الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supèrieur et de la Recherche Scientifique

جـــامعـــة محمد الصديق بن يحـيـــــى جيجـل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

كليـة عـــلوم الطـبيعـة و الحـــياة
قســـم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Master

En vue de l'obtention du Diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

L'effet des flavonoïdes sur le remodelage de matrice extracellulaire au cours de processus de cicatrisation cutanée

Membres deJury :
Présidente : Mme LEBSIR Dalila
Examinatrice : Mme HIRECHE Saliha
Encadreur : Dr BENGUEDOUAR Lamia

Présenté par:
FENINECHE Khedidja
MERAZKA Fatiha
ROUIMEL Mouna

Année Universitaire 2019-2020

Numéro d'ordre (bibliographique)…...

Remerciement

Nous avons à remercier en premier lieu ***Dieu*** *le tout puissant de m'avoir guidé durant toutes ces années et m'a permis de réaliser ce travail en me donnant la force, la patience et la volonté.*

Nos vifs remerciements sont dédiés aux membres du jury :

A ***Dr Benguedouar Lamia*** *qui a accepté de diriger notre travail. On a apprécié les échanges que nous avons eus lors de la rédaction de ce mémoire. Grâce à elle qu'on a progressé et acquis la rigueur nécessaire pour appréhender ce projet. On l'a remercié pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*

A ***Mme Lebsir Dalila*** *merci de nous faire l'honneur de présider ce jury de mémoire.*

A ***Mme Hireche Saliha*** *merci d'avoir accepté d'examiner notre travail. Merci également pour la qualité de vos enseignements et votre accessibilité tout au long de ces années d'études. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.*

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et de la vie.

A toute la promotion de master « Sciences Pharmacologiques», année 2019-2020.

Enfin nous nous remercions gracieusement toute personne qui a contribuée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

En guise de reconnaissance Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents. Qu'ils trouvent ici l'expression

de ma profonde gratitude

Pour leur soutien tout au long de mon parcours.

A mes frères et sœurs bien aimés A toute ma famille.

A tous mes amis.

A toutes les mains qui m'ont été tendues…

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction…… 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Structure et histologie de la peau

I.1. Les constituants de la peau …… 2

I.1.1. Épiderme …….. 2

I.1.1.1. Kératinocytes ……. 3

I.1.1.2. Mélanocytes …….. 3

I.1.1.3. Cellules de Langerhans …….. 4

I.1.1.4. Cellules de Merkel …… 4

I.1.1.5. Organisation des couches épidermiques ……. 4

I.1.2. Le Derme …….. 5

I.1.2.1. Population cellulaire du derme …….. 5

I.1.2.1.1. Fibroblastes …… 5

I.1.2.1.2. Myofibroblastes …….. 5

I.1.2.1.3. Cellules migratrices …… 5

I.1.2.2. La matrice extracellulaire …….. 6

I.1.3. L'hypoderme ……. 6

I.1.4. Les annexes cutanées……. 6

I.2. Les fonctions de la peau……. 7

I.3. Matrice extracellulaire …… 7

I.3.1. Les composants de la matrice extracellulaire…… ……. 8

I.3.1.1. Les fibres de collagène ……..... 8

I.3.1.2. Élastine …… 8

I.3.1.3. Protéoglycanes ……. 8

I.3.1.4. Les glycoprotéines…… 9

I.3.2. Le rôle de la matrice extracellulaire dans la cicatrisation …… 9

I.3.3. Déstabilisation de la matrice extracellulaire …… 10

Chapitre II : la cicatrisation des plaies cutanées

II .1. Définition des plaies cutanées …….. 12

II.2. Physiopathologie de la cicatrisation des plaies ……. 12

II.2.1. Les facteurs influençant la cicatrisation …… 12

II .2.2. Mode de la cicatrisation des plaies …….. 13

II .2.2.1. La cicatrisation par première intention …… 13

II.2.2.2. Guérison par intention secondaire …….. 13

II.2.2.3. Guérison par intention tertiaire …….. 13

II.2.3. Description des processus de la cicatrisation normal ……. 13

II .2.3.1. L'hémostase…… 14

II.2.3.2. L'inflammation …….. 14

II.2.3.3. La prolifération ……. 15

II.2.3.3.1. La granulation ……. 15

II.2.3.3.2. Contraction …….. 15

II.2.3.3.3. La réépithélialisation …… 16

II.2.3.4. Processus de maturation (remodelage) …….. 16

II.2.3.4.1. Remodelage du tissu conjonctif cicatriciel…. …….. 16

II.2.3.4.2. Maturation de l'épiderme …… 17

II.2.3.4.3. Restauration de la vascularisation et de l'innervation ……. 17

II.2.4. Intervention des MMPs dans la cicatrisation…… 17

II.2.5. Altérations pathologiques du phénomène de cicatrisation ……. 18

II.2.5.1. Cicatrisation excessive ……. 18

II.2.5.2. La cicatrisation rétractile …… 19

II.2.5.3. Retards à la cicatrisation …… 19

II.2.6. Thérapeutique de la cicatrisation …….. 19

II.2.6.1. Traitement classique …….. 19

II.2.6.2. Traitement et innovation ……. 19

II.2.6.3. Plantes médicinales cicatrisantes …… 19

II.2.6.4. Les pommade et les crèmes dermatologiques cicatrisantes …….. 20

II.2.6.5. Traitement par des composés naturels (flavonoïdes)…….. 21

Chapitre III : Les flavonoïdes

III.1. Structure chimique et classification…… 22

III .1.1. Définition …… 22

III.1.2. La biosynthèse…… 23
III.1.3. Classification des flavonoïdes…….. 24
III.1.3.1. Flavones et flavonols…….. 25
III.2.3.2. Flavanones et hydroflavonols…….. 25
III.1.3.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols…… 26
III.1.3.4. Les chalcones et les aurones……..... 26
III.1.4. Les sources de certains flavonoïdes …….. 27
III.1.5. Activité biologique des flavonoïdes…….. 28
III.1.5.1. Activité anti-inflammatoire …… 28
III.1.5.2. Activité antiplaquettaire…… …… 29
III.1.5.3. Propriétés antiallergiques …….. 29
III.1.5.4. Propriétés antibactériennes et antivirales……. 29
III.1.5.5. Activité anticancéreuse…….. 29

Chapitre IV : exploration de l'effet des flavonoïdes sur le remodelage de la MEC et la migration cellulaire

IV. Données bibliographiques sur l'effet cicatrisant des flavonoïdes 30
IV.1. Exploration *in vitro* de la cicatrisation cutanée par les flavonoïdes …….. 31
IV.1.1. Mise en évidence de la migration cellulaire par le Scratch test …… 32
IV.1.2. Mise en évidence de l'invasion par la Chambre de Boyden modifiée……. 33
IV.2. Exploration *in vivo* de la cicatrisation cutanée par les flavonoïdes…….. 36
IV.2.1. Mise en évidence de la fermeture des plaies et le remodelage tissulaire par excision *in vivo*…… 36
IV.3. Tests moléculaires d'exploration de l'effet de la glycitine sur la cicatrisation cutanée……. 39
IV.3.1. Expression de MMP par la technique du Western blot …….. 40
IV.3.2. Expression génique des marqueurs du remodelage tissulaire par RT-PCR…. 41
IV.3.3. Mesure de l'Activité enzymatique des MMPs par Zymographie gélatinolytique…… 42
IV.5. Discussion 44
Conclusion…… 47
Références…… 48
Résumé

La liste des abréviations

ARTO	Artocarpine
CHI	CHalcone Isomérase
CHS	CHalcone Synthase
DFR	DihydroFlavonol Réductase
F3′5′H	Flavonoïde 3 ′, 5'-Hydroxylase
F3′H	Flavonoïde 3′-Hydroxylase
F3H	Flavanone 3-Hydroxylase
Fb	Fibroblaste
G	Glycitine
H/E	Hématoxyline / Eosine
HaCaT	lignée cellulaire de kératinocytes humains
LC	Cellules de Langerhans
LDOX	LeucoanthocyaniDin OXydase
LPN	Leucocytes PolyNucléaires
M/T	Trichrome de Masson
MEC	Matrice ExtraCellulaire
MMP	MétalloProtéinase Matricielles
MT	MéthylTransférase
NHDF	Normal Human Dermal Fibroblasts
NHEK	Normal Human Epidermal Keratinocytes
T	TMF
TMF	4 ', 6,7-TriMethoxyisoFlavone
UFGT	UDP-glucose Flavonoïde 3- O- Glucosyl Transférase

La liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1 :	Anatomie de la peau humaine …….	**2**
Figure 2 :	Cellules de l'épiderme …….	**3**
Figure 3 :	Représentation schématique d'une coupe transversale de l'épiderme …..	**4**
Figure 4 :	Follicule pileux et glandes annexes …….	**6**
Figure 5 :	Principaux composants de la matrice extracellulaire et leurs interactions les uns avec les autres et avec la membrane cellulaire ……..	**8**
Figure 6 :	Phases de cicatrisation cutanée représentant les cellules et molécules responsables de la reconstitution d'une barrière saine …….	**14**
Figure 7 :	Squelette de base des flavonoïdes…….	**22**
Figure 8 :	Schéma de la voie de biosynthèse des flavonoïdes …….	**24**
Figure 9 :	Structure chimique de base des différentes classes de flavonoïdes…….	**25**
Figure 10:	La structure chimique et numérotation de l'échafaudage chalcones……..	**26**
Figure 11:	La structure chimique et numérotation de l'échafaudage aurone …….	**27**
Figure 12 :	Essai de cicatrisation des plaies par scratch test avec des fibroblastes dermiques traitées pendent 24h à différentes concentrations de Glycitine-TMF et milieux conditionnants des kératinocytes HaCaT. …	**33**
Figure 13 :	Test d'invasion Transwall…….....	**35**
Figure 14:	Fermeture de la plaie dans le modèle de plaie excisionnelle après 2 semaines. «Contrôle» indique le butylène glycol…….	**37**
Figure 15 :	a : Microphotographies des coupes de la peau des blessures sous les différents traitements. coloration avec de l'hématoxyline/éosine (H/E) et du trichrome de Masson (M/T), b : la teneur en collagène ont été mesurées 14 jours après la blessure en utilisant le programme Image J...	**38**
Figure 16 :	Des cellules de fibroblastes dermiques humains ont été incubées dans des plaques de 100 mm avec un milieu sans sérum contenant de la glycitine pendant 24 h……	**43**

La liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1 :	Les principales MMPs impliquées dans le processus de cicatrisation des plaies…….	11
Tableau 2 :	Les facteurs influençant la cicatrisation…….	12
Tableau 3 :	Rôle des MMPs dans la cicatrisation …….	18
Tableau 4 :	Quelques plantes médicinales cicatrisantes……	20
Tableau 5 :	Classification, structure et sources alimentaires de certains flavonoïdes alimentaires……..	27
Tableau 6 :	Les classes de flavonoïdes, composés courants et leurs sources végétales……	28
Tableau7 :	Effet de quelques flavonoïdes sur le remodelage de la matrice extracellulaire au cour de processus de cicatrisation cutané ……	31
Tableau 8 :	Méthodes de profilage pour les MMPs ……..	40

Introduction

Introduction

La cicatrisation cutanée est un processus dynamique complexe et bien orchestré qui consiste en un chevauchement de phénomènes biochimiques et physiologiques, notamment l'hémostase, l'inflammation, la prolifération et le remodelage tissulaire. Le processus est conduit par des interactions intercellulaires entre les facteurs de croissance (GF) et les cytokines, qui sont sécrétées au site de la plaie par les cellules inflammatoires et d'autres cellules stromales en réponse à une lésion tissulaire (Jee *et al*., 2019).

De nombreuses études sur le potentiel des produits naturels aux propriétés anti-inflammatoire, antioxydante, antibactérienne et pro-collagène en tant qu'agents cicatrisants ont été réalisées. Leurs propriétés médicinales peuvent être apportées par la teneur en constituants phytochimiques bioactifs tels que les alcaloïdes, les huiles essentielles, les tanins, les saponines, les composés phénoliques et les flavonoïdes dans les produits naturels (Ibrahim *et al*., 2018).

Les flavonoïdes appartiennent à un groupe de substances naturelles à structures phénoliques variables et se trouvent dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs de certaines plantes. Ces produits naturels étaient connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé bien avant que les flavonoïdes ne soient isolés en tant que composés efficaces (Nijveldt *et al*., 2001).

L'objectif de ce travail bibliographique est d'essayer, d'étudier la physiologie de la cicatrisation cutanée, les différentes interactions cellulaires et sa prise en charge thérapeutique. Nous allons également a cet effet présenter un travail de recherche original mettant en évidence l'effet de quelque flavonoïdes (glycitine et TMF) *in vitro* et *in vivo* sur la migration cellulaire des fibroblastes et kératinocytes et le remodelage de la matrice extracellulaire intervenant dans le processus de cicatrisation cutanée et ce sur les plans moléculaire et cellulaire.

Synthèse biobibliographiques

Chapitre I

I. Structure et histologie de la peau

En étant l'organe le plus gros de l'organisme; la peau est une membrane externe qui recouvre entièrement la surface du corps. C'est une barrière anatomique et physiologique entre le milieu intérieur caractérisé par son homéostasie remarquable et le milieu extérieur particulièrement agressif. Chez l'adulte moyen sa superficie varie entre 1,2 et 2,2 m² et elle pèse 7% de la masse corporelle totale. La peau est constituée de trois couches superposées de la surface vers la profondeur du corps : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (figure1) (Boukeloua, 2016).

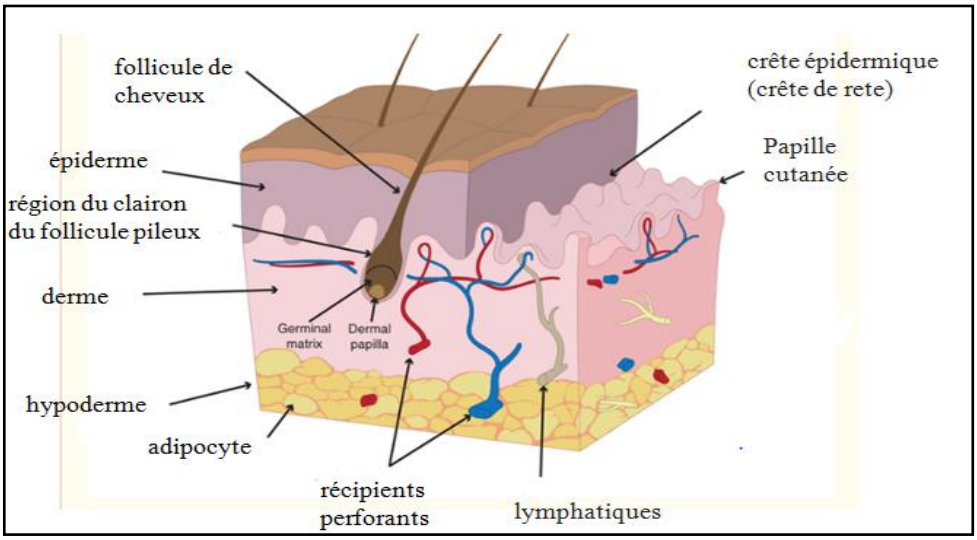

Figure 1 : Anatomie de la peau humaine (Moore *et al*., 2018).

I.1. Les constituants de la peau

I.1.1. Épiderme

L'épiderme est un épithélium de revêtement, stratifié, pavimenteux, orthokératosique, non vascularisé mais innervé. La couche la plus superficielle de l'épiderme contient de la kératine, qui est aussi un constituant des cheveux et des ongles.

Il est constitué de quatre types cellulaires : les kératinocytes, d'origine ectoblastique, les mélanocytes, provenant des crêtes neurales, les cellules de Langerhans, issues de la moelle hématopoïétique, et les cellules de Merkel, dérivant des cellules souches de l'épiderme embryonnaire (figure2) (Dréno, 2009).

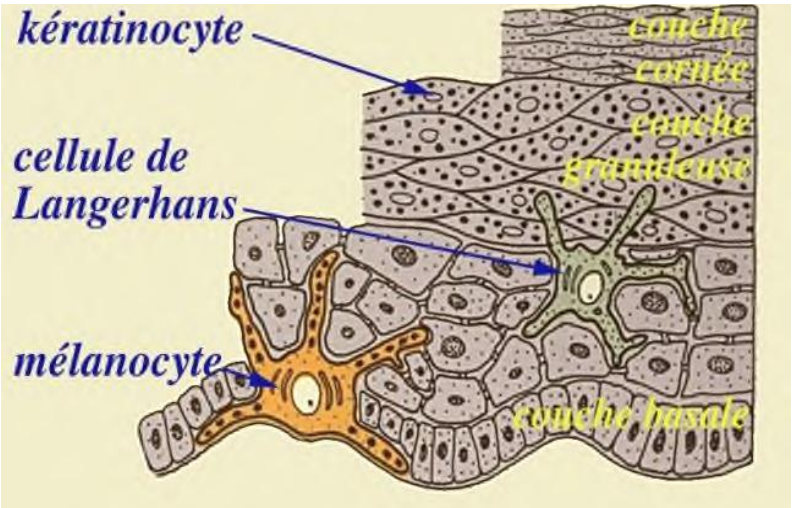

Figure 2 : Cellules de l'épiderme (UMVF, 2011)

I.1.1.1. Kératinocytes

Les kératinocytes représentent 80 % de l'ensemble des cellules. Ce sont eux qui en migrant, donnent à l'épiderme ses caractéristiques morphologiques : stratification en plusieurs couches et cellules superficielles pavimenteuses et anucléés. Les kératinocytes, d'origine ectoblastique, cellules principales de l'épiderme assurent trois grandes fonctions, en rapport avec des structures morphologiquement individualisables :

– la cohésion de l'épiderme en rapport avec le cytosquelette et les systèmes de jonction des kératinocytes entre eux.
– une fonction de barrière entre les milieux intérieurs et extérieurs en rapport avec la différenciation terminale des kératinocytes en cornéocytes.
– la protection contre les radiations lumineuses en rapport avec les mélanosomes de stade IV qu'ils ont phagocytés (Dréno, 2009).

I.1.1.2. Mélanocytes

Les mélanocytes sont des cellules dérivées de la crête neurale, qui migrent à travers l'embryon en développement vers des endroits spécifiques du corps fœtal, principalement vers la peau et follicules pileux. Dans l'épiderme, ils sont confinés principalement à la couche basale, où ils entrent en contact avec les kératinocytes par des extensions cytoplasmiques (dendrites). Les mélanocytes contiennent des mélanosomes, organites «liées au lysosome» spécifiques aux tissus caractéristiques des cellules pigmentaires dans lesquelles se trouvent des molécules de mélanine synthétisé et stocké (Gilaberte *et al*., 2016).

I.1.1.3. Cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans cutanées (LC) sont des cellules présentatrices d'antigène capables d'exprimer des molécules du CMH de classe I et de classe II sur la membrane plasmique. Cette activité moléculaire a été revue pour combiner les connaissances de la présentation des peptides par les molécules du CMH et du HLA de classe I et de classe II pour amorcer respectivement les cellules T cytotoxiques CD^{8+} (CTL) et les cellules T auxiliaires CD^{4+} (Becker, 1995).

I.1.1.4. Cellules de Merkel

Les cellules de Merkel sont des cellules post-mitotiques dispersées dans l'épiderme des vertébrés. Ils sont particulièrement intéressants en raison des liens étroits qu'ils développent avec les terminaisons nerveuses sensorielles et du nombre des peptides qu'ils peuvent sécréter (Boulais, 2007).

I.1.1.5. Organisation des couches épidermiques

L'épiderme est organisé en quatre à cinq couches : ces couches cellulaires sont de l'intérieur à l'extérieur : la couche basale ; la couche épineuse ; la couche granuleuse ; le stratum lucidum et la couche cornée *(*figure 3*)* **(**Démarchez, 2015).

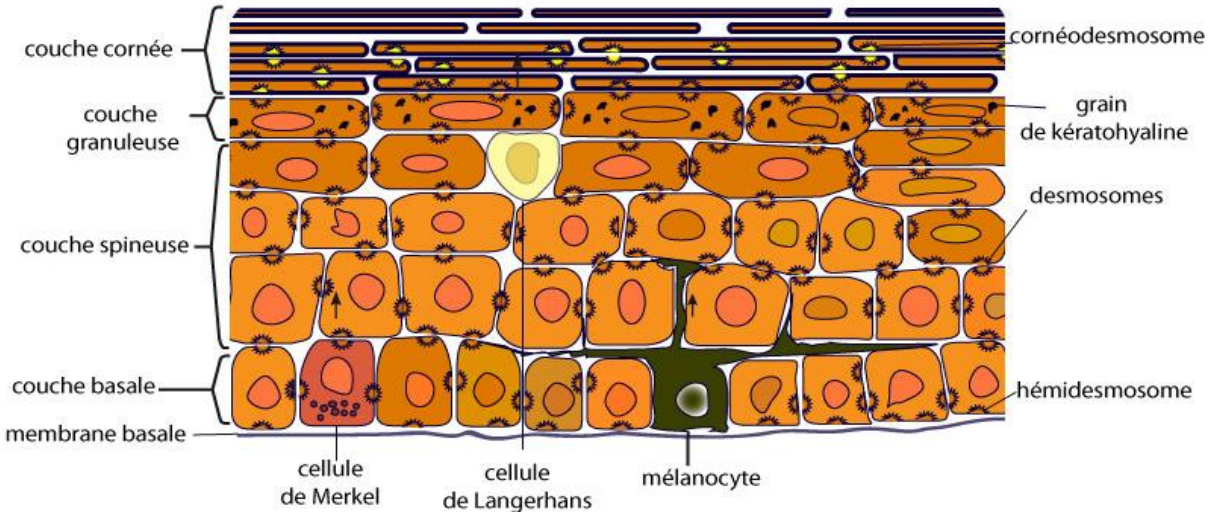

Figure 3 : Représentation schématique d'une coupe transversale de l'épiderme humain (Démarchez, 2015).

I.1.2. Le Derme

Le derme se situe entre l'épiderme et le tissu sous-cutané et est responsable de la variation régionale de l'épaisseur de la peau. C'est composé principalement de collagène, mais contient également élastine, vaisseaux sanguins, nerfs et glandes sudoripares. Le type de cellule dermique primaire est le fibroblaste, et il produit du collagène, de l'élastine et d'autres protéines. Le derme est ensuite divisé en papillaire et le derme réticulaire. Le derme papillaire est situé sous la jonction dermo-épidermique et contient un mélange lâche de fibrocyte, collagène et vaisseaux sanguins. En dessous se trouve le derme réticulaire beaucoup plus épais. Il contient moins de fibrocytes mais une collection plus dense de collagène (Losquadro, 2017).

I.1.2.1. Population cellulaire du derme

Les cellules présentent dans le derme sont regroupées en deux groupes : le premier est représenté par les fibroblastes ; le deuxième groupe est composé de cellules migratrices d'origine hématopoïétique (Cherif, 2016).

I.1.2.1.1. Fibroblastes

Les fibroblastes dermiques sont des cellules mésenchymateuses situées entre l'épiderme cutané et le tissu sous-cutané. Ils sont principalement responsables de la synthèse du collagène et des glycosaminoglycanes; composants de la matrice extracellulaire soutenant l'intégrité structurelle de la peau. Les fibroblastes dermiques jouent un rôle central dans la cicatrisation cutanée et la réparation cutanée (Thangapazham *et al*., 2014).

I.1.2.1.2. Myofibroblastes

Les fibroblastes peuvent se transformer en myofibroblastes, riches en α-actine du muscle lisse et en myosine, ayant à ce moment-là la double caractéristique des cellules synthétisant la matrice extracellulaire et de cellules contractiles. Ils ne s'entourent pas d'une lame basale, à la différence des cellules myoépithéliales. Ils sont surtout observés lors des processus de cicatrisation (Prost-squarcioni *et al*., 2008).

I.1.2.1.3. Cellules migratrices

Elles sont d'origine hématopoïétique tels que : macrophages, mastocytes et leucocytes. Ces cellules sont impliquées dans les mécanismes de défense et de réponse immunitaire, mais également dans la cicatrisation grâce aux nombreuses substances qu'elles libèrent (Cherif, 2016).

I.1.2.2. La matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire dermique assure un rôle essentiel dans la cohésion cutanée. Dans la peau adulte, il comprend le réseau de collagène comme constituant majeur qui correspond à 70 à 80% du poids sec de la peau, le réseau des fibres élastiques, les protéoglycanes, les glycosaminoglycanes (GAG) et l'eau (Haydont *et al*., 2019).

I.1.3. L'hypoderme

C'est la couche la plus profonde de la peau, elle constitue la graisse plus ou moins épaisse selon les individus, elle est contenue dans des lobules séparés les uns des autres par des fibres identiques à celles du derme, ces fibres assure à la fois la nutrition et la tenue de l'hypoderme (Dréno, 2008).

I.1.4. Les annexes cutanées

Les annexes cutanées regroupent des glandes cutanées et des phanères. Les glandes cutanées sont les glandes sudoripares eccrines, les glandes sudoripares apocrines et les glandes sébacées. Les phanères regroupent les poils (cheveux) et les ongles (figure 4) (Dréno, 2008).

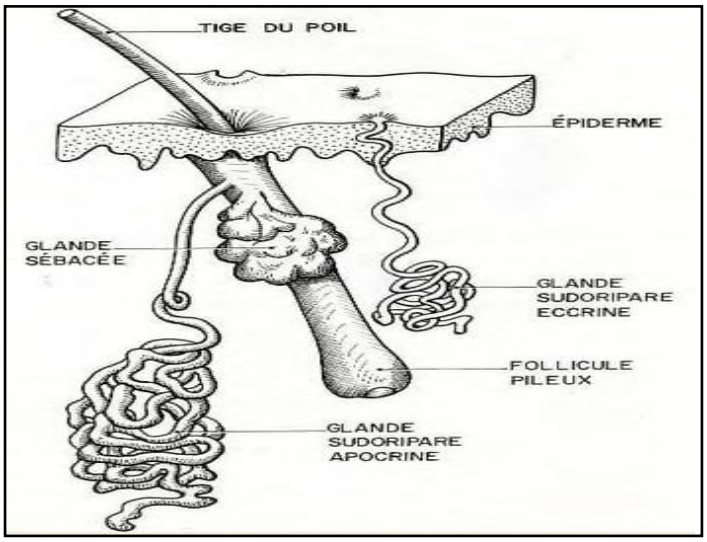

Figure 4 : Follicule pileux et glandes annexes (Crickx, 2005).

I.2. Les fonctions de la peau

Les fonctions de la peau sont multiples, souvent méconnues. Toute altération de la peau retentit sur une ou plusieurs fonctions. Leur connaissance est donc indispensable avant tout geste esthétique (Dréno, 2008).

Parmi les fonctions physiologiques de la peau on peut citer :

- **Protection :** Le pigment de mélanine et les enzymes anti oxydantes sont positionnés à l'épiderme pour protéger la peau contre les radiations. Le réticulaire épais le derme est une barrière aux blessures et aux traumatismes ainsi qu'un coussin pour les structures (Norris, 2012). La peau offre une barrière protectrice contre les microbes, les toxines, les rayons ultraviolets et l'abrasion / ulcération (Falanga, 2020).
- **Réponse immunologique :** La peau est le bras le plus externe de la réponse immunitaire et est conçu pour se défendre contre l'infection, les cellules transformées et toxines au moyen de la réponse immunitaire locale innée et acquise hautement développée (Norris, 2012).
- **Barrière à la perte d'eau :** La peau fournit une barrière physique contre l'environnement extérieur et contribue à réduire la perte d'eau grâce à la couche cornée imperméable à l'eau (Lai-Cheong & McGrath, 2017).
- **Sécrétion des déchets :** Les glandes sudoripares eccrines et apocrines transportent les déchets et fournissent également l'excrétion des substances odoriférantes.
- **Sensation :** La peau est le plus grand organe sensoriel. La peau et les muqueuses sont les principaux sites de sensation agréable et aussi des sites de sensations désagréables.
- Régulation de la température corporelle (Gilaberte *et al*., 2016).
- Stockage des graisses, de l'eau et de la vitamine D (Gilaberte *et al*., 2016).

I.3. Matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire (MEC) comprend diverses molécules structurales impliquées dans le support structurel, y compris la signalisation cellulaire. Ces molécules sont classées en protéines, protéoglycanes ou leurs composants comme l'élastine, les collagènes, l'hyaluronane et les protéines non collagènes avec une fraction glucidique (Figure 5). La dynamique MEC joue un rôle central dans la différenciation cellulaire, les niches de cellules souches, le réarrangement, l'angiogenèse, la ramification, la réparation des plaies, le remodelage osseux ainsi que le remodelage des tissus. La matrice extracellulaire joue un rôle important au cours de la cicatrisation en contrôlant les activités des diverses populations cellulaires (kératinocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, leucocytes …) (Ahmad, 2020).

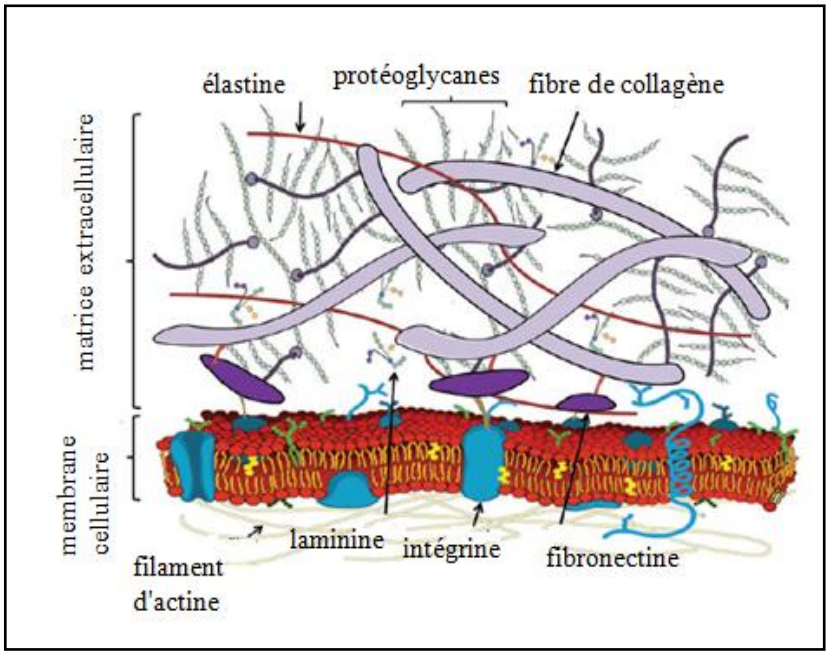

Figure 5 : Principaux composants de la matrice extracellulaire et leurs interactions les uns avec les autres et avec la membrane cellulaire (Xue & Jackson, 2015).

I.3.1. Les composants de la matrice extracellulaire

I.3.1.1. Les fibres de collagène

Les fibres de collagène sont le principal composant de la MEC. Ils se composent de trois chaînes alpha, qui forment une triple hélice en forme de corde, fournissant une résistance à la traction à la MEC. Les principales fibres de collagène sont les types I, II, III (fibrillaire) et IV, V, VI (non fibrillaire ou amorphe) (Oliveira *et al*., 2019).

I.3.1.2. Élastine

Les fibres élastiques jouent également un rôle structurel important au sein du derme. Les fibres élastiques sont composées de microfibrilles d'élastine et de fibrilline. Contrairement au collagène, la configuration biochimique de l'élastine permet le glissement, l'étirement et le recul des fibres. Le derme réticulaire comprend des fibres élastiques épaisses (Brown& Krishnamurthy, 2018).

I.3.1.3. Protéoglycanes

Les protéoglycanes et les glycosaminoglycane sont les protéines qui entourent ou sont copolymérisées / déposées autour d'autres protéines MEC ; telles que, le collagène et l'élastine (Matsukura *et al*., 2008). Les protéoglycanes sont constitués d'un domaine protéique central lié de manière covalente aux glycosaminoglycanes (GAGs). Ces GAG forment répétitions linéaires longues, chargées négativement d'unités disaccharidiques, et fournissent protéoglycanes avec leur capacité unique à lier l'eau (Muncie & Weaver, 2018).

I.3.1.4. Les glycoprotéines

Les glycoprotéines sont similaires aux protéoglycanes en ce qu'elles sont constituées de unités peptide et groupes glucidiques liés par covalence. Les glycoprotéines servent de molécules connecteurs dans la MEC car ils contiennent des groupes fonctionnels qui reconnaissent et lient d'autres molécules MEC. La fibronectine et la laminine sont deux glycoprotéines prédominantes importantes trouvées dans le stroma MEC (Muncie & Weaver, 2018).

I.3.2. Le rôle de la matrice extracellulaire dans la cicatrisation

La matrice extracellulaire dirige la réparation en régulant le comportement de la grande variété de type des cellules qui sont mobilisées dans la zone endommagée afin de reconstruire le tissu. L'inflammation aiguë, la réépithélialisation et la contraction dépendent toutes des interactions cellule – matrice extracellulaire et contribuent à minimiser l'infection et à favoriser une fermeture rapide de la plaie. L'interaction cellulaire avec les composants MEC est soumise à une régulation des médiateurs biochimiques, de nombreuses cytokines et des facteurs de croissance, tels que les dérivés de l'acide arachidonique (prostaglandines et leucotriènes), les interleukines, les interférons, le TNF-α, PDGF, FGF, TGF ou EGF. Les composants de la MEC créent des «échafaudages» (matrice temporaire, tissu de granulation, cicatrice), indispensables au processus de réparation, fournissant ainsi une structure permettant le maintien de l'intégrité de la matrice à chaque étape du processus de guérison. Le rôle de la MEC est lié à action de plusieurs facteurs du processus de cicatrisation, car les composés mentionnés remplissent également une fonction de transduction du signal dans cette séquence dynamique et interactive de réactions biologiques. Les composants MEC servent également de réservoir et de modulateur de l'action des cytokines et des facteurs de croissance, régulant ainsi l'activité de réparation des plaies. Le sulfate de dermatane améliore l'adhésion des leucocytes endothéliaux par la stimulation de l'ICAM-1 ou du facteur de croissance des fibroblastes ainsi qu'il participe à l'interaction avec le facteur de croissance des hépatocytes / facteur de dispersion, l'héparine cofacteur II, le facteur plaquettaire 4, la fibronectine ou l'inhibiteur de la protéine C. Le sulfate de chondroïtine est capable d'induire la prolifération cellulaire médiée par le FGF-2, de contrôler l'adhésion cellulaire et de stimuler la propagation et la migration cellulaire en activant l'adhésion focale du facteur de croissance. Le sulfate d'héparane / héparine participe à la régulation de l'angiogenèse, de la croissance cellulaire, de la migration et de la différenciation. L'acide hyaluronique détermine l'hydratation des tissus, fonctionne comme une molécule de signalisation, interagit avec les récepteurs de surface cellulaire et stimule la prolifération cellulaire, la migration, la différenciation et l'expression des gènes (Olczyk *et al*., 2014). Les glycoprotéines jouent un rôle pivot dans l'alignement correct des composants fibreux et

élastiques de la peau et contrôlent la biodisponibilité de plusieurs facteurs de croissance dans les cellules environnantes de la MEC pour stimuler la renouvellement et réparation de la peau (Pang *et al*., 2019).

I.3.3. Déstabilisation de la matrice extracellulaire

La MEC représente un environnement en constante évolution avec des macromolécules dont l'expression est régulée par deux forces opposées : La synthèse et le dépôt d'une part, et la dégradation protéolytique d'autre part. Il existe de nombreuses familles d'enzymes protéolytiques impliquées dans la dissolution de la MEC. Les plus importantes d'entre elles sont les métalloprotéinases matricielles (MMP), une famille croissante de 24 endopeptidases zinc-dépendantes classées selon la structure du domaine en collagénases , gélatinases , stromélysines , matrilysines, type membranaire et autres. EIles représentent des enzymes clés impliquées dans le remodelage tissulaire et ont été impliqués dans divers processus normaux et pathologiques. Toutes les MMPs sont régulées par un large spectre de molécules, telles que les facteurs de croissance, les cytokines et les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMP). Les MMPs sont produites par des cellules tissulaires impliquées dans la cicatrisation. Par ex : les neutrophiles, les fibroblastes, les cellules endothéliales et épithéliales. Elles sont également produites par les cellules immunitaires dans le cadre du processus inflammatoire ou de la réponse aux infections (Batzios *et al*., 2013).

Tableau 1 : Les principales MMPs impliquées dans le processus de cicatrisation des plaies (Lazaro *et al*., 2016).

Type des MMPs	**Sous –groupe des MMPs**	**Dénominations**
Gélatinases solubles	Gélatinases	MMP-2 : Gélatinase-A MMP-9 : Gélatinase-B
MMP archétypales	Collagénases	MMP-1 : collagénase-1, collagénase interstitielle MMP-8 : collagénase-2, collagénase neutrophile MMP-13 : collagénase-3
	Métalloélastase	MMP-12
	Stromélysines	MMP-3 : Stromélysine-1 MMP-10 : Stromélysine-2 MMP-11: Stromélysine-3
Matrilysines	Matrilysines	MMP-7:Matrilysine MMP-26 : Matrilysine-2
MMP- métalloprotéinase matricielle		

Chapitre II

II .1. Définition des plaies cutanées

Toute rupture dans la continuité de la peau s'appelle une plaie. Elle a été définie comme «une perturbation des structures et fonctions anatomiques normales». Dans la pathologie de tous les jours, les plaies restent un problème clinique difficile, les complications précoces et tardives présentant une cause fréquente de morbidité et de mortalité (Chhabra *et al*., 2017), les plaies peuvent être classées selon l'origine, la nature lésionnelle, les propriétés physico-chimiques, les propriétés bactériologiques et le stade histologique et clinique (Le Bronec, 2005).

II.2. Physiopathologie de la cicatrisation des plaies

La cicatrisation des plaies cutanées est un processus évolutivement conservé, hautement coordonné et régulé dans l'espace et dans le temps. Elle survient au cours des phases séquentielles mais qui se chevauchent d'hémostase, d'inflammation, de prolifération et de remodelage. Les phases de la cicatrisation cutanée sont exécutées par une action coordonnée de plusieurs types des cellules, notamment les kératinocytes, les fibroblastes et les cellules immunitaires, endothéliales et progénitrices (Hamdan *et al*., 2017).

II.2.1. Les facteurs influençant la cicatrisation

Plusieurs facteurs peuvent conduire à une cicatrisation altérée. En termes généraux, les facteurs qui influencent la réparation peuvent être classés en locaux et systémiques. Les facteurs locaux sont ceux qui influencent directement les caractéristiques de la plaie elle-même, tandis que les facteurs systémiques sont la santé globale ou l'état pathologique de l'individu qui affectent sa capacité à guérir (Tableau 2) (Guo & Dipietro, 2010).

Tableau 2 : Les facteurs influençant la cicatrisation (Guo & Dipietro, 2010).

Facteurs influençant la cicatrisation	
Facteurs locaux	Localisation, hydratation, vascularisation, degré de contamination, présence de corps étrangers
Facteurs généraux	insuffisance rénale ou hépatique, troubles de la coagulation, hypoxie, diabète, déficits immunitaires, traitements tels que les corticoïdes par voie systémique Age, les hormones, stress

II .2.2. Mode de la cicatrisation des plaies

II .2.2.1. La cicatrisation par première intention

C’est le mode de cicatrisation le plus simple et le plus rapide : il consiste à suturer la plaie, éventuellement après un parage (Ferraq, 2007).

II.2.2.2. Guérison par intention secondaire

Lorsqu'il y a une perte plus importante des cellules ou des plaies de surface qui créent de gros défauts, le processus de réparation est plus compliqué. Le tissu de granulation se développe à partir des marges pour terminer la réparation. Ces blessures guérissent avec une vilaine cicatrice. C'est ce qu'on appelle la guérison par intention secondaire (Chhabra *et al*., 2017).

II .2.2.3. Guérison par intention tertiaire

La cicatrisation tertiaire (troisième intention) est un retard de cicatrisation primaire après 4 à 6 jours. Cela se produit lorsque le processus d'intention secondaire est intentionnellement interrompu et que la plaie est fermée mécaniquement. Cela se produit généralement après la formation du tissu de granulation (Chhabra *et al*., 2017).

II.2.3. Description des processus de la cicatrisation normale

La cicatrisation des plaies est un processus compliqué qui consiste en quatre phases consécutives mais chevauchantes : l’hémostase, l’inflammation, la prolifération et le remodelage tissulaire (figure 6) (Nodin *et al*., 2018).

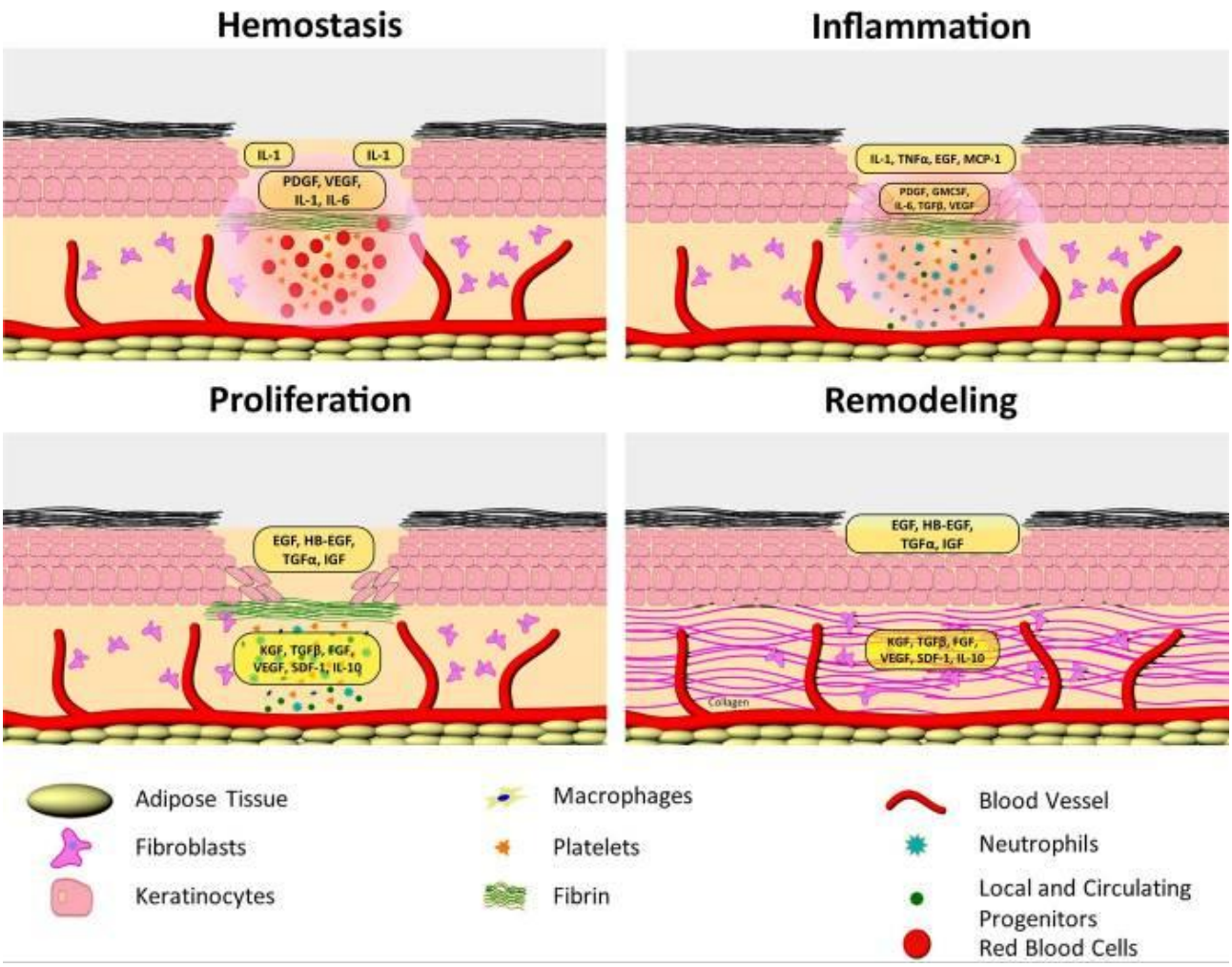

Figure 6 : Phases de cicatrisation cutanée représentant les cellules et molécules responsables de la reconstitution d'une barrière saine (Hamdan *et al*., 2017).

II.2.3.1. L'hémostase

L'hémostase est initiée immédiatement après la création de la plaie et est réalisée par la vasoconstriction, l'agrégation plaquettaire et la formation de caillots (Nodin *et al*., 2018). Ce caillot permet à la fois de stopper localement l'hémorragie et de combler rapidement et temporairement la perte de tissu (Girard & Desmoulière, 2018), à travers la cascade de la coagulation. Le caillot sanguin et le tissu environnant libèrent des cytokines inflammatoires et des facteurs de croissance, favorisant la migration des cellules inflammatoires vers le site de la plaie (Nodin *et al*., 2018).

II.2.3.2. L'inflammation

Après la brève période de vasoconstriction, des substances vasodilatatrices et des molécules chimiotactiques attirent vers le lit de la plaie des cellules inflammatoires, notamment les neutrophiles (leucocytes polynucléaires [LPN]) et les macrophages, dont la fonction principale est d'amorcer la phagocytose pour détruire les bactéries, les corps étrangers et les débris cellulaires.

Les LPN sont ensuite expulsés de la plaie, en même temps que l'escarre, ou phagocytés par les macrophages. Ces derniers, en plus de produire des facteurs chimiotactiques qui recrutent d'autres cellules inflammatoires, libèrent des facteurs de croissance qui attirent les fibroblastes et les cellules endothéliales vers le lit de la plaie. Ils sont essentiels à la coordination de la formation du tissu de granulation. Les macrophages joueraient un rôle de premier plan dans la transition de la phase inflammatoire à la phase proliférative du processus de réparation tissulaire. L'inflammation commence, en général, dès l'agression initiale et dure jusqu'au quatrième jour de la cicatrisation, environ. Les signes cardinaux de l'inflammation aiguë sont bien connus : chaleur, rougeur, œdème et douleur. La perte de fonction constitue un autre signe de cette phase (Moulin, 2001).

II.2.3.3. La prolifération

La prolifération implique trois processus bien observables : la granulation, la contraction et la réépithélialisation.

II.2.3.3.1. La granulation

Au cours de la granulation, qui chevauche et suit la phase inflammatoire, on observe la prolifération et la migration vers le lit de la plaie des cellules qui interviendront dans le reste du processus de réparation, dont la durée peut être de 8 à 14 jours, voire 21 jours, selon la taille de la plaie. L'ensemble de cette population cellulaire dense constitue le tissu de granulation. Son aspect granulaire ressemble à une jeune framboise est attribuable aux bourgeons des néocapillaires.

Le tissu de granulation est composé, entre autres, de macrophages, de fibroblastes et de cellules endothéliales imbriqués dans une matrice lâche composée de collagène, de fibrine, de fibronectine et d'acide hyaluronique. Les macrophages, on l'a dit plus haut, libèrent constamment des facteurs chimiotactiques et des facteurs de croissance. Les fibroblastes construisent, quant à eux, la nouvelle matrice cellulaire nécessaire à la croissance des cellules au fond de la plaie. Cet « échafaudage » favorise la migration cellulaire.

Enfin, les cellules endothéliales déclenchent la formation de bourgeons vasculaires qui constitueront de nouveaux capillaires, ce qui permettra de rétablir la perfusion et d'assurer l'apport en oxygène et en nutriments essentiels à l'activité métabolique des cellules dans la plaie. Le mécanisme de formation de néocapillaires pour alimenter le nouveau tissu de granulation est appelé angiogenèse (Moulin, 2001).

II.2.3.3.2. Contraction

La contraction de la plaie contribue à rapprocher les berges et est étroitement lié à la formation du tissu de granulation. Cette contraction est due à la transformation de certains fibroblastes en myofibroblastes capables de se contracter (Hinda, 2017).

Une contraction visible de la plaie est évidente 5 à 9 jours après la blessure. Une invasion fibroblastique importante dans la plaie est nécessaire pour le commencement du phénomène de la contraction. Le phénomène de contraction de la plaie est attribué à une interaction complexe de cellules, la matrice extracellulaire et des médiateurs y compris. La contraction continue à progresser et ne s'arrête que lorsque les marges opposées de la plaie se rencontrent. Si le tissu de granulation ne présente pas une qualité satisfaisante ou si la tension de la peau environnante atteint ou excède la force de contraction; cette phase peut se prolonger et dure plusieurs semaines (Hinda, 2017).

II.2.3.3.3. La réépithélialisation

La réépithélialisation est le renouvellement des cellules de l'épiderme formant un épithélium pavimenteux stratifié, organisé et kératinisé, qui rétablit les propriétés protectrices de la peau. Ce mécanisme débute quelques heures après la lésion et se poursuit pendant la phase proliférative, grâce à la migration des kératinocytes intactes à partir du bord libre de la couche épidermique de la plaie ou des annexes cutanées, par exemple les follicules pileux.

Une fois les lèvres de la plaie réunies, les cellules de l'épiderme reprennent leur morphologie et leur fonction originale. Les cellules épithéliales, d'aspect argenté, entourent le périmètre du tissu de granulation. Lorsque la lésion n'est pas très profonde, on peut voir des « îlots » de cellules épithéliales dans le lit de la plaie. Ils résultent de la migration vers le haut des kératinocytes à partir des follicules pileux intacts. La réépithélialisation se termine par la migration des cellules des lèvres de la plaie vers l'intérieur de la plaie, à la manière d'une fermeture éclair (Moulin, 2001).

II.2.3.4. Processus de maturation (remodelage)

La phase de maturation constitue la dernière phase du processus de cicatrisation conduisant à la formation de la cicatrice finale (Girard & Desmoulière, 2018), après la réparation de toutes les couches cutanées, la cicatrice continue d'être remodelée pour augmenter sa résistance et ses qualités au cours du processus de maturation. Ce dernier est dominé par le remodelage du tissu conjonctif néoformé associé à des modifications touchant l'épiderme et les annexes épidermiques avec restauration de la vascularisation et de l'innervation (Abdeldjelil, 2016).

II.2.3.4.1. Remodelage du tissu conjonctif cicatriciel

Au cours de la phase de fibrogènès, l'augmentation de la quantité de collagène s'accompagne d'une régression des glycoprotéines, des mucopolysaccharides et du nombre de fibroblaste Vers la fin de cette phase, la synthèse fibroblastique de collagène s'équilibre avec la collagénolyse et la néo-vascularisation régresse. Le tissu de granulation évolue d'un tissu jeune à prédominance vasculaire et cellulaire vers un tissu de granulation mature peu vascularisé, fibreux, plus résistant, et ressemblant de plus en plus au tissu conjonctif physiologique. La composition et l'organisation du

tissu cicatriciel est modifiée, on assiste à une diminution progressive de la quantité de collagène de type III au profit du collagène de type I, majoritaire dans une peau saine. On assiste également à une collagénolyse des fibres orientées inefficacement, associée au dépôt de nouvelles fibres agencées de façon optimale par rapport, à une meilleure résistance cutanée (Abdeldjelil, 2016).

II.2.3.4.2. Maturation de l'épiderme

L'épiderme subit un remaniement qui consiste en un épaississement qui aboutira à la restauration de toutes les couches épidermiques. Le nouvel épiderme subit par la suite une kératinisation progressive permettant un recouvrement fonctionnel de la peau. Une fois l'épithélialisation achevée, une invagination du nouvel épithélium dans le tissu sous-jacent permet une reconstitution limitée des follicules pileux et des glandes sébacées associées**.** La cicatrice est généralement dépigmentée, cependant, une repigmentation partielle et tardive peut parfois survenir par migration centripète de mélanocytes. Cependant on note une absence de la repigmentation des poils, et de la régénération des glandes sudoripares (Abdeldjelil, 2016).

II.2.3.4.3. Restauration de la vascularisation et de l'innervation

A la fin de la phase fibroblastique, on assiste à une régression de la riche vascularisation composant le tissu de granulation. Le nouveau réseau vasculaire redevient proche de celui d'une peau saine; cependant, il reste moins développé car la cicatrice est beaucoup plus fibreuse que la peau normale. La reconstitution du réseau lymphatique s'effectue beaucoup plus tardivement que la vascularisation sanguine. Concernant la restauration de l'innervation, lorsqu'elle a lieu, elle est généralement très tardive et très lente. Ceci explique la faible sensibilité des grandes cicatrices par rapport à la peau normale (Abdeldjelil, 2016).

II.2.4. Intervention des MMPs dans la cicatrisation

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) jouent un rôle important dans la cicatrisation des plaies, et leur dérégulation entraine une inflammation prolongée et un retard de cicatrisation, le tableau 3 ci-dessous présente quelques exemples des MMPs avec leurs rôles dans le processus de cicatrisation des plaies (Nguyen *et al*., 2016).

Tableau 3 : Rôles des MMPs dans la cicatrisation (Nguyen *et al*., 2016).

MMP	**Rôles dans la guérison des plaies**
MMP-1 (collagénase-1)	Favorise la migration des kératinocytes humains sur le collagène fibrillaire Exprimé par les kératinocytes à leur bord de membrane arrière lors de la cicatrisation des plaies
MMP-2 (gélatinase A)	Exprimé par les fibroblastes et les cellules endothéliales dans les plaies aiguës des souris et humaines Accélère la migration cellulaire Migration des kératinocytes
MMP-3 (stromélysine-1)	Exprimé par les kératinocytes basaux dans les plaies humaines aiguës et chroniques
MMP-7 (matrilysine)	Nécessaire pour la réépithélialisation des plaies
MMP-8 (collagénase-2)	Favorise la cicatrisation cutanée des plaies diabétiques
MMP-9 (gélatinase B) MMP-13 (collagnase-3) MMP-14 (MT1-MMP)	Favoriser la migration des kératinocytes
MMP-10 (stromélysine-2)	La surexpression des kératinocytes entraînant une cicatrisation normale de la plaie

II.2.5. Altérations pathologiques du phénomène de cicatrisation

Les cicatrices pathologiques peuvent être un retard du processus (plaies chroniques), une altération (cicatrices rétractiles) ou un excès de celui-ci : (botryomycome, chéloïdes) (Senet *et al*., 2007).

II.2.5.1. Cicatrisation excessive

Les cicatrisations excessives surviennent après des interventions chirurgicales, des traumatismes, des brûlures ou de simples réactions inflammatoires notamment pour les chéloïdes dites « spontanées ». Les chéloïdes présentent une activité fibroblastique excessive, entrainant une production importante de fibres de collagène anormalement épaissies et hyalinisées (Cherif, 2016).

II.2.5.2. La cicatrisation rétractile

Les rétractions excessives sont souvent le résultat d'une plaie mal orientée par rapport aux lignes de tractions physiologiques de la région. Elles surviennent fréquemment après des brûlures profondes (Senet *et al*., 2007).

II.2.5.3. Retards à la cicatrisation

Les étiologies des retards à la cicatrisation sont nombreuses. Certains facteurs locaux (L'ischémie…) ou généraux (le tabagisme…) pouvant entraîner un retard de cicatrisation (Senet *et al*., 2007).

II.2.6. Thérapeutique de la cicatrisation

II.2.6.1. Traitement classique

Les traitements des plaies ont pour but de favoriser la cicatrisation ou d'éliminer les facteurs qui inhibent la cicatrisation. Les traitements pourront non seulement assurer une évolution optimale de la cicatrisation mais aussi tenter de l'améliorer de façon quantitative et qualitative. Le traitement des plaies a constamment évolué, la découverte de l'implication des germes en 1860 par Pasteur a révolutionné les méthodes thérapeutiques avec l'application de l'asepsie. Actuellement, des pansements modernes sont appliqués avec succès et des techniques chirurgicales élaborées permettent de refermer la majorité des plaies (Dahmani, 2019)**.**

II.2.6.2. innovation thérapeutique

L'électroporation irréversible (IRE) est une nouvelle thérapie qui utilise des impulsions électriques d'une microseconde pour traité plusieurs pathologies.

La nouvelle méthode est fondée sur l'exposition de la peau affectée à des champs électriques à haute tension à impulsions très courtes (Dahmani, 2019).

Un traitement par électroporation irréversible partielle utilisant 200 impulsions de 250 V et 70 µs de durée, délivrée à 3 Hz tous les 20 jours au cours d'un total de cinq séances de thérapie après la brûlure initiale, a entraîné une réduction de 57,9% de la zone de cicatrice par rapport aux non traités (Dahmani, 2019).

II.2.6.3. Plantes médicinales cicatrisantes

Les résultats expérimentaux (*in vivo* et *in vitro*) sur l'application d'extraits végétaux et de leurs composés actifs (le tableau4) pour le traitement des plaies à renouvelé l'attention des scientifiques pour l'importance des plantes médicinales notamment dans le domaine de la médecine régénératrice (Dahmani, 2019).

Tableau 4 : Quelques plantes médicinales cicatrisantes.

Genres et espèces	**Types d'étude *in vitro* ou *in vivo***	**effet**	**Références**
Artemisia herba-alba	*in vivo*	accélère la cicatrisation	(Merkantia, 2017)
*Artemisia absinthiumprésente(*Les parties aériennes en fleurs)	*in vivo*	accélère la cicatrisation	(Benkhaled *et al*., 2020)
*Acacia nilotica(*gousse)	*in vivo*	accélère la cicatrisation de la plaie de brûlure	(Darré *et al*,. 2014)
*Kalanchoe crenata (*feuilles)	*in vivo*	accélérer la cicatrisation.	(Ernest *et al*., 2019)
Telephium imperati(L) La plante	*in vivo*	La réduction de la zone de la plaie	(Nejjari *et al*., 2019)
Pistacia Lentiscus L (fruits)	*in vivo*	accélérer la cicatrisation.	(Khedir *et al*,. 2017)

II.2.6.4. Les pommades et les crèmes dermatologiques cicatrisantes

Des crèmes dermatologiques permettent d'assurer un processus de cicatrisation optimale, pour minimiser les traces laissées sur la peau, éviter l'inflammation, les douleurs; parmi ces crèmes on cite :

- Cicaderma pour accélérer la cicatrisation cutanée et ouvre de nouvelles voies pour des traitements séquentiels pour améliorer la cicatrisation (Morin *et al*., 2012).
- Cicatryl un médicament ayant une activité cicatrisante, il stimule le processus de régénération de la peau (Beroual *et al*., 2017).
- Madécassol est un médicament cicatrisant, il est capable de réduire les réactions aiguës aux rayonnements par son activité anti-inflammatoire (Chen *et al*., 1999).

II.2.6.5. Traitement par des composées naturelles (flavonoïdes)

Les flavonoïdes sont une classe de composés comprenant plus de 4000 phénylbenzopyrones, qui sont largement produits dans les plantes comestibles. Il a été rapporté que ceux-ci ont diverses activités pharmacologiques, y compris des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et cicatrisantes. Parmi les flavonoides qui ont des propriétés de guérison des plaies : procyanidines, quercétine(Agyare *et al*.,2016)et les isoflavones de soja **(**glycitine**)** (Seo *et al*., 2017).

Chapitre III

Les flavonoïdes sont un groupe des composés polyphénoliques, de structure et de caractéristiques chimiques diverses, trouvés omniprésent dans les plantes. Par conséquent, les flavonoïdes font partie de l'alimentation humaine. Plus de 4 000 flavonoïdes différents ont été identifiés dans les principales classes de flavonoïdes qui comprennent les flavonols, les flavones, les flavanones, les catéchines, les anthocyanidines, isoflavones, dihydroflavonols et chalcones (Cook, 1996 ; Peterson & Dwyer, 1998). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, et aussi dans les légumes, les céréales, l'écorce (Middleton, 1998).

III.1. Structure chimique et classification

III .1.1. Définition

Les flavonoïdes sont les composés polyphénoliques les plus abondants contenus dans les végétaux. Leur structure comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (A et B) porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone, ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène. La présence de plusieurs fonctions phénol confère à ces composés des propriétés antioxydantes ou oxydantes, suivant la position des phénols et le milieu où la réaction prend place (figure7) (Stoclet & Schini-Kerth, 2011 ; Faggio *et al*., 2017).

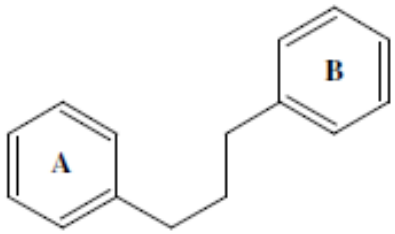

Figure 7: Squelette de base des flavonoïdes (Faggio *et al*., 2017).

III.1.2. La biosynthèse

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3. La voie en amont consiste en la formation du noyau (l'ion flavylium), le squelette de base de tous les flavonoïdes, à partir de trois molécules de malonyl-CoA et l'une des 4-coumaroyl CoA. Le CHS et la chalcone isomérase (CHI) sont les enzymes impliquées dans la condensation en deux étapes, produisant une flavanone incolore nommée naringénine. L'oxydation de ce dernier composé par la flavanone 3-hydroxylase (F3H) donne le dihydrokaempferol (dihydroflavonol incolore) qui peut ensuite être hydroxylé sur la position 3 ′ ou 5 ′ du cycle B, par le flavonoïde 3′-hydroxylase (F3′H) ou flavonoïde 3 ', 5'-hydroxylase (F3'5'H), produisant respectivement de la dihydroquercétine ou de la dihydromyricétine. La naringénine peut également être directement hydroxylée par F3′H ou F3′5′H pour délivrer, respectivement, de l'ériodictyol et de la pentahydroxy-flavanone, qui sont à nouveau hydroxylés en dihydroquercétine et dihydromyricétine. Les trois dihydroflavonols ainsi synthétisés sont ensuite convertis en anthocyanidines (pigments colorés mais instables) par deux réactions catalysées par la dihydroflavonol réductase (DFR) et le LDOX. Le DFR convertit la dihydroquercétine, le dihydrokaempférol et la dihydromyricétine en leucocyanidine, leucopelargonidin et leucodelphinidin (flavan-3,4- incolore*cis*- diols), respectivement. Par la suite, LDOX catalyse l'oxydation de la leucocyanidine, de la leucopélargonidine et de la leucodélphinidine en cyanidine (anthocyanidine rouge-magenta), pelargonidine (anthocyanidine orange) et delphinidine (anthocyanidine mauve pourpre-mauve), respectivement. Toutes les couleurs mentionnées ci-dessus se réfèrent à une condition environnementale spécifique, c'est -à- dire lorsque les anthocyanidines sont dans un compartiment acide. La dernière étape commune pour la production de composés colorés et stables (anthocyanes) implique la glycosylation de la cyanidine, de la pélargonidine et de la delphinidine par l'enzyme UDP-glucose : flavonoïde 3- *O*-glucosyl transférase (UFGT). Enfin, seuls le cyanidin-3-glucoside et le delphinidin-3-glucoside peuvent être méthylés davantage par des méthyltransférases (MT), pour être convertis en peonidine-3-glucoside et pétunidine ou malvidine-3-glucoside, respectivement (Figure8) (Petrussa *et al*., 2013).

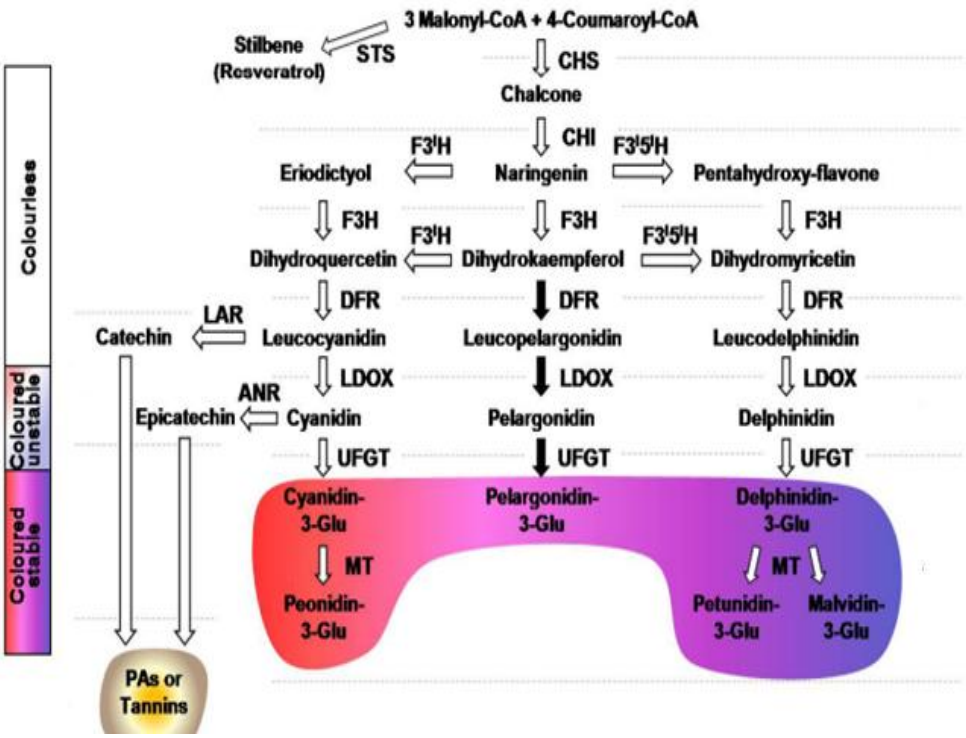

Figure 8: Schéma de la voie de biosynthèse des flavonoïdes (Petrussa *et al.*, 2013).

III.1.3. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est fixé et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C. Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurelles de l'anneau C. Ces sous-groupes sont les suivants : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols ou catéchines, anthocyanes et chalcones (figure9) (Panche *et al*., 2016).

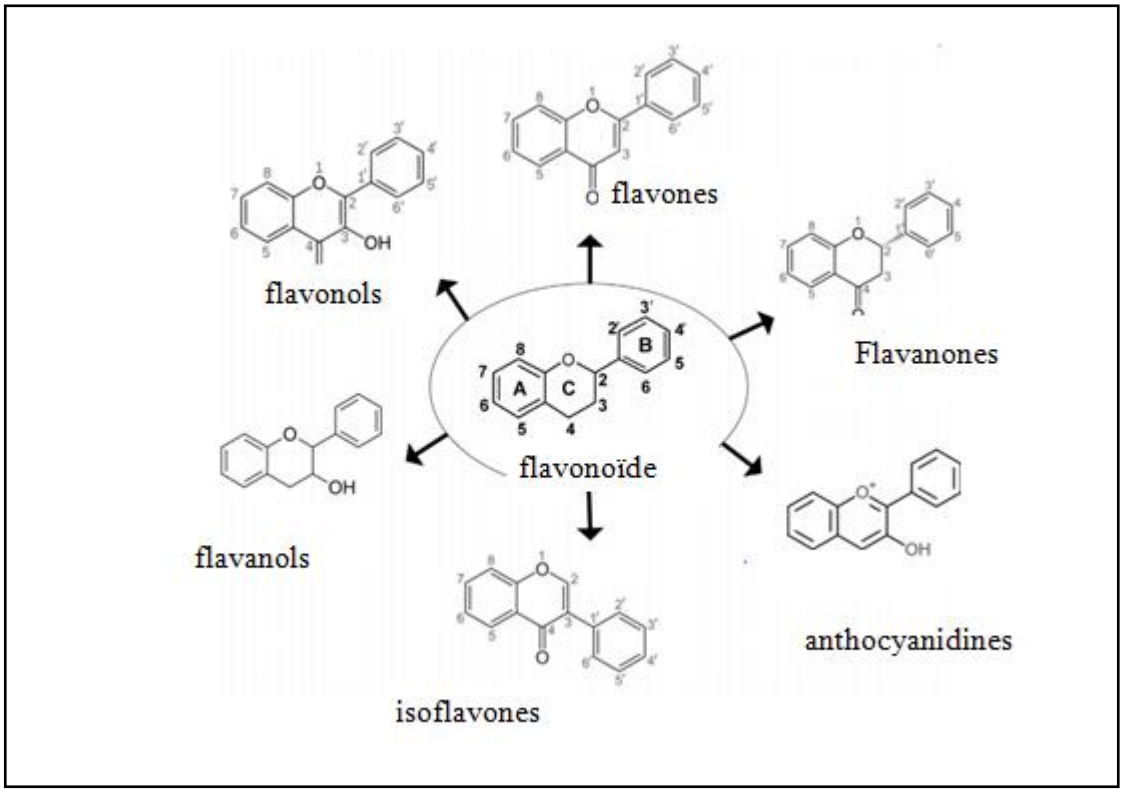

Figure 9: La structure chimique de base des différentes classes de flavonoïdes (Shukla *et al*., 2019).

III.1.3.1. Flavones et flavonols

Les flavonols sont des flavonoïdes avec un groupe cétone. Ce sont des éléments constitutifs des proanthocyanines. Les flavonols les plus étudiés sont le kaempférol, la quercétine, la myricétine et la fisétine. Par rapport aux flavones, les flavonols ont un groupe hydroxyle dans position 3 du cycle C, qui peut également être glycosylé. Les flavones sont l'un des sous-groupes importants de flavonoïdes. La lutéoline, l'apigénine et la tangeritine appartiennent à cette sous-classe de flavonoïdes. Ils ont une double liaison entre les positions 2 et 3 et un cétone en position 4 de l'anneau C (Panche *et al*,. 2016).

III.1.3.2. Flavanones et hydroflavonols

Les flavanones et les dihydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l' hydroxylation de la position C-3 (Benguerba, 2008).

III.1.3.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols

A la différence des flavonoïdes décrits au-dessus, ces trois groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés. Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (Benguerba, 2008).

III.1.3.4. Les chalcones et les aurones

Les chalcones et les aurones sont des produits naturels qui appartiennent à la famille des flavonoïdes et possèdent une variété d'activités pharmacologiques et biologiques. Chalcones et, dans une moindre mesure, aurones, sont des échafaudages chimiques particulièrement polyvalents, donc un grand nombre d'analogues synthétiques ont été préparé et étudié pour leur activité inhibitrice de la tyrosinase. Les chalcones sont une classe importante de produits naturels et sont considérés comme les précurseurs des flavonoïdes et des isoflavonoïdes. Chimiquement, les chalcones sont le 1,3-diaryl-2-propène-1- ceux dans lesquels deux cycles aromatiques ou aromatiques substitués les cycles sont réunis par un système carbonyle insaturé à trois atomes de carbone (Figure 10 et figure 11) (Kostopoulo & Detsi, 2018).

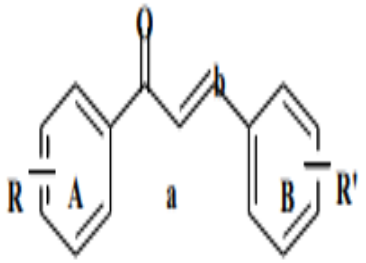

Figure 10: la structure chimique et numérotation de l'échafaudage chalcones (Kostopoulou & Detsi, 2018).

Les aurones (2-benzylidène benzofurane-3 (2H) -ones) sont composés naturels et sont des isomères structuraux des flavones (Figure 11). Ils sont une classe des flavonoïdes appelés anthochlore pigments et se produisent rarement dans la nature (Kostopoulou & Detsi, 2018).

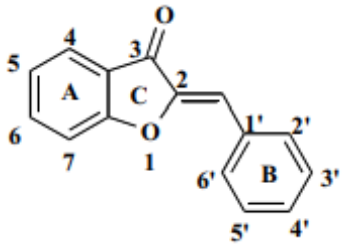

Figure 11: Structure chimique et numérotation de l'échafaudage aurone (Kostopoulou & Detsi, 2018).

III.1.4. Les sources de certains flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus répandu de composés phénoliques végétaux, présents pratiquement dans toutes les parties de la plante, en particulier les cellules végétales photosynthétisant. Les flavonoïdes font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Certaines sources alimentaires contenant différentes classes de flavonoïdes sont indiquées dans le tableau 5 (Kumar & Pandey, 2013). Le tableau 6 montre quelques exemples de sources végétales contenant des flavonoïdes.

Tableau 5 : classification, structure et sources alimentaires de certains flavonoïdes alimentaires (Kumar & Pandey, 2013).

Classe	Flavonoïde	Sources alimentaires
Flavanol	(+) - catéchine (-) - épicatéchine épigallocatéchine	Thé vert ; thé noir
Flavone	Chrysine, apigénine, rutine, lutéoline et glucosides de lutéoline	Peaux de fruits, vin rouge, sarrasin, poivron rouge et peau de tomate
Flavonol	Kaempferol, quercétine, myricétine et tamarixétine	Oignon, vin rouge, huile d'olive, baies et pamplemousse
Flavanone	Naringin, naringénine, taxifoline et hespéridine	Agrumes, pamplemousses, citrons et oranges
Isoflavone	Genistin, daidzin	Graine de soja

Tableau 6 : Classe de flavonoïdes, composés courants et leur source végétale (Peterson, 2015).

Classe de flavonoïdes (composés)	**Sources végétales communes (familles botaniques)**
Anthocyanidines (cyanidine, delphinidine, malvidine, pélargonidine, peonidine, pétunidine)	Myrtilles (Ericaceae), vin rouge (Vitaceae), fraises (Rosaceae). Habituellement présent dans tout fruit ou légume rose à violet
Flavonols (isorhamnetine, kaempférol, myricétine, quercétine)	Myrtilles (Ericaceae), ail et oignons (Amaryllidaceae), chou frisé et brocoli (Brassicaceae), épinards (Chenopodiaceae), vin rouge (Vitaceae), thé (Theaceae)
Flavones (apigénine, lutéoline)	Céleri (Apiaceae), ail (Amaryllidaceae), poivrons verts (Solanaceae), menthe poivrée (Lamiaceae). Commun dans toutes les plantes à feuilles, en particulier la famille du persil (Apiacées)
Isoflavones (daidzéine, génistéine, glycitéine, biochanine A, coumestrol, formononétine)	Produits à base de soja, arachides, haricots (Fabaceae). Présent dans les membres de la famille des légumineuses (Fabaceae), en particulier le genre *Glycine* (soja), mais aussi en petites quantités dans d'autres plantes

III.1.5. Activité biologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés nutraceutiques bien reconnus pour leurs diverses bioactivités, notamment : des activités anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-allergiques, anticarcinogènes et antivirales (Fernández-Rojas & Gutiérrez-Venegas, 2018).

III.1.5.1. Activité anti-inflammatoire

Les composés phénoliques sont des inhibiteurs enzymatiques et ont le pouvoir d'inhiber plusieurs enzymes tel que la télomérase, Glutamate déshydrogénase, cyclooxygénase, lipoxygénase, xanthine oxidase, Métalloprotéinases matricielles. La quercétine peut inhiber la cycle-oxygénase, la lipooxygénase et l'activité xanthine oxydase. Les flavonoïdes apigénine, kaempférol, naringénine et rutine inhibent également la lipooxygénase (Ghedira, 2005).

III.1.5.2. Activité antiplaquettaire

Les flavonoïdes inhibent l'adhésion plaquettaire, agrégation et sécrétion. Une activité de stimulation du collagène observée pour certains flavonoïdes pourrait être bénéfique en cas de retard de plaies cutanées. En inhibant les MMPs, les flavonoïdes pourraient augmenter le taux et la quantité de collagène synthétisé par les fibroblastes nécessaires à la formation d'une nouvelle plaie matrice, accélérant ainsi le processus de guérison (Faggio, 2017).

III.1.5.3. Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiestérase et la Ca^{++} ATPase. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes. (Ghedira, 2005).

III.1.5.4. Propriétés antibactériennes et antivirales

Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus. (Ghedira, 2005).

III.1.5.5. Activité anticancéreuse

Les facteurs alimentaires jouent un rôle important dans la prévention des cancers. Les fruits et légumes contenant des flavonoïdes ont été signalés comme agents chimiopréventifs du cancer. La consommation d'oignons et / ou de pommes, deux sources majeures du flavonol quercétine, est inversement associée à l'incidence du cancer de la prostate, du poumon, de l'estomac et du sein (Kumar & Pandey, 2013).

Chapitre IV

IV. Données bibliographiques sur l'effet cicatrisant des flavonoïdes

La cicatrisation cutanée est un processus complexe qui comprend quatre phases : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération et le remodelage. Pendant la phase de prolifération, divers types de cellules migrent vers le site de la plaie. Les kératinocytes, le type le plus répandu de cellules dans l'épiderme, et les fibroblastes, le type cellulaire prédominant dans le derme, ont un rôle important dans le processus de réparation de la peau après une blessure, et leurs interactions sont essentielles pour ce processus (Hamdan *et al*., 2017).

La présente recherche bibliographique est consacrée à l'étude de l'effet pharmacologique de nouveaux traitements cicatrisants cutanés, elle a recourt à des recherches scientifiques impliquant des mécanismes cellulaires et moléculaires du processus de cicatrisation cutanée.

Ces travaux peuvent être réalisés à plusieurs niveaux *in vivo* et *in vitro*. Notre choix s'est porté sur un travail de recherche expérimentale mettant en évidence l'effet des flavonoïdes tels que la TMF et la glycitine sur le processus de cicatrisation cutanée. Ce travail s'intéresse à vérifier par des tests de migration cellulaire bidimensionnelle (Scratch Test) et tridimensionnel (Chambre de Boyden modifiée). Ainsi que l'implication des marqueurs moléculaires intervenant directement dans le remodelage de la matrice extracellulaire tels que le collagène et les MMPs. Le tableau 7 résume quelques expériences réalisées sur des modèles de la cicatrisation.

Tableau 7 : Effet de quelques flavonoïdes sur le remodelage de la matrice extracellulaire au cour de processus de cicatrisation cutané (Nguyen *et al*., 2016).

Tests	**Types d'étude *in vitro* ou *in vivo***	**Types cellulaires et modèles animaux**	**Traitements (flavonoïdes)**	**Effets observés**	**Références**
Modèle de plaie	*In vivo*	rats Wistar mâles adultes	Quercétine	Améliore la cicatrisation des plaies	(Kant *et al*., 2017)
Modèle de la plaie d'excision	*In vivo*	Wistar mâle	Kaempferol, Kaempferol 3-O-â-D – glucoside	réduction significative de la zone de la plaie	(Ambiga *et al*., 2007)
Modèle de plaie excisionnelle	*In vivo*	les souris C57BL / 6	Artocarpine (ARTO)	accélère la cicatrisation des plaies cutanées	(Yeh *et al*., 2017)
Tests de cicatrisation (scratch test)	*In vitro*	kératinocytes humains fibroblastes humains		améliore la prolifération et la migration des fibroblastes et kératinocytes humains	
Test scratch	*In vitro*	kératinocytes humain normal (NHEK, fibroblaste normal (NHDF)	la myricétine-3- *O* -β-rhamnoside	stimuler la migration des cellules NHEK et NHDF	(Moghadam *et al*., 2017)

IV.1. Exploration *in vitro* de la cicatrisation cutanée par les flavonoïdes

Les tests cellulaires les plus connus pour mettre en évidence l'effet de nouveaux traitements sur certaines étapes de la cicatrisation telle que la prolifération des cellules fibroblastes et kératinocytes, sont principalement des tests de migration tels que le scratch test (migration bidimensionnelle) et chambre de Boyden modifiée (migration 3D).

IV.1.1. Mise en évidence de la migration cellulaire par le Scratch test

Les tests de Scratch ont été utilisés dans de multiples phénomènes physiologiques pour évaluer la migration et la prolifération cellulaires dans différentes conditions expérimentales (Cormier *et al*., 2015). Les types cellulaires utilisé sont : les fibroblastes dermiques humains primaires et la lignée cellulaire de kératinocytes humains (HaCaT) (Seo *et al*., 2017).

Les tests de grattage, sont une méthode expérimentale courante utilisée pour étudier la propagation collective des cellules. Les cellules sont cultivées à confluence sur une plaque de culture, après cela un espace artificiel est créé dans la monocouche avec un instrument à pointe fine. Des images microscopiques du front cellulaire, se déplaçant dans la zone libérée, sont capturées sur environ 12 à 24 h ou plus. Les tests de migration cellulaire sont souvent utilisés pour évaluer l'impact des composés chimiques sur la migration et la prolifération cellulaires (Johnston *et al*., 2014).

Pour déterminer l'effet du traitement avec un mélange de glycitine et de TMF sur les kératinocytes et les fibroblastes, les cellules de kératinocytes HaCaT ont été ensemencées dans des plaques à 48 puits à une densité de 3×10^{4} cellules par puits pendant 24 h. Une rayure a été faite sur la monocouche en tirant une pointe de pipette stérile à travers le puits, et le milieu de culture a été complété avec du DMSO, glycitine: TMF = 1:1 (10 µ M : 10 µ M), glycitine: TMF = 1:2 (6,7 µ M : 13,3 µ M), glycitine: TMF = 2:1 (13,3 µ M : 6,7 µ M) ou milieux conditionnés à partir des fibroblastes traités dans les mêmes conditions. Au temps 0 et 24 h après le traitement, la fermeture de la plaie a été capturée à un grossissement × 40 en utilisant un microscope Olympus IX70. La distance a été mesurée à l'aide du logiciel Image J, et la différence entre la largeur initiale et finale de la rayure a été calculée (la figure 12) (Seo *et al*., 2017).

La figure 12(a, b) représente l'effet du traitement avec un mélange de glycitine et de TMF sur la migration des cellules fibroblastiques dermiques humaines. Les expériences sont menées en utilisant le scratch test pour les deux types cellulaires, les micro- photographies des cellules (figure 12a) ainsi que l'histogramme de mesure des distances de la plaie (figure 12b) sont représentés dans la figure en dessous.

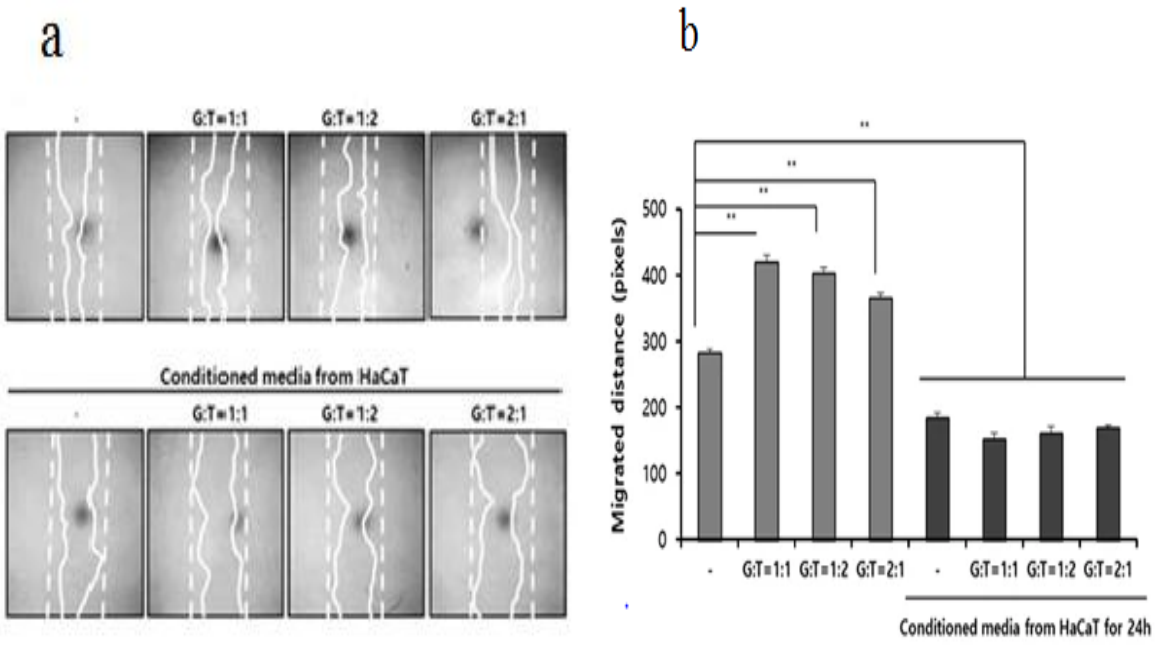

Figure 12(a,b) : Essai de cicatrisation des plaies par scratch test avec des fibroblastes dermiques traitées pendent 24h à différentes concentrations de Glycitine-TMF et milieux conditionnants des kératinocytes HaCaT. a : Microphotographies des cellules fibroblastes dermiques. b : distances de migration mesurée à l'aide du programme Image J. * : P <0,05 par rapport au contrôle, ** : P <0,001 par rapport au contrôle, G: glycitine, T: TMF. TMF, 4 ', 6,7-triméthoxyisoflavone (Seo *et al*., 2017).

D'après les résultats de la figure 12(a, b), le chercheur Seo et ses collaborateurs ont remarqué que la migration des fibroblastes a été augmentée dans tous les groupes traités par G:T. La distance migratoire des fibroblastes traités avec des milieux conditionnés a en fait diminué par rapport au groupe témoin non traité. Cela suggère que le traitement avec la glycitine et le TMF induit la cellule HaCaT à produire des facteurs qui inhibent la migration des fibroblastes (Seo *et al*., 2017).

IV.1.2. Mise en évidence de l'invasion par la Chambre de Boyden modifiée

Ce test, appelé aussi Transwell, repose sur la migration par chimiotactisme des cellules. Elles sont ensemencées dans une chambre sur une membrane semi-perméable dont la porosité peut varier de 3 à 12 µm. La chambre est posée dans un puits qui contient du milieu avec le chimioattractant. Les cellules migrent à travers la membrane et sont ensuite détectées par différentes méthodes (fluorescence, coloration au crystal violet, etc). La capacité migratoire des cellules peut ainsi être mesurée et quantifiée. De manière à simuler le microenvironnement physiologique, les filtres peuvent être recouverts avec une protéine de la matrice extracellulaire comme la fibronectine ou le collagène (Desroches-Castan, 2014).

Les fibroblastes dermiques humains primaires et la lignée cellulaire des kératinocytes humains(HaCaT) ont été utilisés dans ce test.

La méthode consiste en des essais de culture unique, des cellules HaCaT ou des fibroblastes (7×10^{4} cellules par puits) ensemencés dans l'insert d'invasion de 12 puits, et la partie inférieure a été rempli avec des milieux de culture. Pour les tests de co-culture, un type de cellule a été ensemencé dans l'insert, et l'autre type a été ensemencé dans le bas du puits, en utilisant un nombre égal de chacun (par exemple, des cellules HaCaT dans l'insert et des fibroblastes dans le bas et vice versa). La membrane permet l'échange de milieux pendant l'incubation. Après 24 h, du milieu sans sérum a été ajouté à l'insert pour permettre la chimiotaxie, et les cellules à la fois dans l'insert et dans le fond ont été traitées avec le contrôle DMSO ou G:T = 1:1 pendant 48 h. Les cellules sur la face supérieure de l'insert ont ensuite été retirées à l'aide d'un coton-tige, et les cellules sur la face inférieure de l'insert ont été fixées avec 4% de formaldéhyde. Après lavage avec du PBS, les cellules envahies ont été colorées avec une solution de cristal violet à 1%, et les photographies ont été acquises à un grossissement de x 4 en utilisant un microscope Olympus IX70. La capacité invasive a été mesurée à l'aide du programme Image J (la figure 13) (Seo *et al*., 2017).

La figure 13 en dessous représente l'effet de la glycitine et le TMF sur la capacité invasive des fibroblastes dermiques primaires et des kératinocytes HaCaT. Les expériences sont menées en utilisant la chambre de Boyden modifiée en simple ou co-culture indirecte des deux types cellulaires, des schémas les représentants sont montrés dans la figure 13a et 13c. Les microphotographies des inserts après fixation et coloration au cristal violet sont montrées dans les figures 13 a et 13 c. Les figures 13b et 13d montrent le pourcentage d'invasion des cellules testées.

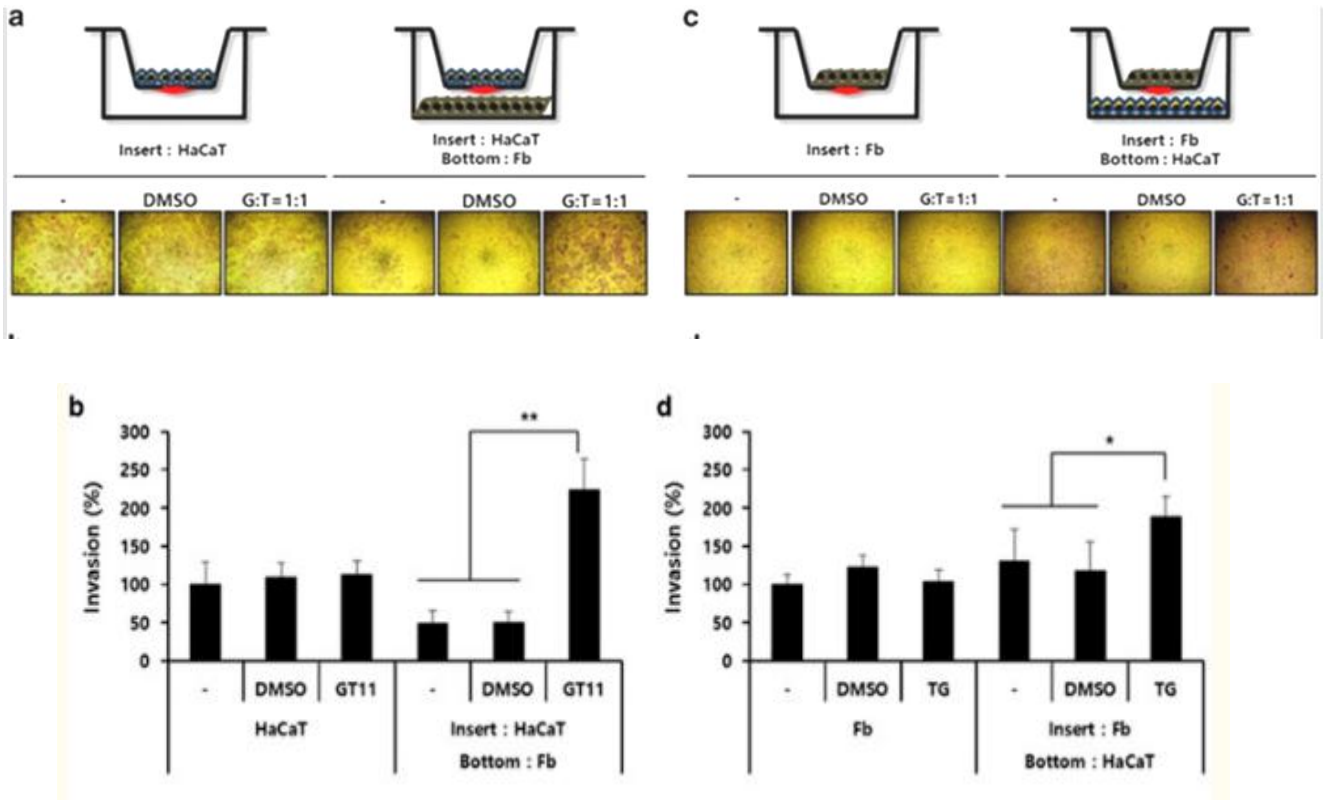

Figure 13 : (a, b) test d'invasion Transwell avec des kératinocytes HaCaT ensemencés sur insert en simple ou en co-culture indirecte avec des fibroblastes traités avec G:T = 1:1 (10µM) pendant 48h .(c, d) : Test Transwall avec des fibroblaste dermiques primaires ensemencés sur insert en simple ou en co-culture indirecte avec des Kératinocytes traitées avec G:T = 1:1 (10µM) pendant 48h .(b, d) : pourcentage de l'invasion cellulaire (* P <0,05 par rapport au contrôle, **P <0,001 par rapport au contrôle, G: glycitine, T: TMF(Figure 13b et d, droite). (Seo *et al*., 2017).

D'après les résultats de la Figure (13b et d , diagramme de gauche), les chercheurs Seo et ses collaborateurs ont montré que le traitement des cellules HaCaT et des fibroblastes individuellement avec G:T=1:1 n'affectait pas de manière significative l'invasion. Pour les fibroblastes et les kératinocytes co-cultivés stimulés avec G:T=1:1 il y a une augmentation significative de l'invasion par rapport aux témoins.

Dans la même optique, pour la mise en évidence de l'effet de la glycitine et le TMF sur la capacité invasive des fibroblastes dermiques primaires et des kératinocytes HaCaT, le chercheur Seo et ses collaborateurs ont réalisé également la même expérience (chambre de boyden modifiée) pour la co-culture directe des deux types cellulaires en insert.

D'après l'observation des résultats obtenus, le traitement par un mélange de glycitine et de TMF dans un système de co-culture directe des kératinocytes HaCaT et fibroblastes dermiques humains

primaires, améliorait l'invasion des deux types des cellules, suggérant qu'il y ait une interaction chimique entre les deux types cellulaires (Seo *et al*., 2017).

IV.2. Exploration *in vivo* de la cicatrisation cutanée par les flavonoïdes

Les modèles physiopathologiques animaux utilisés à ces fins de recherche sont nombreux, on peut citer : le modèle de plaie par excision et modèle de brûlure. Ces tests utilisent des protocoles établis mettant en évidence l'efficacité d'un nouveau traitement comparé à un traitement de référence.

IV.2.1. Mise en évidence de la fermeture des plaies et le remodelage tissulaire par excision *in vivo*

Les études expérimentales mettant en évidence l'effet des nouvelles thérapies sur la cicatrisation cutanée sont nombreuses, les tests *in vivo* les plus explorés sont : le test de brûlure et de plaie par excision.

Pour vérifier davantage que le co-traitement avec la glycitine et le TMF peut favoriser la cicatrisation des plaies, Seo et ses collaborateurs ont évalués les effets de ces composés dans un test d' excision *in vivo* en utilisant des souris ICR mâles de six semaines (n = 6 pour chaque groupe) (Seo *et al*., 2017). Toutes les procédures ont été approuvées par le Comité de protection et d'utilisation des animaux de l'Université nationale de Jeju (Corée). Avant de réaliser la blessure cutanée (plaie), la fourrure a été enlevée avec une tondeuse électronique et une crème dépilatoire. Les plaies cutanées ont ensuite été placées au milieu du dos à l'aide d'un instrument à poinçon de 5 mm. Les blessures des souris du groupe expérimental ont été traitées quotidiennement avec 200 µl d'un mélange 1:1 de glycitine et de TMF (200 µ M : 200 µ M) dissous avec du butylène glycol pendant 14 jours. Madecassol (Dongkook pharmaceutique, Séoul, République de Corée) et Fucidine (DongWha pharm, Séoul, République de Corée) ont été utilisés comme témoins positifs et appliqués sur les sites de plaie à la même concentration et pendant la même durée. Les plaies ont été visualisées tous les 2 jours, et le taux de fermeture de la plaie a été calculé en pourcentage relatif de la zone d'origine de la plaie, en utilisant le programme image J (la figure 14**)**. À 14 jours après la blessure, le tissu cutané a été isolé et fixé en utilisant une solution de formaldéhyde à 4%. Les tissus inclus dans la paraffine ont été coupés en sections de 3 µm et colorés à l'aide d'hématoxyline-éosine et de trichrome de Masson afin de visualiser les dépôts de collagène sous l'effet des différents traitements (la figure 15**)** (Seo *et al*., 2017).

Dans un modèle de plaie excisionnelle, la cicatrisation se produit à partir des bords de la plaie. Ce type de modèle permet l'évaluation la plus large des mécanismes impliqués dans la cicatrisation des plaies, y compris l'épithélialisation, la formation de tissu de granulation (GT), la formation de cicatrices, la contraction et l'angiogénèse. Les plaies sont facilement récoltées et peuvent être analysées par immunohistochimie et méthodes moléculaires (Galiano *et al*., 2004).

La figure 14 ci-dessous représente l'effet de co-traitement avec TMF et glycitine par rapport au traitement par les deux pommades (Madecassol et Fucidine) sur la fermeture de la plaie. Les expériences sont menées en utilisant le modèle de plaie par excision *in vivo.* Des photographies ont été prises tous les 2 jours (figure 14a) et les pourcentages de fermeture des plaies ont été mesurés à l'aide du programme Image J (figure 14b).

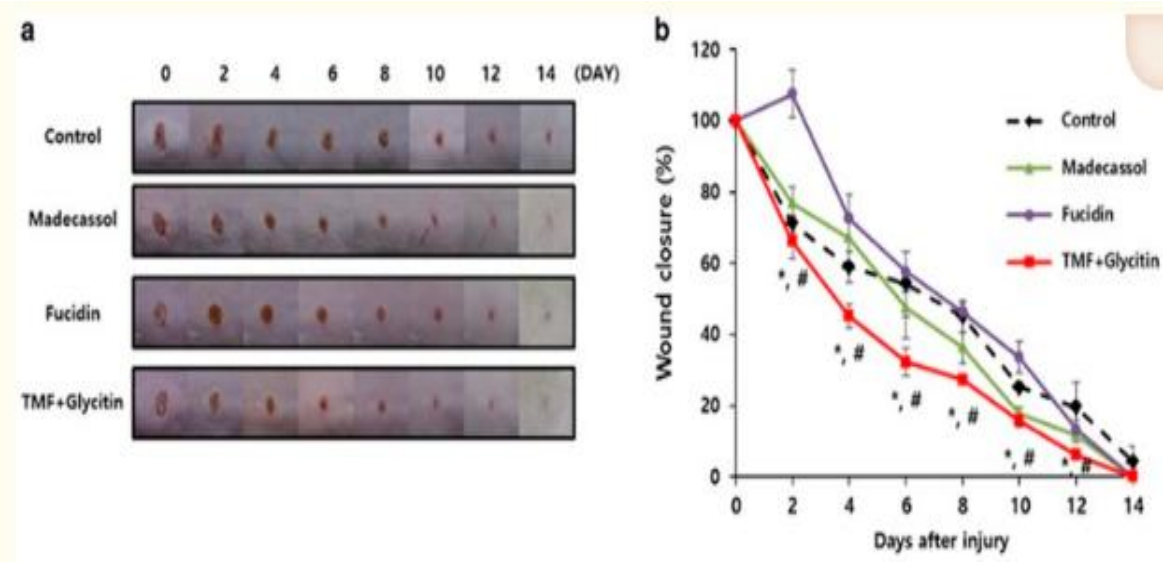

Figure 14 : (a, b) Fermeture de la plaie dans le modèle de plaie excisionnelle après 2 semaines. «Contrôle» indique le butylène glycol; * P <0,05 par rapport au Madécassol, # P <0,001 par rapport à Fucidine (Seo *et al*., 2017).

D'après les résultats de la figure 14(a, b), le chercheur Seo et ses collaborateurs, ont remarqué que la fermeture de la plaie pour des souris traitées avec G:T = 1:1 était plus rapide, par rapport aux groupes Madecassol et Fucidine et comparés au contrôle. Ces données sont en cohérence avec les résultats précédents, démontrant que ces composés sont plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés dans un rapport 1:1.

La figure 15(a, b) ci-après représente l'effet de co-traitement avec TMF et glycitine sur la synthèse du collagène qui joue un rôle important dans la phase de remodelage de la matrice extracellulaire au cours du processus de cicatrisation cutanée. Les microphotographies des coupes de la peau des

blessures sous les différents traitements sont montrées dans les figures 15 a, après fixation et coloration avec l'hématoxyline / éosine et du trichrome de Masson. L'histogramme représente la quantification de la teneur en collagène des tissus de la peau sous différents traitements réalisés par le programme Image J (figure 15 b).

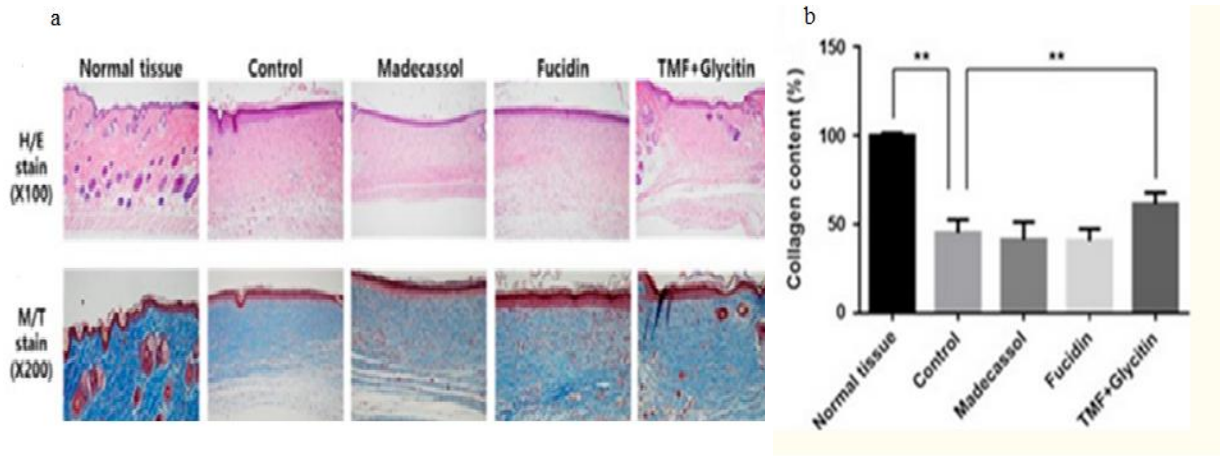

Figure15 : a : Microphotographies des coupes des blessures de la peau sous les différents traitements. coloration avec de l'hématoxyline/éosine (H/E) et du trichrome de Masson (M/T), b : la teneur en collagène a été mesurée 14 jours après la blessure en utilisant le programme Image J (Seo *et al*., 2017).

La coloration à l'hématoxyline / éosine a montré qu'un traitement combiné avec de la glycitine et du TMF favorisait efficacement le développement d'appendices spécialisés dans le site de la plaie, y compris les follicules pileux et les glandes sudoripares, qui présentaient des morphologies similaires à celles d'une peau normale (figure 15a). Les résultats obtenus avec la coloration au trichrome de Masson présentent un remodelage tissulaire plus efficace en présence du nouveau traitement (Glycitine-TMF) comparés aux autres traitements et au contrôle. La figure 15b démontre également que le co-traitement par la glycitine et le TMF (G:T=1:1) favorise la synthèse et la régénération du collagène par rapport au traitement par les deux pommades de référence (Madecassol et Fucidine) et au contrôle (Seo *et al*., 2017).

Le chercheur Seo et ses collaborateurs ont utilisé aussi un autre modèle *in vivo* : le modèle murin de brûlure ; pour vérifier davantage que le co-traitement avec la glycitine et le TMF favorise la guérison des brûlures cutanées, en explorant également la réduction du diamètre de la brûlure à la cicatrisation et l'augmentation de la synthèse du collagène au niveau de la peau par coloration au trichrome de Masson (Seo *et al*., 2017) représentant une amélioration de la régénération des appendices et un pannicule entièrement formé pour le groupe co-traité glycitine / TMF, en

particulier. Par contre la glycitine n'a aucun effet sur la ré-épithélialisation et contribue à la synthèse du collagène (Seo *et al*., 2017).

IV.3. Tests moléculaires d'exploration de l'effet de la glycitine sur la cicatrisation cutanée

Des tests au niveau moléculaires ont été réalisés afin d'explorer l'efficacité des traitements aboutissant à résoudre une partie des mécanismes moléculaires impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire.

La présente recherche bibliographique résume des travaux mettant en évidence les expressions géniques et/ou protéiques des principaux marqueurs du remodelage tissulaire à savoir les MMPs, collagène et fibronectine. Pour cela plusieurs techniques moléculaires, biochimiques et immunologiques sont utilisées : la Zymographie, le Western blot et la RT-PCR. Le tableau 8 résume quelques méthodes de profilage pour les MMPs.

Tableau 8 : Méthodes de profilage pour les MMPs (Nguyen *et al*., 2016).

Méthode	**Avantages**	**Limites**
ARNm et RT-PCR	Rapide, simple et peu coûteux	Ne mesure pas la quantité et l'activité des protéinases
Western blot et immunohistochimie	Simple, sensible et spécifique	Nécessite des anticorps spécifiques et coûteux et ne fait pas la distinction entre les MMPs zymogènes, actives et complexées par le TIMP(les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases)
Zymographie de la gélatine	Matériaux bon marché, semi-quantitatifs	Incapable de faire la distinction entre les MMPs actives et complexées par TIMP, faible sensibilité
Zymographie *in situ*	L'identification des MMPs peut être effectuée dans les tissus	Limité à la disponibilité de substrats fluorescents, mais pas quantitatifs, et difficile à distinguer entre les différentes MMP, faible sensibilité
Profilage enzymatique basé sur l'activité	Spécificité	Nécessite une bibliothèque des sondes sélectives dirigées par MMPs
Résine d'affinité TAPI-2	Identifie les MMPs actifs	Les matériaux de départ sont très chers et nécessitent la liaison par l'utilisateur du TAPI à la résine
Résine d'affinité attachée à un inhibiteur de MMPs	Identifie et quantifie les MMPs actives	Nécessite la synthèse d'un inhibiteur de MMPs lié de manière covalente à la résine

Les auteurs de ce travail de recherche *in vitro*, Kim et ses collaborateurs en 2015, mettent en exergue la modulation par la glycitine de l'expression de certains marqueurs impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire tels que le collagène, fibronectine et les MMPs en utilisant des techniques moléculaires et biochimiques sur les cellules fibroblastes dermiques primaires.

IV.3.1. Expression de MMP par la technique du Western blot

Les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS (Phosphate Buffered Saline) et récoltées dans du tampon RIPA (50mM Tris-HCl, pH 8,1; 150 mM de NaCl; 1% de NP-40; 0,5% le désoxycholate de

sodium; 0,1% de dodécylsulfate de sodium [SDS; Sigma-Aldrich] et inhibiteur de protéase). La concentration de protéines totales a été mesurée en utilisant le dosage de l'acide bicinchoninique (Pierce, Rockford, IL, États-Unis). Les échantillons de protéines étaient séparés sur gels SDS-polyacrylamide, transférés sur membranes PVDF (polyvinyldiène difluorure) (Millipore, Bedford, MA, USA), l'immunodétection est réalisée avec des anticorps dirigés contre les différentes cibles moléculaires investiguées : anti-collagène I, anti- collagène III, anti-fibronectine, anti-actine, anti-MMP-1 (Santa Cruz, CA, USA) puis marqués avec les anticorps secondaires. Les signaux ont été détectés à l'aide d'un substrat chimioluminescent amélioré (WEST-ZOL, iN- tRON Biotechnology Inc., Séoul, Corée) (figures 16A et B) (Kim *et al*., 2015).

IV.3.2. Expression génique des marqueurs du remodelage tissulaire par RT-PCR

Depuis son invention, la PCR est devenue la technique la plus utilisée pour la détection de l'ADN et de l'ARN. À partir d'une simple copie d'une séquence particulière d'acides nucléiques, cette séquence peut être spécifiquement amplifiée et détectée. Sa nature exponentielle rend cette technique attrayante pour des analyses quantitatives. Le développement de la PCR quantitative en temps réel a éliminé les variabilités traditionnelles associées à la PCR quantitative et permet la quantification du produit de la PCR de façon fiable et routinière. Au début de la réaction PCR, les réactifs sont en excès mais en concentration assez faible afin d'éviter que la renaturation des amplicons n'entre en compétition avec l'hybridation des amorces (primers). L'amplification est alors réalisée de façon constante à un taux exponentiel à l'aide d'une ADN polymérase thermostable. Après la phase exponentielle, la réaction d'amplification entre dans une phase linéaire où le taux d'amplification devient extrêmement variable, même au niveau de replica d'un même échantillon, à cause d'une compétition entre la renaturation des amplicons et l'hybridation des amorces. Suit ensuite une phase plateau où le taux d'amplification décroît à près de zéro générant très peu d'amplicons. Afin de recueillir des données quantitatives avec précision, chacun des échantillons doit être analysé dans sa phase exponentielle d'amplification qui est la phase la plus reproductible de la réaction de PCR. La PCR en temps réel fait donc le suivi de la fluorescence émise pendant la réaction avec un indicateur de la production des amplicons durant chaque cycle (Poitras & Houde, 2002).

Les chercheurs on procédé à l'extraction de l'ARN Total à partir des cellules traitées ou non par le mélange Glycitine-TMF en utilisant le réactif TRIzol (Invitrogen) selon les instructions du fabricant. La transcription inverse a été réalisée en utilisant le Système de transcription inverse (Promega, Madison, WI, ETATS-UNIS). Après réaction en chaîne par polymérase, les copies d'ADN ont été séparées par électrophorèse dans des gels d'agarose à 1% contenant solution de

coloration d'acide nucléique à 0,002% (RedSafe, iNtRON Biotechnology Inc) (figures 16A, B et C) (Kim *et al*., 2015).

IV.3.3. Mesure de l'Activité enzymatique des MMPs par Zymographie gélatinolytique

La zymographie à la gélatine est une méthode simple mais puissante pour détecter les enzymes protéolytiques capables de dégrader la gélatine de diverses sources biologiques. Il est particulièrement utile pour l'évaluation de deux membres clés de la famille des métalloprotéinases matricielles, MMP-2 (gélatinase A) et MMP-9 (gélatinase B), en raison de leur puissante activité de dégradation de la gélatine. Cette méthode basée sur l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide peut fournir une évaluation fiable du type de gélatinase, de la quantité relative et de l'état d'activation (latente, par rapport aux formes enzymatiques actives) dans les cellules, les tissus et les fluides biologiques en culture. La méthode peut être utilisée pour étudier les facteurs qui régulent l'expression de la gélatinase et modulent l'activation du zymogène dans des systèmes expérimentaux (Toth *et al*., 2012).

Les échantillons ont été chargés sur des gels dénaturants 10% de polyacrylamide contenant 1 mg / ml Gélatine. Après électrophorèse, les gels ont été lavés avec 2,5% Triton X-100, incubé pendant une nuit à 37 ° C dans tampon de zymographie, puis coloré avec Bleu brillant de Coomassie. L'activité gélatinolytique a été visualisée comme zones claires (lyse) dans le gel (figures 16 C) (Kim *et al*., 2015).

Résultats des tests moléculaires

Kim et ses collaborateurs ont aboutit aux résultats montrés ci-dessous dans la figure (16 A) ils montrent l'expression des protéines par la technique de WB (à gauche) et des gènes (à droite) de collagène I et III ainsi que la fibronectine. Les figures (16 B) représentent également l'expression protéique (à gauche) et du gène (à droite) de la MMP-1. L'expression du gène de la MMP-2 (à droite) et son activité gelatinolytique (à gauche) sont représentés dans la figure (16 C). Les quantifications densitométriques sont représentées par les histogrammes en dessous des trois figures (16A, B et C).

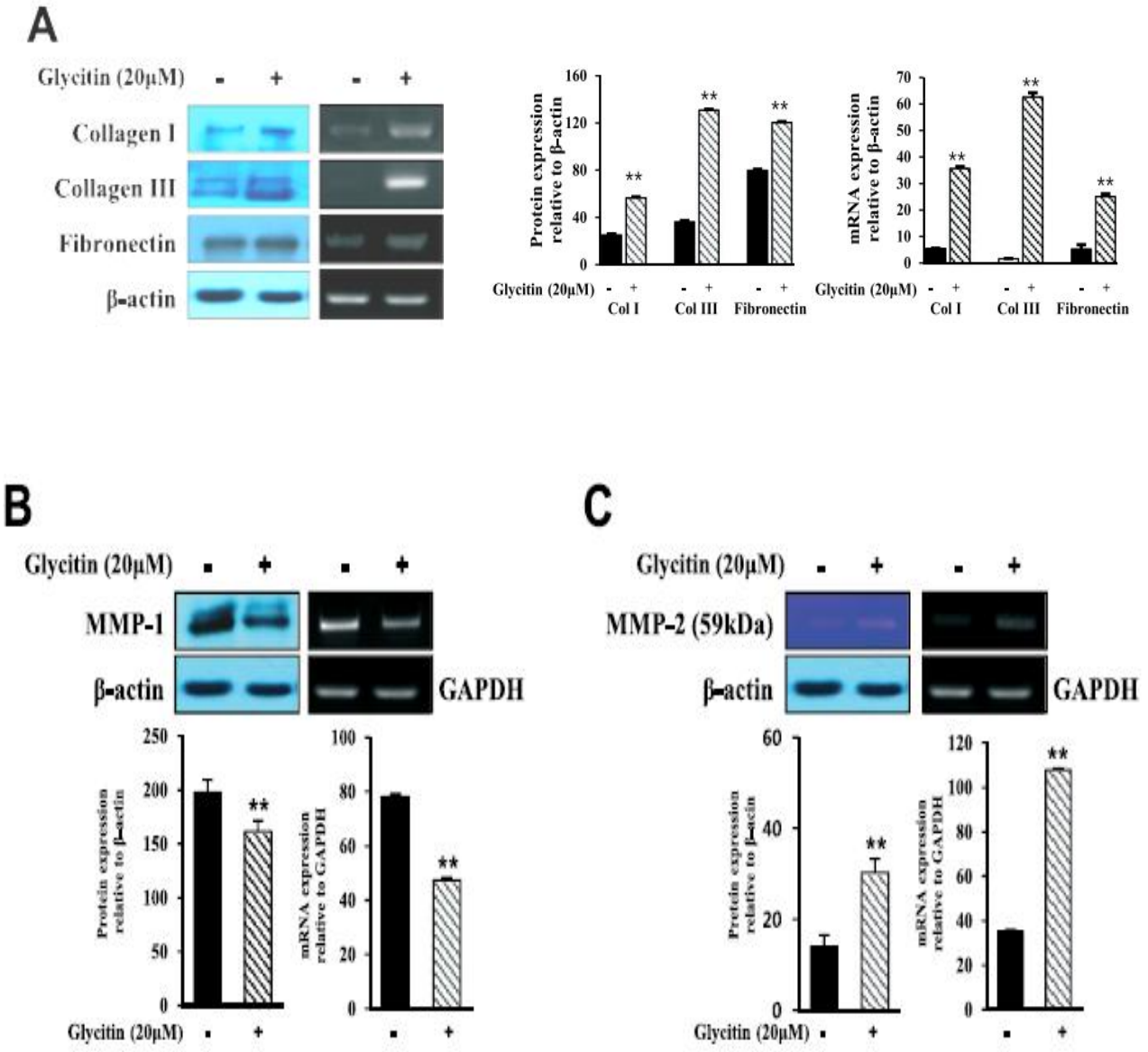

Figure 16 : Des cellules de fibroblastes dermiques humains ont été incubées dans des plaques de 100 mm avec un milieu sans sérum contenant de la glycitine pendant 24 h. (A) analyse par Western blot (image de gel de gauche) et RT-PCR (image de gel de droite) pour le collagène de type I, le collagène de type III et la fibronectine. (B) analyse par Western blot (image de gel de gauche) et RT-PCR (image de gel de droite) pour les niveaux de MMP-1. (C) Zymographie (image gel gauche) et analyse par RT-PCR pour expres-sion de MMP-2 (image de gel de droite). Les données, qui sont présentées dans les graphiques correspondants comme les moyens± écart-type d'au moins trois réplicats, sont donnés par rapport à l'actine et à la GAPDH. * p <0,05, ** p <0,01 par rapport au contrôle. mTOR, mammifère cible de la rapamycine (Kim *et al*., 2015).

D'après l'observation des résultats de la figure 16, le chercheur Kim et ses collaborateurs ont constaté que le traitement à la glycitine (20 µM pendant 24 h) induisait d'une part la synthèse de deux types de collagènes I et III et de la fibronectine (figure 16A) et d'autre part inhibe la synthèse

de la collagénase (MMP-1) (figure 16B). L'augmentation de l'expression du collagène dans le milieu résultait en partie d'une diminution de la production de collagénase. La production de collagénase MMP-1 dans le milieu a diminué après 24h de traitement à la glycitine (Figure 16B). Cependant, l'activité de la MMP-2 gélatinase a été augmentée avec un traitement à la glycitine (Figure 16C) (Kim *et al*., 2015).

IV.5. Discussion

Les isoflavones sont des composés phytoestrogènes que l'on trouve dans les légumineuses, dans l'alimentation des animaux d'élevage, le soja (*Glycine max*), le trèfle rouge (*Trifolium pratense*) et le trèfle blanc (*Trifolium repens*) et la luzerne (*Medicago sativa*). Ils sont d'importantes sources d'isoflavones (Křížová, 2019). Dans le soja, ceux-ci peuvent être présents sous l'une des trois formes aglycones, connues sous le nom de daizeine, génistéine et glycitéine, ou sous les formes glycosidiques correspondantes, appelées respectivement daidzine, génistine et glycitine.

D'après la littérature, le traitement avec l'isoflavone de soja, la glycitine, favorisait la prolifération et la migration des fibroblastes mais n'avait aucun effet sur les kératinocytes. A l'inverse, un traitement avec le dérivé d'amphiisoflavones, le TMF, a conduit à l'induction de la migration des kératinocytes, mais pas des fibroblastes. Parce que la prolifération et la migration des kératinocytes et des fibroblastes dermiques sont essentielles pour la réparation efficace des plaies cutanées. Les chercheurs ont testé l'effet d'un traitement combiné glycitine-TMF sur ces types de cellules dans un système de co-culture et dans deux modèles murins pour mettre en évidence leur effet sur la réparation cutanée (Seo *et al*., 2017).

Les kératinocytes et les fibroblastes dermiques interagissent étroitement les uns avec les autres et nécessitent des interactions cellule-cellule pour produire un environnement cellulaire propice à la cicatrisation des plaies. De manière critique, il a été montré que la co-culture de kératinocytes en présence de fibroblastes a des effets profonds sur la réorganisation et la différenciation épithéliales, qui diffèrent de ce qui est observé lorsque les kératinocytes sont cultivés seuls ou avec peu de cellules fibroblastiques. Cette réorganisation de l'épiderme semble être médiée par un facteur diffusible, ainsi que les interactions de la matrice cellulaire spécifique qui se produisent par l'intermédiaire de la voie de l'intégrine. En tant que principal type cellulaire situé à côté de l'épiderme, les fibroblastes synthétisent des composants de la MEC et sont également capables de sécréter des facteurs pour moduler la prolifération, la migration et la différenciation d'autres cellules, en particulier les kératinocytes (Seo *et al*., 2017).

Dans la présente étude bibliographique, le chercheur Seo et ses collaborateurs ont constaté que lorsque les kératinocytes et les fibroblastes sont cultivés de telle sorte qu'ils ne se contactent pas mais partagent un milieu, la capacité invasive des fibroblastes augmentait remarquablement de dix fois, alors que la migration n'était pas affectée (figures 12). Notamment, dans ces mêmes conditions, la prolifération, la migration et l'invasion des kératinocytes étaient toutes élevées, par rapport aux témoins (figures 13). Les myofibroblastes sont la forme activée des fibroblastes dermiques et sont caractérisés par des caractéristiques mésenchymateuses. Ces cellules sécrètent des enzymes dégradant la MEC, appelées MMP, et présentent une viabilité et une invasion accrues. D'après la figure 18, le traitement avec un mélange contenant un rapport 1:1 de glycitine et de TMF peut favoriser l'activation et la différenciation des fibroblastes (Seo *et al*., 2017). Aussi dans une autre étude, le chercheur Yeh et ses collaborateurs montre que le flavonoïde artocarpine améliore la cicatrisation des plaies cutanées grâce à de multiples mécanismes. En particulier, l'amélioration de la migration des fibroblastes et des kératinocytes (Yeh *et al*., 2017).

Les résultats observés par le chercheur Moghadam et ses collaborateurs utilisant un autre flavonoïde myricétine-3- O-β-rhamnoside (Moghadam *et al*., 2017) corroborent les résultats obtenus par Seo et ses collaborateurs concernant la migration et la différenciation des cellules fibroblastiques sous l'effet de la glycitine-TMF.

La cicatrisation des plaies est un processus complexe qui vise à restaurer l'intégrité des tissus. Plusieurs types de cellules et de tissus, dont les kératinocytes, les fibroblastes, les vaisseaux sanguins, les macrophages et les neutrophiles sont impliqués dans ce processus et communiquent entre eux via des facteurs sécrétés circulants. La «bonne» cicatrisation de la plaie peut indiquer une fermeture plus ou moins rapide de la plaie de cicatrices. Le co-traitement avec la glycitine et le TMF favorise la diminution de la taille de la cicatrice dans le modèle de brûlure altérée. Dans cette étude, la glycitine et le TMF agissent en synergie pour favoriser la régénération épidermique et l'activation dermique. Plus précisément, le traitement avec ces composés influence l'interaction entre les kératinocytes et les fibroblastes pour favoriser la cicatrisation des plaies *in vitro* et *in vivo*. En outre, un traitement à long terme aide à réduire la taille de la cicatrice après une brûlure en dégradant les composants de la matrice, tels que le collagène, dans un modèle de brûlure de souris. Dans une autre étude précédente le chercheur Ambiga et ses collaborateurs montre le même résultat (amélioration significative de la cicatrisation des plaies) pour d'autres flavonoïdes Kaempferol et Kaempferol 3-O-â-D –glucoside (Ambiga *et al*., 2007). Le chercheur Yeh et ses

collaborateurs montrent que le flavonoïde artocarpine améliore la cicatrisation des plaies cutanées grâce à de multiples mécanismes (Yeh *et al*., 2017).

De même, Kant et ses collaborateurs sont confirmé les mêmes observations en utilisant la quercétine dont l'application topique à 0,1% a accéléré la fermeture de la plaie (Kant *et al*., 2017) Park et ses collaborateurs ont observé que la cinétique guérison était beaucoup plus rapide avec le kaempferol (Park *et al*., 2010).

Les métalloprotéinases sont des endopeptidases qui utilisent un ion Zn^{2+} ou Ca^{2+} dans leur site actif (Gill & Parks, 2008). Les MMPs sont également impliquées dans l'homéostasie du vieillissement cutané *via* le remodelage de la MEC. La MMP-1 est probablement l'enzyme responsable pour la plupart des dommages au collagène dans la peau humaine. Il est également à l'origine de la diminution maximale du procollagène.

Le chercheur kim et ses collaborateurs ont constaté que le traitement à la glycitine stimule la production du collagène par les fibroblaste aussi que la réduction de la synthèse des métalloprotéinase matricielles (MMP-1) (Kim *et al*., 2015).

Les deux chercheures Lim et Kim ont conclu que le traitement par les flavonoïdes d'origine naturelle quercétine, kaempférol, apigénine et wogonine inhibaient la synthèse des MMP-1, ces résultats sont conformes à ceux obtenu par Seo et ses collaborateurs (Lim & Kim, 2007).

D'après les résultats d'autres chercheurs Seo et Lee ont remarqué que le traitement par le flavonoïde Skullcapflavone n'a pas affecté la sécrétion de collagène de type I mais a réduit la sécrétion de MMP-1 de manière dose et temporelle dépendante. Ce qui est confirmé par les travaux de Kim et ses collaborateurs (Lee *et al*., 2019).

Les fibres de collagène sont le principal composant de la MEC. Les principales fibres de collagène sont les types I, II, III (fibrillaire) et IV, V, VI (non fibrillaire ou amorphe) (Oliveira et *al*., 2019).

Les travaux de Kim et ses collaborateurs montrent que le traitement à la glycitine (20 µM pendant 24 h) induisait la synthèse de deux types de collagènes I et III (figure 2A). Idem pour Nazaruk et Galicka qui ont remarqué que le traitement par le flavonoïde pédalitine augmentait la synthèse des deux types de collagène I et III (Nazaruk & Galicka, 2014).

En conclusion, nos données suggèrent que la glycitine et le TMF agissent ensemble sur les kératinocytes et les fibroblastes pour induire la cicatrisation des plaies et la réduction des cicatrices. Nous suggérons en outre que ces composés peuvent détenir un potentiel thérapeutique pour le développement de traitements améliorés pour les lésions cutanées.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La peau est une membrane externe qui recouvre entièrement la surface du corps. C'est une barrière anatomique et physiologique entre le milieu intérieur caractérisé par son homéostasie remarquable et le milieu extérieur particulièrement agressif. Elle est la première défense du corps humain contre les agressions extérieures (rayonnement solaire, produits chimiques, froid, infections…) et elle est aussi un organe d'échange avec le milieu extérieur.

La cicatrisation cutanée est un phénomène de réparation tissulaire qui met en jeu de nombreux processus cellulaires et moléculaires qui sont habituellement décrits en quatre phases se chevauchant partiellement : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération et le remodelage tissulaire.

L'évolution de la cicatrisation peut être modifiée par diverses causes : maladies, nutrition, radiations, produits chimiques (médicaments ou autres).

Nous avons vu qu'il existe aujourd'hui beaucoup de molécules réparatrices. Elles sont utilisées dans de multiples préparations, essentiellement sous forme de crème ou pommade pour minimiser les traces laissées sur la peau, éviter l'inflammation, les douleur ou bien sous forme des extraits végétaux et de ses composés actifs pour le traitement des plaies parmi ces derniers nous avons cité l'exemple de deux isoflavones le TMF et la glycitine, ils agissent en synergie pour favoriser la cicatrisation des plaies, accélérer la régénération de la peau et réduire la formation de cicatrices après une blessure.

Les tests *in vitro* de migration cellulaire et les modèles *in vivo* de cicatrisation prélevés de la bibliographie ont permit de révéler l'effet des flavonoïdes (glycitine et TMF) sur l'interaction entre les différents types cellulaires (Kératinocytes et fibroblastes) intervenant dans le processus de cicatrisation et d'en déterminer quelques mécanismes moléculaires impliqués dans une des phases de la cicatrisation cutanée s'agissant du remodelage tissulaire par l'exploration de certains marqueurs biochimiques. Les flavonoïdes pourraient potentiellement être proposés collectivement en tant que thérapeutique synergique bioactive pour le traitement des plaies cutanées.

Cette étude sur la cicatrisation par les flavonoïdes peut être enrichie par des études ultérieures sur le mécanisme d'action des flavonoïdes à différents niveaux du processus de cicatrisation notamment sur le remodelage de la matrice extracellulaire par l'exploration de la modulation des activités enzymatiques de MMP ainsi que la migration cellulaire.

Références

Les références bibliographiques

A

Abdeldjelil M., 2016. Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) Sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse : Pharmacologie. Université des Frères Mentouri Constantine 1, p8, 9, 36,37.

Agyare, C., Bekoe, E. O., Boakye, Y. D., Dapaah, S. O., Appiah, T., & Bekoe, S. O. (2016). *Medicinal plants and natural products with demonstrated wound healing properties* (p. 513). London: InTech.

Ahmad, V. (2020). Prospective of Extracellular Matrix and Drug Correlations in disease management. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

Ambiga, S., Narayanan, R., Gowri, D., Sukumar, D., & Madhavan, S. (2007). EVALUATION OF WOUND HEALING ACTIVITY OF FLAVONOIDS FROM IPOMOEA CARNEA Jacq. *Ancient science of life*, *26*(3), 45–51.

B

Battu, V., & Brischoux, S. (2012). Les plaies: définitions et étiologie. *Actualités Pharmaceutiques*, *51*(518), 14-19.

Batzios, S. P., Zafeiriou, D. I., & Papakonstantinou, E. (2013). *Extracellular matrix components: An intricate network of possible biomarkers for lysosomal storage disorders FEBS Letters, 587(8), 1258–1267.*

Becker, Y. (1995). *An analysis of the role of skin Langerhans cells (LC) in the cytoplasmic processing of HIV-1 peptides after "Peplotion" transepidermal transfer and HLA class I presentation to CD8+ ctls—An approach to immunization of humans. Virus Genes, 9(2), 133–147.*

Benkhaled, A., Boudjelal, A., Napoli, E., Baali, F., & Ruberto, G. (2020). Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of Artemisia absinthium essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *10*(11), 496.

Beroual, K., Agabou, A., Abdeldjelil, M. C., Boutaghane, N., Haouam, S., & Hamdi-Pacha, Y. (2017). EVALUATION OF CRUDE FLAXSEED *(Linum usitatissimum L)* OIL IN BURN WOUND HEALING IN NEW ZEALAND RABBITS. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, *14*(3), 280–286.

BOUKELOUA A., 2016. Exploration des potentialites therapeutiques de la phytopharmacopee traditionnelle algerienne : etude de quelques plantes a activite cicatrisante.these : biotechnologie végétale. Universite des freres mentouri – constantine, 51p.

Boulais, N., & Misery, L. (2007). Merkel cells. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *57*(1), 147-165.

Brown, TM et Krishnamurthy, K. (2018). Histologie, derme. Dans *statpearls [Internet]*. Publication de statpearls.

C

Chen, YJ, Dai, YS, Chen, BF, CHANG, A., CHEN, HC, LIN, YC, ... Et LAI, YJ (1999). L'effet de la tétrandrine et des extraits de Centella asiatica sur la dermatite aiguë de radiation chez le rat. *Bulletin biologique et pharmaceutique* , *22* (7), 703-706.

Chhabra, S., Chhabra, N., Kaur, A., & Gupta, N. (2017). Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, *16*(4), 403–423.

Cook, N. (1996). Flavonoids?Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Journal of the European Ceramic Society, 66–76.

Cormier, N., Yeo, A., Fiorentino, E., & Paxson, J. (2015). *Optimization of the Wound Scratch Assay to Detect Changes in Murine Mesenchymal Stromal Cell Migration After Damage by Soluble Cigarette Smoke Extract. Journal of Visualized Experiments, (106))*

D

Dahmani, M.M (2019). . Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae)

Darré, T., Metowogo, K., Lawson-Evi, P., Eklu-Gadegbeku, K., Aklikokou, K. A., Napo-Koura, G., & Gbeassor, M. (2014). EFFET TOPIQUE DE L'EXTRAIT HYDROETHANOLIQUE DE L'ACACIA NILOTICA SUR LA CICATRISATION CUTANEE DES BRULURES DE SECOND DEGRE. *European Scientific Journal*, *10*(30).

Démarchez, M. (2015). L'épiderme et la différenciation des kératinocytes.

Desroches-Castan, A. (2014). Inhibition de l'angiogenèse tumorale : criblage d'une chimiothèque et caractérisation d'un nouveau composé agissant sur la voie de signalisation Ras -ERK (Doctoral dissertation).p.79 chapitre 4 Les modèles d'angiogenèse *in vitro* et *in vivo.*

Dréno, B. (2008). *Anatomie, immunologie de la peau et de ses annexes. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie, 135, 149–152.*

Dréno, B. (2009). *Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie, 136, S247–S251.*

E

Ernest, D. J. O. K. O., Yimta, F. O. U. T. S. E., Stéphanie, M. K., & Théophile, D. I. M. O. (2019). Activité cicatrisante d'une pommade à base des feuilles de Kalanchoe crenata (Andr.) Haw chez le rat.(Wound scarring of a kalanchoe crenata leaves ointment).

F

Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. European Journal of Pharmacology, 807, 91–101.

Falanga, V. (2020). *Bioengineered skin constructs. Principles of Tissue Engineering, 1331–1352.*

Falanga, V. (2020). *Bioengineered skin constructs. Principles of Tissue Engineering, 1331–1352.*

Fernández-Rojas, B., & Gutiérrez-Venegas, G. (2018). Flavonoids exert multiple periodontic benefits including anti-inflammatory, periodontal ligament-supporting, and alveolar bone-preserving effects. Life Sciences.

Ferraq, Y. (2007). *Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

G

Galiano, RD, Michaels, V, J., Dobryansky, M., Levine, JP et Gurtner, GC (2004). *Modèle murin quantitatif et reproductible de cicatrisation par excision. Réparation et régénération des plaies.*

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie, 3*(4), 162-169.

Gilaberte, Y., Prieto-Torres, L., Pastushenko, I., & Juarranz, Á. (2016). *Anatomy and Function of the Skin. Nanoscience in Dermatology, 1–14.*

GILL, S., & PARKS, W. (2008). *Metalloproteinases and their inhibitors: Regulators of wound healing. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 40(6-7), 1334–1347.*

Guo, S. A., & dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, *89*(3), 219-229.

H

Hamdan, S., Pastar, I., Drakulich, S., Dikici, E., Tomic-Canic, M., Deo, S., & Daunert, S. (2017).

Haydont, V., Bernard, BA et Fortunel, NO (2019). Évolutions du derme liées à l'âge: signes cliniques, dynamique des fibroblastes et de la matrice extracellulaire. *Mécanismes du vieillissement et du développement* , *177* , 150-156.

Hinda, B. (2017). Evaluation des effets cicatrisants de teucrium polium (khayata) sur des plaies d'excision chez le rat.

I

Ibrahim, N. I., Wong, S. K., Mohamed, I. N., Mohamed, N., Chin, K. Y., Ima-Nirwana, S., & Shuid, A. N. (2018). Wound healing properties of selected natural products. *International journal of environmental research and public health*, *15*(11), 2360.

J

Jee, JP, Pangeni, R., Jha, SK, Byun, Y., et Park, JW (2019). Préparation et évaluation in vivo d'un système d'hydrogel topique incorporant des facteurs de croissance hautement perméables à la peau, de la quercétine et des transporteurs d'oxygène pour une thérapie améliorée de cicatrisation des plaies diabétiques. *Journal international de nanomédecine* , *14* , 5449–5475.)

Jejeebhoy, S. J., & Sathar, Z. A. (2001). Women's autonomy in India and Pakistan: the influence of religion and region. *Population and development review*, *27*(4), 687-712.

Johnston, ST, Simpson, MJ, McElwain, DL, Binder, BJ et Ross, JV (2014). Interprétation des tests de zéro en utilisant la dynamique de densité de paires et le calcul bayésien approximatif. *Biologie ouverte* , 4 (9), 140097.

K

Kant, V., Jangir, B. L., Nigam, A., Kumar, V., & Sharma, S. (2017). *Dose regulated cutaneous wound healing potential of quercetin in male rats. Wound Medicine, 19, 82–87.*

Khedir SB, Bardaa S, Chabchoub N, Moalla D, Sahnoun Z, Rebai T.l'effet curatif de l'huile de fruit Pistacia lentiscus sur la brûlure au laser. Pharm Biol . 2017; 55 (1): 1407-1414.

Kim, Y. M., Huh, J. S., Lim, Y., & Cho, M. (2015). *Soy Isoflavone Glycitin (4'-Hydroxy-6-Methoxyisoflavone-7-D-Glucoside) Promotes Human Dermal Fibroblast Cell Proliferation and Migration via TGF-β Signaling. Phytotherapy Research, 29(5), 757–769.*

Kostopoulou, I., & Detsi, A. (2018). Recent Developments on Tyrosinase Inhibitors based on the Chalcone and Aurone Scaffolds. Current Enzyme Inhibition, 14(1), 3–17.

Křížová, L., Dadáková, K., Kašparovská, J., & Kašparovský, T. (2019). Isoflavones. *Molecules (Basel, Switzerland), 24*(6), 1076.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal, 2013, 1–16.*

L

Lai-Cheong, J. E., & mcgrath, J. A. (2017). *Structure and function of skin, hair and nails. Medicine, 45(6), 347–351.*

Lazaro, JL, Izzo, V., Meaume, S., Davies, AH, Lobmann, R. Et Uccioli, L. (2016). Niveaux élevés de métalloprotéinases matricielles et cicatrisation chronique des plaies: un examen mis à jour des preuves cliniques. *Journal de soins des plaies* , *25* (5), 277-287.

Le Bronec, M. (2005). *Influence des pansements Urgotul® dans la cicatrisation des plaies par seconde intention chez le chien et le chat: étude clinique* (Doctoral dissertation).

Lee, YH, Seo, EK et Lee, ST (2019). Skullcapflavone II inhibe la dégradation du collagène de type I en supprimant la transcription de MMP-1 dans les fibroblastes de la peau humaine. *Revue internationale des sciences moléculaires* , *20* (11), 2734.

Lim, H., & Kim, H. P. (2007). Inhibition of mammalian collagenase, matrix metalloproteinase-1, by naturally-occurring flavonoids. *Planta medica*, *73*(12), 1267–1274.)

Losquadro, W. D. (2017). *Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. Facial Plastic Surgery Clinics of North America, 25(3), 283–289.*

M

Matsukura, D., Yokoyama, Y., Tanaka, K., Ozaki, T., & Mizunuma, H. (2008). Changes of proteoglycan expression and glycosaminoglycan constituents in the intervillous space of the pregnancy-induced hypertension placenta.

Merkantia, A. (2017). *Contribution à l'évaluation de l'activité cicatrisante du sous-produit de l'hydro-distillation d'Artemisia herba alba* (Doctoral dissertation, École Nationale Supérieure Vétérinaire).

Middleton, E. (1998). *Effect of Plant Flavonoids on Immune and Inflammatory Cell Function. Flavonoids in the Living System, 175–182.*

Moghadam, S., Ebrahimi, S., Salehi, P., Moridi Farimani, M., Hamburger, M., & Jabbarzadeh, E. (2017). *Wound Healing Potential of Chlorogenic Acid and Myricetin-3-O-β-Rhamnoside Isolated from Parrotia persica. Molecules, 22(9), 1501.*

Moore, A. L., Marshall, C. D., Barnes, L. A., Murphy, M. P., Ransom, R. C., & Longaker, M. T. (2018). Scarless wound healing: Transitioning from fetal research to regenerative healing. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, *7*(2), e309

Morin, C., Roumegous, A., Carpentier, G., Barbier-Chassefiere, V., Garrigue-Antar, L., Caredda, S., & Courty, J. (2012). Modulation of inflammation by Cicaderma ointment accelerates skin wound healing. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *343*(1), 115-124.

Moulin, Y. V. E. T. T. E. (2001). Comprendre le processus de cicatrisation. *L'infirmière du Québec*, 37.

Muncie, J. M., & Weaver, V. M. (2018). The physical and biochemical properties of the extracellular matrix regulate cell fate. In *Current topics in developmental biology* (Vol. 130, pp. 1-37). Academic Press.

N

Nanotechnology-Driven Therapeutic Interventions in Wound Healing: Potential Uses and Applications. *ACS central science*, *3*(3), 163–175.

Nazaruk, J., & Galicka, A. (2014). The influence of selected flavonoids from the leaves of Cirsium palustre (L.) Scop. On collagen expression in human skin fibroblasts. *Phytotherapy Research*, *28*(9), 1399-1405.

Nejjari, R., Benabbes, M., Amrani, M., Meddah, B., Bouatia, M., & Taoufik, J. (2019). Phytochemical screening and wound healing activity of Telephium imperati (L.) In rats. *South African Journal of Botany*, *123*, 147-151.

Nguyen, T. T., Mobashery, S., & Chang, M. (2016). *Roles of matrix metalloproteinases in cutaneous wound healing* (pp. 37-71). Intech.

Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, *74*(4), 418-425.).

Norris, D. A. (2012). *Structure and Function of the Skin. Goldman's Cecil Medicine, 2498–2503.*

O

Olczyk, P., Mencner, Ł., & Komosinska-Vassev, K. (2014). The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *Biomed research international*, *2014*.

Oliveira, M. V., Silva, P. L., & Rocco, P. R. M. (2019). *Extracellular matrix components remodeling and lung function parameters in experimental emphysema and allergic asthma: differences among the mouse strains. Drug Discovery Today: Disease Models.*

P

Panche, AN, Diwan, AD et Chandra, SR (2016). Les flavonoïdes: un aperçu. Journal des sciences nutritionnelles, 5 , e47.

Pang, X., Dong, N., & Zheng, Z. (2019). Small leucine-rich proteoglycans in skin wound healing. *Frontiers in Pharmacology*, *10*.

Park, B. K., Lee, S. H., Seo, J. N., Rhee, J. W., Park, J. B., Kim, Y. S., ... & Kwon, H. J. (2010). Protection of burn-induced skin injuries by the flavonoid kaempferol. *BMB reports*, *43*(1), 46-51.

Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Jacques, P. F., & mccullough, M. L. (2015). *Improving the estimation of flavonoid intake for study of health outcomes. Nutrition Reviews, 73(8), 553–576.*

Peterson, J., & Dwyer, J. (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. Nutrition Research, 18(12), 1995–2018.

Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A. (2013). Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses.

International Journal of Molecular Sciences, 14(7), 14950–14973. Pharmaceutiques françaises, 69(2), 78–90.

Poitras, E., & Houde, A. (2002). La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in biology and biotechnology*, 2(2), 2-11.

Prost-squarcioni, C., Fraitag, S., Heller, M., & Boehm, N. (2008). *Histologie fonctionnelle du derme. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie, 135(1), 5–20.*

R

Rochette-Drouin O . , (2012). La dynamique du potentiel trans-épithélial au cours de la cicatrisation de la peau. Université laval québec 41p.

S

Schultz, GS et Wysocki, A. (2009). Interactions entre la matrice extracellulaire et les facteurs de croissance dans la cicatrisation des plaies. *Réparation et régénération des plaies* , *17* (2), 153-162.

Senet, P., Meaume, S., & Dubertret, L. (2007). Physiologie de la cicatrisation cutanée. *Dermatologie, 98-040-A-10, 2000, 8 p*.

Seo, G. Y., Lim, Y., Koh, D., Huh, J. S., Hyun, C., Kim, Y. M., & Cho, M. (2017). *TMF and glycitin act synergistically on keratinocytes and fibroblasts to promote wound healing and anti-scarring activity. Experimental & Molecular Medicine, 49(3), e302–e302.*

Sharifi, R., Pasalar, P., Kamalinejad, M., Dehpour, A. R., Tavangar, S. M., Paknejad, M., … Rastegar, H. (2012). *The effect of silymarin (Silybum marianum) on human skin fibroblasts in anin vitrowound healing model. Pharmaceutical Biology, 51(3), 298–303.*

Shukla, R., Pandey, V., Vadnere, G. P., & Lodhi, S. (2019). Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders. Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases, 293–322.

Stoclet, J.-C., & Schini-Kerth, V. (2011). Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. Annales .

Thangapazham, R., Darling, T., & Meyerle, J. (2014). *Alteration of Skin Properties with Autologous Dermal Fibroblasts. International Journal of Molecular Sciences, 15(5), 8407–8427.*

T

Toth, M., Sohail, A., & Fridman, R. (2012). Assessment of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by gelatin zymography. *In Metastasis Research Protocols* (pp. 121-135). Humana Press, Totowa, NJ.

X

Xue, M., & Jackson, C. J. (2015). Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. *Advances in wound care*, *4*(3), 119-136.

Y

Yeh, C.-J., Chen, C.-C., Leu, Y.-L., Lin, M.-W., Chiu, M.-M., & Wang, S.-H. (2017). *The effects of artocarpin on wound healing: in vitro and in vivo studies. Scientific Reports.*

Z

Zeng, Q., Macri, L. K., Prasad, A., Clark, R. A. F., Zeugolis, D. I., Hanley, C., … Pandit, A. (2011). *Skin Tissue Engineering. Comprehensive Biomaterials, 467–499.*

Réalisé par :

FENINECHE Khedidja

ROUIMEL Mouna

MERAZKA Fatiha

Encadré par :

DR. BENGUEDOUAR Lamia

L'effet des flavonoïdes sur le remodelage de la matrice extracellulaire au cours de processus de cicatrisation cutanée

Résumé

La peau est un organe dynamique et fondamental de l'organisme puisqu'il s'agit d'une véritable barrière physiologique entre les organes internes et l'environnement extérieur. Des altérations profondes de la peau comme les lésions et les brûlures doivent être réparées le plus rapidement possible afin d'éviter toutes complications. La cicatrisation est un processus de réparation et de régénération des tissus cutanés. La présente recherche bibliographique est dédiée à la connaissance du processus de cicatrisation d'une part et des nouvelles molécules naturelles utilisées dans la thérapeutique de cicatrisation. Pour cela un chapitre est consacré la présentation de recherche expérimentale consacrée à la mise en évidence de l'effet de flavonoïdes tels que la TMF et la glycitine sur le processus de cicatrisation cutanée par des tests *in vitro* de migration cellulaire Scratch Test et Chambre de Boyden modifiée et *in vivo* par l'élaboration de modèle de plaie par excision. Ainsi que des tests moléculaires montrant la modulation des expressions des marqueurs intervenant directement dans le remodelage de la matrice extracellulaire tels que le collagène et les MMPs.

Mots clés : Peau, Plaie, Cicatrisation cutanée, flavonoïde, remodelage.

Abstract

The skin is a dynamic and fundamental organ of the body since it is a true physiological barrier between internal organs and the external environment. Deep skin changes such as lesions and burns must be repaired as quickly as possible in order to avoid any complications. Scarring is a process of repair and regeneration of skin tissue. This bibliographic research is dedicated to understanding the healing process and new natural molecules used in healing therapy. For this purpose, a chapter is devoted to the presentation of experimental research focused on the demonstration of the effect of flavonoids such as TMF and glycitin on the skin healing process by *in vitro* tests of cell migration Scratch Test and Transwell and *in vivo* by the development of an excisional wound model. As well as molecular tests showing the modulation of the expressions of the markers involved directly in the remodeling of the extracellular matrix such as collagen and MMPs.

Keywords: Skin, Wound, Skin healing, flavonoid, remodeling.

الملخص

الجلد عضو حيوي أساسي في الجسم لأنه حاجز فزيولوجي حقيقي بين الأعضاء الداخلية و البيئة الخارجية .يجب إصلاح التغييرات الجلدية العميقة مثل الجروح والحروق في أسرع وقت ممكن لتجنب اي مضاعفات. التئام الجروح هي عملية إصلاح و تجديد الأنسجة الجلدية . هذا البحث الببليوغرافي مخصص لفهم عملية الشفاء والجزيئات الطبيعية الجديدة المستخدمة من اجل العلاج. و من اجل هذا تم تخصيص فصل لعرض بحث تجريبي مخصص لاثباث تأثير الفلافونويد مثل الجليستين و TMF على عملية التئام الجروح الجلدية عن طريق اختبارات *in vivo, in vitro* بالإضافة إلى الاختبارات الجزيئية التي تُظهر تعديل تعبيرات العلامات المشاركة في إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية مثل الكولاجين و MMPs.

الكلمات المفتاحية : الجلد ،الجروح ، التئام الجلد ، الفلافونويد، إعادة بناء .