



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



Acide hyaluronique : structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation

Hyaluronic acid: structure, metabolism and implication in cicatrisation

Y. Gall

Service de Dermatologie, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, TSA40031, Place du Dr Baylac 31059 Toulouse cedex 9, France.

MOTS CLÉS

Acide hyaluronique ;
Cicatrisation ;
Matrice
extracellulaire ;
Protéoglycannes ;
Visco-élasticité

Résumé

En tant que structure fondamentale de la matrice extracellulaire, l'acide hyaluronique (AH) est une molécule pivot du processus de cicatrisation. Il possède à la fois un fort pouvoir hygroscopique et de grandes capacités rhéologiques. Ses propriétés sont modulables en fonction de son poids moléculaire. Dans sa forme complète, l'acide hyaluronique a un rôle structurel. Dès l'apparition d'une plaie, des hyaluronidases spécifiques hydrolysent l'acide hyaluronique en oligomères de taille variable : ils sont capables de moduler les phénomènes inflammatoires et angiogéniques au cours des premières étapes de la cicatrisation, puis de remodeler progressivement le tissu au cours des dernières étapes. L'AH agit via l'interaction avec des récepteurs cellulaires spécifiques (CD44 et RHAMM). C'est grâce à la modularité de sa structure tridimensionnelle que l'acide hyaluronique favorise l'adhésion et la migration des molécules et des cellules nécessaires à la cicatrisation. Du fait de ces propriétés, l'acide hyaluronique possède de nombreuses applications dans le domaine biomédical.

© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS.

KEYWORDS

Hyaluronan;
Wound healing;
Extra-cellular matrix;
Proteoglycans;
Visco-elasticity

Summary

Hyaluronan (HA) is a key component of the extra-cellular matrix and is involved in several mechanisms of the wound healing process. It is highly hygroscopic and is involved in the visco-elasticity of the skin. The properties of this molecule depend on its molecular weight. Native high molecular weight HA has structural properties whereas HA degradation products (oligomers) stimulate endothelial cell proliferation and migration. HA oligomers modulate inflammatory processes and promote neo-angiogenesis during the different steps of wound healing. HA mediates its biological effects through binding interactions with specific cell-associated receptors (CD44 and RHAMM). The tridimensional structure of HA

Correspondance.

Adresse e-mail : gallkjs@yahoo.fr (Y. Gall)

is variable and acts as a framework for cell adhesion and migration. Thanks to its different physico-chemical properties, hyaluronic acid is very useful in the biomedical field.
© 2010 Published by Elsevier Masson SAS.

L'acide hyaluronique (AH) est une molécule qui joue un rôle physiologique fondamental dans de nombreux organes, en particulier dans la peau. Il est répandu dans tout l'organisme.

Depuis sa découverte dans l'humeur vitrée par Meyer et Palmer en 1934, de nombreux mécanismes de son fonctionnement ont été mis à jour et de multiples applications développées.

Il est constitué par la répétition, un très grand nombre de fois, d'un simple disaccharide, le (- D - glucuronic acid- β - 1, 3 - N- acetyl - D- glucosamine- β - 1, 4 -). Cette macromolécule est un composant majeur de la matrice extracellulaire (MEC). Elle joue un rôle physiologique fondamental dans le développement embryologique et néonatal et constitue une clé essentielle du signallement cellulaire et de l'homéostasie tissulaire [1].

L'AH possède des propriétés physico-chimiques particulières qui en font un biomatériau très utilisé dans les produits biotechnologiques et biomédicaux.

Nous étudierons successivement :

- la structure de l'AH ;
- les mécanismes de sa synthèse et ses propriétés physiologiques ;
- les principales étapes de la cicatrisation ;
- les effets de l'AH sur la cicatrisation.

Structure de l'acide hyaluronique

L'AH [2] appartient à la famille des glycoaminoglycannes dont il représente une des formes les plus simples. Cette famille comprend un grand nombre de molécules qui font partie de la famille des polyosides et plus particulièrement des mucopolysaccharides acides. À ce groupe appartiennent l'héparine, l'héparine-sulfate, la chondroïtine sulfate et le dermatane sulfate. Ces molécules sont associées à une cupule protéique pour former des glycoprotéoglycannes acides [3].

Ce sont des hétéroglycannes renfermant des unités diholosidiques régulièrement alternées et constituées d'une hexoamine et d'un acide uronique.

L'AH correspond à la formule chimique du hyaluronate de sodium, aussi dénommé hyaluronane ou hyaluronate [4].

L'AH est le seul à ne pas être sulfaté ni associé à une protéine. C'est un polysaccharide linéaire et ramifié composé de l'association alternée de deux molécules de base : l'acide D-glucuronique et la N-acétyl glucosamine.

Ces deux molécules de base sont unies entre elles par une liaison β [1-3] glucuronide pour former un disaccharide.

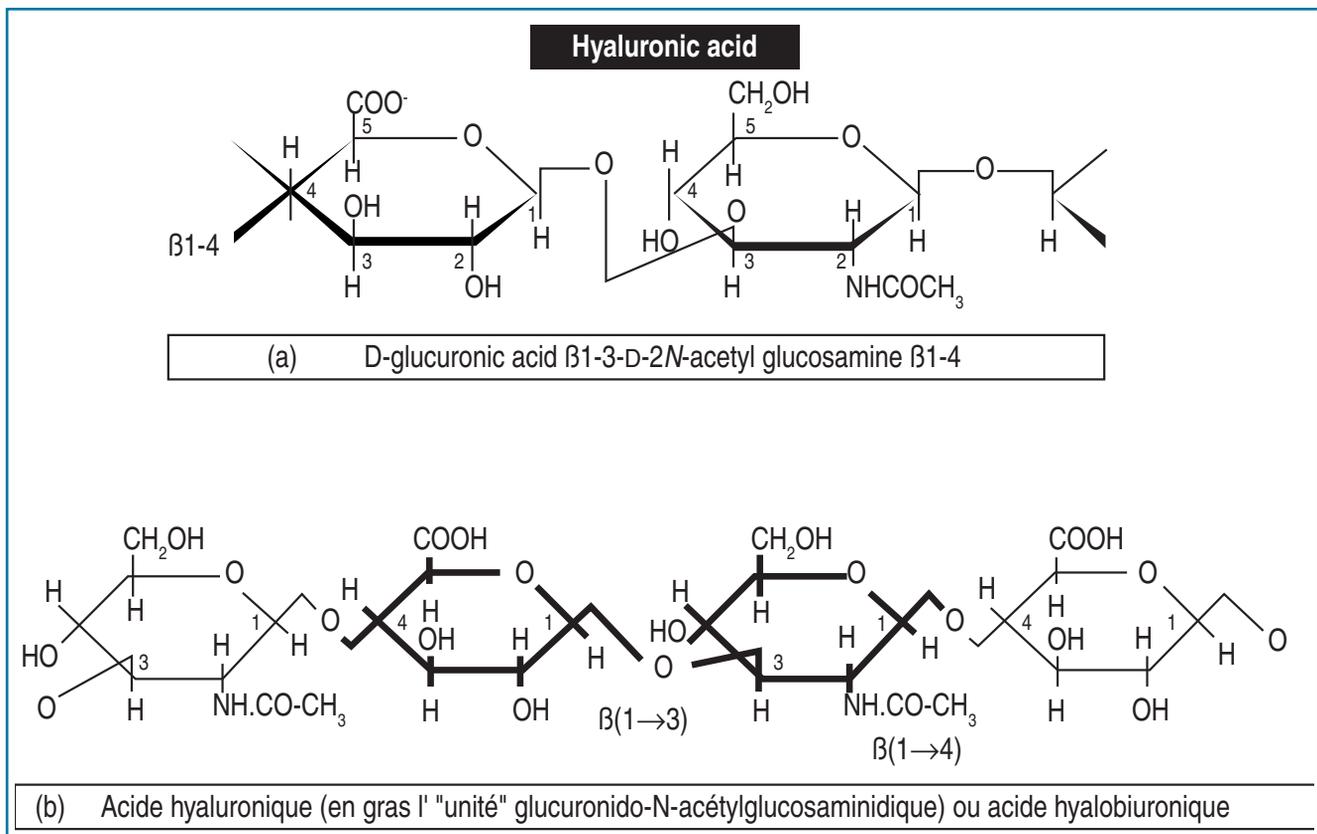


Figure 1. Acide hyaluronique : structure de base disaccharidique (a) et début de polymérisation (b) (d'après [5]).

Ces unités diholosidiques sont associées entre elles par une liaison β [1-4] glucosaminidique pour former l'AH (Fig. 1) [5] qui regroupe plus de 25 000 unités disaccharidiques.

Il peut atteindre une très grande taille : son poids moléculaire avoisine les 8 à 10 millions de daltons pour une longueur moléculaire de 2,5 à 6,5 μ m. Il existe aussi physiologiquement des fragments plus courts de 100 000 à 1 000 000 de daltons.

Il a d'abord été isolé dans l'humeur vitrée de l'œil avant d'être retrouvé dans de nombreux tissus (cordon ombilical, peau, cartilage, parois des vaisseaux...) et la plupart des liquides biologiques (sang, liquide synovial, pleural...). Sa concentration est variable : 4100 μ g/ml dans le cordon ombilical, 1400 à 3600 μ g/ml dans le liquide synovial, 140 à 340 μ g/ml dans l'humeur vitrée, 200 à 500 μ g/ml dans le derme, 100 μ g/ml dans l'épiderme, 0,2 à 50 μ g/ml dans la lymphe thoracique et 0,01 à 0,1 μ g/ml dans le sérum.

Dans le règne animal, les concentrations les plus fortes sont retrouvées dans la crête du coq (7500 μ g/ml) et dans le cartilage du museau du bœuf (1200 μ g/ml). Il se trouve aussi dans la paroi de certaines bactéries, comme les streptocoques mais est absent dans les champignons, de même que chez les plantes et les insectes.

L'AH est un composant essentiel de la matrice extracellulaire (MEC) des tissus conjonctifs [6], épithéliaux et neurologiques (Fig. 2) [5]. Il peut former une chaîne dont la longueur est très variable. Dans sa structure complète, l'AH possède un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. Il est capable de moduler les propriétés physico-chimiques du milieu où il se trouve [7]. Il peut ainsi libérer ou retenir des molécules : eau, ions, facteurs de croissance...

Métabolisme de l'acide hyaluronique

L'AH, contrairement aux autres glycoaminoglycannes, est synthétisé à la surface de la membrane plasmique par polymérisation grâce à des AH polymérasases ou synthétases (HAS) qui sont des protéines transmembranaires. Chez les mammifères, trois différentes iso-enzymes ont été conservées au cours de l'évolution. La synthèse commence dans le réticulum endoplasmique et se poursuit à la face interne de la membrane plasmique [8]. Les fragments de monosaccharides sont ajoutés progressivement à la chaîne d'acide hyaluronique à partir de l'extrémité N terminale :

- HAS-1 est la moins active mais elle fabrique l'AH de façon constitutive ;
- HAS-3 est la plus efficace ;
- HAS-2 est la plus impliquée au stade embryonnaire. Elle intervient en cas de stress important (hémorragie, plaie, brûlure...). Elle est fortement impliquée au cours de la cicatrisation ;
- HAS-1 et HAS-2 synthétisent l'AH à longue chaîne (200 000 à 2 000 000 daltons) qui est la molécule de base de la MEC ;
- HAS-3 produit des fragments plus courts (inférieurs à 100 000 daltons) qui interviennent surtout au niveau péri-cellulaire.

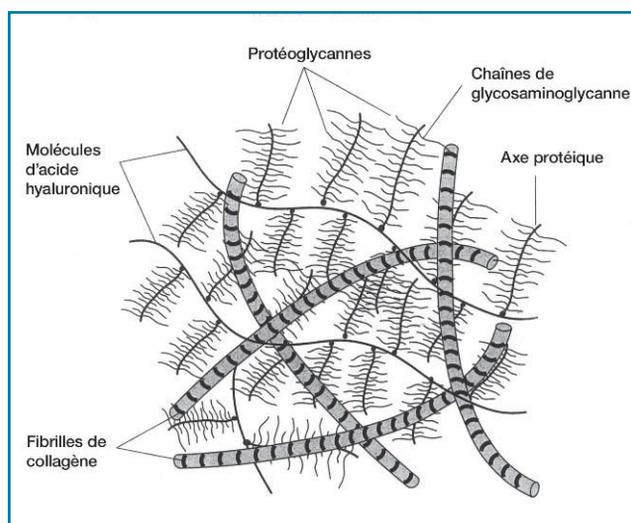


Figure 2. Organisation moléculaire de la MEC et rôle de la MEC (d'après [5]).

Ainsi se forment à la surface des cellules, de longues chaînes linéaires d'AH qui vont jouer un rôle essentiel dans le microenvironnement cellulaire auprès des kératinocytes, des fibroblastes et des cellules endothéliales.

Le *turnover* de l'AH est rapide (30 % sont dégradés chaque jour). Il existe six hyaluronidases différentes [9] qui clivent chacune de façon spécifique la longue chaîne d'AH. Il est dégradé tout d'abord par les hyaluronidases 1 et 2 qui scindent la molécule en gros fragments qui sont ensuite dépolymérisés en oligosaccharides [10]. Elles fonctionnent au sein de mini-organelles liées au récepteur CD44 (hyalosomes).

La demi-vie plasmatique de l'AH est comprise entre 2 et 5 minutes.

Les glucocorticoïdes induisent une inhibition de l'expression des ARN messagers d'HAS au sein des fibroblastes et des ostéoblastes, ce qui explique leurs effets atrophiants et déminéralisants.

Dans certaines conditions, physiologiques ou pathologiques, une isoforme particulière, appelée HYAL-1, aboutit à la formation de fragments très courts (moins de 20 monomères). Ils sont dénommés AH oligomères ou AH-o qui possèdent des propriétés physiologiques particulières.

Un adulte de 70 kg possède environ 15 g d'acide hyaluronique dont la plus grande partie se trouve dans la peau, essentiellement au niveau des espaces inter-cellulaires.

Propriétés physiologiques de l'acide hyaluronique

L'AH est un constituant essentiel de la matrice extracellulaire ; celle-ci longtemps considérée comme une spécificité du tissu conjonctif est ubiquitaire dans l'organisme y compris dans le système nerveux central.

L'AH joue un rôle important dans les interactions entre cellules et entre cellules et matrice extracellulaire. Il est aussi impliqué dans de nombreux processus embryologiques, physiologiques et pathologiques.

L'AH sert d'ossature aux agrégats de protéoglycannes. Ces agrégats peuvent atteindre 4 µm de long et 500 à 600 nm de diamètre. Leur charge négative élevée leur permet d'attirer et de retenir de grandes quantités d'eau. L'agrégat peut occuper un volume 30 à 50 fois supérieur à celui correspondant à son volume sec. Ces propriétés hygroscopiques sont essentielles au niveau de la peau où l'AH assure l'hydratation du derme et de l'épiderme.

L'AH joue un rôle structurel essentiel dans la plasticité des tissus au niveau des espaces extracellulaires.

Il peut aussi faciliter ou ralentir la migration cellulaire.

Il est impliqué dans la capacité des protéoglycannes à se lier aux facteurs de croissance et aux cytokines comme l'IL3, le GMCSF et le FGF.

L'AH sert par ailleurs de lien au réseau de fibres collagéniques : notamment autour du collagène I (dont les faisceaux sont diversement orientés sur toute la hauteur du derme) et du collagène IV (autour de la membrane basale), de même que du collagène VII (composant des fibrilles d'ancrage accrochant la jonction dermo-épidermique aux fibres de collagène au sein de la matrice extracellulaire).

L'AH, par son implication dans la composition des protéoglycoaminoglycannes, participe au rôle physiologique de la fibronectine, de la vitronectine et de la laminine.

Les cellules du tissu conjonctif sont les plus grandes productrices d'AH et de matrice extracellulaire : en dehors des fibroblastes, les chondrocytes, les ostéoblastes, les ostéocytes, les odontoblastes, les cellules musculaires, les cellules gliales du système nerveux sécrètent aussi une matrice extracellulaire.

L'AH participe aux propriétés visco-élastiques de la peau, comme au niveau des articulations, jouant un rôle d'amortisseur et de régulateur de la tension de la peau.

Du fait de sa large contribution à la MEC, l'AH joue un rôle important dans les propriétés visco-élastiques et rhéologiques de la peau et de nombreux tissus (os, articulations, œil...).

Toutes les activités de l'acide hyaluronique dépendent de sa taille et de sa masse molaire (Fig. 3) [11] :

- Lorsque la chaîne d'AH est longue, avec un poids moléculaire élevé, il est impliqué dans la structure du micro-environnement cellulaire, où il influence indirectement le comportement des cellules, et dans les propriétés mécaniques des tissus. Il maintient un environnement fortement hydraté et régule la balance osmotique. Il joue un rôle d'architecte au sein des espaces intercellulaires et de lubrifiant. Parallèlement, du fait des nombreux sites de liaison dont il dispose et des multiples sites anioniques, l'AH de grande taille peut séquestrer ou libérer des cytokines et des molécules de signalisation, jouant un rôle de réservoir. Il est aussi capable d'inhiber la prolifération des cellules endothéliales et de défaire les mono-couches de cellules endothéliales néoformées. Il peut enfin modifier le micro-environnement des cellules pour empêcher les interactions entre elles et avec leurs récepteurs de surface.

↳ Les chaînes complètes d'AH jouent un rôle structurel assurant le fonctionnement harmonieux au sein de la matrice extracellulaire.

- Lorsque l'AH est présent sous forme de courtes chaînes ou d'oligomères, il se lie de façon monovalente au récepteur CD-44, déclenchant la production d'une cascade de protéines de signal intracellulaire [12]. Cette cascade est à

l'origine de la libération de cytokines inflammatoires et de molécules d'adhésion réglant la mobilité cellulaire.

↳ Les oligomères d'AH ont une fonction métabolique active en intervenant dans le fonctionnement cellulaire des différentes couches de la peau.

Les principales étapes de la cicatrisation

La cicatrisation est un processus complexe qui vise à restaurer l'intégrité cutanée après une blessure, une plaie, une brûlure ou un geste chirurgical. C'est une réponse organisée qui implique plusieurs facteurs :

- des cellules épidermiques et dermiques : kératinocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, monocytes- macrophages, lymphocytes, mastocytes ;
- des molécules de la matrice extracellulaire : AH, glycoprotéoglycannes, fibronectine ;
- des médiateurs solubles : facteurs de croissance, interleukines, leptine, facteurs opioïdes, hormones, oxygène, NO2...

Sur le plan clinique, on observe plusieurs étapes qui se chevauchent : il y a tout d'abord un saignement qui induit une hémostase avec formation d'un caillot, puis une inflammation qui se traduit par une rougeur suivie de phénomènes de prolifération qui s'expriment par un épaissement de la plaie. Enfin, le remodelage traduit un blanchiment progressif de la cicatrice qui retrouve une couleur et une épaisseur normales.

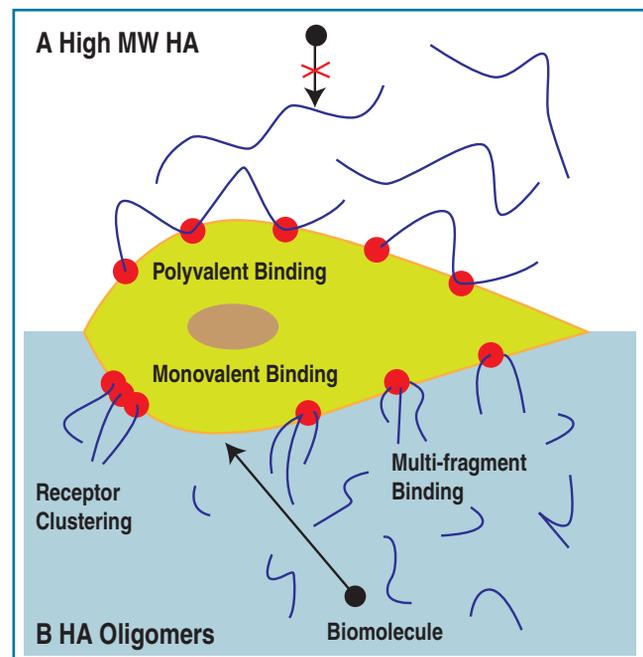


Figure 3. Les activités de l'AH dépendent de son poids moléculaire :
- l'AH de haut poids moléculaire (high MW HA) maintient l'architecture des tissus et crée un environnement péri-cellulaire limitant les interactions cellulaires.

- les oligomères d'AH (HA oligomers) agissent sur les récepteurs de surface (CD44) et déclenchent des signaux intra-cellulaires induisant la migration des cellules endothéliales ou la prolifération des fibroblastes (d'après [11]).

La réponse cicatricielle dépend de l'âge de l'individu : elle est complète sans cicatrice jusqu'au milieu du deuxième trimestre de la grossesse, elle se fait sans cicatrice mais sans restauration des annexes jusqu'à la fin de la grossesse. Chez le jeune et l'adulte, elle est rapide mais laisse souvent une cicatrice nette, alors que chez le sujet âgé elle est plus lente mais de meilleure qualité. Parallèlement, sur le plan biologique, la cicatrisation évolue en plusieurs phases successives [13] pour aboutir à une réparation aussi complète que possible. On distingue :

- la phase vasculaire et inflammatoire induite par la nécrose qui suit l'effraction. Elle dure environ 3 jours ;
- la phase proliférative qui aboutit à la formation du tissu de granulation. Elle se déroule en 15 jours ;
- la phase de maturation cicatricielle qui remodèle les tissus et élimine les cellules excédentaires. Elle se prolonge en environ 8 à 9 mois.

La phase vasculaire et inflammatoire

Les plaquettes se concentrent sur la brèche vasculaire (agrégation) en adhérant notamment au collagène. Elles relarguent (dégranulation) des médiateurs chimiotactiques (PDGF, IGF1, thromboxanes, sérotonine, prostaglandines, facteur de Willebrand...) et vaso-actifs (VEGF) qui augmentent la perméabilité des cellules endothéliales et le flux sanguin intra-lésionnel [14].

Les neutrophiles et les macrophages attirés par les facteurs chimiotactiques [15], notamment la chémokine CXCR2, vont venir adhérer à la toile formée par les molécules extracellulaires comme la fibronectine, la fibrine, la vitronectine... sur le site de souffrance cellulaire, pour donner naissance à un tissu de granulation. Les polynucléaires neutrophiles commencent la déterision du site grâce à leur activité anti-bactérienne qui dépend de la libération d'enzymes (hydrolase acide, élastase, lysozyme), de radicaux libres et de cytokines comme l'IL 6 [16]. Parallèlement, les macrophages poursuivent le nettoyage de la plaie en libérant d'autres enzymes (collagénases, cathepsineB, activateur du plasminogène) et entretiennent la cicatrisation en libérant des cytokines pro-inflammatoires (IL1, TNFB, Interféron) et des facteurs de croissance (VEGF, bFGF).

Le maintien de l'activité des monocytes-macrophages est contrôlé par des cytokines (TNF α , INF γ) et des extraits bactériens comme le LPS (lipopolysaccharide).

Le TGF β 1 agit de façon différente selon le stade de différenciation [17] des cellules qu'il régule : au début, il recrute les monocytes immatures sur le site de la cicatrisation (propriétés pro-inflammatoires) puis il inhibe leur activation quand ils sont devenus matures (propriétés anti-inflammatoires). Cette modulation, en fonction des stades de la cicatrisation, dépend de facteurs de croissance et de composants de la MEC comme l'AH.

La phase proliférative

Les macrophages vont progressivement orienter le processus vers la cicatrisation en limitant les phénomènes inflammatoires et en produisant des cytokines nécessaires à la fibrogenèse et à l'angiogenèse.

Les fibroblastes commencent alors à envahir le site de la plaie pour reconstruire la toile indispensable à la remise en place des différentes structures cutanées. La fibronectine et le collagène facilitent et guident la migration cellulaire. La matrice provisoire est riche en protéoglycannes (dermatane, chondroïtine et héparane sulfates) et en protéines matricielles (vitronectine, thrombospondine et tenascine).

La ré-épithélialisation des berges [18] peut alors débiter à partir de la migration des kératinocytes vers le fond de la plaie. Leur prolifération et leur stratification avec différenciation progressive aboutit à un néo-épithélium sous l'influence de l'urokinase plasminogène activateur. La stimulation de la migration et la prolifération des kératinocytes dépend de médiateurs épidermiques [19] et dermiques (KGF, EGF, TGF α), de métallo-protéinases (collagénases, stromélysines) et de molécules de la matrice extracellulaire (AH, fibronectine) [20].

Au fur et à mesure, les protéines de la membrane basale sont remises en place à partir des berges de la plaie. Les kératinocytes vont y adhérer solidement.

Toutes les migrations cellulaires au sein du site de la cicatrisation sont modulées par des intégrines (α 5, β 1, β 5 et α V) qui vont intervenir également au stade de maturation de la cicatrisation.

La phase de remodelage

C'est la plus tardive et la plus longue. Au niveau épidermique, l'hyperprolifération se normalise et l'expression de K6 et K16 disparaît. La modification d'expression des intégrines assure la maturation épidermique (switch α V β 5 - α V β 6).

Au niveau dermique, le collagène est remodelé et la vascularisation excessive est supprimée. La fibronectine, l'acide hyaluronique et le collagène de type III [21] sont progressivement remplacés par du collagène de type I et les différents glycosaminoglycannes (chondroïtines, héparanes, dermatanes sulfates). Les cellules en excès disparaissent par apoptose. Cependant, l'élastine ne réapparaît que tardivement, expliquant la rigidité initiale des cicatrices.

Parallèlement, les phénomènes inflammatoires diminuent [22] du fait de la production de cytokines anti-inflammatoires (IL10, IL4) par les mastocytes [23].

Les métalloprotéinases remodelent la matrice et exercent un effet antiangiogénique.

Le déroulement normal de la cicatrisation comprend une succession de changements d'équilibres entre facteurs de prolifération, facteurs d'adhésion et facteurs de régulation au niveau des fibroblastes et des cellules endothéliales [24].

Deux catégories de facteurs jouent un rôle essentiel au cours de ce processus complexe :

- TGF β 1 et métalloprotéinases présentent au cours des différentes phases des effets tantôt additifs tantôt antagonistes.
- TNF et IL1 assurent par leurs effets pléiotropiques un bon déroulement de l'ensemble des phénomènes.
- À toutes les étapes, la MEC assure la communication permanente entre les différentes cellules de l'épiderme et du derme [25].

Effets de l'acide hyaluronique sur la cicatrisation

En dehors de toute plaie et de tout processus de cicatrisation, les longues chaînes d'AH ont des propriétés anti-inflammatoires (aux concentrations physiologiques) et potentiellement anti-angiogéniques.

Tout va changer au moment des premières phases de la cicatrisation qui débute dès la fin de l'hémostase secondaire à la plaie ou au traumatisme.

L'AH est libéré de ses connexions au sein des glycoprotéoglycannes et se retrouve sous forme soluble dans la matrice extracellulaire.

La production de fragments d'AH grâce aux hyaluronidases sert de signal à la mise en route des différentes phases de la cicatrisation [26].

Les fragments d'AH (Fig. 4) [27] stimulent l'inflammation en modifiant la perméabilité vasculaire et le recrutement leucocytaire et l'angiogenèse en activant les cellules endothéliales.

Les cellules endothéliales tapissent la face interne des vaisseaux, régulant l'interface entre le sang et la paroi vasculaire. Elles contrôlent les échanges à travers la barrière

vasculaire, la diffusion passive comme le transport actif des substances à partir du sang. Elles régulent aussi la tonicité des muscles lisses de la paroi vasculaire et la coagulation sanguine. L'AH agit sur les cellules endothéliales tout au long des différentes phases de la cicatrisation.

Il existe de nombreux facteurs exogènes qui stimulent les défenses immunitaires : le LPS (lipopolysaccharide acide), le peptidoglycane, certains facteurs membranaires microbiens qui sont reconnus par des toll-like-receptors (TLR). L'AH joue un rôle facilitateur de liaison de ces facteurs avec les TLR 2 et 4 [28, 29]. Il est possible que les premiers signes d'agression cutanée soient reconnus et médiés par les glycoaminoglycannes insolubles de la matrice extracellulaire.

L'AH, au sein de la matrice extracellulaire, joue un rôle fondamental dans l'organisation du réseau vasculaire tout au long du processus cicatriciel : mise en place des cellules endothéliales [30], stabilisation des vaisseaux sanguins, prolifération, migration et survie cellulaires.

Effets sur les phénomènes inflammatoires

Les interactions CD44-AH sont essentielles aux liaisons des leucocytes avec les cellules endothéliales, à leur diapédèse et à leur extravasation au niveau du site de la cicatrisation.

Dès le début de l'inflammation, on note une augmentation de l'expression de facteurs de croissance (FGF 1 et 2, EGF...) et de cytokines (TNF α , IL8, Rantes, MIP- 1 α) qui favorisent la migration de cellules inflammatoires, de fibroblastes et de cellules endothéliales.

Au niveau du site inflammatoire [31], on note :

- une augmentation de l'expression des enzymes de synthèse de l'AH (HAS 1 et HAS 3) ;
- un accroissement de l'expression des récepteurs à l'AH : CD44 et RHAMM ;
- une dépolymérisation rapide de l'AH avec élévation du taux des oligomères (o-AH) ;
- une stimulation concomitante de l'expression des gènes de l'inflammation.

Plusieurs enzymes sont activées pour assurer cette dépolymérisation : les hyaluronidases 1 et 2, des chondroïtinases et des hexoaminidases. Des facteurs non enzymatiques complètent cette dépolymérisation, notamment les espèces réactives de l'oxygène et de l'hydrogène fortement présentes sur le site de l'agression cutanée [32].

Les effets des oligomères d'AH ont été étudiés au cours de l'embryogenèse (l'AH participe à la fixation utérine et la néovascularisation) et au cours de la cicatrisation. Les o-AH se lient aux récepteurs CD44 des macrophages et stimulent l'expression de gènes de l'inflammation, notamment le TNF α , l'IGF-1 (insulin like growth factor), l'IL8 et l'interleukine 1-B.

Il s'ensuit une augmentation de l'expression de l'ICAM-1 (intracellulaire adhesion molecule) et l'activation des cellules endothéliales.

Il y a aussi une stimulation directe, par les o-AH, des récepteurs CD44 [33] et RHAMM des cellules endothéliales avec induction de signaux de transduction intra-cellulaire aboutissant à la prolifération et la migration de celles-ci au site de la cicatrisation [34].

De plus, l'histamine et les cytokines libérées sur le site inflammatoire favorisent l'expression de ligands (intégrines,

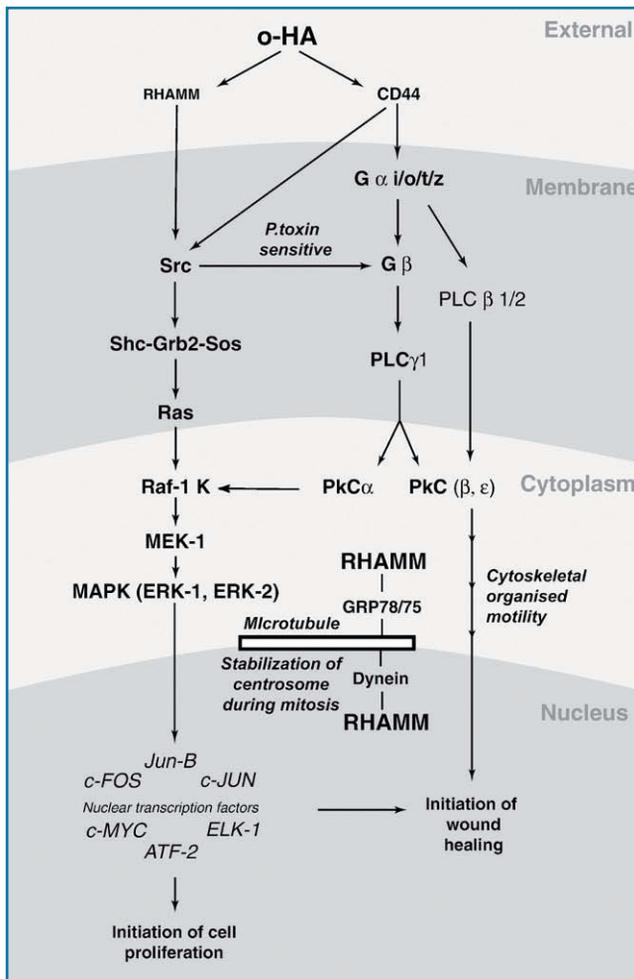


Figure 4. Effets des oligomères d'AH sur les récepteurs cellulaires CD44 et RHAMM induisant la prolifération et la mobilisation cellulaires nécessaires à la mise en route de la cicatrisation (d'après [27]).

E-sélectine, P-sélectine...) à la surface des cellules endothéliales, permettant le « rolling » des leucocytes sur le tapis endothélial puis leur diapédèse et leur recrutement sur le site inflammatoire.

Au niveau du site inflammatoire, l'AH s'organise en structures lamellaires fines (formant des « câbles ») qui émergent au ras des surfaces cellulaires [11]. La nature même de ces structures est mal connue : elles peuvent correspondre à la coalescence de petits fragments d'AH ou à leur association à des protéines issues de l'expression du gène 6 sous l'influence du TNF α . Elles jouent sans doute un rôle dans les interactions entre les différentes cellules et structures présentes sur le site de la cicatrisation.

Effets sur l'angiogenèse

La cicatrisation est intimement liée à l'angiogenèse au cours de ses différentes phases. Celle-ci débute par la libération par les cellules endothéliales de facteurs pro-angiogéniques. Cette libération apparaît en réponse soit à l'inflammation soit à l'hypoxie secondaires à une plaie, une agression ou une lésion sur la peau et se traduit par l'accumulation de facteurs inducteurs (HIF-1 a ou Inductible factor 1-a).

Comme au cours de la phase inflammatoire, l'AH joue un rôle crucial dans le processus angiogénique.

Plusieurs travaux ont révélé l'impact des oligomères d'AH [35] :

- ils sont capables d'induire la formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans la membrane chorio-allantoïdienne du poulet et dans le cœur de porc ;
- certains fragments d'une taille spécifique (3 à 10 disaccharides) stimulent la prolifération des cellules endothéliales, leur migration, la synthèse de collagène et la mise en place de bourgeons vasculaires sur des modèles de peau de rat, d'infarctus du myocarde ou de peau greffée.

L'interaction des oligomères d'AH avec les récepteurs RHAMM [27] induit des modifications du cytosquelette des cellules endothéliales pour favoriser leur migration cellulaire (Fig. 5) [3].

Tous ces facteurs angiogéniques [36] diffusent autour du tissu lésé et se lient aux récepteurs localisés sur les cellules endothéliales des veinules post-capillaires ou terminales non lésées et quiescentes. Elles sont alors activées et débutent la synthèse et la libération de protéases.

Celles-ci détruisent la matrice extracellulaire en dénaturant les protéoglycannes ainsi que les fibres de collagène et d'élastine, créant des orifices dans la membrane basale pour permettre aux cellules de migrer sur le site de la cicatrisation [37]. D'autre part, les métalloprotéinases (MMPs) désagrègent les tissus en avant des cellules endothéliales migrantes qui se déplacent de quelques mm par jour.

Après stimulation du récepteur CD44 par les oligomères d'AH, on observe une augmentation de la production de métalloprotéinases : mmP 2 et mmP 9 qui favorisent le processus d'invasion cellulaire à travers la matrice extracellulaire pour favoriser la croissance et l'invasion vasculaire [38]. En plus des métalloprotéinases, le TGF α endogène complète la réponse angiogénique. Des études récentes ont montré que chez l'adulte, des cellules endothéliales progénitrices (EPC s)

fabriquées dans la moelle osseuse [39] sont, dans certaines circonstances au cours de la cicatrisation, libérées dans la circulation sanguine, attirées dans les zones d'ischémie et intégrées au sein des zones de néo-vascularisation. Des facteurs hématopoïétiques comme le VEGF (vascular endothelial factor), le G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) et le SDF-1 (stroma derived factor) modulent les déplacements de ces cellules endothéliales grâce à des interactions avec les laminines 8 et 10, les intégrines β 1 et α V et les molécules de la MEC (AH, syndecane).

Au cours de l'embryogenèse, on observe des phénomènes identiques : la néovascularisation est initiée par le recrutement de cellules souches extra-embryonnaires appelées angioblastes qui se regroupent pour former des îlots. Au sein de ceux-ci, les cellules périphériques vont se différencier en cellules endothéliales alors que les cellules centrales deviennent les précurseurs des cellules sanguines [40]. C'est ce que l'on appelle la vasculogenèse.

Impact de l'acide hyaluronique sur la phase proliférative

L'AH est en concentration plus élevée au niveau des couches basales de l'épiderme où les cellules capables de rentrer en mitose expriment fortement le récepteur CD44.

Au cours des phases de ré-épithélialisation, on note un accroissement de la synthèse de l'AH et de son récepteur, notamment au niveau des kératinocytes situés sur les marges de la plaie.

L'inhibition de l'expression du récepteur CD44 (en utilisant un anti-sens sur un modèle animal) altère la morphologie des kératinocytes basaux et leur capacité

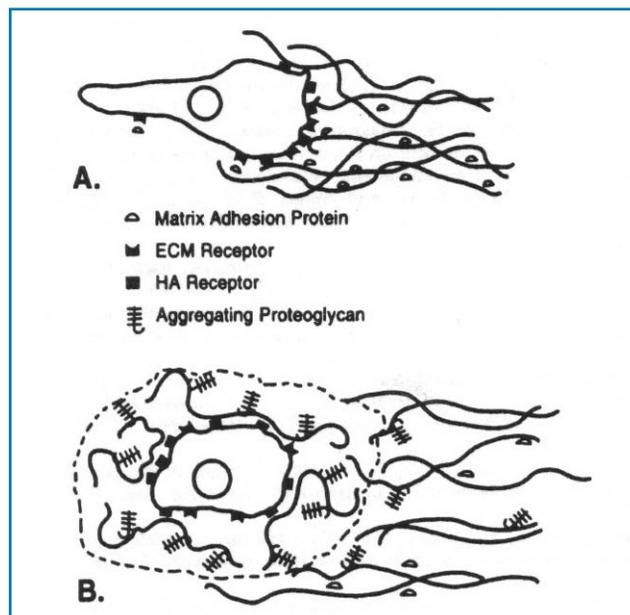


Figure 5. Migration cellulaire en fonction de l'environnement créé par la MEC (d'après [3]).

A- L'AH crée un milieu hydraté facilitant le déplacement de la cellule grâce aux récepteurs de surface.

B- Une fois sur le site de la cicatrisation, la cellule se lie à une nouvelle matrice riche en AH et en protéoglycannes.

proliférative après incubation en présence de facteurs mitogènes ou de facteurs de croissance.

Au niveau du derme, l'AH favorise les mouvements des fibroblastes et leur migration au sein de la matrice extracellulaire en construction, puis leur prolifération.

Ce sont les fragments d'AH qui stimulent la prolifération des cellules endothéliales et favorisent l'angiogenèse. Ceci se fait en coopération avec d'autres facteurs, notamment des facteurs de croissance et a été démontré sur cultures *in vitro* et sur des modèles de peau de rat, de tissu synovial et de rétine [41].

La revascularisation qui caractérise la cicatrisation fait appel à la fois à des phénomènes d'angiogenèse et de vasculogenèse. Ces données ont été confirmées chez des patients atteints de brûlures ou d'infarctus myocardique et dans l'endomètre au cours du cycle menstruel.

Effets sur la phase de détersion et de remodelage

À chaque étape, les facteurs de stimulation sont en équilibre avec d'autres molécules inhibitrices induisant des phénomènes d'apoptose qui altèrent la production de la matrice extracellulaire ou la dégradent [42].

Les phases tardives de la cicatrisation impliquent la disparition des oligomères d'AH et la synthèse de nouveaux polymères à longue chaîne.

L'AH de haut poids moléculaire (n-AH), après liaison aux récepteurs CD44, interrompt la cascade des molécules de signalisation impliquées dans la prolifération cellulaire et arrête le cycle cellulaire.

Cet n-AH a des propriétés anti-angiogéniques et sur un modèle de gel de collagène tridimensionnel, il est capable d'inhiber la prolifération et la migration des cellules endothéliales ainsi que la formation de capillaires [43]. D'autre part, les cellules endothéliales incubées en présence de n-AH restent quiescentes sans activation des signaux de transduction de la protéine kinase C (PKC), ni de la mitogen activated proteine (MAP), kinase qui interviennent en cas de mitogenèse. Le néo-tissu est remodelé lorsque les cellules endothéliales l'ont traversé. Elles s'alignent alors pour former la lumière de néo-capillaires qui s'abouchent bord à bord pour former des anses capillaires où s'installe la circulation sanguine [44].

Parallèlement, les cellules endothéliales arrêtent de proliférer, synthétisent une nouvelle membrane basale et établissent de nouvelles liaisons cellules-cellules et cellules-matrice pour stabiliser les néo-capillaires en complément de la mise en place de cellules musculaires lisses et de péricytes.

Dans les tubes endothéliaux néo-formés, la circulation sanguine est rétablie permettant la finalisation du remodelage et de la cicatrisation.

La diffusion des nutriments et des gaz nécessaires à la survie cellulaire est limitée à une hauteur de 150 à 250 μ à partir de la lumière d'un capillaire, soit une épaisseur de 3 à 10 assises cellulaires. Le remodelage tissulaire doit donc assurer une mise en place harmonieuse pour soutenir la viabilité des nouvelles cellules mises en place.

Les fragments d'AH interviennent dans la formation de

la cicatrice :

- chez le fœtus, la cicatrisation est complète avec restitution *ad integrum* [45]. L'AH contenu dans le liquide interstitiel est de haut poids moléculaire [46] ;
- l'addition de hyaluronidases au site cicatriciel augmente le tissu cicatriciel ;
- l'expression de CD44 est augmentée dans les cultures de fibroblastes prélevés au niveau de cicatrices hypertrophiques en comparaison des cultures obtenues à partir de fibroblastes normaux [47] ;
- les interactions RHAMM-AH sont élevées dans l'hyperplasie fibroblastique qui caractérise la cicatrisation après la naissance [48].
- le n-AH favorise la quiescence cellulaire.

Il semble que la production de fragments d'AH soit nécessaire au déclenchement de la réponse inflammatoire mais que la résorption secondaire de ces fragments soit essentielle à la finalisation du processus cicatriciel [49].

Applications pratiques

L'AH est une molécule ubiquitaire mais 50% de la concentration de l'organisme est localisé dans la peau où il joue plusieurs rôles clés au niveau structurel et au niveau métabolique.

Ses différentes fonctions dépendent de sa masse molaire :

- l'AH joue un rôle structurel essentiel au sein des matrices extracellulaires de tous les tissus (dans sa forme complète). Il régule l'hydratation des tissus et leur plasticité. Il protège les cellules des agressions enzymatiques, de la propagation virale ou bactérienne. Il joue un rôle antiradicalaire et anti-oxydant et protège les cellules des effets délétères des UV.
- après hydrolyse, ses différents fragments (oligomères) interviennent comme des agents régulateurs au cours des processus inflammatoires et de l'angiogenèse et de la réparation tissulaire.

L'AH apparaît comme une molécule pivot des grands mécanismes physiologiques comme l'embryogenèse, la cicatrisation [50] et la morphogenèse. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde ou le psoriasis... Il jouerait un rôle dans la cancérogenèse et la diffusion métastatique.

De nombreuses applications thérapeutiques ont été développées : pansements facilitant la cicatrisation, patchs transdermiques capables de libérer de façon programmée des médicaments ou des facteurs de croissance...

Les domaines d'intérêt actuels sont multiples :

- compréhension du rôle des différents fragments d'AH au cours des différentes phases de la cicatrisation ;
- production de hyaluronidases spécifiques donnant naissance à des fragments d'AH capables de générer une néovascularisation tissulaire [51] ;
- mise au point de biomatériaux à base de macromolécules d'AH servant à la libération programmée de facteurs de croissance ou de cytokines induisant la prolifération cellulaire [52] ;
- maîtrise des événements spatio-temporaux permettant la mise en place d'une néo-vascularisation propre à chaque type de tissu et du rôle des différents facteurs diffusibles émanant de la matrice extracellulaire [53].

Il est possible que l'AH soit au cœur des stratégies de

prise en charge de la cicatrisation, en modulant par exemple l'expression du TGF β dans le derme [54] afin d'aboutir à une réparation intégrale sans cicatrice comme dans la peau foetale [55].

Conflits d'intérêts

Aucun.

Références

- [1] Toole BP. Hyaluronan: from extra-cellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer* 2004;4:528-39.
- [2] Kogan G, Soltes L, Stern R, Gemeiner P. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol Lett* 2007;29:17-25.
- [3] Knudson C B, Knudson W. Hyaluronan-binding proteins in development, tissue, homeostasis, and disease. *FASEB J* 1993;7:1233-41.
- [4] Day A J, Prestwich G D. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. *J Biol Chem* 2008;277:4585- 8.
- [5] Rook's Textbook of Dermatology. Ground substance. Vol1. Pages 3.39 to 3.48.
- [6] Frazer J RE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turn over. *J Intern Med* 1997;242:27- 33.
- [7] Lukhashev ME, Werb Z. ECM signalling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour. *Trends Cell Biol* 1998;8:437- 41.
- [8] Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltés L. Role, metabolism, chemical modifications and application of hyaluronan. *Curr Med Chem* 2009;16:1718-45.
- [9] Csoka AB, Frost GI, Stern R. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biol* 2001;20:499-508.
- [10] Noble PW. Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair. *Matrix Biol* 2002;21:25-9.
- [11] Pardue EL, Ibrahim S, Ramamurthi A. Role of hyaluronan in angiogenesis and its utility to angiogenic tissue engineering. *Organogenesis* 2008;4:203-14.
- [12] Matou-Nasri S, Gaffney J, Kumar S, Slevin M. Oligosaccharides of hyaluronan induce angiogenesis through distinct CD44 and RHAMM-mediated signalling pathways involving Cdc2 and gamma-adducin. *Int J Oncol* 2009;35:761-73.
- [13] Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
- [14] O'Kane S, Fergusson MW. Transforming growth factor- β and wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:63-78.
- [15] Devalaraja RM, Nanney LB, Quian Q. Delayed wound healing in CXCR2 knockout mice. *J Invest Dermatol* 2000;115:234-44.
- [16] Lin ZQ, Kondo T, Ishida Y. Essential involvement of IL-6 in the skin wound healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6 deficient mice. *J Leukoc Biol* 2003;73:713-21.
- [17] Crowe MJ, Doetschman T, Greenhalgh DG. Delayed wound healing in immunodeficient TGF- β 1 knockout mice. *J Invest Dermatol* 2000;115:3-11.
- [18] Jimenez PA, Rampy MA. Keratinocyte growth factor-2 accelerates wound healing in incisional wounds. *J Surg Res* 1999;81:238-42.
- [19] Coulombe PA. Wound epithelialization accelerating pace of discovery. *J Invest Dermatol* 2003;121:219-30.
- [20] Clark RAF, Aschcroft GS, Spencer MJ. Fibronectin matrix deposition and fibronectin receptor expression in healing and normal skin. *J Invest Dermatol* 1990;94:128-34.
- [21] Grieling D, Clark RAF. Fibronectin provides a conduit for fibroblast transmigration from collagenous stroma into fibrin clot provisional matrix. *J Cell Sci* 1997;110:861-70.
- [22] Morroguchi A, Ishimura K, Okano K, Wakabayashi H, Maeba T, Maeta H. Interleukin-10 suppresses proliferation and remodeling of extracellular matrix of cultured human skin fibroblasts. *Eur Surg Res* 2004;36:39-4.
- [23] Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
- [24] Slevin M, Kumar S, Gaffney J. Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce multiple signaling pathways affecting vascular endothelial cell mitogenic and wound healing responses. *J Biol Chem* 2002;277:41046-59.
- [25] Satish L, Yager D, Wells A. Glu-Leu-Arg-negative CXC chemokine interferon γ inducible protein-9 as a mediator of epidermal-dermal communication during wound repair. *J Invest Dermatol* 2003;120:1110-7.
- [26] Karvinen S, Pasonen-Seppanen S, Hyttinen JM. Keratinocyte growth factor stimulates migration and hyaluronan synthesis in the epidermis by activation of keratinocyte hyaluronan synthases 2 and 3. *J Biol Chem* 2003;278:49495-504.
- [27] Slevin M, Krupinski J, Gaffney J, Matou S, West D, Delisser H, et al. Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease: uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. *Matrix Biol* 2007;26:58-68.
- [28] Gariboldi S, Palazzo M, Zanobbio L, Selleri S, Sommariva M, Sfondrini L, et al. Low molecular weight hyaluronic acid increases the self-defense of skin epithelium by induction of B defensin 2 via TLR 2 and TLR 4. *J Immunol* 2008;181:2103-110.
- [29] Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA, Termeer CC, Simon JC, Gallo RL. Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR 4. *J Biol Chem* 2004;279:17079- 84.
- [30] Genasetti A, Vignetti D, Viola M, Karousou E, Moretto P, Rizzi M, et al. Hyaluronan and human endothelial cell behavior. *Connect Tissue Res* 2008;49:120-3.
- [31] Penneys NS. CD44 expression in normal and inflamed skin. *J Cutan Pathol* 1993;20:250-3.
- [32] Yamazaki K, Fukuda K, Matsukawa M, Hara F, Yoshida K, Akagi M, et al. Reactive oxygen species depolymerize hyaluronan : involvement of the hydroxyl radical. *Pathophysiology* 2003;9:215-20.
- [33] Cao G, Savani RC, Fehrenbach M, Lyons C, Zhang L, Coukos G, et al. Involvement of endothelial CD44 during in vivo angiogenesis. *Am J Pathol* 2006;169:325-36.
- [34] Savani RC, Khalil N, Turley EA. Hyaluronan receptor antagonists alter skin inflammation and fibrosis following injury. *Proc West Pharmacol Soc* 1995;38:131-6.
- [35] Szczepanek K, Kieda C, Cichy J. Differential binding of hyaluronan on the surface of tissue-specific endothelial cell lines. *Acta Biochim Pol* 2008;55:35-42.
- [36] Gao F, Yang CX, Mo W, Liu YW, He YQ. Hyaluronan oligosaccharides are potential stimulators to angiogenesis via RHAMM mediated signal pathway in wound healing. *Clin Invest Med* 2008;31:106-16.
- [37] Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech* 2003;60:107-14.
- [38] Fieber C, Baumann P, Vallon R, Termeer C, Simon JC, Hofmann M, et al. Hyaluronan oligosaccharide-induced transcription of metalloproteinases. *J Cell Sci* 2004;117:359-67.
- [39] Masuda H, Asahara T. Post-natal endothelial progenitor cells

- for neovascularization in tissue regeneration. *Cardiovasc Res* 2003;58:390-8.
- [40] Tepper OM, Capla JM, Galiano RD, Ceradini DJ, Callaghan MJ, Kleinman ME, Gurtner GC. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment, proliferation, and tubulization of circulating bone marrow-derived cells. *Blood* 2005;105:1068-77.
- [41] Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:1031-7.
- [42] Molapatra S, Yang X, Wright JA, Turley EA, Greenberg AH. Soluble hyaluronan receptor RHAMM induces mitotic arrest by suppressing Cdc2 and cyclin B1 expression. *J Exp Med* 1996;183:1663-8.
- [43] Ghosh K, Pan Z, Guan E, Ge S, Liu Y, Nakamura T, et al. Cell adaptation to a physiologically relevant ECM mimic with different viscoelastic properties. *Biomaterials* 2007;28:671-9.
- [44] Lokeshwar VB, Selzer mg. Differences in hyaluronic acid-mediated functions and signaling between arterial, microvessel, and vein derived human endothelial cells. *J Biol Chem* 2000;275:27641-9.
- [45] Hantash BM, Zhao L, Knowles JA, Lorenz HP. Adult and fetal wound healing. *Front Biosci* 2008;13:51-61.
- [46] Coolen NA, Schouten KC, Middelkoop E, Ulrich MM. Comparison between human fetal and adult skin. *Arch Dermatol Res* 2010;302:47-55.
- [47] Lovvorn HN, Cass DL, Sylvester kg, Yang EY, Crombleholme TM, Adzick NS, Savani RC. Hyaluronan receptor expression increases in fetal excisional skin wounds and correlates with fibroplasia. *J Pediat. Surg* 1998;33:1062-70.
- [48] Messadi DV, Bertolami CN. CD44 and hyaluronan expression in human cutaneous scar fibroblasts. *Am J Pathol* 1993;142:1041-9.
- [49] Weindl G, Schaller M, Schafer-Korting M, Korting HC. Hyauronic acid in treatment and prevention of skin diseases: molecular, biological, pharmaceutical and clinical aspects. *Skin Pharmacol Physiol* 2004;17:207-13.
- [50] Mast BA, Diegelmann RF, Kummel TM, Cohen IK. Hyaluronic acid modulates proliferation, collagen and protein synthesis of cultured fetal fibroblasts. *Matrix* 1993;13:441-6.
- [51] Borselli C, Oliviero O, Battista S, Ambrosio L, Netti PA. Induction of directionnel sprouting angiogenesis by matrix gradients. *J Biomed Mater Res* 2007;80:297-305.
- [52] Laschke MW, Harder Y, Amon M, Martin I, Farhadi J, Ring A, et al. Angiogenesis in tissue engineering : breathing life into constructed tissue substitutes. *Tissue Eng* 2006;12:2093-104.
- [53] Lai PH, Chang Y, Chen SC, Wang CC, Liang HC, Chang WC, et al. Acellular biological tissues containing inherent glycoaminoglycans for loading basic fibroblasts growth factor promote angiogenesis and tissue regeneration. *Tissue Eng* 2006;12:2499-508.
- [54] Martinez-Ferrer M, Afshar-Sherif AR, Uwamariya C, De Combrughe B, Davidson JM, Bhowmick NA. Dermal transforming growth factor- β responsiveness mediates wound contraction and epithelial closure. *Am J Pathol* 2010;176:98-107.
- [55] Mackool RJ, Gittes GK, Longaker MT. Scarless healing. The fetal wound. *Clin Plastic Surg* 1998;25:357-65.