

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option : Biochimie Appliquée

Département : Biologie

Thème

L'effet cicatrisant d'un remède traditionnel chez un modèle animal

Présenté par :

✚ Benamara lyna

✚ Neili wassen zaine el charaf

Devant le jury composé de :

Président :	GRARA.N	PROF	Université de Guelma
Examineur :	ABDAOUL.W	MCB	Université de Guelma
Encadrant :	HAMDIKEN.M	MCB	Université de Guelma

Juin 2024

REMERCIEMENT

Avant tous, nos plus sincères remerciements à notre Dieu « الله » qui nous a accordé la Puissance et la volonté afin de terminer ce modeste travail.

Nous voudrions exprimer nos remerciements à M^{me} GRARA, professeur à l'université de Guelma, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider ce jury.

Nos sincères remerciements vont également à M^{me} ABDAOUI, Maître-de conférence à l'université de Guelma, pour avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadrante M^{me} HAMDIKEN, Maître-de conférences à l'université de Guelma, pour nous avoir proposé ce thème de recherche et pour nous avoir consacré beaucoup de temps et d'énergie à l'encadrement de ce mémoire, et pour sa disponibilité, et sa confiance.

Nous adressons un vif remerciement à M^{me} AMINA BOUZITOUNA Maître-de conférence à l'université de Annaba l'ensemble du personnel du laboratoire d'anatomie pathologique de l'EPH IBN ZOHR de Guelma, surtout M^{me} Fatiha et MERJEM, M^{me} AMIRA qui malgré leur travail et leur matériel limité ont su nous informer et nous ont très bien accueillies au sein de leur service pendant le mois de notre stage et aussi le DR HAMLAOUI DJ.

En fin, nous tenons à remercier nos parents, pour tout l'amour et le soutien qu'ils nous ont apporté à tous les moments de notre vie. Ils sont toujours été une source de tendresse et un modèle de travail, de sagesse et d'humilité.

Merci à vous tous

DEDICACE

En premier lieu, louange à ALLAH qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas.

Je dédie cet humble travail ;

A moi-même

A mes chères parentes

A mes chers frères

A toute personne qui m'aime.

A toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement.

« Merci »

BENAMARA. LYNA

DEDICACE

En premier lieu, louange à ALLAH qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas.

Je dédie cet humble travail ;

A moi-même

A ma chère mère Nouadria Rachida

A ma chère tante Nouadria Linda

A toute personne qui m'aime.

A toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement.

« Merci »

WASSEN.Z.CH

Table des matières

La partie bibliographique

I.	Introduction générale	1
----	-----------------------------	---

La partie expérimentale

II.	Matériel et méthodes	11
	1.Vegetal (plante).....	11
	1.1. Préparation de l'extrait	11
	1.2. Calcule de rendements	12
	1.3. Screening phytochimique	12
	1.4. Dosage des polyphénols.....	14
	2. Matériel Biologique (les animaux)	15
	2.1. Test de cicatrisation.....	15
	2.1.1. Épilations de fourrure.....	15
	2.1.2. Anesthésie.....	16
	2.1.3. Induction des brulures	16
	2.1.4. Application des traitements	17
	2.1.5 Evaluation de la cicatrisation Par planimétrie	17
	2.1.5.1 Photographie des plaies	17
	2.1.5.2. La réduction de l'inflammation	18
	2.1.5.3 Calcul du pourcentage de rétraction	18
	3. Sacrifice et dissection	18
	3.1. Dosage des paramètres du stress oxydatif au niveau du foie	18
	3.1.1. Préparation de l'homogénat	18
	3.1.2. Dosage des protéines	19
	3.1.3. Dosage du malodialdéhyde (MDA)	19
	3.1.4. Dosage de l'activité enzymatique de glutathion peroxydase (GPx) .	20
	3.1.5. Dosage du glutathion réduit (GSH)	21
	3.1.6. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	22
	3.1.7. Dosage de l'activité de glutathion s- transferase (GST).....	23
	4. Etude histologique	23
	4.1. Fixation	23
	4.2. Préparation de casette	23

4.3. Déshydratation des échantillons	23
4.4. Inclusion	24
4.5. La coupe	24
4.6. Observation microscopique.....	24
DISCUSSION	26
CONCLUSION.....	32
Les références	35
ANNEXE.....	41

LISTE DES FIGURES

N=°	Titre de figure	Pages
Figure 1	Phases et types d'une réponse inflammatoire	2
Figure 2	Sites d'action des mécanismes de l'inflammation (Annick,2018)	3
Figure 3	Brulure de 1 ^{er} degré	4
Figure 4	Brulure de 2 ^{ème} degré	5
Figure 5	Brulure de 3 ^{ème} degré	5
Figure 6	Photographie des différentes parties de <i>carthamus caeruleus</i> a) : fleure ; b) : feuilles ; c) : rhizomes ou racines (Gorter, 2014)	7
Figure 7	Étapes de cicatrisation	8
Figure 8	Plante <i>carthamus caeruleus</i>	11
Figure 9	Étapes de préparation de la crème (l'extrait)	12
Figure 10	Étapes d'épilation de fourrure.	16
Figure 11	Induction des brulures.	16
Figure 12	Brulures de lot non traité.	17
Figure 13	Application de L'extrait sur les brulures	17
Figure 14	Application de pommade pharmaceutique sur les brulures	17
Figure 15	Diamètre de la zone brûlée par le pied à coulisse.	18
Figure 16	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	28
Figure 17	Teneur en polyphénol.	28
Figure 18	Surfaces des plaies en mm ² au cours de toute la période de traitement	30

Figure 19	Pourcentage (%) de cicatrisation des plaies.	32
Figure 20	Poids moyen (g) des rats à différents intervalles.	33
Figure 21	Concentration de protéine tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	37
Figure 22	Concentration de MDA tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	38
Figure 23	Concentration GSH tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	39
Figure 24	Concentration de CAT tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	39
Figure 25	Concentration de GST tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	40
Figure 26	Concentration de GPx tissulaire au niveau du foie, chez les rats témoins sains (TS), les rats traités par (TPP) et les rats (TPE) , les rats (NT) .	41
Figure 27	Coupes histologiques de la peau X40	43

Liste des tableaux

N=°	Titres des tableaux	Pages
Tableau 1	Identification de <i>carthamus cearuleus</i>	6
Tableau 2	Lots expérimentaux	15
Tableau 3	Rendements de l'extrait brut de <i>carthamus cearuleus</i>	27
Tableau 4	Résultats de screening phytochimique	27
Tableau 5	Surfaces des plaies en mm ² au cours de toute la période de traitement	29
Tableau 6	Pourcentage de rétraction des différents lots.	31
Tableau 7	Poids des rats des différents lots	33
Tableau 8	L'évaluation de l'activité cicatrisante des traitements utilisés	47

Liste d'abréviation

abrév.	Signification
A/Abs	Absorbance
BSA	Bovine sérum albumine
CAT	Catalase
Do	Densité optique
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
GSH	Glutathion réduit
GSH-PX	Glutathion peroxydase
GST	Glutathion s-transférase
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
H2O	Eau
MDA	Malondialdéhyde
Mg/mg	Milligramme
ml/ml	Millilitre
NaCl	Chlorure de sodium
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) + hydrogen (H)
UV	Ultrat Violet
Cell	Cellule
C.C	carthamus caeruleus
P. P	Prise personnelle
min	Minute
Sec	Seconde
CDNB	1-CHLORO-2,4-DINITROBENZENE
TP	Tampon phosphate
DTNB	acide 5-mercapto-2-nitrobenzoïque

Résumé

Carthamus caeruleus est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle possédant de nombreuses propriétés. Thérapeutique, dont la cicatrisation des brûlures.

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité cicatrisante d'une crème issue des rhizomes de *Carthamus caeruleus* chez les rats Wistar.

Tous d'abord, nous avons commencé par une étude phytochimique sur la crème obtenue. Les résultats enregistrés ont révélé une composition riche et variée en métabolites secondaires comme les saponosides, les coumarines, les mucilages, les composés réducteurs et les terpnoides sont présents. L'étude quantitative des polyphénols a révélé une teneur importante (36,47 mg EAG/kg) dans cette plante.

Les résultats obtenus nous ont permis de comprendre que la plante *Carthamus caeruleus* a une activité cicatrisante évidente qui est en accord avec l'efficacité qui lui est reconnue dans la médecine traditionnelle.

هو نبات طبي يستخدم في الطب التقليدي الذي يحتوي على العديد من الخصائص العلاجية، بما في ذلك علاج الالتهابات و التئام الجروح.

تهدف هذه الدراسة الى تقييم النشاط العلاجي لمرهم المستخلص من النبتة -راس لحنش - على فئران واستر

أولا بدانا بدراسة الكيمياء النباتية على المستخلص النباتي أظهرت النتائج المسجلة مجموعة عنية و متنوعة من المواد المضادة الثانوية
les saponosides, les coumarines, les mucilages, les composés réducteurs et les terpnoides

أظهرت الدراسة الكمية للبوليفينول كمية معتبرة يحتوي عليها هذا المستخلص (36,47 mg EAG/kg)

و قد أدت النتائج الى فهم ان نبات - راس لحنش - يحتوي على نشاط علاجي واضح يتفق مع الفعالية المعترف بها في الطب التقليدي .

Carthamus caeruleus is a medicinal plant used in traditional medicine with many properties. Therapeutic, including the healing of burns.

This study aims to evaluate the healing activity of a cream derived from *Carthamus caeruleus* rhizomes in Wistar rats.

First of all, we started with a phytochemical study of the obtained cream. The recorded results revealed a rich and varied composition of secondary metabolites such as saponosides, cumarins, mucilages, reducing compounds and terpnoids are present. The quantitative study of polyphenols revealed a significant content (36.47 mg EAG/kg) in this plant.

The results obtained have enabled us to understand that the plant *Carthamus caeruleus* has an obvious healing activity that is in accordance with the effectiveness recognized in traditional medicine.

Partie bibliographique

Introduction générale

L'inflammation a été reconnue depuis longtemps, remontant même à l'époque des Égyptiens. Le médecin romain Cornelius l'a décrite il y a 2000 ans en identifiant les signes cardinaux suivants : rougeur, œdème, chaleur et douleur. Il s'agit d'une partie de la réponse immunitaire qui peut aider à prévenir les infections en produisant et en synthétisant des médiateurs chimiques pro-inflammatoires en réponse à des facteurs internes ou externes (**OkombeEmbeya et Nzuzi Mavungu , 2019**).

L'inflammation est définie comme un ensemble de mécanismes réactionnels de défense de l'organisme contre des agressions d'origine interne ou externe (**Allam et Nadaul, 2017**). On doit souligner que leurs origines sont variées, comprenant les infections par des micro-organismes tels que les bactéries, les virus et les parasites, les dommages causés par des agents physiques comme les traumatismes, la chaleur, le froid et les radiations, ainsi que les substances chimiques telles que les toxines et les venins. De plus, elle peut être déclenchée par la présence de corps étrangers, des nécroses dues à une mauvaise vascularisation, et des dysfonctionnements du système immunitaire tels que les allergies et les maladies auto-immunes. (**Nidhal, 2017**)

La réaction inflammatoire est un processus bénéfique qui vise à éliminer les agents pathogènes et à réparer les lésions tissulaires (**Lacavé-Lapalun, 2013**) . Cependant, dans certains cas, l'inflammation peut être préjudiciable en raison de l'agressivité ou de la persistance de l'agent pathogène, de l'emplacement de l'inflammation, de dysfonctionnements dans la régulation du processus inflammatoire, ou encore d'anomalies quantitatives ou qualitatives des cellules impliquées dans l'inflammation. (**Hajjaj, 2016**)

On peut distinguer deux types principaux de l'inflammation : L'inflammation aiguë, où il s'agit d'une réponse immédiate de courte durée, pouvant durer de quelques jours à quelques semaines au maximum. Elle se caractérise par un afflux important de cellules inflammatoires au site de la lésion. Dans la plupart des cas, elle se résorbe spontanément et laisse peu de séquelles tissulaires (**Celia, 2016**). Lorsque l'événement déclencheur de l'inflammation aiguë est rencontré pour la première fois par l'organisme et ne fait pas appel à la "mémoire lymphocytaire", elle est qualifiée de non spécifique. Ces inflammations aiguës peuvent guérir spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Bounihi et Sellal, 2017, 2009**). L'inflammation chronique se produit lorsque l'inflammation aiguë ne parvient pas à se résoudre. Cette persistance de l'inflammation

entraîne des dommages anatomiques et fonctionnels, contribuant à la gravité des maladies inflammatoires chroniques. Le mécanisme exact de la chronicité n'est pas toujours clair, pouvant résulter de la persistance de l'agent pathogène, mais aussi de la possibilité que l'inflammation persiste en l'absence de tout agent pathogène. (Seoussen, 2018)

Le processus physiologique de la réaction inflammatoire débute par une phase de reconnaissance, au cours de laquelle des récepteurs spécifiques présents sur certaines cellules résidentes des tissus (comme les macrophages, les mastocytes et les cellules dendritiques) identifient des structures communes à différents groupes de pathogènes, qu'ils soient d'origine externe ou interne (Essakalli et al ; 2009). Cette reconnaissance initiale déclenche une série de réactions en cascade qui conduisent à une défense locale et à la phagocytose des microorganismes. Ces réactions sont accompagnées d'une production précoce de divers médiateurs inflammatoires qui initient le processus inflammatoire, se déroulant principalement en trois phases successives (Kernouf, 2019) . D'abord la phase d'initiation ; elle survient après la détection d'un signal de danger, qu'il soit d'origine externe ou interne, et implique l'action des effecteurs primaires, ensuite la phase d'amplification ; la réaction inflammatoire est amplifiée par la mobilisation et l'activation d'autres effecteurs, et enfin la phase de réparation ; cette phase vise à restaurer l'intégrité du tissu lésé

(Ouhrich, 2017). fig.1

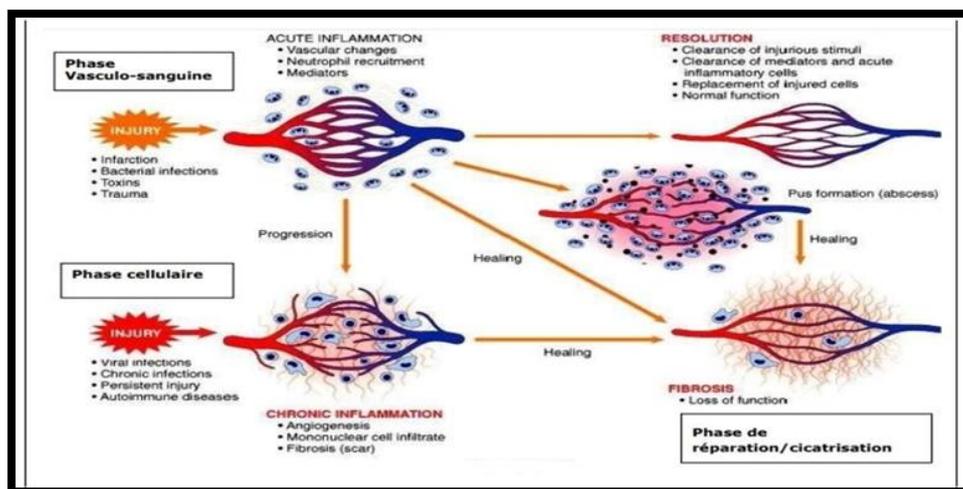


Figure 01. Un aperçu détaillé de diverse causes, phases et types d'une réponse inflammatoire (Sharma et al., 2016)

Il est désormais établi que l'inflammation est un processus complexe impliquant un réseau multifactoriel de signaux chimiques, et que la surproduction de médiateurs pro-inflammatoires

est associée à plusieurs maladies inflammatoires. Ainsi, l'inhibition de cette surproduction est une cible essentielle dans le traitement de ces affections (**Mebirouk, 2017**). Les médicaments anti-inflammatoires peuvent atténuer ou supprimer le processus inflammatoire, se divisant en deux grands groupes : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), qui ciblent différemment les mécanismes pharmacodynamiques (**Annick, 2018**).

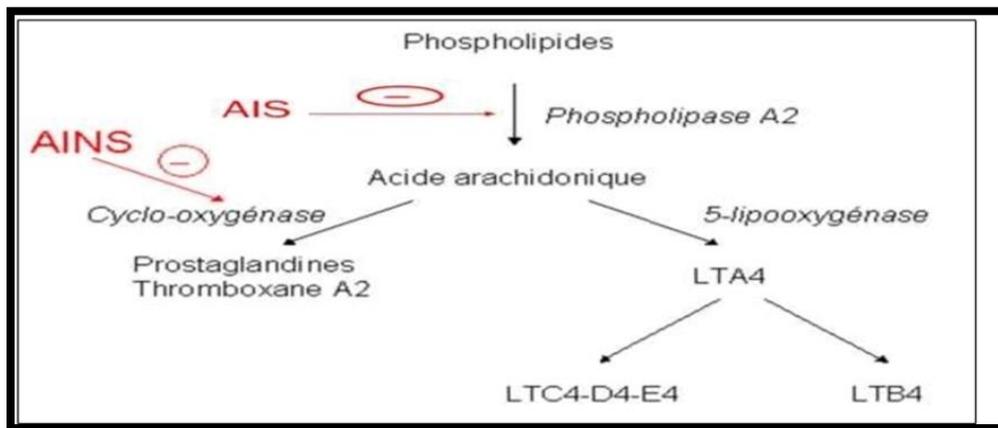


Figure 2. Sites d'action des mécanismes de l'inflammation (**Annick, 2018**)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (ou corticoïdes) et non stéroïdiens (AINS) sont deux classes de médicaments utilisés pour traiter l'inflammation, mais ils agissent de manière différente.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, tels que la prednisone et la dexaméthasone, imitent les hormones naturelles produites par les glandes surrénales pour réduire l'inflammation en supprimant la réponse immunitaire du corps. Ils sont souvent prescrits pour des conditions inflammatoires sévères, comme l'arthrite rhumatoïde ou les maladies auto-immunes, mais leur utilisation prolongée peut entraîner des effets secondaires graves, comme une diminution de la densité osseuse, une prise de poids et une augmentation du risque d'infections. (**Mkenza et al., 2018**)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), tels que l'ibuprofène et le naproxène, fonctionnent en inhibant les enzymes cyclooxygénases (COX), ce qui réduit la production de prostaglandines responsables de l'inflammation, de la douleur et de la fièvre. Ils sont couramment utilisés pour traiter les douleurs légères à modérées, les maux de tête, les douleurs menstruelles et les douleurs musculaires. (**Taiba et al., 2017**) Cependant, les AINS peuvent également entraîner des effets secondaires, notamment des ulcères gastriques, des saignements

gastro-intestinaux et des problèmes rénaux. Il est donc important de les prendre selon les recommandations d'un professionnel de la santé.(**wongrakpanich et al., 2018**)

Et dans un autre coté il ya les brûlures qui produit lorsque le revêtement cutané, voire les structures sous-jacentes, sont endommagés par un agent thermique, chimique, électrique ou des radiations ionisantes. Les brûlures thermiques sont les plus courantes et servent souvent de référence dans la description des brûlures en général. En fonction de leur étendue, de leur profondeur ou de leur emplacement, les brûlures peuvent mettre en jeu le pronostic vital, fonctionnel et/ou esthétique. La peau présente quatre degrés de brûlures selon la gravité de la lésion de la membrane basale : le 1er degré, le 2ème degré superficiel, le 2ème degré profond ou intermédiaire, et le 3ème degré (**lafourcade, 2015**)

1er degré correspond à une altération de la couche cornée, manifestée cliniquement par un érythème comme un coup de soleil, guérissant spontanément en 3 jours.



Figure 3. Brulure de 1er degré (**Echinard, 2010**).

Le 2ème degré superficiel implique une lésion de l'épiderme sans toucher la membrane basale. Ces brûlures se caractérisent par des phlyctènes exsudatives détachant l'épiderme du derme. La cicatrisation se fait en 10 à 12 jours par guérison in situ (**wassermann, 2012**).



Figure 4. Brulure de 2ème degré (lafourcade, 2013)

Le 2ème degré profond ou brûlure intermédiaire se caractérise par une atteinte partielle de la membrane basale. La peau apparaît blanche décolorée, conservant la sensibilité, avec une cicatrisation aléatoire et longue pouvant entraîner des rétractions en 15 à 21 jours (Jalut et al., 2012)

Le 3ème degré ou brûlure profonde affecte toute l'épaisseur de la peau, rendant la zone sèche, cartonnée, insensible, et ne saignant pas au test de piquûre. La cicatrisation spontanée est impossible (Crendal, 2011).



Figure 5. Brulure de 3ème degré (Echinard et Latarjet, 2010)

Il est crucial de noter que les traitements chimiques anti-inflammatoires et anti-cicatrisante peuvent entraîner des effets secondaires potentiels sur la santé humaine, tels que des douleurs gastriques, des ulcères, des saignements gastro-intestinaux, des réactions allergiques, une augmentation du risque d'infections et des perturbations métaboliques (Kanyonga, 2011). En réponse à ces préoccupations, les recherches récents se tournent vers la phytothérapie pour limiter au maximum les effets secondaires indésirables (Dutertre, 2011). Cette pratique thérapeutique qui consiste à utiliser les plantes médicinales et leurs extraits pour traiter, prévenir et soulager divers troubles de santé. Elle est basée sur l'utilisation des principes actifs présents dans les plantes, tels que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les polysaccharides, etc

(Charbrier, 2014) . La phytothérapie utilise différentes parties de la plante, comme les fleurs, les feuilles, les racines ou les écorces, et peut être administrée sous différentes formes, telles que les infusions , les décoctions , les teintures ou macération , les poudres ou gélules , les huiles essentielles ,cataplasme et compressesetc (Sifi, 2018). La phytothérapie offre plusieurs avantages, notamment l'utilisation de produits naturels pour traiter divers maux, souvent avec moins d'effets secondaires que les médicaments synthétiques. Elle peut également favoriser une approche holistique de la santé en considérant le bien-être global de la personne. De plus, certains ingrédients utilisés en phytothérapie peuvent avoir des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et stimulantes du système immunitaire. (Gayet et al., 2013) l'Algérie, et grâce à sa position biogéographique, offre une grande variété de flore à intérêt médicinale et aromatique, mais aussi une forte tradition ethno médicinale qui est toujours en vigueur (Ababsa et al., 2018). Parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne, *Carthamus caeruleus* L. C'est une espèce peu commune de bassin méditerranéen dont ces racines sont, depuis longtemps, très utilisées dans, l'inflammation et les plaies présentant aussi une diversité moléculaire de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les coumarines, les leuco-anthocyanes, les tannins, mucilage, et les saponines (Gasem, 2019). Le nom *Carthamus* signifie « teinture » et *caeruleus* s'applique aux fleurs « de la couleur du ciel ». Elle fait partie de 14 espèces du genre *Carthamus* de la famille des Astéracées. (Benmansour, 2020). Plusieurs classifications ont été attribuées pour cette plante *Carthamus caeruleus* L est classée comme ci-dessous

Tableau 01 : l'identification de *carthamus caeruleus*
(saffidine, 2015)

Embranchement	: Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Ordre :	Asterales
Famille :	Asteraceae
Sous famille :	Carduoideae
Genre :	Carthamus

Espèce :	Carthamus caeruleus
-----------------	---------------------

Carthamus caeruleus est une plante vivace, annuelle ou bisannuelle de 20 à 30 cm d'hauteur . Les fleurs sont bleues ou bleues violets, en capitules solitaires au sommet de la tige et des rameaux globuleux ou ovoïdes (fig 3-a) . Elles ont une corolle tubuleuse que prolongent 5 dents à valeur de courts lobes sommitaux, et des akènes subglobuleux, glabres et blanchâtres. La tige est ascendante, simple ou très peu rameuse, dressée et velue. Ses feuilles sont glabres ou pubescentes, fortement nervurées à contour ovale ou lancéolé, dont les inférieures sont pétiolées et dentées tandis que les supérieures sont sessiles amplexicaules ou dentées-épineuses (fig 3-b) (**Boullard, 2001; Bowles, 2003**). Son rhizome est composé d'une racine principale qui évolue horizontalement et à partir duquel sortent et évoluent verticalement des racines secondaires (figure 3-c) (**Belkhiri et Baghiani, 2017**).



Figure 6. Photographie des différentes parties de *carthamus caeruleus* a) :fleurs ; b) :feuilles ; c) :rhizomes ou racines (**Gorter, 2014**)

La cicatrisation est généralement divisée en quatre phases distinctes, débutant par l'hémostase et le dépôt de fibrine, puis suivies par les phases de réparation (proliférative) et de maturation (remodelage). Ces étapes sont étroitement liées et peuvent se dérouler simultanément dans une même plaie, se chevauchant dans le temps. (**Hé, 2006; Abdeldjelil, 2011**)

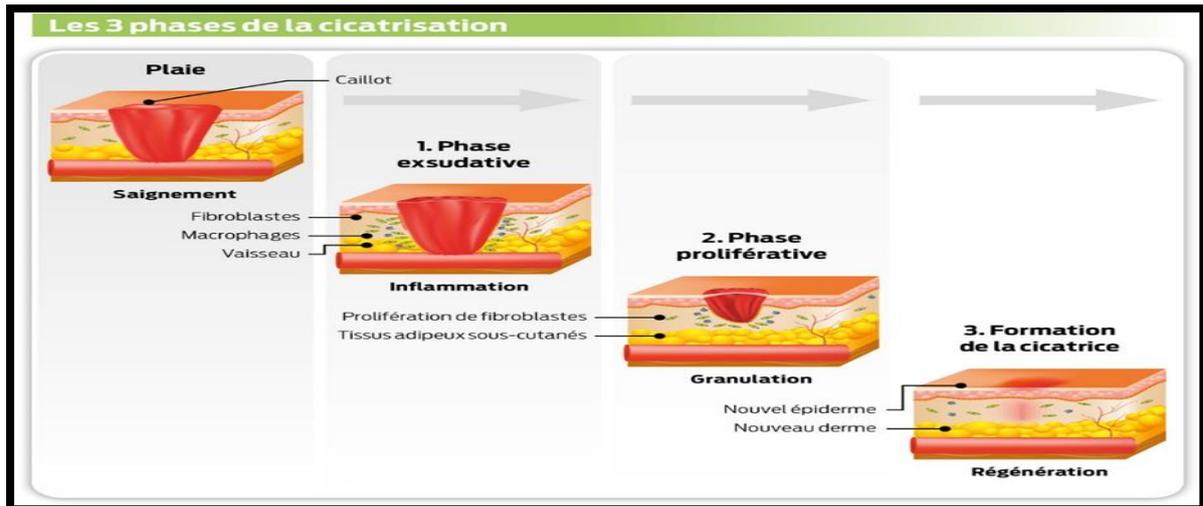


Figure 7. Les étapes de cicatrisation (Nicole, 2014)

La cicatrisation est un processus complexe qui se déroule en plusieurs étapes bien définies. (Chabane, 2021)

Tout d'abord, lors de l'hémostase, les vaisseaux sanguins se resserrent pour réduire le flux sanguin et former un caillot, ce qui stoppe le saignement. (Turan, 2010). Ensuite, l'inflammation survient, caractérisée par l'arrivée de cellules immunitaires, comme les neutrophiles et les macrophages, qui nettoient la zone de toute présence bactérienne et de débris cellulaires. Cette phase est cruciale pour préparer le terrain à la réparation tissulaire. Vient ensuite la phase de prolifération, où les cellules de la peau, appelées kératinocytes, commencent à se diviser et à migrer vers le site de la blessure. En parallèle, des cellules spéciales appelées fibroblastes produisent du collagène, une protéine essentielle à la formation du tissu cicatriciel. De nouveaux vaisseaux sanguins se forment également pour apporter des nutriments et de l'oxygène à la zone en guérison (Calop, 2008). Enfin, lors de la phase de maturation, le tissu cicatriciel continue à se renforcer et à se réorganiser. Le collagène est réorganisé de manière à renforcer la cicatrice, bien que sa composition soit souvent différente de celle du tissu cutané normal. Cette phase peut durer des semaines, voire des mois, et aboutit à une cicatrice qui, bien que fonctionnelle, peut être différente de la peau environnante en termes d'apparence et de texture. (Sene et al., 2020)

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

II. Matériels et Methods

L'objectif de notre étude est d'évaluer d'un point de vue technique la cicatrisation des plaies en utilisant une crème issue d'une préparation des rhizomes d'une plante médicinale, et de comparer son effet cicatrisant à celui d'une pommade pharmaceutique cicatrisante.

1. Matériels végétale (plante)

Notre étude est portée sur une plante médicinale connue scientifiquement sous le nom *Carthamus caeruleus*. Et vernaculièrement sous le nom **^ ras lahnache ^**.

La plante est récoltée le mois de mars 2024 dans la région Hammam N'bail de la wilaya de Guelma (Fig.8), elle est identifiée par le professeur Hamel Tarek de l'université de Badji Mokhtar Annaba.

Les rhizomes frais de la plante ont été bien nettoyés et séchés et sont utilisés pour la préparation de la crème.



Figure 8. La Plante *Carthamus caeruleus*.

1.1. La préparation de la crème (l'extrait)

- ✓ Lavage des rhizomes
- ✓ Eliminer la couche superficielle du rhizome
- ✓ Découper le rhizome en petits morceaux
- ✓ Concasser à l'aide d'un pilon et mortier
- ✓ Filtrer à l'aide d'une compresse
- ✓ Laisser le filtrat quelques heures
- ✓ Récupérer l' crème (l'extrait) fig. 9



Figure 9. les étapes de la préparation de la crème (l'extrait).

1.1.1. Calcul de rendement

Le rendement de l'extraction a été calculé par la formule suivante :

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

1.1.2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés selon les méthodes décrites par **Trease et Evans (1983)**

1.1.2.1. Alcaloïdes

Deux réactifs sont utilisés : réactif de Mayer et réactif de Wagner qui sont préparés comme suit :

Réactif de Mayer : 5g de KI et 1,358g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

Réactif de Wagner: 2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée. Evaporer 20 ml de l'extrait de la plante à sec, ajouter 5 ml d'HCl (2N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de Mayer ou de Wagner. Introduire 1 ml de filtrat dans un tube à essais puis ajouter 5 gouttes de réactif. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre.

1.1.2.2. Tanins

Agiter 2 ml de la solution à tester avec 2ml eau distillée, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire ou verdâtre.

1.1.2.3. Flavonoïdes

Traiter 5 ml de l'extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (laisser agir). La présence des flavones aglycone est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou rose.

1.1.2.4. Saponosides

5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.

1.1.2.5. Stérols et triterpènes

Dans un bécher, introduire 5ml de l'extrait à analyser, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré dans la paroi de bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et triterpènes.

1.1.2.6. Composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5ml réactif A et 0,5ml réactif B) à 1ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

1.1.2.7. Les coumarines

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5 ml de NH_4OH à 25 %, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

1.1.2.8. Mucilages

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

1.1.2.9. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 2 ml d'extrait, 2ml de chloroforme et 2 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des

1.1.3. Dosage des polyphénols

1.1.3.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène, ce qui aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de 765 nm (Singleton et al., 1999).

1.1.3.2. Protocole

Après extraction, la fraction phénolique est déterminée par un dosage colorimétrique selon la méthode préconisée par (Vasquez et al., 1973).

- ✓ 500 μl de réactif Folin-Ciocalteu et 450 μl d'eau distillée ont été ajoutés à un tube contenant 50 μl d'extrait avec agitation vigoureuse.

- ✓ Après 3 minutes, 400 µl de Na₂CO₃ (75 g.L⁻¹) ont été additionnés.
- ✓ Les tubes ont été incubés à 25 °C et à l'obscurité pendant 40 minutes.
- ✓ L'absorbance est lue à 725 nm contre un blanc qui contient le méthanol au lieu de l'extrait.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (fig.19) et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

2. Matériel Biologique (les animaux)

Des rats femelles de la souche Albino Wistar provenant de l'animalerie de notre université ont été utilisées dans cette étude.

Les rats ont été acclimatés aux conditions standards de photopériode naturelle, à une température moyenne de 20 ± 4 °C.

2.1. Test de cicatrisation

Après une période d'adaptation environ de 2 semaines, nous avons réparti les rats en 4 lots expérimentaux égaux (7 rats par lot).

Tableau 02 : les différents lots expérimentaux.

Lot 1	Témoin sain sans brûlure (TS)
Lot 2	Témoin avec des brûlures et traité par l'extrait (TPE)
Lot 3	Témoin avec des brûlures et traité par la pommade (TPP)
Lot 4	Témoin négatif avec des brûlures et non traité

2.1.1. Epilation de fourrure

On a enlevé les poils de la partie dorso-latérale de nos rats à l'aide d'une crème épilatoire (Fem) sur une surface de 5 cm de longueur et 3 cm de largeur.



Figure10. Les étapes d'épilation de fourrure (**Prise personnelle**)

2.1.2. Anesthésie

A l'exception du groupe 1(témoin sain), les autres groupes des rats ont été anesthésié avec :

- ❖ Anesthésie générale par injection intramusculaire de :
 - Midazolam Panpharma 5 mg/mL, solution injectable
- ❖ Anesthésie locale par injection sous cutanée :
 - Lidocaïne razes 2% (Chlorhydrate de lidocaïne 200mg/10ml)

L'utilisation de l'anesthésie est dans le but de diminuer le maximum des douleurs.

2.1.3. Induction des brulures

Les brulures ont été réalisées dans la région dorso-latérale de chaque animal, la zone utilisée a été désinfectée par un coton imbibé dans d'alcool.

Les brulures ont été faites par une masselotte ronde de 18 mm de diamètre. La masselotte a été chauffée dans de l'eau bouillante pendant 5min, après chauffage elle a été retirée de l'eau essuyée et appliquée sur la zone voulue pendant 30secondes sans pression (**Abdullahi et al., 2014**).



Figure11. Induction des brulures.

2.1.4. Application de traitement

Juste après l'induction des brûlures, les animaux des lots traités ont reçu chacun une application du produit destiné à leur lot respectif (le jour même).

Les traitements ont été appliqués une fois toutes les 24 heures. Les rats du lot témoin bien qu'ils n'aient reçus aucun traitement, ont subi le même degré de stress associé à l'application du traitement (sortie de la cage, prise des photos...).

Les plaies traitées ou non traitées n'ont pas été protégées par un pansement.

L'application est faite à la même heure tous les jours pour éviter le stress supplémentaire et pour assurer une cohérence dans les soins et permettre au corps de bénéficier d'un rythme de guérison constant



Figure 12. Les brûlures de lot non traité.



Figure 13. L'application de l'extrait.



Figure 14. L'application de pommade sur les Brûlures.

2.1.5. Evaluation de la cicatrisation par planimétrie

2.1.5.1. Photographie des plaies

Les photos ont été prises à l'aide d'une caméra à haute résolution. Chaque 4 jours en commençant par le J0 jusqu'au J23.

2.1.5.2. La réduction de l'inflammation

Connu par la diminution du diamètre de la brûlure mesuré par le pied à coulisse, la mesure a été faite une fois par 3 jours pour suivre sa progression et remarquer la déférence de diamètre par rapport aux derniers jours passés et évaluer l'efficacité du traitement.



Figure15. La mesure du diamètre de la zone brûlée par le pied à coulisse.

2.1.5.3. Calcul du pourcentage de rétraction

Le calcul du pourcentage de rétraction est réalisé par la formule suivante :

$$\% \text{ de contraction} = \frac{(\text{Taille de plaie initiale } J_0 - \text{taille de la plaie à } J_n) \times 100}{\text{Taille de la plaie initiale}}$$

3. Sacrifice et dissection

À la fin de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et après la dissection, le foie de chaque rat est prélevé et préservé dans l'aluminium à -20 °C pour l'étude des paramètres de stress oxydatif.

3.1. Dosage des paramètres du stress oxydatif

3.1.1. Préparation de l'homogénat

3.1.1.1. Protocole

Un gramme de foie est broyé puis homogénéisé dans le tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,1 M ; à conserver à 4°C), après centrifugation de la suspension cellulaire (5000 tours/min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est aliquote dans des tubes Eppendorf puis conservé à -20 °C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

3.1.2. Dosage des protéines

3.1.2.1. Principe

La méthode de **Bradford (1976)** est un dosage spectrophotométrique, basé sur le changement d'absorbance après la fixation d'un colorant, se manifestant par le changement de la couleur du Bleu de Coomassie après liaison (complexification) avec les acides aminés présents dans la ou les protéines. Ce produit chimique interagit avec le groupe **(-NH₂)** des protéines. La couleur est une mesure de la concentration des protéines.

3.1.2.2. Méthode

- ✓ Ajouter 50µl de l'homogénat à 2,5 ml de réactif de Bradford.
- ✓ Agitation.
- ✓ Incubation à température ambiante pendant 5 minutes, puis évaluation de l'absorbance à $\lambda = 595$ nm contre un blanc

On déduit la concentration de protéines à partir d'un échantillon étalon établi dans les mêmes conditions avec une solution de « BSA ».

3.1.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

3.1.3.1. Principe

La méthode **d'Ohkawa et al (1979)** permet d'évaluer la peroxydation lipidique dans le foie en utilisant le dosage de malondialdéhyde (MDA). Le MDA est l'un des résultats ultérieurs de la dégradation des acides gras polyinsaturés (PUFA) par les radicaux libres libérés pendant le stress. La condensation d'une molécule de MDA avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) donne lieu à un complexe rose.

3.1.3.2. Protocole

- ✓ Ajouter 0,5 ml d'homogénat, 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67 %.
- ✓ Le mélange est préparé à une température de 100 °C pendant 15 minutes, puis refroidi avant d'être ajouté 4 ml de n-butanol.
- ✓ Centrifuger 15 minutes à une vitesse de 3000 tours/minute.
- ✓ on évalue l'absorbance sur le surnageant à l'aide d'un spectrophotomètre à 532 nm.

- ✓ Il est possible de calculer la concentration de MDA en utilisant une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec une solution de « 1,3,3,3-tétratoxypropane », qui produit le MDA après son hydrolyse.

3.1.4 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)

3.1.4.1. Principe

La méthode de **Flohe et Gunzler (1984)** a été utilisée pour évaluer l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (**GPx**). Ce procédé repose sur la diminution du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (**GSH**), ce dernier est converti en GSSG sous l'action de la **GPx**, comme indiqué dans la réaction suivante :



3.1.4.2. Protocole

- ✓ Prélever 0,2 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0,4 ml de GSH (0,1 mM).
- ✓ Ajouter 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4).
- ✓ Placer dans un bain marie à 25°C pendant 5 minutes.
- ✓ Ajouter 0,2 ml de H_2O_2 (1,3 mM) afin de déclencher la réaction, puis laisser agir pendant 10 minutes.
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1%) afin de mettre fin à la réaction.
- ✓ Placer le mélange dans le réfrigérateur pendant une demi-heure.
- ✓ Centrifugation pendant 10 minutes à une vitesse de 3000 tours/minute.
- ✓ Extraire 0,48 ml de surnageant.
- ✓ Ajouter 2,2 ml de solution tampon TBS.
- ✓ Ajouter 0,32 ml de DTNB (à 1,0 mM)
- ✓ Mélanger et calculer les densités optiques à 412 nm après 5 minutes.

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule

Suivante :

$$Gp_x = \frac{x(\text{nmol de GSH}) \cdot 0,4}{mg_{p_{rot}}}$$

$$x = \frac{DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}}{DO \text{ étalon}}$$

3.1.5. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Wekbeker et Cory (1988)**.

3.1.5.1. Principe

Ce dosage est basé sur l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-marcapturique, qui est le résultat de la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque par les groupements (-SH) du glutathion.

3.1.5.2. Protocole

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat
- ✓ Ajouter 0.2ml de la solution d'acide salicylique (0.25%)
- ✓ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace
- ✓ Centrifuger à 1000 tours /min pendant 5 min
- ✓ Prélever 0.5ml du surnageant
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA, pH 7.4
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M
- ✓ Laisser pendant 5min à une température ambiante et lire la densité optique à 412 nm à l'utilisation d'une cuve en plastique.

Les réactifs	Essai (µl)	Blanc (µl)
Tampon phosphate		800µl
Tampon Tris-EDTA	1ml	1ml
Acide salicylique	0.2ml	0.2ml
Homogénat	800µl	
DTNB	25µl	25µl

Le taux de GSH a été calculé par la formule suivant

$$\text{GSH (n mol/mg protéine)} = \text{DO} \times 1 \times 1,525 / 13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéine}$$

3.1.6. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

3.1.6.1. Principe

L'activité enzymatique de CAT a été déterminée par la méthode **d'Aebi (1985)**. Le concept repose sur l'élimination de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique à une température de 25°C



3.1.6.2. Protocol

- Dans une cuvette en quartz, $10\mu\text{l}$ de l'homogénat sont mélangés avec $950\mu\text{l}$ d'une solution de H_2O_2 à 19mmol/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M).

Les réactifs	Essai (μl)	Blanc (μl)
Tampon phosphate de potassium	$990\mu\text{l}$	1 ml
Solution de H_2O_2	$500\mu\text{l}$	$500\mu\text{l}$
Homogénat	$10\mu\text{l}$	

- Le changement de l'absorbance est suivi pendant une minute à un intervalle de 15 secondes, à une longueur d'onde de 240 nm .
- L'activité enzymatique est déterminée par l'utilisation de coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 0.043\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) et les résultats sont exprimés en $\mu\text{mole d}'\text{H}_2\text{O}_2$ décomposer/min/ mg de protéine.

$$\text{CAT } (\mu\text{mole H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = \Delta \text{Do} / \epsilon \times L \times \gamma \times \text{Fd}$$

3.1.7. Dosage de l'activité de la glutathion s-transférase (GST)

3.1.7.1. Principe

La détermination de l'activité des GST implique de fournir à l'enzyme un substrat, généralement du (CDNB) 1-chloro-2,4-dinitrobenzène, qui réagit aisément avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. Grâce à la réaction de conjugaison de ces deux produits, une molécule nouvelle se forme qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm.

3.1.7.2. Protocol

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de (**Habig et al., 1974**). Celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH+CDNB) à une température de 37°C et à un PH de 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

4. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital IBN ZOHR de Guelma. Sur les échantillons conservés dans le formol dilué.

La préparation de coupes histologiques implique plusieurs étapes importantes pour obtenir des coupes de tissu fines et bien préservées. Voici les étapes générales (**Cuif.1973**).

4.1. Fixation

Cette étape consiste à préserver la structure et la composition chimique des tissus. Les fixatifs couramment utilisés comprennent le formol, le paraformaldéhyde et le glutaraldéhyde. La durée de la fixation peut varier selon le type de tissu et le fixatif utilisé.

4.2. Préparation de cassette

Transférer l'organe dans une cassette (LEICA) et écrit les numéros des échantillons sur la cassette pour identifier.

4.3. Déshydratation des échantillons

Il est nécessaire de déshydrater au préalable l'échantillon en remplaçant l'eau qu'il contient par de l'éthanol pour que les pièces soient soigneusement déshydratées avant leur inclusion dans la paraffine. Ces étapes sont réalisées par un système de préparation d'échantillons automatique par remplissage.

- Mettez les cassettes dans un automate (le SLEE MTP) assure la rapidité du traitement, la flexibilité, la protection de l'environnement et des économies.
- Facile à utiliser, il comprend 12 stations : dix béciers en plastique ou en verre pour réactifs et solvants de traitement (xylène, éthanol, formol) et deux pots de paraffine en aluminium. Il peut transporter jusqu'à 240 cassettes (standard : 120).
- Entièrement programmable grâce à l'écran LCD, et cette technique repose sur le système de rotation des bains durant presque 16 h 38 min.

4.4. Inclusion

Les tissus déshydratés sont ensuite infiltrés avec un milieu d'inclusion, généralement de la paraffine fondue, qui les rend rigides pour la coupe. Les tissus sont immergés dans de la paraffine fondue, puis solidifiés.

4.5. Coupe

Les blocs de tissus inclus dans la paraffine sont montés sur un microtome, une machine qui tranche les tissus en sections très minces. Les coupes peuvent être aussi fines que quelques micromètres.

4.6. Montage des coupes

Les coupes sont recueillies sur des lames de verre et étalées uniformément. Elles sont ensuite séchées et parfois chauffées pour adhérer fermement à la lame.

4.7. Coloration

Par la suite, les coupes sont colorées afin de mettre en valeur les structures particulières des tissus. L'hématoxyline et l'éosine (H&E) sont des colorants couramment employés pour représenter les noyaux (hématoxyline) et le cytoplasme (éosine).

Mettez les lames. Dans le xylène 30 min et après 8 min dans l'éthanol 1 et autres 8 min dans l'éthanol 2 et après 18 min dans le colorant Mayer et 8 min dans l'éosine et rance par l'eau du robinet et après dans l'éthanol (2.3.4).

4.8. Montage des lames

Après coloration, les lames sont enveloppées d'une couverture en verre et fermées avec un moyen de fixation, souvent de la résine, afin de préserver les coupes et de les maintenir en

position. es, les lames sont enveloppées d'une couverture en verre et fermées avec un moyen de fixation, souvent de la résine, afin de préserver les coupes et de les maintenir en position.

4.9. L'observation microscopique

L'observation a été réalisée en microscope photonique, qui est équipé d'un appareil photographique.

5. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont représentés sous la forme : moyenne \pm écart type moyenne. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un critère de classification (Graph Pad) et à l'aide du test de Tukay, nous avons comparé les moyennes.

A : la comparaison avec le lot des témoins sains

B : la comparaison avec lot brulé non traité

Les différences sont considérées comme :

✓ Significatives * lorsque ($p < 0.05$).

✓ Hautement significative ** lorsque ($p < 0.01$).

✓ Très hautement significative lorsque ** ($p < 0.001$).

Avec **p** : seuil de signification.

Discussion

IV. Discussion

Le rendement d'extrait est enregistré en pourcentage de 9.24%. Ce résultat est inférieur à celui signalé dans d'autres études sur une espèce de la même famille : *carthamus caeruleus* où le rendement de l'extrait est de 18.24% dans l'étude de **Bouhenni et Benkabilia ,(2019)** et 19.56% dans l'étude de Selon **Lahiani et Gasi, (2017)** les études menées par **Belhaddad,(2018)** et **Kord et al, (2021)** les rendements en extrait brut sont de 2.18%, 13% respectivement, Ces rendements sont nettement inférieurs à celui obtenu dans notre étude.

L'analyse phytochimique a montré que l'extrait de *carthamus caeruleus* est riche en plusieurs métabolites secondaires tels que les saponosides, les mucilages, les coumarines, les composés réducteurs et terpénoïdes, . Ces naturels composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti inflammatoires. Nos résultats concordent avec ceux trouvés dans les travaux de **Belhaddad,(2018)** et de **Kord et al,(2021)** qui ont montré que la plante *carthamus ceeruleus* est riche en composés phénoliques avec une absence des alcaloïdes, flavonoïde ,tanins ,stérol. Plusieurs investigations phytochimiques tels que celles de **Kirmizibekmeza et al, (2006)**, **Chakraborty,(2010)**, **Kumar et al, (2010)**, **Khalid et Teixeira, (2012)** et **Shaheen et al, (2012)** ont révélé la richesse des espèces du genre *carthamus* en composés biologiquement actifs.

La famille des composés phénoliques inclue un grand nombre de produits de métabolisme secondaire qui diffèrent par leurs structures et leur réactivité **Shahidi et Naczk, (1995)** **Waston, (2014)**. Ces composés ont un grand intérêt au cours des dernières années en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, de leurs propriétés anti- oxydantes , anti inflammatoires et de leurs effets crédibles sur la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif **Manache et al, (2004)** et **Waston, (2014)**.

Nos résultats ont montré que l'extrait a une teneur moyenne en polyphénol totaux 36,4 mg EAG/g. Plusieurs travaux ont confirmé la richesse du genre *carthamus* en polyphénols **Lahiani et Gasi, (2017)**, **SALAH, (2018)**. En effet, ces différences peuvent être dues à la variabilité du métabolisme phénolique dans différentes plantes mais aussi à la différence dans les conditions climatiques (température, l'exposition solaire, la sécheresse et la saison de croissance).

Les résultats obtenus par l'étude de l'activité cicatrisante indiquent que la crème de *carthamus ceeruleus* est capable d'accélérer la progression de la cicatrisation des brûlures.

Discussion

Selon **Ghestem et al, (2001)** la cicatrisation est certainement due à la présence des métabolites secondaires. D'après **Gazenge, (2001) ; Catrier et Rous,(2007)**, se sont aussi les composés bioactifs (les saponosides) qui sont responsables de l'activité cicatrisante.

Donc l'effet cicatrisant de la crème de *carthamus cearuleus* ont été expliqués par la richesse de cette plante en ces composés.

L'inflammation se manifeste par une augmentation notable des protéines de la réaction inflammatoire (PRI), comme la protéine C réactive (CRP), le fibrinogène, l' α 1-antitrypsine, l' α 1-acide glycoprotéine, l'haptoglobine et la céruléoplasmine. Ces protéines, synthétisées par le foie en réponse à des signaux inflammatoires, servent de biomarqueurs pour évaluer le degré d'inflammation corporelle. Hachulla, (1989). Nos résultats ont montré une augmentation significative des protéines totales chez les rats brûlés non traités. En revanche, les rats traités, particulièrement avec l'extrait de la *plante carthamus cearulus* , ont montré une diminution au niveau des protéines. Ces observations concordent avec celles de **Ghislaine ,(2023)**, qui a utilisé un extrait de carthamus pour réduire la production de protéines hépatiques de défense grâce à ses composés bioactifs anti-inflammatoires et antibactériens **Hezlia, (2021)**.

Les MDA sont des sous-produits de la peroxydation des phospholipides de la membrane et sont principalement des peroxydes instables et leur concentration accrue est donc indicative de la peroxydation lipidique (**Zhang et al., 2003**) et de l'échec du mécanisme de défense de l'anti-inflammatoire, qui est censé inhiber la production de radicaux libres. Ces produits d'oxydation lipidiques peuvent être utilisés comme marqueurs dans le suivi de pathologie (**Signorini et al., 2013**) ou de traitement (**Hockenberry et al., 2013**).

Dans la présente étude, le taux hépatique de MDA chez les rats brûlés est significativement augmenté par rapport aux rats témoins. Une telle augmentation de MDA pourrait être due à l'intense stress oxydatif et à la peroxydation lipidique qui se produisent dans les tissus lésés, en réponse à l'inflammation et aux dommages cellulaires induits par la brûlure.

Les résultats de la présente étude suggèrent que les plaies traitées par la pommade pharmaceutique et l'extrait de la plante (TPP,TPE) ont montré une diminution des niveaux de MDA, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans des études similaires de **Gupta et al, (2005)** qui ont trouvé une diminution remarquable de taux de l'MDA de tissu de la plaie cutanée, ce qui pourrait être dû à l'extinction ou au piégeage accrues radicaux libres d'oxygène par les niveaux élevés d'antioxydants observés.

Discussion

Le GSH est un élément crucial de la défense antioxydante et fonctionne comme un radical libre et un réactif direct scavenger, ou comme cofacteur de plusieurs enzymes détoxifiantes contre le stress oxydatif **Masella et al, (2005)**. Beaucoup de pathologies sont associées à la diminution de la concentration intracellulaire en GSH **Emer et al,(2007); Gasmi et al,(2016)**.

Les rats brûlés ont montré une diminution très hautement significative de taux de GSH par rapport aux témoins sains. Cette baisse du taux de glutathion réduit est en concordance avec l'augmentation de l'activité enzymatique du glutathion Peroxydase (GPx) (première enzyme dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion). Ceci est probablement dû à l'apparition d'une grande quantité de peroxydes au cours de l'inflammation **Dillard et al,(1988)**. Cependant le traitement par (TPE,TPP) a induit une légère augmentation de la réserve en GSH

La catalase (CAT) représente la deuxième étape du système de défense enzymatique. Elle prend en charge le peroxyde d'hydrogène précédemment produit par les SODs et le métabolisme en eau. Il joue un rôle important dans la protection de l'organisme contre les dommages du stress oxydant **Cakmak et Horst, (1991)**. Elle consiste en une transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire (O_2).

D'après nos résultats, on observe une diminution hautement significative de l'activité de CAT dans le foie chez les rats brûlés et non traités comparativement aux rats témoins sains et une élévation très hautement significative au niveau du foie chez les rats brûlés et traités par la pommade pharmaceutique et l'extrait de la plante par rapport aux rats brûlés et non traités. Cette diminution est concomitante à la surproduction du $O_2^{\bullet-}$ et d' H_2O_2 ce qui peut être l'origine de l'oxydation des composants cellulaires majeurs comme les lipides, les protéines et l'ADN causant leurs inactivations et leurs dégradations ultérieures **Das et al, (2001)**. Ce résultat suggère que les brûlures induit indirectement une augmentation de H_2O_2 , donc qu'elles ont causé un cas de stress oxydatif. En effet, la diminution des activités de la CAT provoque une augmentation de H_2O_2 .

Ceci est en accord avec des études antérieures, réalisées sur l'activité cicatrisante de la propolis et l'extrait de la plante **Boulhbal et Bousbiat, (2022)** . D'autre part, les résultats ont montré que le traitement par l'extrait de *Carthamus cearuleus a* augmente l'activité de la catalase.

Le glutathion S-transférase (GST) est une enzyme clé qui catalyse la conjugaison du glutathion, possédant un groupement nucléophile – SH, à une variété de composés porteurs de groupements

Discussion

électrophiles. Elle joue un rôle crucial dans le transport et l'élimination des composés réactifs, contribuant ainsi aux fonctions antioxydantes de l'organisme. L'activité de la GST est fréquemment utilisée comme biomarqueur du stress **Fitzpatrick et al, (1997)** et elle est essentielle dans la désintoxication des xénobiotiques ainsi que dans la réduction des peroxydes lipidiques **Griffith, (1999)**.

Nos résultats ont montré une diminution significative de l'activité de la GST suite aux brûlures (inflammation), qui induisent un stress oxydatif intense et une production accrue de radicaux libres. Lorsque ce stress dépasse les capacités de détoxification de l'organisme, les niveaux de GST peuvent diminuer en raison de la consommation excessive de glutathion. En revanche, chez les rats traités, nous avons observé une diminution hautement significative de GST. De ce fait, nous concluons que l'extrait de la plante *carthamus cearuleus* possède des propriétés antioxydantes en réduisant la production de radicaux libres.

L'activité du glutathion peroxydase (GPX) est essentielle pour la cicatrisation en raison de son rôle crucial dans la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs et les radicaux libres, qui peuvent entraver ce processus, **pintopereira , (2006)**. En neutralisant les espèces réactives de l'oxygène, la GPX prévient les lésions cellulaires et crée un environnement favorable à la cicatrisation des plaies. Des études indiquent que des niveaux accrus de GPX favorisent une cicatrisation plus rapide, soulignant son impact sur la capacité du corps à réparer les tissus endommagés. Nos résultats, confirmés par d'autres études utilisant la même méthode d'induction de brûlure, montrent une diminution significative du GPX hépatique chez les rats non traités, en corrélation avec l'inflammation observée. En résumé, la baisse du GPX dans les brûlures résulte du stress oxydatif accru, de la dégradation cellulaire et des perturbations dans la synthèse des enzymes, toutes conséquences de la réponse inflammatoire et du traumatisme tissulaire provoqués par la brûlure **Morasso et Tomic, (2005)**.

Les résultats de l'étude histologique ont indiqué que les brûlures cutanées induisent une réaction inflammatoire et entraînent la perte des composants structurels de la peau en raison des dommages infligés par le processus de brûlure. Chez les rats brûlés et non traités, une absence totale de l'épiderme (comprenant la couche cornée et la couche épineuse) ainsi que du derme (incluant les annexes) a été observée, avec la présence d'un tissu conjonctif anormal. Tandis que, chez les rats traités avec la pommade pharmaceutique ou l'extrait polyphénolique de la plante, on a observé une régénération de l'épiderme, un état du derme (avec présence d'annexes) normalisé, ainsi que des tissus conjonctifs normaux.

Discussion

Ces observations sont cohérentes avec les résultats de **Bouhenni et Benkabilia, (2019)**, qui ont confirmé que *carthamus cearuleus* possède des propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes importantes.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre de valorisation de la flore algérienne. Il a porté sur la Plante connue traditionnellement pour ses vertus thérapeutiques « *Carthamus caeruleus L.* » Récoltée dans la région de Hammam N'bail, wilaya de Guelma durant le mois de mars 2024. Plusieurs aspects de l'extrait des rhizomes de *Carthamus caeruleus L.* ont été étudié : les Propriétés phytochimiques, l'activité cicatrisante.

Les résultats de screening phytochimique des racines de « *Carthamus caeruleus L.* » Obtenus montrent la présence des glucosides, des coumarines, mucilages, terpnoides , et des saponoside.

Les résultats de L'évaluation des propriétés cicatrisantes montre que l'évolution du pourcentage de la contraction des plaies traitées par l'extrait de la plante *carthamus ceeruleus* est meilleur par rapport à celles traitées par la pommade pharmaceutique , ainsi nous remarquons que l'évaluation du pourcentage de contraction des plaies traitées par l'extrait de *Carthamus caeruleus L* est beaucoup plus rapide (plus efficace) par rapport à celles traitées par la pommade pharmaceutique . On peut conclure que l'évaluation du pourcentage de contraction des plaies traitées par l'extrait est plus efficace que les plaies traitées par la pommade pharmaceutique

L'observation faite sur la repousse des poils très rapide chez les rats traités par l'extrait de *Carthamus caeruleus L.* cette observation démontre la capacité de la plante à faire repousser les poils, il reste juste a mené des expériences qui vont mettre en évidence nos observations et déterminer les molécules responsables.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs dans les extraits des racines de *Carthamus caeruleus* et l'évaluation de leurs effets sur les signalisations impliqués dans les processus inflammatoires, cicatrisants et repousse des poils.

Conclusion

Enfin, on pourra proposer cette plante comme composés alternatifs dans la prévention contre l'inflammation et la cicatrisation.

Les références

A

- **Abdullahi, B., Abdulfatai, K., Wartu, J. R., Mzungu, I., Muhammad, H. D., & Abdulsalam, A. O, (2014).** Antibiotics susceptibility patterns and characterization of clinical Salmonella serotypes in Katsina State, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(9), 915-921.
- **Aebi H, (1983).** Catalase, In *Methods in Enzymatic Analysis* (Ed. Bergmer HU), Vol. 3. Academic press, New York.,p. 276–286.
- **Annick, A.A. (2018).** Evaluation des activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Félix Houphouët Boigny, Cote d'Ivoire. P : 8-10.
- **Arroudj, L., et Zitoune, C. (2017).** Evaluation des activités biologiques d'une plante médicinale locale *Carthamus caeruleus* L. Mémoire de Master en pharmacologie moléculaire. Béjaia: Université A. MIRA de Béjaia, 38p.

B

- **Baghiani, A., Boumerfeg, S., Belkhiri, F., Khennouf, S., Charef, N., Harzallah, D., Arrar, L., Mosaad Attia, A-W. (2010).** Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 12 .136-8
- **Baghiani.et, 2010.** Les composés phénoliques des végétaux Blain, Jouzeau, Netter and Jeandel, 2000. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygenase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Méd Interne*, 21, 978-88.
- **Benhamou, A., et Fazouane, F. (2013).** Ethnobotanical study, phytochemical characterization and healing effect of *Carthamus coeruleus* L. rhizomes. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(1), 61-68
- **Berrahal, A., Lasram, M., El Elj, N., Kerkeni, A., Gharb,i N., El-Fazaa, S. (2011).** Effect of age-dependent exposure to lead on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male rats. *Environmental Toxicology*, 26(1):68–78.
- **Bonnefont-Rousselot D.,Thérond P., Beaudeau J.L., Peynet J., Legrand A and Delattre J. (2001).** Aging and oxidative stress. Which potential markers. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* ; 59(4) ; p: 453-9.
- **Bougara Benkrief, R., Brum, B. M., Tillequin, F., Koch, M., 1990.** Alcaloïdes et flavonoïdes des parties aériennes de *Hammada articulate* ssp. *Scoparia*. *Ann Pharmaceutiques Française*.
- **Bouhenni et Benkabilia,(2019).**mémoire de fin d'étude Evaluation d'activité anti-inflammatoire du *Carthamus caeruleus* L« Etude in vivo –chez les souris NMRI
- **Boulhbal L ,Bousbiat K , (2022).** Activité cicatrisante de la propolis et l'huile de fruits de *Pistacia lentiscus* L de la région de Jijel dans un modèle animale d'excision de la peau.
- **Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding, *Anal. Biochem.* 72,

C

- **Cakmak, I. and Horst, J.H. (1991)** Effects of inflammatory on Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase Activities in Root Tips of Soybean (*Glycine Max*). *Physiologia Plantarum*, 83, 463-468.
- **Catier O, et Roux , (2007)** . Botanique, pharmacognosie ; phytothérapie 3ème Edition, Edition :Wolters Klawer.
- **CHAREF, S. E. (2018).** *EFFET CICATRISANT DE CARTHAMUS CAERULEUS L* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun TIARET).
- **Cuif, J. P. (1973).** Histologie de quelques Sphinctozoaires (Poriferes) triasiques. *Geobios*, 6(2), 115-12

D

- **Dahmani, M. M., Laoufi, R., Selama, O., Arab, K. (2018).** Gas chromatography coupled to mass spectrometry characterization, anti-inflammatory effect, wound-healing potential, and hair growth-promoting activity of Algerian *Carthamus caeruleus L* (Asteraceae). *Indian journal of pharmacology*, 50(3), 123-129.
- **Damien Wilson.2022 :** Brûlures ParDamien Wilson Carter, MD, Tufts University School of Medicine
- **Das, K. K., Das, S. N., & Gupta, S. D. (2001).** Influence of inflammation against nickel-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 12(3), 187-196.
- **Degli Esposti, D. (2011).** Les mécanismes de réponse à l'inflammation chronique dans le foie stéatosique et les conséquences sur l'homéostasie cellulaire et la cancérogenèse (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- **Draper, H.H., Hadley, M, (1988).**Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 186. 241-431.
Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M and Mazur M. (2005). "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.

F

- **Favier A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin.* 55 (1), 9 - 16.
- **Fitzpatrick, P. J., O'Halloran, J., Sheehan, D., & Walsh, A. R. (1997).** Assessment of a glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland of *Mytilus edulis* (L.), as potential organic pollution biomarkers. *Biomarkers*, 2(1), 51-56.
- **Flohe, L. and Gunzler, W.A. (1984)** Assays of Glutathione Peroxidase.. *Methods in Enzymology*, 105, 114.

G

- **Galati, G., Sabzevari, O., Wilson, J. X., et O'Brien, P. J.,(2002).** Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. *Toxicology*, 177(1), 91-104

Les références

- **Gazenge J, (2001).** « le préparateur en pharmacie ». Paris, Technique et documentation P145.
- **Georgé S., Brat P., Alter P and Amiot J.M. (2005)** .Rapid determination of polyphénols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53; p: 1370-1373.
- **Ghestem A., Segun E., Paris M., Oricchioni A-M. (2001).** « le préparateur en pharmacie botanique-pharmacognosie phytothérapie-homéopathie » lavoisier Tec et Doc Paris p73.
- **Griffith, O. W. (1999).** Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 922-935.

H

- **Habig WH, Pabst Jakoby WB. (1974).** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *J Biol chem.* 249, 7130-9.
- **Hé, D. (2006).** Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat [Other].
- **Heyman, M., & Heuvelin, É. (2006).** Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique: le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(2), 85-94.
- **Hezlia, (2021).** MEMOIRE DE FIN D'ETUDE sur Contribution a l'étude phytochimique des extraits de racines de *Carthamus caeruleus*
- **Hu, M. L., Dillard, C. J., & Tappel, A. L. (1988).** Aurothioglucose effect on sulfhydryls and glutathione-metabolizing enzymes: in vivo inhibition of selenium-dependent glutathione peroxidase. *Research communications in chemical pathology and pharmacology*, 59(2), 147-160.

K

- **Kernouf, N. (2019).** Effet des extraits de *Capparis spinosa* sur la production des médiateurs inflammatoires des neutrophiles et des monocytes. Thèse de doctorat en science. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie
- **Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell, (2007).** Robbins Basic Pathology, 8th Edition, 20-60.

L

- **Lacavé-Lapalun , (2013)** .Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale : manipulation thérapeutique des toll like receptors. Thèse de Doctorat en immunologie (Physiologie Physiopathologie), Université Pierre et Marie-Curie, Paris, France.
- **Lahiani et Gasi, (2017).** Mémoire de fin d'étude sous le titre évaluation des activité antimicrobienne et cicatrisante de deux plantes <https://fr.scribd.com/document/542880991/memoire>

M

- **Mebirouk, R. (2017).** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique. Thèse de doctorat en Biotechnologie, Biologie et Environnement. Université de frère mentouri Constantine, Algérie.

Les références

- **Mokdad et Zidi,2020** mémoires de fin d'étude intitulé par Extraction par solvant assistée par ultrasons des saponines à partir des rhizomes de Carduncelle bleue « *Carthamus caeruleus L.* ».

O

- **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Anal Biochem*; 95: 351–8.
- **Okombe Embeya et Nzuzi Mavungu ,2019 : Mémoire de fin d'étude intitulé par L'inflammation et les maladies inflammatoires.**
- **Ouhrich, I. (2017) .** Les biomarqueurs actuels de l'inflammation. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V, Rabat. P :5-13

P

- **Paris, M., Hurabille, M., 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Masson (Paris). 339
- **Pompeu D.R., Silva E.M., Rogez H. (2009).** Optimization of solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology. *Bioresour. Technol.* 100, 6076–6082.

R

- **Rigane G., Ben Younes S., Ghazghazi H. and Ben Salem R. (2013).** Investigation in to the biological activities and chemical composition of *Carthamus L.* growing in Tunisia. *International Food Research Journal*, V6), p.3001-3007.

S

-
- **Saffidine , K., F,Sahli ., Zerroug, M M. (2013).** Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant *Carthamus caeruleus L.* *Pharmacognosy Communications*, 3(4), 71-76
- **Saffidine, K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse de doctorat en Sciences, Sétif Université Ferhat Abbas, 89 p.
- **Sharma et al, 2016 :** Inflammations et maladies clés de compréhension. Inserm, 74p
- **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.

T

- **Trease GE, Evans IC. (1983).** Text book of pharmacognosy. 12th edn. London: Bailliere Tindall, p: 21-27

V

- **Vajic U.J., Grujic-Milanovi J., Zivkovi J., Savikin K., Godevacc D., Miloradovic Z., Bugarski B., Mihailovic-Stanojevic N.(2015).** Optimization of extraction of stinging nettle leaf phenolic compounds using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 74:912-917.

Les références

- **Vasquez Roncero A, Ganer Del Valle C. et Ganer Del Valle ML. (1973).** Determinacion de los polyfenoles totales de la ceite de oliva. Grasas y Aceites, 24(6) : 350-357.

W

- **Weckbeker G and Cory JG. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mous leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Let. 40, 257-264. Chemico-Biological Interactions, 160(1), 1- 40.

Les sites

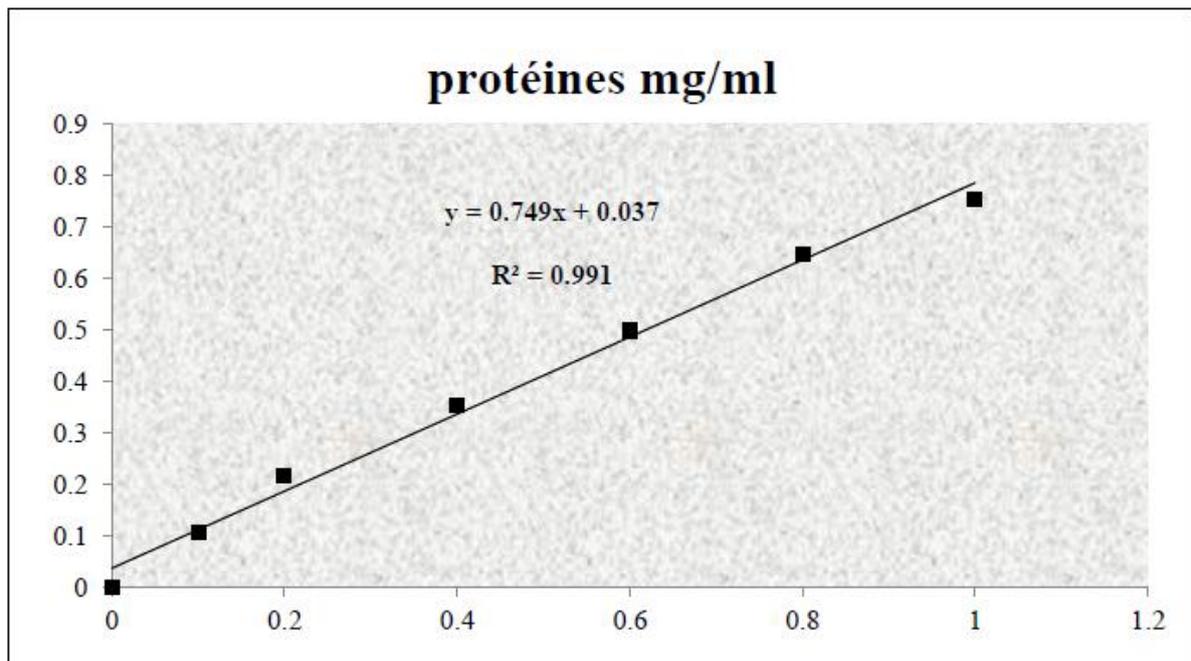
- [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- <https://www.similasan.swiss/fr/guide-pratique/blessures-i-douleur/cicatrisation>
- <https://oatao.univ-toulouse.fr/1609>
- <http://umvf.univ-nantes.fr/chirurgie-generale/>
- L'OREAL, www.skin-science.com. 2005
- SCFO, www.scf-online.com, skin care forum.

Les annexes

1. Matériel et les produits

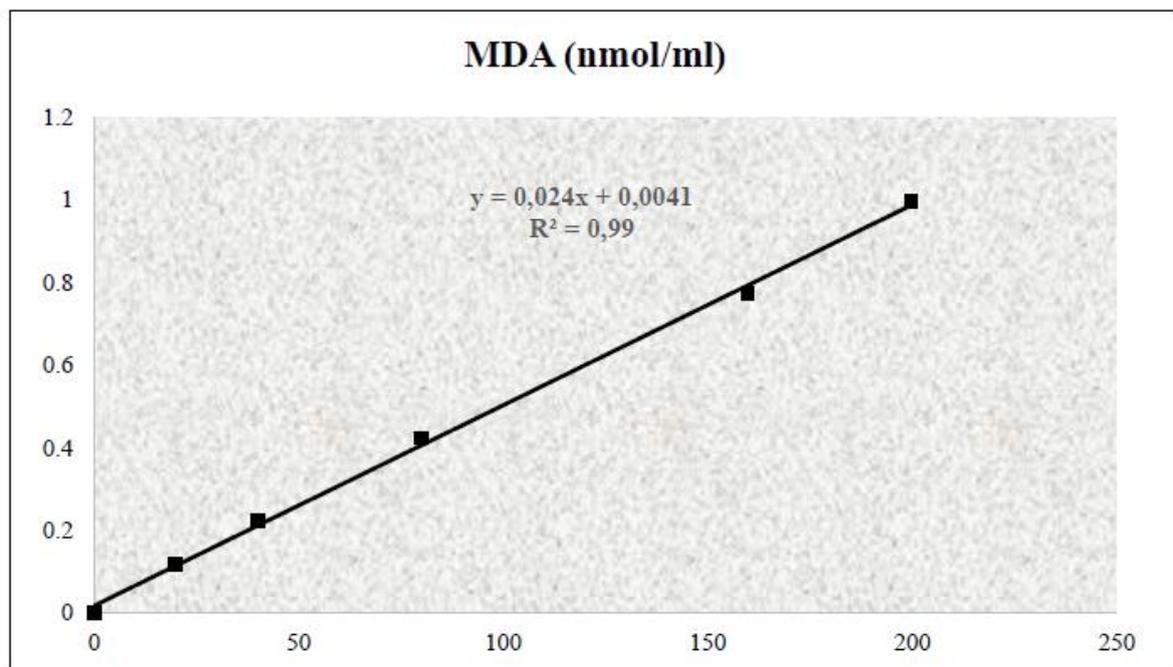
Matériels	
Verreries	Autres
<ul style="list-style-type: none">• Bécher• les tubes a essais• Filole juger• Eprouvette graduée• Boite de pétrie• Les cuve en quartz• Flacon	<ul style="list-style-type: none">• Micropipette• Les cuves en plastique• Pissette• Spatule• Les tubes Eppendorf• Papier aluminium• Papier absorbant• Les emboux• Baro magnétique
Appareillage	
Appareil	
<ul style="list-style-type: none">• Balance de précision• Balance normale• Centrifugeuse• Bain marie• PH mètre• Agitateur• Plaque chauffante• Ultra-turax• Spectrophotomètre• La lampe UV• Pied a coulisse• Automate• Microtomes• Popinal• Microscope	

2. Courbe d'étalonnage de protéines



Annexe 1. Courbe d'étalonnage pour le dosage de protéines.

3. Courbe d'étalonnage de l'MDA



Annexe 2. Courbe d'étalonnage de MDA.