage tissulaire. (SCHAFF M., 2012).

- Le processus inflammatoire fait partie intégrante de la cicatrisation de la plaie, la perturbation de ce processus constitue l'une des principales causes de retard de cicatrisation et à la tendance vers une plaie chronique (SUZIE C. et coll., 2008).

La phase inflammatoire est caractérisée par les signes cliniques généraux : rougeur, la chaleur, la tuméfaction, et l'œdème. La rougeur et la chaleur sont provoquées par la vasodilatation, tandis que l'œdème résulte de l'extravasation de protéines plasmatiques suite à une augmentation de la perméabilité des vaisseaux. Le gonflement ou l'œdème comprime les fibres nerveuses locales à l'origine de la douleur (BERARD F., 2011). Le système immunitaire cutané regroupe différents types de cellules résidents (kératinocytes, cellules de Langerhans, fibroblastes, mastocytes, macrophages, cellules endothéliales) et des cellules recrutées (leucocytes). Ce système comprend aussi une grande variété de médiateurs inflammatoires solubles (cytokines, chimiokines). Les cellules du système immunitaire

garantissent la préparation et la formation de la matrice extracellulaire (MEC), et en même temps, ils désinfectent la plaie et contribuent à l'augmentation de la sécrétion des facteurs de croissance (BONNEVILLE M., 2007).

- La phase de ré-épithérialisation et prolifération cellulaire est indispensable pour restaurer la fonction barrière que joue l'épiderme. Elle commence à partir de la matrice extra cellulaire et concerne le derme et l'épiderme. Au niveau du derme, il s'agit d'une croissance des cellules dans le sens vertical à partir de la couche basale, et elle est caractérisée par l'apparition de tissu de granulation. Tandis qu'au niveau de l'épiderme, la croissance se passe dans le sens horizontal (DIANGA B., 2013). Cette phase associe la prolifération fibroblastique et l'angiogenèse garantissant l'approvisionnement du site de la plaie en éléments nutritifs et en différents facteurs de croissance. La contraction des fibroblastes assure par la suite le rapprochement des berges de la plaie et la prolifération de cellules notamment des kératinocytes (LAWRENCE W. T., 1998).

- La phase de remodelage peut durer jusqu'à 2 mois après la fermeture de la plaie, et elle est suivie d'une phase de régression qui peut continuer jusqu'à 2 ans (BEYLOT-BARRY M., 2005). Elle détermine la qualité et l'esthétique de la cicatrice. Les différents tissus s'organisent, mais les cellules inflammatoires (polynucléaires et macrophages) sont toujours présentes (<http://medecine-pharmacie.univrouen.fr>, 2014).

Malgré cette capacité de la peau à se régénérer, les blessures ont besoin d'être traitées. Le traitement des plaies repose sur des soins médicaux classiques comme le traitement occlusif utilisant des pansements et des traitements compressifs (DIANGA B., 2013). Les pansements gras favorisent la détersion des tissus nécrosés. Les topiques anti-infectieux agissent en inhibant la prolifération des germes bactériens pendant la phase inflammatoire et dans la phase d'épithérialisation permettent le développement de tissus de bourgeonnement sain (Flammazine®, Allevyn®). Autres traitements agissent sur la phase d'épithérialisation en maintenant le milieu humide, favorisent la formation et la protection de l'épiderme (Algiste®, Biobrane®) (<https://www.yumpu.com>, 2016).

La flore malagasy compte environ 2300 espèces de plantes dont 90 % utilisées dans la médecine traditionnelle (M.E.F., 2009). L'accès de la population à ces ressources est facilité par le biais des « mpivarotra tapakazo » présents un peu partout. Dans les zones reculées de l'île, loin des médecins, les tradipraticiens font office de docteur. Ils mélangent les connaissances traditionnelles des herboristes et les savoirs des anciens en communiquant avec leurs esprits. Des enquêtes menées auprès de la population de la région d'Andasibe en juillet 2013, et dans la région d'Analamanga révèlent l'étroite relation entre la population et les

plantes médicinales. Pour Andasibe dont la majorité de la population sont des cultivateurs, ils préfèrent se soigner avec des plantes plutôt que d'aller consulter les médecins. Ils ne viennent au CSB qu'en cas de maladie ou d'accidents graves de chantier. Par contre, dans la région d'Analamanga la population est divisée, il y a celle qui est abonnée aux cabinets médicaux et celle qui pratique la médecine traditionnelle, généralement la population des quartiers défavorisés et les gens à faible pouvoir d'achat.

En cas de blessures, les malagasy consultent rarement les médecins, sauf pour les cas graves ou les plaies chroniques. À Andasibe, les tradipraticiens témoignent de l'efficacité de l'utilisation des plantes pour soigner les blessures comme le *satrikoazamaratra*, (*Siegesbeckia orientalis*) dont les feuilles sont mâchées puis appliquées en cataplasme sur la plaie, ou le *talapetraka* (*centella Asiatica*) dont le décocté des feuilles est utilisé pour laver la plaie ou écrasée et appliquée directement en cataplasme. En cas de brûlure, des spécialistes « mpanao ody may » soignent à partir des feuilles de plantes. L'application reste exceptionnelle, elles sont mélangées avec de la salive dans la bouche du tradipraticien, puis le mélange est craché sur la plaie. Malgré la connaissance ambiguë en médecines des guérisseurs, les résultats de leurs traitement sont prouvés et efficaces.

La plante, objet de ce présent mémoire, appartient à la famille des ASTERACEAE. Un arbuste de 4 à 12 m de hauteur, et dont le tronc mesure environ 0,35 m de diamètre. Le décocté obtenu à partir de ses feuilles est utilisé traditionnellement pour soigner les blessures et les maux d'estomac. Ce qui nous amène à l'hypothèse qu'elle pourrait avoir une vertu cicatrisante.

Pour étudier cette propriété cicatrisante, des tests ont été effectués *in vivo* sur des rats Wistar en provoquant des plaies par excision de la peau. La durée et l'activité de l'extrait sur les différentes phases de la cicatrisation a été observés et le temps de fermeture de la plaie notés.

MATERIELS ET METHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait HT15

Les feuilles de la plante, à partir de laquelle a été extraites HT15, ont été collectées dans la région d'Ambohidratrimo au début du mois de janvier 2015. Ces feuilles ont été séchées à l'ombre, dans une salle bien aérée, à la température ambiante pendant deux mois et demi. Ensuite, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON, série 2000), au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LGPC) de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo.

Quatre cent grammes de la poudre obtenue ont été macérées dans un mélange d'éthanol-eau, dans une proportion 60:40, pendant trois jours à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, le macérât a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman. Puis le filtrat a été évaporé à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Evapotec®) à la température de 80°C (figure 1). L'extrait obtenu a été pesé pour calculer le rendement de l'extraction suivant la formule :

$$\text{rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait brut}}{\text{masse de la plante en poudre}} * 100$$

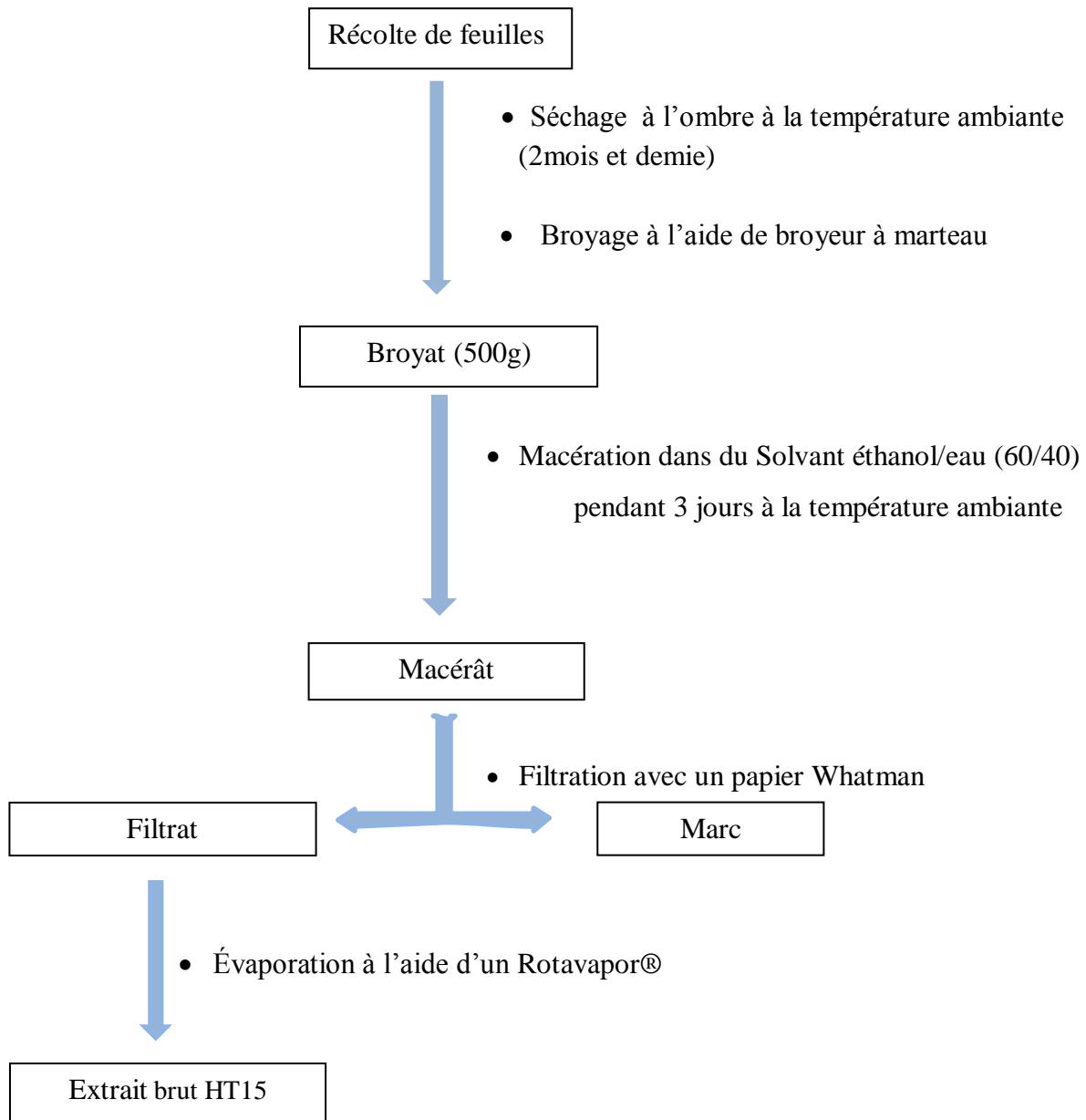


Figure 1. Procédure d'extraction de HT15

2. Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué sur l'extrait HT 15 pour mettre en évidence les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait. Ce test est basé sur la réactivité des réactifs spécifiques avec la famille chimique recherché (tableau II). Cette réaction consiste à une variation de coloration et/ou l'apparition d'un précipité en présence de la famille chimique correspondante (FONG H.H.S. et coll., 1977).

Tableau II. Tests utilisés pour détecter les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait HT 15 (FONG H.H.S. et coll., 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observation
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ MeOH	Précipitation bleue
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES		Gélatine 1 %	précipitation
STÉROÏDES ET TRITERPENES	LIERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ (SO ₄)	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H ₂ (SO ₄)	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		+ 3Volume d'éthanol	trouble
SUCRES RÉDUCTEURS		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	persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) après 30mn

Pour quantifier les familles chimiques présentes dans l'extrait, les signes suivants ont été utilisés :

± : Présence de la famille chimique, en très faible teneur,

+ : Présence de la famille chimique, en faible teneur,

++ : Présence de la famille chimique, en moyenne teneur,

+++ : Présence de la famille chimique, en très forte teneur.

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

Pour étudier l'effet cicatrisant de L'EXTRAIT HT 15, il a été appliqué sous forme de crème eau dans l'huile sur des plaies provoquées chez des rats. Le temps de cicatrisation de la plaie ainsi que la durée des différentes phases de la cicatrisation ont été notés.

1. Préparation de la crème

L'extrait HT15 a été appliqué sous forme de crème de type eau dans l'huile à la concentration de 10 %. La crème est composé de deux phase : la phase grasse, constitué d'huile de tournesol, de cire d'abeille comme épaississante, d'alcool stéarique et d'acide stéarique comme émulsifiants ; la phase aqueuse constituée d'eau distillée dans laquelle du bicarbonate de calcium a été dissout (RIVOAL F. et VIDAL M., 2009).

Pour préparer une crème de poids total de 150 g, les ingrédients et leurs proportions sont résumées dans le tableau III.

Tableau III : liste des ingrédients et leur proportion pour la crème de base.

Phases	Compositions	Proportions
Phase aqueuse	Eau distillée	45 ml
	Bicarbonate	15 g
Phase grasse	Huile de tournesol	90 ml
	Cire d'abeille	9 g
	Alcool stéarique	1.8 g
	Acide stéarique	1.8 g

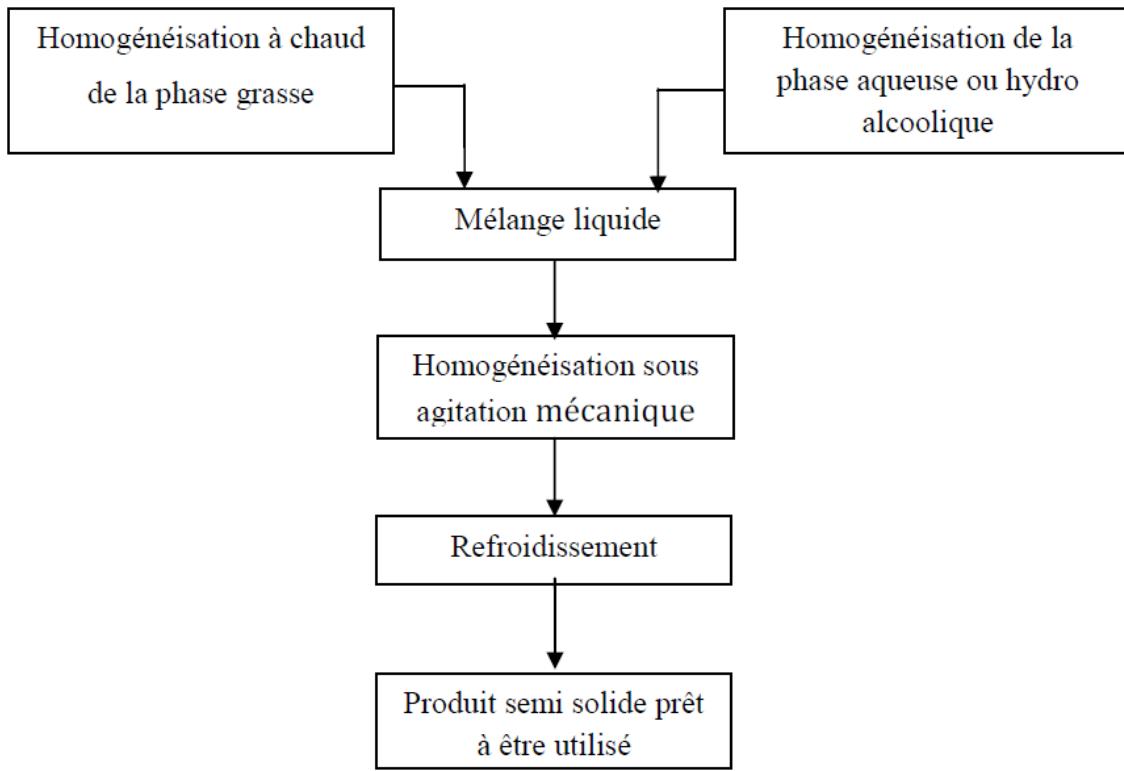


Figure 2 : Procédé de préparation de la crème (RAKOTONIRINA M., 2010).

Pour préparer la crème, l'huile de tournesol, la cire d'abeille, l'acide stéarique et l'alcool stéarique ont été mélangés et chauffés à 80°C dans un récipient. Dans un autre récipient, l'eau et le bicarbonate ont été chauffés à la même température. Ensuite, la phase aqueuse a été versée petit à petit dans la phase grasse maintenue à la température de 80°C en fouettant sans arrêt jusqu'à l'obtention d'une crème homogène et stable (DALLY L. I. et coll., 2007).

Pour préparer la crème à 10 % de HT 15, 10g de l'extrait ont été incorporés dans 90 g de crème de base. Le tout a été homogénéisé pour que l'actif se propage dans toute la crème.

2. Provocation des plaies

Des rats des deux sexes, pesant entre 100 et 150 g, ont été utilisés. Ils ont été élevés à l'animalerie du LPGPC à la température ambiante, et nourris avec de la provende LFL 14/20 avec un accès libre à l'eau.

Les animaux ont été répartis en 2 lots de 3 rats : un lot témoin et un lot traité avec l'extrait. Les animaux du lot témoin ont été traités avec la crème de base, et les animaux de l'autre lot ont été traités avec la crème contenant 10 % de l'extrait HT 15. Cinquante milligramme de

crème ont été appliquées par voie topique sur chaque plaie une fois par jour jusqu'à la fermeture totale de la plaie.

Sur une surface de 8cm² (2 cm suivant la longueur du corps et 4 cm sur sa largeur) à la base de la nuque des animaux, les poils des animaux ont été coupés à deux millimètre, puis ils ont été épilés à l'aide de cire d'épilation tiède appliquée sur des bandelettes.

Ensuite, les rats ont été anesthésiés avec de l'éther diéthylique par inhalation. Deux plaies circulaires ont été provoquées au niveau de la partie épilée du dos de l'animal de part et d'autre de la colonne vertébrale à l'aide d'un dispositif tranchant (lame de rasoir et un dispositif de soutien) circulaire de 10 mm de diamètre. L'incision a été arrêtée avant d'atteindre les muscles sous-jacents l'hypoderme. La peau incisée a ensuite été enlevée en utilisant une paire de ciseaux fine.

3. Étude de l'effet cicatrisant de HT15

Vingt-quatre heures après la provocation des plaies, la crème a été appliquée sur la plaie, et l'évolution de la cicatrisation a été suivie tous les jours à la même heure, en observant l'état des plaies et en mesurant leur surface.

Avant l'application de la crème, un coton imbibé d'eau a été appliqué sur la croûte pendant une minute pour la ramollir. Ensuite la croûte a été soigneusement grattée jusqu'à ce qu'elle se détache de la surface de la plaie, et enfin la plaie a été nettoyée à l'aide d'un coton imbibé d'eau (<http://www.acanthes.net>, 2015). Après le nettoyage, la crème a été appliquée sur la plaie par un léger massage circulaire pour qu'elle adhère bien.

a. Étude de l'effet de HT 15 sur la vitesse de cicatrisation

Les diamètres des plaies ont été mesurés tous les matins à la même heure par planimétrie directe. Cette méthode consiste à placer un papier millimétré transparent sur la plaie puis à suivre son pourtour à l'aide d'un crayon (MANOJ G.S. et MURUGAN K., 2012). La vitesse de cicatrisation a été calculée par la formule :

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

Avec V : vitesse de la contraction de la plaie (mm²/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 de la plaie au jour d'avant

T_n : Temps de la plaie au jour n.

b. Étude de l'effet de HT 15 sur la contraction de la berge des plaies

La diminution de la surface de la plaie a été calculée par planimétrie directe (SADAF F. et coll., 2006). Cette diminution a été exprimée en pourcentage, suivant la formule :

$$P (\%) = \text{pourcentage } J_0 - \text{pourcentage } J_n$$

$$P (\%) = 100 \% - \left(\frac{S_n}{S_0} \times 100 \right)$$

S_n : surface de la plaie au jour n

S_0 : surface de la plaie à j0.

c. Étude de l'effet de HT15 sur les différentes phases de la cicatrisation

L'effet cicatrisant de l'extrait HT15 10 % a été étudié en observant l'état des plaies tous les jours. Les deux phases de la cicatrisation ont été particulièrement prises en considération : la durée de la phase d'inflammation et le temps d'apparition des tissus de granulation dans la phase de réépithérialisation. Tous les changements au cours de l'évolution des plaies ont été observés : la texture, la structure, l'aspect, le contour et le diamètre de la plaie. Ils ont été notés, pris en photo et comparés chez les deux lots.

C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RESULTATS

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les moyennes ont été comparées entre elles en utilisant le test « t » de Student. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative (NDIAYE M. et coll., 2006).

RÉSULTATS

A. PARTIE CHIMIQUE

L'évaporation à sec du filtrat hydroalcoolique obtenue à partir 400 g de poudre de feuille a donné 45 g d'extrait HT 15, soit un rendement de 11,25 %. Le criblage phytochimique effectué sur HT 15 révèle la présence de Tanins et Alcaloïdes en très forte teneur ; des composés phénoliques à forte teneur ; des stéroïdes, terpènes, polysaccharides, sucres réducteurs en teneur moyenne; et des flavonoïdes à faible teneur (Tableau IV).

Tableau IV : les familles chimiques présentes dans HT 15

Familles chimiques	Teneur
Alcaloïdes	+++
Tanins	+++
Composés phénoliques	++
Stéroïde et terpènes	+
Polysaccharides	+
Sucre réducteur	+
Flavonoïdes	±

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Effet de HT15 sur la vitesse de cicatrisation.

La vitesse de cicatrisation a été évaluée par la contraction de la surface de la plaie en fonction du temps. Les résultats montrent que les plaies des animaux traités avec l'extrait se cicatrisent plus vite que celles des animaux du lot témoin. La vitesse de contraction est maximale au quatrième jour avec $9,4 \pm 0,2 \text{ mm}^2/\text{j}$ pour le lot traité, contre $7,73 \pm 1,3 \text{ mm}^2/\text{j}$ pour le lot témoin ($p < 0,05$) (figure 3).

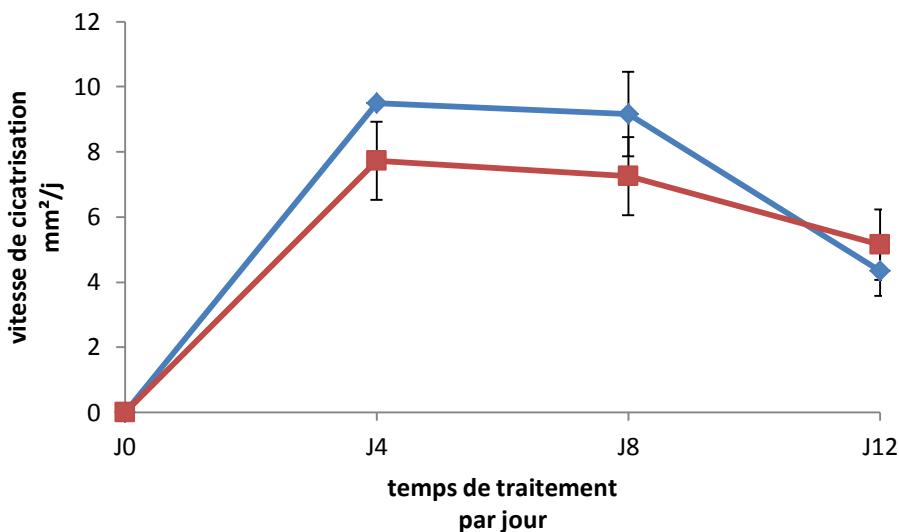


Figure 3. Vitesse de cicatrisation des plaies traitées avec 50 mg de la crème HT 15 10 % (—●—) par rapport aux plaies témoins traitées avec 50 mg de la crème de base (—■—) par application topique une fois par jour ($m \pm e.s.m$; $n = 4$; $p < 0,05$)

L'observation macroscopique des plaies des rats pendant le temps de traitement montre que les plaies des rats traités à l'extrait HT 15 se ferment plus vite que chez les rats du lot témoin. Les plaies traitées avec 50 mg de HT 15 10 % sont fermées au quatorzième jour contre dix-huit pour les plaies traitées avec la crème de base (figure 4).

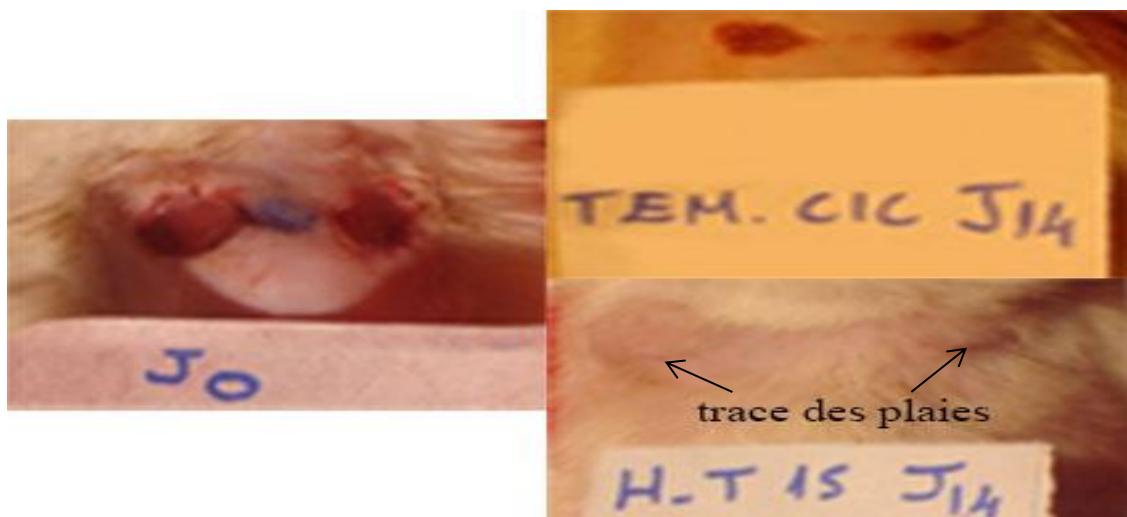


Figure 4. État des plaies J0 (après excision) et J14 plaies fermées pour le lot traité avec HT15 10 %, en phase d'épidémisation pour les témoins.

2. Effet de HT 15 sur la contraction de la berge des plaies

L'application topique de la crème à dose unique de 50 mg provoque une cicatrisation plus rapide pour le lot traité avec l'extrait HT 15 10 % par rapport au témoin. Les plaies se contractent de 50 % au cinquième jour pour le lot traité avec l'extrait contre septième jour pour le lot témoin. Quatorze jours après le début du traitement, les plaies traitées avec HT 15 sont fermés, contre 18 jours pour les animaux témoins (figure 5).

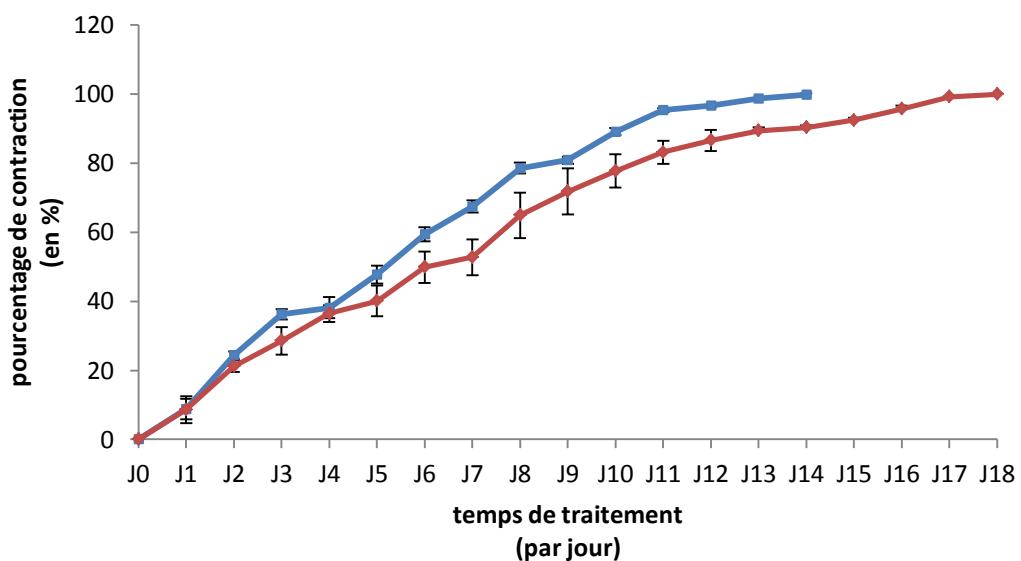


Figure 5. Contraction des berges des plaies traitées avec 50 mg de crème HT 15 10 % (—) et des plaies traitées avec 50 mg de crème de base (—) par application topique une fois par jour ($m \pm e.s.m$; $n = 4$; $p < 0,05$).

3. Effet de HT 15 10% pendant la phase d'inflammation

Les signes généraux de la phase inflammatoire sont observés chez les deux lots. L'œdème du pourtour de la plaie, la rougeur autour de la surface de la plaie et la douleur que ressent l'animal lors des nettoyages des plaies.

Par ces signes, la phase inflammatoire ne dure que trois jours chez les animaux traités avec la crème HT 15 10 %, alors qu'elle dure six jours chez les animaux du lot témoin. Au troisième jour, les plaies des rats témoins sont suintantes et infectées, l'œdème et la rougeur sont accentués, leur contour est irrégulier. Par contre les plaies des animaux du lot traité avec la crème contenant 10 % de HT15 sont sèches et propres, avec des boursouflures sur le bord. (figure 6.).

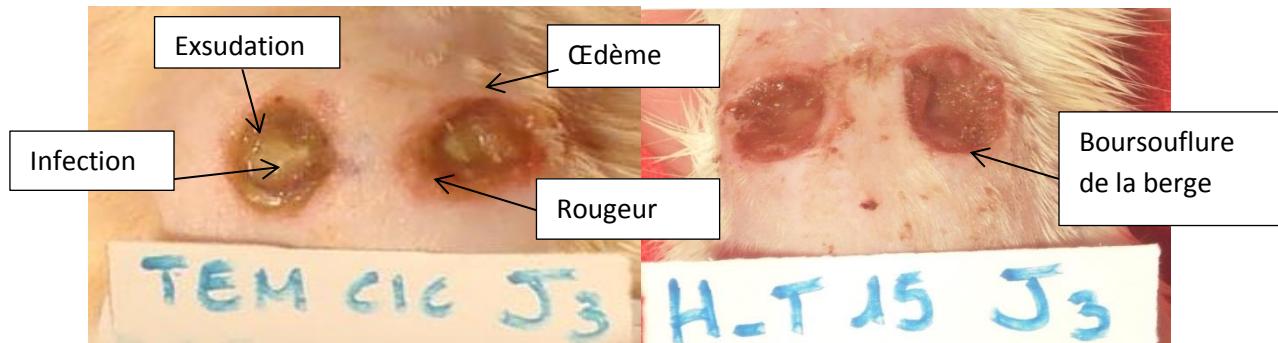


Figure 6. Etat des plaies, témoin à gauche et traité avec HT15 à droite, pendant la phase inflammatoire.

4. Effet de HT 15 10 % sur la phase de prolifération cellulaire

La phase de bourgeonnement a été évaluée par la présence des granules sur la plaie. Cette phase proliférative commence tout de suite après la phase inflammatoire. Les plaies sont sèches et de couleur rouge vive et ont un aspect granuleux pour les deux lots. Le tissu de granulation commence à se former dès le troisième jour et une fine croûte commence à couvrir la plaie du lot traité. Chez le lot témoin, le tissu de granulation n'apparaît qu'au sixième jour, tandis que la plaie traitée avec HT15 est recouverte d'une épaisse couche de fibrine et la berge de la plaie commence à se contracter (figure 7).

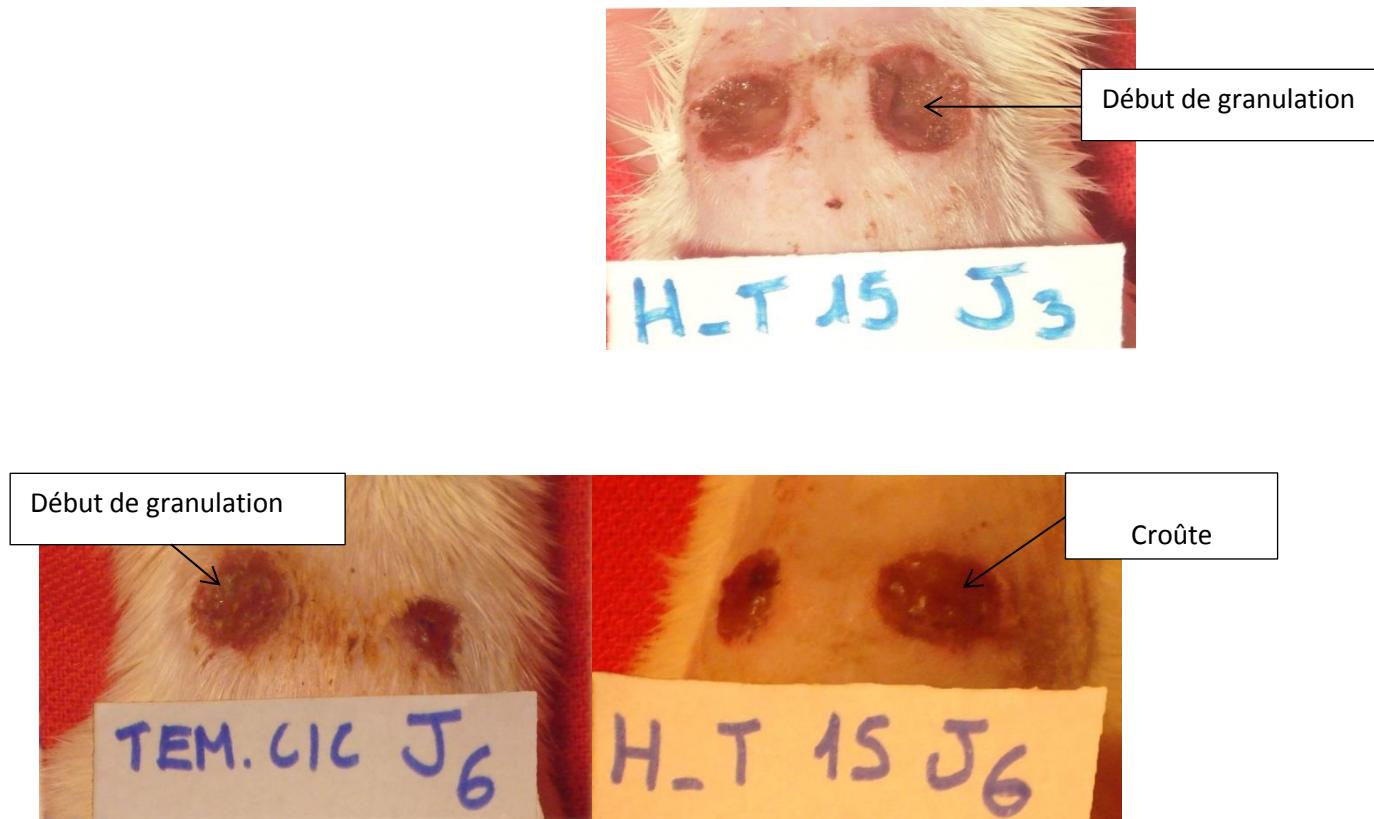


Figure 7. Etat des plaies pendant la phase de prolifération, par-dessus à droite début de granulation chez le rat traité HT15 10 % J3 et en dessous à gauche début de granulation chez le témoin J6 à droite aspect des plaies traité au même jour.

DISCUSSION

Le but de ce mémoire a été d'étudier l'activité d'une plante utilisée comme cicatrisante dans la région d'Analamanga. L'extrait de cette plante a été appliqué sous forme de crème à la concentration de 10 % sur des plaies expérimentales chez les rats.

Une crème eau dans huile a été choisie car cela garde la plaie humide, ce qui permet aux cellules de se multiplier et de migrer plus rapidement (WIGGER-ALBERTI W. et coll., 1997). Nos résultats montrent que l'extrait accélère la fermeture des plaies et raccourcit la durée de la phase inflammatoire.

La vitesse de cicatrisation des plaies traitées avec HT 15 10 % est nettement plus élevée par rapport à la contraction des plaies du lot témoin. Les plaies se ferment au quatorzième jour contre dix-huit chez le lot témoin. Cette différence pourrait être le résultat de la diminution de la durée de la phase inflammatoire des plaies traitées avec l'extrait par rapport à celles du lot témoin.

En effet, les signes qui caractérisent la phase inflammatoire apparaissent au deuxième jour. Chez le lot traité, ils continuent au troisième jour et les plaies sont saines alors que pour le lot témoin, les signes persistent jusqu'au sixième jour et les plaies présentent des infections. Selon la littérature plus le temps de la phase inflammatoire est court plus la plaie se cicatrice vite. L'élimination des micro-organismes pendant cette phase favorise la formation de la matrice extracellulaire permettant la migration des cellules, ainsi la réparation de la structure lésée (DESMOILIÈRE A. et GABBIANI G., 1996). Le temps de la phase inflammatoire nous permet d'avancer l'hypothèse que l'extrait posséderait des propriétés anti-inflammatoires. Cette activité pourrait être due à la présence des molécules chimiques comme les tanins, les flavonoïdes et les polysaccharides dans l'extrait, comme dans les travaux de BORGI W. et coll., (2007) sur l'écorce des racines de *Zizyphus lotus*. De même BRUNETON J. en 1993 suggère que l'absence d'infection serait due à l'activité des polysaccharides. D'autres travaux rapportent l'effet pharmacologique probable des propriétés anti-inflammatoire et cicatrisante des flavonoïdes qui serait une inhibition de l'effet de la peroxydation lipidique un facteur qui retarde la phase inflammatoire (GETIE M. et coll., 2002).

Le tissu de granulation du lot traité à la crème contenant 10 % de l'EHA HT15 apparaît dès le troisième jour de traitement contre six jours pour le lot témoin, les plaies prennent une couleur rouge vive. Ce qui nous permet de dire que l'extrait favoriserait la formation de tissus de granulation. En effet, la formation des granulations est le résultat de la prolifération des fibroblastes, angiogenèse et synthèse de la matrice extracellulaire, le tissu de granulation est

contractile, ils rapprochent petit à petit la berge de la plaie favorisant aussi l'épithérialisation (LAWRENCE W.T. 1998).

L'extrait contient plusieurs molécules qui pourraient donner à la plante ses vertus cicatrisantes comme les tanins, les flavonoïdes, les polysaccharides et les polyphénols. Différents travaux ont été menés pour justifier l'activité de ces molécules mais l'hypothèse de l'activité synergique de ces molécules sur le processus de cicatrisation serait à tenir compte.

CONCLUSION

D'après nos résultats, l'extrait hydroalcoolique de la feuille de HT 15 possède une activité cicatrisante. Il diminue le temps de cicatrisation en raccourcissant la phase inflammatoire et favorise l'épithérialisation. Ces activités pourraient être dues à la présence des polysaccharides, tanins, polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait.

BIBLIOGRAPHIE

BERARD F. (2011).

La réponse inflammatoire.

UFR Lyon Sud, n° 3. pp. 3.

BERRI F. (2014).

Rôle de l'hémostase dans l'inflammation induite par les virus influenza A.

Thèse de doctorat, biologie moléculaire intégrative et cellulaire. Université Claude Bernard Lyon1. Pp. 35.

BEYLOT-BARRY M. (2005).

Comprendre la peau, Les grandes fonctions de la peau.

Ann. Dermatol. Venereol., **132**: 49-68.

BONNEVILLE M. (2007).

Physiopathologie de l'inflammation cutanée : rôle de l'activation de l'immunité innée cutanée dans le développement de l'eczéma allergique de contact.

Thèse de doctorat, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON (1), pp 10.

BOQUET E. (2010).

Brûlure et plaie.

Ed. Loiret. Sssm 45. France. 1-10.

BORGI W., BOURAOUI A., CHOUCHANE N., (2007).

Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.)

J. Ethnopharmacol., **12**: 228-231.

BRUNETON J. (1993).

Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales.

Ed. Lavoisier TEC et DOC, Paris. **2**. pp. 915.

DALLY L. I., COULIBALY S., ANGNIMEL L. H., BAMBA M. (2007).

Formulation, contrôle galénique, toxicologique et essai biogalénique d'une crème à activité cicatrisante à base de feuilles fraîches de *Baphianitida* (PAPILIONACEES).

J. Sci. Pharm. Biol., **8**(1): 34-3.

DARRE T. (2014).

Effet topique de l'extrait hydro-ethanolique de l'*acacia nilotica* sur la cicatrisation cutanée des brûlures de second degré.

J. Sci. Eur., **10**, (30) : 213-221.

DESMOILIÈRE A., GABBIANI G. (1996).

The molecular and cellular biology of wound repair

Ed. Clark R. A. F., 2nd ed., New York, chp3: 391-423.

DIEGELMANN R.F. (2004).

Les fondamentaux de la cicatrisation des plaies : escarres, fibrose et obstacles à la cicatrisation.

JPC, Juin 2004, tome IX : 51-56.

DIANGA B. (2013).

Cicatrices appliquées à la chirurgie esthétique et reconstructrices mammaire : agent cicatrisant et conseil à l'officine.

Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie, ROUEN. 40-46.

DOMINIQUE E. (2005).

La préparation du lit de la plaie.

Université de Montpellier I, Faculté de médecine : pp. 7.

FONG H.H.S., TINWAN, FARNSWORTH N. R. (1977).

Phytochemical Screening.

College of Pharmacy University of Illinois Chicago. USA: **275**: 6-7.

GETIE M., GEBRE-MARIAM T., RIETZ R., HOHNE C., HUSCHAKA C., SCHMIDTKE M., ABATE A., NEUBERT R H. (2002).

Evaluation of anti-microbial and anti-inflammatory activities of medicinal plants *Dodonasa viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex ayssinicus*.

Fitoterapia., **74** (1): 139-143.

HAMEL D., TREMBLAY B., NOLIN B., GOULET C., PATRY P. (2012).

Étude des blessures subies au cours de la pratique d'activités récréatives et sportives au Québec en 2009-2010.

Direction de l'analyse et de l'évaluation des systèmes de soins et services, Québec. pp 1.

LAWRENCE W.T. (1998).

Physiology of the acute wound. .

Clin. Plast. Surg., **25**: 40-321.

LIU H. (2012).

Caractérisation de tissus cutanés cicatriciels hypertrophiques par spectroscopie multi-modalités in vivo : instrumentation, extraction et classification de données multidimensionnelles.

Thèse de doctorat de l'Université de Lorraine. 1-3.

MANOJ G.S., MURUGAN K. (2012).

Wound healing activity of methanolic and aqueous extract of *Plagiochila beddomei* Steph. Thallus in rat model.

Indian J. Exp. Biol., Vol. **50**, pp. 551-558.

MENKE M.N., MENKE N.B., BOARDMAN C.H., DIEGELMANN R.F. (2008).

Biologic therapeutic and molecular profiling to optimize wound healing.

Gynecologic oncology 111, S87-S91.

M.E.F. (Ministère d'environnement et foret), (2009).

Quatrième rapport national sur la diversité biologique de Madagascar.

Rev. 92-95.

NDIAYE M., SY G., DIEYE A.M., TOURE M.T., FAYE B. (2006).

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine.

Pharm. Méd. Trad. Afr., **Vol. XIV**, p. 179-186.

RAKOTONIRINA M. (2010).

Formulation d'une pommade à base de plante médicinale et d'huiles essentielles contre les varices.

Mémoire d'ingénierat, génie chimie. Antananarivo. pp. 26.

RAZAFINDRAKOTO R.M.J., RAKOTOARISOA A.H.N., RANDRIANANDRAINA M.P., RAKOTOARISON R.A., RAZANAKOTO G.F.A., RAKOTO F.A. (2011).

Etude épidémio-clinique des plaies faciales traumatiques au Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo.

Revue d'odontostomatologie malgache en ligne ISSN 2220-069X2014 ; Volume 8 : p. 9-21.

RIVOAL F., VIDAL M. (2009).

Les cosmétiques ou produits d'hygiène corporelle.

Lycée Saint Louis- Bordeaux. 7-8.

SADAF F., SALEEM R., AHMED M. (2006).

Healing potential of cream containing extract of *Sphaeranthus indicus* on dermal wounds in Guinea pigs.

J. Ethnopharmacol., **107**: 3-161.

SCHAFF M. (2012).

Etude des mécanismes d'adhérence et d'activation des plaquettes sanguines appliquée à l'identification de nouvelles cibles thrombotiques plus sûres.

Thèse pour obtenir le grade de Docteur, Université de Strasbourg. 22-106.

SUZIE C., VOWDEN P., MOFFATT C. (2008).

Plaies difficiles à cicatriser: une approche globale.

MEP, LTD Londres Royaume unis. pp 3.

WIGGER-ALBERTI W., MARAFFIO B., WERNLI M, ELSNER P. (1997).

Self-application of a protective cream. Pitfalls of occupational skin protection.

Arch. Dermatol. 1997; **133**: 4-861.

WEBOGRAPHIE :

<http://www.statcan.gc.ca/pub/82-624-x/2011001/article/11506-fra.htm> (2016).

Les blessures au Canada : Un aperçu des résultats de l'Enquête sur la santé dans les collectivités canadiennes.

http://www.acanthes.net/PDF/chirurgie_peau (2015).

ACANTHES : une chirurgie de la peau

http://medecine-pharmacie.univrouen.fr/servlet/com.univ.collaboratif.utils.LectureFichiergw?ID_FICHIER=15858 (2014).

CEDEF : Cicatrisation cutanée

<https://www.yumpu.com/fr/document/view/7107620/guide-des-soins-de-plaies-smith-amp-nephew> (2016).

Guide des soins des plaies

ÉTUDE DE L'ACTIVITE CICATRISANTE DE L'EXTRAIT HT 15 CHEZ LE RAT

Auteur : TANGUY Onimpandresena
Lot : II I 84 A Alarobia Amboniloha
Tel : 034 85 528 65
Année : 2014-2015
Rapporteur : RANDRIANAVONY Patricia
Professeur titulaire

Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et Cosmétologie
B.P : 8351
e-mail : randrianavonypatricia@yahoo.com
Domaine des Sciences et Technologies
Université d'Antananarivo

RESUME

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'activité cicatrisante de l'extrait HT15 appliqué sous forme de crème 10% sur des plaies expérimentales chez les rats. La surface des plaies a été mesurée par planimétrie directe, la vitesse de cicatrisation a été calculée à partir de la surface des plaies par rapport au temps, et leur évolution a été observée macroscopiquement. La crème à 10% de l'extrait HT 15 augmente la vitesse de cicatrisation des plaies de $7,73 \pm 1,3 \text{ mm}^2/\text{j}$ chez les témoins à $9,4 \pm 0,2 \text{ mm}^2/\text{j}$ chez les animaux traités avec l'extrait ($p < 0,05$). Les plaies traitées avec la crème contenant HT 15 se ferment après 14 jours de traitement contre 18 jours pour les témoins ($p < 0,05$). L'extrait HT 15 diminue la phase inflammatoire, accélère l'apparition des tissus de granulation. Ces résultats montrent que l'extrait HT 15 possède une activité cicatrisante. Cette activité serait due à la présence des flavonoïdes, polyphénols, et des polysaccharides.

Mots clés : cicatrisation, plaies d'excision, inflammation, rat

ABSTRACT

The wound healing activity of the cream form of HT15 extract was studied in rats. The cream used contained 10% HT15 extract and was topically applied on the rats wound. The surface area of wound was measured by direct planimetry, the rate of wound healing was calculated from the measured wound surface area over time, and evolution of the healing process was observed macroscopically. The 10% HT15 extract cream increases the rate of wound healing from $7.73 \pm 1.3 \text{ mm}^2/\text{day}$ in the control group to $9.4 \pm 0.2 \text{ mm}^2/\text{day}$ in the treated group ($p < 0.05$). Wounds treated with the 10% HT15 extract cream closed after 14 days whereas closure was after 18 days in the control group ($p < 0.05$). The 10% HT15 extract cream decreases inflammatory phase and accelerates the onset of granulation tissue. These results show that the 10% HT15 extract cream form exhibits wound healing activity. This wound healing activity could be attributed to the flavonoids, polyphenols and polysaccharides present in the HT15 extract.

Keywords: wound healing, excision wounds, inflammation, rat