

## COMMUNICATION

### Oxygène et cicatrisation

MOTS CLÉS : CICATRISATION DE PLAIE. OXYGÈNE. RADICAUX LIBRES. DONNEUR D'OXYDE NITRIQUE. ACIDE LACTIQUE. OXYGÉNOTHÉRAPIE

### *Oxygen and wound healing*

KEY-WORDS: WOUND HEALING. OXYGEN. FREE RADICALS. NITRIC OXIDE DONORS. LACTIC ACID. OXYGEN INHALATION THERAPY

Daniel MATHIEU \*

**L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

## RÉSUMÉ

*La cicatrisation d'une plaie est un phénomène complexe nécessitant la participation coordonnée de plusieurs types cellulaires dans un processus intégré de déterision, d'angiogenèse et de réparation tissulaire. Depuis longtemps, le rôle essentiel de l'oxygène dans le déroulement normal de ce processus a été reconnu et l'hypoxie d'une plaie, identifiée comme un facteur majeur de retard de cicatrisation. Sans remettre en cause ces notions, il a été récemment proposé de voir également dans ce processus cicatriciel l'intervention de l'oxygène comme déclencheur de trois phénomènes biochimiques qualifiés de « vagues ». En effet, à côté de la production énergétique permise par l'oxygène visant à satisfaire la demande accrue d'énergie nécessaire au processus de cicatrisation : défense antibactérienne, prolifération cellulaire, synthèse de collagène, l'oxygène joue aussi un rôle dans la signalisation cellulaire qui passe par la production d'intermédiaires biochimiques réactifs : radicaux libres de l'oxygène (RLO), oxyde nitrique (NO) et acide lactique. Ces trois intermédiaires biochimiques vont influencer chacun pour sa part les processus de chémotaxiel/recrutement cellulaire et de régulation géniquesynthèse des protéines qui sont impliqués dans le processus de cicatrisation. Un apport extérieur d'oxygène, tel que réalisé en oxygénothérapie hyperbare, agit à de nombreux niveaux qui tendent tous à amplifier les*

\* Centre d'Oxygénothérapie Hyperbare, Pôle de Réanimation, CHRU LILLE. Univ. Lille, U1019 — UMR 8204 — CIL — Center for Infection and Immunity of Lille. F-59000 Lille, France. CNRS, UMR 8204, 59000 Lille. INSERM, U1019. CHU Lille, Pôle de Réanimation, Hôpital Roger Salengro ; e-mail : daniel.mathieu@chru-lille.fr

*Tirés-à-part* : Professeur Daniel MATTHIEU, même adresse  
*Article reçu le 3 mai 2018 et accepté le 28 mai 2018*

*effets pro cicatrisants. L'effet bénéfique de l'oxygénothérapie hyperbare dans la prise en charge des retards de cicatrisation reçoit donc là une explication physiopathologique satisfaisante.*

## SUMMARY

*Wound healing is a complex process that involves the coordination of multiple cells in a highly integrated succession of cleansing, angiogenesis and tissue repair. It has long been recognized that oxygen plays an essential role in that process and hypoxia is acknowledged as a major factor responsible of delayed wound healing. Recently, without bringing these concepts, it has been proposed to look this process as a cascade of overlapping events or « waves » pertaining to reactive oxygen species, nitric oxide and lactate. Each of these biochemical components have its own effects on cell signaling that converge to influence cell recruitment/chemotaxis and gene regulation/protein synthesis which mediate wound healing.*

*An external oxygen extra delivery as realized during hyperbaric oxygen therapy (HBO<sub>2</sub>) acts at several levels to amplify the healing process. This new conception of the healing process provides a better pathophysiological explanation of the beneficial effects of HBO<sub>2</sub> in the treatment of delayed wound healing.*

La cicatrisation d'une plaie est un phénomène complexe nécessitant la participation coordonnée de plusieurs types cellulaires dans un processus intégré de déterision, d'angiogenèse et de réparation tissulaire.

Ces vingt dernières années ont permis de mieux comprendre comment cette coordination s'effectuait par le biais d'une signalisation intercellulaire, de cytokines et de facteurs de croissance d'action locale et systémique.

La description classique en 4 phases : coagulation, inflammation, granulation et remodelage, doit maintenant s'interpréter non comme quatre stades se succédant dans le temps mais comme une évolution intriquée, où l'activation de chaque processus élémentaire dépend du processus immédiatement précédent et doit se terminer dans un temps précis. Ainsi, tout retard ou blocage d'un de ces processus élémentaires va ralentir ou arrêter l'ensemble, et aboutir à un retard ou un arrêt de la cicatrisation reconnu en clinique par le terme : « plaie chronique » [1].

Il est depuis longtemps reconnu que les retards ou arrêt de cicatrisation sont en majorité liés à l'existence d'une infection ou d'une hypoxie locale. L'oxygénothérapie hyperbare (OHB), de par ses effets d'augmentation des pressions tissulaires d'oxygène et ses conséquences anti-infectieuses, a été depuis les années 60 utilisée comme traitement adjuvant dans la prise en charge des plaies de cicatrisation difficile. Même si sa place fait toujours l'objet de débats, son efficacité a été reconnue par des études randomisées contrôlées, en particulier dans les lésions du pied chez les patients diabétiques et dans les ulcères de jambe artériels ou mixtes [2].

## **PRESSION D'OXYGÈNE AU SEIN D'UNE PLAIE**

La zone centrale d'une plaie est le siège d'une hypoxie profonde. Dès les années 70, les travaux de Silver [3] ont montré des pressions d'oxygène aussi basses que 3 mmHg (0,4 kPa) au centre d'une plaie expérimentale, alors que dans le tissu sain avoisinant où la vascularisation était normale, les pressions d'oxygène étaient de l'ordre de 50 mmHg (6,7 kPa). Les berges d'une plaie sont donc le siège d'un gradient brutal en oxygène. Ce fait a été confirmé depuis par de très nombreux auteurs [4, 5].

Cette hypoxie est expliquée par le déséquilibre existant entre un apport limité d'oxygène du fait de la diminution de la perfusion locale (section vasculaire, œdème interstitiel, thrombose intravasculaire, ...) et une consommation augmentée du fait des phénomènes inflammatoires, de la prolifération cellulaire et de la présence éventuelle de bactéries.

Cette hypoxie, si elle n'est pas corrigée par le rétablissement d'un néo-réseau vasculaire entraîne une diminution, voire un arrêt de la prolifération cellulaire et de la synthèse de collagène, d'où une amplification du défaut d'angiogenèse de même qu'une diminution importante de l'activité macrophagique et du pouvoir de microbicidie des polynucléaires neutrophiles augmentant ainsi le risque d'infection.

## **IMPORTANCE DU PROCESSUS DE NÉO-VASCULARISATION AU SEIN D'UNE PLAIE**

Une étape décisive au sein du processus de cicatrisation est l'apparition d'un tissu de granulation composé principalement de fibroblastes et de cellules endothéliales. Il est le siège d'une prolifération néo-vasculaire intense, responsable de son aspect clinique.

En dehors de la période embryonnaire et néonatale, le développement d'un réseau néo-vasculaire, en particulier lors de la réparation d'une plaie, associe deux processus complémentaires [6, 7] :

- le premier provient d'un bourgeonnement des cellules endothéliales à partir des vaisseaux présents en périphérie de la plaie (angiogenèse) et qui s'étend vers le centre de la plaie en suivant le gradient de pression d'oxygène préalablement décrit.
- le second processus fait appel aux cellules progénitrices endothéliales circulantes produites et relarguées par la moelle osseuse qui gagnent la plaie, attirées par des facteurs de localisation (« homing factors ») produits sous l'effet de l'hypoxie locale (vasculogénèse). Ces cellules progénitrices endothéliales vont se différencier en cellules endothéliales aboutissant à la constitution de nouveaux vaisseaux.

Quelle que soit son origine, cette prolifération endothéliale s'ordonne en suivant le gradient d'oxygène en cordon cellulaire, produisant sa propre structure de soutien.

Ces néo-vaisseaux vont rentrer en contact avec d'autres, et s'organiser dans un réseau d'abord anarchique puis progressivement d'aspect mature entraînant une augmentation de la pression d'oxygène locale autorisant ainsi la poursuite des autres processus de cicatrisation : prolifération cellulaire (fibroblastes, kératinocyte) et synthèse d'un collagène de bonne qualité mécanique.

## **OXYGÈNE ET CICATRISATION**

La conception classique du processus cicatriciel envisagée comme une succession de phases dans laquelle le gradient d'oxygène jouait un rôle majeur, a longtemps servi de justification et d'explication à l'emploi de traitements visant à augmenter les pressions d'oxygène locales, comme par exemple l'oxygénothérapie hyperbare. Sans remettre en cause les notions acquises, Fosen et Thom [8] ont proposé de voir également dans ce processus cicatriciel l'intervention de l'oxygène comme déclencheur de trois phénomènes biochimiques qu'ils ont qualifié de « vagues ».

En effet, à côté de la production énergétique permise par l'oxygène et visant à satisfaire la demande accrue d'énergie pour les processus de cicatrisation : défense antibactérienne, prolifération cellulaire, synthèse de collagène, l'oxygène joue aussi un rôle dans la signalisation cellulaire qui passe par la production d'intermédiaires biochimiques réactifs : radicaux libres de l'oxygène (RLO), oxyde nitrique (NO) et acide lactique. Ces trois intermédiaires biochimiques vont influencer chacun pour sa part les processus de migration cellulaire/ chémotaxie et de régulation génique/synthèse des protéines qui sont impliqués dans le processus de cicatrisation.

### **Radicaux libres de l'oxygène**

Les radicaux libres de l'oxygène de même que les produits non radicalaires dérivés de l'oxygène, tels  $H_2O_2$  ou acide hypochlorite, sont produits de façon normale par les mitochondries, le réticulum endoplasmique, les peroxysomes, diverses oxydases ainsi que par le métabolisme phospholipidique. Ils agissent sur la signalisation cellulaire en fonction de l'équilibre qui s'établit entre eux et les systèmes de défense anti-oxydante comme le glutathion [9].

Au niveau d'une plaie, le dérivé de l'oxygène produit de la façon la plus importante et précoce est l' $H_2O_2$  dont la source principale vient de l'action des NADPH oxydases qui génèrent à partir de l'oxygène moléculaire et du NADPH, des anions super-oxydes transformés ensuite en  $H_2O_2$ .

### ***Migration cellulaire/Chémotaxie***

L'agrégation plaquettaire, survenant dans les secondes suivant la section vasculaire, produit des RLO à partir de la voie des NADPH oxydases mais aussi de la xanthine oxydase. Les cellules musculaires lisses des vaisseaux, amplifient le phénomène en

produisant un facteur tissulaire thrombogénique d'une manière dépendante de l'activité des NADPH oxydases. Les kératinocytes et les fibroblastes génèrent également des RLO par la voie de leurs propres NADPH oxydases [10].

Agissant d'une façon paracrine,  $H_2O_2$  est produit dans les quelques minutes après la survenue d'une plaie et agit comme un signal chimotactique attirant des polynucléaires neutrophiles dont la présence augmente les capacités de défense antimicrobienne. Cet effet est considérablement amplifié lorsqu'un apport supplémentaire d'oxygène y est associé.

À côté de l'effet antibactérien,  $H_2O_2$  augmente la migration des kératinocytes, des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses vasculaires ainsi que des monocytes/macrophages.

### ***Régulation génique / Synthèse protéique.***

L'hypoxie régnant au centre de la plaie induit une stabilisation des facteurs induits par l'hypoxie (HIF). Ces facteurs transcriptionnels activent de nombreux gènes induisant la synthèse de diverses protéines intervenant dans le processus cicatriciel (VEGF, SDF-1, angiopoïétine 1 et 2, PDGF, SCF) [11].

L'élévation précoce de  $H_2O_2$  augmente les HIF en diminuant les quantités d'ascorbate disponibles et l'activité de la prolyl-hydroxylase. Elle augmente également la production de thiorédoxine qui agit non seulement comme un antioxydant mais aussi comme un facteur transcriptionnel augmentant la synthèse de HIF. L'augmentation de la synthèse de facteur comme le VEGF et le SDF-1 est responsable du déclenchement d'une intense néo vascularisation. De plus, la présence de SDF-1 dans les berges de la plaie augmente considérablement le recrutement de cellules progénitrices endothéliales circulantes.

La production précoce d'anion superoxyde par les plaquettes active les facteurs tissulaires présents d'une façon latente à la surface cellulaire. Cette activation est responsable de l'activation de la thrombine qui participe à l'hémostase mais va aussi activer les NADPH oxydases des cellules vasculaires venant ainsi s'ajouter à l'effet de l' $H_2O_2$ . Cette production de RLO module les réponses de type inflammatoire des cellules endothéliales, des cellules musculaires vasculaires, des monocytes, des lymphocytes en agissant sur l'activation du facteur NF-kB [12].

Les RLO activent également le plasminogène qui active à son tour la métalloprotéase matricielle 1 (MMP1) permettant au réseau néo vasculaire de pénétrer à l'intérieur de la matrice extracellulaire remplissant la plaie et participe ainsi au processus de remodelage [13].

Enfin, Les RLO et en particulier  $H_2O_2$  ont un rôle bien connu dans le déclenchement de l'apoptose cellulaire, en particulier des polynucléaires neutrophiles et des macrophages. Ce rôle est essentiel dans le processus cicatriciel car il permet de mettre fin à la phase inflammatoire dont la persistance est un facteur majeur de retard de cicatrisation [14].

### ***L'oxyde nitrique***

L'oxyde nitrique est synthétisé par trois variétés d'enzymes : les NO synthases (NOS) qui utilisent l'oxygène moléculaire, l'arginine et une variété de cofacteurs pour synthétiser le NO. L'activité des NOS augmente précocement après la constitution d'une plaie et persiste à un niveau élevé pendant plusieurs jours. La source principale de NO dans une plaie est le macrophage, bien que d'autres cellules puissent également en produire [15].

#### — Migration cellulaire / Chémotaxie

Les métalloprotéases matricielles jouent un rôle essentiel dans les processus de migration et de remodelage. Les RLO et le NO régulent la synthèse des MPPs à la fois au niveau transcriptionnel et post transcriptionnel [13].

Le NO augmente également la migration des kératinocytes intervenant dans le processus d'épithélialisation.

Surtout le NO agit sur les cellules progénitrices endothéliales situées dans la moelle osseuse les faisant passer d'un état quiescent à un état prolifératif et en augmentant leur libération dans la circulation [16]. Elles vont ensuite gagner la plaie où, sous l'influence de facteur comme le SDF-1, elles participent au phénomène de réparation vasculaire.

#### — Régulation génique / Synthèse protéique

Le NO joue un rôle central dans la synthèse du VEGF et de nombreuses autres cytokines et facteurs de croissance [17]. En particulier, le NO produit par la eNOS joue un rôle prédominant dans l'angiogenèse induite par le VEGF.

### ***L'acide lactique***

L'agression tissulaire liée à la constitution d'une plaie diminue le débit sanguin local, ce qui, en conjonction avec l'augmentation de la consommation d'oxygène, est responsable d'une hypoxie locale sévère. En conséquence, un métabolisme anaérobie cellulaire s'installe produisant de l'acide lactique. Mais cet effet est transitoire et rapidement corrigé. Par contraste, les concentrations de lactate au niveau des berges de la plaie restent élevées. Ce lactate est produit en grande quantité par les cellules endothéliales qui, de même que les neutrophiles recrutés en grand nombre, produisent de façon majoritaire leur énergie en utilisant la voie de la glycolyse, même en environnement aérobie [18]. Ainsi, dans une plaie, coexistent deux gradients, l'un en oxygène, l'autre en lactate.

D'une manière paradoxale, un apport supplémentaire d'oxygène s'accompagne d'une élévation des concentrations de lactate du fait de l'action de l'oxygène sur la prolifération cellulaire endothéliale et l'activité de neutrophiles.

#### — Migration cellulaire / Chémotaxie

Le lactate n'est pas en lui-même un agent chémoattractif, mais il augmente la production d'acide hyaluronique qui par son accumulation permet des mouvements de migration cellulaire plus aisés dans la matrice extracellulaire et augmente le recrutement de nouveaux fibroblastes [19].

— Régulation génique / Synthèse protéique

Le lactate stimule les mécanismes d'angiogenèse. Il modifie l'expression génique des cellules souches mésenchymateuses en les orientant vers un profil favorable aux processus cicatriciels [20]. Par son action pro oxydante, le lactate augmente la production de RLO augmentant ainsi le contenu cellulaire en facteurs HIF entraînant une élévation de la production de VEGF et SDF-1 ce qui stimule la néo vascularisation et le recrutement de cellules progénitrices.

## CONCLUSION

Cette conception proposée par Thom permet de comprendre les nombreuses interactions intervenant dans le processus général de la cicatrisation. L'apparition précoce de RLO, NO et acide lactique, leurs interrelations permettent d'expliquer la succession classique des quatre phases et les conséquences qu'une anomalie de l'une d'entre elle peut avoir sur les autres, aboutissant à un retard ou un arrêt de la cicatrisation.

Un apport extérieur d'oxygène, tel que réalisé en oxygénothérapie hyperbare agit à de nombreux niveaux qui tendent tous à amplifier les effets procicatrisants. L'effet bénéfique de l'oxygénothérapie hyperbare dans la prise en charge des retards de cicatrisation reçoit donc là une explication physiopathologique satisfaisante [21].

## RÉFÉRENCES

- [1] Singer AJ., Clark RA. Cutaneous wound healing, *N Engl J Med.* 1999;341:738-46.
- [2] Mathieu D., Marroni A., Kot J. Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications and practice of hyperbaric oxygen treatment, *Diving Hyperb Med.* 2017;47:24-32.
- [3] Silver I.A. The measurement of oxygen tension in healing tissue. *Prog. Respir. Res.* 1968; 3:124-135.
- [4] Chang N., Goodson W.H., Gottrup F. et coll. Direct measurement of wound and tissue oxygen tension in postoperative patients. *Ann. Surg.* 1983;197:470-8.
- [5] Sheffield P.J. Tissue oxygen measurements. In: Davis J.C., Hunt T.K. *Problem wounds, the role of oxygen*, Elsevier, New York, 1988;p. 17-51.
- [6] Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science.* 1997;277:48-50.
- [7] Watt S.M., Athanassopoulos A., Harris A.L., and Tsaknakis G. Human endothelial stem/progenitor cells, angiogenic factors and vascular repair. *J R Soc Interface.* 2010;7 Suppl 6:S731-S751.

- [8] Fosen KM., ThomSR. Hyperbaric oxygen, vasculogenic stem cells, and wound healing. *Antioxid Redox Signal.* 2014;21:1634-47.
- [9] Kemp M. Go YM., and Jones DP. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulphide redox systems: a perspective on redox systems in biology. *Fr Radic Biol Med.* 2008;44:921-37.
- [10] Niethammer P., Grabher C., Look AT, and Mitchison TJ. A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish. *Nature.* 2009;459:996-9.
- [11] Semenza GL. HIF-1: mediator oh physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol.* 2000;88:1474-80.
- [12] Michiels C., Minet E., Mottet D., and Raes M. Regulation of gene expression by oxygen: NF-KappaB and HIF-1, two extremes. *Free Radic Biol Med.* 2002;33:1231-42.
- [13] Siwik DA. and Colucci WS. Regulation of matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium. *Heart Fail Rev.* 2004;9:43-51.
- [14] Almzaial AJ., Billington R., Smerdon G., Moody AJ. Hyperbaric oxygen enhances neutrophil apoptosis and their clearance by monocyte-derived macrophages. *Biochem Cell Biol.* 2015; 93:405-16.
- [15] SLee RH., Efron D., Tantry U., and Barbul A. Nitric oxide in the healing wound: a time-course study. *J Surg Res.* 2001;101:104-8.
- [16] Aicher A., Heeschen C., Mildner-Rihm C., Urbich C., Ihling C., Technau-Ihling K., Zeiher AM., and Dimmeler S. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem ans progenitor cells. *Nat Med.* 2003;9:1370-6.
- [17] Schaffer MR., Efron PA., Thornton FJ., Klingel K., Gross SS, and Barbul A. Nitric oxide, an autocrine regulator of wound fibroblast synthetic function. *J Immunol.* 1997;158:2375-81.
- [18] Gladden L. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol.* 2004; 558:5-30.
- [19] Formby B. and Stern R. Lactate-sensitive response elements in genes involved in hyaluronan catabolism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;305:203-8.
- [20] Zieker D., Schafer R., Glatzle J., Nieselt K., Coerper S., Kluba T., Northoff H., Konigsrainer A., Hunt TK, and Beckert S. Lactate modulates gene expression in human mesenchymal stem cells. *Langenbecks Arch Surg.* 2008;393:297-301.
- [21] Kranke P., Bennett MH., Martyn-St James M., Schnabel A., Debus SE., Weibel S. Hyperbaric oxygen therapy for chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;CD004123.