

Le processus de cicatrisation pathologique, interactions entre clinique et recherche

Prof B Pittet - Laboratoire expérimental

Service de Chirurgie Plastique et Reconstructive,
Hôpitaux Universitaires de Genève
Faculté de Médecine, Université de Genève

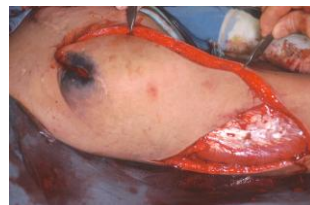
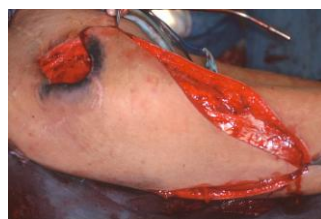


Comprendre la plaie pour choisir le traitement adapté...

Traitement conservateur: pansements

Traitement chirurgical

- geste chirurgical + pansements
- fermeture, couverture de la plaie



Connaître la physiologie du processus de cicatrisation, et ces dérèglements

Le processus de cicatrisation comprend 4 phases:

- phase inflammatoire ou exsudative
- phase proliférative
- phase de contraction et d'épithélialisation
- phase de remodelage de la cicatrice

plaie

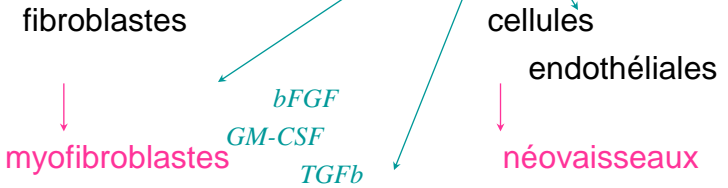
1. phase inflammatoire ou exsudative
2. phase proliférative
formation de tissu de granulation
3. phase de contraction et d'épithélialisation
fermeture de la plaie
4. phase de remodelage de la cicatrice
cicatrice

1. phase inflammatoire:

- cascade de coagulation, aggrégation plaquettaire

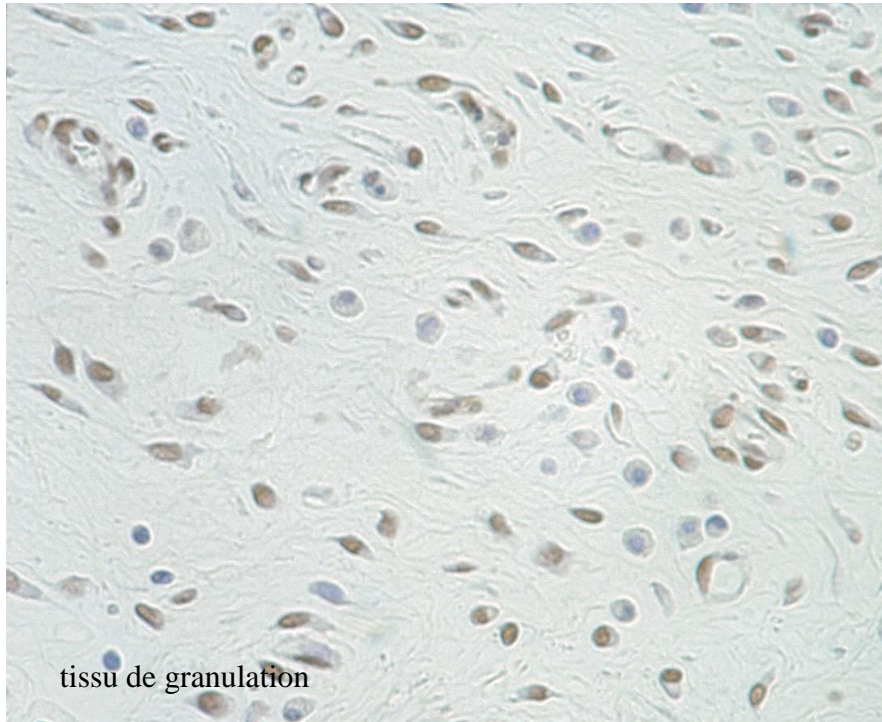


2. phase de prolifération:



matrice extra-cellulaire
TISSU DE GRANULATION





Myofibroblastes

Prof G Gabbiani

Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction

Gabbiani G, Ryan GB, Majno G

Experientia, 1971

3. phase de contraction ...

α-actine muscle lisse

fibroblastes



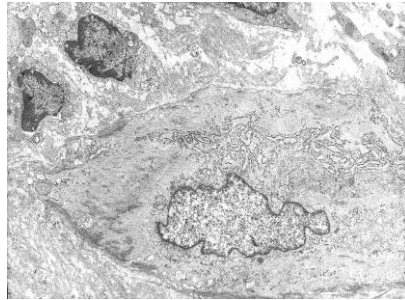
myofibroblastes



rapprochement des berges de la plaie



fibroblaste: RER

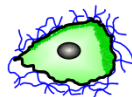


myofibroblaste: filaments contractiles

Myofibroblasts: Cells with MUSCLES



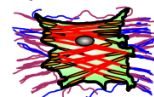
Fibroblast



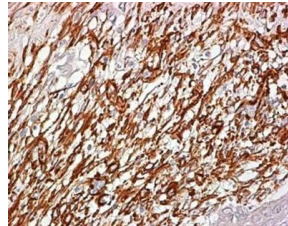
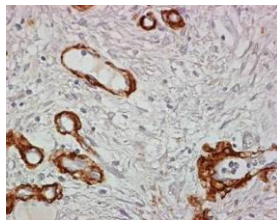
α-smooth muscle actin



Myofibroblast

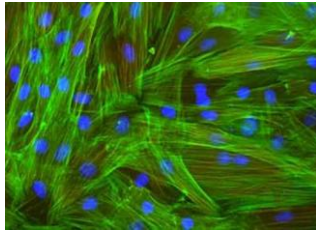


immunohistochemistry

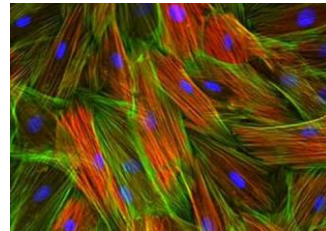


Myofibroblastes

HOW TO ASSESS MYOFIBROBLAST DIFFERENTIATION ?
IMMUNOFLUORESCENCE



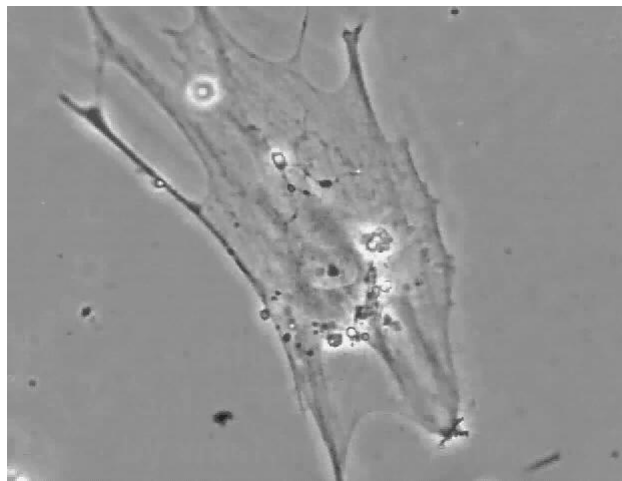
Fibroblast



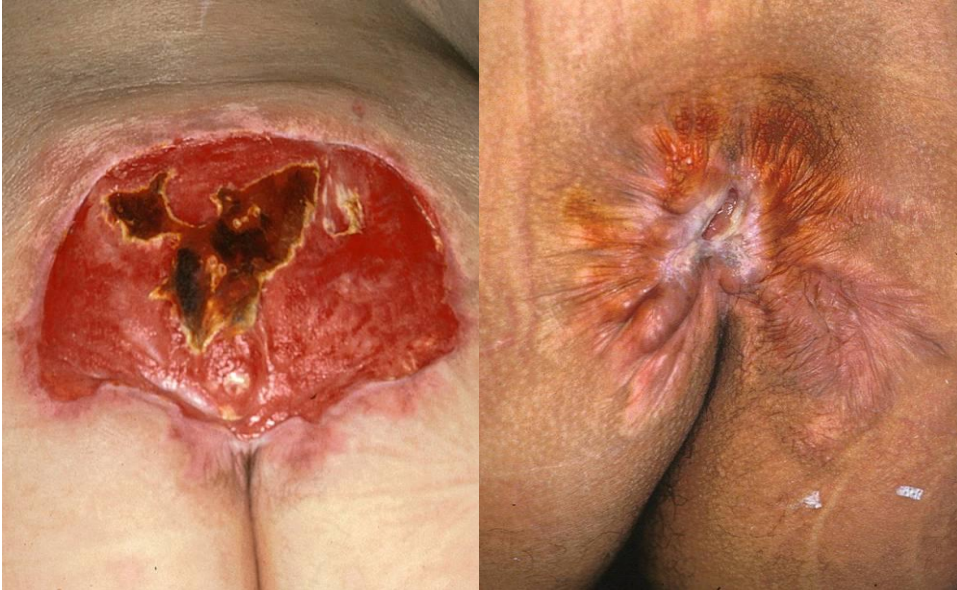
Myofibroblastes

β -actin / nuclei (DAPI) / α -smooth muscle actin

Myofibroblastes



contraction sur feuille de silicone



3. phase de contraction ...

...et d'épithélialisation :

prolifération des cellules épithéliales à partir des berges et des annexes *EGF*

→ étanchéité de la plaie

prolifération des cellules épithéliales à partir des berges et des annexes

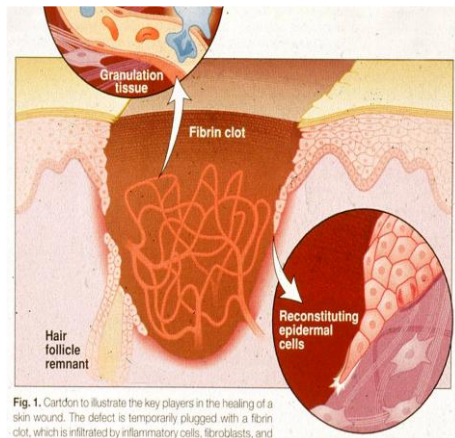


Fig. 1. Cartoon to illustrate the key players in the healing of a skin wound. The defect is temporarily plugged with a fibrin clot, which is infiltrated by inflammatory cells, fibroblasts, and

Martin, P. (1997): *Science* 276, 75-81



4. phase de remodelage :

tissu de granulation
 ↓ apoptose
 cicatrice

- Histo: - diminution du nombre des
 cellules et des capillaires
 - disparition des myofibroblastes

Etude1: Quantification des myofibroblastes (α -actine muscle lisse) dans différents processus de cicatrisation pathologique

α -actine muscle lisse

- | | |
|-------------------------------------|---|
| • plaie | + |
| • escarre | - |
| • plaie chronique | - |
| • cicatrice | - |
| • cicatrices hypertrophiques | + |

Lab Invest 1989

Situations Characterized by the Presence of Myofibroblasts

Normal tissues (e.g. pulmonary alveolar septa)

Kapanci et al., J. Histochem. Cytochem. 40:1995, 1992
Schmitt-Gräff et al., Virchows Arch.(B) 57:291, 1989

Normally healing granulation tissue

Gabbiani et al., Experientia 27:549, 1971
Darby et al., Lab.Invest. 63:21, 1990
Desmoulière et al., Am. J. Pathol. 146:56, 1995

Hypertrophic scars

Ehrlich et al., Am. J. Pathol. 145:105, 1994
Pittet et al., Plast.Reconstr. Surg. 93:1224, 1994

Dupuytren's disease and fibromatoses

Gabbiani and Majno, Am. J. Pathol. 66:131, 1972
Tomasek and Haaksma, Anat. Rec. 230:175, 1991

Lung fibrosis

Adler et al., Lab. Invest 60:473, 1989
Zhang et al., Am. J. Pathol. 145:121, 1995

Kidney fibrosis

Johnson et al., J. Clin. Invest. 87:847, 1991
Diamond et al., Am. J. Pathol. 146:121, 1995

Asthma

Roche W.R., Clin. Exp. Allergy 21:545, 1991

Heart fibrosis

Sun et al., J. Mol. Cell Cardiol. 29:2001, 1997

Stroma reaction to epithelial tumors

Cintorino et al., Int. J. Cancer 47:316, 1991
Ronnov-Jessen et al., J. Clin. Invest. 95:859, 1995
Chiavegato et al., Virchows Arch. 426:77, 1995

Liver cirrhosis

Ramadori et al., J. Clin. Invest. 87:847, 1991
Schmitt-Gräff et al., Am. J. Pathol. 138:1233, 1991
Friedman, New Engl. J. Med. 328:1829, 19931

Vitreo-retinopathy

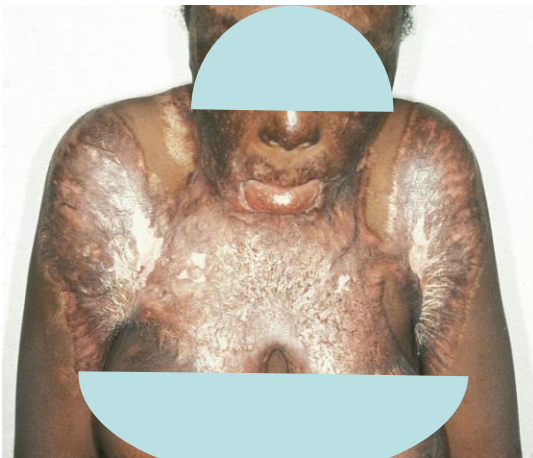
Bochaton-Piallat et al., IOVS 41:2136-2142, 2000

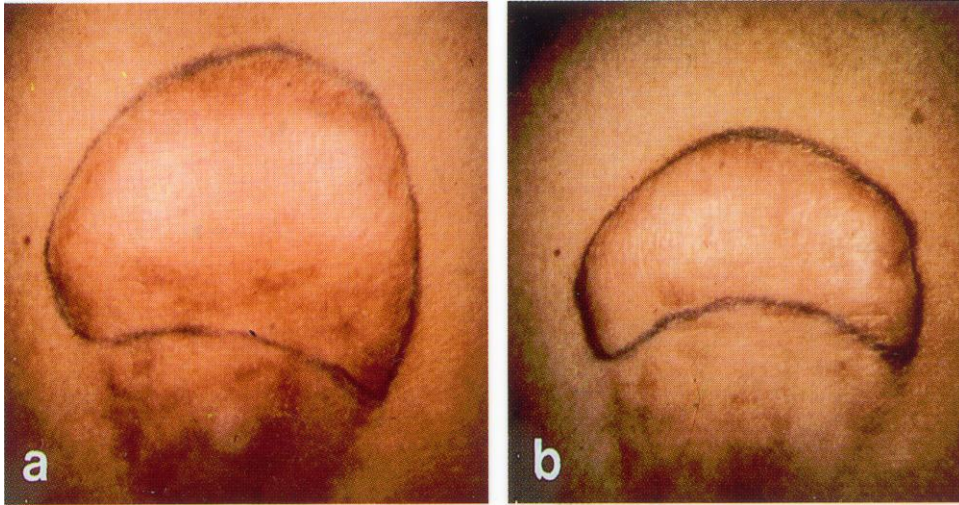
Cicatrisation pathologique



1. phase inflammatoire ou exsudative
2. phase proliférative
→ plaie atone
3. phase de contraction et d'épithélialisation
→ plaie chronique
4. phase de remodelage de la cicatrice
→ cicatrice hypertrophique, kéloïde

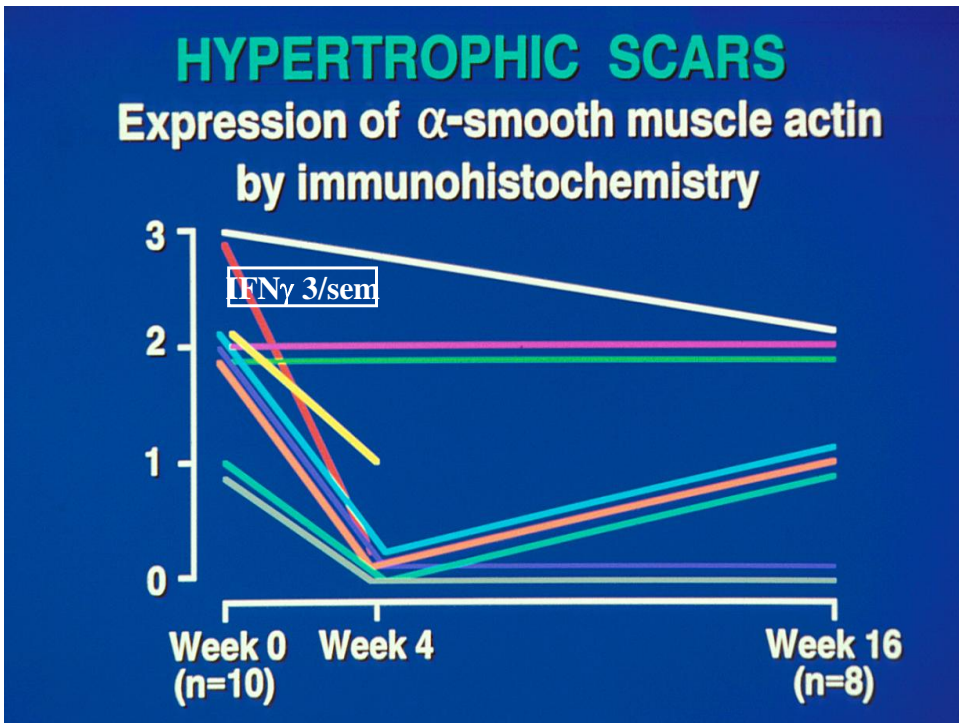
Stopper la contraction de la cicatrice





avant traitement

12 semaines après traitement



Effet de l'application locale de IFN γ sur les cicatrices hypertrophiques

Conclusions

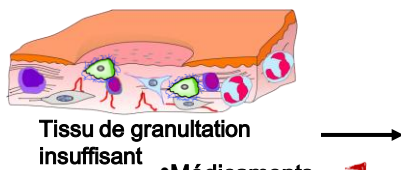
Diminution

- symptômes cliniques
- taille et volume des cicatrices
- nombre des myofibroblastes

—————> maturation de la cicatrice

Plast Reconstr Surgery, 1994

Plaies chroniques



• Médicaments

- diabète
- radiothérapie
- cicatrice

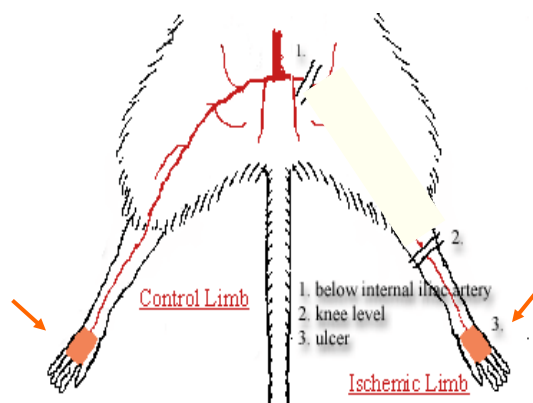
• âge



Hypoxie

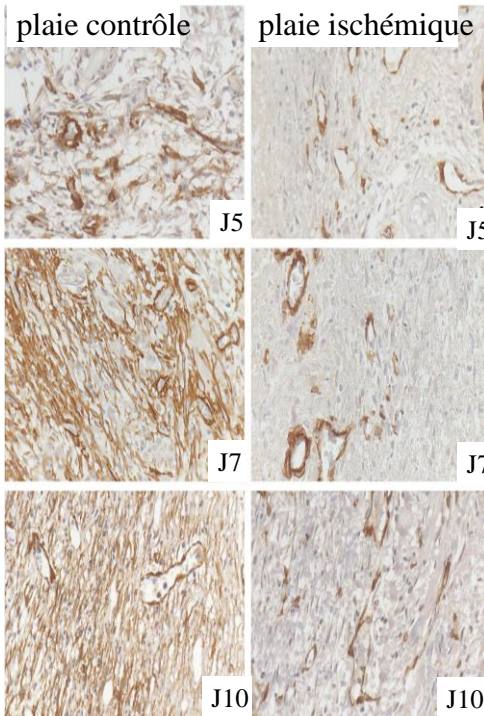
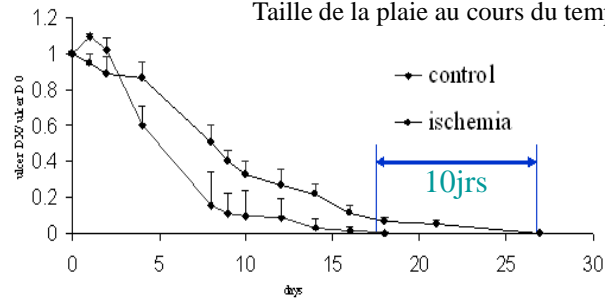
Etude 4: Rôle des myofibroblastes dans le retard de cicatrisation des plaies ischémiques

Modèle de plaie ischémique chez le rat

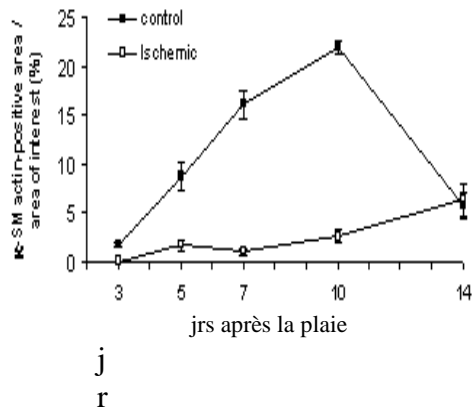




Taille de la plaie au cours du temps



Expression de l' α -actine muscle lisse par immuno-histo-chimie



Etude 4: Conclusion

- L'ischémie persistante empêche le développement des myofibroblastes dans le tissu de granulation
 - retard d'apparition
 - diminution du nombre absolu des myofibroblastes
- La diminution de la contraction de la plaie ischémique joue un rôle important dans le retard de cicatrisation

Etude : Effet de l'hypoxie sur les myofibroblastes *in vitro*

Cellules: fibroblastes sous-cutané de rats (passages 2-7)

Culture: 5 jrs w/o medium change à différents taux d'oxygène:

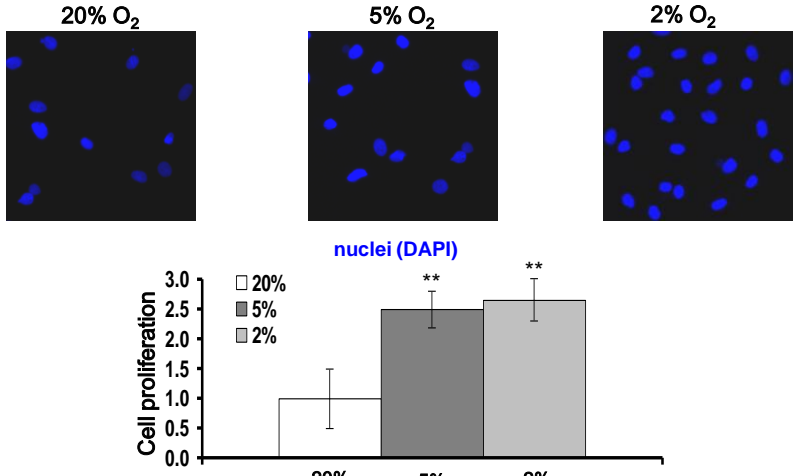
Normoxie 21% O₂ ≈ 140 mmHg

Hypoxie 5% O₂ ≈ 30 mmHg

Hypoxie sévère 2% O₂ ≈ 15 mmHg

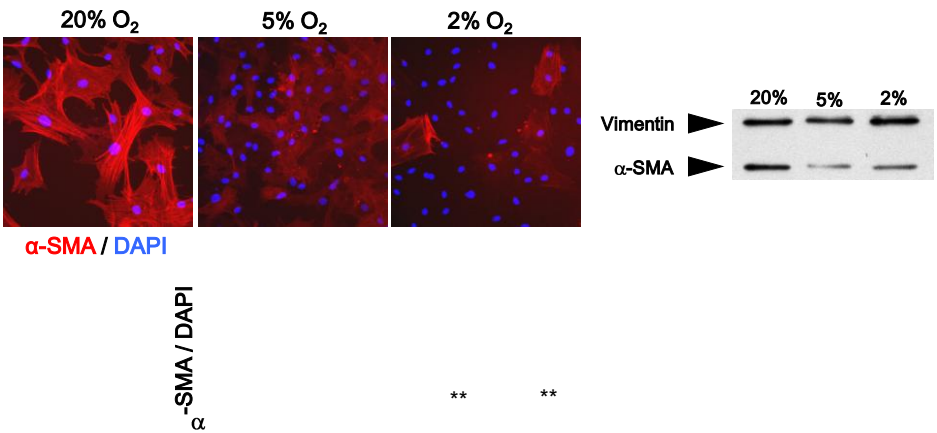
avec un inducteur des myofibroblastes TGFβ1

Myofibroblastes et hypoxie



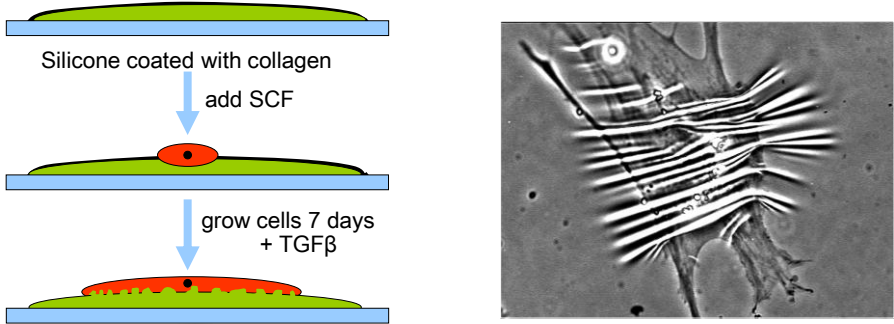
Résultat: l'hypoxie stimule la prolifération des fibroblastes

Myofibroblastes et hypoxie



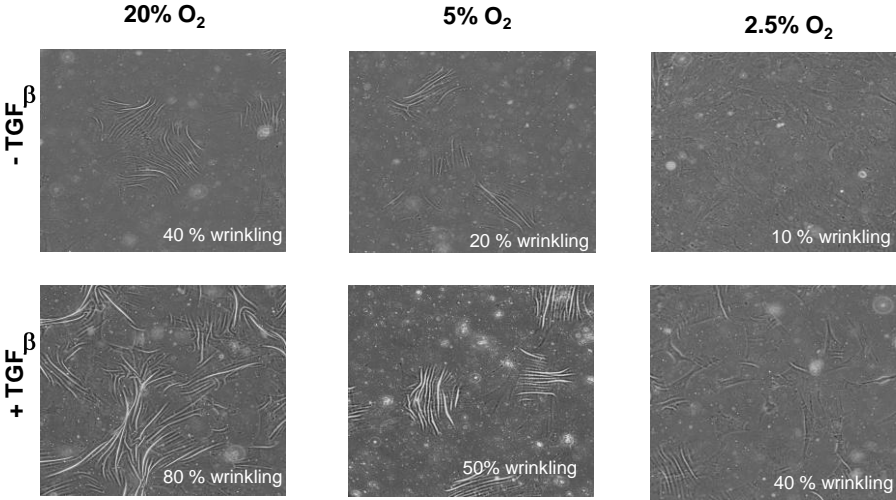
Résultats: l'hypoxie réduit l'expression d'α-SMA

Myofibroblastes et hypoxie



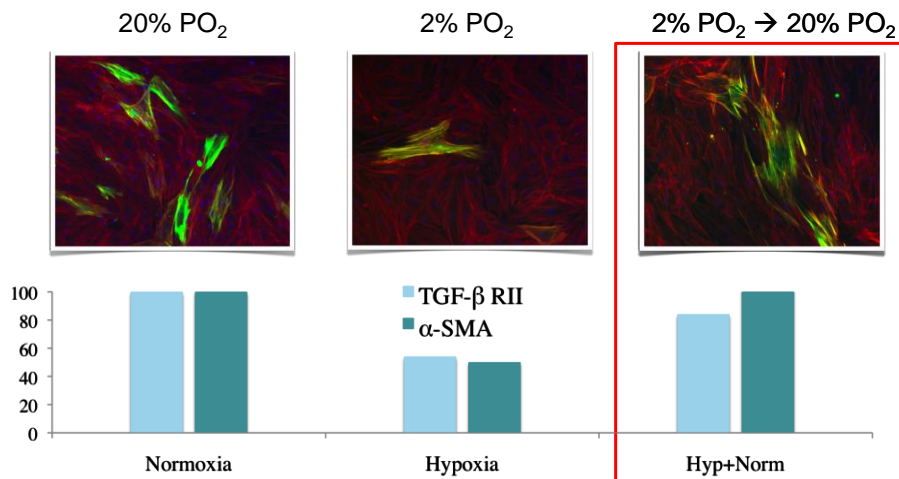
Résultats: l'hypoxie **réduit la contraction des myofibroblastes**

Myofibroblastes et hypoxie



Résultats: l'hypoxie **réduit la contraction des myofibroblastes**

Réversibilité des effets induits par l'hypoxie



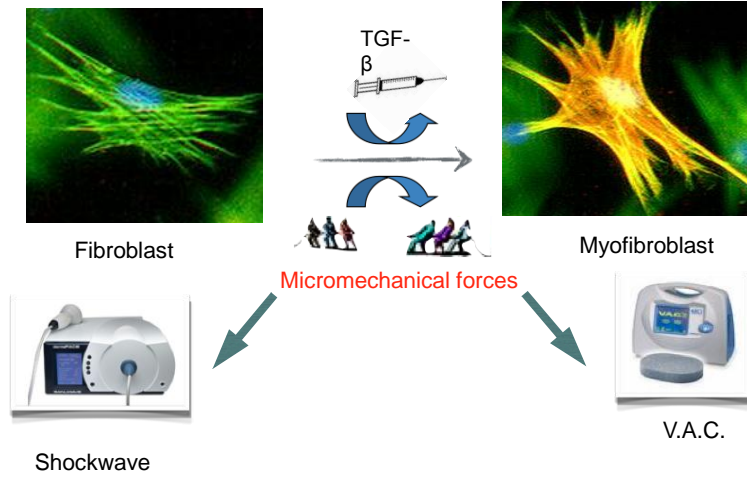
Résultats: le rétablissement de la normoxie permet la restauration de la fonction du myofibroblaste

Réversibilité en clinique



Rétablissement de la normoxie?

Réveribilité: rôle des forces mécaniques



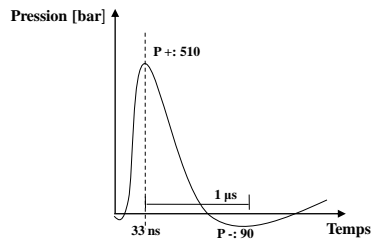
"Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation" *Hinz et al. Am J Pathol 2001*

Réversibilité: rôle des forces mécaniques

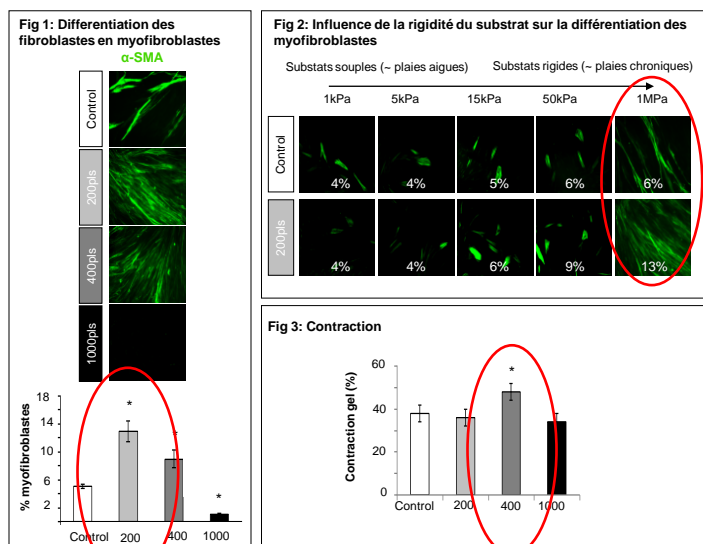


J10 VAC

Ondes de choc (Shock waves)

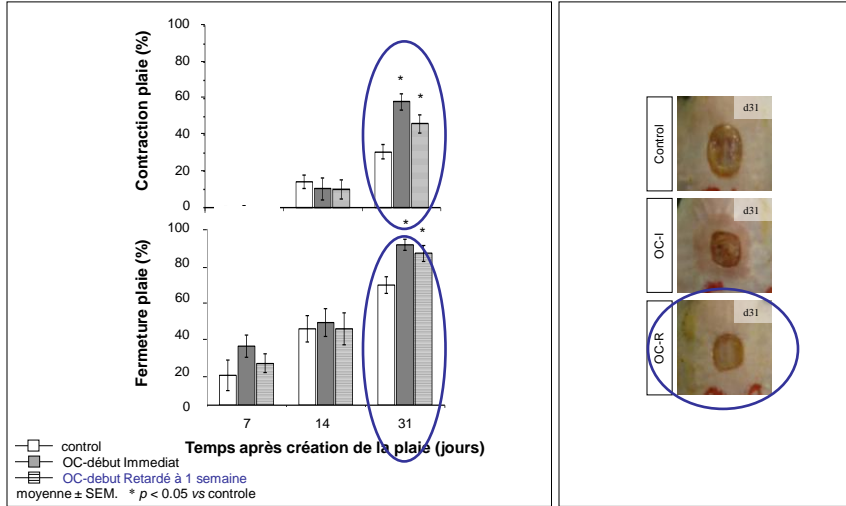


Effet des ondes de choc *in vitro*



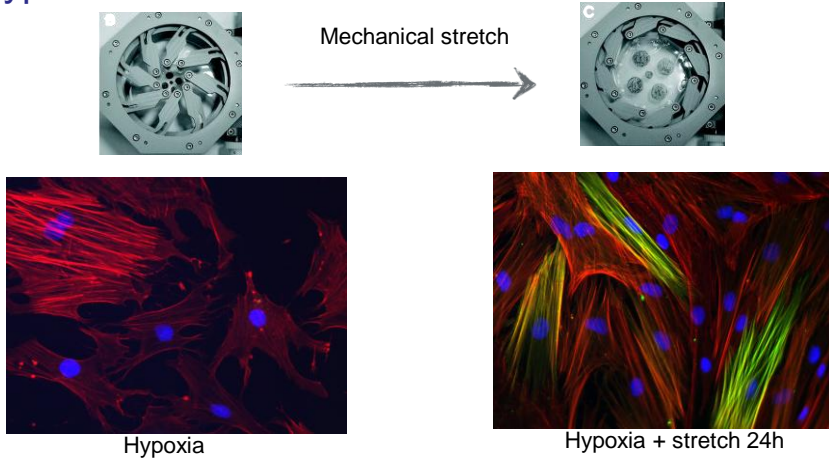
- Résultats:** 1. Ondes de choc **stimulent la différenciation des myofibroblastes**, d'une manière dose-dépendante (fig 1.) et seulement sur des substrats rigides (fig 2.)
 2. Ondes de choc **stimulent la contraction du gel de culture**, d'une manière dose-dépendante (fig 3.)

Effet des ondes de choc *in vivo*

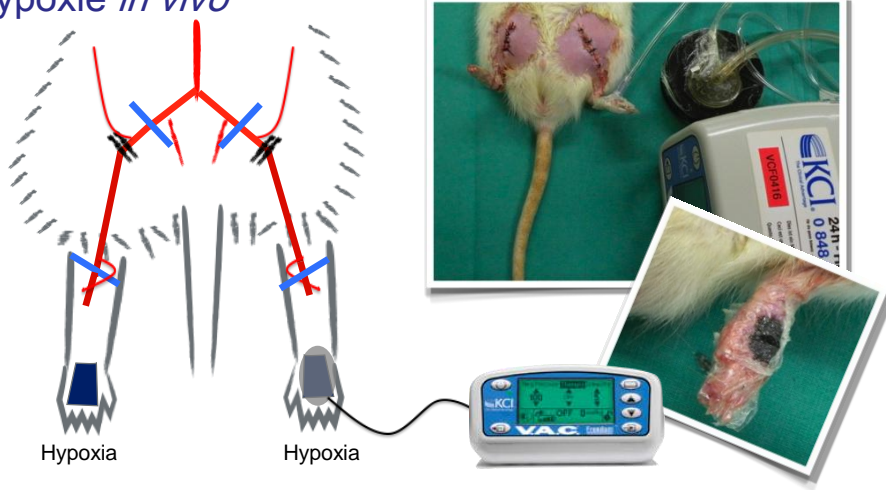


Résultats: Ondes de choc **stimulent la contraction de la plaie**, seulement après 31 jours - temps où le lit de la plaie devient cohésif/rigide.

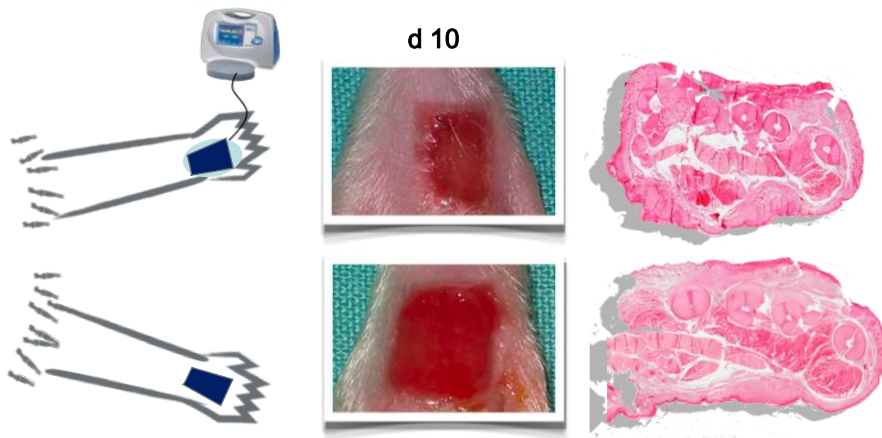
Effet des forces mécaniques sous hypoxie *in vitro*



Effet des forces mécaniques sous hypoxie *in vivo*



Effet des forces mécaniques sous hypoxie *in vivo*

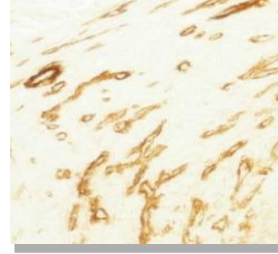


Augmente la **contraction** de la plaie

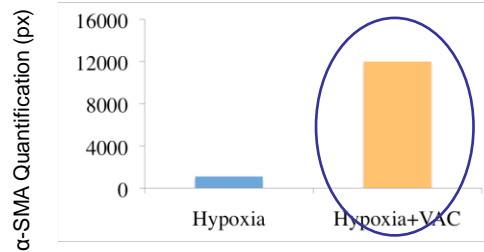
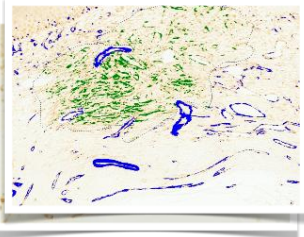
Effet des forces mécaniques sous hypoxie *in vivo*



Hypoxia



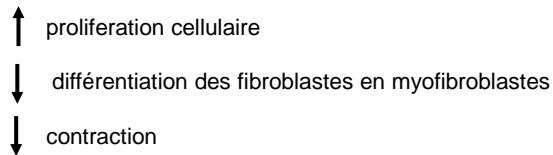
Hypoxia + V.A.C.



Conclusions: Myofibroblasts et hypoxie

Etiopathogénie

hypoxie (2% - 5%): *in vivo* et *in vitro*



Traitement

rétablissement de la normoxie

caisson hyperbare?

application de forces mécaniques : *Vac, Shock waves*

→ restaure la fonction des myofibroblastes

Remerciements



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**

Laboratoire expérimental
de chirurgie plastique:

Département de Pathologie



- N Alizadeh
- A Modarressi
- G Pietramaggiori
- M Tobalem
- E Vigato

- G Gabbiani
- ML Piallat

- B Hinz
- H Majd

- 3 fonds



Thank you