

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA de Bejaia

Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée.



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet cicatrisant d'une formule
pharmacologique à base de l'extrait
éthanolique de *Populus nigra***

Présenté par :

HIMI Haroune & TAOUACHE Nadjat

Soutenu le : **14/07/2022**

Devant le jury composé de :

M. Tacherfiout M	MCB	Président
Mme. Benloukil M	MAA	Encadrante
Mme. Kadji-Djoudad H	MCA	Examinatrice
Melle. Atia Amina	Doctorante	Invitée

Promotion 2021/2022

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds tous d'abord au bon dieu le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage, volonté et surtout patience pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement et très particulièrement notre promotrice Mlle Benloukil Malika de nous avoir encadrée et dirigée durant la réalisation de ce travail avec une grande rigueur scientifique ; merci madame pour tout le savoir que vous nous avez transmis, pour les commentaires qui ont enrichis ce travail que ce soit la partie expérimentation ou rédaction.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury pour leur collaboration à l'examinations de ce travail, Mr Tacherfiout et Mme Kadji.

On remercie vivement la doctorante mlle Atia Amina, pour son extrême gentillesse, son aide, ses conseils, sa disponibilité tout le long de notre travail et pour le partage de ses expériences,

Nos remerciements sont destinés à Mlle Tabti Naima, l'ingénieure du laboratoire Biologie Physico-Chimique (BPC) pour son aide et ses conseils.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier tous les membres de nos familles et nos amis pour leur soutien, encouragement et pour l'énergie positive qu'ils transmettent toujours.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

**** MERCI POUR TOUT ****

Haroune & Nadjjet

Dédicaces

C'est avec l'aide et la grâce du Dieu qu'on a achevé ce modeste travail que je dédie :

A mes Chers parents qui ne cessent de m'encourager et de prier pour moi, que Dieux vous garde longtemps près de moi. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé. Leur fierté à mon égard est aujourd'hui pour moi la meilleure des récompenses

A ma grande sœur Meriem et mon neveu « TIKOU », ainsi que mes deux frères : ZAK et Raouf.

A toute la famille : mes grand parents, tantes, oncles, cousins, cousines.

A tout mes amis.

A tous ceux que j'aime et que j'estime.

A ma binôme Taouache Nadjjet, avec qui j'ai partagé toutes les étapes menant à la naissance de ce travail.

A l'ensemble des personnes qui m'ont aidé durant la réalisation de ce travail, et qui m'ont soutenu moralement.

Haroune

Dédicaces

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'accorder son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude

A mes parents

Aucun mot ne serait exprimé mon amour, mon affection et ma grande considération pour vous, pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation, instruction et être.

A mes très chers frères Samir et Walid.

A toute ma chère famille « TAOUACHE » et à ma chère grand-mère.

A mon binôme HIMI Haroune, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments malgré toutes les difficultés et les souffrances qu'on a passé.

A toutes mes copines, avec lesquelles j'ai passé des moments inoubliables et agréables : Wissem, Fahima, Lilia, ainsi que leurs familles respectives.

A toutes mes amies Nesrine, Hadda, Sarah.....qui m'ont toujours encouragé durant la période de mémoire.

A tous (tes) mes amis (es) de la promotion de Biologie Appliquée.

Ainsi à tous ceux ou celles qui m'ont apporté leur soutien, réconfort moral et à leur contribution dans l'élaboration de ce mémoire.

Nadjet

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION.....1

*****Partie I : Synthèse Bibliographique*****

Chapitre I : STRUCTURE ET ANATOMIE DE LA PEAU

I.1-Epiderme.....4

I.1-1-Population cellulaire de l'épiderme.....5

I-2-Derme.....6

I.2-1-Population cellulaire du derme.....6

I.3-- Hypoderme7

I.4-Follicules pileux et poils.....7

I.5-Ongles, griffes, sabots.....7

I.6-Innervation cutanée8

I.7-Vascularisation de la peau.....8

I.8-Fonctions et rôles physiologiques de la peau.....9

Chapitre II : INFLAMMATION ET CICATRISATION

II.1-INFLAMMATION.....11

II.1-1-Types d'inflammation11

II.1-2- Facteurs qui déclenchent la réaction inflammatoire.....11

II.1-3-Processus de la réaction inflammatoire.....11

II.1-4-Phases de la réaction inflammatoire.....12

II.1-5-Principales cellules et médiateurs de l'inflammation.....12

II.2CICATRISATION.....13

II.2-1-Cicatrisation dermo-épidermique normale.....14

II.2-1-1-Phase inflammatoire et vasculaire.....14

II.2-1-2-Phase de réparation tissulaire.....14

II.2-1-3-Phase de remodelage et de maturation.....14

II.2-2-Cicatrisation pathologique.....15

II.2-2-1-Cicatrisation hypertrophique.....	15
II.2-2-2-Cicatrisation rétractile.....	15

Chapitre III : TRAITEMENTS

III.1-MADECASSOL	17
III.2- <i>Populus nigra</i>	18
III.2-1-Description botanique, distribution et classification.....	18
III.2-2-Composition phyto-chimique	19
III.3-Propriétés et usages thérapeutique.....	19

******Partie II expérimentale******

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES

I.1-MATERIEL

I.1-1- <i>Populus nigra</i>	22
I.1-2-Animaux	22

I.2-METHODES

I.2-1-Etude de l'effet cicatrisant de l'extrait de bourgeons de <i>P.nigra</i>	24
I.2-1-1-Préparation de l'extrait de <i>P.nigra</i>	24
I.2-1-2-Préparation de la formule pharmacologique.....	24
I.2-1-3-Induction et traitement des plaies.....	25
I.2-2-Evaluation de la cicatrisation.....	25
I.2-3-Etude des activités enzymatiques.....	27
I.2-3-1-Mesure de l'activité de la SOD.....	27
I.2-3-2-Mesure de l'activité de la Catalase.....	28
I.2-4-Etude de la toxicité.....	28
I.2-4-1-Dosage sanguin des transaminases.....	28
I.2-4-2-Coupes histologiques.....	29
I.3-Analyses statistiques	29

Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1-Influence des différents traitements sur la surface des plaies.....	31
II.2-Evolution des pourcentages de cicatrisation des plaies.....	32

II.3-Analyses des scores d'érythème et d'exsudat.....	34
II.4-Influence des traitements sur le poids relatif du foie des rats.....	37
II.5-Etude des activités enzymatiques.....	38
II.6-Evaluation de la toxicité	42
II.6-1-Analyse du dosage des transaminases.....	43
II.6-2-Coupes histologiques.....	44
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	51
GLOSSIRE.....	55
ANNEXES.....	56
RESUME.....	58

Liste des abréviations

AA : acide arachidonique.

ALAT : Alanine aminotransférase.

ANOVA : analyse of variance.

ASAT : Aspartate aminotransférase.

BSA: Bovine serum albumin.

CAT : catalase.

COX : cyclooxygénases.

CYP450 : cytochrome p450.

E : Excipient.

HE: Hématoxyline-éosine.

IL-1: Interleukine 1.

IL-6: Interleukine 6.

LOX : lypooxygénases.

NAD⁺ : Forme oxydée du nicotinamide adénine dinucléotide.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide.

PLA 2: phosphalipase 2.

PGE : prostaglandines E2.

P. nigra: *Populus nigra*.

P10% : pommade à 10%.

P20% : pommade à 20%.

Rpm : rotation par minutes.

SEM : Erreur standard de la mesure.

SOD : superoxyde dismutase.

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale.

Tris-HCL : Tris hydrochloride.

UV : ultrat-violet.

UI: Unité internationale.

Liste des figures

Figure 01 : Structure de la peau.....	4
Figure 02 : Différentes cellules de l'épiderme.....	5
Figure 03 : Vascularisation de la peau.....	8
Figure 04 : Synthèse des prostaglandines et leucotriènes à partir de l'acide arachidonique	12
Figure 05 : Médiateurs et évènements cellulaires d'une réaction inflammatoire aigue	13
Figure 06 : Etapes de la cicatrisation.....	15
Figure 07 : Photographie de l'arbre et de bourgeons de <i>P.nigra</i>	18
Figure 08 : Photographie d'élevage des rats au sein de l'animalerie	22
Figure 09 : Etapes de préparation de l'extrait	24
Figure 10 : Pommade fabriquée à base d'extraits de bourgeons de <i>P.nigra</i>	25
Figure 11 : Etapes d'induction des plaies.....	26
Figure 12 : Evolution de la surface des plaies (cm ²) des différents lots en fonction du temps.....	31
Figure 13 : Pourcentage de cicatrisation des plaies en fonction du temps.....	32
Figure 14 : Evolution de la cicatrisation des plaies des différents lots au cours du temps.....	35
Figure 15 : Variation des scores d'érythème des différents lots après 20 jours de traitement.....	35
Figure 16 : Variation des scores d'exsudat selon les différents lots après 20 jours de traitement	36
Figure 17 : Variation du poids relatif du foie des rats de chaque lot au 14 ^e et 20 ^e jour.....	37
Figure 18 : Effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de <i>P.nigra</i> sur l'activité de la SOD en fonction des différents lots après 14 et 20 jours de traitement	39
Figure 19 : Effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de <i>P.nigra</i> sur l'activité de la catalase en fonction des différents lots après 14 et 20 jours de traitement	40
Figure 20 : Variation du taux d'ASAT et d'ALAT en fonction des différents lots après 14 et 20 jours de traitement.....	43
Figure 21 : Observation microscopique des coupes du foie chez les rats des différents lots.....	45
Figure 22 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines par la méthode de Bradford	56

Liste des tableaux

Tableau I : Rôles physiologiques de la peau.....	9
Tableau II : Principales différences entre l'inflammation aigue et chronique.....	11
Tableau III : Classification de la plante étudiée.....	19
Tableau IV : Liste des appareillages et produits chimiques utilisés.....	57
Tableau V : Répartition des dix lots d'animaux.....	25
Tableau VI : Paramètres d'évaluation de l'érythème et de l'exsudat.....	26

Introduction

Notre organisme est exposé à plusieurs agressions infectieuses, notamment les agressions cutanées dont la peau est la première barrière protectrice contre ces dernières ; qui est à l'origine d'un phénomène de remaniement nommé « la cicatrisation », qui a pour but d'aboutir à une restitution optimale de son intégrité (**Chaput et al., 2012**).

L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes connues dans la médecine traditionnelle telles que les salicacées. Ces plantes représentent une bonne source de composés actifs (**Teixeira da Silva, 2004**).

Populus nigra dite peuplier noir, est une plante issue de la famille des salicacées, riche en métabolites secondaires et largement utilisée en phytothérapie traditionnelle (**Fournier, 2010**). Les études antérieures ont montré que cette plante possède des activités biologiques importantes telles que l'activité antibactérienne (**Vardar-Ünlü et al., 2008**), anti-inflammatoire (**Karawya et al., 2010**) et antioxydant (**Warnant et al., 2004**).

La gemmothérapie se définit comme étant une thérapie, utilisant les bourgeons des plantes, partant du principe que ces derniers regroupent toutes les caractéristiques de la plante entière (**Hage et al., 2017**).

L'utilisation des bourgeons du peuplier noir remonte à plusieurs siècles pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques telles que diurétique, éliminateur d'acide urique, aseptisant et fluidifiant des sécrétions bronchiques (**Beloued, 2001**). Ils ont toujours été recommandés dans les maladies pulmonaires, urinaires et dans les rhumatismes chroniques (**Dudonné et al., 2011**).

Ainsi, ce présent travail vise à évaluer l'effet cicatrisant *in vivo* des polyphénols des bourgeons de *P. nigra* chez les rats de laboratoire « WISTAR » à différentes concentrations.

Partie I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Structure et anatomie de la peau

I. Structure et anatomie de la peau

La peau est un organe à part entière, qui remplit de nombreuses fonctions essentielles à la vie de l'animal: sensorielle, métabolique, d'échanges, de thermorégulation et d'autoréparation ou cicatrisation. Elle est à l'interface entre l'organisme et son environnement, elle représente l'organe le plus important en poids, mais aussi, après la surface totale des alvéoles pulmonaires, l'organe le plus étalé en contact avec le milieu extérieur (**Chalvet-Rochemonteix, 2009**).

La peau est constituée de trois couches superposées (**Figure 01**) : l'épiderme, le derme et selon les auteurs l'hypoderme. Il s'agit d'une structure hétérogène dans laquelle on retrouve des cellules Épithéliales, mais aussi, des cellules conjonctives, musculaires, vasculaires et nerveuses (**Gilberg, 2002**).

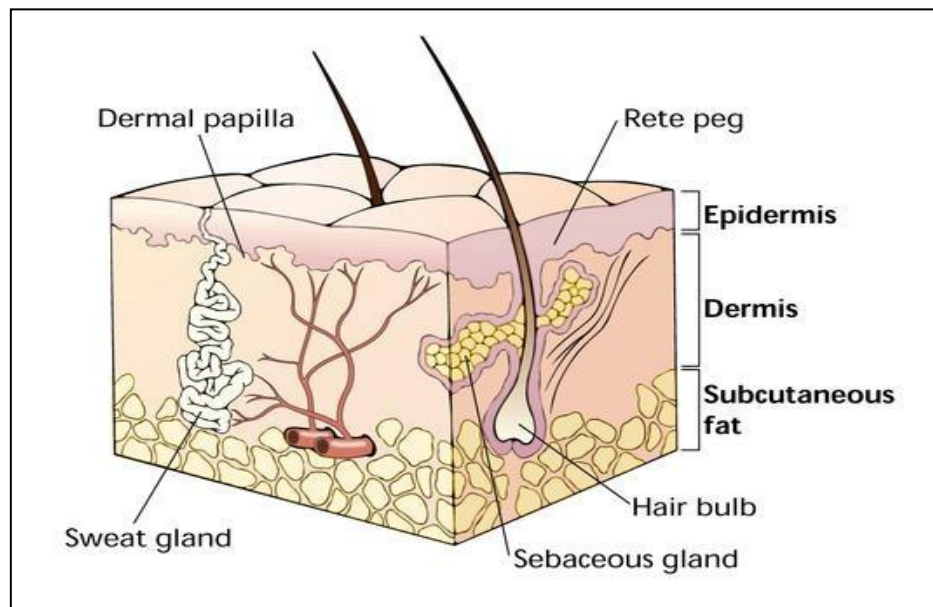


Figure 01:Structure de la peau (**Gilberg, 2002**).

I.1- Epiderme

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau, c'est un épithélium squameux, stratifié, kératinisé, qui ne contient ni vaisseaux sanguins ni vaisseaux lymphatiques, mais renferme de nombreuses terminaisons nerveuses libres (**Cribier et Grosshans, 1994**).

Malgré un renouvellement continu, son épaisseur est constante, grâce à l'équilibre entre la multiplication rapide des cellules basales profondes et la desquamation permanente des cellules de la couche cornée superficielle (**Le Bronec, 2005**).

Sur la surface de l'épiderme, on trouve de multiples orifices correspondant aux *ostium* des follicules pileux et des glandes sudorales apocrines (**Hé, 2006**).

I.1-1- Population cellulaire de l'épiderme

La population cellulaire de l'épiderme est hétérogène, elle est constituée en majorité de Kératinocytes (à divers stades de leur maturation), associés à des cellules dendritiques résidentes de l'épiderme, qui sont : les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merckels (**Figure 02**), avec présence occasionnelle de cellules d'origine sanguine (**Cribier et Grosshans, 1994**).

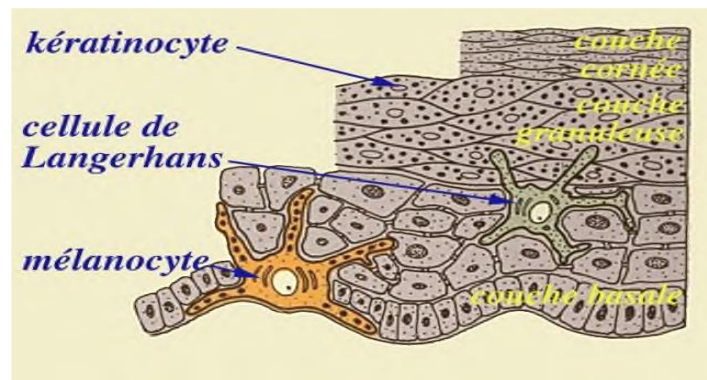


Figure 02: Différentes cellules de l'épiderme (**Gilberg, 2002**).

I.1-1-1-kératinocytes

Les Kératinocytes (du grec *kéras*, corne), sont les cellules les plus abondantes de la population cellulaire de l'épiderme (environ 80%). Par le processus de kératinisation, ces cellules se différencient en fabriquant de la kératine, une protéine fibreuse, qui confère à l'épiderme sa fonction de protection (**Hé, 2006**).

Les kératinocytes naissent au niveau de la couche basale, la couche la plus profonde de l'épiderme, et migrent verticalement à la surface en se différenciant pour se transformer en fin de parcours en cornéocytes. Ces derniers sont des cellules mortes, anucléés et aplaties, qui ne contiennent que des filaments de kératine (**Ferraq, 2007**).

I.1-1-2-Mélanocytes

La fonction principale des mélanocytes est la mélanogenèse, ce processus met en jeu différentes enzymes qui catalysent chacune des réactions conduisant à la formation de pigments mélaniques dans des organites spécialisés appelés les mélanosomes (**Passeron et al., 2005**).

Le mélanocyte constitue avec les Kératinocytes environnants qu'il pourvoit en mélanosomes, l'unité épidermique de mélanisation. La taille des mélanosomes et leur mode de répartition déterminent les différences ethniques de couleur de peau (grands mélanosomes isolés chez les noirs, petits mélanosomes groupés chez les blancs) (**Lipsker et Boeckler, 2006**).

I.1-1-3-Cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans sont des cellules dendritiques non pigmentées, Il s'agit de cellules immunocompétentes provenant de la moelle osseuse (**Parisot, 2004**).

Elles sont une véritable sentinelle immunitaire de l'épiderme ; elles jouent un rôle dans l'immunité non-spécifique, par présentation d'antigène phagocyté aux lymphocytes T, qui réagissent en induisant la réponse immune (**Banchereau et al., 2000**).

I.1-1-4-Cellules de Merckels

En petit nombre, elles jouent un rôle de récepteur sensoriel du toucher (**Marieb, 2010**).

I.2-Derme

Appelé tissu conjonctif lâche, le derme est une structure complexe bien plus épaisse que l'épiderme. Il est composé d'une matrice extracellulaire fondamentale. Il s'agit d'un tissu vascularisé et innervé qui contient des annexes épidermiques (glande sudoripares, glandes sébacées et follicules pileux) (**Tran, 2007**).

Selon la localisation anatomique, l'épaisseur du derme varie considérablement. Ainsi, il est beaucoup plus épais dans la plante des pieds que dans les paupières. Il est responsable de la texture, de l'élasticité, de la solidité et de la cicatrisation de la peau. Son rôle est majeur lors de la cicatrisation par seconde intention où la contraction fait intervenir ses propriétés élastiques (**Hé, 2006**).

I.2-1- Population cellulaire du derme

I.2-1-1 Fibroblastes

Sont des Cellules d'origine mésenchymateuse, elles constituent la catégorie cellulaire majoritaire du derme normal. Douées d'une forte activité synthétique, les fibroblastes produisent une large gamme de substances incluant : plusieurs types de fibres (collagène, élastine, fibrilline) ; les composants de la matrice extra-fibrillaire ; des enzymes (collagénases, inhibiteurs de protéases impliqués dans la réparation tissulaire au cours de la cicatrisation) (**Hé, 2006**).

I.2-1-2-Myofibroblastes

Cellules intermédiaire entre les fibrocytes et les cellules musculaires lisses, ces cellules riches en myofilaments sont trouvées en plus grand nombre dans les cicatrices et certaines proliférations fibreuses (**Cribier et Grosshans, 1994**). Les myofibroblastes ont la capacité de se contracter ou de se relâcher, jouant ainsi un rôle dans la contraction des plaies lors de la cicatrisation (**Desmoulière, 1995**).

I.2-1-3-Cellules migratrices

Elles sont d'origine hématopoïétique tels que : macrophages, mastocytes et leucocytes. Ces cellules sont impliquées dans les mécanismes de défense et de réponse immunitaire, mais également dans la cicatrisation grâce aux nombreuses substances qu'elles libèrent (**Hé, 2006**).

I.2-1-4-Matrice extracellulaire

C'est une structure complexe formée d'un réseau de fibres (réticulaires, collagènes, élastiques) associés à une matrice extra-fibrillaire, appelée substance fondamentale. Elle représente un tissu de soutien, et joue un rôle important au cours de la cicatrisation en contrôlant les activités de différentes populations cellulaires (Kératinocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, leucocytes ...). Elle intervient sur des activités aussi diverses que : la prolifération, la différenciation, l'adhésion et la migration cellulaire, (**Raghow, 1994**).

I.3- Hypoderme (tissu sous-cutané)

L'hypoderme est un tissu conjonctif lâche richement vascularisé qui, selon les conditions de nutrition et les régions de la peau, contient plus ou moins de tissu adipeux (**Martin et al, 2007**). Ce tissu graisseux a plusieurs rôles en fonction de sa localisation : rôle énergétique, mécanique et de protection aux chocs thermique (**Chaput et al, 2012**).

I.4- Follicules pileux et poils

Le follicule pileux est une structure complexe qui inclut : le poil dans sa gaine conjonctive, le muscle arrecteur, une glande sébacée et dans certaines régions une glande sudoripare apocrine (**Ferraq, 2007**).

Le poil est une structure kératinisée propre aux mammifères ; chaque poil est planté dans un follicule pileux. Le muscle arrecteur du poil est un petit muscle lisse à innervation sympathique segmentaire attaché à un follicule pileux. La stimulation de ce muscle par le froid, la peur, ou autre stimulus, entraîne sa contraction et ainsi le redressement du poil vers le haut = « chair de poule » (**Catala et al., 2007**).

I.5-Ongles, griffes, sabots

Un ongle est une modification écailleuse de l'épiderme correspondant aux griffes et aux sabots des animaux. Tout comme les poils, ils sont presque entièrement composés de cellules kératinisées mortes ; leur croissance se fait à partir de la matrice de l'ongle, elle est ininterrompue mais lente (**Marieb, 2008**).

I.6- Innervation cutanée

Elle est complexe et assurée par deux types de fibres : des fibres motrices et des fibres sensibles :

I.6.1-Fibres nerveuses motrices

Ce sont des fibres efférentes des systèmes sympathique et parasympathique, qui ont un rôle vasomoteur sur les vaisseaux sanguins et un rôle excito-sécrétoire sur les glandes sudoripares. Elles innervent également les muscles arrecteurs des poils. Certaines fibres efférentes dérivent des nerfs somatiques ; elles innervent les muscles peuciers responsables des contractions de la peau (**Le Bronec, 2005**).

I.7- Vascularisation de la peau

Seul le derme et l'hypoderme sont vascularisés. La vascularisation cutanée assure la nutrition de la peau et de ses annexes, elle permet d'apporter des cellules inflammatoires dès les premières phases de la cicatrisation, et elle joue un rôle très important dans la thermorégulation par les phénomènes de vasodilatation et vasoconstriction (**Parisot, 2004**).

La vascularisation cutanée est organisée en plexus profond, moyen et superficiel (**Figure 03**). Cette vascularisation cutanée est elle-même alimentée par une vascularisation provenant de la vascularisation segmentaire profonde naissant à partir de l'aorte (**Hé, 2006**).

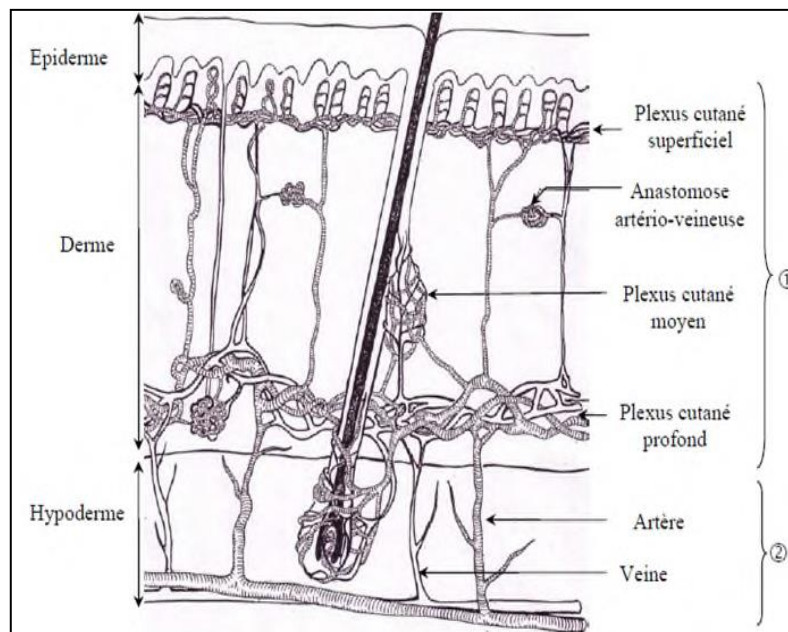


Figure 03 : Vascularisation de la peau (**Le Bronec, 2005**).

I.2- Fonctions physiologiques de la peau

La peau est un organe à part entière qui remplit de nombreuses fonctions essentielles à la vie de l'être vivant (**Tableau I**). Il s'agit à la fois d'un organe de protection vis-à-vis des agressions extérieures, d'un organe récepteur et producteur de diverses substances, et finalement d'un véritable organe d'échanges et de communication.

Tableau (I) : rôles physiologiques de la peau.

	Rôles	
1	Protection	Contre : <ul style="list-style-type: none"> • agents mécaniques : élasticité et amortisseur de choc (Tran, 2007). • Agents chimiques : barrière contre les agents externes (Tran, 2007) • Déshydratation : formation de la sueur et le sébum (Ferraq, 2007). • Micro-organismes : par le système immunitaire (Ferraq, 2007). • Les UVs : les radiations (Passeron et al., 2005).
2	Thermorégulation	<ul style="list-style-type: none"> • Vasoconstriction des petits vaisseaux au froid, et leurs dilatations et sédation contre le chaud (Hé, 2006).
3	Métabolique	<ul style="list-style-type: none"> • Reserve énergétique (Fortin, 2005). • Lieu de synthèse de vitamine D (Bagot, 1993).
4	Sensoriels	<ul style="list-style-type: none"> • Capture d'informations et la perception de sensations : le toucher, la douleur, la température et la pression (Tran, 2007).
5	Relations sociales	<ul style="list-style-type: none"> • Transmission de messages à travers sa texture, couleur et odeur (Vassiliadis, 2011).

Chapitre II :

Inflammation & cicatrisation

II.1- Inflammation

La réaction inflammatoire est une réponse des tissus vivants vascularisés à une agression par une infection, ou par un traumatisme. C'est un processus bénéfique dont le but est d'éliminer les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires (Nathan, 2002).

II.1-1-Types d'inflammation

La réponse inflammatoire sera la même mais avec des intensités et des durées variables. Quel que soit le facteur inducteur, se manifeste immédiatement après l'invasion de l'agent pathogène et dure jusqu'à 48 h environ. Dans ce cas elle est appelée inflammation aiguë. Toutefois, elle peut persister des années d'où on l'appelle l'inflammation chronique (Charles *et al*, 2010) (Tableau II).

Tableau (II) : les principales différences entre l'inflammation aiguë et chronique (Stevens *et al.*, 2004).

L'inflammation aiguë	L'inflammation chronique
-Réponse physiologique immédiate à un (quelques jours à quelques semaines). -Caractérisée par une phase vasculaire, cellulaire, puis de réparation. - Peut aboutir à une cicatrisation ou évoluer vers une inflammation chronique.	-Réponse physiopathologique qui se manifeste pendant plusieurs semaines à plusieurs années. - Apparaît lorsque la lésion de l'inflammation persiste ou lorsqu'une inflammation récidive de façon répétée dans le même organe.

II.1-2-Facteurs déclenchant la réaction inflammatoire

- Infection par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons).
- Agents physiques : traumatisme (plaie) ou nécrose tissulaire (infarctus), chaleur (brûlure) ou froid (gelure), radiations par des ultra-violets ou des rayons X, corps étrangers (prothèse, poussières de silice)
- Agents chimiques (ex : toxines, venins) (Lakhani *et al.*, 2009).

II.1-3-Processus de la réaction inflammatoire

L'inflammation est caractérisée par des niveaux élevés de métabolites de l'acide arachidonique qui sont produits à travers deux voies enzymatiques différentes, celles des cyclo-oxygénases (COX) et des lipoxigénases (Figure 04). A partir de l'acide arachidonique, les COX (COX2) vont permettre la production des prostaglandines et de thromboxanes, tandis que les

lipoxygénases (LOX) vont synthétiser les leucotriènes, les lipoxines et les acides eïcosatétraénoïques (Lopez *et al.*, 2002).

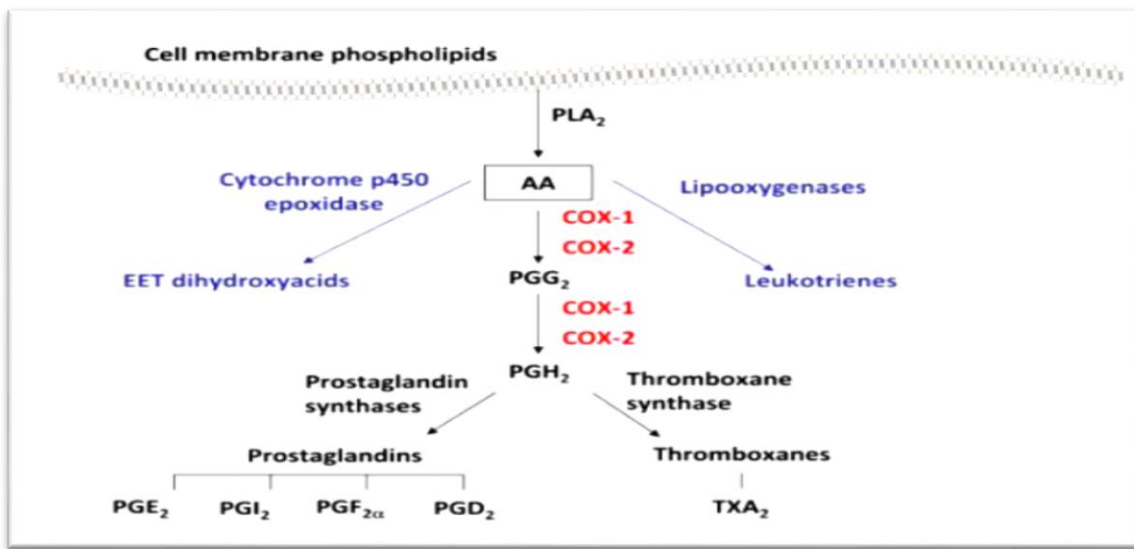


Figure 04 : Synthèse des prostaglandines et leucotriènes à partir de l'acide arachidonique (Aid, 2011).

II.1-4-Phases de la réaction inflammatoire

Le déclenchement et le maintien de l'inflammation font appel à plusieurs modifications vasculaires, permettant la réparation du tissu endommagé. Ces différentes modifications s'organisent suivant un ordre chronologique des trois principales phases de l'inflammation (Rousselet *et al.*, 2005).

- Une phase d'initiation et vasculaire : qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires.
- Une phase d'amplification cellulaire : avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.
- Une phase de résolution et de réparation : qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé.

II.1-5-Principales cellules et médiateurs de l'inflammation

Le processus inflammatoire se déroule dans le tissu conjonctif et les principales cellules intervenant dans les différentes phases sont : les polynucléaires, neutrophiles, les phagocytes mononucléés, les lymphocytes, les polynucléaires éosinophiles, les mastocytes, les plaquettes, les cellules endothéliales, les fibroblastes (Timbo, 2003).

Ces cellules vont collaborer les unes avec les autres selon des séquences successives, grâce à la production des médiateurs pro-inflammatoires actifs libérés dans le sang ou dans le tissu conjonctif, parmi ces médiateurs on trouve :

- **Des médiateurs cellulaires :** les amines vaso-actives (la sérotonine et l'histamine), les éicosanoïdes, le PAF acether, les cytokines (Timbo, 2003).
- **Des médiateurs plasmatiques :** les kinines, le système du complément, les facteurs de coagulation (Timbo, 2003).

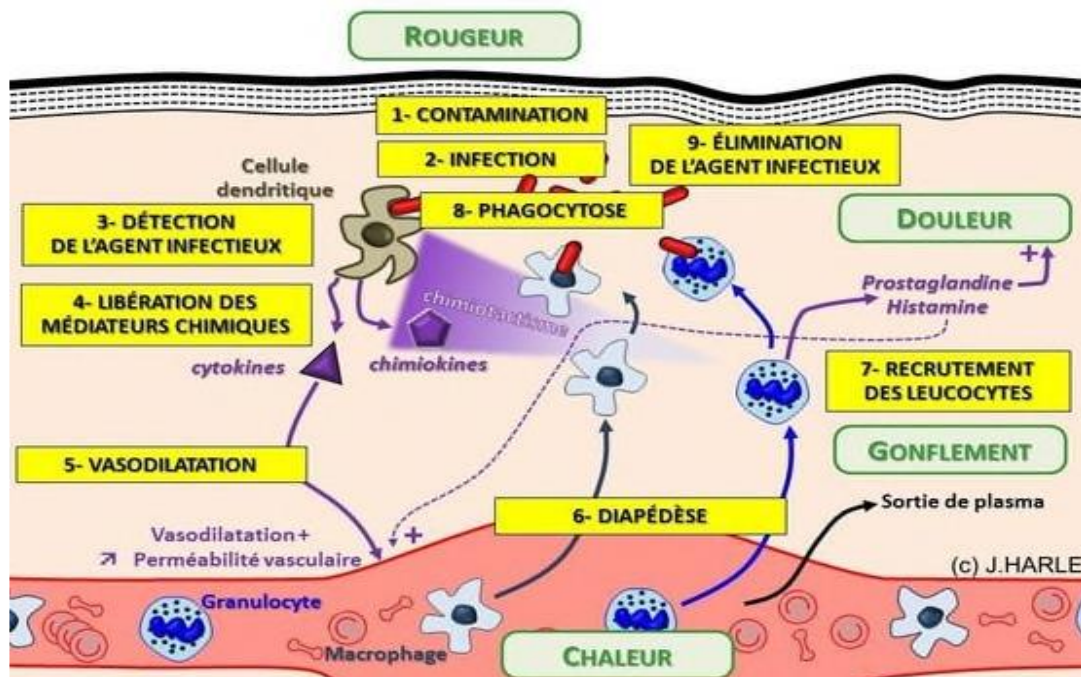


Figure 05: Médiateurs et événements cellulaires d'une réaction inflammatoire aiguë (Rousselet *et al.*, 2005).

II.2- Cicatrisation

Une plaie est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée. C'est un accident à priori banal qui peut poser des problèmes thérapeutiques complexes. La guérison d'une plaie cutanée est un processus dynamique coordonné, qui implique la multiplication cellulaire, la migration cellulaire active et la production de matrice extracellulaire (Li *et al.*, 2005).

La cicatrisation est un phénomène inflammatoire résulte d'une cascade de processus physiologique, dont l'objectif est d'aboutir à une restitution de l'intégrité d'un tissu lésé par la formation d'une cicatrice. Après une blessure, la cicatrisation cutanée permet la reconstruction d'un épithélium stratifié (l'épiderme), du derme et de sa vascularisation (Chaput *et al.*, 2012).

L'altération de la barrière cutanée induit une réaction inflammatoire dont le but est d'aboutir à l'élimination de l'agent agresseur, du tissu nécrotique résultant, et de favoriser la réparation des tissus lésés. On cite la cicatrisation normale et la cicatrisation pathologique (Senet *et al*, 2000).

II.2-1-Cicatrisation dermo-épidermique normale

Elle comporte 03 phases essentielles (Figure 06) :

II.2-1-1-Phase inflammatoire et vasculaire : (0 à 3 jours)

Immédiate, elle est d'abord vasculo-exsudative avec interruption vasculaire puis extravasation des éléments sanguins, œdème et adhésion plaquettaire aboutissant à la formation d'une croûte provisoire protectrice.

L'activation plaquettaire induit l'inflammation avec appel des polynucléaires, des macrophages (aidant à la détersion et produisant des médiateurs stimulant la cicatrisation) et des lymphocytes T (véritables régulateurs de la cicatrisation) qui vont activer les fibroblastes pour but la réparation tissulaire (Senet *et al*, 2000).

II.2-1-2 Phase de réparation tissulaire (Bourgeonnement) :(3 à 12 jours)

Avec la migration des fibroblastes à l'origine de la matrice extracellulaire, les macrophages initient la formation d'un tissu de granulation en stimulant des cytokines, des fibroblastes et favorisent la néo-angiogenèse par stimulation des cellules endothéliales.

Puis, la prolifération de cellules épidermiques, on assiste à l'adhésion et à la migration des kératinocytes, ainsi qu'à la reconstruction de la jonction dermo-épidermique (Senet *et al*, 2000).

II.2-1-3 Phase de remodelage et de maturation: (12 jours à 10 semaines)

Caractérisée par le remodelage de la matrice extracellulaire. C'est une phase qui va pouvoir persister jusqu'à 2 ans après la fermeture de la plaie. Le tissu de granulation se diminue en fibroblastes, ce qui donne un tissu riche en collagène, mais il est désorganisé par rapport au tissu sain, de plus il est pauvre en élastine, donnant un tissu moins résistant et moins élastique.

Par ailleurs ce tissu est plus pauvre en capillaire (Senet *et al*, 2000).

Lorsque ce processus se prolonge, on constate une transformation des fibroblastes en myofibroblastes dotés de propriétés contractiles, associé à l'augmentation de synthèse de collagène

et de la matrice extracellulaire, on aura une plaie qui se rétracte et une cicatrice avec du relief. Ce mécanisme prend fin au bout de plusieurs mois (peut aller jusqu'à 6 mois).

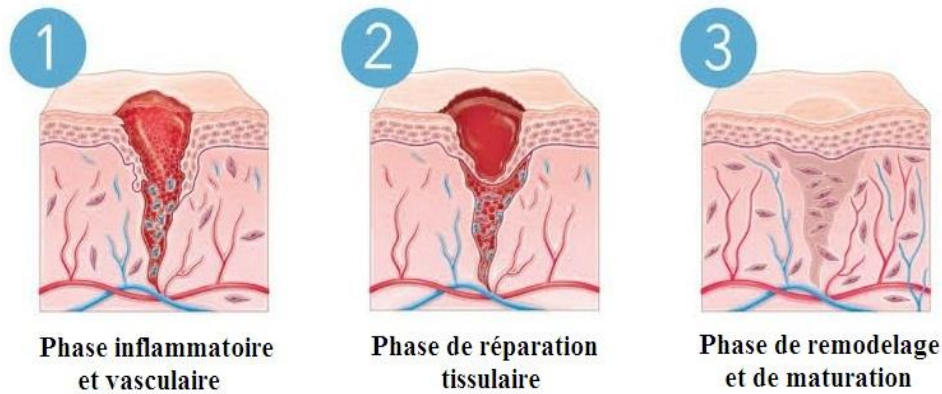


Figure 06: Etapes de la cicatrisation (Senet *et al*, 2000).

II.2-2-Cicatrisation pathologique

II.2-2-1-Cicatrisation hypertrophique

La constitution d'une cicatrice hypertrophique est imprévisible et inconstante, elle est d'autant plus à craindre que le délai de cicatrisation a été plus long (2 à 3 semaines).

La formation du tissu de granulation peut ne pas être stoppée et aboutir à un tissu en excès du fait de la persistance de l'infection locale, de corps étrangers et/ou de perturbations métaboliques (Murray, 1994).

II.2-2-2-Cicatrice rétractile

Les rétractions apparaissent dès les premières semaines mais sont visibles après le 2^e mois d'évolution, et peuvent évoluer pendant 6 à 10 mois en absence de traitement (Sahl *et al*, 1994).

Chapitre III :
Traitements

III. Traitements pour la cicatrisation

Les produits issus de la médecine traditionnelle, ont prouvé depuis longtemps leur efficacité pour les différents traitements, et présentent des avantages très intéressants du point de vue disponibilité, innocuité et faible prix de revient (**Jayakumar, 2015**).

III.1- MADECASSOL

Madecassol est un médicament sous forme de crème à visée protectrice et cicatrisante indiquée dans le traitement local d'appoint des ulcérations cutanées, plaies de la peau, à base d'Hydrocotyle (1%).

- **Composition**

*Principe Actif : Hydrocotyle (extrait sec de *Centella asiatica*, F/Apiacées (Ombellifères), reconstitué titré à 40% d'asiaticoside et 60% d'acide madécassique et asiatique) 1g Pour 100g de crème.

*Excipients : Stéarate de glycol, huile de vaseline, essence de géranium et de lavande, paraffine liquide, huile essentielle de Lavande, propylène glycole, eau purifiée.

- NaCl 0,9%.

- Bétadine dermique.

- Vaseline officinale placebo.

- **Posologie** : Il est appliqué sur la peau. 1 à 2 fois par jour. Il ne faut pas dépasser la dose supérieure recommandée et ni appliquer la crème sur une surface étendue du corps et sur des lésions qui ont tendance à macérer.

Comme tous les médicaments, des effets indésirables peuvent survenir chez les personnes sensibles aux ingrédients de MADECASSOL :

- Réactions allergiques.
- Démangeaison de la peau.
- Éruptions cutanées et cloques remplies d'eau (urticaire).
- Démangeaison.

Ce sont tous des effets secondaires très graves.

Si vous avez l'un de ces symptômes, vous avez une allergie grave à MADECASSOL. Vous pourriez avoir besoin de soins médicaux urgents ou d'une hospitalisation.

III.2- *Populus nigra*

III.2-1-Description botanique, distribution et classification

Populus nigra (appelé également le Peuplier noir) ; est un grand arbre dioïque en forme de fuseau, qui peut atteindre jusqu'à 20 à 30m de hauteur, et qui peut vivre jusqu'à 300 ans.

Le tronc n'est pas lisse. Les chatons de fleurs mâles ou femelles sont pendants et viennent avant les feuilles, entières, alternes deltoïdes ou ovales- triangulaires au limbe à bords dentelés, vertes et luisantes dessus et dessous. Le fruit est une capsule contenant plusieurs graines et entourée d'un duvet blanc parfois allergisant. Ses racines sont fortes et superficielles, empêchant d'autres plantes de pousser à son pied (Marnotte *et al.*, 2006).



Figure 07: Photographie de l'arbre et de bourgeons de *P.nigra* (Originale).

L'aire de répartition du peuplier noir est vaste, elle s'étend à travers l'Europe jusqu'à l'Asie, Asie tempérée et aux cotes de l'Afrique du Nord, notamment en Algérie (Elkala, Kabylie et Tlemcen) (Belouad, 2001).

- **Classification**

Tableau (III) : classification de la plante étudiée (Crété, 1965).

Règne	Végétal
Sous règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Monochlamide
Ordre	Salicales
Famille	Salicacées
Genre	Populus
Espèce	<i>Populus nigra</i>
Appellation locale	Asafçaf
Appellation commune	Peuplier noir, le peuplier franc.

III.2-2-Composition phyto-chimique

Les principaux composés phénoliques des bourgeons identifiés sont les acides phénoliques tels que l'acide caféique, p.coumarique, salicylique isoferulique et les flavonoïdes (Siler et al., 2014). Des terpènes ont également été identifiés (Dudonné et al., 2011). Les tannins sont également présents (5-9 %) (Goetz, 2011).

III.2-3-Propriétés et usages thérapeutiques

En Algérie, les utilisations traditionnelles de *P. nigra* sont larges dans le traitement de nombreuses affections liées à un dysfonctionnement endothélial, les inflammations, l'arthrite, la bronchite et les maladies des voies respiratoires (Debbache et al., 2013). Elle présente aussi d'autres propriétés thérapeutiques comme les propriétés diurétiques, antiseptiques et diaphorétiques (Schauenberg, 1977). Les bourgeons de peuplier noir sont utilisés contre diverses affections douloureuses (Häne et Dobbertin, 2006).

P. nigra est connu pour ses vertus médicinales depuis l'antiquité, en particulier pour ses propriétés anti-inflammatoires. La partie la plus utilisée en phytothérapie est les bourgeons pour leur richesse en métabolites secondaires (Dudonné et al., 2011).

Partie II expérimentale

Chapitre I :
Matériel & Méthodes

I.1- Matériel

I.1-1-*Populus nigra*

Notre étude a été réalisée sur les bourgeons de *P. nigra*, une plante médicinale locale largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

I.1-2-Animaux

A fin d'évaluer l'effet cicatrisant et l'activité anti-oxydante *in-vivo* de la formule préparée à base de l'extrait éthanolique de *P. nigra*, nous avons utilisé des rats WISTAR mâles, d'un poids qui varie entre 250 à 300 grammes. Les animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger. L'expérimentation a été réalisée au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia.

Les animaux ont été mis dans des cages en polycarbonate, sous des conditions de température ambiante de (30) °C et d'humidité de (60-70)%. La salle est soumise à un éclairage artificiel de 12 heures et d'obscurité de 12 h. Ces rats ont été nourris à volonté avec l'aliment de bétail et à l'eau de robinet. La litière utilisée est la sciure. Elle est renouvelée chaque jour ou chaque deux jour pour tous les groupes de rats (**Figure 08**).



Figure 08: Photographie des rats au sein de l'animalerie (**originale**).

I.2-Méthodes

I.2-1-Etude de l'effet cicatrisant de l'extrait de bourgeons de *P. nigra*

I.2-1-1-Préparation des extraits de *P. nigra*

- **Récolte et séchage**

Les bourgeons ont été récoltés dans un endroit naturel, loin de toute pollution et de perturbation humaine, dans la forêt d'Azro N' Bachar à Amizour, située à l'Est de Bejaia. Les bourgeons de *P. nigra* ont été séchés dans une étuve à 37°C, afin d'éliminer toute trace d'humidité.

- **Broyage et Tamisage**

Les bourgeons séchés de *P. nigra* ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été tamisée pour récupérer une poudre très fine de diamètre inférieur ou égale à 63µm, puis stockée dans des flacons en verre fermés à l'abri de la lumière (**Figure 09**).

- **Extraction**

L'extraction des principes actifs de la poudre des bourgeons du peuplier noir est réalisée selon la méthode d'extraction solide-liquide en utilisant un solvant hydro-éthanolique à 70 % d'éthanol, avec un rapport de 1 : 6 (m/v). Le mélange obtenu est mis par la suite dans le Sonicateur à 40°C pendant 15min. Le mélange a été séché à l'aide d'un rotavapor.

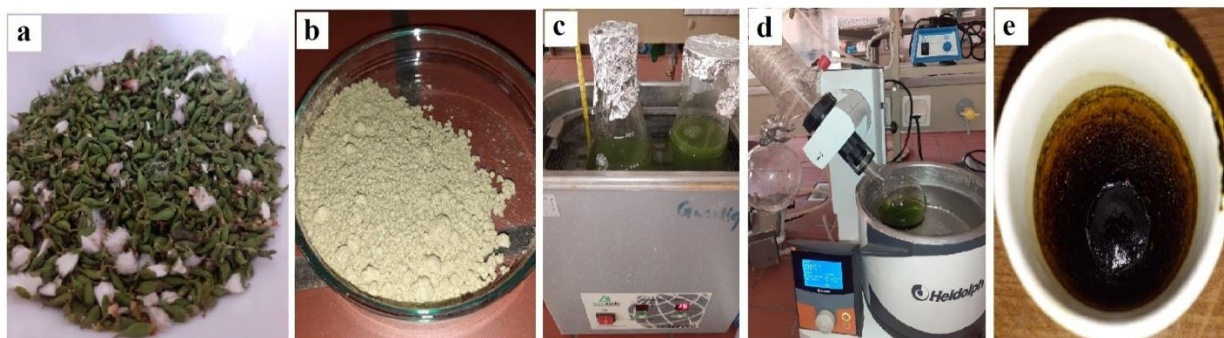


Figure 09: Etapes de préparation de l'extrait : a) bourgeons de *P. nigra*; b) poudre fine de bourgeons de *P. nigra* ; c) extraction ; d) séchage; e) extrait de *P. nigra*.

I.2-1-2-Préparation de la formule pharmacologique

A partir de l'extrait (poudre) des bourgeons de *P. nigra*, deux concentrations ont été préparés :

- La 1^{ère} formule : 10g d'extrait en poudre ont été pesés puis mélangés avec 90g de vaseline préalablement fondue dans un bain-marie.

- La 2^e formule : 20g d'extrait en poudre ont été pesés puis mélangés avec 80g de la vaseline préalablement fondue dans un bain-marie.



Figure 10: Pommade fabriquée à base d'extraits de bourgeons de *P.nigra* (Originale).

I.2-1-3-Induction et traitement des plaies

Les rats ont été réparti en 10 lots : 05 rats pour le traitement de 14jours et 05 autres pour le traitement de 20jours selon les différents traitements appliqués (**Tableau V**).

Tableau (V) : la répartition des dix lots d'animaux.

Lots	14 jours de traitement	Lots	20 jours de traitement
Lot 1	-Rats témoins	Lot 1	-Rats témoins
Lot 2	-Rats traités par « MADECASSOL »	Lot 2	-Rats traités par « MADECASSOL »
Lot 3	-Rats traités par la formule à 10%	Lot 3	- Rats traités par la formule à 10%
Lot 4	-Rats traités par la formule à 20%	Lot 4	- Rats traités par la formule à 20%
Lot 5	-Rats traités par la Vaseline	Lot 5	- Rats traités par la Vaseline

➤ Excisions

- Après la pesée, les rats ont été anesthésiés. L'anesthésie était réalisée par injection du chlorhydrate de kétamine + xylazine 50 mg /ml à la dose de 1ml / kg de poids corporel par voie intra-péritonéale.

- Le haut du dos des rats a été rasé manuellement à l'aide d'une tondeuse pour faciliter l'induction de l'excision, et suivre l'évolution de la cicatrisation tout au long de l'expérience.
- Après avoir nettoyé la partie rasée, un cercle a été tracé au niveau des omoplates afin d'obtenir des plaies homogènes.
- Des plaies d'environ 3cm de diamètre ont été induites, en coupant le pourtour des cercles avec des ciseaux et pinces stériles.

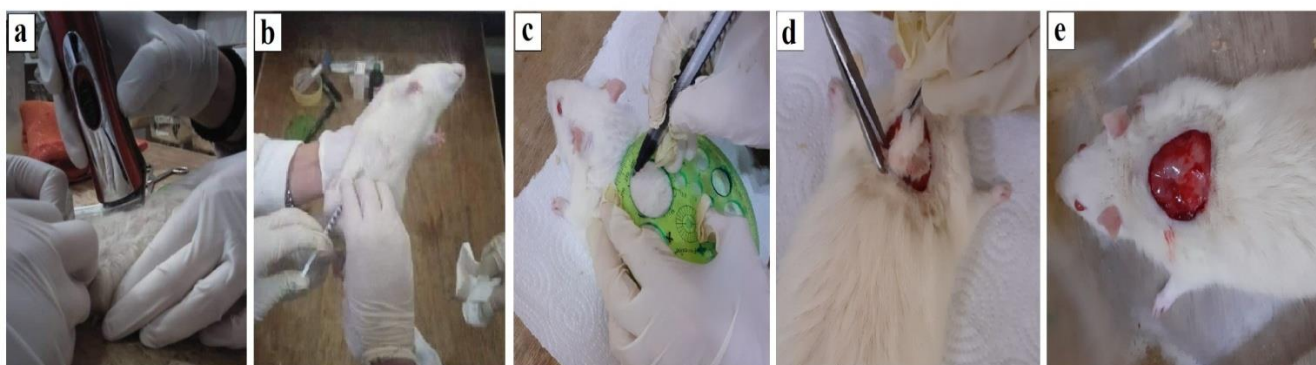


Figure 11: Etapes d'induction des plaies : a) Rasage ; b) Injection d'anesthésie par voie intra-péritonéale ; c) Tracé du cercle au niveau des omoplates; d) Induction des plaies ; e) Application des différents traitements.

- La peau enlevée a été coupée et divisée en deux parties : une a été conservée au froid à (-80°C) dans des tubes à essais contenant du formol pour une étude histologique ultérieure, l'autre pour le dosage des paramètres biochimiques (SOD et Catalase).
- Les dimensions de la lésion ont été mesurées tout au long de l'expérience.
- L'évolution de la cicatrisation des lésions a été évaluée. Deux paramètres ont été suivis selon un score de 0 à 4 : la présence d'exsudat et l'érythème (**Tableau VI**).

Tableau (VI) : Paramètres d'évaluation de l'érythème et de l'exsudat

Score	Erythème	Exsudat
0	Absence totale de rougeur.	Aucun exsudat
1	Légère rougeur, juste visible	Juste visible
2	Rouge clair	Facilement visible
3	Rouge sombre, par endroits	Quantité consistante
4	Rouge sombre, très larges	Large quantité

Les zones de la plaie ont été traitées avec la même quantité (0,2g) des deux formules préparées (10 et 20%) ou des pommades d'essais : médicament de référence « Madecassol », et la vaseline par voie topique une fois par jour, pendant 14 ou 20 jours.

➤ Sacrifice

Les rats ont été sacrifiés sous anesthésie, après le 14e et le 20e jour de traitement. Le sang a été récupéré puis centrifugé, le surnageant a été conservé au froid dans des flacons étiquetés, pour le dosage des transaminases (ASAT, ALAT).

Après dissection, la peau et les foies ont été rapidement récupérés, rincés dans l'eau physiologique glacée, pesés puis conservés au congélateur à (-80°C) pour une utilisation ultérieure.

I.2-2-Evaluation de la cicatrisation

Les modifications progressives de la taille de la plaie ont été mesurées et photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique tous les jours pendant l'étude.

Le pourcentage de réduction de la taille de la plaie au cours de l'étude a été calculé à l'aide de la formule suivante :

Pourcentage de réduction de la plaie = $(W_0 - W_t / W_0) \times 100 \%$. Où :

W_0 est le diamètre de la plaie au jour zéro,

W_t est le diamètre de la plaie au jour t.

Le pourcentage de fermeture de la plaie aux jours 1, 8, 15 et 20 a été enregistré et utilisé comme indicateur de l'évolution de la cicatrisation des plaies au cours de l'étude.

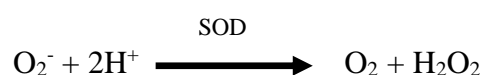
I.2-3-Etude des activités enzymatiques

Un homogénat a été préparé à partir de la peau de chaque rat, puis conservé à -80°C jusqu'au moment d'utilisation pour le dosage de l'activité de la SOD et de la Catalase (CAT).

I.2-3-1-Mesure de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

- **Le principe**

Les superoxydes dismutases sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en oxygènes moléculaires et peroxydes d'hydrogènes (Comhair et Erzurum, 2001) selon la réaction suivante :



- **La procédure**

Le mélange réactionnel est constitué de 1.44 ml du Tampon Tris-HCL et EDTA, 10µl de l'homogénat et 100µl du pyrogallol (15mM). L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, la lecture a été effectuée à 440nm pendant 3min (**Marklund et Marklund 1974**).

Les résultats ont été calculés par la formule suivante :

$$\% = (1 - (\text{pente}/\text{blanc})) \times 100$$

$$U = (\% / 50 / 3\text{min} / \text{mg de protéine}) \times 1000$$

Les résultats sont exprimés en unité mg de protéine équivalent de la BSA.

I.2-3-2-Mesure de l'activité de la Catalase

- **Principe**

La catalase est une enzyme anti-oxydante endogène qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène selon la réaction suivante :



Son activité est mesurée en suivant la décomposition du peroxyde d'hydrogène, qui absorbe à 240nm. Les résultats sont exprimés en nmol de H₂O₂ réduit/ mn /mg de protéines (**Chelikani et al., 2004**),

- **Procédure**

Le mélange réactionnel est constitué de 380µl du Tampon potassium phosphate (100mM, pH 6.8), 20µl de l'échantillon et 1.6ml du substrat peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (37.5mM). L'absorbance a été mesurée à 240nm pendant 1 minute (**Chelikani et al., 2004**).

Les résultats ont été calculés par la formule suivante :

$$U = K/N$$

$$K = (2.303/T) \times \text{Log} (A_1/A_2)$$

T : intervalle du temps en soin.

A₁ /absorbance au temps 0

A₂ : absorbance après une minute.

La quantité des protéines a été déterminée en utilisant la méthode de Bradford (**Bradford, 1976**). Une courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant la BSA comme protéine de référence.

I.2-4-Etude de la toxicité

I.2-4-1-Dosage sanguin des transaminases

Le dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT) a été réalisé au niveau du Laboratoire d'Analyses Médicales F. MOUALLEK. A l'aide d'un automate et Kit SPINREACT (Espagne). La concentration de ces enzymes est exprimée en unité internationale par litre de substrat (UI/L). 1UI correspond à la quantité d'enzymes qui transforment 1 μ mol de substrat/min.

I.2-4-2-Coupes histologiques

Les coupes histologiques des foies ont été réalisées au niveau du laboratoire de médecine à l'université Abderrahmane-Mira Béjaia, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique. Cette étude permet de valider l'éventuelle toxicité de l'extrait de *P. nigra* à travers la visualisation microscopique des foies des différents groupes et détecter, pour chacun, la présence ou l'absence de lésions.

Ces coupes histologiques ont été réalisées comme suit : **(Martoja R. et Martoja-Pierson M. 1967)**

Déshydratation : les foies prélevés ont été baignés dans 3 bains successifs concentrés d'éthanol, puis dans 3 bains successifs concentrés de xylène afin d'éliminer toute trace d'alcool.

Enrobage : l'inclusion est faite dans deux bains successifs de paraffine liquide pour que cette dernière s'infilte dans les échantillons. Une fois la paraffine refroidie, on obtient un bloc qui sera facilement coupé.

Confection des coupes au microtome : le bloc est placé sur la base d'un microtome, appareil muni d'un couteau et d'un mécanisme d'avancement de sa base, qui permet de trancher le bloc à l'épaisseur désirée. Les coupes obtenues sont montées sur des lames de verre préalablement recouvertes d'eau puis sont séchées.

Déparaffinage : les coupes montées sur lames et séchées sont déparaffinées dans du xylène, réhydratées dans des bains successifs d'éthanol de moins en moins concentrés, puis rincées avec de l'eau.

Coloration : effectuée en utilisant une combinaison entre deux colorants l'hématoxyline et éosine (HE). Par l'hématoxyline pendant 3 à 5min pour colorer le noyau en violet après lavage (1 min), puis par éosine pendant 3min pour colorer le cytoplasme en rouge puis lavé à 1 min.

Montage permanent entre lame et lamelle : ce montage permet de conserver les coupes colorées, en utilisant l'EUKITT pour fixer et coller la lame et lamelle.

Observation au microscope optique: l'observation a été pratiquée à l'aide d'un microscope optique doté d'un appareil photographique. Des photographies par différents grossissements ont été prises pour chaque prélèvement

I.3- Analyses statistiques

Les résultats des tests ont été exprimés en moyenne \pm SEM. En utilisant le logiciel GraphPad Prisme version 9.0.2. Les moyennes ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA)

Chapitre II :
Résultats & Discussions

II.1-L'influence des différents traitements sur la surface des plaies

La surface des plaies provoquées chez les rats est l'un des paramètres étudiés durant notre travail. Elle nous permet d'évaluer l'efficacité de l'effet cicatrisant de l'extrait de bourgeons de *P.nigra*.

La régression des surfaces des plaies (cm²) des rats des différents lots en fonction du temps (jours) pendant toute la période expérimentale (J₀ à J₂₀) a été présentée dans la figure suivante :

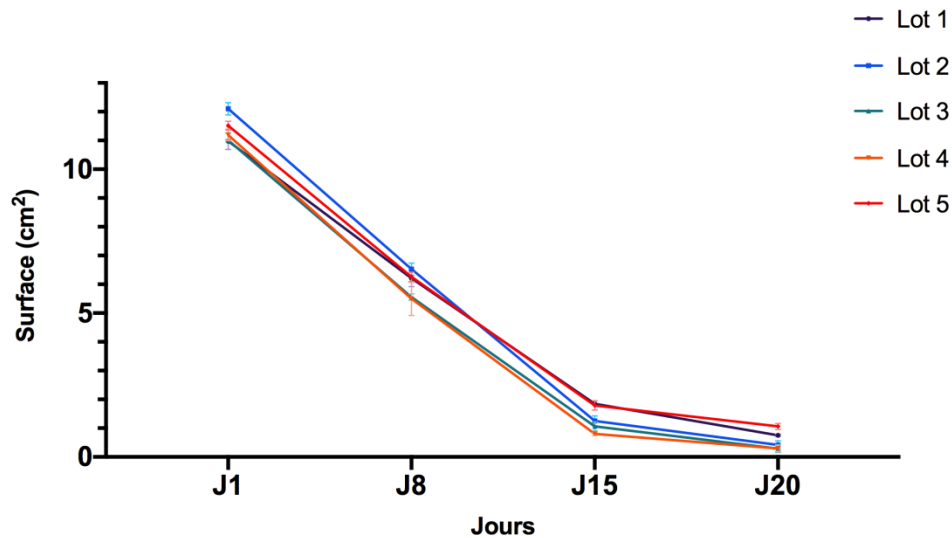


Figure 12 : Evolution des surfaces de plaies(cm²) des différents lots en fonction du temps. (lot 1=non traité, lot 2=standard, lot 3= formule 10%, lot 4=formule 20%, et lot 5=excipient)
 Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour n=5; *différence significative, ** différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, **** différence extrêmement significative par rapport au non traité.

On peut remarquer à partir du graphe obtenu (**Figures 12**), que les surfaces des plaies ont diminué d'une manière significative pour chaque lot en comparant à leur surface initiale (J₀).

Les rats non traités : une moyenne de 10.97 ± 0.28 cm² a été enregistrée dans le premier jour, puis une diminution progressive a été remarquée au fil du temps allant jusqu'à 6.2 ± 0.29 cm² au 8^e jour et 1.84 ± 0.06 cm² au 15^e jour. Vers la fin (J₂₀) une moyenne de 0.75 ± 0.03 cm² a été enregistrée.

Les rats traités avec le standard : la surface a été mesuré 12 ± 0.02 cm² à J₀. Une réduction non significative de la surface a été enregistrée en fonction du temps en comparant a celle du 1^{er} lot donnant les valeurs suivantes : 6.52 ± 0.21 cm², 1.25 ± 0.17 cm² et 0.42 ± 0.14 cm² au J₈ J₁₅ et J₂₀ successivement.

Les surfaces des plaies des rats traités par la formule 10% et 20 %, ont changé d'une manière significative comparativement au lot 1 jusqu'à une contraction totale au 20^e jour $0.29 \pm 0.13 \text{cm}^2$ et $0.29 \pm 0.09 \text{cm}^2$, alors qu'elles mesuraient $11 \pm 0.02 \text{cm}^2$ et $11.19 \pm 0.19 \text{cm}^2$ respectivement le jour d'excision.

Les plaies traitées par les deux formules (10 et 20%) n'ont montré aucune différence significative; Une cicatrisation complète a été observée à la fin de la période du traitement.

Le lot des rats traités avec l'excipient (Vaseline), ont montré une moyenne de surface égale à $11 \pm 0.15 \text{cm}^2$ à J₀ et $6.2 \pm 0.15 \text{cm}^2$ à J₈. Les résultats de ce lot ont montré une diminution non significative des surfaces des plaies par rapport au lot non traité, jusqu'au dernier jour du traitement J₂₀ qui est égale à $1.06 \pm 0 \text{cm}^2$.

II.2- Evolution des pourcentages de cicatrisation des plaies

L'évolution des pourcentages de cicatrisation des plaies (%) des rats des différents groupes en fonction du temps (jours) pendant toute la période expérimentale (J₀ à J₂₀) est représenté dans la figure suivante :

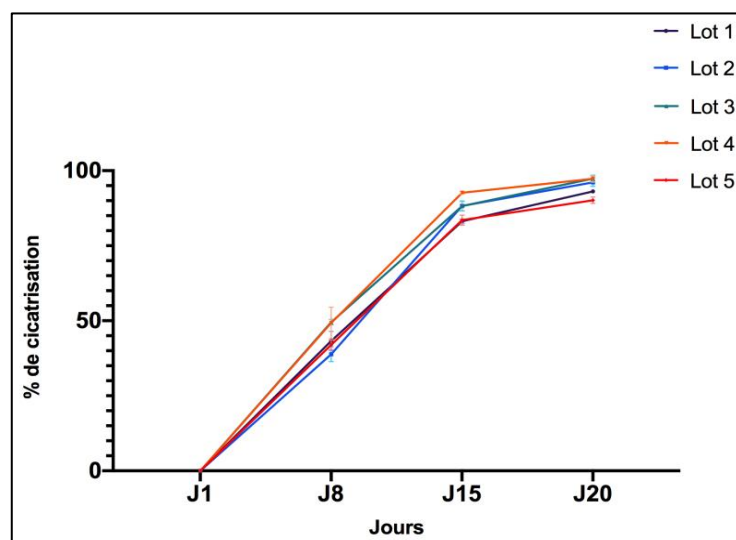


Figure 13 : Pourcentage de cicatrisation des plaies en fonction du temps. (lot 1=non traité, lot 2=standard, lot 3= formule 10%, lot 4=formule 20%, et lot 5=excipient). Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, ** différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, **** différence extrêmement significative par rapport au non traité.

Au J0, le pourcentage de cicatrisation de tous les lots égale à $0 \pm 0\%$. A la fin de la période du traitement, un taux de $93.10 \pm 0.45\%$ a été enregistré chez le lot non traité. Les résultats ont montré une différence significative en comparant à celles des lots traités par les deux formules 10% et 20%, qui présentent un pourcentage de $97.37 \pm 1.1\%$ et $97.87 \pm 1.04\%$ respectivement.

Le graphe représentatif de l'évolution des pourcentages de cicatrisation a montré que les plaies traitées par les produits naturels ont cicatrisé plus rapidement, comparativement aux non traités ou à celles traitées par le médicament.

La peau est à l'interface entre l'organisme et son environnement, elle représente l'organe le plus étalé en contact avec le milieu extérieur dont son rôle essentiel est la protection (**Chalvet-Rochemonteix, 2009**).

Durant cette étude, il a été remarqué que toutes les plaies des rats ont enregistré une réduction progressive de leur taille en fonction du temps entre J1, J8, J15, et J20, quelque soit le traitement appliqué.

L'étude a montré que les surfaces des plaies ont été remarquablement réduites après application des deux formules 10% et 20% au fil du temps, que chez les rats traités par le standard et les rats témoins. Les résultats des expériences menées sur les plaies chez les rats montrent que l'extrait accélère la cicatrisation, il réduit la phase inflammatoire et accélère l'apparition de tissus de granulation. Il s'est avéré que le profil pharmacologique de ces extraits est comparable à celui du médicament, suggérant ainsi qu'ils peuvent agir par les mêmes mécanismes.

A partir du graphe représentatif de l'évolution des pourcentages de cicatrisation, on observe une pente très importante de l'évolution de la contraction des plaies, qui justifie l'accélération du processus cicatriciel. Le pourcentage de contraction le plus élevé a été obtenu dans les plaies traitées par les deux formules suivi par le standard.

La contraction des plaies tend à s'accélérer à partir de J15. Ceci est peut être du au début de la phase de la réparation tissulaire durant laquelle s'effectuent la migration de toutes les cellules du tissu conjonctif vers le centre de la lésion et la formation d'une croûte, où une partie des fibroblastes se différencie en myofibroblastes responsable de la contraction de la plaie.

La dose optimale de la formule est de 10%, la formule P20% donne le même résultat, par ailleurs l'augmentation de la concentration n'a pas d'effet significatif sur la contraction des plaies.

L'effet anti-inflammatoire de *P. nigra*, a été déjà déterminé par Karawya et al. (2010) et Debbache et al. (2013). Ceci est probablement dû à l'inhibition de la voie NFκB. Cette suggestion est soutenue par d'autres travaux, ayant démontré que le salicylate, l'acide caféique et les flavonoïdes ; inhibent l'expression des molécules pro-inflammatoires telle que la COX (**Zhang et al., 2013**).

On peut suggérer par ailleurs que la formule à 10% agit d'une manière efficace, et donne un meilleur résultat de cicatrisation de la surface des plaies. Son activité cicatrisante pourrait être due à la présence des composés phyto-chimiques (alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, tannins) (**Dudonné et al, 2011**).

La cicatrisation des plaies est une cascade d'événements très complexes qui peut être grossièrement divisée en trois phases qui se chevauchent : inflammation, formation de tissu de granulation et remodelage de la matrice extracellulaire (**Vipin et Sarvesh, 2011**).

La cicatrisation met en jeu plusieurs processus physiologiques tels que les mécanismes hémostatiques et inflammatoires, les phénomènes de migration et de prolifération cellulaire, la synthèse de protéines, la contraction de la plaie et enfin le remodelage ou la reconstitution tissulaire, entraînant une ré-épithélialisation des tissus blessés (**Monaco et Lawrence, 2003**). De nombreuses études ont montré l'implication de composés phyto-chimiques dans ces différents mécanismes impliqués dans le processus de la cicatrisation.

II. 3- Analyses des scores d'érythème et d'exsudat

L'activité cicatrisante a été évaluée dans un modèle de blessure expérimentale chez le rat WISTAR, par une méthode de détermination de scores d'érythème et d'exsudat variant en fonction de l'importance de la plaie. L'évaluation de ces scores a été faite tous les jours pendant 20 jours.

L'évolution de la cicatrisation des plaies des différents lots au cours de la période du traitement a été représentée dans la figure suivante :

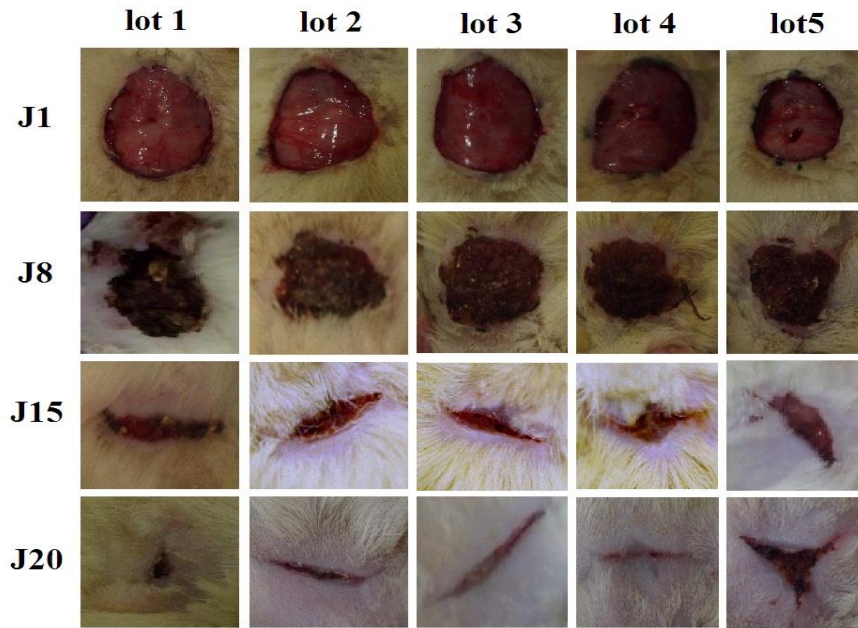


Figure 14: Evolution de la cicatrisation des plaies des différents lots au cours du temps (**Originale**).

II. 3-1-Variation des scores d'érythème

Huit jours après l'induction des excisions, la plaie était encore recouverte d'une peau nécrosée, correspondant au score 3.6 ± 0.2 . Après 2 semaines, la plaie a montré une ulcération encore suintante avec un score de 3.4 ± 0.2 . Après 20 jours de traitement, la plaie devenait fermée mais toujours suintante avec un score de 3 ± 0 , correspondant à une absence de cicatrisation totale (**Figure 15**).

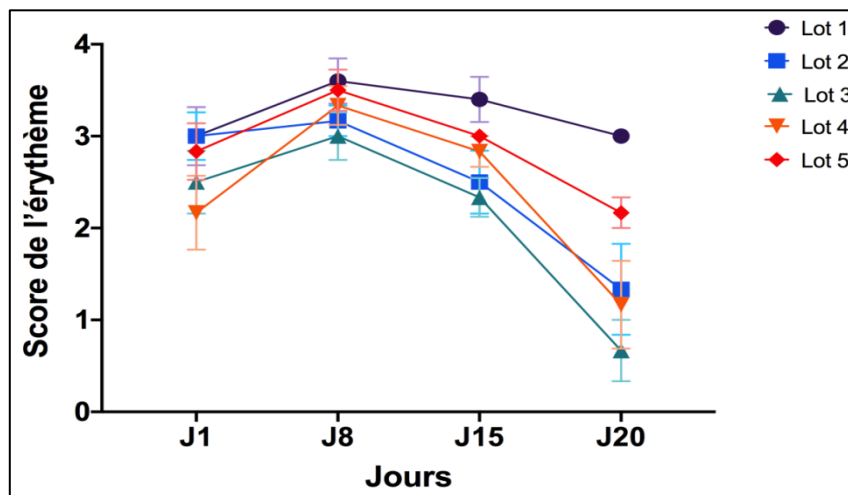


Figure 15: Variation des scores d'érythème des différents lots (lot 1=non traité, lot 2=standard, lot 3=formule 10%, lot 4=formule 20%, et lot 5=excipient) après 20 jours de traitement. Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, **différences hautement significatives, ***différence très hautement significative, ****différence extrêmement significative par rapport au non traité.

L'application quotidienne du standard a montré un score égale à 2.5 ± 0.34 au bout de 15 jours, puis il a diminué jusqu'à 1.33 ± 0.5 au bout de 20 jours. Ces scores ont montré une différence hautement significative par rapport à ceux du lot non traités (**Figure 15**).

L'application quotidienne des formules d'extrait de bourgeons de *P. nigra*, a montré un score égal à 2.33 ± 0.21 , 2.83 ± 0.16 , au bout de 15 jours pour la formule à 10% et à 20% respectivement. Le score de la formule à 10% a montré une différence extrêmement significative par rapport au lot non traité. Quant à celui de la formule à 20% qui a montré une différence très hautement significative par rapport au lot non traité (**Figure 15**).

L'aspect de la cicatrisation est plus important avec la formule à 10% qui a induit une réparation tissulaire quasi complète au bout de 20 jours avec un score de $0,66 \pm 0.33$ (**Figures 15**).

L'application quotidienne de la vaseline sur la plaie n'a pas mit en évidence une différence significative des scores vis-à-vis du lot non traité. A la fin du traitement, le score de la plaie est égal à 3 ± 0 , au bout de 15 jours, puis a diminué jusqu'à 2.16 ± 0.16 au bout de 20 jours (**Figure 15**).

II. 3-2 Variation des scores d'exsudat

Les résultats des lots traités par la formule à 10% et à 20% ont montré une diminution non significative de l'exsudat par rapport au lot non traité avec un score égale à 0.5 ± 0.22 ; 0.16 ± 0.16 respectivement au bout de 8 jours, puis ont diminué jusqu'à 0 au bout de 15 et 20 jours respectivement (**Figure 16**).

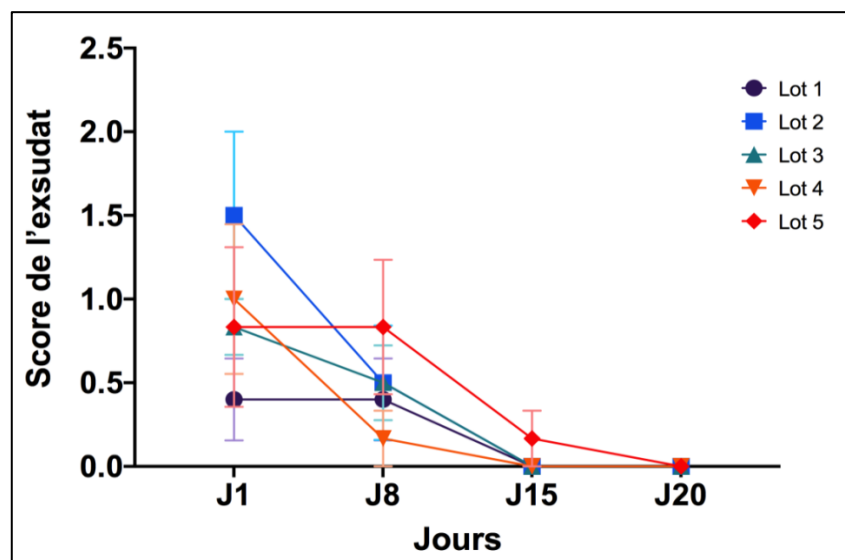


Figure 16: Variation des scores d'exsudat selon les différents lots (lot 1=non traité, lot 2=standard, lot 3= formule 10%, lot 4=formule 20%, et lot 5=excipient) après 20 jours de traitement.

Les résultats exprimés en Moyenne \pm SEM (n=5) ont été obtenus en comparant les différents lots par rapport au lot 1.

Les lots traités par le standard et par l'excipient ont montré également une diminution non significative de l'exsudat par rapport au lot non traité avec un score égale à 0.5 ± 0.34 ; 0.83 ± 0.4 au bout de 8 jours, puis ont diminué jusqu'à 0 au bout de 15 et 20 jours pour le standard et jusqu'à 0.16 ± 0.16 au bout de 15 jours puis jusqu'à 0 au bout de 20 jours pour l'excipient (**Figure 16**).

L'induction d'une plaie chez le rat non traité, ne s'associe pas à une cicatrisation complète au bout de 20 jours d'observation. Des résultats identiques ont été observés dans le groupe traité par la vaseline seule, corroborant ainsi l'absence d'effet de ce véhicule sur la vitesse de cicatrisation.

II.4- L'influence des traitements sur le poids relatif du foie des rats durant l'expérience :

Une comparaison des pourcentages des variations des poids relatifs du foie des rats de chaque lot (Non traité, standard, formule à 10%, formule à 20%, et excipient) au J₁₄ et au J₂₀ est représenté dans la figure suivante :

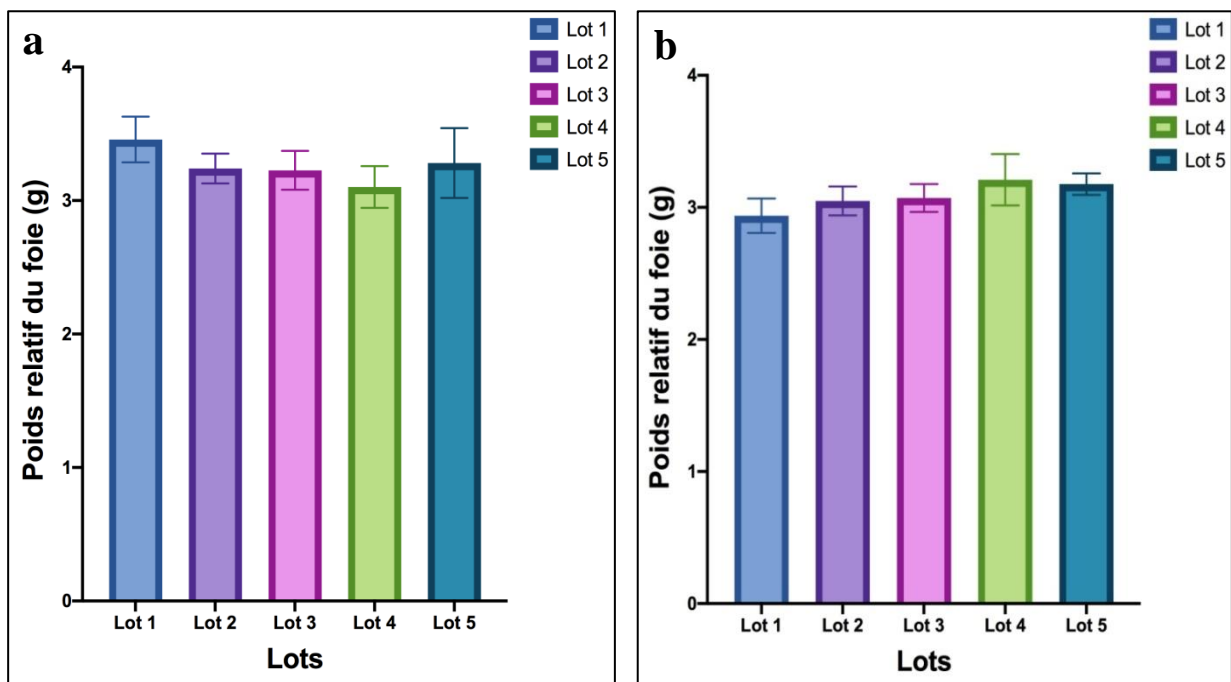


Figure 17: Variation du poids relatif du foie des rats de chaque lot (lot 1 = non traité, lot 2= standard, lot 3= formule 10%, lot 4= formule 20%, et lot 5 = excipient) au 14° (a) et 20° jour (b) du traitement. Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, ** différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, **** différence extrêmement significative par rapport au non traité.

Le poids relatifs du foie des rats de différents lots a été mesuré tout au long de l'expérience. D'après les résultats de la (**Figure 17 a**), on observe une augmentation du poids relatif des foies d'une façon normale pour tous les lots durant les 14 jours de traitement.

Les lots traités par la formule à 10% et à 20% ont montré une différence non significative par rapport au lot non traité avec un poids de $3.22 \pm 0.14g$; $3.10 \pm 0.15g$ respectivement pour les deux formules et un poids de $3.45 \pm 0.17g$ pour le lot non traité au 14^e jour de traitement (**Figure 17 a**).

Les lots traités par le standard et par l'excipient ont montré également une différence non significative par rapport au lot non traité avec un poids égale à $3.23 \pm 0.11g$; $3.28 \pm 0.26g$ respectivement au 14^e jour de traitement (**Figure 17 a**).

Pendant la période du traitement, aucun changement n'a été remarqué concernant le comportement des rats. D'après les résultats de la (**Figure 17 b**), on a observé une augmentation du poids relatif des foies d'une façon normale pour tous les lots durant les 20jours du traitement.

Les lots traités par la formule à 10% et à 20% ont montré une différence non significative par rapport au lot non traité avec un poids de $3.07 \pm 0.10g$; $3.21 \pm 0.19g$ respectivement, et un poids de $3.21 \pm 0.19g$ pour le lot non traité au 20^e jour du traitement (**Figure 17 b**).

Les lots traités par le standard et par l'excipient ont montré également une différence non significative par rapport au lot non traité avec un poids égale à $3.04 \pm 0.11g$; $3.17 \pm 0.06g$ respectivement au 20^e jour du traitement (**Figure 17 b**).

Le traitement par les deux formules n'a présenté aucun changement anormal sur le poids des foies des rats, ce qui peut être expliqué par le fait que ces deux formules ne sont pas toxiques pour le foie.

II.5- Etude des activités enzymatiques

Notre objectif est l'étude de l'effet antioxydant de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P. nigra* en utilisant un model animal et d'évaluer ainsi le potentiel antioxydant par la mesure de deux activités enzymatiques : La SOD et la CAT au 14^e et 20^e jour de l'étude expérimentale.

II.5-1- L'influence des différents traitements sur l'activité de la SOD au 14^e et 20^e jour du traitement :

Les résultats obtenus au bout de 14^e jour ont montré une variation significative de l'activité enzymatique de la SOD en présence ou en absence du traitement soit par l'extrait éthanolique des bourgeons de *P. nigra* ou par le standard (**Figure 18 a**).

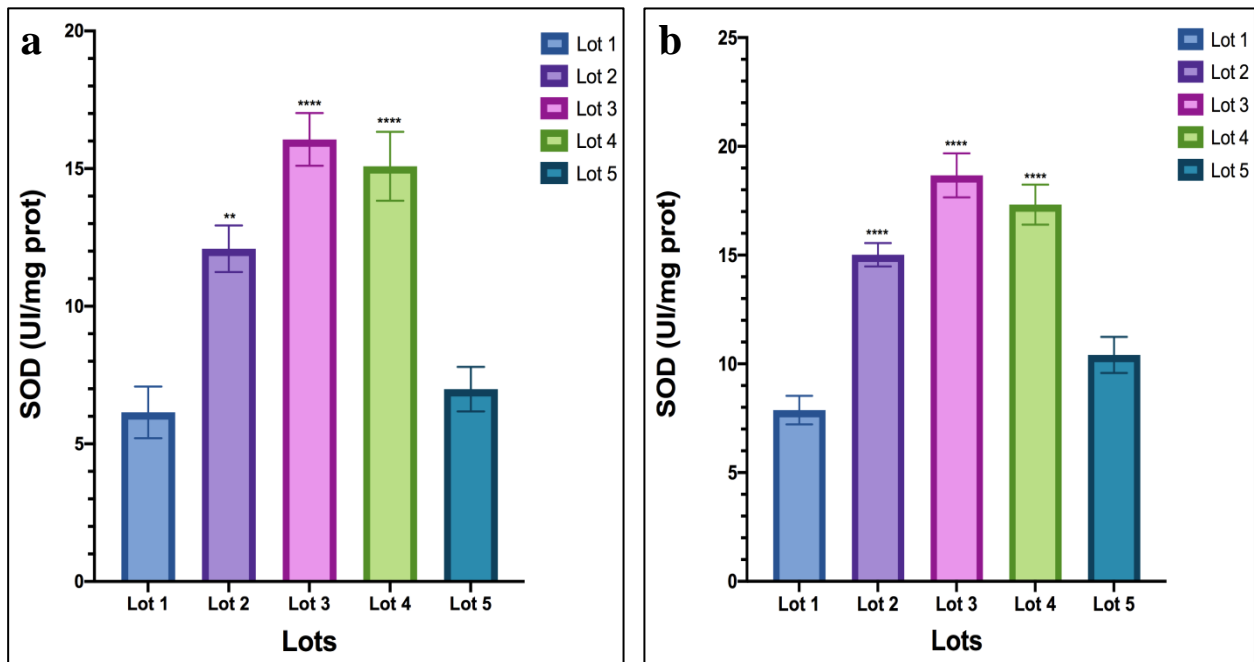


Figure 18 : Effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* sur l'activité de la SOD en fonction des différents lots (lot 1=non traité ; lot 2=standard ; lot 3=formule à 10% ; lot 4=formule à 20% ; lot 5=excipient) après 14 (a) et 20 jours (b) de traitement.

Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, ** différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, **** différence extrêmement significative par rapport au non traité.

Le lot témoin révèle une activité enzymatique de 6.14 ± 0.93 U/mg de protéine dans la peau. Ce taux a été pris comme une valeur de référence dans notre étude. Les rats traités par le standard ont montré une augmentation hautement significative du taux d'activité enzymatique qui est de 12.08 ± 0.84 U/mg de protéine en comparant au lot non traité. Les deux lots traités par les deux formules 10% et 20% ont enregistré une valeur de 15.08 ± 1.25 U/mg de protéine, cette dernière est extrêmement significative par rapport au non traité.

Ces résultats ont montré un bon effet préventif marqué par l'extrait par rapport à celui exhibé par le standard.

Les mesures de l'activité enzymatique de la SOD après 20 jours du traitement sont représentées dans la **Figure 18 b**.

Le lot non traité révèle un taux de 7.81 ± 0.65 U/mg de protéines. Cependant, le lot traité par le standard ainsi que les deux lots traités par les deux différentes formules 10% et 20% ont montré une différence extrêmement significative par rapport au non traité, avec un taux de 15.01 ± 0.53 U/mg ; 18.66 ± 1.01 U/mg de protéine et 17.32 ± 0.92 U/mg de protéine respectivement.

La comparaison entre les résultats de l'activité étudiée entre les deux formules n'a montré aucune différence significative entre eux.

II.5-2-L'influence des différents traitements sur l'activité de la catalase au 14^e et 20^e jour du traitement :

L'activité de la catalase avec l'extrait de bourgeons de *P. nigra* a été déterminée en mesurant le taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène, suivant la méthode de **Najjar et al., (2017)**. Les résultats de l'effet des différents traitements sur l'activité de la catalase sont présentés dans la **Figure 19**.

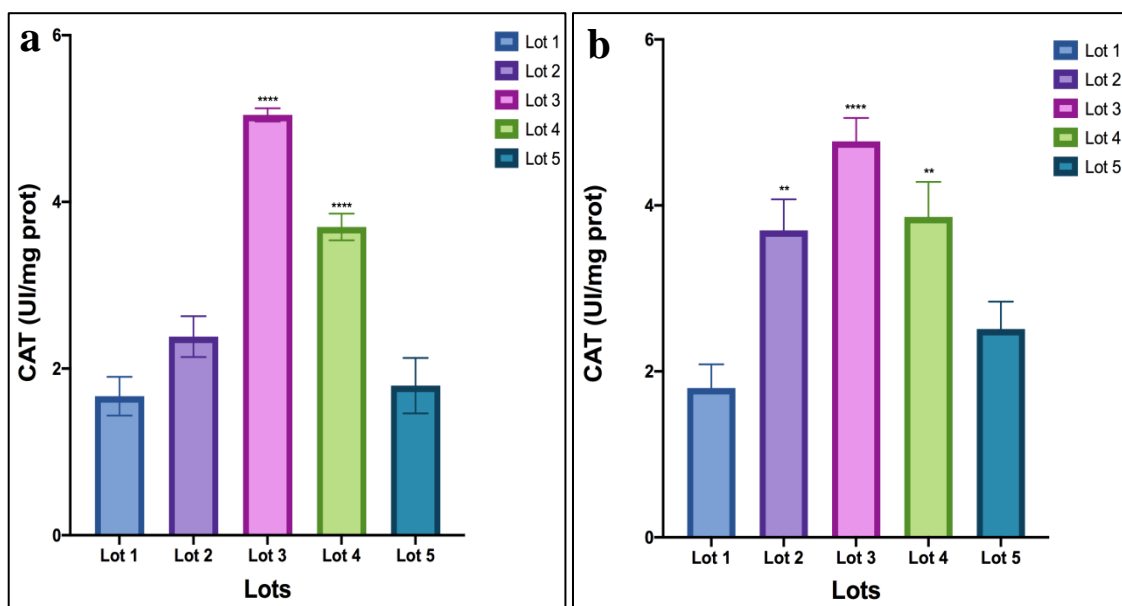


Figure 19: Effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* sur l'activité de la catalase en fonction des différents lots (lot 1=non traité ; lot 2=standard ; lot 3=formule à 10% ; lot 4=formule à 20% ; lot 5=excipient) après 14 (a) et 20 jours (b) de traitement.

Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, **différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, ****différence extrêmement significative par rapport au non traité.

D'après les résultats de la (**Figure 19 a**) :

L'activité de la catalase a été mesurée chez les rats non traités avec 1.66 ± 0.23 UI/mg de protéine au 14^e jour du traitement et 1.79 ± 0.28 UI/mg de protéine au 20^e jour du traitement.

L'activité de la catalase a été mesurée chez les rats traités avec le standard avec 2.38 ± 0.24 UI/mg de protéine. Ce taux n'a montré aucune différence significative par rapport au lot non traité au 14^e jour mais au 20^e jour du traitement, il a montré une différence hautement significative par rapport au lot non traité avec 3.70 ± 0.37 UI/mg de protéine.

Les rats traités avec l'excipient, l'activité de la catalase a été enregistré avec 1.79 ± 0.33 UI/mg de protéine au 14^e jour du traitement et 2.51 ± 0.33 UI/mg de protéine au 20^e jour du traitement. Ces taux n'ont montré aucune différence significative par rapport au lot non traité.

Contrairement aux rats traités avec les deux formules (10% et 20%), où l'activité de la catalase est augmentée avec (5.04 ± 0.08 ; 3.69 ± 0.16 UI/mg protéine) respectivement au 14^e jour du traitement. Ces taux élevés de la catalase chez les deux formules ont montré une différence extrêmement significative par rapport au lot non traité. Quand au celle enregistré au 20^e jour du traitement, elle a augmenté également avec (4.77 ± 0.28 ; 3.86 ± 0.42 UI/mg protéine) respectivement. Ces taux élevés de la catalase chez les deux formules ont montré une différence extrêmement significative pour la formule à 10%, et une différence hautement significative pour la formule à 20% par rapport au lot non traité (**Figure 19 a**).

Ces résultats n'ont montré aucune différence significative entre les deux formules à 10% et à 20%, ce qui signifie que la dose optimale est de 10% après 20 jours de traitement

L'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* n'a pas induit une diminution de la catalase mais plutôt une activation. Ceci peut être expliqué par la présence d'un effet anti-oxydant chez *P.nigra* ce qui est prouvé par les travaux de **Debbache et al (2013)** qui ont rapporté une activité anti-oxydante de l'extrait brut de cette plante en plus d'une composition importante en composés phénoliques.

La superoxyde dismutase (SOD) et la catalase sont des enzymes connues dans les systèmes de défenses antioxydants de l'organisme, protégeant les cellules contre des attaques radicalaires. La catalase permet la dismutation du peroxyde d'hydrogène et la SOD est une oxydoréductase inactive l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Gao et al., 1998**). Les résultats des activités enzymatiques ont indiqué la présence d'un taux élevé de la CAT et de la SOD au bout de 20^e jour, ce qui indique que la cicatrisation n'est pas encore achevée, révélant ainsi que les deux enzymes sont encore actives.

P. nigra est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour prévenir et guérir plusieurs pathologies (**Fournier, 2010**). Afin de valider cette utilisation, plusieurs études ont été conduites sur ses bourgeons. Ces derniers ont montré différentes activités biologiques telles que l'activité anti-oxydante. L'étude de **Dudonné et al (2011)** a montré que l'extrait de bourgeons de

P. nigra présente une activité antioxydante en augmentant l'expression des gènes des molécules anti-oxydantes. Cette activation est probablement due à la présence de l'acide caféique. Par ailleurs, les travaux de **Lee et al. (2010)** ont montré que l'acide caféique active le facteur Nrf2 et induit la synthèse des molécules anti-oxydantes.

D'après **Goetz (2011)**, les bourgeons de *Populus nigra* contiennent des acides phénoliques et des flavonoïdes tels que l'acide caféique, acide p-coumarique, la quercétine et lutéolin. Et d'après **Han et al (2007)** la quercétine est capable d'induire une augmentation de l'activité enzymatique de la SOD.

Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui peuvent aider à neutraliser les radicaux libres. Ainsi, les flavonoïdes sont une famille de molécules appartient aux polyphénols, ces molécules sont produites par les plantes pour se défendre contre divers agressions, ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes (hexokinase, aldose réductase, la phospholipase C, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipoxygénase, myéloperoxydase, NADPH oxydase et la xanthine oxydase). Ou bien d'induire l'expression des enzymes antioxydants endogènes tels que la catalase, glutathion peroxydases et la superoxyde dismutase (**Akhlaghi et Bandy, 2009**).

Certains polyphénols peuvent réguler les mécanismes de défense de la cellule à travers l'activation du facteur Nrf 2 (Nuclear factor-erythroid-2-related factor 2). Ce facteur joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie lors du stress oxydatif car il permet la transcription de plusieurs gènes cyto-protecteurs tels que les enzymes anti-oxydantes (CAT, SOD.. etc.) (**Kim et al., 2010**).

II.6-Evaluation de la toxicité

II.6-1-L'analyse du dosage des transaminases :

L'effet de cet extrait éthanolique sur des bio-marqueurs (ALAT, ASAT) a été testé car toute altération des niveaux de ces paramètres est considérée comme signes de toxicités (**Figure 20**).

- Variation des taux d'ASAT et d'ALAT

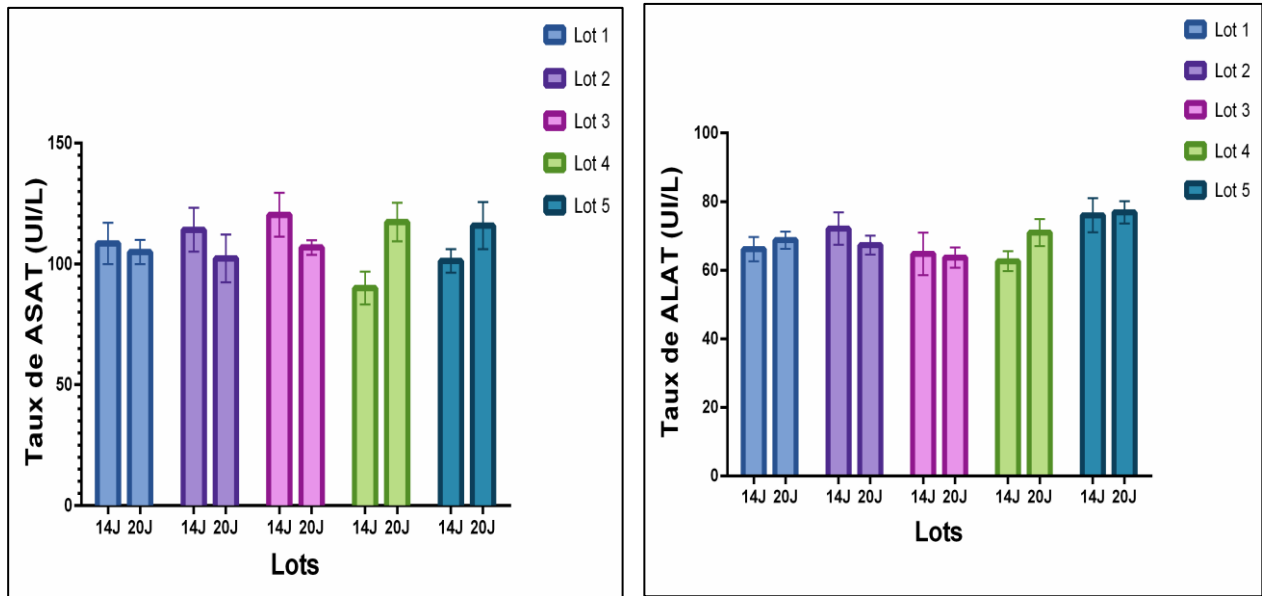


Figure 20: Variation du taux d'ASAT et d'ALAT en fonction des différents lots après 14 et 20 jours de traitement. (lot 1= non traité ; lot 2=standard ; lot 3= formule à 10% ; lot 4= formule à 20% ; lot 5= excipient). Les données sont représentées en moyenne \pm SEM pour $n=5$; *différence significative, **différences hautement significatives, *** différence très hautement significative, ****différence extrêmement significative par rapport au non traité.

Après 14 et 20 jours de traitement, les résultats ont montré que :

Les rats traités par le standard et par l'excipient, n'ont révélé aucune différence significative dans le taux d'ASAT (114.12 ± 9.09 UI/L ; 102.33 ± 9.87 UI/L) ; (101.25 ± 4.93 UI/L ; 115.83 ± 9.76 UI/L) respectivement, comparativement au lot non traité dont le taux d'ASAT (108.5 ± 8.54 UI/L ; 104.91 ± 5.01 UI/L) respectivement.

Aucune différence significative n'a été enregistré également dans le taux d'ALAT (72.12 ± 4.73 UI/L ; 67.33 ± 2.74 UI/L) ; (76 ± 4.98 UI/L ; 76.83 ± 3.24 UI/L) respectivement, comparativement au lot non traité, dont le taux d'ALAT (66.12 ± 3.52 UI/L ; 68.75 ± 2.5 UI/L) respectivement.

(Figure 20).

L'application des deux formules de l'extrait de bourgeons de *P. nigra* à différentes concentrations 10% et 20%, n'ont révélé aucune différence significative dans le taux d'ASAT (120.37 ± 9.06 UI/L ; 106.86 ± 3.04 UI/L) ; (90 ± 6.83 UI/L ; 117.33 ± 7.93 UI/L) respectivement, comparativement au lot non traité dont le taux d'ASAT sont (108.5 ± 8.54 UI/L ; 104.91 ± 5.01 UI/L) respectivement.

Aucune différence significative n'a été enregistré également dans le taux d'ALAT (64.75 ± 6.16 UI/L ; 63.67 ± 2.94 UI/L) ; (62.63 ± 2.88 UI/L ; 70.91 ± 3.92 UI/L) respectivement,

comparativement au lot non traité dont le taux d'ALAT (66.12 ± 3.52 UI/L ; 68.75 ± 2.5 UI/L) respectivement (**Figure 20**).

ALAT est une enzyme spécifique du foie, retrouvée dans le cytosol des hépatocytes et est fortement libérée dans le sang lors de la lyse hépatocytaire. ASAT quant à elle, est retrouvée dans les mitochondries des hépatocytes, des reins, du cerveau, du muscle cardiaque et squelettique (**Naguib et al, 2014**). Elle est libérée excessivement dans la circulation sanguine suite à des dommages structurels du foie. Ces deux enzymes sont des bons marqueurs des maladies du cœur et du foie, car un taux de transaminases élevé est le reflet d'une lésion cellulaire (cytolyse).

Le prétraitement des rats avec l'extrait éthanolique des bourgeons de *P.nigra* a montré une absence de différence significative dans les taux d'ASAT et d'ALAT. Ceci est soutenu par la présence d'une structure hépatique d'aspect normale.

II.6-2- Coupes histologiques

Les résultats de l'étude histologique du foie des différents lots sont présentés dans la **Figure 21**.

Les examens histologiques ont montré une architecture normale du foie d'un rat non traité. Le parenchyme hépatique est organisé en lobules sans séparation visible, schématiquement hexagonaux, avec un espace porte à chaque sommet.

Ces lobules sont centrés par une veine centro-lobulaire. Entre les espaces portes et la veine Centro lobulaire, Les hépatocytes (cellules polygonales mononuclées organisées en travées) sont séparées entre les espaces portes et la veine Centro lobulaire par des sinusoides.

Les sinusoides sont bordées de cellules endothéliales et de cellules de Kupffer.

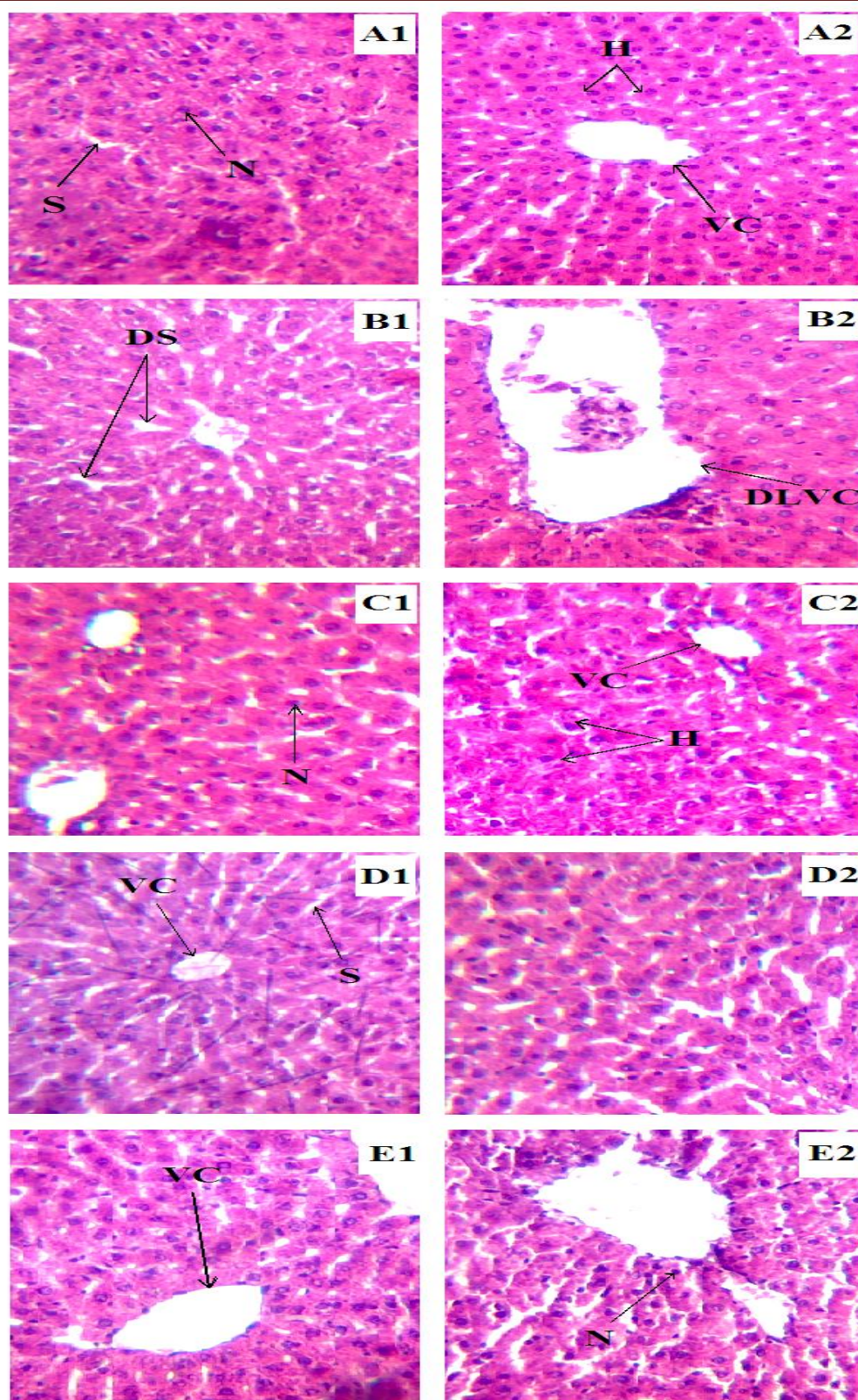


Figure 21: Observation microscopique des coupes de foie chez des rats des différents lots ayant reçu les différents traitements. (Coloration HE avec G×10). **1:** 14 jours. **2:** 20 jours.
A1-2: lot témoin, **B1-2:** Standard, **C1-2:** Formule 10%, **D1-2:** Formule 20%. **E1-2 :** Excipient.
H: Hépatocyte, **S:** Sinusoïde, **VC:** Veine centrale, **DLVC:** dilatation de la Veine centrale, **DS :** dilatation des sinusoides, **N:** noyau.

Les coupes histologiques obtenues du foie de rat du lot 2 ont montré une altération cellulaire importante caractérisée par la congestion et dilatation de la veine centro-lobulaire, présence des foyers inflammatoire important et des sinusoides dilatées causant ainsi de dommages au niveau du foie.

Ces modifications au niveau du tissu hépatique apparaissent tout au long de la période de traitement (20jours) ceux qui provoque une altération des cellules hépatiques.

Les examens histologiques des sections du foie des rats du lot 3 ont révélé une structure hépatique normale, montrant des noyaux disposés au milieu de la cellule traduisant la fonctionnalité de celle-ci. Une architecture hépatique normale c'est-à-dire des hépatocytes disposés en plaques rayonnantes autour de la veine centrale, sans dilatation sinusoidale ou de saignements. Aucun foyer inflammatoire n'est présent, ce qui signifie l'absence d'une lésion hépatique.

L'étude des coupes histologiques du foie des rats du lot 4 traité par la formule 20% montre une structure hépatique semblable à celle observée chez le lot précédent. On note l'apparition de foyers inflammatoires rares qui apparaissent après 14^e jour du traitement et disparaissent au 20^e jour.

La figure n'a montré aucun changement morphologique du foie des rats traités par l'excipient. Ce qui signifie absence de nécrose pas de dilatation ni de la veine centre ni des sinusoides. Le véhicule n'a exercé aucun effet apparent.

Le foie est le centre de la majorité des fonctions de l'organisme. Il a un rôle primordial dans le métabolisme des molécules endogènes et exogènes telles que la détoxification et l'élimination des médicaments. **(Poirier et al ,1975).**

Afin de confirmer les résultats des dosages plasmatiques ASAT et ALAT, une étude histologique des foies des rats des différents lots a été réalisée, par l'utilisation de la coloration de l'hématoxyline et l'éosine.

L'étude histologique a exhibé que le traitement des plaies par les deux formules n'ont pas provoqué des changements au niveau de la structure de parenchyme hépatique. Aucun signe de l'inflammation ou de nécrose n'a été observé. Ce qui indique la non-toxicité de l'extrait contrairement au médicament de référence.

Les résultats de l'étude biochimique sont consolidés par ceux de l'étude histologique qui révèlent la présence de structures hépatiques d'aspect normal. Ces résultats permettent donc de valider que

l'extrait de bourgeons de *P. nigra* n'est pas toxique en considérant son effet sur les paramètres dosés et la structure du tissu hépatique. La non-toxicité de cette plante est confirmée par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (AAPAM), l'autorité européenne de sécurité des aliments (AESAs) et le comité scientifique de l'aliment (CSA) qui ont autorisé son utilisation comme additif alimentaire (**EFSA Journal, 2012**).

Des études précédentes ont rapporté que cet extrait de plante est non toxique pour le foie en plus de son effet hépato-protecteur. Cet effet est peut être dû à sa richesse en phyto-constituants qui ont été déjà identifiés par des études antérieures telles que les flavonoïdes, l'acide caféique et le salicylate (**Dudonné et al, 2011**).

Ces résultats histologiques confirment les résultats des dosages des paramètres biochimiques ainsi que la stabilité des poids des foies des rats et peuvent confirmer l'absence des lésions histologiques dans la morphologie des tissus hépatiques chez des rats prétraité par l'extrait.

Conclusion & Perspectives

Les résultats obtenus dans ce travail, ont permis de démontrer que l'extrait éthanolique de bourgeons de *P.nigra* formulé en pommade à 10% en application locale quotidienne possède une activité cicatrisante sur les plaies ouvertes chez les rats mieux que celle du médicament de référence « Madecassol®1%. »

L'extrait éthanolique favorise les contractions des plaies, en accélérant l'apparition des tissus épithéliaux. Ces activités pourraient être dues à l'effet des familles chimiques présentes dans l'extrait. Cette étude a permis de vérifier et de valider l'utilisation traditionnelle de cette plante comme cicatrisante.

Ainsi, notre présente étude montre la non-toxicité de cet extrait de plante sur le foie, suggérant qu'il présente un effet hépato-protecteur, qui est probablement lié aux métabolites secondaires contenus dans ses bourgeons. Ces derniers doués d'activités anti-oxydantes (CAT et SOD), anti-peroxydation lipidique et anti-inflammatoire.

En effet, l'absence de composés toxiques dans les bourgeons du peuplier noir, nous permet de proposer ces derniers comme sources de composés utilisés dans plusieurs domaines d'application :

- En cosmétologie naturelle, les bourgeons sont une source potentielle d'antioxydants.
- En industrie pharmaceutique pour traiter et prévenir les maladies à caractère inflammatoires.

Les divers aspects abordés dans cette étude ouvrent de nouvelles perspectives de recherche afin d'établir le mécanisme de l'effet antioxydant et hépato-protecteur des polyphénols des bourgeons de *P.nigra*. À cet effet, il serait intéressant de :

- Identifier, purifier et isoler les composés actifs responsables des activités testées.
- Evaluer d'autres activités enzymatiques à savoir, la glutathion (GSH), et la glutathion peroxydase (GPX), et le dosage du collagène dans le tissu.
- Améliorer et développer les étapes de l'extraction des bourgeons de la plante.
- Tester l'extrait éthanolique à une faible concentration (5%).

Références Bibliographiques

- ❖ **Aïd S and Bosetti F. (2011).** Targeting cyclooxygenases-1 and -2 in neuroinflammation: Therapeutic implications. *Biochimie*.93: 46–51.
- ❖ **Akhlaghi, M. and Bandy. B. (2009).** Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46:309-317.
- ❖ **Anonyme. (2005).** Les grandes fonctions de la peau. In : Comprendre la peau. *Ann Dermatol Venereol*, 132 , PP. 8S49-68 .
- ❖ **Banchereau, J., Briere, F., Caux, C., Davoust, J., Lebecque, S., Liu, Y.J., Pulendran, B., and Palucka, K. (2000).** Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 18 : 767 811.
- ❖ **Beloued, A. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Edition *Office des Publications Universitaires.* p : 162-163.
- ❖ **Botting R M and Botting J H. (2000).** Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clin Drug Investig.* 19: 1 -7.
- ❖ **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**: 248-254
- ❖ **Catala, M., André, J.-M., Katsanis, G., and Poirier J. (2008).** La peau et les phanères. In : *Histologie : organes, systèmes et appareils. Cours niveau PCEM2 - DCEM1, Service d’Histologie – Embryologie. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, France.* Pp.59-73.
- ❖ **Chalvet (de)-Rochemonteix (de), A. (2009).** Les bio-films et la peau. Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil- Ecole nationale vétérinaire d’Alfort (France).147 p.
- ❖ **Charles et al., 2010) . Charles N S , Peter A W and Derek W G.** *Fundamentals of Inflammation.* Cambridge University Press , 2-3.
- ❖ **Chaput, B., Courtade-Said, M., de Bonnezeze, G., Eburdery, H., Crouzet, C., and Chavoïn, J-P. (2012).** Anomalies de la cicatrisation. Edition Elsevier Masson SAS. P. 45-011.
- ❖ **Comhair SA, Bhathena PR, Farver C, Thunnissen FB, and Erzurum SC. (2001).** Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *FASEB J.* 15:70–78.
- ❖ **Cribier, B. et Grosshans, E. (1994)** Histologie de la peau normale et lésions histopathologiques élémentaires. *Encycl. Méd. Chir. dermatologie (Elsevier, Paris).* 12-220-A-10. *Podologie* 1999, 15p.
- ❖ **Debbache-Benaida N, Atmani-Kilani D, Schini-Keirth VB, Djebbli N, and Atmani D (2013)** Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, antiinflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pac J Trop Biomed* 3(9): 697–704.

- ❖ **Debbache-Benaida, N.; Atmani, D.; and Atmani, D. (2014).** Chemical analysis and biological activities of *Populus nigra*, flower buds extracts as source of propolis in Algeria. *Ind. Crop. Prod.* **2014**, 53, 85–92. [CrossRef] act antiiflm et antioxyd.
- ❖ **Debbache-Benaida, N.; Berboucha, M.; Ayouni, K.; Atmani, D.; Cherift, N.; Boudaoud, H.; Djebli, N.; and Atmani, D. (2018).** Anti-hyperuricemic and neuroprotective effects of *Populus nigra* L. (Saliaceae) flower buds used in Algerian folk medicine. *J. Pharm. Pharmacogn. Res.* **6**, 471–482.
- ❖ **Desmoulière, A. (1995).** Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. *Cell Biology International*, 19, (5):471-476.
- ❖ **Dudonné, S.; Coutière, P.; Woillez, M.; Mérillon, J. M.; and Vitrac, X. (2010).** DNA microarray study of skin aging related-genes expression modulation by antioxidant plant extracts on a replicative senescence model of human dermal fibroblasts. *Phytother. Res.* 2010doi: 10.1002/ ptr.3308.
- ❖ **Dudonné, S.; Poupard, P.; Coutière P.; Woillez, M.; Richard, T.; Mérillon, J. M.; and Vitrac, X. (2011)** Phenolic composition and antioxidant properties of poplar bud (*Populus nigra*) extract: individual antioxidant contribution of phenolics and transcriptional effect on skin aging. *J Agric Food Chem* 9(9): 4527–4536.
- ❖ **Dudonné, S.; Vitrac, X.; Coutière, P.; Woillez, M.; and M!erillon, J. M. (2009).** Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 1768–74.
- ❖ **EFSA Journal. (2012).** *European Food Safety Authority Journal*, **10** (5): 2663.
- ❖ **Ferraq, Y. (2007).** Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser. Thèse pour obtenir le grade de docteur en ingénierie médicale et biologique. Université Toulouse III (France). 153p.
- ❖ **Fournier, (2010).** *Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Paris: Omnibus. P. 750-752.
- ❖ **Gao, R., Yuan, Z., Zhao, Z. and Gao, X. (1998).** Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, (45):41-45
- ❖ **Goetz P. (2011a).** Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie* **9**: 310-317.
- ❖ **Hagerman, A.E., and Butler, L.G. (2017).** Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **26**: 809-812.

- ❖ **Hé, D. (2006).** Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse (France). 221p.
- ❖ **Jayakumar, K. (2015).** Ethno Medicinal Value of Plants in Thanjavur District, Tamil Nadu, India. *International Letters of Natural Sciences*. 29, (2):33-42.
- ❖ **Karawya, M. S., Ammar, N. M., Hifnawy, M. S., Al-ookbi, S. Y., Mohamed D. A. et El-Aansary, A. A. (2010).** Phytochemical study and evaluation of the anti-inflammatory activity of some medicinal plants growing in Egypt. *Medical Journal Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, **18** (4): 139-150.
- ❖ **Kim, H. J. et Vaziri, N. D. (2010).** Contribution of impaired Nrf 2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *American Journal of Physiology*
- ❖ **Lakhani, Sunil R, Dilly, Susan A and Finlayson and Caroline J.** Basic pathology: an introduction to the mechanisms of disease. London : Hodder Arnold 2009.
- ❖ **Lee, Y., Shin, D. H., Kim, J. H., Hong, S., Choi, D., Kim, Y. J., Kwak, M. K. et Jung, Y. (2010).** Caffeic acid phenethyl ester-mediated Nrf2 activation and I κ B kinase inhibition are involved in NF κ B inhibitory effect: Structural analysis for NF κ B inhibition. *European Journal of Pharmacology*, **643**: 21-28.
- ❖ **Le Bronec, M. (2005).** Influence du pansement Urgotul© dans la cicatrisation des plaies par seconde intention chez le chien et le chat : étude clinique. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 124p.
- ❖ **Lipsker, D., and Boeckler, P. (2006).** Hyperpigmentation. EMC Dermatologie, Elsevier SAS, Paris. 98-580-A-10.
- ❖ **Lopez S , Batisda J , Viladomat F and Codina C. (2002).** Acetylcholine inhibitory activity of some Amaranthaceae alkaloids and anarcissus extracts. *Life Sci*. 71:251- 2529.
- ❖ **Marklund, S. et Marklund, G. (1974).** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur.J. Biochem*, 47: 469-474.
- ❖ **Marieb, E. (2010).** Le système tégumentaire in Anatomie et physiologie humaines. 8^{ème} édition. Edition Renouveau pédagogique inc. P. 174.
- ❖ **Martin, C., André, J.M., et Poirier, J. (2007).** Histologie: organes, systèmes et appareils. Faculté de médecine. Université Pierre et Marie Curie. pp. 2/102.
- ❖ **Martoja R. et Martoja-Pierson M. (1967).** *Initiation aux Techniques de l'Histologie animale.* Paris: Masson 345p.

Références Bibliographiques

- ❖ **Monaco J. L., and Lawrence, W. T. (2003).** Acute wound healing an overview. *Clinics in plastic surgery*, 30(1), 1-12.
- ❖ **Nathan C. (2002).** Points of control in inflammation. *Nature* 2002:19-26,420, 846-852.
- ❖ **Parisot, M. (2004).** L'adénite sébacée granulomateuse du chien : données actualisées. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie), France. 170p
- ❖ **Passeron, T., Ballotti, R., et Ortonne, J.-P. (2005).** Mélanogenèse. *EMC - Dermatologie-Cosmetologie*. 2,(4):204-216.
- ❖ **Poirier, J., Cohen, I. et Bernaudin, J. F. (1975).** Histologie du foie et des voies biliaire. In: *Histologie humaine: Tube digestif foie et voies biliaires pancréas exocrine*. 3ème éd, Paris: Maloine S. A. P. 49-72.
- ❖ **Raghow, R. (1994).** The role of extracellular matrix in postinflammatory wound healing and fibrosis. *FASEB J.* 8, (11):823-31.
- ❖ **Rousselet MC , Vignaud J M, Hofman P et Chatelet FP. (2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP. 1-57.
- ❖ **Schauenberg, P. (1977).** *Guide des plantes médicinales*. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 396 p.
- ❖ **Senet, P., Meaume, S., and Dubertret, L. (2000).** Physiologie de la cicatrisation cutanée. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris) dermatologie* 98-040-A-10, 8p.
- ❖ **Siler, B., Skoric, M., Misic, D., Kovacevic, B., Jelic, M., Patenkovic, A., and Novicic, Z.K. (2014).** Variability of European Black Poplar (*Populus nigra L.*) in the Danube Basin. *Novi Sad*. 9-28.
- ❖ **Tran, H.-V. (2007).** Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine *in vivo* via l'IRM. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur d'Université en Biomécanique et Génie Biomédical. Université de Technologie de Compiègne (France).162p.
- ❖ **Vardar-Ünlü G, Silici S, and Ünlü M. (2008).** Composition and in vitro antimicrobial activity of Populus buds and poplar-type propolis. *World J Microbiol Biotechnol.* 24: 1011-1017.
- ❖ **Vassiliadis, C. (2011).** La peau sensible : connaissances actuelles et point de vue de l'industrie cosmétique. Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université Lille 2.France. 108p.
- ❖ **Warnant, P., Mertens, P. et Marche, C. (2004).** Screening of poplar biomass for bio-active compounds: a simple method to assess antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 93 : 43-48.
- ❖ **Zhang, S., Lu, B., Han, X., Xu, L., Qi, Y., Yin, L., Xu, Y., Zhao, Y., Liu, K. et al. (2013).** Protection of the flavonoid fraction from *Rosa laevigata* Michx fruit against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 55: 60-69.

Glossaire

Ancestral : Qui remonte à un passé très lointain et assez imprécis

Cicatrice : Tissu fibreux remplaçant à titre définitif ou très prolongé un tissu normal après une lésion

Omoplates : Os plat, large, mince et triangulaire, appliqué sur la partie postérieure et supérieure du thorax et constituant, avec la clavicule, la ceinture scapulaire.

Plaie : Déchirure des tissus due à un accident (blessure, brûlure) ou à une intervention chirurgicale.

Annexes

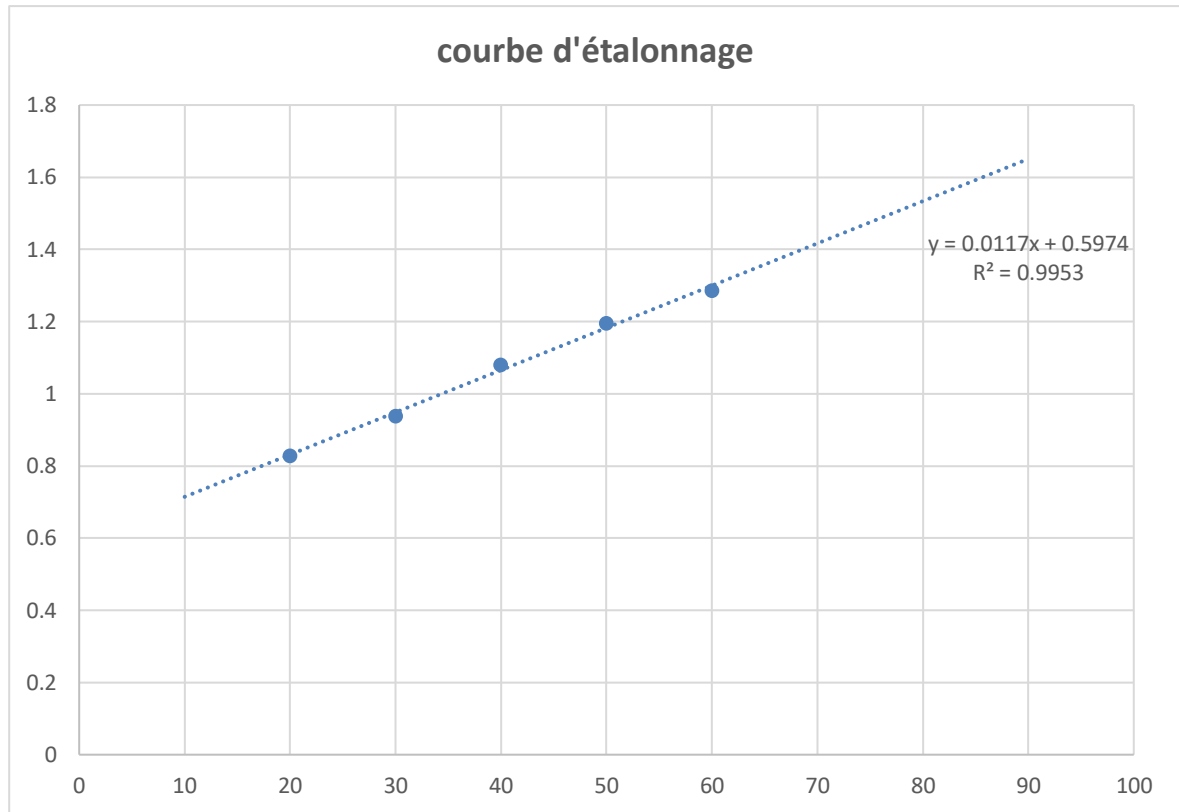


Figure 22 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines par la méthode de Bradford.

Tableau (IV) : Liste des appareillages et produits chimiques utilisés.

L'appareillage	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur (VELP) - Balance (RADWAG) - Sonicateur (RAYPA) - Vortex (VELP) - Etuve (BINDER) - Centrifugeuse (SIGMA) - Spectrophotomètre (SHIMADZU) - Bain marie (MEMMERT) - Microscope optique avec appareil photo intégré (OPTICA) - Automate d'inclusion (LEICA) - Appareil d'enrobage dans la paraffine (SLEE) - Microtome (LEICA) - Broyeur électrique (HEIDOLPH) - Tamiseur de marque (RETSCH) 	<ul style="list-style-type: none"> - Formol (10%) - Réactif de Bradford ; BSA - Eau distillée - EDTA ; pyrogallol ; H₂O₂ ; - Kits de dosage des transaminases (SPINREACT) - Eosine - Hématoxyline de HARRIS - Xylène - Paraffine - Ethanol - Eukitt - Chloroforme - kétamine ; xylazine.

Résumé

Populus nigra, une plante de la famille des *Salicaceae*, est très utilisée comme traitement en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques. Le but de notre étude est d'évaluer l'effet cicatrisant de l'extrait éthanolique de bourgeons de cette plante sur les contractions de la plaie provoquées par une excision (3cm de diamètre), et d'évaluer la toxicité de cet extrait chez les rats *Wistar* albinos, en comparant un lot de rats traités avec deux formules préparées à base de l'extrait des bourgeons de *P. nigra* avec un lot traité avec une pommade pharmaceutique « Madécassol », et un autre lot sans traitement (témoin) pendant 14 et 20 jours. Pour cela plusieurs paramètres ont été évalués : La surface des plaies, le score d'exsudat et d'érythème, activités antioxydantes CAT et SOD, dosages des transaminases, le poids des foies des rats ainsi leurs coupes histologiques. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique de la plante étudiée présente un effet cicatrisant significatif par rapport au médicament de référence, ainsi qu'une activité antioxydante importante. Les résultats rapportent aussi la non-toxicité de l'extrait, prouvent donc que ce dernier possède des propriétés curatives dus aux polyphénols, et confirment une fois de plus la pertinence des plantes médicinales dans le traitement de nombreuses maladies.

Mots clés: *Populus nigra*, cicatrisation, , antioxydant, médecine traditionnelle et polyphénols.

Abstract :

Populus nigra, a plant of the *Salicaceae* family, is widely used as a treatment in traditional medicine for its therapeutic properties. The purpose of our study is to evaluate the healing effect of the ethanolic extract of the buds of this plant on the contractions of the wound caused by an excision (3cm in diameter), and to evaluate the toxicity of this extract in the *Wistar* albino rats, comparing a batch of rats treated with two formulas prepared from the extract of the buds of *P. nigra* with a batch treated with a pharmaceutical Madécassol ointment, and another batch without treatment (control) for 14 and 20 days. Several parameters were evaluated for this: The surface of the wounds, the score of exudate and erythema, antioxidant activity CAT and SOD, assays of transaminases, the weight of livers of rats and their histological sections. The results obtained indicate that the ethanolic extract of the study plant has a significant healing effect compared to the reference drug as well as a significant anti-oxidant activity. The results reports the no-toxicity of extract, thus prove that the latter has healing properties due to polyphenols, and confirm once again the relevance of medicinal plants in the treatment of many diseases.

Keywords: *Populus nigra*, healing, antioxidant, traditional medicine, polyphenols.

الملخص :

الصفصاف، وهو نبات من عائلة الساليكاسي، يُستخدم على نطاق واسع كعلاج في الطب التقليدي لخصائصه العلاجية. الغرض من دراستنا هو تقييم تأثير الشفاء للمستخلص الإيثانولي لبراعم هذا النبات على تقلصات الجرح الناتجة عن الاستئصال (قطرها 3 سم)، وخفض قيمة سمية هذا المستخلص في جردان ويستار بدفعة تعالج بمرهم ماديكاسول الصيدلاني، ودفعة أخرى *P. nigra* ألبينو، بمقارنة مجموعة من الفئران المعالجة بصيغتين محضرتين من مستخلص براعم CAT و SOD بدون علاج (تحكم) لمدة 14 و 20 يومًا تم تقييم العديد من المعايير لهذا: سطح الجروح، ودرجة النضج والحمامي، والنشاط المضاد للأكسدة، ووزن كبد الفئران وأقسامها النسيجية. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن المستخلص الإيثانولي لنبات الدراسة له *Transaminases* ومقاييس تأثير علاجي كبير مقارنة بالعقار المرجعي بالإضافة إلى نشاط كبير مضاد للأكسدة. تشير النتائج أيضًا إلى أن المستخلص لا يمارس تأثير سام، وبالتالي يثبت أن الأخير له خصائص علاجية بسبب البوليفينول، ويؤكد مرة أخرى أهمية النباتات الطبية في علاج العديد من الأمراض.

الكلمات الرئيسية: الشفاء، مضادات الأكسدة، الطب التقليدي، البوليفينول، *Populus nigra*.