

NOUVEAU PROCÉDÉ: LES GREFFES SÉQUENTIELLES DE CELLULES CUTANÉES GUÉRISSENT-ELLES LES BRÛLURES DE TROISIÈME DEGRÉ? ÉTUDE COMPARATIVE À PROPOS DE 517 PATIENTS

NEW PROCEDURE: DO SEQUENTIAL GRAFTS OF CUTANEOUS CELLS HEAL THIRD DEGREE BURNS? A COMPARATIVE STUDY OF 517 PATIENTS

Sabeh G.,^{1✉} Sabé M.,¹ Ishak S.,¹ Sweid R.²

Hôpital de la Paix, Bahsas, Liban

¹ Service de Brûlologie, Hôpital de la Paix, Bahsas, Liban

² Laboratoire d'Ingénierie Cellulaire, Hôpital de la Paix, Bahsas, Liban

RÉSUMÉ. Le but de cette étude est d'évaluer une alternative aux greffes tissulaires et substituts cutanés. Cinq cent dix sept brûlés ont été traités entre février 2012 et juin 2016 dont 381 ont bénéficié d'une thérapie cellulaire. Ce procédé consiste à prélever 1 à 4 cm² de peau saine, à la séparer en épiderme, derme, et hypoderme et à préparer trois suspensions riches en cellules. Une partie de ces suspensions est diluée dans du plasma riche en plaquettes initialement, dans du cryoprécipité de plasma ensuite. Des ensemencements séquentiels sont effectués tous les 2 jours, suivis dès le lendemain d'irrigations biquotidiennes par des antioxydants, des protecteurs et des stimulants de la cicatrisation. Les brûlures du 2^{ème} degré profond ont cicatrisé dans les 5 à 10 jours, celles du 3^{ème} degré peu étendues en une vingtaine de jours, celles sur une plus grande surface en une cinquantaine de jours. Cette technique reproductible pourrait trouver sa place dans l'arsenal thérapeutique contre les brûlures.

Mots-clés: greffe séquentielle, cellules cutanées, brûlé

SUMMARY. The goal of this study is to evaluate an alternative to tissue grafts and cutaneous substitutes. Five hundred and seventeen burn patients were treated between February 2012 and June 2016: 381 of them benefited from cell therapy. 1 to 4 cm² of autologous healthy total skin graft was dissected into epidermis, dermis and hypodermis, and then separately transformed into three cell-rich suspensions: some of these suspensions were eclectically chosen and associated first with platelet-rich plasma and thereafter with cryoprecipitate of plasma. Also, sequential seedings were performed every 2 days. The day after seeding, irrigation with antioxidants, protectors and healing stimulants was carried out twice daily. Deep 2nd degree burns healed in 5 to 10 days, while for 3rd degree burns results were achieved in 20 days for small areas and 50 days, on average, for larger areas. This reproducible technique could find its place in the therapeutic arsenal against burns.

Keywords: graft, sequential, cell, skin, burn

Introduction

Depuis les années 60 du siècle dernier, de nombreux progrès ont été réalisés dans la prise en charge et le traitement des brûlés, en particulier dans la maîtrise de l'infection, la réanimation et la gestion des fluides.¹⁻⁴ L'excision précoce a permis de réduire la morbidité, les transfusions et la durée de séjour à l'hôpital tout en offrant de meilleurs résultats esthétiques et fonctionnels.⁵⁻⁹ Une étude sur 1 507 patients a cependant montré que l'excision et la greffe des zones non cicatrisées à J21 et l'excision complète dans les trois premiers jours donnaient des résultats similaires, la mortalité dépendant essentiellement des surface et profondeur de la brûlure.¹⁰ Les couvertures cutanées, temporaire (substituts cutanés, allo-

et xéno greffes) comme définitive (autogreffe) ont toutes pour but une épidermisation rapide et complète, gage de survie et d'optimisation des résultats fonctionnels comme esthétiques.^{11,12} Si les greffes cutanées sont effectuées depuis l'antiquité c'est Reverdin qui fut le premier à décrire la «greffe épidermique», en 1869.¹³⁻¹⁴ Quelques années plus tard, d'autres ont décrit les différentes greffes de demi-épaisseur et de peau totale, qui sont couramment pratiquées de nos jours.¹⁵ En 1874, K. Thiersch a précisé que la revascularisation d'une greffe par son sous-sol s'observe dès la 18^{ème} heure après sa mise en place.¹⁶ En 1895, Van Mangoldt a utilisé une suspension épidermique récoltée après rasage au rasoir de la peau saine.¹⁷ J.B. Murphy, en 1914, puis P.B. Medawar, en 1944, ont confirmé l'échec des allogreffes, le rejet ayant été identi-

✉ Auteur correspondant: Gabriel Sabeh, P.O. Box 1433. Tel.: +961 6 411700/1/2/3; fax : +961 6 411707; email: drgabrielsabe@hotmail.fr

Notes du rédacteur : 1- Initialement reçu et revu en 2016, ce manuscrit a vu sa correction très retardée à cause d'une erreur de communication due au rédacteur. Cet article a été élaboré après échanges entre l'auteur et le rédacteur. 2- Les appels à figures/tableaux renvoient à des documents présents dans la version imprimée. Les autres se trouvent dans la version électronique.

Manuscrit: reçu, sous sa deuxième forme, le 03/09/2018, accepté le 04/09/2018

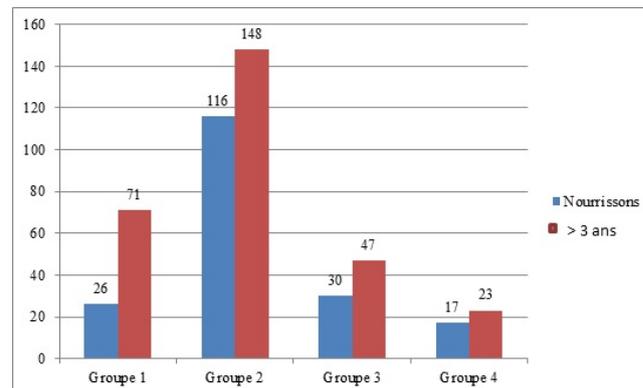
fié comme d'origine immunologique.^{18,19} La thérapie cellulaire (TC) proprement dite est apparue à la suite de l'introduction de la trypsination par A. et H. Moscona en 1952.²⁰ Meek a décrit en 1958 les greffes microdermiques, Tanner décrivait en 1964 les greffes de peau en filet.^{21,22} Les Cultures d'Épiderme Autologue (CEA) ont été introduites par Rheinwald et Green en 1975 puis N.E. O'Connor, en 1981, cultiva *in vitro* des kératinocytes sélectionnés ayant été récoltés à partir d'une petite greffe cutanée de peau saine autologue, ce qui lui permit d'obtenir plusieurs couches de kératinocytes.^{23,24} E. Bell a cultivé en 1981 des fibroblastes sur un treillis de collagène, par la suite ensemencés avec des cellules épidermiques, puis greffées avec succès sur les donneurs de cellules.²⁵ En 1994, F. Wood a pris l'équivalent d'un timbre de poste d'épiderme autologue, l'a cultivé au laboratoire durant 5 jours, puis l'a transformé en spray et pulvérisé sur la peau brûlée.²⁶ Les cellules ont poursuivi *in vivo* le chemin de la restitution cutanée. En 2008, J.C. Gerlach a pulvérisé les cultures de fibroblastes et de kératinocytes, sous contrôle d'un ordinateur, sur les aires à traiter et installé un système d'irrigation pour améliorer les prises des greffes.²⁷ Les Greffes Séquentielles de Cellules Cutanées (GSCC) représentent un procédé bioactif qui consiste à séparer les 3 couches d'un petit morceau de peau saine, ensuite à implanter les cellules d'une façon élective sur les aires à traiter, et ceci sous les lois de l'homéostasie.²⁸ Les différences avec les autres TC sont: elle comporte les 3 couches de la peau, et toutes les cellules cutanées (CC); elle rajoute certains éléments nécessaires au développement des cellules ensemencées; elle permet la répétition du processus d'implantation (après un nettoyage effectué tous les 2 jours) jusqu'à l'épidermisation complète. C'est un procédé autologue physiologique et sans risque pour le patient. Les GSCC apporteraient de meilleurs résultats en cas de brûlure du 2^{ème} degré profond (2P).²⁸ Nous avons étudié la capacité de la TC que nous proposons à faire cicatriser les brûlures du 3^{ème} degré jusqu'alors réputées inguérissables sauf par une greffe tissulaire ou des substituts cutanés.

Matériel et méthode

Nous avons hospitalisé 517 brûlés entre février 2012 et juin 2016 inclus. Les critères d'hospitalisation étaient la surface et la profondeur, une brûlure électrique, une atteinte du visage, des doigts mains, des zones fonctionnelles, des voies respiratoires, les âges extrêmes (nouveaux nés et plus de 80 ans), les comorbidités, l'existence de lésions associées. Nous avons relevé les données démographiques (âge, sexe), les mécanismes lésionnels, la surface, la localisation et la profondeur des brûlures, la mortalité. Des GSCC, de modalités variées, ont été proposées à tous les patients puis réalisées effectuées après consentement du patient ou de son représentant légal. Dix patients décédés précocement et 29 sortis contre avis médical ont été exclus de l'étude, qui a donc concerné une cohorte de 478 patients. Les caractéristiques des brûlures des nourrissons et les évaluations de leur résultats étant différentes de celles des enfants et adultes, ils ont été étudiés à part. Enfants et adultes ont été étudiés conjointement afin de ne pas multiplier les sous-groupes. Ces patients ont été répartis en 4 groupes (Tableau I). Le groupe 1 (témoin T) comprend les 97 patients (20% de l'effectif) composé de 26 nourrissons et 71 enfants et adultes, ayant refusé de recevoir une GSCC, traités par débridement avec ou sans greffes tissulaires. Le groupe 2 (GSCC) comprend les 264 patients

Tableau I - Les différents groupes de l'étude.

Groupe 1 : Témoins (ayant refusé les GSCC);
Groupe 2 : GSCC seule;
Groupe 3 : GSCC + PRP + C;
Groupe 4 : GSCC seule et avec PRP/CP chez le même patient.



(55% de l'effectif), 148 adultes et enfants, 116 nourrissons recrutés entre février 2012 et avril 2015 inclus. Le groupe 3 et le groupe 4 ont été constitués après avril 2015. Le groupe 3 (GSCC+) a reçu du plasma riche en plaquettes (PRP) lors des 3 premières GSCC puis du cryoprécipité de plasma (CP) lors des séances suivantes. Il est constitué de 77 patients (16%); 47 adultes-enfants et 30 nourrissons. Les 40 patients (8%) du groupe 4 (GSCC+/-) ont chacun vu deux zones comparables traitées l'une par GSCC seule, l'autre par GSCC, PRP et CP. Ce groupe comprenait 17 nourrissons et 23 enfants-adultes. Un 5^{ème} groupe, de 11 patients, a été constitué par ceux ayant reçu une GSCC dans les zones donneuses ou les mailles de greffes expansées. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant SPSS 25 (IBM analytics, Armonk, USA), les tests étant adaptés aux variables à étudier.

Réalisation de la GSCC (Fig. 1)

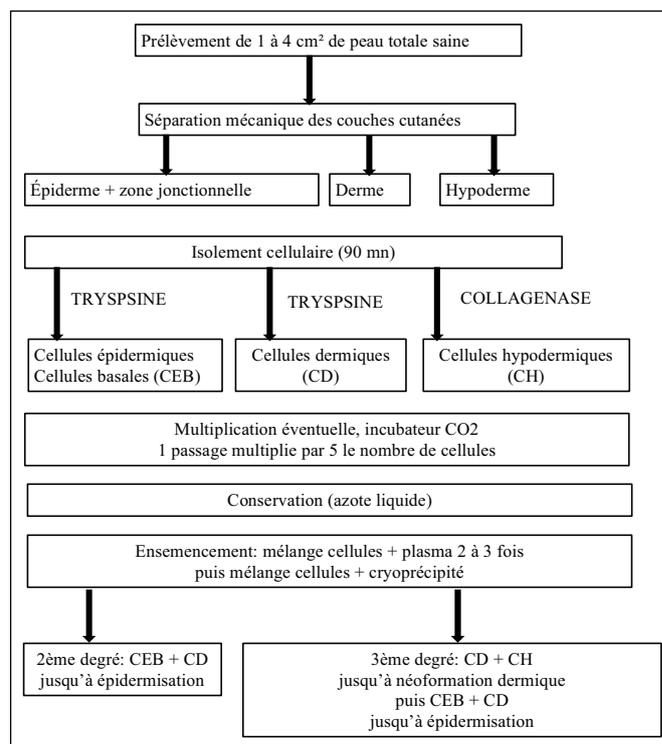


Fig. 1 - Procédure de greffes séquentielle de cellules cutanées.

Préparation des zones à traiter: cette étape essentielle consiste en la prise en charge classique d'une brûlure : débridement, aponévrotomie, dissection fine, parage, escarrectomie, lavage à la chlorhexidine ou à l'eau oxygénée diluée à 3%. Les plaies sont couvertes par des pansements en tulle à l'huile d'olive enduits de sulfaguanidine argentique ou de miel. Il faut l'achever en 2 à 4 jours pour les IIP, 3 à 7 jours pour les III. L'excision et la ré-excision des zones sales est indispensable car une méthode thérapeutique ne peut réussir sur des plaies contaminées, nécrotiques, suintantes, hémorragiques ou hyperbourgeonnantes.

Les greffes temporaires sont des allogreffes ou, à défaut, des xéno-greffes. Cela nous permet de protéger les plaies devenues propres avant de les remplacer par les GSCC.

Le prélèvement se fait en zone de peau saine de préférence pileuse, car riche en Cellules Souches (CS). Nous délimitons une surface elliptique de 1 à 4 cm de long et 1 cm de large, puis nous procédons à un prélèvement cutané de 0,2 à 0,4 mm, ce qui représente l'épiderme et la couche jonctionnelle du derme superficiel. Nous prélevons ensuite les 2 couches constituées de derme et d'hypoderme que nous séparons avec des ciseaux courbes. Un petit décollement de part et d'autre de l'incision peut permettre de prélever un peu plus d'hypoderme. Nous procédons à la fermeture par points séparés ou surjet intradermique. Il est aussi possible de prélever de l'hypoderme par la technique de Coleman à l'aide d'une canule d'aspiration spécifique et d'une seringue vissée.³⁰ Les prélèvements Épidermo-Jonctionnel (EJ), Dermique (D) et Hypodermique (HD) sont placés séparément dans des boîtes stériles étiquetées et envoyées au laboratoire d'ingénierie cellulaire.

La transformation cellulaire permet de libérer les Cellules Cutanées (CC) de leur support en 90 minutes, par hydrolyse des liaisons peptidiques grâce à la trypsine pour EJ et D, à la collagénase pour HD.^{31,32} La pièce où ont lieu la préparation et le stockage doit disposer d'un système de filtres à particules et d'air conditionné avec pression positive.³³ Les suspensions obtenues (20 ml par cm²d'échantillon) contiennent entre 6 et 7 millions de cellules.

Utilisation des suspensions

Un échantillon de chaque suspension est réservé pour étude cytologique, immuno-histochimique et coloration au bleu trypan pour en confirmer la viabilité (Fig. 2).³⁴ Les ensemencements initiaux consistent en l'étalement stérile d'une couche de mélange GCSS/PRP permettant de stimuler, via les facteurs de croissance, la migration cellulaire.³⁵⁻³⁶ Par la suite (à partir du 3-4^{ème} ensemencement), les GSCC sont mélangées avec du CP.^{37,38} Chaque millilitre de ces suspensions cellulaires pourrait couvrir une zone de 500 à 1000 cm². Une coloration vitale (bleu de méthylène) est utile pour vérifier que toute la zone à traiter a été couverte.²⁸ Les cellules à ensemercer sont choisies selon la profondeur de la brûlure (Fig. 1). Nous utilisons un mélange de CEJ et CD sur le 2P. Au début, la plaie devient blanchâtre (phase de fibrination) puis vire au rouge (phase de bourgeonnement) et il apparaît une desquamation. Puis les croûtes tombent, laissant voir une coloration qui va blanchir au fur et à mesure des soins pour rétablir la couleur et la sensibilité d'une peau normale (Fig. 3). Pour le III, nous ensemencions initialement CD et CHD, ce qui va permettre de reconstruire un sous-sol dermique, souvent anfractueux qui va s'épaissir jusqu'au comblement des lésions avec au centre l'apparition de ponts dermiques qui vont délimiter des cases en carte de géographie. Dès lors on emploie CEJ+CD. Comme pour les IIP, la coloration devient rose pâle

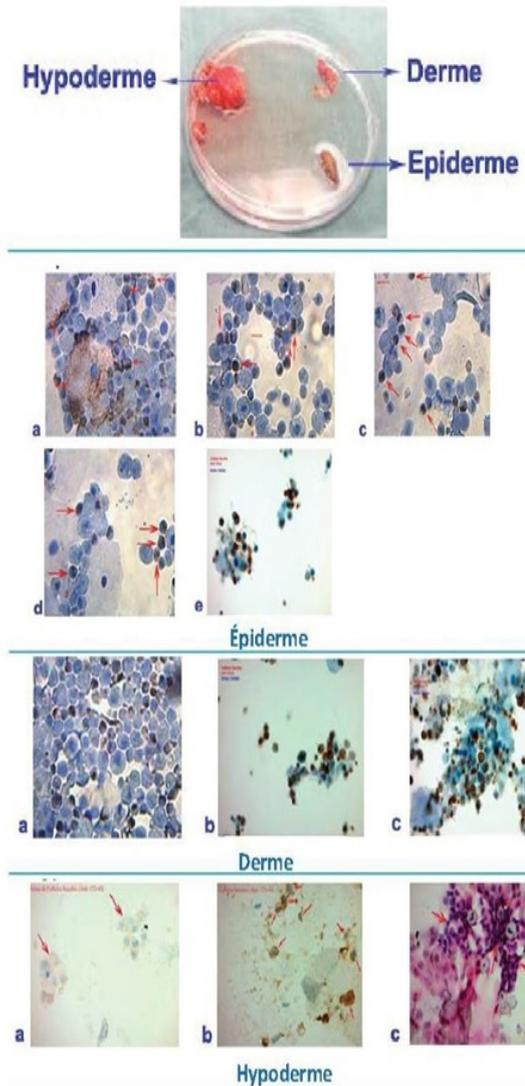


Fig. 2 - Identifications des cellules cutanées (marqueur utilisé)
Épiderme: a- kératinocytes (cocktail anti cytokératine AE1/AE3), b- mélanocytes (anti melan A), c- cellules de Langerhans (anti CD1a), d- cellules de Merkel (anti chromogranine A), e- cellules souches (anti CD44);
Derme: a- cellules mésenchymateuses, fibroblastes (anti vimentine), cellules souches sans -a- et après -b- confluence (anti CD44);
Hypoderme: a- amas de cellules souches, b- cellules souches isolées, c- cellules souches après 1^{er} passage en confluence (anti CD44).

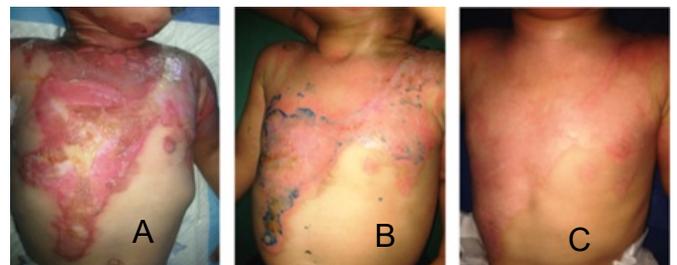


Fig. 3 - Brûlure du 2^{ème} degré par soupe. A- Avant traitement, B- Aspect à J4 de GSCC, C- Épidermisation à J8.

avec apparition au centre et sur les pourtours de plage d'épiderme (Figs. 4, 5, 6). Les pansements s'assèchent et l'épidermisation de poursuit, centrifuge à partir des cellules greffées et centripète à partir des pourtours, jusqu'à l'obtention, après desquamation, d'une épidermisation complète (Fig. 7) avec persis-

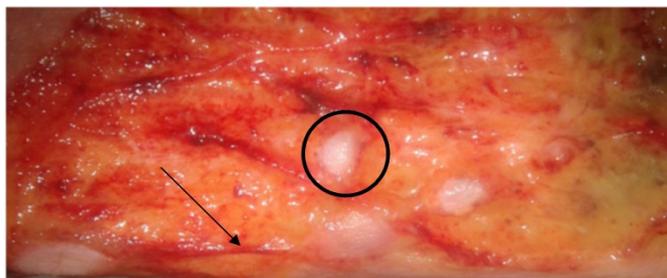


Fig. 4 - Îlots d'épiderme (cercle) reliés par des ponts dermiques (flèche).



Fig. 5: 2^{ème} degré en cours d'épidermisations. Les zones épidermisées sont blanches et pileuses.

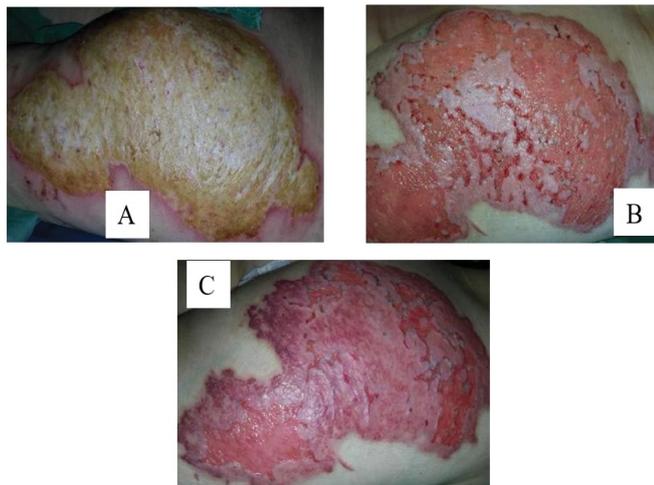


Fig. 6: 3^{ème} degré par flamme (A). B- Aspect à J33C- Aspect à J42. Noter le retard de cicatrisation dans les zones plus verticales et l'aspect violacé, annonciateur d'hypertrophie à juguler par le traitement d'entretien.

tance de zones hypertrophiques. Il persiste une hyperesthésie tactile et la couleur rosâtre disparaît à la vitropression (Figs. 8, 9, 10, 11). Ces zones guéries sont parsemées de ponts dessinant une maquette de peau lisse entourée par des limites rugueuses et

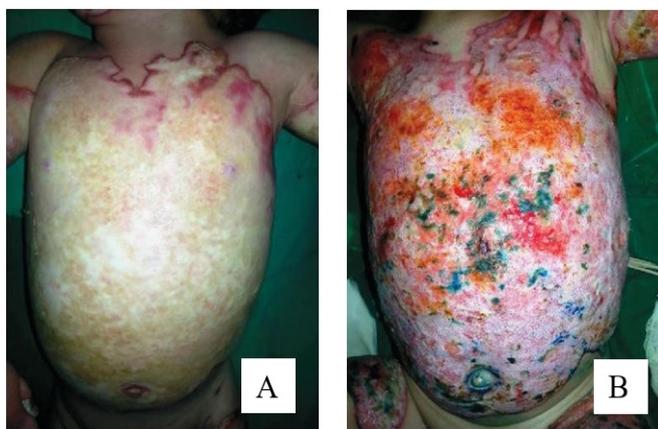


Fig. 7: 3^{ème} degré par soupe (A). B- épidermisation en cours, intrication de zones bourgeonnantes et épidermisées, certaines marquées par ne desquamation teintée de bleu de méthylène.



Fig. 8: 3^{ème} degré par flamme (A). B- épidermisation en cours. C- épidermisation terminée. Peau hypertrophique, luisante. Rougeur (disparaissant à la vitropression).

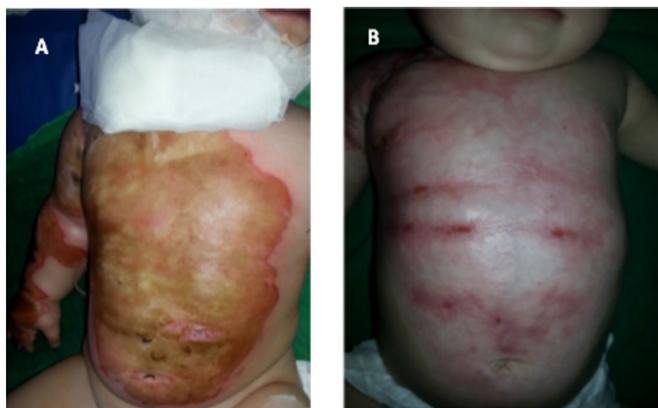


Fig. 9 - Brûlure par thé. Aspects initial (A) et en fin de GSCC (B).

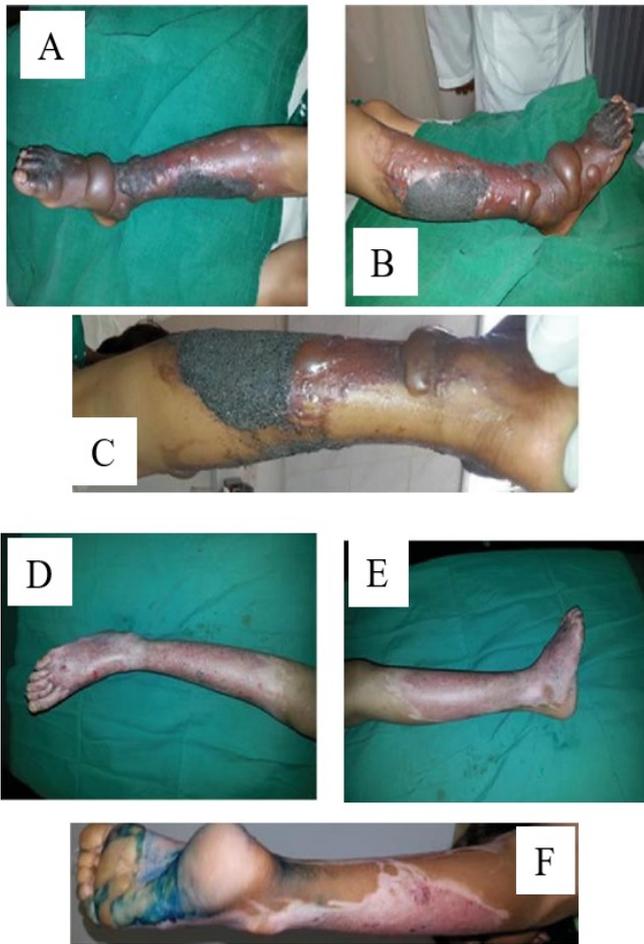


Fig. 10: 2^{ème} et 3^{ème} degrés par huile. A- aspect initial. B- épidermisation, à J25.

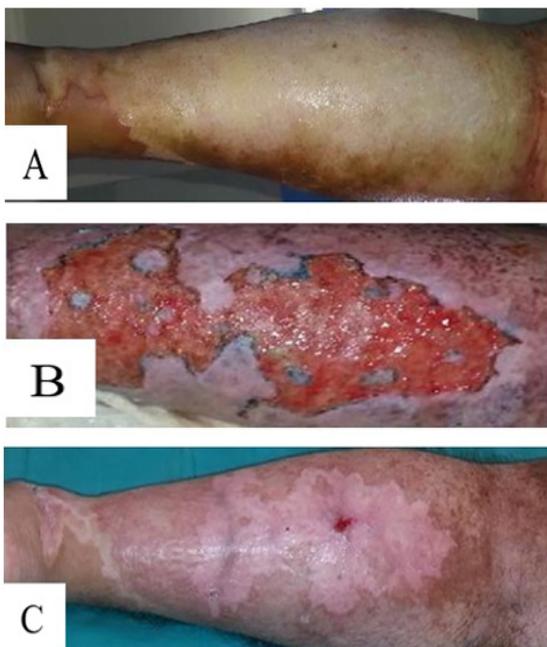


Fig. 11: 3^{ème} degré par flamme. A- aspect initial. B- épidermisation en cours C- épidermée, traitement d'entretien à faire.

dures, d'où la nécessité de soins ultérieurs. Après chaque ensemencement, pour protéger les cellules et éviter la dessiccation nous utilisons des antibiotulles au début et, dès la fin de la phase de bourgeonnement des antibio-cortico-tulles et nous terminons à chaque fois par le port de jerses tubulaires stériles. Ensuite, il est utile d'installer un humidificateur à ultrason pour rafraîchir les zones traitées. Dès le lendemain de l'ensemencement, nous irriguons la greffe matin et soir avec une suspension contenant 90% d'huile d'olive, riche en acide polyinsaturés et connue pour ses propriétés anti-oxydantes, 5% d'un antibiotique (néomycine, soframycine, acide fusidique, clindamycine ou mupirocine...) et 5% d'un antifongique (amphotéricine, nystatine ou azolé...), idéalement guidés par des prélèvements tous les 5 à 7 jours. Cette irrigation se fait à la seringue sur le jersey interne après retrait du jersey externe, remis en place ensuite. Le délai entre deux ensemencements est de deux jours. Toutes les précautions doivent être prises pour ne pas ôter les greffes récentes au moment du décollement du pansement, en imbibant largement au sérum physiologique stérile.

Gestion des suspensions non utilisées. En cas de brûlure touchant moins de 1000 cm², nous conservons les suspensions, par petites quantités, dans des cryotubes à l'intérieur d'un conteneur d'azote liquide (-196°C). Cela suffit pour 4 à 6 ensemencements. Quand il s'agit de grandes surfaces profondes, nous réalisons une confluence cellulaire initiale, en incubateur à CO₂, ce qui permet de multiplier le nombre de cellules par 5 en 3 jours et ainsi de réaliser 15 à 20 ensemencements.³⁹

L'analyse des plaies est effectuée à chaque pansement, à la vue et au toucher, puis sur des photographies avec agrandissement et lecture en 3D archivées dans un ordinateur et comparées via une application type *Light Room 5.4*. L'évaluation des cicatrices, selon la Vancouver Scar Scale (VSS) nous permet d'apprécier les résultats chez tous nos brûlés.⁴⁰ Elle est complétée pour enfants et adultes selon l'échelle POSAS, la sensibilité est testée au chaud et à froid ainsi que par tests de gnosie.⁴¹

Résultats

Dans notre série, 206 patients (40%) étaient des nourrissons, 109 (21%) des enfants de 3 à 13 ans et 202 des adultes. Les enfants et les adultes étaient similaires en termes d'agent vulnérant, de régions brûlées, de surface brûlée et de profondeur. Chez les nourrissons, l'agent vulnérant était dans 90% des cas un liquide chaud (40% chez les enfants et les adultes, $p < 0,0001$). Leur tronc était plus fréquemment atteint (65% VS 43%, $p < 0,0001$) ; les mains moins souvent (28% VS 47%, $p < 0,005$). Par définition, tous nos patients avaient au moins du 2^{ème} degré profond. Soixante et un (29%) nourrissons, 104 enfants/adultes (33%) avaient des atteintes du 3^{ème} degré. La moyenne de surface brûlée était de 22% chez les nourrissons, de 28,5% chez enfants - adultes ; la différence est significative ($p < 0,0001$). Nous avons déploré 22 décès (mortalité 4,25%) dont 10 nourrissons, 5 enfants et 7 adultes. La durée de séjour tous malades confondus était de 15 j (5 à 104) pour les nourrissons, 20 j (4 à 133) pour les enfants et adultes. Après leur sortie, tous ont été suivis en ambulatoire jusqu'à l'épidermisation complète. Un traitement de consolidation visant à assurer une cicatrisation de qualité a été prescrit ensuite. Il comprenait cryothérapie, gel ou huile à base de silicone, physiothérapie et port de vêtements compressifs. Le visage et les zones fonctionnelles sont à surveiller attentivement, l'utilisation d'attelles sur les articulations permet d'éviter les positions vicieuses. Par la suite, les patients ont été suivis en consultation tous les mois

durant 6 mois et tous les 3 mois durant deux ans. En cas de brûlure du 2^{ème} degré le nombre moyen d'ensemencements était de 3 (1 à 6). Le nombre moyen d'ensemencement en cas de brûlure du 3^{ème} degré était de 22 (de 8 à 33) dont 3 à 6, initialement, par CD et CHD. Toutes les brûlures du 2^{ème} degré traitées par GSCC ont cicatrisé sans nécessiter de greffe, dans un délai de 6 (groupes avec PRP et CP) à 8 jours (groupes sans PRP et CP) quand ce délai était de 25 jours spontanément (20 jours en cas de greffe tissulaire) dans le groupe témoin. Les brûlures du 3^{ème} degré cicatrisaient en 47j (GSCC+PRP et CP) à 55j (GSCC seule) (Tableaux II et III). L'utilisation de CSCC dans les mailles des greffes en filet permet une cicatrisation complète en 17 j (8 à 18 selon le taux d'expansion). Ensemencées, les zones donneuses guérissent en 5 j (4- 8). L'étude comparative chez les mêmes patients brûlés au 3^{ème} degré était concluante en faveur de l'adjonction du PRP et du CP (Figs. 12-14). Ses résultats ont été confirmés par le test Manova avec test des effets inter sujet et des comparaisons multiples ; $p < 0,0001$ (Fig. 15). La chirurgie « de rattrapage », effectuée avant la date de stabilisation, était conventionnelle et parfois itérative chez les grands brûlés et consistait à effectuer soit des greffes cutanées semi-épaisses (0,4 mm) expansées soit des plasties diverses, surtout au niveau du visage et des zones fonctionnelles.

Tableau II - Brûlures du 2^{ème} degré.

	Groupe 1 n=7		Groupe 2 n=264		Groupe 3 n=77		Groupe 4 n=40	
	AVEC Greffe (n=2)	SANS greffe (n=95)	SANS greffe (n=264)	SANS greffe (n=77)	SANS PRP-CP	AVEC PRP-CP	SANS PRP-CP	AVEC PRP-CP
Couverture J+	20	37 20-45	8 6-12	6 5-10	8 6-12	6 5-9		
VSS	7	6 5-8	3 2-6	3 2-4	3 2-5	3 2-4		

Tableau III - Brûlures du 3^{ème} degré.

	Groupe 1 n=31		Groupe 2 n=84		Groupe 3 n=25		Groupe 4 n=12		
	AVEC Greffe (n=28)	SANS greffe (n=3)	AVEC Greffe (n=8)	SANS greffe (n=76)	AVEC Greffe (n=2)	SANS greffe (n=23)	SANS PRP-CP	AVEC PRP-CP	SANS PRP-CP
Couverture J+	25	>150	17	57 20-100	17	49 20-100	17	57 19-127	47 18-91
VSS	8	11 10-12	7 5-8	6 5-9	7	5 4-7	7	6	5

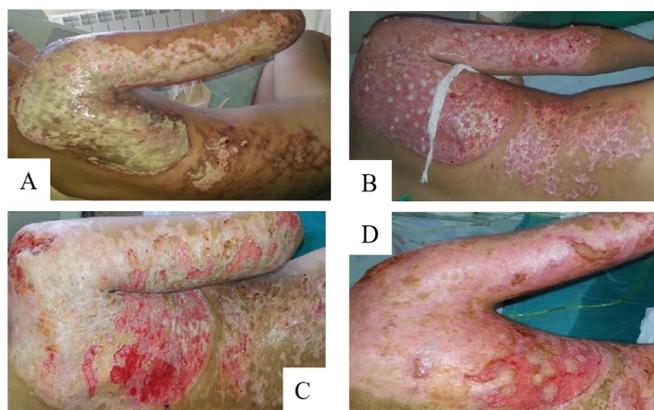


Fig. 13: 3^{ème} degré par flamme. A- aspect initial. B- J15, bras et dos GSCC + PRP + CP, flanc GSCC. C-J 33, épidermisation plus avancée avec GSCC + PRP + CP, D- J60, épidermisation terminée avec GSCC + PRP + CP, en retard, surtout dans l'aire verticale, avec GSCC seule.



Fig. 14: 3^{ème} degré par flamme des 2 jambes. A- aspect initial. B- J6, jambe G GSCC + PRP + CP, jambe D GSCC. C-J 30, épidermisation plus avancée à G qu'à D.



Fig. 12: 3^{ème} degré par flamme. A- aspect initial. B- J12, à gauche GSCC + PRP + CP, à D GSCC. C-J 37, épidermisation plus avancée à G, D- J57, E- J80, épidermisation terminée à G, pas à D.

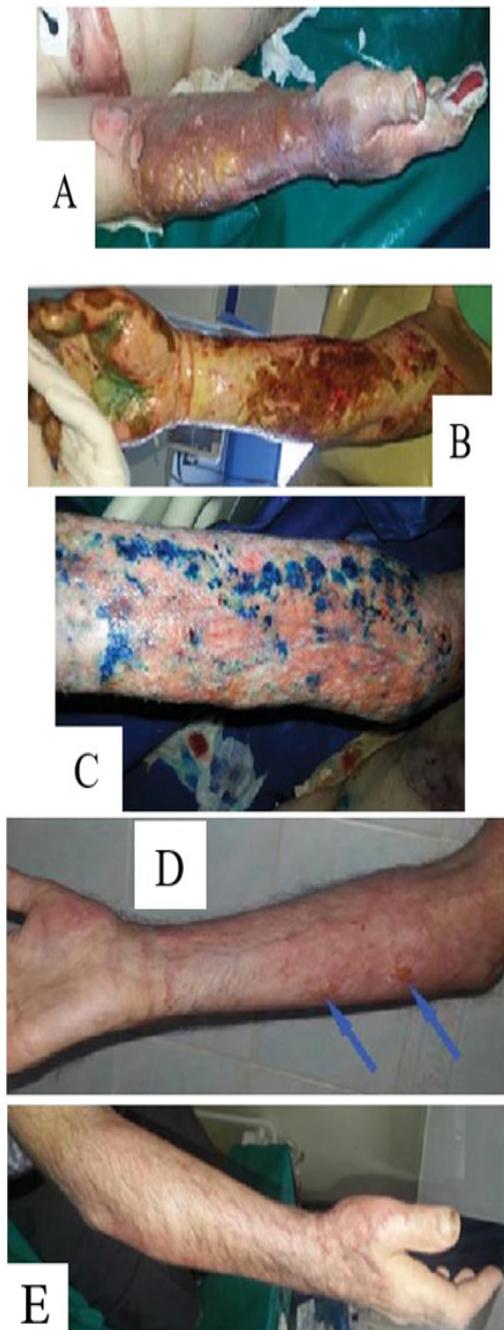


Fig. 15: 3^{ème} degré par flamme des 2 jambes. A, B- aspect initial. C- épidermisation en cours D- phlyctènes montrant la fragilité cutanée. E- Aspect à J 90.

Discussion

La littérature montre la progression des greffes tissulaires vers les microgreffes puis vers la TC qui permet une épidermisation de bonne qualité et dans les meilleurs délais en cas de brûlure du 2^{ème} degré.^{42,43} Nos résultats vont dans la même sens. Ces résultats semblent meilleurs, comparativement à ceux initialement publiés par notre équipe, grâce à l'utilisation séquentielle de diverses lignées cellulaires et l'association à PRP et CP, antioxydants, les stimulants de cicatrisation et les anti-granulomateux.²⁸ Lors du prélèvement cutané initial, quelle que soit l'anesthésie réalisée, il faut éviter d'infiltrer la zone par un anesthésique local ou de l'adrénaline, potentiellement cytotoxiques.^{44,45} La partie dermo-épidermique du prélèvement ini-

tial contient certes des CS, mais en quantité relativement limitée.^{28,29} En revanche, l'hypoderme représente la source de CS mésenchymateuses adultes la plus accessible et la plus abondante de l'organisme. Ainsi 1g d'hypoderme peut contenir 5 000 CS.⁴⁶ Le tissu adipeux est encore plus riche et, dans 25 ml prélevés, on peut recueillir plusieurs millions de CS.⁴⁷ Après ensemencement, les CS vont interagir avec les autres cellules cutanées, entraînant des sécrétions de cytokines et de facteurs de croissance qui stimuleraient la régénération tissulaire à partir des CS du tissu receveur et fourniraient des antioxydants favorisant la réparation tissulaire.^{48,49} En cas de brûlure du 2^{ème} intermédiaire, où il persiste des éléments dermiques, l'apport de CEJ et de CD permet d'accélérer l'épidermisation. Quand il s'agit d'une brûlure du 3^{ème} degré, il faut aussi reconstituer le derme, en utilisant CD et CHD.⁵⁰ Secondairement, l'ensemencement par CEJ et CD va permettre la reconstitution cutanée.⁵¹ La confluence, qui permet de multiplier par 4 à 5 en 3 jours le nombre de cellules disponibles est utile en cas d'atteinte profonde (3^{ème}) et/ou étendue et permet d'éviter le recours à de multiples prélèvements cutanés.⁵² Les meilleurs résultats de la T.C sont obtenus quand on emploie des traitements adjuvants (Tableau IV): les plaquettes ont un rôle important dans la cicatrisation par le biais de la libération d'un grand nombre de cytokines et de facteurs de croissance qui stimulent la migration et la prolifération des cellules. En outre, les plaquettes ont un rôle hémostatique par la formation d'un caillot de fibrine, ont une capacité antimicrobienne et stimulent la granulation.¹² L'isolation du PRP à partir du plasma assure une augmentation de 5 à 10 fois la concentration plaquettaire si bien que l'utilisation de PRP durant les premiers jours d'ensemencement permet une diminution significative du délai de guérison.⁵³ Ceci n'est toutefois observé que dans les brûlures du 2^{ème} degré.⁵⁴ Le CP est riche en albumine, immunoglobulines, fibrinogène, facteur VIII, fibronectine. Cette dernière est une glycoprotéine sécrétée par les hépatocytes.⁵⁵ C'est un composant important de la matrice extracellulaire ainsi qu'un élément favorisant l'adhérence entre la cellule et le tissu conjonctif.^{38,56} Elle est impliquée dans de nombreux processus comme l'opsonisation, la thrombose et la cicatrisation.⁵⁷ Son utilisation dans le cadre de la brûlure se base sur la modulation des interactions entre la matrice extracellulaire et les cellules, après formation de complexes fibronectine/intégrines.⁵⁸⁻⁵⁹ L'huile d'olive est utilisée depuis l'antiquité par les grecs, les romains, les juifs pour soigner les plaies.^{60,61} Elle est particulièrement riche en antioxy-

Tableau IV - Facteurs influençant la réussite des GSCC.

Paramètre	Favorisant	Défavorisant
Début précoce	**	
Plaie propre	**	
Granulome		**
Air filtré, pression positive	**	
Cellules fraîches	**	
Cellules cryopréservées	**	
PRP d'emblée	**	
Secondairement, CP + corticoïde local	**	
Appui sur GSCC		**
Région non horizontale		**
Région anfractueuse		**
Humidité propre	**	
Anémie < 10g/dl		**
Milieu social défavorisé		**
Stress, dépression		**
Brûlure profonde et étendue		**
Âges extrêmes, comorbidités, dénutrition		**

dants tels que l'acide oléique et le squalène, possède un rôle antibactérien et améliore la cicatrisation des plaies comme des brûlures.⁶²⁻⁶⁴ Le miel est lui aussi connu depuis l'antiquité pour trois propriétés: antimicrobienne, cicatrisante et anti-inflammatoire.⁶⁵⁻⁶⁷ Des études comparatives avec la sulfadiazine argentine ont montré qu'il représente une bonne alternative et possède même des avantages dans les pansements des brûlés.^{68,69} La Vitamine C a un rôle essentiel dans la synthèse du collagène.^{70,71} La vitamine K est à utiliser dès le début pour amoindrir et/ou prévenir les troubles de la coagulation, tout en assurant chaque fois qu'il est nécessaire la prévention des thromboses par l'héparine à faible poids moléculaire.⁷²⁻⁷⁷ La vitamine A peut être utilisée en fin de processus, en raison de son activité trophique sur les épithéliums.⁷⁸⁻⁸⁰ L'ensemble du traitement d'un brûlé, prévention et gestion de l'infection est classique. L'apparition d'une granulation excessive, qui va gêner la cicatrisation, peut être prévenue par l'utilisation de pansements en mousse ou de pansements non occlusifs pour réduire la macération.⁸¹⁻⁸⁹ Les topiques corticoïdes peuvent permettre de réduire une granulation excessive.⁹⁰ Ce traitement peut être effectué en préventif après la granulation optimale, pour ne pas inhiber la prolifération cellulaire des premiers stades.⁹¹ Le nitrure d'argent est aussi utilisé en cas d'échec des méthodes précédentes. Enfin, l'excision chirurgicale est le dernier recours ramenant les plaies au stade initial. Nutrition (macro- et micronutrition), gestion de la douleur sont des pré requis pour la réussite de la technique.⁹²⁻⁹⁴ La gravité et la pesanteur jouent un rôle sur l'ancrage cellulaire. La TC en surface horizontale donne de meilleurs résultats que sur une aire en pente (Figs. 6, 12, 13 et 16) où la force d'ancrage passerait d'un frottement statique en cinétique. Ainsi la gravité agit sur la masse et la densité dont dépendent l'évolution du cytosquelette et la motilité cellulaire.⁹⁵ Il semblerait que des détecteurs de gravité existent dans certaines cellules spécialisées, alors que d'autres cellules dépourvues de cette faculté sont affectées par l'accélération inertielle. Dans les deux cas, les cellules peuvent détecter la direction de la gravité («haut» et «bas») et/ou l'amplitude de la gravité et de bio minéralisation qui sont tous fonctionnellement calcium dépendants et la vie cellulaire ne pourrait démarrer qu'après un ancrage dans le milieu receveur, ce qui explique des résultats meilleurs sur une surface plane.^{96,97} Il est donc important chez les brûlés d'avoir une calcémie normale et d'insister auprès du patient pour que l'aire greffée soit positionnée à l'horizontale et orientée vers le haut. Les cellules se greffent mal quand la plaie est mal aérée et soumise à un poids ou un appui, ce qui nous a amenés à utiliser les jerseys minces,

qui ne causent pas de compression et n'entravent pas les échanges hydriques, au-dessus de tulle à l'huile. L'oxygénothérapie hyperbare (OHB) stimule prolifération, différenciation, renouvellement, apoptose et migration des CS.^{98,99} La répétition des ensemencements est un élément essentiel pour l'épidermisation, permettant d'optimiser les conditions d'intégration, de prolifération et de fonctionnement des CS apportées.¹⁰⁰⁻¹⁰⁵ Ainsi, la GSCC consiste en une greffe dirigée, assistée et adaptée à l'évolution de la brûlure, jusqu'à l'épidermisation complète.

Limites de la méthode. Les GSCC n'ont pas d'incidence sur la mortalité, qui reste dépendante d'une escarrectomie précoce. Le délai de guérison des brûlures du 3^{ème} degré est plus long qu'avec l'excision-greffe, ce qui devrait nous amener à reconsidérer son indication dans ces cas. L'éventuelle transformation tumorale des CS greffées est une inquiétude. Mais le transfert de graisse autologue est utilisé en chirurgie depuis la fin du XIX^{ème} siècle, ce qui nous permet de disposer d'un recul rassurant quant à l'innocuité de ce procédé.

Avantages de la méthode. Absence de problèmes d'éthique et médico-légal puisqu'il s'agit d'une autogreffe, reproductibilité. Les produits utilisés dans la préparation sont forts réduits et ne présentent quasiment pas les risques de la xéno greffe. Les dérivés du plasma sont vérifiés comme pour une transfusion. Amélioration des résultats fonctionnels et esthétiques en accélérant la cicatrisation des brûlures du 2^{ème} degré tout en diminuant leur durée d'hospitalisation. La culture, quand c'est nécessaire, est effectuée pour un seul passage et par conséquent les cellules gardent leur spécificité sans risque d'indifférenciation ou de transformation. Sa mini-invasivité : la zone donneuse pourrait couvrir, via les GSCC une zone receveuse 1 000 fois plus grande, encore étendue en cas de lipoaspiration additionnelle. Sa rentabilité financière : son faible coût de préparation fait que le rapport efficacité-coût est supérieur à toute autre méthode.

Conclusion

Presque toujours disponible, la GSCC peut être considérée comme une valeur ajoutée aux autres techniques de greffes tissulaires et substituts cutanés. Chez les grands brûlés où la peau saine manque pour effectuer des greffes tissulaires et/ou quand les substituts ne sont pas accessibles. Chez tout brûlé du 2^{ème} degré afin d'améliorer les résultats esthétiques et fonctionnels. Elle est aussi utilisable pour traiter les plaies chroniques.²⁸ Nos résultats montrent que la GSCC est une alternative qui mérite d'être utilisée et qui devrait prendre sa place dans l'arsenal thérapeutique au bénéfice des brûlés.

BIBLIOGRAPHIE

- Atiyeh BS, Hayek SN, Gunn SWA: New technologies for burn wound closure and healing. Review of the literature. Burns, 31: 944-56, 2005.
- Barret JP, Herndon DN: Effects of burn wound excision on bacterial colonization and invasion. Plast Reconstr Surg, 111: 744-50, 2003.
- Horvath EE, Murray CK, Vaughan GM, Chung KK et coll: Fungal wound infection (not colonization) is independently associated with mortality in burn patients. Ann Surg, 245: 978-85, 2007.
- Pham TN, Cancio LC, Gibran NS: American Burn Association practice guidelines, burn shock resuscitation. J Burn Care Res, 29: 257-66, 2008.
- Janzekovic Z: A new concept in the early excision and immediate grafting of burns. J Trauma, 10: 1103-8, 1970.
- Burke JF, Bandoc CC, Quinby WC: Primary burn excision and immediate grafting: a method for shortening illness. J Trauma, 14: 389-95, 1974.
- Desai MH, Herndon DN, Broemeling L, Barrow RE et coll: Early burn wound excision significantly reduces blood loss. Ann Surg, 211: 753-762, 1990.
- Puri V, Khare NA, Chandramouli MV, Shende N et coll: Comparative analysis of early excision and grafting vs delayed grafting in burn patients in a developing country. J Burn Care Res, 37: 278-82, 2016.
- Engrav LH, Heimbach DM, Reus JL, Hamar TJ et coll: Early excision and grafting vs. nonoperative treatment of burns of indeterminate depth: a randomized prospective study. J Trauma, 23: 1001-4, 1983.
- Caldwell FT Jr, Wallace BH, Cone JB: Sequential excision and grafting of the burn injuries of 1507 patients treated between 1967 and 1986: end results and the determinants of death. J Burn Care Rehab, 17: 137-46, 1996.
- Saffle JE: Closure of the excised burn wound: Temporary skin substitutes. Clin Plast Surg, 36: 627-41, 2009.

- 12 Grasset N, Raffoul W, Bigliardi P: Pansements bioactifs. *Rev Med Suisse*, 6: 354-7, 2010.
- 13 Barker CF, Markmann JF: Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med*, a014977, 2013.
- 14 Reverdin JL: Greffe épidermique. *Bulletin de la Société Impériale Chirurgicale de Paris 1869*, 10: 511-5.
- 15 Revol M, Servant JM: Greffes cutanées. *Encycl Med Chir*, 45-070, 2010.
- 16 Thiersch C: Ueber die feineren anatomischen Veränderungen bei Aufheilung von Haut auf Granulationen. *Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Chirurgie*, 3: 69-75, 1874.
- 17 Von Mangoldt F: Die ueberhäutung von Wundflächen und Wundhöhlen durch Epithelaussaat, eine neue Methode der Transplantation. *Dtsch Med Wchnschr*, 21: 798-9, 1895.
- 18 Murphy JB: Heteroplastic tissue grafting effected through Roentgen-ray lymphoid destruction. *JAMA*, 62: 1459, 1914.
- 19 Medawar PB: The behavior and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat*, 78: 176-99, 1944.
- 20 Moscona A, Moscona H: The dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo. *J Anat*, 86: 287-301, 1952.
- 21 Meek CP: Successful microdermagrafting using the Meek-Wall microdermatome. *Am J Surg*, 96: 557-8, 1958.
- 22 Tanner JC, Vandeput J, Olley JF: The mesh skin graft. *Plast Reconstr Surg*, 34: 287-292, 1964.
- 23 Rheinwald JG, Green H: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 6: 331-43, 1975.
- 24 O'Connor NE, Mulliken JB, Banks-Schlegel S, Kehinde O et coll: Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet*, 317: 75-8, 1981.
- 25 Bell E, Ehrlich HP, Buttle DJ, Nakatsuji T: Living tissue formed in vitro and accepted as skin equivalent tissue or full thickness. *Science*, 211: 1052-4, 1981.
- 26 Wood FM, Kolybaba ML, Allen P: The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn wounds: eleven years of clinical experience. *Burns*, 32: 538-544, 2006.
- 27 Gerlach J, Wolf SE, Johnen C: Innovative regenerative medicine approaches to skin cell-based therapy for patients with burn injuries. In Gerlach J: *Principles of regenerative medicine*, N°76, pp. 1298-1321. Elsevier, ed. Burlington, MA: Elsevier/Academic Press, 2008.
- 28 Sabeh G, Sabé M, Ishak S, Sweid R et coll: Greffes séquentielles de cellules cutanées: premiers résultats d'un nouveau procédé et revue de la littérature. *Lebanese Medical Journal*, 103: 1-12, 2015.
- 29 Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, Sun TT et coll: Involvement of follicular stem cells informing not only the follicle but also the epidermis. *Cell*, 102: 451-61, 2000.
- 30 Coleman SR: Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin Plast Surg*, 28: 111-9, 2001.
- 31 Walsh KA: Trypsinogens and trypsins of various species. *Meth Enzymol*, 1: 41-63, 1970.
- 32 Galié M, Pignatti M, Scambi I, Sbarbati A et coll: Comparison of different centrifugation protocols for the best yield of adipose-derived stromal cells from lipoaspirates. *Plast Reconstr Surg*, 122: 233e-4e, 2008.
- 33 Bourin P, Peyratitte JA, Fleury-Cappellesso S: A first approach for the production of human adipose tissue-derived stromal cells for therapeutic use. *Methods Mol Biol*, 702: 331-343, 2011.
- 34 Strober W: Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current protocols in immunology*, 111: A3-B, 2015.
- 35 Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T: Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*, 27: 158-67, 2009.
- 36 Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE: Platelet-rich plasma: a literature review. *Implant Dent*, 18: 303-10, 2009.
- 37 Sparrow RL, Greening DW, Simpson RJ: A protocol for the preparation of cryoprecipitate and cryodepleted plasma. *Methods Mol Biol*, 728: 259-65, 2011.
- 38 Poulouin L, Gallet O, Imhoff JM: La fibronectine : propriétés et fonctions de la molécule native et de ses fragments. *Médecine/sciences*, 13: 657-61, 1997.
- 39 Abdollahi H, Harris LJ, Zhang P, McIlhenny S et coll: The role of hypoxia in stem cell differentiation and therapeutics. *J Surg Res*, 165: 112-7, 2011.
- 40 Sullivan T, Smith J, Kermod J, McIver E et coll: A review of scar scales and scar measuring devices. *J Burn Care Rehabil*, 11: 256-60, 1990.
- 41 Draaijers LJ, Tempelman FR, Botman YA, Tuinebreijer WE et coll: The patient and observer scar assessment scale: a reliable and feasible tool for scar evaluation. *Plast Reconstr Surg*, 113: 1960-5, 2004.
- 42 Biswas A, Bharara M, Hurst C, Armstrong DG et coll: The micrograft concept for wound healing: strategies and applications. *J Diabetes Sci Technol*, 4: 808-19, 2010.
- 43 Mcheik JN, Barrault C, Levard G, Morel F et coll: Epidermal healing in burns: autologous keratinocyte transplantation as a standard procedure : update and perspective. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2: e218, 2014.
- 44 Donat N, Cirodde A, Shaal JV, Hoffmann C et coll: Particularités anesthésiques du patient brûlé. *Médecine et armées*, 43: 149-56, 2015.
- 45 Girard AC, Festy F, Roche R: Local anesthetics: use and effects in autologous fat grafting. *Surgery Curr Res*, 3: 142, 2013.
- 46 Mizuno H: Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch*, 76: 56-66, 2009.
- 47 Jurgens WJ, Oedayrajsingh-Varma MJ: Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Cell Tissue Res*, 332: 415-426, 2008.
- 48 Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res*, 100: 1249-60, 2007.
- 49 Kim WS, Park BS, Kim HK, Park JS et coll: Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J Dermatol Sci*, 49: 133-42, 2008.
- 50 Narayanan AS, Page RC, Swanson J: Collagen synthesis by human fibroblasts. Regulation by transforming growth factor-beta in the presence of other inflammatory mediators. *Biochem J*, 260: 463-9, 1989.
- 51 Werner S, Krieg T, Smola H: Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol*, 127: 998-1008, 2007.
- 52 Masters JR, Stacy GN: Changing medium and passaging cell lines. *Nature Protocols*, 2: 2276, 2007.
- 53 Marck RE, Middlkoop E, Breederveld RS: Considerations on the use of platelet-rich plasma, specifically for burn treatment. *J Burn Care Res*, 35: 219-27, 2014.
- 54 Venter NG, Marques RG, Santos JS, Monte-Alto-Costa A: Use of platelet-rich plasma in deep second- and third-degree burns. *Burns*, 42: 807-14, 2016.
- 55 Tamkun JW, Hynes RO: Plasma fibronectin is synthesized and secreted by hepatocytes. *J Biol Chem*, 258: 4641-7, 1983.
- 56 Thiéry J, Dufour S, Duband J: Fibronectines, morphogénèse et migrations cellulaires. *Med Sci*, 3: 316-25, 1987.
- 57 Stenman S, Vaheri A: Distribution of major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *J Exp Med*, 147: 1054-64, 1978.
- 58 La Flamme SE, Auer KL: Integrin signaling. *Semin Cancer Biol*, 6: 111-8, 1999.
- 59 Parsons JT: Integrin-mediated signaling: regulation by protein tyrosine kinases and small GTP-binding proteins. *Curr Opin Cell Biol*, 8: 146-52, 1996.
- 60 Nomikos NN, Nomikos GN, Kores DS: The use of deep friction massage with olive oil as a means of prevention and treatment of sports injuries in ancient times. *Arch Med Sci*, 6: 642-5, 2010.
- 61 Luke 10: 25-37. Bible Gateway. New International Version, 2011.
- 62 Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R et coll: Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol*, 1: 107-12, 2000.
- 63 Rosa Ados S, Bandeira LG, Monte-Alto-Costa A, Romana-Souza B: Supplementation with olive oil, but not fish oil, improves cutaneous wound healing in stressed mice. *Wound Repair Regen*, 22: 537-47, 2014.
- 64 Edraki M, Akbarzadeh A, Hosseinzadeh M, Tanideh N et coll: Healing effect of sea buckthorn, olive oil, and their mixture on full-thickness burn wounds. *Adv Skin Wound Care*, 27: 317-23, 2014.
- 65 Molan PC: The role of honey in the management of wounds. *J Wound Care*, 8: 415-8, 1999.
- 66 White JW, Subers MH, Schepartz AI: The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochem Biophys Acta*, 73: 57-79, 1963.
- 67 Mavric E, Wittmann S, Barth G, Hente T: Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res*, 52: 483-9, 2008.
- 68 Cooper R, Gray D: Is manuka honey a credible alternative to silver in wound care? *Wounds UK*, 8: 54-64, 2012.

- 69 Subrahmanyam M: A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns*, 24: 157-61, 1998.
- 70 Diegelmann RF: Collagen metabolism. *Wounds*, 13: 177-82, 2001.
- 71 Boyera N, Galey I, Bernard BA: Effect of vitamin C and its derivatives on collagen synthesis and cross-linking by normal human fibroblasts. *Int J Cosmet Sci*, 20: 151-8, 1998.
- 72 Clouse LH, Comp PC: The regulation of hemostasis: the protein C system. *New England Med J*, 314: 1298-304, 1986.
- 73 Matsuzaka T, Tanaka H, Fukuda M, Aoki M et coll: Relationship between vitamin K dependent coagulation factor and anticoagulants (protein C and protein S) in neonatal vitamin K deficiency. *Arch Dis Child*, 68: 297-302, 1993.
- 74 Ferland G: Vitamin K. In: Erdman Jr. JW, Macdonald IA, Zeisel SH (eds.) *Present Knowledge in: Nutrition*. 10th ed. Ames: Wiley-Blackwell, pp. 230-247, 2012.
- 75 Laurance S, Lemarié CA, Blostein MD: Growth Arrest-Specific gene 6 (gas6) and vascular hemostasis. *Adv Nutr*, 3: 196-203, 2012.
- 76 Conly J, Stein K: Reduction of vitamin K2 concentrations in human liver associated with the use of broad-spectrum antimicrobials. *Clin Invest Med*, 17: 531-9, 1994.
- 77 Food and Nutrition Board, Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. National Academy Press, 162-96, 2001.
- 78 Traber MG: Vitamin E and K interactions: a 50-year-old problem. *Nutr Rev*, 66: 624-9, 2008.
- 79 Pintaudi AM, Tesoriere L, D'Arpa N, D'Amelio L et coll: Oxidative stress after moderate to extensive burning in humans. *Free Radic Res*, 33: 139-46, 2000.
- 80 Salles AG, Gemperli R, Toledo PN, Ferreira MC: Combined tretinoin and glycolic acid treatment improves mouth opening for postburn patients. *Aesthet Plast Surg*, 30: 356-62, 2006.
- 81 Soares de Macedo JL, Santos JB: Bacterial and fungal colonization of burn wounds. *Memorias de Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 535-9, 2005.
- 82 Bloemsma GC, Dokter J, Boxma H, Oen IM: Mortality and causes of death in a burn centre. *Burns*, 34: 1103-7, 2008.
- 83 Horvath EE, Murray CK, Vaughan GM, Chung KK et al.: Fungal wound infections (not colonization) is independently associated with mortality in burn patients. *Ann Surg*, 245: 978-85, 2007.
- 84 Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B et coll: Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev*, 19: 403-34, 2006.
- 85 Amould JF, Le Floch R: Infection fongiques des brûlés: revue. *Ann Burns Fire Disasters*, 28: 21-8, 2015.
- 86 Desai MH, Hemdon DN: Eradication of *Candida* burn wound septicemia in massively burned patients. *J Trauma*, 28: 140-5, 1988.
- 87 Harris A, Rolstad B: Hypergranulation tissue: a non-traumatic method of management. *Ostomy Wound Manage*, 40: 20-30, 1994.
- 88 Warriner L, Spruce P: Managing overgranulation tissue around gastrostomysites. *Br J Nurs*, 21: S14-6, 2012.
- 89 Lloyd-Jones M: Treating overgranulation with a silver hydrofibre dressing. *Wound Essentials*, 1: 116-18, 2006.
- 90 Wong H, Wahl SM: Tissue repair and fibrosis: In: Zambale M and Asherson GL (eds.) *Human Monocytes*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 383-94, 1989.
- 91 Sanchis A, Alba L, Latorre V, Sevilla LM et coll: Keratinocytes-targeted overexpression of the glucocorticoid receptor delays cutaneous wound healing. *PLoS ONE*, 7: e29701, 2012.
- 92 Bains JW, Crawford DT, Ketcham AS: Effect of chronic anemia on wound tensile strength: correlation with blood volume, total red blood cell volume and proteins. *Ann Surg*, 164: 243-6, 1966.
- 93 Mecott GA, Al-Moussawi AM, Gauglitz GG, Herndon DN et coll: The role of hyperglycemia in burned patients: evidence-based studies. *Shock*, 33: 5-13, 2013.
- 94 Cunningham-Rundles S, McNeely DF, Moon A: Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*, 115: 1119-28, 2005.
- 95 Yamashita M, Baba SA: Biology of size and gravity. *Biol Sci Space*, 18: 13-27, 2004.
- 96 Albrecht Buehler G: Possible mechanisms of indirect gravity sensing by cells. *ASGSB Bull*, 4: 25-34, 1991.
- 97 Ross MD: The influence of gravity on structure and function of animals. *Adv Space Res*, 4: 305-14, 1984.
- 98 Thom SR, Bhopale VM, Velazquez OC, Goldstein LJ et coll: Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*, 290: H1378-86, 2006.
- 99 Villanueva E, Bennett MH, Wasiak J, Lehm JP: Hyperbaric oxygen therapy for thermal burns. In: *The Cochrane Library*, Issue 1, Oxford Ed, 2006.
- 100 Loewenstein WR: Cellular communication through membrane junctions. *Arch Intern Med*, 129: 299-305, 1972.
- 101 Raposo G, Stoorvogel W: Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*, 200: 373-83, 2013.
- 102 Scadden DT: The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*, 441: 1075-9, 2006.
- 103 Wong VW, Levi B, Rajadas J, Longaker MT et coll: Stem cell niches for skin regeneration. *Int J Biomat*, 926059, 2012.
- 104 Karam JP, Muscari C, Montero-Menei CN: Combining adult stem cells and polymeric devices for tissue engineering in infarcted myocardium. *Biomaterials*, 33: 5683-95, 2012.
- 105 Yang Z, Klionsky DJ: Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol*, 12: 814-22, 2010.

Aucun conflit d'intérêt.