

# **EFFET TOPIQUE DE L'EXTRAIT HYDRO-ETHANOLIQUE DE L'ACACIA NILOTICA SUR LA CICATRISATION CUTANEE DES BRULURES DE SECOND DEGRE**

***Tchin Darré***

Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Lomé, Togo

Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM), Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé

***Kossi Metowogo***

***Povi Lawson-Evi***

***Kwashi Eklou-Gadegbeku***

***Kodjo A. Aklikokou***

Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM), Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé

***Gado Napo-Koura***

Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté des Sciences de la Santé, Université de Lomé, Togo

***Messanvi Gbeassor***

Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM), Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé

---

## **Abstract**

The purpose of this study was to evaluate experimentally *Acacia nilotica* burn wound healing effect. Four groups of rats were formed and each batch consisted of twelve rats. Burn wounds were assessed by planimetry and histological parameters of healing. Twelve days after burn wound induction, wound contraction in the uninfected groups was 19,9% for topical application of *A. nilotica* 2,5% gel, and 22% for a 5% gel versus 26,1% with the reference drug used (Brulex®) against 15.5% in uninfected controls. In the infected group, wound contraction was generally lower. Histological examination showed granulated tissue developing over the wounds treated

with the extract of *A. nilotica* at 2,5% and 5% where the proliferation of fibroblasts and neo-blood vessels was very marked. The determination of hydroxyproline in the 12<sup>th</sup> day was significant in the groups treated with the extract of *A. nilotica* 2,5% and 5%. *Acacianilotica* significantly accelerates the healing of burn wounds.

---

**Keywords:** Burns wound, *A. nilotica*, histology, wound healing

---

### Résumé

Le but de ce travail était d'évaluer l'effet de la gousse d'*Acacia nilotica* sur la cicatrisation cutanée des plaies de brûlure. Quatre lots de rats ont été constitués et chaque lot comportait douze rats. Les plaies de brûlure ont été évaluées par la planimétrie et les paramètres histologiques de guérison. Au 12<sup>ème</sup> jour après l'induction des plaies, la contraction de la plaie était respectivement de 19,9% et 22% dans les lots de rats ayant reçu le gel d'*A. nilotica* 2,5% et 5%, contre 26,1% pour le lot traité avec la drogue (Brulex®). L'examen histologique avait montré un tissu de granulation élaboré dans les lots traités par l'extrait d'*A. nilotica* 2,5% et 5%, où la prolifération des fibroblastes et des neo-vaisseaux sanguins était très marquée. La détermination de l'hydroxyproline au 12<sup>ème</sup> jour était significative dans les lots traités avec l'extrait d'*A. nilotica* 2,5% et 5%. *Acacianilotica* accélère significativement la cicatrisation des plaies de brûlure.

---

**Mots clés:** Brûlure, *Acacia nilotica*, histologie, cicatrisation

---

### Introduction

La peau sert de barrière contre les agents extérieurs, dont la perte de l'intégrité peut causer des lésions ou des maladies pouvant entraîner la mort (Lawrence, 1998). Les brûlures sont classées en fonction de la gravité (profondeur) des lésions en premier degré, quand la lésion est limitée à l'épiderme; en second degré, lorsqu'il y'a atteinte de l'épiderme et le derme superficiel; et en troisième degré lorsqu'il y'a atteinte du derme profond et de l'hypoderme (Alemdaroglu, 2006). Les brûlures sont très fréquentes. Dans les pays en développement, elles constituent un problème majeur de santé parce que l'incidence des complications graves comme des infections est élevée et les ressources financières sont limitées (Ahuja, 2004). Ainsi les populations ont accumulé au cours des siècles un véritable savoir sur les vertus médicinales des plantes dans la cicatrisation des plaies cutanées (Akklol, 2009). L'une des plantes les plus utilisées au Togo pour ses capacités cicatrisantes est *Acacia nilotica*. Cependant, il n'y a pas à ce jour d'étude scientifique faite pour évaluer son effet.

Les objectifs de notre travail étaient d'étudier les effets cicatrisants de l'extrait hydro-éthanoïque de cette plante sur la cicatrisation des brûlures cutanées de second degré.

## **Matériel et méthodes**

### **Préparation de l'extrait hydro-alcoolique**

Les gousses ont été réduites en poudre et le broyat obtenu a été ajoutés à 4 litres de solution hydro-alcoolique (2 :1) pour 1980 g de poudre pendant 24 heures. Le filtrat est ensuite évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapor (Buchi R-210) à la température de 45-50°C.

### **Animal utilisé**

Nous avons utilisé des rats de race ICR pesant entre 30 et 35 g, maintenus dans des conditions normales d'humidité, de température et d'éclairage avec accès libre à l'eau et à la nourriture. Quatre groupes de douze rats ont été constitués. Le premier groupe (Groupe I) a servi de témoin, les groupes II et III recevaient des extraits à différentes concentrations (2,5 et 5%) et le groupe IV a servi de référence, donc traité avec Brulex® comme drogue de référence.

### **Préparation du gel (Arias, 2004).**

Le gel a été préparé à partir de Carbopol 974P NF (Goodrich, USA). Le carbopol (1g) est dispersé dans 99g d'eau distillée. Le mélange est agité en le remuant continuellement à l'aide d'un agitateur magnétique (IKA Magnetic stirrer IKA-Combimag RCT) à 800 rpm pendant 1 h. Le mélange, toujours agité, est neutralisé par ajout goutte à goutte d'une solution de NaOH à 1 mol/l. On obtient alors un gel translucide. Trois types de gel ont été préparés : le gel constitué uniquement de Carbopol (1%) et le gel contenant 2,5% et 5% d'extrait hydro-alcoolique d'*acacia nilotica*.

### **Induction de la plaie de brûlure (Arias, 2004).**

Les plaies ont été réalisées après épilation au rasoir électrique et anesthésie des rats à l'Ether. Nous avons adopté la technique qui a consisté à maintenir une barrette de 0,5 cm de diamètre à 80°C pendant 30s, puis appliquée sur la peau au dos du rat pendant 20s.

### **Application topique du gel (Arias, 2004).**

Juste après l'induction de la brûlure une application topique du gel était faite sur la plaie. Deux cents (200) µl de gel étaient appliqués chaque jour sur la plaie chez les rats du groupe I (groupe témoin) alors que le gel contenant l'extrait d'*Acacia nilotica* à 2,5% et à 5% a été appliqué dans les mêmes conditions respectivement chez les rats des groupes II et III. La plaie

des rats du groupe IV ont été traitée avec Brulex® que nous avons pris comme drogue de référence.

### **Evaluation de la cicatrisation**

#### **Mesure de la surface** (Sadaf, 2006)

Des photos de la plaie ont été prises tous les trois jours. La surface de la plaie a été évaluée par le logiciel 'image J'. Nous avons ensuite calculé à partir des valeurs de la surface des plaies, le taux de cicatrisation (tx) par la formule  $tx (\%) = (1 - S_{jx}/S_{j0}) \times 100$

$S_{jx}$  : surface de la plaie au jour  $jx$      $S_{j0}$  : surface de la plaie à  $j0$ .

#### **Etude histologique** (Schaffer, 1996)

Au 4ème jour, 2 rats de chaque groupe des lots ont été sacrifiés par surdosage d'anesthésie alors qu'au 8ème jour ; 4 rats sont sacrifiés et le reste des rats au 12ème jour. Une excision de 1cm de diamètre de la cicatrice a été prélevée pour étude histologique et le dosage du collagène.

Sur les coupes histologiques, nous avons évalué l'ulcération, la nécrose et l'épithélialisation cutanée. De même la congestion, l'œdème, les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, les fibroblastes et la néo vascularisation ont été qualitativement évalués par : -(absent), + (présent, minime), ++ (modéré), +++ (marqué).

#### **Détermination de l'hydroxyproline dans les tissus** (Neuman, 1950)

Au 12ème jour, les animaux de chaque groupe étaient sacrifiés par surdosage d'anesthésie utilisant le diethyl l'éther. Les échantillons de cicatrice sont prélevés pour le dosage de l'hydroxyproline. La teneur en protéine du tissu a été évaluée en utilisant les techniques décrites par Neuman et Logan.

#### **Traitement statistique**

Le test d'analyse statistique utilisé était le *one-way analysis of variance* (ANOVA). Les valeurs ont été exprimées sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard de la moyenne (SEM) et la différence entre deux groupes était statistiquement significative si  $p < 0,05$ .

### **Résultats**

#### **Etudes macroscopiques**

L'observation des plaies des rats a montré une diminution de leur surface au fil du temps. On peut voir aisément la diminution plus marquée de la surface des plaies chez les rats traités par le gel d'*A. nilotica* que chez rats traités par Brulexe® et chez les témoins.

Nous avons observé au 8ème jour après brûlure un taux de contraction de 14,8% chez le lot de témoin, alors qu'il est de 16,3%, 18,7% et 22,85% respectivement chez des rats traités à *A. nilotica* à 2,5%, 5% et le (Brulex®). Ce taux au 12ème jour après l'induction de la plaie était de 19,9% pour l'extrait d'*A. nilotica* à 2,5 %, 22% pour l'extrait à 5 %, 26,1% pour la drogue de référence utilisée (Brulex®) contre 17% chez les témoins. La figure 1 montre cette évolution du taux de contraction.

### **Etudes histologiques**

Les coupes histologiques réalisées au 8ème et au 12ème jour après induction de la brûlure avaient montré chez les rats témoins, une ulcération épidermique ainsi que la présence de débris tissulaires nécrosés entremêlés à des cellules inflammatoires polymorphes avec congestion et œdème du derme. Au 8ème jour, chez les rats traités avec l'extrait d'*A. nilotica* à 2,5% et 5% ainsi que celles ayant reçu le traitement de référence (Brulex®), on notait une épithélialisation avec présence de fibroblastes à des degrés variables (Tableaux I). Au 12ème jour après induction de la brûlure, les coupes histologiques avaient montré chez les rats témoins, une ulcération épidermique moins importante ainsi qu'un début d'épithélialisation chez certains rats. Il existait toujours un infiltrat inflammatoire polymorphe du derme avec œdème, témoin d'une cicatrisation incomplète. Chez les rats traités, on notait une épithélialisation encore plus élaborée avec présence d'un plus grand nombre de fibroblastes et de follicule pileux, une diminution des cellules inflammatoires et l'absence de débris tissulaires nécrosés (Tableau II, Figures 2).

### **Dosage d'hydroxyproline**

La mesure de l'hydroxyproline peut être utilisée comme un indicateur pour chiffrer le taux de collagène. Dans notre étude, la quantité de l'hydroxyproline dans les échantillons de cicatrice chez les lots des rats traités par *Acacia nilotica* 5% et par la drogue de référence (Brulex®) était significativement (\*p < 0.05) élevée par rapport au lot contrôle (Figure 3).

### **Discussion**

Les plaies de brûlure constituent un motif fréquent de consultation aussi bien dans les pays développés que les pays en développement et ont un impact considérable sur la qualité de vie des populations (Akklol, 2009). Ces plaies de brûlure engendrent souvent des complications dominées par les surinfections, facteurs important de morbidité. Elles entraînent également d'importantes dépenses des ressources financières (Lawrence, 1998 ; Kumar, 2006). En Afrique, ces plaies de brûlure constituent un motif fréquent de consultation dans les services d'urgences. Cependant, la majorité des

patients environ 70 à 80% par manque de moyens financiers ont recours à la médecine traditionnelle pour leur problème de santé, notamment dans la prise en charge des plaies de façon générale et celle de la brûlure particulièrement (Akkus, 2009). De nombreuses études ont prouvé le rôle des plantes à différents stades de la cicatrisation des plaies de brûlure (Alemdaroglu, 2006 ; Pierce, 1992).

Dans notre étude nous avons évalué l'effet d'*Acacia nilotica* sur la cicatrisation cutanée des plaies de brûlure chez les rats. L'application topique de l'extrait hydro alcoolique d'*Acacia nilotica* accélère la cicatrisation de la plaie de brûlure et la contraction des berges cutanées par rapport aux témoins. Le taux de contraction d'une plaie caractérise la fermeture de la blessure, et est fonction de sa profondeur ainsi que de l'état nutritionnel du sujet (Bargali, 2004).

Dans notre étude, le taux de contraction a été significatif au 12ème jour dans les lots des rats traités à l'*Acacia nilotica* et au Brulex®. Ceci confirme l'effet cicatrisant de l'extrait d'*Acacia nilotica* sur les plaies de brûlure, comme rapporté dans d'autres études (Akkus, 2009 ;Bargali, 2004).

Suite à une blessure, le processus inflammatoire se met en jeu avec recrutement des cellules inflammatoires du derme. Cependant la contraction de la plaie et l'épithélialisation sont des phénomènes indépendants et distincts (Ahuja, 2004). L'activité contractile des fibroblastes est responsable de la contraction de la plaie alors que l'épithélialisation fait intervenir la migration et la prolifération de cellules notamment des kératinocytes (Lawrence, 1998). Les médicaments utilisés pour la cicatrisation agissent donc par l'un ou l'autre de ces mécanismes ou encore par les deux mécanismes à la fois.

Les coupes histologiques examinées avaient montré un tissu de granulation plus élaboré chez les rats traités avec l'extrait hydro alcoolique d'*Acacia nilotica*. Ce tissu de granulation est constitué de néo vaisseaux de type capillaires d'éléments fibroblastiques élaborant du collagène et de cellules mononuclées. Ces néo vaisseaux de type capillaires favorisent l'arrivée de cellules inflammatoires ayant un rôle de détersion du foyer lésionnel (Harding, 2002). La nature histologique de la cicatrice que nous avons observée corrobore avec les constatations déjà faites au niveau de la contraction des plaies.

Le collagène, la protéine majeure de la matrice extracellulaire, est le composant qui libère en fin de compte hydroxyproline libre et ses peptides. Donc, la mesure de hydroxyproline peut être utilisée comme un indice fiable pour chiffrer le collagène dans les tissus (Harding, 2002). L'augmentation du contenu de l'hydroxyproline est une indication de synthèse du collagène accrue correspondant à la cicatrisation importante de la plaie (Mbatchou, 2011). Dans notre étude, le dosage de l'hydroxyproline contenu dans des

plaies traitées avec *Acacia nilotica* 5% et la drogue (Brulex®) a été plus important que celles traitées avec du gel simple. Nous avons observé une différence significative (\* $p < 0,05$ ) entre les résultats obtenus avec le gel comportant l'extrait d'*Acacia nilotica* à 5% et la drogue de référence (Brulex®) par rapport aux rats traitées avec le gel seulement. Le contenu de l'hydroxyproline a été augmenté dans le lot traité à 2,5% aussi, mais cette augmentation n'est pas importante pour entraîner une différence significative. On peut donc conclure qu'*Acacia nilotica* possède des propriétés cicatrisantes sur les plaies cutanées de brûlure par la mise en évidence de l'hydroxyproline à forte dose au 8ème jour, la rapidité de la contraction des plaies et le raccourcissement du temps d'épithélialisation (Harding, 2002 ; Mbatchou, 2011).

### Conclusion

Nous avons étudié l'effet d'*Acacia nilotica* sur la cicatrisation cutanée des plaies induites par brûlure chez les rats. Nos résultats ont montré que l'extrait hydro alcoolique de la gousse d'*Acacia nilotica* possède des propriétés anti inflammatoires et cicatrisantes. De même les coupes histologiques et le dosage du collagène avaient noté un tissu de granulation plus élaborée montrant une prolifération des fibroblastes produisant du collagène et des néo vaisseaux capillaires congestifs chez les souris traitées par l'extrait d'*Acacia nilotica*.

### References:

- Lawrence WT (1998). Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg* 25: 321-40.
- Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, et al. (2006) An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*32(10): 319-27.
- Ahuja RB, Bhattacharya S (2004). Burns in the developing world and burn disasters. *British Medical Journal* 329(7463):447-9.
- Akkol EK, Koca U, Pe sin I, et al. (2009) Exploring the wound healing activity of *Arnebia densiflora* (Nordm.) Ledeb. by *in vivo* models. *J. Ethnopharmacol.* 124: 137-41.
- Arias ME, Gomez DJ, Cudmani MN, et al. (2004) Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences* 75(7): 191-202.
- Sadaf F, Saleem R, Ahmed M, et al. (2006). Healing potential of cream containing extract of *Sphaeranthus indicus* on dermal wounds in Guinea pigs. *J. Ethnopharmacol.* 107:161-3.
- Schaffer CJ, Nanney LB. (1996) Cell biology of wound healing. *Int Rev Cytol* 169:15181.

Neuman RE, Logan MA. (1950) The determination of hydroxyproline. *Journal of Biological Chemistry* 184: 299-306.

Kumar MS, Kirubanandan S, Sripriya R, et al. (2006) Wound Healing Potential of *Cassia fistula* on Infected Albino Rat Model. *Journal of Surgical Research* 131:283-9.

Akkus A, Aydinuraz K, Daphan C, et al. (2009) Effect of Carnitine on Cutaneous Wound Healing in Immunosuppressed Rats. *J Surg Res* 155:301-

Pierce GF, Tarpley JE, Yanaghira D, et al. (1992).Platelet-derived growth factor (BB homodimer), transforming growth factor- $\beta$ 1, and basic growth factor in dermal wound healing. *Am J Pathol*140:1375-88.

Bargali SS, Singh SP, Pandya KS. (2004).Effect of *Acacia nilotica* on gram crop in a traditional agroforestry system of Chhattisgarh plains. *Int. J. Eco. Environ.Sci*, 30:363-8.

Werner S, Grose R. (2003).Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*, 83:835-70.

Harding KG, Morris HL, Patel GK. (2002) Science, medicine, and the future: healing chronic wounds. *Br Med J*; 324 :160-3.

Mbatchou VC, Adoum OA. (2011) Antibacterial activities of seed-pod extract of *Acacia nilotica* Willd on *Artemia salina* larvae. *J. of Applied Biosciences*, 40: 2738-45.

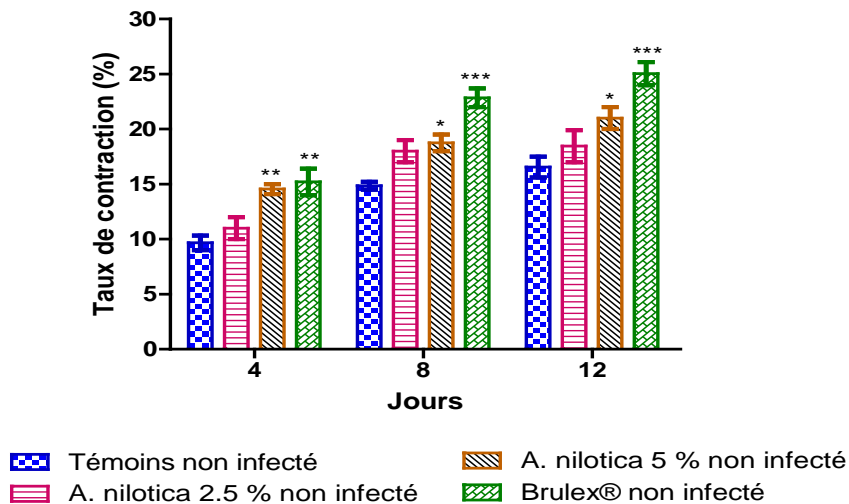


Figure 1 : Taux de contraction des plaies cutanées en fonction du temps.

La contraction de la fermeture de la plaie a été exprimée en pourcentage à l'aide de la surface de la plaie le jour j par rapport au premier jour. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM, n=12 rats par groupe. \*Indiquep <0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p <0,001 pour les groupes traitéspar rapport aux témoins.



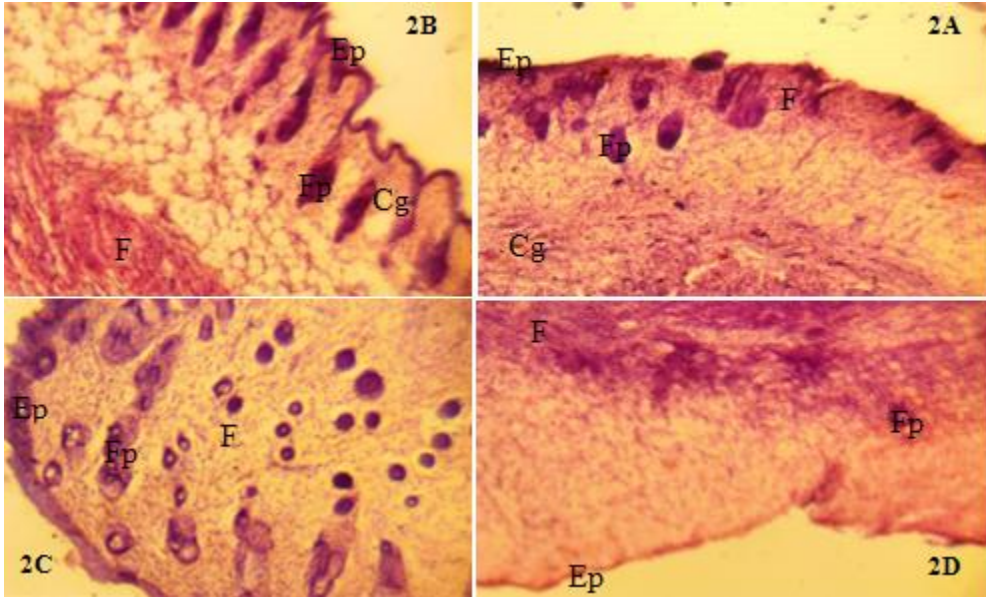


Figure 2 : Des coupes histologiques de la plaie cutanée traitée par application topique de carbopol, l'extraits des gousses *A. nilotica* 2,5% et 5%, et Brulex® à J12. (A: contrôle; B, C; D: groupes traités respectivement par *A. nilotica* 2,5%, 5% et Brulex), U : ulcération ; Oe : œdème ; Infl : présence de cellules inflammatoires ; Cg : congestion ; Ep : épithélialisation ; Fp : follicules pileux ; F : fibroblastes ; NVx: congestion des néo6vaisseaux. (Hematoxyline Eosine Safrin, x100).

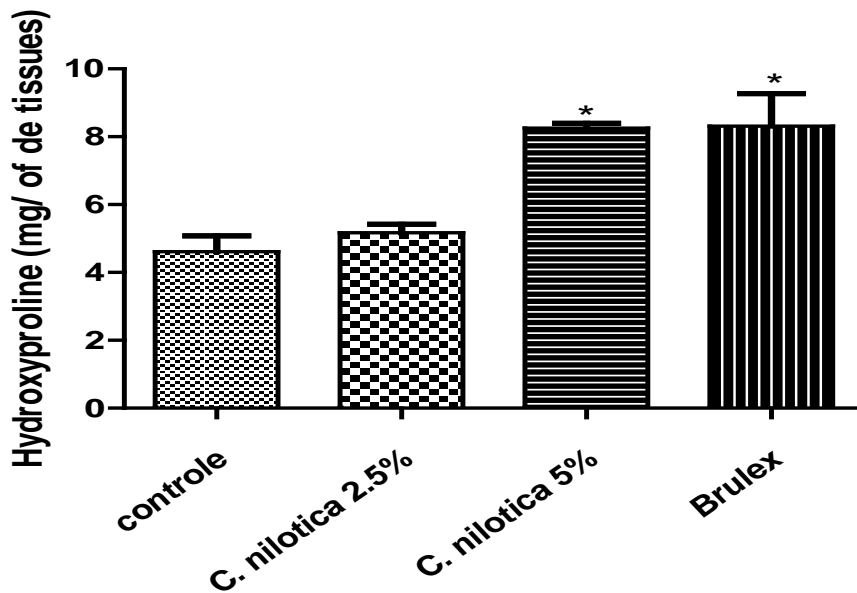


Figure 3: Effetde l'application topiquedegel d'*A.niloticasur*la teneur en hydroxyproline. Les valeurs sont en moyennes± SEM den =12 rats par groupe, \*indiquep <0,05 par rapport aux témoins.

Tableau I : Evaluation histologique à J8 après application de l'extrait d'*A. nilotica*.

Traitement	C	Ed	PMN	MNC	N	FP	NV	Ep	U
<b>Gel (témoin)</b>	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	+++
<b>A. nilotica 2,5%</b>	+	+	+	++	+	++	+	+	+
<b>A. nilotica 5%</b>	++	+	++	++	+	++	++	+	+
<b>Brulex®</b>	+	++	+	+	+	++	+	++	+

(-) absent, (+) présent, minime, (++) modéré, (+++) marqué

Tableau II Evaluation histologique à J12 après application de l'extrait d'*A. nilotica*.

Traitement	C	Ed	PMN	MNC	N	FP	NV	Ep	U
<b>Gel (Control)</b>	++	++	++	++	-	+	+++	+	++
<b>A. nilotica 2,5%</b>	+	+	+	+	-	++	+	++	-
<b>A. nilotica 5%</b>	+	-	+	+	-	++	++	++	-
<b>Brulex®</b>	+	-	+	+	-	++	+	++	-

(-) absent, (+) présence minime, (++) modérée, (+++) marqué.

C (Congestion), Ed (Edème), PMN (Polynucléaires), MNC (Monocytes), N(Nécrose), FP(Fibroblastes), NV(Néo-vaisseaux), EP(Epithélialisation), U(Ulcération).