



**HAL**  
open science

# L'effet du vieillissement sur la microcirculation cutanée

Marie-Line Dahan (ép. Gaubert)

► **To cite this version:**

Marie-Line Dahan (ép. Gaubert). L'effet du vieillissement sur la microcirculation cutanée. Physiologie [q-bio.TO]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2008. Français. NNT: . tel-00370422

**HAL Id: tel-00370422**

**<https://theses.hal.science/tel-00370422>**

Submitted on 24 Mar 2009

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES SANTE

DIPLOME DE DOCTORAT

DISCIPLINE : PHYSIOLOGIE

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le

11 décembre 2008

par

Marie-Line GAUBERT-DAHAN

TITRE :

L'EFFET DU VIEILLISSEMENT

SUR LA MICROCIRCULATION CUTANEE

DIRECTEUR : Madame le Docteur Bérengère FROMY

JURY : Monsieur le Professeur Gilles BERRUT, Examineur  
Monsieur le Professeur Alain FRANCO, Rapporteur  
Madame le Docteur Bérengère FROMY, Directeur  
Monsieur le Professeur Régis GONTHIER, Rapporteur  
Monsieur le Professeur Jean-Louis SAUMET, Président



*A Emmanuel,  
A Ilana et Anaëlle.*

## Remerciements

### ***Monsieur le Professeur Jean-Louis Saumet,***

Vous m'avez accueillie au sein de votre équipe, vous avez accepté de me confier ce travail de recherche sur le vieillissement et vous m'avez donné les moyens de le réaliser. Que cette thèse soit pour moi l'occasion de vous exprimer mon respect, ma reconnaissance et ma gratitude.

### ***Madame le Docteur Bérengère Fromy,***

Tu as accepté avec enthousiasme d'être mon directeur de thèse. Tu m'as guidée avec beaucoup de sérieux, de patience et de gentillesse tout au long de ce travail. Je te remercie pour ta disponibilité, ton aide et tes conseils. Soit assurée de ma reconnaissance et de mon amitié.

### ***Monsieur le Professeur Gilles Berrut,***

Vous m'avez encouragée à faire de la Recherche. Vous avez participé à l'élaboration de ce travail et vous m'avez donné les moyens de le réaliser. Que cette thèse soit l'occasion de vous redire mon respect, ma reconnaissance et ma gratitude.

### ***Monsieur le Professeur Alain Franco,***

Vous me faites l'honneur de prendre part à mon jury de thèse et d'accepter de juger mon travail. Que cette thèse soit pour moi l'occasion de vous exprimer mon respect et ma reconnaissance.

### ***Monsieur le Professeur Régis Gonthier,***

Vous avez accepté de siéger dans ce jury et d'estimer ce travail. Que cette thèse soit pour moi l'occasion de vous exprimer mon respect et ma reconnaissance.

***Madame le Docteur Dominique Sigaud-Roussel,***

Tu as encadrée mes premiers travaux de recherche et tu as encouragé les suivants. Ta participation à l'élaboration et à la réalisation de ce travail a été précieuse. Soit assurée de ma reconnaissance et de mon amitié.

***Monsieur le Docteur Pierre Abraham,***

J'ai apprécié ta collaboration à la mise en œuvre de ce travail et ton aide à sa réalisation. Je te remercie pour ta disponibilité, tes conseils et ton aide. Que cette thèse soit l'occasion de te dire ma reconnaissance.

***Madame le Docteur Sandra Merzeau,***

Tu as assuré l'acquisition et de l'archivage des données et documents réglementaires. Que cette thèse soit l'occasion de te dire mes remerciements.

***Madame Lydie Gascoin, Madame le Docteur Maylis Tartas et Monsieur le Docteur Pascal Rousseau,***

Vous avez participé à la réalisation de ce travail. Je vous remercie pour votre aide, votre sérieux et votre patience. Soyez assurés de ma reconnaissance.

***Madame Isabelle Laporte*** pour sa gentillesse, son aide et son enthousiasme.

***Mesdemoiselles Jennifer Deschamps et Maud Poirier,***

Vous avez pris soin des animaux et vous m'avez apporté votre aide lors des expérimentations. Que cette thèse soit l'occasion de vous exprimer mes remerciements.

Mes compagnons d'études : ***Mesdemoiselles Céline Baron, Elisabeth Bellard, Claire Demiot, Audrey Koitka,*** et ***messieurs Ambroise Garry, Alexis Le Faucheur et Lionel Fizanne*** pour leur soutien et leur bonne humeur.

Les sujets qui ont bien voulu participer à ce travail.



Les travaux de recherche présentés ont pu être réalisés grâce aux financements de l'Association de Gériatrie de la Région Angevine et du Programme Hospitalier de Recherche Clinique Régional 2005/18.



<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>4</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTE DES PUBLICATIONS</b> .....	<b>12</b>
<b>ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>14</b>
<b>CHAPITRE 1 : PHYSIOLOGIE DE LA PEAU</b> .....	<b>17</b>
<b>1. ORGANISATION DE LA PEAU</b> .....	<b>17</b>
1.1. L'ÉPIDERME .....	18
1.2. LE DERMIS .....	18
1.3. L'HYPODERME.....	19
1.4. LES FONCTIONS DE LA PEAU.....	19
1.5. PARTICULARITES DE LA PEAU DU RONGEUR.....	20
<b>2. LA SENSIBILITE CUTANEE</b> .....	<b>21</b>
2.1. LA SENSIBILITE MECANIQUE CUTANEE .....	21
2.2. LA SENSIBILITE THERMIQUE.....	24
2.3. LA NOCICEPTION .....	25
<b>3. LA MICROCIRCULATION CUTANEE</b> .....	<b>27</b>
3.1. ASPECTS STRUCTURELS .....	27
3.2. ASPECTS FONCTIONNELS .....	32
<b>CHAPITRE 2 : METHODES D'EXPLORATION</b> .....	<b>40</b>
<b>1. L'EXPLORATION DE LA MICROCIRCULATION CUTANEE IN VIVO</b> .....	<b>40</b>
1.1. LE LASER DOPPLER .....	40
1.2. L'IONTOPHORESE .....	42
1.3. LE CHAUFFAGE LOCAL.....	46
<b>2. L'EXPLORATION DE LA SENSIBILITE CUTANEE IN VIVO</b> .....	<b>47</b>
2.1. CHEZ LA SOURIS.....	47
2.2. CHEZ L'HOMME.....	50
<b>CHAPITRE 3 : LA VASODILATATION CUTANEE INDUITE PAR UNE PRESSION LOCALE</b> .....	<b>55</b>
<b>1. MATERIEL ET METHODE</b> .....	<b>56</b>
<b>2. LA PIV CHEZ L'HOMME</b> .....	<b>58</b>
<b>3. LA PIV CHEZ L'ANIMAL</b> .....	<b>60</b>
3.1. MISE EN EVIDENCE DE LA PIV .....	60
3.2. ROLE DU CGRP ET DES NEUROKININES .....	60
3.3. ROLE DU NO ET DES PROSTAGLANDINES .....	61
3.4. ROLE DE L'EDHF.....	61
3.5. LIMITES DU MODELE ANIMAL.....	62
<b>CHAPITRE 4 : LES EFFETS CONNUS DU VIEILLISSEMENT</b> .....	<b>63</b>
<b>1. LE VERSANT VASCULAIRE</b> .....	<b>63</b>
1.1. LA VASODILATATION ENDOTHELIUM-DEPENDANTE ALTEREE AVEC L'AGE .....	63
1.2. LA VASODILATATION ENDOTHELIUM-INDEPENDANTE PRESERVEE AVEC L'AGE .....	64

<b>2. LE VERSANT NEUROLOGIQUE .....</b>	<b>65</b>
2.1. ALTERATIONS DE LA SENSIBILITE CUTANEE AVEC L' AGE.....	65
2.2. ALTERATIONS DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE AVEC L' AGE.....	65
2.3. ALTERATIONS DES FIBRES CAPSAÏNO-SENSIBLES .....	66
<b>3. PRESENTATION DU TRAVAIL.....</b>	<b>67</b>
3.1. L' HYPOTHESE : L' ALTERATION DE LA PIV AVEC L' AGE.....	67
3.2. LE CHOIX DU MODELE ANIMAL .....	67
3.3. LE PHRC CHEZ L' HOMME .....	68
<b>CHAPITRE 5 : L' EFFET DU VIEILLISSEMENT SUR LA VASODILATATION CUTANEE INDUITE PAR UNE PRESSION LOCALE .....</b>	<b>70</b>
<b>1. L' ETUDE CHEZ LA SOURIS.....</b>	<b>70</b>
1.1. OBJECTIFS .....	70
1.2. METHODES .....	70
1.3. RESULTATS.....	71
1.4. RESULTATS COMPLEMENTAIRES .....	72
<b>2. L' ETUDE CHEZ L' HOMME.....</b>	<b>74</b>
2.1. OBJECTIFS .....	74
2.2. METHODES .....	74
2.3. RESULTATS.....	76
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>80</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>88</b>
<b>ANNEXE 1 : NEUROPATHY SYMPTOM SCORE (NSS) ET NEUROPATHY DISABILITY SCORE (NDS).....</b>	<b>91</b>
<b>ANNEXE 2 : ECHELLES DE BRADEN ET DE NORTON.....</b>	<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>95</b>

## Résumé

RESUME : L'application d'une pression sur la peau provoque une vasodilatation cutanée, appelée vasodilatation induite par une pression (PIV), et retarde l'apparition de l'ischémie tissulaire liée à cette pression. La pression appliquée sur la peau active les fibres nerveuses capsaïno-sensibles, qui sécrètent en réponse des neurotransmetteurs, qui eux provoquent au niveau de l'endothélium la synthèse et la sécrétion de facteurs endothéliaux qui induisent une relaxation du muscle lisse. Ce travail avait pour objectif d'étudier l'effet du vieillissement sur la PIV.

Chez la souris âgée, sans neuropathie périphérique, la PIV était altérée en raison d'une diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante ; et la contribution des facteurs endothéliaux de la vasodilatation était modifiée : l'Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor jouait un rôle primordial en raison d'une diminution du monoxyde d'azote et de la prostacycline.

Chez les sujets âgés (60-75 ans), la PIV était altérée en comparaison avec les sujets jeunes (20-35 ans) en raison d'une diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante mais aussi d'une altération des fibres capsaïno-sensibles et/ou des neurotransmetteurs. En présence d'une neuropathie périphérique, la PIV était abolie.

Ces modifications de la microcirculation cutanée au cours du vieillissement expliqueraient la plus grande vulnérabilité de la peau à l'ischémie et l'augmentation du risque d'ulcère de pression liée à l'âge. La compréhension des modifications de la PIV avec l'âge permet d'entrevoir de nouvelles perspectives de prévention et de traitement de l'ulcère de pression chez le sujet âgé.

MOTS-CLES : ENDOTHELIUM - ESCARRE - MICROCIRCULATION - PEAU - SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE - VIEILLISSEMENT

INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE : FRE CNRS 3075 - Interactions neurovasculaires - Université Claude Bernard - LYON 1 - 8, avenue Rockefeller 69373 Lyon Cedex 08

TITLE : Aging effect on cutaneous microcirculation

SUMMARY : The pressure application on the skin leads to an increase of the cutaneous blood flow, called pressure-induced vasodilatation (PIV), that delays the occurrence of tissue ischemia resulting from this pressure. The development of this PIV depends on the activation by pressure of sensory C-fibres, leading to the release of neurotransmitters that acts at the endothelium level to stimulate the synthesis and release of endothelial factors inducing smooth muscle relaxation. This work had for objective to study the modifications of the PIV with the ageing.

In old mice, without peripheral neuropathy, the PIV was reduced because of a decrease of the endothelium-dependent vasodilatation and the endothelium factors of the vasodilatation were redistributed with a contribution of Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor because of a decrease of the nitric oxide and the prostacyclin.

In old subjects (60-75 years), the PIV was altered in comparison with young subjects (20-35 years) because of a decrease of the endothelium-dependent vasodilatation and a sensory fibres and/or neuromediators alteration. In the presence of a peripheral neuropathy, the PIV was abolished.

These modifications of the cutaneous microcirculation with the ageing would lead to an early occurrence of ischemia related to an increased risk for pressure ulcers and the understanding of PIV modifications allow to glimpse of news perceptives of prevention and treatment of pressure ulcers in elderly.

KEYWORDS : AGING - ENDOTHELIUM - MICROCIRCULATION - PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM - PRESSURE ULCER - SKIN

## Liste des publications

### **Article publié :**

**Gaubert ML**, Sigaudou-Roussel D, Tartas M, Berrut G, Saumet JL, Fromy B. Endothelium-derived hyperpolarizing factor as an in vivo back-up mechanism in the cutaneous microcirculation in old mice. *J Physiol* 2007;585:617-26.

### **Article soumis :**

Fromy B, Sigaudou-Roussel D, **Gaubert ML**, Rousseau P, Abraham P, Berrut G, Saumet JL. Effects of ageing on the cutaneous pressure-induced vasodilation: a novel testing to study tissue resistance to ischemia. *Circulation*.

### **Communications affichées à des congrès :**

-**Gaubert ML**, Sigaudou-Roussel D, Fromy B, Demiot C, Saumet JL, Berrut G. Endothelial dysfunction impairs skin blood flow response to local pressure application in old mice. XVIIIth World Congress of the International Association of Gerontology, Rio de Janeiro, Brazil, juin 2005.

-Fromy B, **Gaubert ML**, Tartas M, Sigaudou-Roussel D, Berrut G, Saumet JL. Endothelial dysfunction impairs skin blood flow response to local pressure application in old mice. XIVth International Vascular Biology Meeting, Noordwijkerhout, The Netherlands, juin 2006.

## Abréviations

<b>ACh</b> .....	<b>Acétylcholine</b>
<b>AHRCRQ</b> .....	<b>Agency for Health Care Research and Quality</b>
<b>AMPc</b> .....	<b>Adénosine monophosphate cyclique</b>
<b>CASE-IV</b> .....	<b>Computer-Aided Sensory Evaluator IV system</b>
<b>CGRP</b> .....	<b>Calcitonin gene-related peptide</b>
<b>COX</b> .....	<b>Cyclo-oxygénase</b>
<b>EDCF</b> .....	<b>Facteurs endothéliaux de contraction</b>
<b>EDHF</b> .....	<b>Facteur hyperpolarisant endothélial</b>
<b>EDRF</b> .....	<b>Facteurs endothéliaux de relaxation</b>
<b>ET-1</b> .....	<b>Endothéline-1</b>
<b>GMPc</b> .....	<b>Guanosine monophosphate cyclique</b>
<b>LASER</b> .....	<b>Light Activation by Stimulated Emission of Radiation</b>
<b>LDF</b> .....	<b>Laser Doppler Fluxmétrie</b>
<b>L-NAME</b> .....	<b>NG-nitro-L-arginine ester méthylique</b>
<b>L-NMMA</b> .....	<b>NG-monométhyl-L-arginine</b>
<b>L-NNA</b> .....	<b>NG-nitro-L-arginine</b>
<b>NDS</b> .....	<b>Neuropathy Disability Score</b>
<b>NO</b> .....	<b>Monoxyde d'azote</b>
<b>NOS</b> .....	<b>NO Synthase</b>
<b>NPUPAP</b> .....	<b>National Pressure Ulcer Advisory Panel</b>
<b>NSS</b> .....	<b>Neuropathy Symptom Score</b>
<b>PG</b> .....	<b>Prostaglandine</b>
<b>PGI2</b> .....	<b>Prostacycline</b>
<b>PIV</b> .....	<b>Pressure-Induced Vasodilation</b>
<b>PHRC</b> .....	<b>Programme Hospitalier de Recherche Clinique</b>
<b>SNP</b> .....	<b>Nitroprussiate de sodium</b>
<b>u.a.</b> .....	<b>Unité arbitraire</b>
<b>TcpO2</b>	<b>Pression transcutanée en oxygène</b>
<b>VIP</b> .....	<b>Peptide vasoactif intestinal</b>
<b>VCNM</b> .....	<b>Vitesse de conduction nerveuse motrice</b>
<b>VCNS</b> .....	<b>Vitesse de conduction nerveuse sensitive</b>

## Introduction

La peau constitue normalement une barrière de protection mécanique et sensorielle de l'organisme. Elle peut supporter sans conséquence des pressions élevées mais seulement pour une courte durée. Si la pression persiste, la peau comprimée n'est plus suffisamment irriguée (ischémie) et manque d'oxygène (hypoxie). Le corps réagit par une sensation de douleur, signal qui, chez la personne capable de bouger, l'incite à changer sa position. Des mouvements minimes suffisent pour interrompre l'action de la pression et rétablir la circulation. Si le sujet n'est plus en mesure de percevoir la douleur à la pression ou s'il n'est plus capable de bouger en réaction à la douleur, la compression persiste, l'ischémie tissulaire est de plus en plus sévère, la mort des cellules est inévitable et des nécroses tissulaires apparaissent (1). Ainsi, l'escarre est une lésion cutanée qui est le résultat d'une compression prolongée de tissus entre les saillies osseuses et le plan de contact sur lequel repose le sujet immobilisé. Cette définition de référence est proposée par le National Pressure Ulcer Advisory Panel (NPUAP) en 1989 et reprise par l'Agency for Health Care Research and Quality (AHRCRQ) en 1992 (2).

Si le facteur de risque primaire est l'immobilité, les états pathologiques qui affectent le fonctionnement et la résistance de la peau font partie des facteurs de risque secondaires. La peau devient alors plus vulnérable à la pression qui, même si elle n'agit que brièvement, peut se traduire par l'apparition d'une lésion. Le vieillissement physiologique de la peau fait partie de ces facteurs de risques secondaires. En effet, le vieillissement s'accompagne de modifications à la fois structurales et fonctionnelles de la peau : réduction de l'épaisseur de l'épiderme, diminution du taux de renouvellement de l'épiderme, altération des fibres élastiques, diminution du nombre de vaisseaux ... Ces modifications, provoquées par le vieillissement, rendent la peau plus fine et le tissu conjonctif cutané moins élastique (3). Une

exposition à la pression, même de courte durée peut évoluer rapidement vers une escarre. Ainsi, l'âge est en soi un facteur de risque d'escarre, bien souvent aggravé par une diminution de l'activité, une baisse de l'état général, un déséquilibre alimentaire et hydrique, et/ou une pathologie concomitante (4).

La prévalence de l'escarre varie de 3,5 à 29,5% chez les sujets hospitalisés et de 2 à plus de 20% chez les sujets vivant en institution (2). Elle a été estimée à 8,9% chez les sujets hospitalisés en France en 2004 (5). L'escarre est un fléau qui concerne tous les intervenants du soin et l'absence d'escarre est considérée comme un critère qualité des soins. L'escarre est une pathologie aussi redoutée par les patients que par les équipes soignantes. Les conséquences de l'escarre sont majeures : douleur, risque infectieux, perte d'autonomie, mortalité, augmentation de la durée d'hospitalisation, charge de travail supplémentaire pour les soignants, surcoût. Les mécanismes physiopathologiques de l'escarre ne sont pas toujours appréhendés, sa gravité est souvent estimée avec retard ce qui rend son traitement plus difficile. La prévention est certainement le traitement le plus efficace de l'escarre et la recherche de facteurs permettant de prédire le risque d'escarre est nécessaire (6).

L'identification des sujets âgés à risque d'escarre est primordiale en termes de prise en charge individuelle et en termes de santé publique. En pratique clinique, plusieurs grilles évaluent ce risque en prenant en compte différents paramètres, par exemple l'état général, l'état mental, la mobilité, la perception sensorielle, la continence, la nutrition... Les grilles les plus utilisées sont les scores de Norton et de Braden (7, 8).

En étudiant les effets des pressions d'appui sur la peau, l'équipe du Laboratoire de Circulations régionales et microcirculation de la Faculté de Médecine d'Angers a mis en évidence l'existence d'un couplage entre la mécanosensibilité et la vasodilatation cutanée chez les sujets sains (9). En



## ***Introduction***

effet, une pression locale déclenche une réponse neuro-vasculaire avec augmentation de la perfusion sanguine avant que l'écrasement des tissus ne conduise à une ischémie. Ainsi, ce gain de perfusion retarde l'apparition de l'ischémie tissulaire. Les études cliniques et expérimentales ont montrées que cette vasodilatation induite par la pression (PIV pour « pressure-induced vasodilation ») existe en dehors de tout phénomène inflammatoire ou algique et passe par les fibres nerveuses sensibles à la capsaïcine (10, 11). Les prostaglandines ont un rôle important et le NO (monoxyde d'azote) endothélial est indispensable (11). Ce mécanisme protecteur contre l'ischémie au niveau des zones de pression est altéré au cours du diabète (12-14), ainsi que lors d'une anesthésie générale (15) ou en condition thermique trop froide (16). La découverte de ce couplage entre mécanosensibilité et vasodilatation cutanée permet d'étudier les interactions neuro-vasculaires au niveau de la microcirculation cutanée et d'appréhender les mécanismes physiopathologiques qui mènent aux ulcères liés à une pression cutanée.

# Chapitre 1 : Physiologie de la peau

## 1. Organisation de la peau

La peau est l'organe le plus lourd (3 à 4 kg) et le plus étendu du corps humain (1,25 à 2 m<sup>2</sup>). Elle constitue l'enveloppe externe de l'organisme, qu'elle protège du milieu extérieur.

La peau est une membrane souple et résistante, plissée ou sillonnée (empreintes digitales) qui recouvre la majeure partie du corps. Son épaisseur est de 2 mm en moyenne, 1 mm au niveau des paupières et 4 mm au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds. Son épaisseur varie également selon le sexe (plus mince chez la femme), selon l'âge (plus mince chez le vieillard) et selon l'abondance des annexes cutanées (poils, glandes sébacées et sudoripares). Sa température est également variable selon les régions, elle est comprise entre 32°C et 36°C, les orteils étant les plus froids.

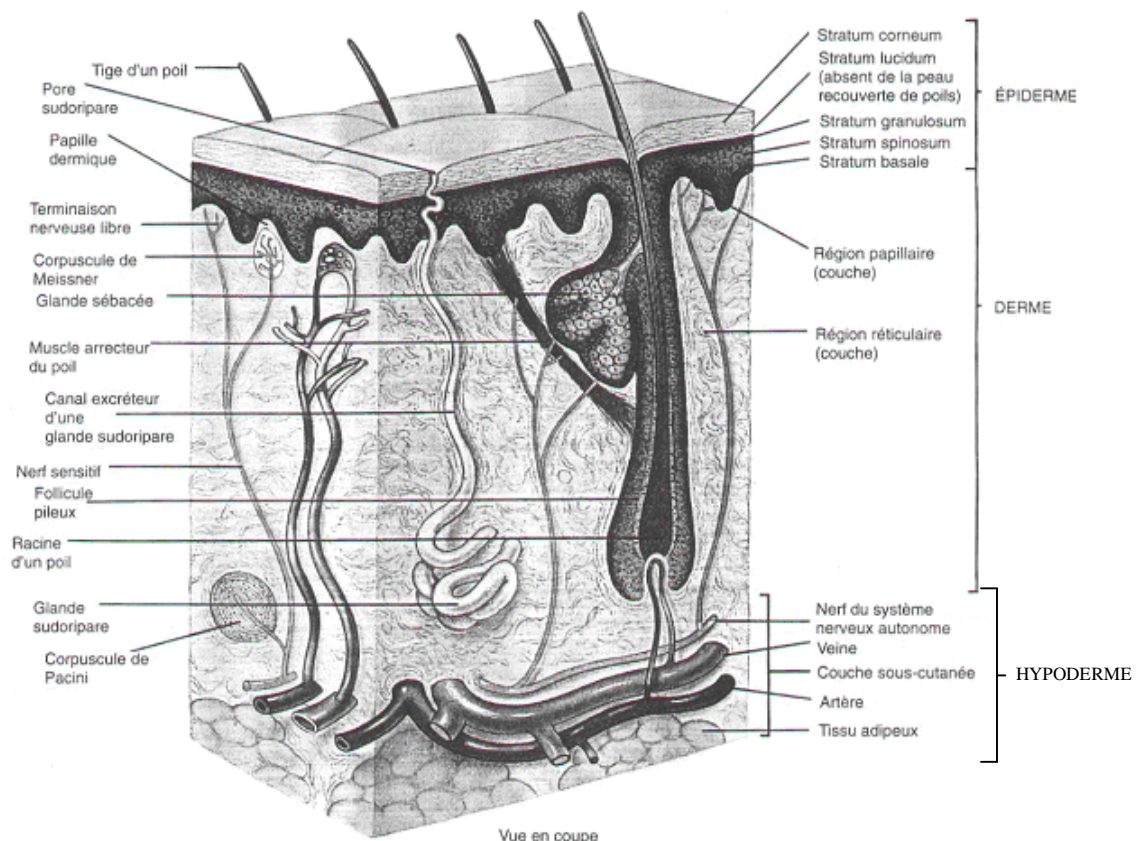


Figure 1 : Structure de la peau (17)

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

La peau est constituée de 3 couches superposées, de l'extérieur vers l'intérieur du corps : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (figure 1).

### 1.1. L'épiderme

L'épiderme est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé constitué de 4 populations cellulaires différentes : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel. Son épaisseur varie de 60 à 100  $\mu\text{m}$  mais peut atteindre 600 à 700  $\mu\text{m}$  à la plante des pieds et à la paume des mains (18). Il comprend 5 couches : stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum et stratum basale. Il est imperméable et protège les tissus sous-jacents des agressions physiques ou chimiques. Complètement avasculaire, l'épiderme est cependant nourri par diffusion de l'oxygène et des nutriments à travers la jonction dermo-épidermique depuis les vaisseaux sanguins du derme.

### 1.2. Le derme

Le derme est un tissu conjonctif constitué de matrice extracellulaire et de fibroblastes.

Il est composé de deux parties :

Le derme papillaire se situe immédiatement sous la jonction dermo-épidermique. Ce nom provient de la présence de nombreuses papilles dermiques qui servent à accroître l'adhésion et les échanges avec l'épiderme. Il est plus cellulaire, vascularisé et innervé que le derme réticulaire. Il se compose de fines fibres de collagène et d'oxytaline qui s'entrecroisent pour former un réseau irrégulier et peu dense. Son épaisseur varie de 50 à 200  $\mu\text{m}$ .

Le derme réticulaire est localisé sous le derme papillaire. Il contient des fibres de collagène, d'élaunine et d'élastine de diamètre plus important qui s'orientent parallèlement aux lignes de tension afin d'accroître la résistance mécanique de la peau. Le derme réticulaire est 10 à 20 fois plus épais que le derme papillaire (19).

Le derme contient les vaisseaux sanguins, les follicules pileux, les glandes sudoripares et glandes sébacées, des terminaisons nerveuses sensibles qui perçoivent le toucher, la pression, la douleur, le chaud et le froid.

### 1.3. L'hypoderme

L'hypoderme est un tissu conjonctif lâche richement vascularisé qui, selon les conditions de nutrition et les régions de la peau, contient plus ou moins de tissu adipeux. Il est constitué de lobules remplis de cellules graisseuses (adipocytes) et séparés par des cloisons conjonctivoélastiques renfermant les vaisseaux et les nerfs de la peau. Il fixe la peau sur le corps et sur les organes. Il contient jusqu'à la moitié des réserves lipidiques du corps. Ces réserves isolent le corps et évitent les déperditions de chaleur et servent de protection mécanique.

### 1.4. Les fonctions de la peau

Quatre principaux rôles lui sont reconnus :

- **Protection** : la peau a une fonction de barrière mécanique, chimique, thermique et infectieuse (20). Elle peut amortir les chocs externes et se déformer de façon réversible sous l'effet de pressions extérieures. Elle limite l'absorption des substances étrangères et la perte des substances endogènes (21). Elle protège le corps contre les ultraviolets. C'est la 1<sup>e</sup> ligne de défense contre les agents pathogènes.

- **Thermorégulation** : la peau est la principale interface par laquelle le corps contrôle sa température interne. Les poils et le tissu adipeux sous-cutané servent d'isolants contre le froid. De plus, un débit sanguin cutané réduit par la vasoconstriction artériolaire permet de minimiser les pertes thermiques. Face à une hausse de la température interne, un accroissement du débit sanguin favorise le transfert de chaleur à l'environnement par radiation,

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

conduction et convection. L'évaporation de la transpiration comme moyen de perte thermique est important surtout à des températures ambiantes élevées.

- **Métabolisme** : le tissu adipeux sous-cutané (hypoderme) représente une réserve importante d'énergie sous forme de triglycérides principalement. La vitamine D est synthétisée dans la peau par photoréaction en présence des rayons ultraviolets pour compléter l'apport alimentaire (20). La peau est la cible et le site de transformation de nombreuses hormones et le lieu de production de certains facteurs de croissance.

- **Sensation** : la peau est l'organe des sens le plus étendu du corps et renferme différents types de récepteurs permettant la sensibilité au tact, à la douleur, et à la température.

### 1.5. Particularités de la peau du rongeur

Dans nos études, nous utilisons le modèle animal, plus exactement la souris. Il importe donc de préciser quelques particularités par rapport à la peau humaine. La peau de souris est mobile. En effet, le panniculus carnosus (feuillet adipeux) lui permet de se déplacer facilement sur le fascia musculaire sous-jacent. La peau est nantie d'abondants follicules pileux (22). L'épiderme murin est mince, il ne possède que quelques couches de cellules vivantes, 2-3 couches en comparaison de 10-15 chez l'humain (23). Il ne possède pas de couche granuleuse. Les cellules basales sont cubiques, les suprabasales, aplaties et recouvertes d'une couche cornée (24). Enfin, la peau du rongeur n'est pas le site principal de la thermorégulation qui est assurée par la queue.

## 2. La sensibilité cutanée

Les informations perçues au niveau cutané sont multiples : sensibilité mécanique, sensibilité thermique et sensibilité douloureuse. Chaque sensation est transmise grâce à des récepteurs spécifiques, respectivement appelés mécanorécepteurs cutanés, thermorécepteurs et nocicepteurs (25).

### 2.1. La sensibilité mécanique cutanée

On distingue, au sein de la sensibilité mécanique cutanée, trois qualités principales : la sensibilité à la pression, la sensibilité à la vibration et la sensibilité fine épicroitique ou tact. La sensibilité à la pression est mise en jeu par des appuis importants sur le revêtement cutané. Le tact est au contraire un contact léger avec la peau, glabre ou velue. La sensibilité à la vibration répond à des variations de pression dans une gamme de fréquence de 5 à 1500 Hz. Ces qualités sont liées à la présence d'au moins 5 types de récepteurs cutanés mécaniques (Figure 2), dont la répartition varie selon que la peau est glabre ou velue et dans l'épaisseur même de la peau (récepteurs superficiels ou profonds).

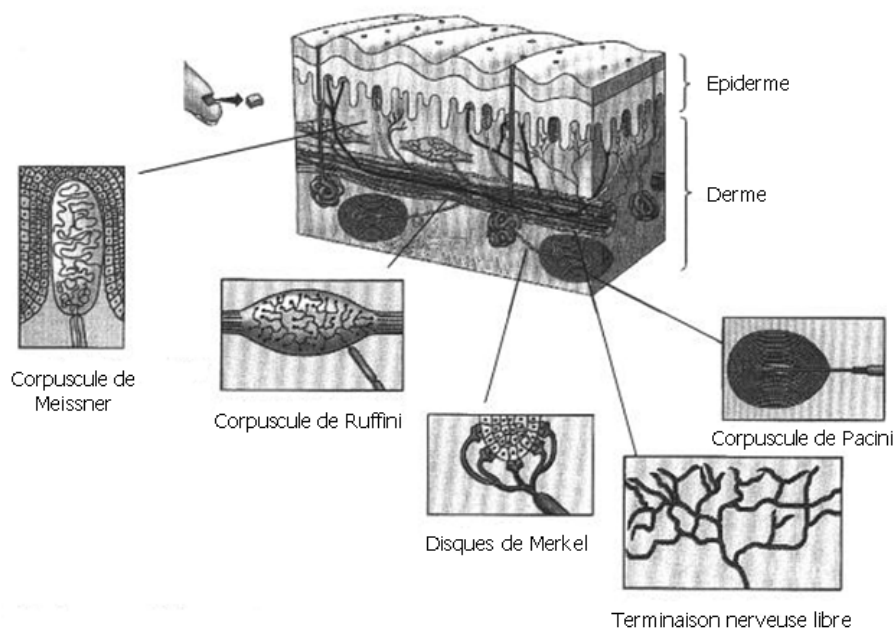


Figure 2 : Les différents mécanorécepteurs de la peau

**2.1.1. Les différents mécanorécepteurs cutanés**

Des terminaisons nerveuses libres amyéliniques se développent autour des follicules pileux (peau velue). Les terminaisons se situent sous les glandes sébacées, tout autour de la racine du poil. Ces récepteurs sont sensibles aux mouvements des poils.

Il existe, à la base de l'épiderme (peau glabre ou velue), des formations particulières composées par les ramifications d'une fibre myélinisée dont chaque terminaison se termine par un disque. Chaque disque entre en apposition avec une cellule particulière dite cellule de Merkel et il semble exister de vrais contacts synaptiques entre la cellule et le disque. Les zones riches en disques peuvent former des dômes tactiles (lèvres, pulpe des doigts). Ces récepteurs ou disques de Merkel sont des récepteurs superficiels, qui répondent à des pressions localisées (enfouissement de la peau).

Dans les corpuscules de Ruffini, situés dans le derme, la terminaison axonale, entourée d'une capsule fibroblastique, perd sa myéline et se ramifie abondamment. L'ensemble du corpuscule, d'allure fuselée, est ancré mécaniquement au derme par des fibres de collagène qui traversent la capsule. Ces récepteurs sont des récepteurs profonds sensibles à la pression et à l'étirement de la peau.

Les corpuscules de Meissner, situés immédiatement sous l'épiderme dans les papilles dermiques, sont couplés mécaniquement au tissu environnant par de fins filaments de tissu conjonctif. La fibre axonale s'enroule en spirale autour des cellules de Schwann. Ces corpuscules de Meissner sont des récepteurs superficiels particulièrement sensibles à la vitesse d'établissement du stimulus.

Les corpuscules de Pacini sont des corpuscules complètement "clos". Mécanorécepteurs présents dans le derme et les tissus conjonctifs sous-

cutanés, ils consistent en une terminaison nerveuse myélinisée, isolée, présentant des noeuds de Ranvier et enveloppée, jusqu'en un point situé entre le 1er et le 2ème noeud de Ranvier, par un grand nombre de lamelles conjonctives concentriques séparant des espaces remplis de liquide. Ces récepteurs profonds sont particulièrement sensibles aux vibrations.

### **2.1.2. *Les trois qualités de la sensibilité mécanique cutanée***

Les mécanorécepteurs à adaptation lente sont des récepteurs de pression. Les disques de Merkel (superficiels) et les corpuscules de Ruffini (profonds) sont des récepteurs à adaptation lente, qui codent l'intensité de la stimulation par la fréquence de leurs potentiels d'action. Ils sont actifs dès le début de la pression exercée sur le revêtement cutané et ne cessent de l'être qu'à la fin de celle-ci. Ils codent donc l'intensité et la durée de la pression. Grâce à leur structure (ancrage mécanique dans le derme), les corpuscules de Ruffini répondent également à des étirements de la peau. Cette sensibilité à l'étirement est directionnelle, ce qui permet à ces récepteurs d'informer le système nerveux central sur les forces et les directions des cisaillements cutanés accompagnant un mouvement articulaire.

Les récepteurs du tact sont des détecteurs de vitesse. Si l'on incline doucement les poils du dos de la main, sans toucher à la peau elle-même, et que l'on maintient les poils dans cette nouvelle position, la sensation n'apparaît que durant le mouvement d'inclinaison des poils. Les récepteurs des follicules pileux sont donc à adaptation relativement rapide et la fréquence des potentiels d'action émis est proportionnelle à la vitesse d'inclinaison des poils. Les corpuscules de Meissner, localisés dans la peau glabre, détectent les variations de contact léger des objets avec la peau et sont sensibles aux vibrations pour des fréquences comprises entre 5 et 200 Hz.

Les corpuscules de Pacini sont sensibles à la vibration. Les corpuscules de Pacini sont des récepteurs phasiques, qui ne répondent ni à la vitesse ni à la durée de la stimulation. Ils sont sensibles uniquement aux variations



## Chapitre 1 : Physiologie de la peau

rapides d'intensité et donc, à l'accélération de la déformation cutanée. La sensibilité de ces récepteurs est optimale pour des fréquences de vibration cutanée de 300 Hz, mais ils répondent dans une gamme de fréquence allant de 30 à 1 500 Hz. Ils sont localisés dans le tissu adipeux sous-cutané.

Que ce soit dans la peau glabre ou dans la peau velue, il y a environ 5 fois plus de récepteurs à adaptation rapide (84% - tact) qu'à adaptation lente (16% - pression).

### 2.2. La sensibilité thermique

Les récepteurs thermiques de la peau sont des récepteurs soit au chaud soit au froid (Figure 3).

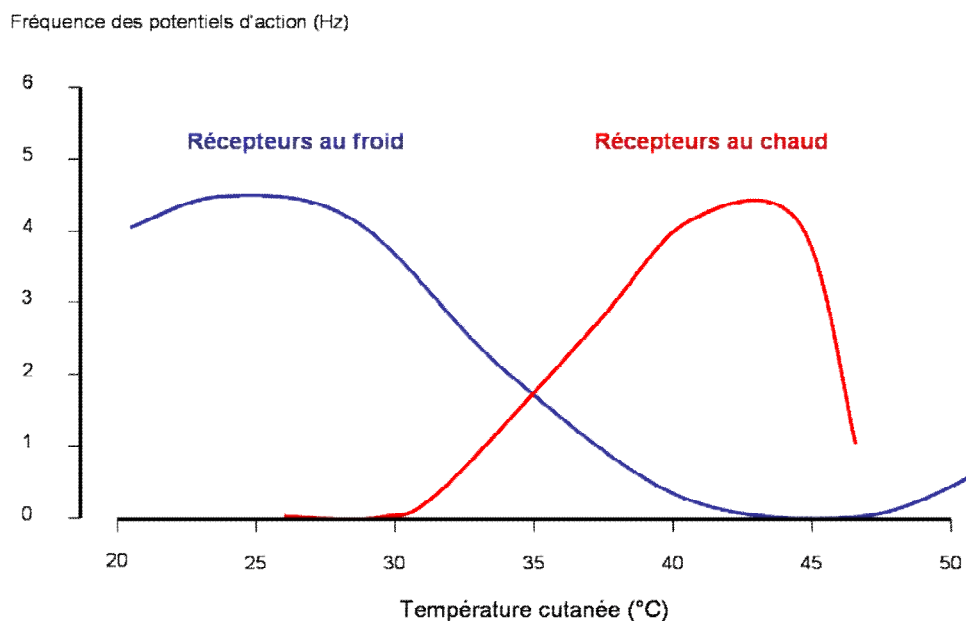


Figure 3 : Fréquence des potentiels d'action générés par les fibres sensibles au chaud et au froid en fonction de la température d'après (26)

Les terminaisons nerveuses libres impliquées dans la sensibilité au chaud sont majoritairement de type C. Elles sont moins nombreuses que celles codant pour le froid. Elles sont activées pour des variations de température comprises entre 30 et 46°C avec une sensibilité maximale entre 41 et 45°C.

La sensibilité au froid correspond à l'activation de thermorécepteurs (fibres A $\delta$  et C). Ils sont activés pour des variations de température comprises entre 20 et 40°C avec une sensibilité maximale entre 25 et 30° C. Il existe donc une zone de chevauchement entre les deux types de sensibilité thermique comprise entre 30 et 40°C. Dans cette gamme correspondant à la température cutanée physiologique, les deux catégories de fibres sont actives.

Dans certaines conditions particulières des récepteurs au froid peuvent être activés par un stimulus chaud. Lorsque l'on applique une température de 45° C en un point précis de la peau on observe une activation des récepteurs au froid mais avec une perception de "froid paradoxal" (27).

### 2.3. La nociception

Ils sont constitués pour l'essentiel par des terminaisons libres peu ou non myélinisées. A la différence des mécanorécepteurs leur seuil d'activation est élevé et leur réponse augmente parallèlement à l'intensité du stimulus. On distingue 2 types de nocicepteurs (28).

#### 2.3.1. **Les mécanonocicepteurs**

Les mécanonocicepteurs répondent à des stimuli mécaniques intenses. Ils sont classiquement associés aux fibres A $\delta$  peu myélinisées. Ils procurent une sensation brève et précise de piqûre, de pincement ou de coupure. Leur réponse proportionnelle à l'intensité du stimulus est par contre réduite par sa répétition (phénomène d'inactivation).

#### 2.3.2. **Les nocicepteurs polymodaux**

Les nocicepteurs polymodaux répondent non seulement à des stimuli mécaniques intenses mais aussi à la chaleur (45-60°C) et à des stimuli chimiques nociceptifs. Leurs fibres afférentes primaires sont principalement de type C non myélinisées mais un contingent plus restreint de fibres A $\delta$  a été décrit chez l'homme (29). Ils répondent à des stimulations mécaniques

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

fortes, pointues, avec des caractéristiques fonctionnelles identiques à celles des mécanocicepteurs. Ils peuvent également coder comme douloureuses des augmentations de température au-delà de 45°C. Dans ce cas le sujet peut ressentir une chaleur rapide précise suivie d'une sensation de chaleur retardée plus étendue. Ce type de perception correspond à l'activation initiale de fibres A $\delta$  à conduction rapide (5 à 52 m.sec-1) puis des fibres C plus lentes (0,5 à 1,4 m.sec-1). Enfin, ils répondent à des stimuli chimiques, notamment les irritants et les substances présentes dans l'inflammation telles que la bradykinine et l'histamine. Comme pour les fibres A $\delta$  la répétition d'un stimulus peut provoquer un phénomène d'inactivation mais surtout une sensibilisation. Dans cette situation on observe un abaissement du seuil de réponse et une augmentation de la fréquence de décharge des nocicepteurs polymodaux pour un stimulus d'intensité donnée.

### 3. La microcirculation cutanée

Comme tout organe, la peau possède un système circulatoire. En raison de ses dimensions (2 mm d'épaisseur en moyenne), ce système appartient uniquement à la microcirculation. L'épiderme, les follicules pilo-sébacés, les glandes sudoripares et leurs canaux excréteurs, étant avasculaires comme tous les épithéliums, ont besoin d'un réseau nutritif proche. C'est le derme qui est la structure nourricière essentielle de la peau, dont il contient les vaisseaux sous forme de plexus plus ou moins denses dans son épaisseur et à sa face profonde.

#### 3.1. Aspects structurels

##### 3.1.1. Architecture de la vascularisation cutanée

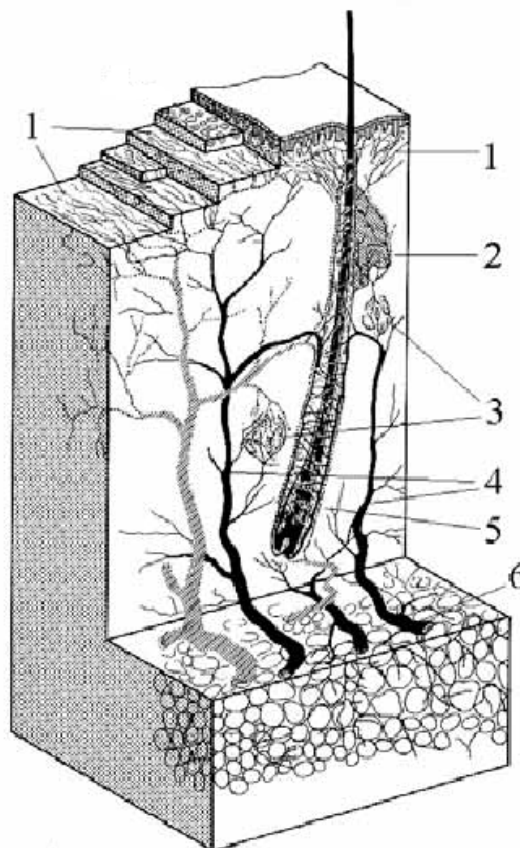


Figure 4 : Disposition de la microcirculation cutanée d'après (30)

1 : réseau sous-épidermique. 2 : réseau périfolliculaire (autour d'une glande sébacée). 3 : réseau périsudoral. 4 : artériole descendante. 5 : réseau périfolliculaire. 6 : branche cutanée d'une artère métamérique. En gris : veinules de transfert

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

Le réseau nutritif comprend trois types de réseaux (ou plexus) sous-épithéliaux (Figure 4). Le réseau sous-épidermique constitue le premier type. Il comprend les anses papillaires et le plexus horizontal du derme superficiel dans lequel débouchent les anses. Le second type est constitué par les réseaux périfolliculaires qui nourrissent les follicules pilo-sébacés. Les réseaux périsudoraux constituent le troisième type. Ils sont très riches puisqu'il y a entre 100 et 700 glandes sudoripares par cm<sup>2</sup> de peau selon les régions et sont disposés autour de chaque glomérule sudoripare puis du canal excréteur jusqu'à son entrée dans l'épiderme.

L'approvisionnement des anses sous-épidermiques est assuré par des artérioles ascendantes. Le derme profond irrigue directement les artérioles ascendantes et les réseaux périannexiels ; il reçoit ses vaisseaux d'un important plexus hypodermique, lui-même approvisionné par les artères cutanées.

### **3.1.2. Structure anatomique d'une unité microcirculatoire**

Une unité microcirculatoire correspond à un réseau de microvaisseaux, c'est-à-dire des vaisseaux sanguins de diamètre inférieur à 50  $\mu\text{m}$ . Cela regroupe les artérioles, les capillaires et les veinules. Les microcirculations sont retrouvées sous forme d'unités microcirculatoires au niveau de tous les organes du corps (31, 32).

Les vaisseaux sanguins sont constitués de trois tuniques morphologiquement distinctes, de l'intérieur vers l'extérieur du vaisseau : l'intima, la média et l'adventice. L'importance et la complexité de ces trois tuniques dépendent du vaisseau sanguin (figure 5).

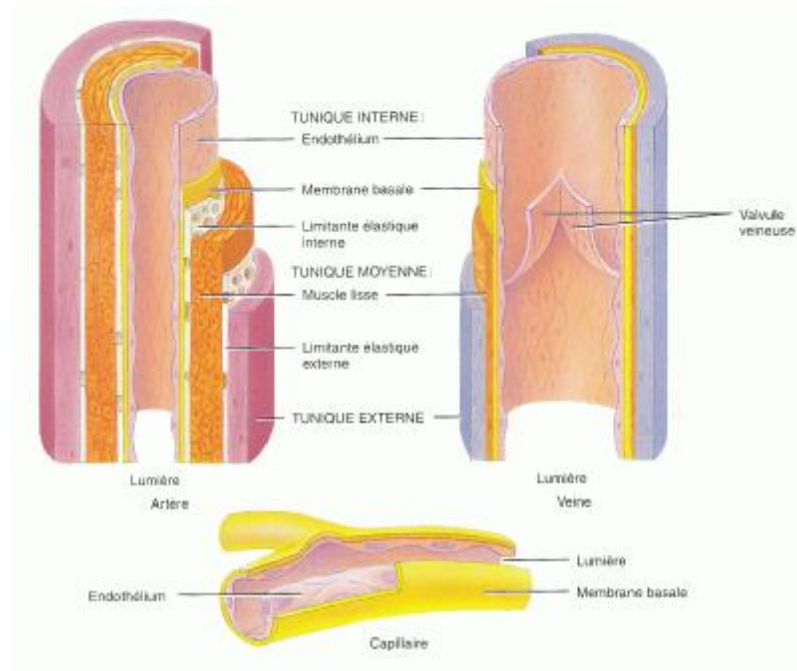


Figure 5 : Structure des vaisseaux sanguins d'après (33)

### 3.1.2.1 LES ARTERIOLES

Les artérioles sont des vaisseaux dont le diamètre est de 20 à 30  $\mu\text{m}$ . Comme dans tous les vaisseaux, leur paroi comporte l'intima (revêtement endothélial sur une assise conjonctive), la média (couche de fibres musculaires à disposition annulaire), et l'adventice (tunique externe constituée de quelques fibres de collagène).

Les artérioles principales sont dotées d'une paroi comportant une couche musculaire lisse très épaisse, richement innervée par des fibres nerveuses dont les afférences aboutissent à la limite de la média et de l'adventice. Selon le modèle proposé par Burnstock en 1971, l'arborisation terminale de l'axone forme un réseau périvasculaire (34). Ainsi toute la tunique musculaire répond à un stimulus et non pas chaque cellule musculaire lisse individuellement. Ces fibres nerveuses agissent directement sur les cellules musculaires lisses de la couche la plus externe de la média puis la transmission de l'excitation s'effectue de proche en proche par couplage électrique entre les cellules. Si la plupart des nerfs vasomoteurs

## Chapitre 1 : Physiologie de la peau

sont noradrénergiques, des terminaisons cholinergiques existent également. D'autres terminaisons ont été mises en avant : elles sont souvent purinergiques, mais peuvent aussi libérer d'autres substances, principalement le Peptide Vasoactif Intestinal (VIP), l'histamine, la substance P et le Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP).

Les branches ultimes de division des artérioles, ou "artérioles terminales", bien qu'aussi richement dotées en fibres musculaires lisses, sont pauvrement innervées, et leur motricité répond principalement aux phénomènes métaboliques et biochimiques locaux.

### 3.1.2.2 LES CAPILLAIRES

Les vaisseaux capillaires présentent un diamètre de 5 à 8  $\mu\text{m}$ . Leur longueur moyenne est de 0,5 à 1 mm. Ils font suite aux artérioles, de façon très progressive (Figure 6). La couche de fibres musculaires de la média devient discontinue puis disparaît. L'adventice disparaît également. Le capillaire est alors uniquement constitué par une couche unique de cellules endothéliales qui reposent sur une membrane basale. Le capillaire est un élément majeur car c'est à son niveau que s'effectuent les échanges entre le sang et les tissus.

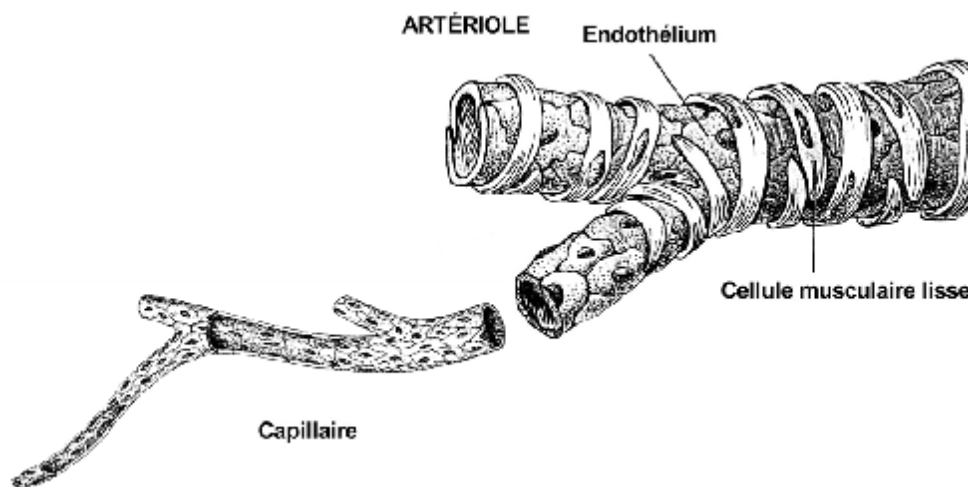


Figure 6 : Structure d'une artériole et d'un capillaire

Les capillaires constituent, entre artérioles et veinules, un véritable réseau complexe appelé lit capillaire, présentant des anastomoses artérioveineuses. Il s'agit de véritables courts-circuits permettant au sang de passer directement de l'artériole à la veinule sans emprunter le circuit capillaire grâce à un système de sphincters précapillaires (Figure 7). Ces anastomoses artérioveineuses sont abondantes au niveau de la peau du nez, des oreilles, de la paume des mains et de la plante des pieds, ainsi que des doigts. Elles jouent un rôle dans la thermorégulation en permettant l'augmentation de débit sanguin cutané donc l'accroissement de la déperdition de calories.

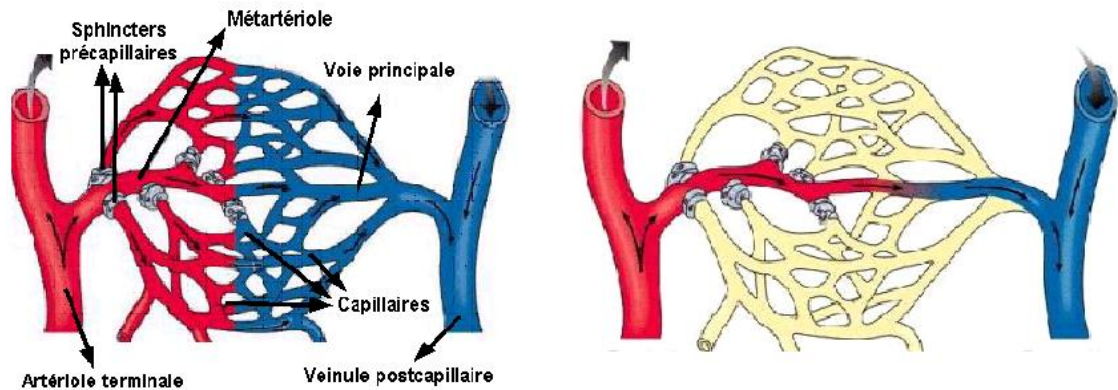


Figure 7 : Circulation dans un lit capillaire

A gauche : le sang qui arrive par une artériole terminale passe dans une métartériole. La métartériole se ramifie en capillaires (10 à 100) qui irriguent les cellules de l'organe. Les sphincters précapillaires sont ouverts et les cellules desservies reçoivent du sang. Puis le sang est drainé par une veine postcapillaire.

A droite : les sphincters précapillaires sont fermés. Le sang est dérivé dans la voie principale vers la veinule postcapillaire sans que les cellules dépendant de ce lit capillaire ne reçoivent de sang.

### 3.1.2.3 LES VEINULES

Les veinules collectent le sang à partir des capillaires. Elles ont un diamètre plus important que les artérioles (Figure 8) et un parcours plus sinueux. Les veinules post-capillaires ont un diamètre compris entre 8 et 30  $\mu\text{m}$  et drainent 4 à 5 capillaires.



## Chapitre 1 : Physiologie de la peau

Le facteur transitoire entre le capillaire et la veinule est l'apparition de cellules musculaires lisses dans la paroi. La veinule est riche en fibres conjonctives et élastiques, ce qui lui confère une remarquable propriété de distensibilité. Le réseau veinulaire est un véritable réservoir à capacité variable qui permet d'ajuster à chaque instant le volume sanguin microcirculatoire.

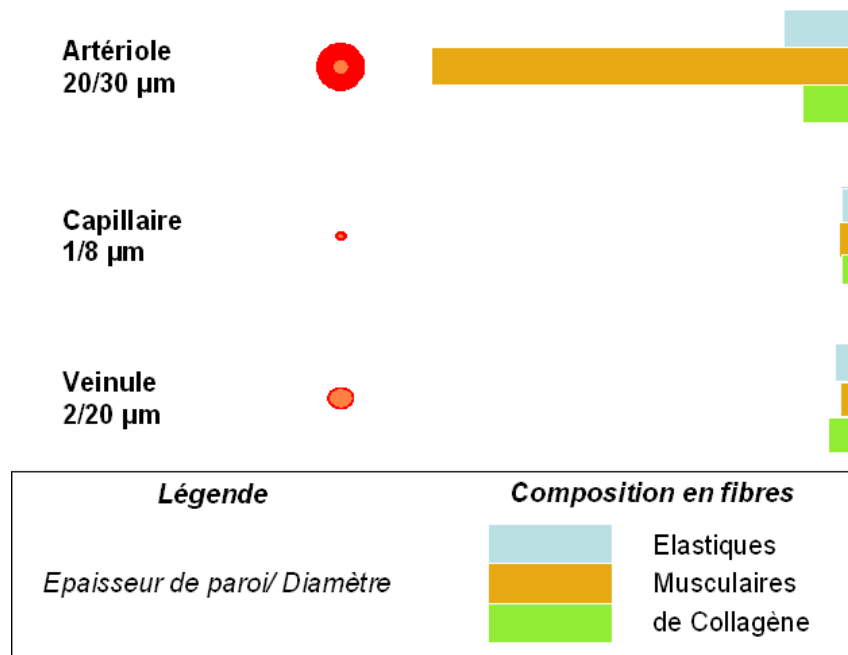


Figure 8 : Epaisseur et composition comparées de la paroi vasculaire aux différents étages de la microcirculation d'après (35);(36)

### 3.2. Aspects fonctionnels

Outre sa fonction de nutrition de l'épiderme et des annexes cutanées, la microcirculation cutanée assure le maintien de la pression artérielle, la tolérance par la peau de longues périodes d'ischémie dues au poids du corps, et une réactivité vasomotrice nécessaire à la thermorégulation.

### **3.2.1. Le parcours résistif et le maintien de la pression artérielle**

Le flux sanguin cutané, comme partout ailleurs, est le résultat d'une pression de perfusion et d'une résistance à cette perfusion, les trois grandeurs étant liées entre elles selon un équivalent de la loi d'Ohm :

$$\text{Débit} = \text{Pression de perfusion} / \text{Résistances périphériques}$$

La pression de perfusion dépend de l'éjection cardiaque et de l'état des artères nourrissant le territoire considéré. Elle est diminuée dans l'insuffisance cardiaque et les artérites (37). Les résistances périphériques sont constituées par les artérioles. D'où leur rôle fondamental dans le maintien d'une pression artérielle d'une part, et d'autre part dans la protection du lit capillaire contre la pression artérielle qu'il ne pourrait pas supporter. Les artérioles exercent leur pouvoir résistif par le tonus vasoconstricteur, vasoconstriction permanente dont la suppression est responsable entre autres, du choc anaphylactique et du choc septique.

L'origine du tonus vasoconstricteur est mixte : orthosympathique (libération locale de noradrénaline qui, captée par les récepteurs du muscle lisse pariétal des artérioles et des veinules, induit une contraction) et myogénique (réponse locale, autonome permanente de la paroi vasculaire à sa distension par la pression sanguine) (38). Le système orthosympathique est aussi responsable du réflexe veino-artériolaire : constriction artériolaire en réponse à une distension des parois veineuses. Son effet le plus marquant est la réduction considérable du débit sanguin des membres inférieurs lorsqu'on passe de la station couchée à la station debout, ce qui évite la chute tensionnelle.

Les principaux stimuli vasoconstricteurs d'origine systémique qui s'ajoutent à ce tonus basal (37) sont l'inspiration, la tentative d'expiration à glotte fermée (manœuvre de Valsalva), le calcul mental, la concentration et les stress psychiques. Les principales substances circulantes à effet

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

vasoconstricteur au niveau cutané sont l'endothéline, les corticoïdes, l'adrénaline, la noradrénaline et l'angiotensine II. Le froid est un puissant vasoconstricteur cutané. Il agit par voie locale ou systémique, sur information des thermorécepteurs cutanés. La sensation systémique du froid fait déplacer vers les viscères centraux une grande partie du sang des veinules cutanées, et le sang parvenant à la peau est détourné de la surface par vasoconstriction des artérioles. Il s'ensuit un refroidissement cutané. Cependant lorsque la température cutanée descend au dessous de 12°C, des alternances de vasoconstriction et vasodilatation se produisent, probablement pour éviter un refroidissement excessif des tissus (phénomène dit de "hunting").

### **3.2.2. Tolérance par la peau de longues périodes d'ischémie compressive**

A tout moment de la journée et de la nuit, un ou plusieurs territoires cutanés sont soumis à une pression qui excède de beaucoup la pression d'occlusion des capillaires (environ 30 mmHg) (39), et ceci pour des durées prolongées. Cette pression s'installe brutalement, de sorte que le sang est expulsé dans toutes les directions avec flux rétrograde dans les artérioles. Les anastomoses artério-veineuses jouent probablement un rôle important pour dériver ce flot vers le système capacitif. Lorsque la pression s'exerce sur une zone étendue, une partie du sang reste emprisonnée, formant des lacs sanguins stationnaires ou mobiles selon les fluctuations de la position du corps. Une fois celle-ci levée, une hyperémie réactionnelle compensatrice se manifeste par un érythème passager. Ces longs arrêts de perfusion, pendant lesquels la peau doit se nourrir "en autarcie" nécessitent, en dehors de ces moments de compression, un débit sanguin bien supérieur aux besoins métaboliques apparents. Ce facteur s'ajoute aux exigences de la fonction cutanée de thermorégulation.

### **3.2.3. Réactivité vasomotrice cutanée et thermorégulation**

Le pouvoir thermorégulateur de la peau dépend en grande partie des vaisseaux cutanés qui apportent de la chaleur venue du noyau (viscères, système nerveux central, muscles) à la peau d'où elle peut être perdue par radiation, conduction et convection.

Par conséquent, la vasoconstriction cutanée réduit la perte de chaleur en réduisant le débit cutané ce qui retient plus de sang chaud dans le noyau. Inversement, la vasodilatation des vaisseaux cutanés, qui est cause d'augmentation du débit cutané, la favorise. C'est pourquoi, pour les besoins de la thermorégulation, les variations du débit sanguin cutané sont considérables : entre 0,02 et 7 L.min<sup>-1</sup>. Lors de l'exercice physique (réchauffement d'origine interne) ou en climat chaud (réchauffement d'origine externe), la thermorégulation impose au système vasculaire des variations de vasomotricité considérables en tout point du corps mais énormes aux extrémités des membres. Globalement le débit sanguin dans la peau est de l'ordre de 0,5 L.min<sup>-1</sup> (cœur : 5,5), passant à 0,9 L.min<sup>-1</sup> lors d'un exercice modéré (cœur : 9,7) et pouvant atteindre 7 L.min<sup>-1</sup> lors d'un exercice intense avec température extérieure élevée.

Le mécanisme de la vasodilatation est double : inhibition du tonus vasoconstricteur (soit par diminution de l'influx nerveux dans les terminaisons orthosympathiques, soit par abaissement du tonus myogénique) et relâchement local des vaisseaux sous l'influence de la sécrétion par l'endothélium de facteurs endothéliaux de relaxation.

### **3.2.4. Modulation permanente du flux sanguin cutané**

#### **3.2.4.1 LA VASOMOTION**

En raison des multiples et incessants stimuli vasoconstricteurs et vasodilatateurs, le calibre des vaisseaux présente des variations rythmiques

## **Chapitre 1 : Physiologie de la peau**

locales. Le laser Doppler mesure ces variations de flux, reflet d'une contraction rythmique des vaisseaux cutanés dénommée vasomotion (Figure 9). Ces variations de calibre sont spontanées et autonomes, et souvent sont synchrones avec celles des territoires voisins. La vasomotion facilite l'écoulement sanguin et s'amplifie après les périodes d'ischémie relative. Cette variabilité et la très grande sensibilité du flux sanguin cutané aux multiples influences internes ou extérieures rendent compte par ailleurs de la difficulté à comparer des mesures réalisées à des localisations ou à des moments différents.

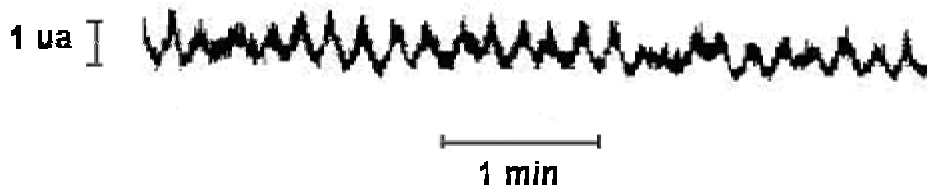


Figure 9 : Vasomotion observée au laser Doppler en fonction du temps chez l'homme (ua : unité arbitraire) d'après (40)

### **3.2.4.2 ENDOTHELIUM ET TONUS VASCULAIRE**

La fonction de l'endothélium, structure située à l'interface du sang et des tissus interstitiels, a longtemps été considérée comme se limitant à celle d'une barrière semi-perméable inerte et uniforme, mais l'évolution des connaissances a donné à l'endothélium un statut de tissu fonctionnel. En effet, l'endothélium forme une surface d'échange considérable qui module l'homéostasie des vaisseaux, en intervenant principalement sur le tonus vasculaire par la sécrétion de substances vasorelaxantes et vasoconstrictrices.

#### **3.2.4.2.1 FACTEURS ENDOTHELIAUX DE LA RELAXATION**

Les facteurs endothéliaux de relaxation (EDRF) comprennent le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline et un facteur hyperpolarisant endothélial (EDHF), encore imprécis (Figure 10).

Le monoxyde d'azote est le principal facteur endothélial de relaxation. Il est formé à partir de la terminaison guanidine nitrergique de la L-arginine par une enzyme, la NO synthase (NOS), qui est constitutive dans les cellules endothéliales et sensible au calcium et aux phosphorylations (41). Compte tenu de la simplicité de sa structure, la synthèse du NO est très rapide et le temps de réponse est donc bref (de l'ordre de 30 s). Les activités de la NOS endothéliale peuvent être inhibées de façon compétitive par des analogues de la L-arginine tels que le NG-monométhyl-L-arginine (L-NMMA), la NG-nitro-L-arginine (L-NNA) ou le NG-nitro-L-arginine ester méthylique (L-NAME). Le NO diffuse vers les cellules musculaires lisses vasculaires et provoque leur relâchement en stimulant une enzyme cytosolique, la guanylate cyclase soluble, ce qui conduit à un accroissement de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Cette dernière augmentation est associée à l'inhibition de l'appareil contractile. Ainsi la production de NO contribue pour une grande part aux relaxations dépendantes de l'endothélium.

Deux grands types de signaux sont capables d'activer la NOS endothéliale : la contrainte hémodynamique de cisaillement du sang sur l'endothélium et des agents pharmacologiques couplés à la voie des inositol phosphates ou à des tyrosines kinases dans la cellule endothéliale. Les systèmes peptidergiques possédant des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à la phospholipase C dans la cellule endothéliale sont capables d'induire une production de NO. C'est le cas de l'acétylcholine et des récepteurs muscariniques. Dans leur expérience pharmacologique fondatrice, Furchgott et Zawadzski (1980) ont démontré l'"endothélium-dépendance" de la vasodilatation : en présence d'endothélium l'acétylcholine était vasodilatatrice d'une artère précontractée ; en l'absence d'endothélium elle devenait vasoconstrictrice (40).

La prostacycline (PGI<sub>2</sub>), produit de la cyclo-oxygénase à partir de l'acide arachidonique, induit également une vasodilatation. Elle est formée principalement dans les cellules endothéliales, en réaction aux contraintes de

cisaillement et à l'hypoxie. La prostacycline provoque la relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires en activant l'adénylate-cyclase et en augmentant la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC). Le délai d'intervention serait de l'ordre de la minute. Dans la plupart des vaisseaux sanguins, la prostacycline ne joue qu'un rôle mineur dans la relaxation endothélium-dépendante, son effet venant surtout s'ajouter à celui du NO (42).

Des études électrophysiologiques sur diverses artères isolées, démontrent que l'acétylcholine provoque des hyperpolarisations dues à un facteur hyperpolarisant endothélial diffusible autre que le NO et la prostacycline (43). La contribution de l'hyperpolarisation aux relaxations endothélium-dépendantes varie selon la taille de l'artère (44). Toutefois, si les deux médiateurs peuvent contribuer aux relaxations dépendantes de l'endothélium, le rôle du NO est néanmoins prépondérant dans des circonstances normales.

#### 3.2.4.2.2 **FACTEURS ENDOTHELIAUX DE CONTRACTION**

Les cellules endothéliales peuvent également provoquer une contraction des cellules musculaires lisses sous-jacentes en libérant des substances constrictives (facteurs endothéliaux de contraction, EDCF). Il s'agit essentiellement de peptides, les endothélines-1 (ET-1) (Figure 10). A une concentration faible, l'ET-1 provoque une vasodilatation en activant les récepteurs ETB endothéliaux couplés à la libération de NO, de prostacycline et d'EDHF. A des concentrations plus élevées, elle provoque des contractions accusées et soutenues par l'activation des récepteurs ETA et, dans certains vaisseaux sanguins, de récepteurs ETB sur les cellules musculaires lisses vasculaires (45). Les taux d'ET-1 en circulation sont faibles, ce qui suggère soit une production endogène discrète en conditions physiologiques, soit la présence de mécanismes inhibiteurs puissants tels qu'un contrôle négatif induit par le NO (46).

Les EDCF comprennent également les prostanoïdes vasoconstricteurs tels que le thromboxane A2 et la prostaglandine H2, ainsi que les anions superoxydes et les composants du système rénine-angiotensine (47).

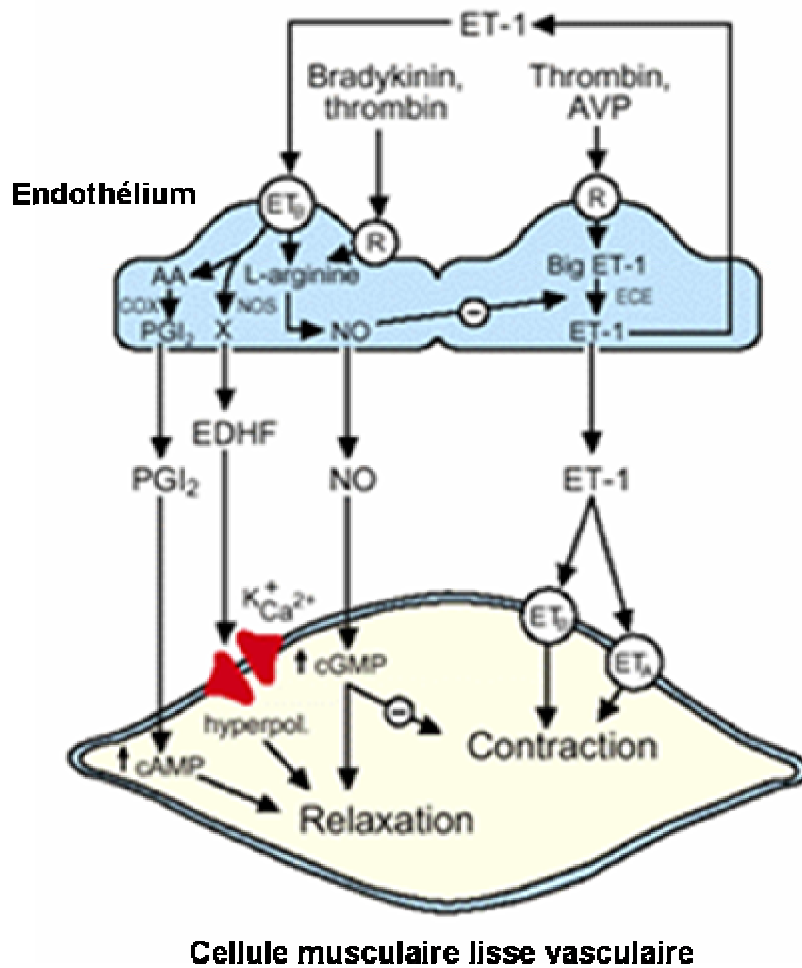


Figure 10 : Schéma récapitulatif de la libération de facteurs endothéliaux de relaxation et de facteurs endothéliaux de contraction par les cellules endothéliales d'après (48)



## Chapitre 2 : Méthodes d'exploration

### 1. L'exploration de la microcirculation cutanée in vivo

#### 1.1. Le laser Doppler

##### 1.1.1. *L'effet Doppler*

La lumière émise par la sonde LASER (Light Activation by Stimulated Emission of Radiation) est un faisceau cohérent monochromatique d'une longueur d'onde définie (49). La lumière va traverser la peau et atteindre les vaisseaux de la microcirculation cutanée. Lorsque la lumière rencontre une structure immobile, sa direction est modifiée mais pas sa longueur d'onde. En revanche lorsqu'elle rencontre une structure mobile (principalement les hématies), elle est réfléchie avec une modification de longueur d'onde. La lumière réfléchie par les structures immobiles et par les structures mobiles est recueillie au niveau de la sonde puis transmise pour analyse à un ordinateur (Figure 11). La différence de longueur d'onde de la lumière réfléchie par une structure mobile est proportionnelle à la vitesse de la structure mobile. Le produit de cette vitesse par la quantité de lumière rétrodiffusée (fonction de la quantité d'hématies dans la partie examinée) peut être assimilé à un débit.

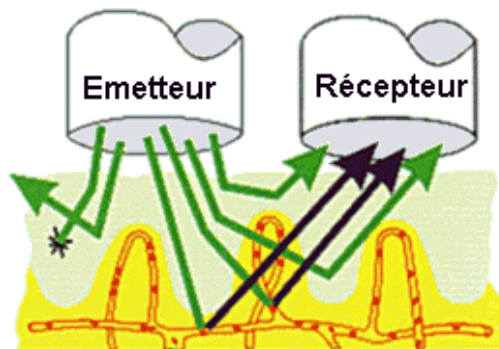


Figure 11 : Principe du laser Doppler

### **1.1.2. Microcirculation cutanée et laser Doppler**

Le laser Doppler va permettre l'enregistrement en continu de la perfusion du site choisi et donc permettre un suivi dans le temps du débit microcirculatoire qui est en réalité un flux d'hématies en mouvement à travers un volume de tissu par unité de temps puisque le diamètre du vaisseau sanguin n'est pas connu.

Les variations observées du flux vont être rapportées à des épisodes de vasodilatation ou de vasoconstriction car ces modifications vont dépendre des capacités vasomotrices des vaisseaux explorés. Une vasodilatation va être rapportée à une augmentation du débit, une vasoconstriction à une diminution.

Le principal avantage du débitmètre laser Doppler (PF5000 Master, Perimed, Suède) est sa résolution temporelle, son inconvénient est une faible résolution spatiale. Habituellement, la géométrie des fibres optiques est réalisée pour permettre une mesure continue de perfusion de la microcirculation sur un volume de tissu de 1 mm<sup>3</sup> situé en dessous de la sonde. La débitmétrie laser Doppler permet de détecter des changements rapides de débit et d'obtenir une étude dynamique d'un débit.

Toutefois, la mesure impose une immobilité totale du tissu étudié afin de limiter l'apparition d'artéfacts de mouvement.

1.2. L'iontophorèse

La peau n'est pas une barrière imperméable. Certains principes actifs inclus dans des crèmes et d'autres formes galéniques peuvent passer à travers la peau. Néanmoins, la pénétration de molécules à travers la peau reste généralement lente. Les molécules non-ionisées sont généralement mieux absorbées que les molécules ionisées, or de nombreuses principes actifs, qu'il serait intéressant d'appliquer sur la peau, existent sous forme ionisée. Afin de faciliter le transport des molécules ionisées au travers de la peau, la technique de l'iontophorèse est utilisée.

**1.2.1. La technique de l'iontophorèse**

L'iontophorèse peut être définie par le mouvement d'ions à travers la peau sous l'influence d'une différence de potentiel électrique (50). Le courant électrique représente une source d'énergie extérieure permettant d'augmenter le taux de pénétration des molécules ionisées à travers la barrière épidermique. L'iontophorèse est une méthode non-invasive utilisant des courants de faible intensité (inférieure au mA) pour faire diffuser des molécules pharmacologiques à un niveau local en évitant toute action systémique de ces molécules. La quantité d'agent pharmacologique délivrée par iontophorèse à travers la peau est proportionnelle à la charge du courant appliqué, représentant le produit de l'intensité du courant par sa durée d'application. Les courants utilisés peuvent être appliqués pour des durées allant de quelques secondes à quelques minutes.

Si la substance à délivrer est sous forme cationique dans le réservoir anodique, elle migre, à travers la peau, vers la cathode. Inversement, la migration se fait vers l'anode si le réservoir cathodique contient le principe actif sous forme anionique.

Le système iontophorétique (481-1, Perimed, Suède) est constitué de quatre parties :

- une électrode active délivrant le principe actif,
- une électrode passive assurant la continuité du circuit électrique,
- un générateur de courant,
- un système de régulation électrique permettant de contrôler l'intensité du courant. Ce dernier peut être compris dans le générateur de courant.

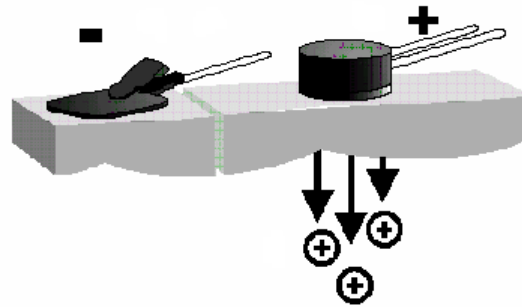


Figure 12: Couplage iontophorèse-laser Doppler au niveau anodal  
Le composé ionique chargé positivement est diffusé à travers la peau au niveau de l'anode (+) selon le principe de l'électroré pulsion des charges. Pour fermer le circuit électrique, la cathode (-) est fixée sur un patch de référence placé à distance.  
La sonde laser Doppler est placée sur l'anode.

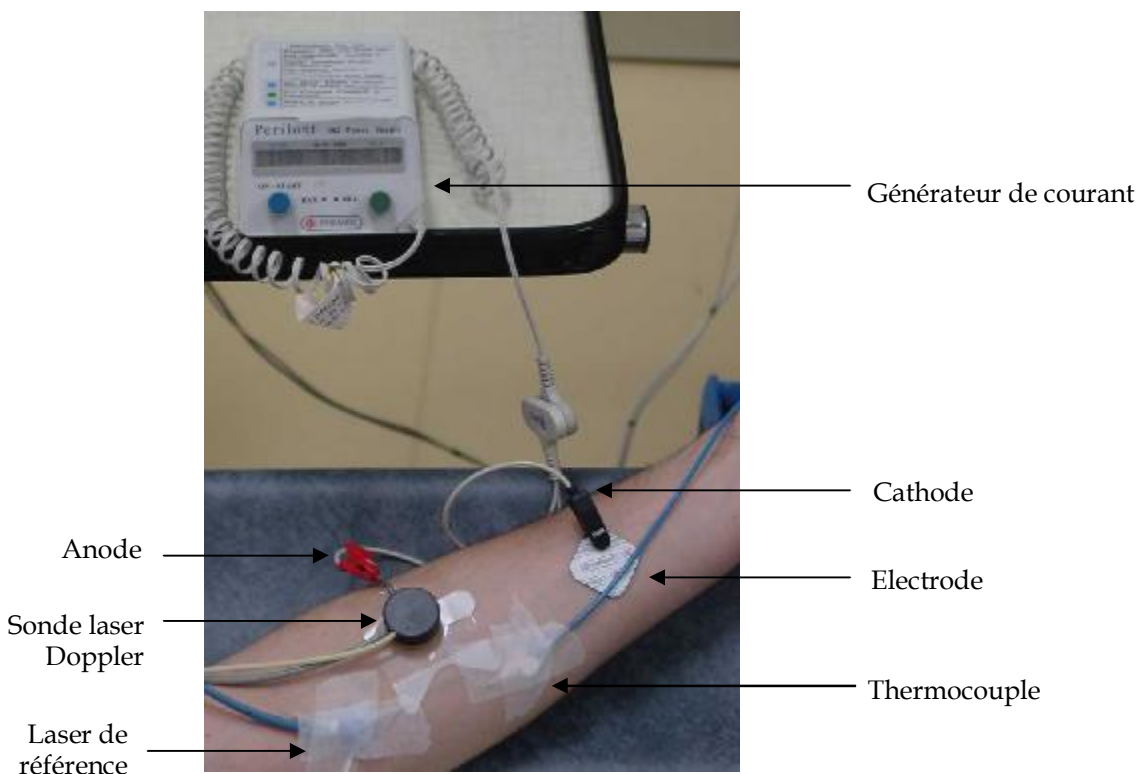


Figure 13 : Dispositif de iontophorèse au niveau de l'avant-bras.

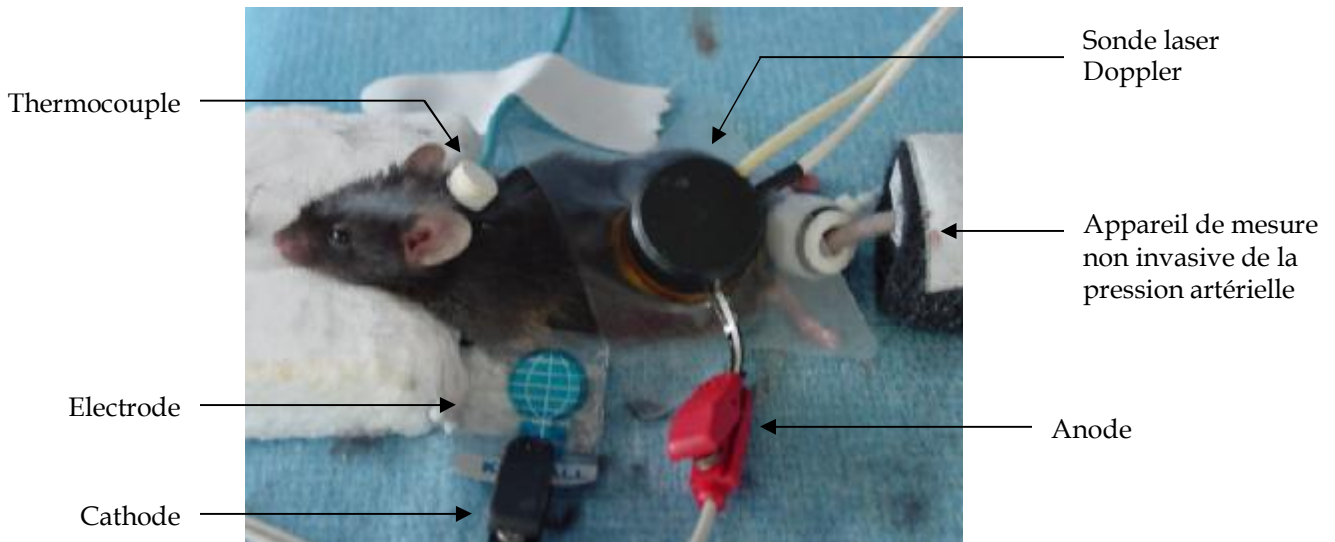


Figure 14 : Dispositif de iontophorèse chez la souris.

### 1.2.2. *L'intérêt de l'iontophorèse*

L'administration transdermique par iontophorèse de substances actives est utilisée pour le traitement de certaines affections (51). L'utilisation en clinique est facilitée par le fait que cette technique est non douloureuse (seuls des picotements au niveau cutané sont parfois ressentis).

Associée à un laser Doppler, l'iontophorèse permet d'étudier en continu l'effet de divers agents pharmacologiques sur la microcirculation cutanée (52).

Cette technique est régulièrement utilisée pour tester la vasomotricité microcirculatoire endothélium et non endothélium dépendante (53, 54). Pour cela il est réalisé des iontophorèses à l'anode d'Acétylcholine (vasodilatateur endothélium dépendant) dont un exemple est présenté en figure 15 et des iontophorèses à la cathode de nitroprussiate de sodium (vasodilatateur endothélium indépendant) dont un exemple est présenté en figure 16.

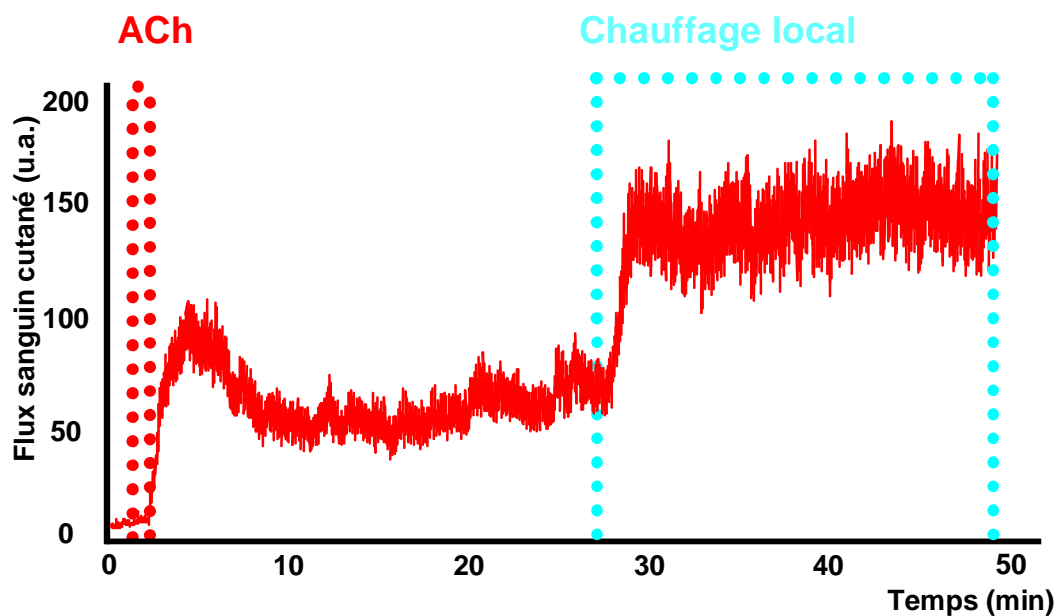


Figure 15 : Exemple d'enregistrement d'une iontophorèse à l'acétylcholine suivie d'un chauffage local.

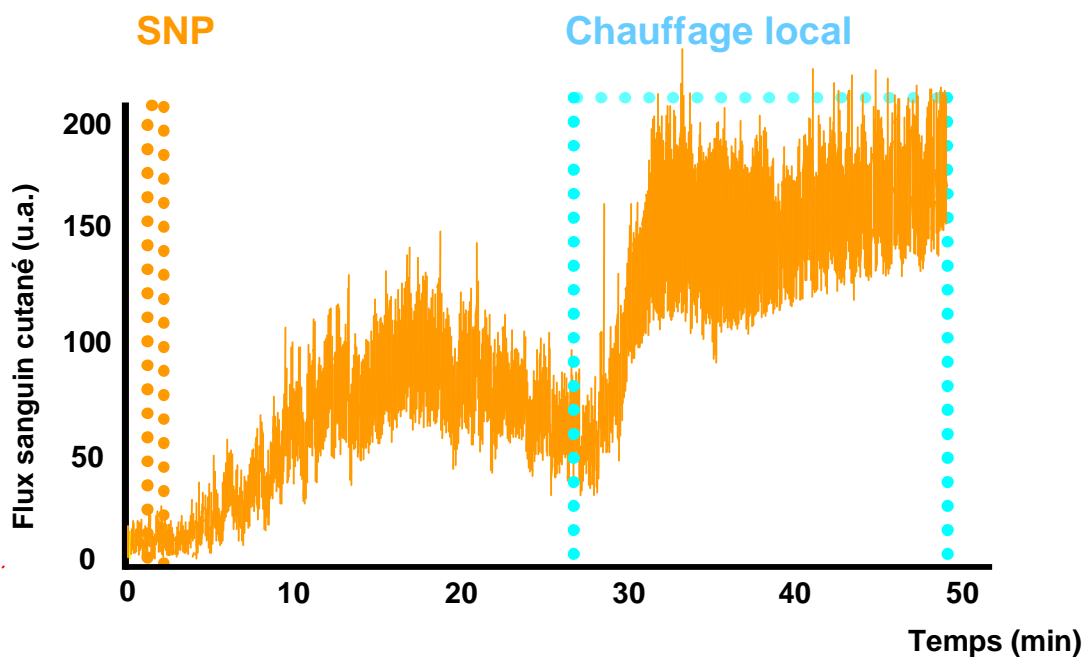


Figure 16 : Exemple d'enregistrement d'une iontophorèse au nitroprussiate de sodium suivie d'un chauffage local.

1.3. Le chauffage local

Cette technique permet de mesurer la vasodilatation cutanée en réponse à l'augmentation de la température cutanée. La température cutanée est maintenue à 44°C pendant 30 minutes et le flux sanguin est mesuré par laser-Doppler (Peritemp PF4005, Perimed, Suède). En réponse à l'augmentation de température cutanée, le flux sanguin cutané, augmente jusqu'à un pic et décroît jusqu'à un nadir (1<sup>e</sup> phase), puis augmente de nouveau jusqu'à un plateau qui se maintient dans le temps (2<sup>e</sup> phase). La première phase semble dépendante de la sécrétion des neurotransmetteurs par les fibres afférentes primaires ; la seconde phase semble dépendante de la production de NO (55). Des exemples sont montrés sur les figures 15 et 16.

## 2. L'exploration de la sensibilité cutanée in vivo

### 2.1. Chez la souris

#### 2.1.1. **Le Tail Flick**

Ce test est utilisé pour évaluer la sensibilité de base à la douleur des animaux. La queue de l'animal est soumise à une source de chaleur rayonnante. Lorsque l'animal ressent un inconfort, il réagit par un mouvement brusque de la queue ("Tail Flick") qui stoppe automatiquement la stimulation et le chronomètre mesurant le temps de latence de la réaction.

Le Test de "Tail Flick" consiste en une Unité de Stimulation (comportant une lampe halogène pour le stimulus de chaleur) et une Unité Electronique de Contrôle (figure 17). Le système peut être utilisé pour des rats et des souris de tailles différentes. Une cellule photo-électrique réglable détecte le mouvement brusque de la queue ("Tail Flick") et le temps de latence est alors automatiquement présenté sur l'affichage digital de l'Unité de Contrôle. La résolution de mesure du temps de réaction est de 0.1 seconde. Un plafond de durée a été défini à 10 secondes pour éviter d'endommager les tissus.



Figure 17 : Test du Tail Flick.



**2.1.2. La vitesse de conduction nerveuse en électromyogramme**

2.1.2.1 PRINCIPES DE L'ÉLECTROMYOGRAMME

L'électro-neuro-myogramme étudie l'activité électrique des nerfs et des muscles. Trois types de tests sont utilisés :

- l'étude des vitesses de conduction motrice
- l'étude des vitesses de conduction sensitive
- l'électromyogramme ou enregistrement musculaire.

L'électro-neuro-myogramme étudie la fonction des fibres nerveuses myélinisées de gros diamètre.

L'étude des vitesses de conduction motrice (VCNM) nécessite la stimulation d'un nerf moteur en deux points avec une petite secousse électrique de quelques millièmes d'Ampère et dont la durée est d'un ou deux dix-millièmes de seconde. La réponse est recueillie à l'aide d'une électrode placée au niveau du muscle. L'appareil permet de mesurer l'amplitude de la réponse électrique du muscle (quelques millièmes de Volt), proportionnelle au nombre de fibres musculaires activées, et le temps de propagation (ou latence) du courant électrique entre le point de stimulation et le muscle. En mesurant la distance entre les deux points de stimulation, il est facile de calculer la vitesse de propagation du courant électrique le long du nerf, appelée vitesse de conduction motrice.

L'étude des vitesses de conduction sensitive (VCNS) fait également appel aux stimulations électriques mais en recueillant le passage du courant sur un nerf de la sensibilité avec des électrodes similaires à celles utilisées pour les vitesses de conduction motrice ou à l'aide de bagues métalliques appliquées au niveau des doigts. L'intensité utilisée est habituellement moindre mais la stimulation doit être répétée pour effectuer un moyennage. En mesurant la distance entre le point de stimulation et le point de réception,

on peut calculer la vitesse de conduction des fibres sensibles. On mesure également l'amplitude de la réponse (en microVolts) qui est proportionnelle au nombre de fibres sensibles.

#### 2.1.2.2 APPLICATION CHEZ LA SOURIS

##### 2.1.2.2.1 ***VCNM DU NERF SCIATIQUE***

Après anesthésie générale par injection intrapéritonéale de thiopental, la souris est placée en décubitus ventral. Après injection sous-cutanée de Marcaine®, le nerf sciatique est exposé afin qu'il puisse être accessible par l'électrode de stimulation. L'électrode de recueil est placée dans la plante du pied de la souris et l'électrode de référence est placée sur la plante du pied de la patte opposée. La réponse est recueillie au niveau des muscles interosseux de l'extrémité de la patte de l'animal. Le nerf sciatique est gardé à température de 37°C à l'aide d'une lampe chauffante pendant toute la durée de l'enregistrement.

La VCNM du nerf sciatique est mesurée par une stimulation en 2 points du nerf sciatique: en haut de la cuisse (d1), au talon (d2) (56). Les enregistrements obtenus correspondent à deux signaux, un en d1 au temps t1, un autre en d2 au temps t2.

La VCNM est égale à  $\frac{d1-d2}{t1-t2}$  en m/s.

##### 2.1.2.2.2 ***VCNS DU NERF SAPHENE***

Après anesthésie générale par injection intrapéritonéale de thiopental, la souris est placée en décubitus ventral. Après injection sous-cutanée de Marcaine®, le nerf saphène est exposé au niveau de l'aîne. L'électrode de

## **Chapitre 2 : Méthodes d'exploration**

recueil est placée sur le nerf péronéal et l'électrode de référence est placée sur la patte opposée. Le nerf saphène est gardé à température de 37°C à l'aide d'une lampe chauffante pendant toute la durée de l'enregistrement.

Un train de stimulation est effectué au niveau de l'aîne de la souris sur le nerf saphène. L'enregistrement est fait sur le nerf péronéal. Trois trains de stimulation sont moyennés.

### 2.2. Chez l'homme

L'évaluation de la neuropathie a été qualitative et quantitative selon la classification de la conférence de consensus de San Antonio (57).

#### 2.2.1. *Evaluation qualitative*

L'évaluation qualitative comportait un recueil des symptômes et un examen clinique.

##### 2.2.1.1 RECUEIL DES SYMPTOMES

Le recueil des symptômes était effectué après un interrogatoire relatif aux sensations de chaud/froid au niveau des pieds et des jambes, aux sensations de paresthésies et aux douleurs diurnes et/ou nocturnes. Pour y parvenir, nous avons utilisé une échelle construite en 3 échelons, numérotés de 0 à 2 :

- 0 : absence de l'anomalie recherchée ;
- 1 : apparition nocturne de l'anomalie ;
- 2 : apparition diurne de l'anomalie.

Le score obtenu en additionnant tous les points constituait le "Neuropathy Symptom Score" (NSS) (58).

### 2.2.1.2 EXAMEN CLINIQUE

L'examen des signes cliniques permettait d'évaluer les réflexes achilléens et rotuliens sur chaque membre inférieur grâce à l'utilisation de l'échelle suivante :

- 0 : présence des réflexes ;
- 1 : diminution des réflexes ;
- ↓ 2 : absence de chacun des réflexes.

Il constituait également à évaluer qualitativement la sensibilité cutanée des patients placés en décubitus dorsal, les yeux fermés, grâce à une échelle construite en six échelons, numérotés de 0 à 5 :

- 0 : perception de chacun des stimuli sur l'ensemble de la jambe ;
- 1 : troubles de perception survenant au niveau des orteils ;
- 2 : troubles de perception survenant à mi-pied ;
- 3 : troubles de perception survenant au niveau de la cheville ;
- 4 : troubles de perception survenant à mi-jambe ;
- ↓ 5 : troubles de perception survenant au niveau du genou.

La sensibilité tactile était testée grâce à une épreuve de « pique-touche » : un objet à pointe mousse (utilisation d'une très grosse aiguille à couture à bout rond) était utilisé pour la sensation "pique" et le contact du bout rond de l'aiguille définissait la sensation "touche". Dans un premier temps, un pré-test réalisé sur la main permettait au sujet de se familiariser avec cette procédure. Dans un second temps, un touché avec le doigt ou un piqué, exercés de façon aléatoire le long des deux jambes constituait le véritable test.

La sensibilité vibratoire était évaluée grâce à un diapason appliqué en regard des surfaces osseuses suivantes : malléole, rotule, tête métatarsienne.

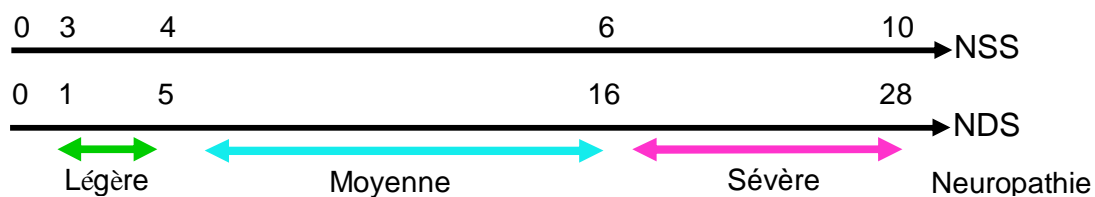
## Chapitre 2 : Méthodes d'exploration

L'évaluation de la sensibilité thermique résidait dans la distinction entre le chaud et le froid. Pour ce faire, deux récipients en verre remplis respectivement d'eau froide (4°C) et d'eau chaude (45°C) étaient mis en contact avec la peau du dos de la main pour permettre au sujet de se familiariser avec les sensations procurées. Ensuite le test était réalisé au niveau de la surface cutanée des pieds et des jambes.

Enfin, la sensibilité nociceptive était estimée par un pincement de la peau au niveau de chaque membre inférieur.

L'ensemble des résultats obtenus lors de l'examen des signes cliniques permettait d'obtenir un "Neuropathy Disability Score" (NDS) (59).

Le Neuropathy Symptom Score (NSS) et le Neuropathy Disability Score (NDS) sont présentés en annexe 1. Ils sont utilisés depuis les années 80 pour évaluer la sévérité de la neuropathie périphérique dans le diabète mais également dans d'autres pathologies.



A la suite de ces tests, les résultats NSS et NDS permettaient de distinguer les sujets non neuropathes des sujets neuropathes de la manière suivante :

- NSS et NDS = 0 : sujets non neuropathes ;
- 0 < NSS et/ou NDS < 5 : neuropathes infra-cliniques ;
- NSS et/ou NDS ≥ 5 : neuropathes.

### 2.2.2. *Evaluation quantitative*

L'évaluation quantitative de la sensibilité mécanique cutanée comprenait trois examens.

#### 2.2.2.1 SENSIBILITE A LA PRESSION

Le premier portait sur la sensibilité à la pression par l'intermédiaire de six monofilaments de Semmes-Weinstein de taille différente (2,44 ; 3,61 ; 4,08 ; 4,56 ; 5,18 ; 5,88 g) (Stoelting Co. Wood Dale, USA) (60). Ces derniers permettaient d'exercer une pression, calibrée pour chacun d'entre eux, sur la peau. Le monofilament (figure 18) était d'abord appliqué sur le dos de la main pour permettre au sujet d'apprécier la sensation générée, il l'était ensuite aléatoirement, le sujet étant en décubitus dorsal les yeux fermés, au niveau du dos des mains, de la face antérieure des genoux, sur les malléoles et les orteils.



Figure 18 : Monofilament appliqué sur la pulpe du gros orteil.

#### 2.2.2.2 SENSIBILITE A LA VIBRATION

Le deuxième examen consistait à évaluer la sensibilité vibratoire sur un relief osseux de la main et du pied. Pour y parvenir, nous utilisons un appareil permettant un examen de la sensibilité cutanée assisté par ordinateur (Computer-Aided Sensory Evaluator IV system, Medical

## **Chapitre 2 : Méthodes d'exploration**

Electronics CO., Stillwater, USA)(61, 62). Un premier essai permettait au sujet en décubitus dorsal de reconnaître le type de stimulus. L'intensité du courant était ensuite aléatoirement délivrée par l'appareil. La valeur individuelle était la moyenne des trois voltages ressentis les plus bas.



Figure 19 : Computer-Aided Sensory Evaluator IV system.

### 2.2.2.3 SENSIBILITE A LA TEMPERATURE

La détermination des seuils thermiques s'effectuait à l'aide du même appareil (Computer-Aided Sensory Evaluator IV system, Medical Electronics CO., Stillwater, USA) au niveau de la main et du pied. Un premier essai permettait au sujet en décubitus dorsal de reconnaître le stimulus. Le seuil au chaud était la moyenne des températures les plus basses des stimuli chauds ressentis par le sujet. Le seuil au froid était la moyenne des températures les plus hautes des stimuli froids ressentis par le sujet.

## Chapitre 3 : La vasodilatation cutanée induite par une pression locale

La peau est soumise en permanence à des pressions extérieures. En position debout, les pressions au niveau du pied peuvent atteindre 100 kPa (soit 750 mmHg), tandis que lors de la marche la pression varie entre 0 et 400 kPa (0 et 3000 mmHg) (63). En position assise ou couchée, les pressions au niveau des proéminences osseuses varient de 20 kPa à 67 kPa (150 à 500 mmHg). Ces pressions exercent une compression de la peau y compris des microvaisseaux cutanés et provoquent une réduction de l'approvisionnement sanguin nécessaire à l'intégrité des fonctions physiologiques cutanées. Si les pressions sont élevées ou appliquées pendant un temps prolongé, l'ischémie et la nécrose peuvent apparaître comme l'ultime conséquence (64). Pourtant chez le sujet sain, les contraintes de pression ne provoquent jamais de nécrose, probablement grâce à l'existence de mécanismes impliqués dans la prévention de l'ischémie au niveau des zones de pression.

Récemment, au sein du laboratoire de Circulations régionales et microcirculation de la Faculté de Médecine d'Angers, l'existence d'un couplage entre la mécanosensibilité et la vasodilatation cutanée a été mise en évidence chez l'humain, en étudiant des pressions variant de 0 à 20 kPa (0 à 150 mmHg). Cette réponse vasomotrice à la pression pourrait être un mécanisme de protection naturel de la peau face à une contrainte externe non douloureuse (65).



## 1. Matériel et méthode

La présence ou non d'une vasodilatation cutanée est évaluée grâce à l'application d'une pression non douloureuse sur la peau d'intensité progressivement croissante, avec un suivi de la pression artérielle et la température cutanée. Le flux sanguin de la microcirculation cutanée est mesuré grâce à un laser Doppler à l'endroit même de la compression grâce à un système spécialement conçu à cet effet (figures 20 à 22), évitant toute intervention directe de l'expérimentateur (66). La structure de base de ce système est un balancier comprenant un axe cylindrique en aluminium constituant le fléau. A l'une des extrémités sont disposés une sonde laser Doppler (415, Perimed, Suède) et un récipient cylindrique en plastique. A l'autre extrémité un contrepoids de quinze grammes, mobile le long de l'axe, permet d'équilibrer le fléau et de le maintenir à l'horizontal. Le système est préalablement calibré afin d'obtenir une relation linéaire entre le volume d'eau remplissant le récipient et la pression appliquée à la surface de la peau. Un laser témoin est positionné à proximité du premier laser afin d'enregistrer un flux sanguin de référence. Un enregistrement des valeurs de repos est effectué pendant deux minutes avant le début de l'application de la pression.

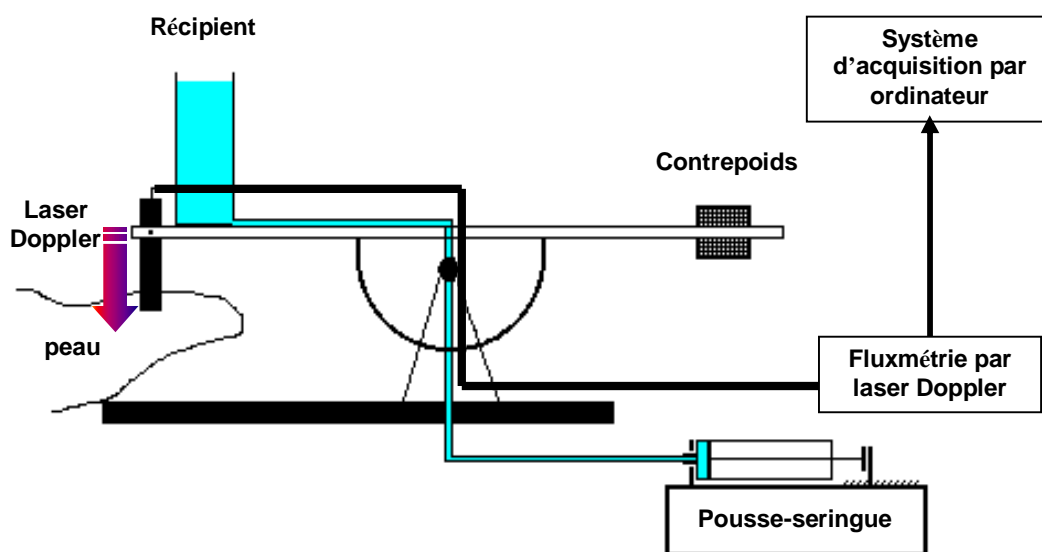


Figure 20 : Schéma du dispositif utilisé pour exercer une pression calibrée progressive sur la peau.



Figure 21 : Photographie du dispositif utilisé pour enregistrer la PIV sur le doigt.

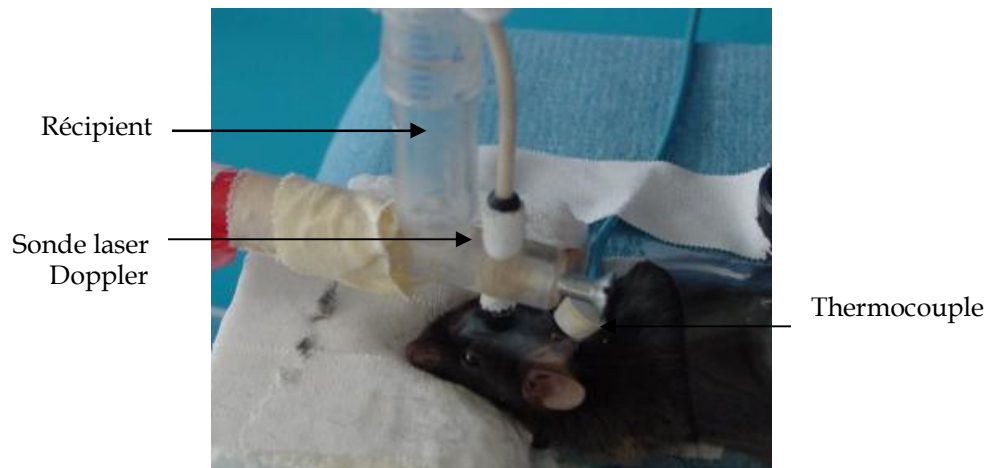


Figure 22 : Photographie du dispositif utilisé pour enregistrer la PIV sur la tête de la souris.

## 2. La PIV chez l'homme

Les investigations se déroulent sur les sujets allongés en décubitus dorsal dans une salle dont la température est stabilisée à  $30\pm 2$  °C afin de palier au refroidissement des patients occasionné par leur immobilité durant l'expérimentation. Ces conditions expérimentales sont nécessaires pour stabiliser les variables cardio-vasculaires et thermiques et demande une durée longue d'acclimatation (entre 1 et 2 heures). Ainsi, la température cutanée du patient au niveau de la main sera d'environ 34°C. Chez l'homme, la pression est appliquée au niveau de la jambe ou de la main, et augmentée progressivement de 11,1 Pa.s<sup>-1</sup> (5 mmHg.min<sup>-1</sup>) pendant 30 minutes maximum. A l'issue de chaque mesure la pression est maintenue à 150 mmHg pendant une minute afin d'enregistrer la valeur minimale du signal Doppler (figure 23). La mesure de la vasodilatation nécessite de rester allongé pendant environ 60 minutes.

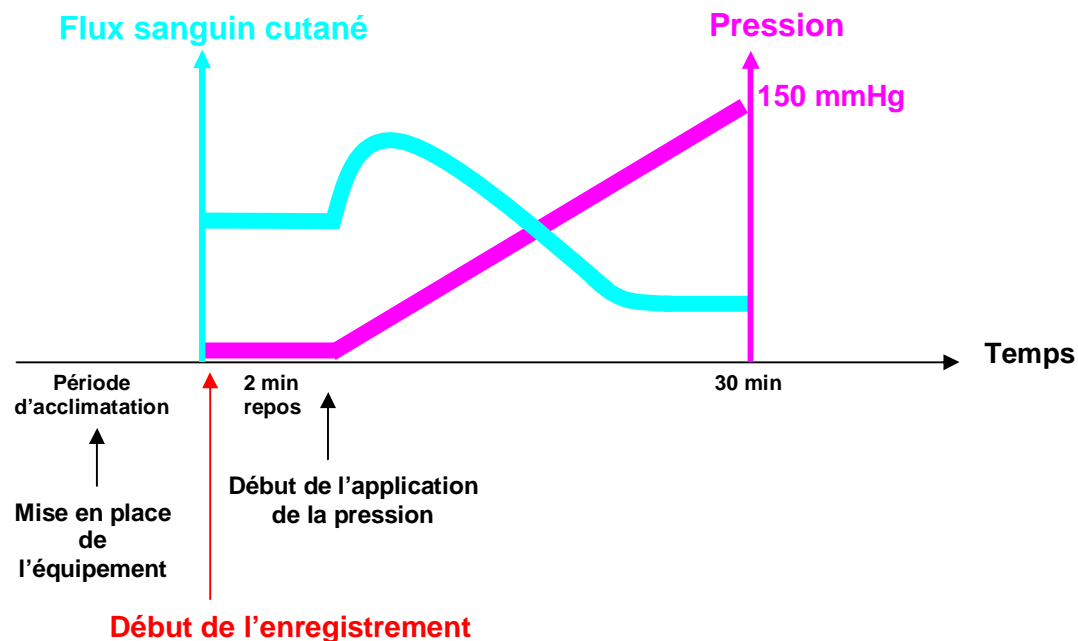


Figure 23 : Schéma du protocole d'enregistrement de la PIV chez l'homme.

Lors de l'application sur la peau d'une pression d'intensité non douloureuse et progressivement croissante, survient une augmentation transitoire du flux microcirculatoire correspondant à une vasodilatation. Cette réponse vasodilatatrice à la pression est dénommée PIV pour "Pressure Induced-Vasodilation". Elle disparaît après une anesthésie locale ou un traitement chronique local par la capsaïcine (figure 24). Il existe donc une commande nerveuse de la vasodilatation cutanée par les fibres afférentes primaires capsaïcino-sensibles (9).

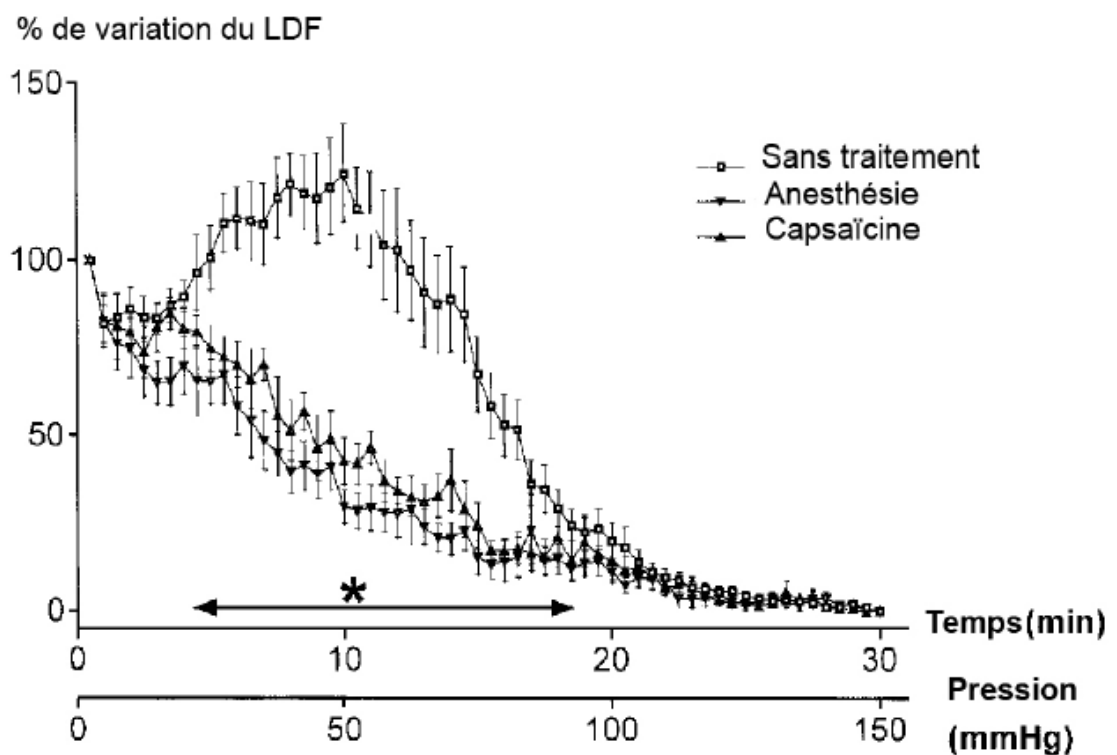


Figure 24 : Réponses moyennes du flux sanguin cutané en pourcentage de variations par rapport à l'état basal, au niveau du doigt, durant 30 minutes d'application d'une pression locale progressivement croissante à raison de 5 mmHg.min<sup>-1</sup>, chez des sujets sains sans traitement, après un traitement chronique local par la capsaïcine et après une anesthésie locale d'après (9)

## 3. La PIV chez l'animal

### 3.1. Mise en évidence de la PIV

Chez le rongeur, la pression est appliquée au niveau de la tête de l'animal, et augmentée progressivement de 11,1 Pa.s<sup>-1</sup> pour le rat et de 2,2 Pa.s<sup>-1</sup> pour la souris.

Chez le rat et la souris, l'application d'une pression progressive externe modérée induit également une augmentation significative et transitoire du flux microcirculatoire au niveau de la peau. Le rongeur est donc un modèle expérimental permettant d'aller plus loin dans la compréhension des mécanismes physiologiques mis en jeu dans la PIV (figure 25).

Les résultats obtenus chez l'homme après traitement chronique local par la capsaïcine sont confirmés chez le rat traité par la capsaïcine à la naissance (11). La vasodilatation induite par la pression localement appliquée, chez l'animal comme chez l'homme, est donc médiée par les fibres capsaïcino-sensibles (9, 11).

### 3.2. Rôle du CGRP et des neurokinines

Il a été montré que les fibres nerveuses afférentes capsaïcino-sensibles sont capables de libérer des neurotransmetteurs dont les plus étudiés sont les neurokinines (substance P, neurokinines A et B) et le CGRP. Ces substances agissent sur des récepteurs spécifiques, clairement identifiés et dont l'action peut être bloquée par des antagonistes spécifiques. Une étude pharmacologique a été menée pour identifier le rôle de ces neurotransmetteurs dans la réponse vasodilatatrice à la pression. Les résultats de cette étude montrent que le CGRP joue un rôle majeur, alors que les neurokinines ne sont pas impliquées dans cette réponse vasomotrice (11).

### 3.3. Rôle du NO et des prostaglandines

Le NO endothélial joue un rôle prépondérant dans la PIV, comme le montre l'utilisation du L-NNA chez le rat. A l'inverse le NO neuronal ne participe que partiellement au mécanisme de cette réponse vasodilatatrice (11). L'utilisation d'indométacine réduit aussi de façon significative la PIV indiquant un rôle des prostaglandines (PG).

L'ensemble des études chez l'humain et le rongeur a permis de proposer un schéma des voies impliquées dans la PIV (figure 25).

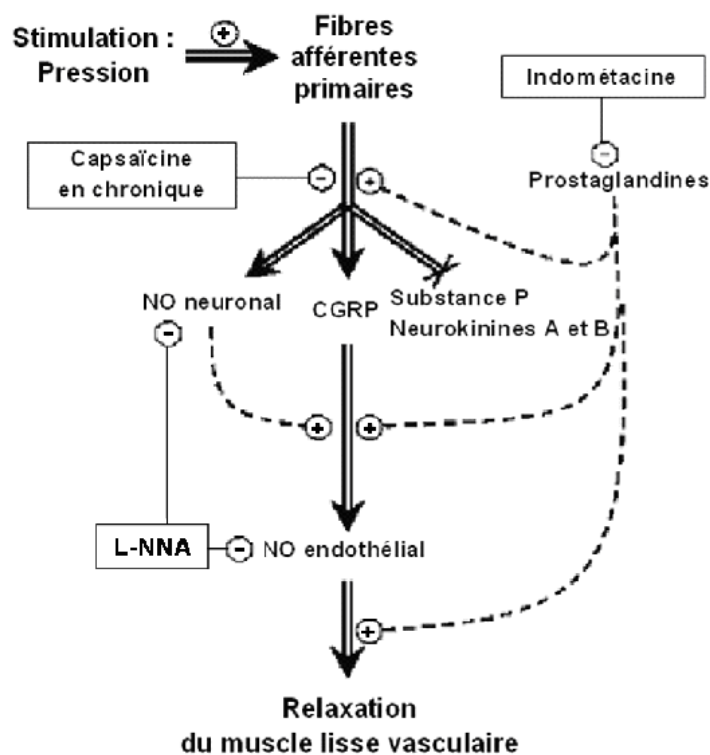


Figure 25 : Mécanismes connus de la vasodilatation en réponse à une pression non nociceptive localement appliquée sur la peau d'après (11).

### 3.4. Rôle de l'EDHF

Chez le rat, l'EDHF n'est pas impliqué dans la PIV en conditions physiologiques (présence de NO). Toutefois, en absence chronique de NO, l'EDHF semble prendre le relais d'une déficience endothéliale afin de conserver au mieux la PIV (67). L'injection simultanée d'apamine et de charybdotoxine est reconnue comme bloqueur de l'EDHF (68, 69).

### 3.5. Limites du modèle animal

Les travaux réalisés in vivo sur l'animal sont réalisés sous anesthésie générale. Or, il est reconnu que l'anesthésie générale, en supprimant l'ensemble des sensibilités de l'organisme, altère les fonctions physiologiques, notamment la fonction cardio-vasculaire avec l'apparition d'une hypotension artérielle. Bien qu'une anesthésie profonde fasse disparaître la réponse vasodilatatrice à la pression, une anesthésie légère n'empêche pas le développement de cette réponse vasodilatatrice. Cette absence de réponse vasodilatatrice à la pression n'est pas liée à l'agent anesthésique utilisé (thiopental, propofol ou isoflurane), ni à l'hypotension artérielle provoquée par l'anesthésie profonde, mais à la dose d'anesthésique administrée à l'animal (15). Il convient donc de prendre en compte ce paramètre expérimental afin de ne pas biaiser les résultats, et de standardiser au mieux les protocoles expérimentaux.

L'utilisation d'une couveuse permet de stabiliser la température cutanée de l'animal. En effet, une température cutanée trop basse diminue et parfois abolie la PIV (16). D'autre part nous évitons toutes sources de stress à l'animal (nociceptif, auditif...), le stress induisant une diminution de la PIV (résultat observé au laboratoire non publié).

Pour mesurer la PIV chez l'animal, une épilation de la zone de mesure est réalisée deux jours avant la manipulation. L'épaisseur de la peau provoque des différences dans la cinétique de la PIV. Chez la souris notamment, la peau est particulièrement fine par rapport à celle du rat ou de l'homme. C'est pourquoi nous utilisons des cinétiques de pressions différentes (11,1 Pa.s<sup>-1</sup> pour l'humain et le rat, 2,2 Pa.s<sup>-1</sup> pour la souris). Ainsi la pression locale nécessaire pour obtenir une vasodilatation maximale est environ 4 à 6 kPa chez l'humain, 1,4 kPa chez le rat, et 0,2 kPa chez la souris.

## Chapitre 4 : Les effets connus du vieillissement

### 1. Le versant vasculaire

#### 1.1. La vasodilatation endothélium-dépendante altérée avec l'âge

Avec l'âge, la vasodilatation cutanée en réponse à différents stimuli diminue. Par exemple, la vasodilatation cutanée en réponse à la chaleur diminue avec l'âge (70-74) et le flux sanguin cutané maximal diminue de façon exponentielle avec l'âge (75). Cette altération de la vasodilatation cutanée avec l'âge montre une dysfonction endothéliale.

La vasodilatation endothélium-dépendante a également été étudiée chez l'homme in vivo par fluxmétrie laser-Doppler couplée à l'iontophorèse à l'acétylcholine au niveau de la peau (76-78) et chez le rat in vitro au niveau des artérioles musculaires (79, 80).

Il est donc admis que le vieillissement s'accompagne d'une dysfonction endothéliale (81). Cette dysfonction endothéliale est secondaire à plusieurs mécanismes. Avec l'âge, il existe un déséquilibre entre les différents facteurs endothéliaux de relaxation et de contraction. Cependant le rôle respectif des différents facteurs endothéliaux de relaxation et de contraction dans la dysfonction endothéliale liée à l'âge n'est pas encore clairement établi (81, 82).

Avec l'âge, le rôle du NO et celui de la prostacycline dans la vasodilatation endothélium-dépendante diminue (83-85). Concernant le NO, plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer la dysfonction endothéliale liée à l'âge. D'une part, la production diminue avec l'âge en raison d'une altération de l'expression et/ou de l'activité de la NOS endothéliale (86). D'autre part, la biodisponibilité du NO diminue avec l'âge car le NO a un rôle anti-oxydant : il est piégé par les radicaux libres oxygénés



#### **Chapitre 4 : Les effets connus du vieillissement**

dont la production augmente en raison d'une dysfonction mitochondriale liée à l'âge (87, 88). D'ailleurs, en administrant un anti-oxydant, la vitamine C, à des sujets âgés de plus de 60 ans, la vasodilatation liée à l'acétylcholine mesurée par pléthysmographie augmente (89). Enfin, la diffusion du NO de l'endothélium vers le muscle lisse vasculaire est diminuée avec l'âge en raison de l'augmentation de l'épaisseur de la paroi vasculaire notamment de l'intima et de la média (90).

Concernant les prostaglandines, l'activité des cyclo-oxygénases (COX) diminue avec l'âge d'une part (91) et la balance entre les produits vasoconstricteurs et les produits vasodilatateurs des COX penche en faveur des produits vasoconstricteurs d'autre part (82, 84, 92). Les voies des endothélines-1 et le système rénine-angiotensine jouent un rôle dans la dysfonction endothéliale liée à l'âge (81, 88).

Holowatz et al suggèrent donc un rôle de l'EDHF dans la vasodilatation acétylcholine-dépendante chez l'homme âgé (84). Alors que la voie du NO et la voie des prostaglandines interagissent entre elles ; c'est-à-dire que lorsqu'une voie est inhibée, la contribution de l'autre dans la vasodilatation acétylcholine-dépendante augmente (87) ; la voie de l'EDHF semble intervenir lorsque les 2 autres voies sont déficientes (84). Les résultats de notre étude chez la souris vont confirmer cette hypothèse.

#### 1.2. La vasodilatation endothélium-indépendante préservée avec l'âge

La vasodilatation endothélium-indépendante semble préservée avec l'avancée en âge. En effet, la réponse du muscle lisse vasculaire n'est pas modifiée par l'âge ; elle a été étudiée in vivo chez l'homme au niveau de la peau (76, 77) et in vitro chez l'animal dans différents territoires artériels, par exemple l'artériole du muscle soleus chez le rat (79, 80).

## 2. Le versant neurologique

### 2.1. Altérations de la sensibilité cutanée avec l'âge

Les personnes âgées ont une altération de la sensibilité cutanée mécanique en comparaison avec les jeunes, à la fois une diminution de la sensibilité épicrotique, prédominant aux extrémités (93), une diminution de la sensibilité à la vibration (94, 95) et une diminution de la sensibilité à la pression (94). La sensibilité thermique et la nociception semblent préservées avec l'âge (96), cependant une diminution de la sensibilité au chaud a été rapportée chez l'homme âgé au niveau du pied en comparaison avec la main (97).

L'effet de l'âge sur les mécanorécepteurs a surtout été étudié pour les corpuscules de Pacini et les corpuscules de Meissner qui sont des récepteurs à adaptation rapide. Le nombre de corpuscules de Pacini diminue avec l'âge (98) et ainsi la sensibilité à la vibration diminue avec l'âge (95). De même, les corpuscules de Meissner ont des altérations structurales et leur nombre diminue avec l'âge (99-101) et ainsi la sensibilité au tact diminue (102).

Les disques de Merkel et les corpuscules de Ruffini sont des mécanorécepteurs à adaptation lente, sensibles à la pression. Peu d'études se sont intéressées à l'effet du vieillissement sur ces 2 mécanorécepteurs. Chez le rat, une altération des disques de Merkel a été observée avec l'âge (103, 104). Et Reincke et al. ont trouvé que la proportion entre mécanorécepteurs à adaptation lente et mécanorécepteurs à adaptation rapide varie avec l'âge au profit des récepteurs à adaptation rapide (105).

### 2.2. Altérations du système nerveux périphérique avec l'âge

Avec l'âge, des modifications morphologiques et structurelles du système nerveux périphérique apparaissent, augmentant la susceptibilité des

#### **Chapitre 4 : Les effets connus du vieillissement**

personnes âgées aux neuropathies périphériques. Ces modifications concernent à la fois les fibres nerveuses myélinisées et les fibres nerveuses amyéliniques.

Avec l'âge, la densité en fibres nerveuses myélinisées diminue, l'épaisseur de la gaine de myéline diminue et comprend davantage d'irrégularités, la longueur des espaces dépourvus de myéline diminue, les processus de myélogénèse s'altèrent chez différentes espèces animales (106). La vitesse de conduction nerveuse diminue chez la souris (107) et chez l'homme avec l'âge (108). Cependant, cette diminution de la conduction nerveuse avec l'âge est différente d'une fibre nerveuse à l'autre, d'un nerf à l'autre et d'une espèce animale à l'autre (109).

Le vieillissement a également des conséquences sur les fibres nerveuses amyéliniques, notamment une perte de fibres nerveuses amyéliniques et des modifications structurales (106).

#### 2.3. Altérations des fibres capsaïno-sensibles

Les fibres nerveuses impliquées dans la PIV sont des fibres capsaïno-sensibles. Avec l'âge, le fonctionnement des fibres capsaïno-sensibles est altéré chez l'homme au niveau cutané (110). Par ailleurs, la synthèse, le stockage et la sécrétion des neurotransmetteurs des fibres capsaïno-sensibles sont diminués chez le rat âgé en comparaison avec le jeune (111), et parmi ces neurotransmetteurs le CGRP qui a un rôle connu dans la PIV.

### 3. Présentation du travail

#### 3.1. L'hypothèse : l'altération de la PIV avec l'âge

Compte tenu des effets connus du vieillissement, à la fois la dysfonction endothéliale et les altérations des fibres capsaïno-sensibles, le but de ce travail était d'objectiver une altération de la PIV avec l'âge. Cette altération de la PIV avec l'âge pourrait expliquer la plus grande susceptibilité des personnes âgées à l'ischémie cutanée et l'augmentation du risque d'ulcère de pression avec l'âge.

#### 3.2. Le choix du modèle animal

La 1<sup>e</sup> étude a été faite chez l'animal. Elle avait pour principal objectif de rechercher une altération de la PIV liée au vieillissement vasculaire et notamment à la dysfonction endothéliale. Le choix de l'espèce animale a donc été fait avec l'idée d'un effet minime du vieillissement sur le système nerveux périphérique.

L'espèce animale choisie a été la souris car elle présente moins de neuropathie avec l'âge en comparaison avec le rat (112). La souche choisie a été la C57BL/6 car c'est une souche qui a une longue durée de vie et est par conséquent la plus utilisée dans les études de Gériologie ; par ailleurs c'est une souche qui a peu de neuropathie avec l'âge en comparaison avec d'autres (113).

Le modèle expérimental permet par ailleurs d'aller plus loin dans la compréhension des mécanismes physiologiques mis en jeu dans la PIV en utilisant des inhibiteurs pharmacologiques des différentes voies vasodilatatrices.

#### **Chapitre 4 : Les effets connus du vieillissement**

Les expérimentations ont eu lieu dans le laboratoire de Circulations régionales et microcirculation UMR CNRS 6188 à la Faculté de Médecine d'Angers.

##### 3.3. Le PHRC chez l'homme

Aux vues des résultats de la 1<sup>e</sup> étude chez la souris, une 2<sup>e</sup> étude a été réalisée chez l'homme. Cette étude a fait l'objet d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC 2005/18) dont le promoteur était le Centre Hospitalier Universitaire d'Angers et dont j'étais investigateur associé.

L'objectif principal était de déterminer l'existence d'une modification de la PIV au cours du vieillissement, en comparant la réponse vasculaire cutanée à l'application locale d'une pression entre les sujets jeunes et âgés. Les objectifs secondaires consistaient à démontrer qu'une modification éventuelle de la PIV au cours du vieillissement était associée à une dysfonction endothéliale étudiée par la réponse à l'acétylcholine par iontophorèse chez les sujets jeunes et âgés et/ou à une atteinte nerveuse en comparant les sujets avec et sans neuropathie.

Il s'agissait d'une étude physiopathologique, prospective, transversale, monocentrique avec 3 groupes sans bénéfice individuel direct. Le nombre de sujets nécessaires avait été estimé à 20 par groupe pour montrer une différence de PIV de 50% avec une puissance de 80% et un risque alpha de 2.5%. Un effectif de 60 sujets était donc nécessaire pour répondre aux objectifs de l'étude. Le nombre total de sujets a été répartis en 3 groupes (20 sujets par groupe) constitués de la manière suivante:

Groupe I : Sujets jeunes (20 - 35 ans) sans neuropathie;

Groupe II : Sujets âgés (60 - 75 ans) sans neuropathie;

Groupe III : Sujets âgés (60 - 75 ans) avec neuropathie.

Les critères de non-inclusion et les critères d'exclusion regroupaient différentes pathologies notamment cardiaques, vasculaires, pulmonaires,

susceptibles d'altérer la PIV et la prise de médicaments connus pour altérer la PIV (aspirine et anti-inflammatoires non stéroïdiens).

Le recrutement des sujets jeunes et des sujets âgés a été réalisé par affichage public, utilisation d'annonces dans la presse et/ou sur Internet, ... Le recrutement des sujets âgés a également été réalisé dans le Service de Gériatrie Clinique du Centre Hospitalier Universitaire d'Angers où je travaillais en tant que Chef de Clinique Assistant.

L'inclusion des sujets a commencé en 2005 et s'est terminée en 2008. Les expérimentations ont eu lieu dans le service d'Explorations fonctionnelles vasculaires du Centre Hospitalier Universitaire d'Angers.

# Chapitre 5 : L'effet du vieillissement sur la vasodilatation cutanée induite par une pression locale

## 1. L'étude chez la souris

### **Article publié :**

Gaubert ML, Sigaucho-Roussel D, Tartas M, Berrut G, Saumet JL, Fromy B. Endothelium-derived hyperpolarizing factor as an in vivo back-up mechanism in the cutaneous microcirculation in old mice. *J Physiol* 2007;585:617-26.

### 1.1. Objectifs

L'objectif principal était d'objectiver une altération de la PIV chez les souris âgées en comparaison avec les souris jeunes. Les objectifs secondaires étaient de vérifier l'intégrité du système nerveux chez les souris âgées et de mettre en évidence une dysfonction endothéliale chez les souris âgées.

### 1.2. Méthodes

Les souris étaient des mâles de la souche C57BL/6 âgées de 6-7 mois dans le groupe des jeunes et de 22-25 mois dans le groupe des âgées. Les souris étaient anesthésiées par injection intra-péritonéale de thiopental. Le monitoring de la température cutanée et de la pression artérielle était continu.

Ont été étudiés chez les souris âgées en comparaison avec les jeunes :

- le seuil douloureux de la sensibilité thermique par le test du Tail Flick,
- la vitesse de conduction motrice du nerf sciatique et la vitesse de conduction sensitive du nerf saphène,
- la vasodilatation cutanée en réponse à l'application d'une pression locale,

- la vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse d'acétylcholine,
- la vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse de nitroprussiate de sodium.

### 1.3. Résultats

La fonction nerveuse (seuil de sensibilité à la chaleur et vitesses de conduction nerveuse) était similaire entre le groupe des souris âgées et le groupe des souris jeunes.

La PIV a été observée chez les souris âgées mais son maximum était plus précoce et réduit ( $22\pm 3\%$ ,  $n=13$ ) en comparaison avec les souris jeunes ( $39\pm 6\%$ ,  $n=13$ ,  $p<0,05$ ). Il existait donc une altération de la PIV chez les souris âgées en comparaison avec les souris jeunes.

La vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse d'acétylcholine était diminuée chez les souris âgées ( $29\pm 5\%$ ,  $n=9$ ) en comparaison avec les souris jeunes ( $54\pm 9\%$ ,  $n=9$ ,  $p<0,05$ ). La vasodilatation endothélium-dépendante était donc altérée chez les souris âgées.

La vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse de nitroprussiate de sodium était similaire entre les 2 groupes. La vasodilatation endothélium-indépendante était donc préservée chez les souris âgées.

Chez les souris âgées en comparaison avec les jeunes, la PIV est altérée et cette altération est liée à une dysfonction endothéliale.



1.4. Résultats complémentaires

Un travail complémentaire a permis de connaître la contribution respective du NO, de la PG et de l'EDHF dans la vasodilatation endothélium-dépendante chez les souris jeunes et âgées.

La vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse d'acétylcholine a été étudiée dans les 2 groupes chez des souris non traitées en comparaison avec des souris traitées par L-NNA (inhibiteur du NO), par l'indométacine (inhibiteur de PG), par L-NNA+indométacine et par apamine+charybdotoxine (inhibiteurs de l'EDHF).

Chez les souris jeunes, la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine était diminuée chez les souris traitées par L-NNA ( $28\pm 2\%$ ,  $n=9$ ,  $p<0,05$ ), chez les souris traitées par indométacine ( $26\pm 4\%$ ,  $n=9$ ,  $p<0,05$ ) en comparaison avec les souris non traitées ( $54\pm 9\%$ ,  $n=9$ ) et quasiment abolie chez les souris traitées par L-NNA+ indométacine ( $4\pm 2\%$ ,  $n=5$ ,  $p<0,01$ ). Par contre, la réponse à l'acétylcholine était similaire chez les souris traitées par apamine+charybdotoxine ( $48\pm 8\%$ ,  $n=9$ ) en comparaison avec les souris non traitées ( $54\pm 9\%$ ,  $n=9$ ).

Chez les souris âgées, la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine n'était pas modifiée par l'administration de L-NNA ( $24\pm 4\%$ ,  $n=9$ ), indométacine ( $19\pm 2\%$ ,  $n=9$ ) ou L-NNA+indométacine ( $23\pm 5\%$ ,  $n=9$ ) en comparaison avec les souris non traitées ( $29\pm 5\%$ ,  $n=9$ ) ; par contre, elle était abolie chez les souris traitées par apamine+charybdotoxine ( $4\pm 1\%$ ,  $n=5$ ,  $p<0,01$ ).

La PIV a été étudiée dans les 2 groupes chez des souris non traitées en comparaison avec des souris traitées au L-NNA+indométacine et à l'apamine+charybdotoxine.

Chez les souris jeunes, la PIV était diminuée chez les souris traitées par L-NNA+indométacine ( $-11\pm 8\%$ ,  $n=5$ ) en comparaison avec les souris non traitées ( $39\pm 6\%$ ,  $n=13$ ,  $p<0,05$ ). Par contre, la PIV n'était pas modifiée par l'administration d'apamine+charybdotoxine ( $38\pm 12\%$ ,  $n=6$ ).

Chez les souris âgées, la PIV était diminuée chez les souris traitées par apamine+charybdotoxine ( $-8\pm 6\%$ ,  $n=5$ ) en comparaison avec les souris non traitées ( $22\pm 3\%$ ,  $n=13$ ,  $p<0,05$ ). Par contre, la PIV n'était pas modifiée par l'administration de L-NNA+indométacine ( $26\pm 4\%$ ,  $n=9$ ).

Chez les souris jeunes, les voies du NO et des PG sont donc majoritairement impliquées dans la PIV et la vasodilatation endothéliale liée à l'acétylcholine. Par contre, chez les souris âgées, la voie de l'EDHF semble primordiale. L'EDHF semble donc partiellement compenser les voies du NO et des PG lorsqu'elles sont altérées comme c'est le cas au cours du vieillissement.

## 2. L'étude chez l'homme

### **Article soumis :**

Fromy B, Sigaudou-Roussel D, Gaubert ML, Rousseau P, Abraham P, Berrut G, Saumet JL. Effects of ageing on the cutaneous pressure-induced vasodilation: a novel testing to study tissue resistance to ischemia. Circulation.

### 2.1. Objectifs

L'objectif principal était de déterminer l'existence d'une modification de la PIV au cours du vieillissement, en comparant la réponse vasculaire cutanée à l'application locale d'une pression entre les sujets jeunes (20 à 35 ans) et les sujets âgés (60-75 ans). Les objectifs secondaires consistaient à démontrer qu'une modification éventuelle de la PIV au cours du vieillissement serait associée à une dysfonction endothéliale et/ou à une atteinte nerveuse en comparant les sujets avec et sans neuropathie.

### 2.2. Méthodes

Trois groupes de sujets ont été étudiés :

- les sujets jeunes (20-35 ans) sans neuropathie (NSS et NDS < 5)
- les sujets âgés (60-75 ans) sans neuropathie (NSS et NDS < 5)
- les sujets âgés (60-75 ans) avec neuropathie (NSS ou NDS ≥ 5)

Les sujets ont été vus à 3 reprises :

- lors de la visite d'inclusion
- lors de l'étude de la microcirculation au niveau de la main
- lors de l'étude de la microcirculation au niveau de la jambe.

La visite d'inclusion comportait :

- la signature du consentement à l'étude
- la vérification des critères de non inclusion
- l'examen de la sensibilité cutanée avec le calcul du Neuropathy Symptom Score (NSS) et du Neuropathy Disability Score (NDS) (scores présentés en annexe 1) et la mesure des seuils de sensibilité à la pression, à la vibration et au chaud/froid
- le calcul des scores de Braden et de Norton (présentés en annexe 2)
- l'enregistrement d'un électrocardiogramme
- la réalisation d'un doppler artériel des membres inférieurs
- la mesure de la TcpO<sub>2</sub> au niveau de la main, du pied et du thorax
- le prélèvement d'un bilan sanguin à jeun (bilan lipidique, glucose, créatinine, urée, protides, ionogramme, albumine, hémogramme, protéine C réactive, fibrinogène) et d'un bilan urinaire (protéines).

Les 2 visites suivantes étaient dédiées à l'étude de la microcirculation cutanée. Les expérimentations avaient lieu dans une pièce chauffée à 27,5-29,5°C. Les mesures débutaient après un temps de repos et d'acclimatation. Les sujets étaient en décubitus dorsal. Le monitoring de la température cutanée, de la pression artérielle et du pouls était continu.

Ont été étudiés niveau de la main et de la jambe :

- la vasodilatation cutanée en réponse à l'application d'une pression locale,
- la vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse d'acétylcholine,
- la vasodilatation cutanée en réponse à l'application d'une chaleur locale (44°C).
- la vasodilatation cutanée en réponse à l'iontophorèse de nitroprussiate de sodium.

2.3. Résultats

2.3.1. **Evaluation du risque d'escarre par les scores de Braden et de Norton**

Le score de Braden est diminué dans le groupe des sujets âgés avec neuropathie en comparaison avec le groupe des sujets jeunes ( $p<0,05$ ). A l'inverse, les scores de Norton ne montrent pas de différence entre les 3 groupes (tableau 1).

	Sujets jeunes (n=15)	Sujets âgés sans neuropathie (n=10)	Sujets âgés avec neuropathie (n=9)
Score de Braden	23±0	22,6±0,5	22,4±0,9*
Score de Norton	20±0	19,4±1,1	19,4±1,1

Tableau 1 : Scores de Braden et de Norton, exprimés en moyenne±SEM ; \* $p<0,05$  versus sujets jeunes.

2.3.2. **Etude réalisée au niveau de la main**

2.3.2.1 L'EXPLORATION DE LA SENSIBILITE CUTANEE

	Sujets jeunes (n=10)	Sujets âgés sans neuropathie (n=10)	Sujets âgés avec neuropathie (n=10)
Neuropathy Symptom Score	0,5±0,3	2,5±0,6*	6,8±1,0*†
Neuropathy Disease Score	0,1±0,1	2,2±0,6*	4,0±0,7*†
Seuil de sensibilité à la pression (g)	1,7±0,1	1,9±0,1	2,3±0,2*
Seuil de sensibilité à la vibration (u.a.)	3,9±0,2	9,2±1,6	11,9±4,7*
Seuil de sensibilité au chaud (°C)	2,0±0,2	5,7±1,2*	10,2±2,0*†
Seuil de sensibilité au froid (°C)	0,5±0,1	1,0±0,2	2,3±1,0*

Tableau 2 : Résultats de l'évaluation de la sensibilité au niveau de la main, exprimés en moyenne±SEM ; \* $p<0,05$  versus sujets jeunes ; † $p<0,05$  versus sujets âgés sans neuropathie.

Les seuils de sensibilité à la fois vibratoire, tactile et thermique augmentaient avec l'âge mais de façon non significative en l'absence de

neuropathie, excepté pour la sensibilité au chaud qui était altérée chez les sujets âgés sans neuropathie en comparaison avec les sujets jeunes (tableau 2).

Chez les sujets âgés atteints de neuropathie, la sensibilité cutanée était altérée de façon significative en comparaison avec les sujets jeunes, à la fois la sensibilité vibratoire, tactile et thermique (tableau 2).

#### 2.3.2.2 L'EXPLORATION DE LA MICROCIRCULATION CUTANEE

La vasodilatation en réponse à l'application d'une pression locale était diminuée chez les sujets âgés sans neuropathie ( $12 \pm 7\%$ ,  $n=10$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $62 \pm 4\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,001$ ), et elle était abolie chez les sujets âgés avec neuropathie ( $-31 \pm 10\%$ ,  $n=10$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $p<0,001$ ) et avec les sujets âgés sans neuropathie ( $p<0,001$ ).

La vasodilatation en réponse à l'acétylcholine était diminuée chez les sujets âgés sans neuropathie ( $141 \pm 19\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,05$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $145 \pm 28\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,05$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $234 \pm 35\%$ ,  $n=10$ ).

La vasodilatation en réponse au chauffage local était altérée chez les sujets âgés, à la fois le pic et le plateau. Le pic était diminué chez les sujets âgés sans neuropathie ( $282 \pm 28\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,01$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $283 \pm 14\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,05$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $461 \pm 62\%$ ,  $n=10$ ). Le plateau était diminué chez les sujets âgés sans neuropathie ( $392 \pm 51\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,01$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $377 \pm 41\%$ ,  $n=10$ ,  $p<0,01$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $736 \pm 70\%$ ,  $n=10$ ).

La vasodilatation en réponse au nitroprussiate de sodium n'était pas différente entre les sujets âgés sans neuropathie ( $305 \pm 38\%$ ,  $n=10$ ), les sujets âgés avec neuropathie ( $308 \pm 83\%$ ,  $n=10$ ) et les sujets jeunes ( $345 \pm 55\%$ ,  $n=10$ ).

### **2.3.3. Etude réalisée au niveau de la jambe**

Les résultats au niveau de la jambe sont similaires à ceux au niveau de la main et n'ont pas été rapportés dans l'article suscité.

#### 2.3.3.1 L'EXPLORATION DE LA SENSIBILITE CUTANEE

Les seuils de sensibilité à la fois vibratoire, tactile et thermique augmentaient avec l'âge mais de façon non significative en l'absence de neuropathie, excepté pour la sensibilité à la vibration qui était altérée chez les sujets âgés sans neuropathie au niveau de la malléole externe en comparaison avec les sujets jeunes.

Chez les sujets âgés atteints de neuropathie, la sensibilité cutanée était altérée de façon significative en comparaison avec les sujets jeunes, à la fois la sensibilité vibratoire, tactile et thermique.

#### 2.3.3.2 L'EXPLORATION DE LA MICROCIRCULATION CUTANEE

La vasodilatation en réponse à l'application d'une pression locale était abolie chez les sujets âgés sans neuropathie ( $-9 \pm 19\%$ ,  $n=9$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $-30 \pm 9\%$ ,  $n=9$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $57 \pm 4\%$ ,  $n=14$ ,  $p<0,001$ ).

La vasodilatation en réponse à l'acétylcholine était diminuée chez les sujets âgés sans neuropathie ( $98 \pm 19\%$ ,  $n=9$ ,  $p<0,05$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $65\pm 10\%$ ,  $n=8$ ,  $p<0,01$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $162\pm 16\%$ ,  $n=19$ ).

La vasodilatation en réponse au chauffage local était altérée chez les sujets âgés, à la fois le pic et le plateau. Le pic était diminué chez les sujets âgés sans neuropathie ( $170\pm 9\%$ ,  $n=18$ ,  $p<0,01$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $143\pm 23\%$ ,  $n=7$ ,  $p<0,01$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $268\pm 28\%$ ,  $n=19$ ). Le plateau était diminué chez les sujets âgés sans

neuropathie ( $296 \pm 15\%$ ,  $n=18$ ,  $p < 0,01$ ) et chez les sujets âgés avec neuropathie ( $261 \pm 46\%$ ,  $n=7$ ,  $p < 0,01$ ) en comparaison avec les sujets jeunes ( $427 \pm 37\%$ ,  $n=19$ ).

La vasodilatation en réponse au nitroprussiate de sodium n'était pas différente entre les sujets âgés sans neuropathie ( $120 \pm 19\%$ ,  $n=8$ ), les sujets âgés avec neuropathie ( $107 \pm 7\%$ ,  $n=6$ ) et les sujets jeunes ( $162 \pm 18\%$ ,  $n=13$ ).

L'altération de la PIV au cours du vieillissement est liée à une altération de la vasodilatation endothélium-dépendante d'un part et à une altération de son contrôle nerveux périphérique d'autre part. La dysfonction endothéliale est mise en évidence par l'altération de la réponse à l'acétylcholine et par la diminution du plateau lors de la réponse au chauffage local. La dysfonction nerveuse périphérique est mise en évidence par la diminution de la sensibilité cutanée et par la diminution du pic lors de la réponse au chauffage local. La présence d'une neuropathie périphérique accentue l'altération de la PIV au point de l'abolir.



## Discussion

Ce travail apporte des données originales à propos de l'effet du vieillissement sur la microcirculation cutanée: l'altération de la vasodilatation cutanée induite par une pression locale chez le sujet âgé et donc une atteinte du mécanisme neuro-vasculaire protecteur de la peau contre l'ischémie. Notre étude confirme l'existence d'une dysfonction endothéliale au niveau de la microcirculation de la peau à la fois chez l'homme âgé (60 à 75 ans) en comparaison avec l'homme jeune (20-35 ans), et in vivo chez la souris âgée C57BL/6 (22-25 mois) en comparaison avec la souris jeune (6-7 mois). Il met en évidence une dysfonction nerveuse chez l'homme âgé (avant même d'être cliniquement évalué « neuropathe »); en particulier, une altération des fibres nerveuses capsaïcino-sensibles et/ou du CGRP qui est un de leurs neurotransmetteurs est observée chez les sujets âgés non neuropathes.

### **La peau : un organe facilement accessible pour dépister une dysfonction endothéliale.**

Puisque les microcirculations régionales assurent le maintien de la pression artérielle, les résistances périphériques étant constituées par les artérioles, l'évaluation de la dysfonction endothéliale au niveau des microcirculations régionales est devenue une méthode d'évaluation du risque cardiovasculaire (114). Par exemple, la fonction endothéliale de la microcirculation coronaire est corrélée au risque de survenue d'événements cardiovasculaires (115-118), cependant le lien entre amélioration de la fonction endothéliale et diminution d'événements cardiovasculaires n'est pas encore prouvé (119, 120). L'étude de la microcirculation cutanée présente l'avantage d'être accessible in vivo alors que d'autres microcirculations régionales ne le sont pas. Si la microcirculation cutanée est le reflet de la microcirculation générale, l'étude de l'interaction neuro-vasculaire au niveau

de la peau pourrait être utilisée pour évaluer d'autres organes, notamment le cœur et le cerveau. Et cette étude pourrait être faite en Physiopathologie et en Thérapeutique.

**La PIV : une interaction neuro-vasculaire qui protège la peau contre l'ischémie.**

La PIV est un réflexe neuro-vasculaire permettant l'étude de la microcirculation cutanée et l'étude de la susceptibilité de la peau à l'ischémie. L'application d'une pression sur la peau stimulent des fibres nerveuses capsaïcino-sensibles qui sécrètent du CGRP, le CGRP va agir au niveau de l'endothélium qui va sécréter des facteurs de vasodilatation notamment le NO, le NO diffuse jusqu'au muscle lisse vasculaire pour entraîner une relaxation du muscle lisse (11).

La question d'un éventuel rôle d'un ou plusieurs des mécanorécepteurs cutanés reste en suspens. Certains mécanorécepteurs sont sensibles à la pression ; il s'agit des corpuscules de Ruffini et des disques de Merkel ; ce sont des mécanorécepteurs à adaptation lente. Ils ont été peu étudiés au cours du vieillissement. Reincke et al. ont trouvé que la proportion entre mécanorécepteurs à adaptation lente et mécanorécepteurs à adaptation rapide varie avec l'âge au profit des récepteurs à adaptation rapide (105). Ce travail ne permet pas de dire si le vieillissement a un effet sur les mécanorécepteurs. Néanmoins la PIV teste la résistance à l'ischémie cutanée et son altération avec l'âge montre une absence de protection efficace de la peau contre les pressions mécaniques et suggère donc un risque élevé de survenue d'ulcères de pression chez le sujet âgé.

**La fonction du muscle lisse vasculaire intacte au cours du vieillissement.**

La vasodilatation endothélium-indépendante a été étudiée par la vasodilatation en réponse à l'iontophorèse de nitroprussiate de sodium afin d'évaluer la capacité du muscle lisse vasculaire à se relâcher. Dans notre

## ***Discussion***

étude, la vasodilatation endothélium-indépendante est préservée avec l'avancée en âge chez l'homme et chez la souris. Ainsi le vieillissement ne semble pas avoir d'effet sur la fonction du muscle vasculaire lisse. Ces résultats sont en accord avec des travaux préalablement publiés (76, 77, 79, 80, 86). Cependant d'autres auteurs ont mis en évidence une altération du muscle vasculaire lisse avec l'âge, notamment chez des sujets plus âgés (55, 78). Vérifier l'intégrité de la fonction du muscle vasculaire lisse renforce la mise en évidence d'une dysfonction endothéliale au cours du vieillissement.

### **La dysfonction endothéliale au cours du vieillissement.**

La dysfonction endothéliale liée à l'âge au niveau de la microcirculation cutanée a été mise en évidence par l'étude de la réponse au chauffage local (2<sup>e</sup> phase) chez l'homme et l'étude de la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine chez l'homme et chez la souris. Chez l'homme, ces résultats sont en accord avec des travaux préalablement publiés (70-77). Chez l'animal, il s'agit, à notre connaissance, des premiers travaux publiés *in vivo*. Des travaux ont été publiés auparavant *in vitro* notamment au niveau des artérioles musculaires du rat (79, 80), et mettaient déjà en évidence une altération de la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine. En cas de compression de la peau, la microcirculation cutanée joue un rôle dans la tolérance à l'ischémie en modulant le tonus vasculaire et ainsi le débit sanguin cutané. Ces modifications du tonus vasculaire sont liées aux facteurs endothéliaux de relaxation et de contraction. La dysfonction endothéliale liée à l'âge au niveau de la peau explique en partie la moindre résistance des sujets âgés à l'ischémie cutanée.

Le modèle animal a permis d'aller plus loin dans la compréhension de la dysfonction endothéliale. L'utilisation des inhibiteurs pharmacologiques des différentes voies endothéliales vasodilatatrices a permis de préciser le rôle respectif de chacune d'entre elles au cours du vieillissement. La voie du NO et de la PG semble primordiale chez la souris jeune, puisque le traitement des

souris par L-NNA et indométacine diminue la vasodilatation en réponse à l'iontophorèse d'acétylcholine. Par contre, l'inhibition de la voie du NO et de la PG ne modifie pas la réponse à l'acétylcholine chez la souris âgée. Ainsi il a déjà été démontré que le rôle du NO et de la PG dans la vasodilatation endothélium-dépendante diminue avec l'âge chez l'homme au niveau de la peau (84) et chez le rat in vitro au niveau des artérioles musculaires (79, 80).

Le traitement par apamine et charybdotoxine permet de bloquer la voie de l'EDHF ; il modifie la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine chez les souris âgées mais pas chez les souris jeunes. L'EDHF semble donc jouer un rôle uniquement chez la souris âgée et compenser partiellement la voie du NO et celle de la PG qui sont déficientes. Le rôle de l'EDHF en tant que facteur endothélial de la vasodilatation a déjà été mis en évidence dans d'autres circonstances où la voie du NO est altérée, par exemple dans l'hypertension (121), l'hypercholestérolémie (122) et le diabète (123). Jusqu'à présent, l'identité de l'EDHF reste inconnue ; certains candidats ont été proposés. L'identification de l'EDHF permettra peut être d'envisager une amélioration de la fonction endothéliale chez les sujets âgés.

L'espèce animale choisie a été la souris car elle présente moins de neuropathie avec l'âge en comparaison avec le rat (112). La souche choisie a été la C57BL/6 car c'est une souche qui a peu de neuropathie avec l'âge en comparaison avec d'autres (113). Le test du Tail-Flick a permis de montrer l'absence d'altération du seuil de la sensibilité à la douleur qui est médiée par des fibres nerveuses de petit calibre A $\delta$  peu myélinisées et par des fibres nerveuses C amyéliniques. L'étude des vitesses de conduction nerveuse a permis d'étudier les fibres myélinisées et d'écarter une atteinte de ces fibres. Le modèle animal était donc exempt de dysfonction nerveuse et a permis d'étudier spécifiquement les effets de l'âge sur le versant vasculaire.

## **Discussion**

### **La dysfonction nerveuse au cours du vieillissement en l'absence de neuropathie périphérique clinique.**

La PIV est une interaction neuro-vasculaire au niveau cutané. Elle met en jeu des fibres nerveuses capsaïno-sensibles. Il était donc nécessaire d'étudier le système nerveux périphérique pour rechercher un éventuel effet du vieillissement sur ces fibres nerveuses. Avant l'apparition d'atteintes nerveuses importantes permettant de poser un diagnostic clinique de neuropathie périphérique par l'évaluation des scores NSS et NDS, une dysfonction nerveuse avec l'âge a été mise en évidence chez l'homme par l'étude de la sensibilité cutanée et par la vasodilatation au chauffage local (étude de la 1<sup>e</sup> phase).

Les seuils de sensibilité cutanée augmentent avec l'âge au niveau de la main et de la jambe mais de façon non significative, excepté la sensibilité au chaud au niveau de la main et la sensibilité vibratoire au niveau de la jambe. La sensibilité tactile et vibratoire met en jeu des fibres nerveuses myélinisées de gros calibre ; la sensibilité thermique met en jeu des fibres nerveuses A $\delta$  peu myélinisées et C amyéliniques de petit calibre (124, 125). Le vieillissement s'accompagne d'altérations des fibres nerveuses à la fois myélinisées et amyéliniques ; mais les altérations sont plus précoces au niveau des fibres nerveuses de petit calibre (126). Nos résultats vont dans ce sens puisque la sensibilité au chaud est significativement altérée au niveau de la main chez les sujets âgés en comparaison avec les jeunes.

Les résultats de l'exploration de la sensibilité cutanée au niveau de la jambe sont par contre plus difficiles à interpréter. Les seuils sensitifs sont bien sûr augmentés chez les sujets âgés mais seule la sensibilité vibratoire est significativement altérée. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées. D'une part, il est connu que les altérations nerveuses liées à l'âge sont variables d'une fibre nerveuse à l'autre et d'un nerf à l'autre (109). D'autre part, les effectifs de chaque groupe sont faibles, inférieurs à 10, et peut être insuffisants pour que les statistiques soient significatives.

Les tests permettant d'explorer en Clinique la sensibilité cutanée, à savoir le pic-touche, le diapason, le monofilament, sont pris à défaut pour dépister une neuropathie débutante, car ils explorent les fibres nerveuses myélinisées de gros calibre, et ce sont les fibres nerveuses de petit calibre peu ou non myélinisées qui sont atteintes en premier en cas de neuropathie périphérique (126). Ainsi les sujets âgés étiquetés non neuropathes car leur NSS et NSD scores sont inférieurs à 5, ont déjà des altérations nerveuses mises en évidence par les mesures faites par le Computer-Aided Sensory Evaluator IV system (CASE-IV). Et même le test clinique de la sensibilité au chaud/froid (tube d'eau chaude et tube d'eau froide) qui explore les fibres nerveuses peu ou non myélinisées, semble pris à défaut pour dépister une neuropathie débutante, puisque les sujets âgés ont déjà un seuil au chaud significativement augmenté sans être neuropathes.

**L'abolition de la PIV en présence d'une neuropathie périphérique et le risque d'escarre.**

Dans notre étude, la vasodilatation endothélium-dépendante n'est pas différente entre les sujets âgés sans neuropathie et les sujets âgés avec neuropathie. En présence d'une neuropathie périphérique authentique, la vasodilatation induite par une pression est donc abolie chez l'homme en raison d'une aggravation des altérations des fibres nerveuses C.

En l'absence de ce réflexe neuro-vasculaire protecteur de la peau contre l'ischémie, le risque d'ulcère de pression semble majeur. En pratique clinique, le risque d'ulcère en présence d'une neuropathie est bien connu chez le patient diabétique et chez le patient paraplégique. Il me semble qu'il est moins pris en compte chez le patient âgé. Ainsi si on s'intéresse aux scores les plus utilisés en Clinique pour évaluer le risque d'escarre, le score de Braden ne prend en compte que l'inconfort lié à la pression donc plutôt la sensibilité à la douleur, quant au score de Norton, il ne prend pas en compte

## **Discussion**

la sensibilité cutanée. Ce travail met l'accent sur l'intérêt du dépistage de la neuropathie périphérique chez le sujet âgé dans le cadre de l'évaluation du risque d'escarre.

### **La PIV : un outil pour dépister les sujets à risque d'escarre.**

La première échelle évaluant le risque d'escarre fut décrite en 1962 par Norton et prend en compte l'état général, l'état mental, l'autonomie, la mobilité et la continence du patient. Elle n'a été validée à l'époque que chez les patients de plus de 65 ans. Elle est très simple d'utilisation mais ne prend pas en compte le statut nutritionnel. Sa reproductivité interobservateurs est médiocre. L'échelle de Braden a été élaborée en 1985 ; elle est simple d'utilisation ; elle a été bien validée : bonne cohérence interne et reproductivité interobservateurs. Elle prend en compte la perception sensorielle, la continence, l'autonomie, la mobilité, l'état nutritionnel du patient et les facteurs externes de risque que sont le frottement et le cisaillement des surfaces cutanées. Plus complexes sont les échelles de Waterlow en 1985 et de Gosnell en 1988. Les scores de Braden et de Norton sont les plus utilisés en Clinique (8) pour évaluer le risque d'escarre. En Gériatrie, c'est l'échelle de Norton qui est la plus souvent utilisée. L'échelle de Braden est celle recommandée par l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé en 2001 en France (127). C'est pour ces raisons que seuls ces deux scores ont été calculés.

Dans notre étude, le score de Norton n'est pas statistiquement différent entre les sujets jeunes et les sujets âgés avec ou sans neuropathie, ce qui confirme l'inadéquation du score avec le risque d'ulcère de pression. Le score de Braden est par contre significativement diminué entre les sujets jeunes et les sujets âgés avec neuropathie ; il est similaire entre les sujets jeunes et les sujets âgés sans neuropathie. A noter qu'aucun score individuel n'est en dessous du seuil de significativité. La PIV est donc aussi un outil d'évaluation plus précoce du risque d'ulcère de pression, en plus d'être un modèle d'étude d'interaction neuro-vasculaire au niveau cutané. Cependant,

son utilisation en pratique clinique semble difficile, car elle nécessite une période d'acclimatation dans une pièce chauffée à 27,5-29,5°C, une immobilisation stricte du sujet pendant les mesures et un savoir faire de l'expérimentateur. De même, son automatisation semble difficile à envisager. Le dépistage des sujets âgés à risque d'escarre reste donc l'utilisation des échelles d'évaluation, et en France l'échelle de Braden, mais le clinicien doit garder à l'esprit qu'un certain nombre de sujets à risque ne seront pas détectés.



## Conclusion et perspectives

L'étude chez la souris a permis d'objectiver l'effet du vieillissement vasculaire sur la PIV puisque le modèle animal a été choisi comme n'ayant pas de neuropathie périphérique. L'altération de la PIV avec l'âge est liée à une dysfonction endothéliale. Une redistribution des facteurs endothéliaux de la vasodilatation a été observée avec une participation de l'EDHF en raison d'une diminution de la contribution du NO et de la prostacycline, permettant une préservation partielle de la PIV.

L'étude chez l'homme a confirmé l'existence d'une altération de la PIV avec l'âge en partie liée à une dysfonction endothéliale. Par contre, lorsque s'associe au vieillissement une neuropathie périphérique, la PIV est abolie. La PIV est donc un modèle d'exploration de l'interaction neuro-vasculaire au niveau de la microcirculation cutanée. L'étude de la PIV a permis de préciser l'effet du vieillissement à la fois sur la microcirculation cutanée et sur son contrôle nerveux périphérique. L'altération de la PIV avec l'âge apporte du poids au rôle de la PIV dans la protection de la peau face aux agressions mécaniques extérieures.

L'ulcère de pression est un fléau en Gériatrie. L'altération de la PIV avec l'âge permet d'entrevoir de nouveaux axes de prévention. La prévention des facteurs de risque cardiovasculaires semble encore plus d'actualité pour préserver la fonction endothéliale y compris au niveau de la microcirculation cutanée. Par exemple, les travaux d'Edvinsson et al. montrent que la vasodilatation cutanée en réponse à l'acétylcholine, au nitroprussiate de sodium et au chauffage local est diminuée chez les sujets fumeurs en comparaison au non fumeurs (128). Ainsi, il est admis que la dysfonction endothéliale joue un rôle

dans le développement de l'athérosclérose. Par ailleurs, les facteurs de risque cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, le diabète et le tabagisme, sont associés à une dysfonction endothéliale. Et la prise en charge de certains facteurs de risque cardiovasculaires, en particulier l'hypercholestérolémie, a permis de restaurer la fonction endothéliale (129). Ce travail devrait inciter les cliniciens à poursuivre les traitements des facteurs de risque cardiovasculaires chez les sujets âgés : le sevrage tabagique, l'optimisation du traitement de l'hypertension artérielle, du diabète et de l'hypercholestérolémie.

Ajoutée à une dysfonction endothéliale, la dysfonction nerveuse joue un rôle dans l'altération de la PIV et donc dans la moindre résistance de la peau à l'ischémie chez les sujets âgés et cela même en l'absence de neuropathie périphérique cliniquement diagnostiquée par les scores NSS et NDS. Cette dysfonction nerveuse est liée à une altération des fibres capsaïno-sensibles. Par ailleurs, les scores qui évaluent le risque d'ulcère de pression, ne prennent pas suffisamment en compte les anomalies de la sensibilité cutanée. Le clinicien doit garder à l'esprit l'intérêt du dépistage de la dysfonction nerveuse des fibres de petit calibre qui survient avant l'apparition de la neuropathie périphérique chez le sujet âgé. Car la PIV est aggravée par l'existence d'une neuropathie périphérique qui marque l'aggravation de la dysfonction des fibres nerveuses de petit calibre et cela sans aggravation de la dysfonction endothéliale.

La PIV est également altérée au cours du diabète à la fois en raison d'une dysfonction endothéliale et d'une neuropathie périphérique (12, 13). Chez la souris diabétique depuis une semaine, l'acide alpha lipoïque, qui est un anti-oxydant, permet de restaurer la PIV (la souris diabétique depuis une semaine a une dysfonction endothéliale liée au diabète mais n'a pas de neuropathie) (130). De

### ***Conclusions et perspectives***

même, chez la souris diabétique depuis 8 semaines, le sorbinil, qui inhibe la voie des polyols, permet de restaurer la PIV (la souris diabétique depuis 8 semaines a une neuropathie et une dysfonction endothéliale liées au diabète) (131). Par analogie aux résultats obtenus chez les souris diabétiques, une éventuelle restauration de la PIV peut être envisagée au cours du vieillissement.

## Annexe 1 : Neuropathy Symptom Score (NSS) et Neuropathy Disability Score (NDS)

Calcul du NSS (Neuropathy Symptom Score) :

	Jour	Nuit
Sensation de piqûre ou d'aiguille sur pied ou jambe		
Sensation de chaud / froid du pied		
Douleurs lancinantes		
Endolorissement		
Brûlure ou gêne des draps		

↓ 0 : absence de l'anomalie recherchée ;  
 1 : apparition nocturne de l'anomalie ;  
 ↓ 2 : apparition diurne de l'anomalie.

Calcul du NDS (Neuropathy Disability Score) :

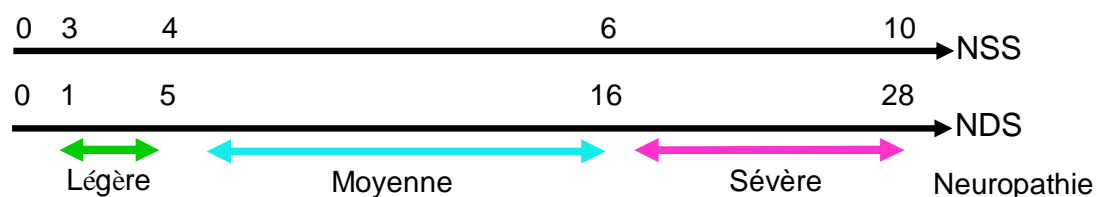
	Normal (0 pt)	Diminué (1 pt)	Absent (2 pt)
Rotulien droit			
Rotulien gauche			
Achilléen droit			
Achilléen gauche			

↓ 0 : présence des réflexes ;  
 1 : diminution des réflexes ;  
 ↓ 2 : absence de chacun des réflexes.

Sensibilité	Tactile (pic/touche)	Vibratoire (diapason)	Chaud/froid (2°C/60°C)	Douleur (pincement)
Normale				
Orteil				
Mi-pied				
Cheville				
Mi-jambe				
Genou				

- 0 : perception de chacun des stimuli sur l'ensemble de la jambe ;  
1 : troubles de perception survenant au niveau des orteils ;  
2 : troubles de perception survenant à mi-pied ;  
3 : troubles de perception survenant au niveau de la cheville ;  
4 : troubles de perception survenant à mi-jambe ;  
5 : troubles de perception survenant au niveau du genou.

Evaluation de la sévérité de la neuropathie :



## Annexe 2 : échelles de Braden et de Norton

<p><b>Perception Sensorielle</b></p> <p>Capacité de répondre d'une manière significative à l'inconfort causé par la pression</p>	<p><b>1. Complètement limitée:</b> Absence de réaction (ne gémit pas, ne sursaute pas, n'a pas de réflexe de préhension) aux stimuli douloureux, dû à une diminution du niveau de conscience ou à la sédation. OU A une capacité limitée de ressentir la douleur ou l'inconfort sur la majeure partie de son corps.</p>	<p><b>2. Très limitée:</b> Répond seulement aux stimuli douloureux. Ne peut communiquer l'inconfort que par des gémissements ou de l'agitation. OU A une altération sensorielle qui limite la capacité de ressentir la douleur ou l'inconfort sur la moitié de son corps.</p>	<p><b>3. Légèrement limitée:</b> Répond aux ordres verbaux, mais ne peut pas toujours communiquer l'inconfort ou le besoin d'être tourné. OU A une certaine altération sensorielle qui limite sa capacité de ressentir la douleur ou l'inconfort dans un ou deux de ses membres.</p>	<p><b>4. Aucune atteinte:</b> Répond aux ordres verbaux. N'a aucun déficit sensoriel qui pourrait limiter sa capacité de ressentir ou d'exprimer la douleur ou l'inconfort.</p>
<p><b>Humidité</b></p> <p>Le degré d'humidité auquel la peau est exposée</p>	<p><b>1. Constamment humide:</b> La peau est presque constamment humide à cause de la transpiration, de l'urine, etc. La moiteur est notée à chaque fois que la personne est changée de position.</p>	<p><b>2. Très humide:</b> La peau est souvent mais pas toujours humide. La literie doit être changée au moins une fois par quart de travail.</p>	<p><b>3. Occasionnellement humide:</b> La peau est occasionnellement humide nécessitant un changement de literie additionnel environ une fois par jour.</p>	<p><b>4. Rarement humide:</b> La peau est habituellement sèche. La literie est changée aux intervalles habituels.</p>
<p><b>Activité</b></p> <p>Le degré d'activité physique</p>	<p><b>1. Alité:</b> Confinement au lit.</p>	<p><b>2. Confinement au fauteuil:</b> La capacité de marcher est très limitée ou inexistante. Ne peut supporter son propre poids et/ou a besoin d'aide pour s'asseoir au fauteuil ou au fauteuil roulant.</p>	<p><b>3. Marche à l'occasion:</b> Marche occasionnellement pendant la journée, mais sur de très courtes distances, avec ou sans aide. Passe la plupart de chaque quart de travail au lit ou au fauteuil.</p>	<p><b>4. Marche fréquemment:</b> Marche hors de la chambre au moins deux fois par jour et dans la chambre au moins une fois chaque deux heures en dehors des heures de sommeil.</p>
<p><b>Mobilité</b></p> <p>Capacité de changer et de contrôler la position de son corps</p>	<p><b>1. Complètement immobile:</b> Incapable de faire le moindre changement de position de son corps ou de ses membres sans assistance.</p>	<p><b>2. Très limitée:</b> Fait occasionnellement de légers changements de position de son corps ou de ses membres mais est incapable de faire des changements fréquents ou importants de façon indépendante.</p>	<p><b>3. Légèrement limitée:</b> Fait de fréquents mais légers changements de position de son corps ou de ses membres de façon indépendante.</p>	<p><b>4. Non limitée:</b> Fait des changements de position importants et fréquents sans aide.</p>
<p><b>Nutrition</b></p> <p>Profil de l'alimentation habituelle</p>	<p><b>1. Très pauvre:</b> Ne mange jamais un repas complet. Mange rarement plus du tiers de tout aliment offert. Mange deux portions ou moins de protéines (viandes ou produits laitiers) par jour. Boit peu de liquides. Ne prend pas de supplément nutritionnel liquide. OU Ne prend rien par la bouche et/ou reçoit une diète liquide ou une perfusion intraveineuse pendant plus de 5 jours.</p>	<p><b>2. Probablement inadéquate:</b> Mange rarement un repas complet et mange généralement que la moitié de tout aliment offert. L'apport de protéines comporte 3 portions de viandes ou de produits laitiers par jour. Prend occasionnellement un supplément nutritionnel. OU Reçoit une quantité insuffisante de liquide ou de gavage.</p>	<p><b>3. Adéquate:</b> Mange plus de la moitié de la plupart des repas. Mange un total de 4 portions de protéines (viandes, produits laitiers) chaque jour. Peut refuser à l'occasion un repas, mais prend habituellement un supplément nutritionnel s'il est offert. OU Est alimenté par gavage ou par alimentation parentérale totale qui répond probablement à la plupart des besoins nutritionnels</p>	<p><b>4. Excellente:</b> Mange presque entièrement chaque repas. Ne refuse jamais un repas. Mange habituellement un total de 4 portions ou plus de viandes et de produits laitiers. Mange occasionnellement entre les repas. Un supplément nutritionnel n'est pas nécessaire.</p>
<p><b>Friction et cisaillement</b></p>	<p><b>1. Problème:</b> Le patient a besoin d'une aide modérée à maximale pour bouger. Il est impossible de le soulever complètement sans que sa peau frotte sur les draps. Il glisse fréquemment dans le lit ou au fauteuil, ce qui requiert d'être positionné fréquemment avec une aide maximale. La spasticité, les contractures ou l'agitation entraînent une friction presque constante.</p>	<p><b>2. Problème potentiel:</b> Le patient bouge faiblement ou requiert une aide minimale. Pendant un changement de position, la peau frotte probablement jusqu'à un certain degré contre les draps, le fauteuil, les contentions ou autres appareils. Il maintient la plupart du temps une assez bonne position au fauteuil ou au lit mais glisse à l'occasion.</p>	<p><b>3. Aucun problème apparent :</b> Le patient bouge de façon indépendante au lit ou au fauteuil et a suffisamment de force musculaire pour se soulever complètement pendant un changement de position. Il maintient en tout temps une bonne position dans le lit et au fauteuil.</p>	

Copyright Barbara Braden et Nancy Bergstrom, 1988® Version française approuvée par les auteurs. Traduction et validation faite par Diane St-Cyr et Nicole Denis, 2004®

Tableau 3 : évaluation du risque d'escarre par l'échelle de Braden : plus le score est bas (15 ou moins), plus le sujet a de risque de développer une escarre.

Condition physique	Condition mentale	Activité	Mobilité	Incontinence	Score
excellente	alerte	ambulant	complète	continent	4
bonne	apathique	aide à la marche	légèrement limitée	occasionnelle	3
passable	confusion	confiné(e) au fauteuil	très limitée	urinaire	2
mauvaise	stupeur	alité(e)	immobile	urinaire et fécale	1

Tableau 4 : évaluation du risque d'escarre par l'échelle de Norton : plus le score est bas (16 ou moins), plus le sujet a de risque de développer une escarre.

## Bibliographie

1. **Salcido R, Popescu A, Ahn C.** Animal models in pressure ulcer research. *J Spinal Cord Med.* 2007;30(2):107-16.
2. **Keller BP, Wille J, van Ramshorst B, van der Werken C.** Pressure ulcers in intensive care patients: a review of risks and prevention. *Intensive Care Med.* 2002;28(10):1379-88.
3. **Fenske NA, Conard CB.** Aging skin. *Am Fam Physician.* 1988;37(2):219-30.
4. **Schubert V.** Hypotension as a risk factor for the development of pressure sores in elderly subjects. *Age Ageing.* 1991;20(4):255-61.
5. **Barrois B, Labalette C, Rousseau P, et al.** A national prevalence study of pressure ulcers in french hospital inpatients. *J Wound Care.* 2008;17(9):373-9.
6. **Schubert V, Fagrell B.** Evaluation of the dynamic cutaneous post-ischæmic hyperaemia and thermal response in elderly subjects and in an area at risk for pressure sores. *Clin Physiol.* 1991;11(2):169-82.
7. **Parish LC, Lowthian P, Witkowski JA.** The decubitus ulcer: many questions but few definitive answers. *Clin Dermatol.* 2007;25(1):101-8.
8. **Lyder CH.** Pressure ulcer prevention and management. *Jama.* 2003;289(2):223-6.
9. **Fromy B, Abraham P, Saumet JL.** Non-nociceptive capsaicin-sensitive nerve terminal stimulation allows for an original vasodilatory reflex in the human skin. *Brain Res.* 1998;811(1-2):166-8.
10. **Fizanne L, Sigaudou-Roussel D, Saumet JL, Fromy B.** Evidence for the involvement of VPAC1 and VPAC2 receptors in pressure-induced vasodilatation in rodents. *J Physiol.* 2004;554(Pt 2):519-28.
11. **Fromy B, Merzeau S, Abraham P, Saumet JL.** Mechanisms of the cutaneous vasodilator response to local external pressure application in rats: involvement of CGRP, neurokinins, prostaglandins and NO. *Br J Pharmacol.* 2000;131(6):1161-71.
12. **Fromy B, Abraham P, Bouvet C, Bouhanick B, Fressinaud P, Saumet JL.** Early decrease of skin blood flow in response to locally applied pressure in diabetic subjects. *Diabetes.* 2002;51(4):1214-7.
13. **Koitka A, Abraham P, Bouhanick B, Sigaudou-Roussel D, Demiot C, Saumet JL.** Impaired pressure-induced vasodilation at the foot in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2004;53(3):721-5.
14. **Sigaudou-Roussel D, Demiot C, Fromy B, et al.** Early endothelial dysfunction severely impairs skin blood flow response to local pressure application in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes.* 2004;53(6):1564-9.
15. **Fizanne L, Fromy B, Preckel MP, Sigaudou-Roussel D, Saumet JL.** Effect of isoflurane on skin-pressure-induced vasodilation. *J Vasc Res.* 2003;40(4):416-22.
16. **Koitka A, Legrand-Fernandez MS, Abraham P, et al.** Low skin temperature impairs the cutaneous vasodilator response to local progressive pressure strain. *Microvasc Res.* 2004;67(2):203-6.
17. **Tortora G, Grabowski S.** *Principes d'anatomie et de physiologie* Bruxelles: De Boeck Université; 1994.



18. **Donaldson DJ, Mahan JT.** Keratinocyte migration and the extracellular matrix. *J Invest Dermatol.* 1988;90(5):623-8.
19. **Garrone R.** Le fibroblaste et la biosynthèse du collagène. In: Eurotext JL, ed. *Biologie de la peau, 2ème cours francophone annuel.* Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale ed. Paris: Thivolet, J et Schmitt, D.; 1985:81-4.
20. **Odland G, Ross R.** Human wound repair. I. Epidermal regeneration. *J Cell Biol.* 1968;39(1):135-51.
21. **Cohen I, Diegelmann R, Crossland M.** Wound care and wound healing. In: McGraw-Hill, ed. *Principles of Surgery.* Nex York: Schwartz S, Shires G, Spencer F, Cowles Husser W.; 1994:279-303.
22. **Sundberg JP, King LE, Jr.** Mouse mutations as animal models and biomedical tools for dermatological research. *J Invest Dermatol.* 1996;106(2):368-76.
23. **Croft CB, Tarin D.** Ultrastructural studies of wound healing in mouse skin. I. Epithelial behaviour. *J Anat.* 1970;106(Pt 1):63-77.
24. **Rowden G.** Ultrastructural studies of keratinized epithelia of the mouse. IV. Quantitative studies of lysosomes. *J Invest Dermatol.* 1975;64(1):4-8.
25. **Fromy B, Sigaud-Roussel D, Saumet JL.** Cutaneous neurovascular interaction involved in tactile sensation. *Cardiovasc hematol agents med chem.* 2008 (sous presse).
26. **Kenshalo D.** *Sensory functions of the skin in primates* Oxford: Pergamon Press Ltd; 1976. (Zotterman Y, ed.
27. **Vallbo AB, Hagbarth KE, Torebjork HE, Wallin BG.** Somatosensory, proprioceptive, and sympathetic activity in human peripheral nerves. *Physiol Rev.* 1979;59(4):919-57.
28. **Chaouch A, Besson JM.** [Peripheral and spinal mechanisms of nociception]. *Rev Neurol (Paris).* 1986;142(3):173-200.
29. **Adriaensen H, Gybels J, Handwerker HO, Van Hees J.** Response properties of thin myelinated (A-delta) fibers in human skin nerves. *J Neurophysiol.* 1983;49(1):111-22.
30. **Stüttgen G, Forssmann W.** Pharmacology of the microvasculature of the skin. *Handbuch der Haut und Geschlechtskrankheiten. Normal and pathologic physiology of the skin III.* Berlin: Springer-Verlag; 1981.
31. **Carpentier P, Franco A.** L'unité microcirculatoire: structure et fonction. In: Masson, ed. *Microcirculation Clinique:* Vayssairat & Carpentier; 1996:3-6.
32. **Lévy B, Bailliart O, Martineaud J.** Physiologie de la microcirculation. In: Masson, ed. *Artériopathies périphériques non athéromateuses:* Rouffy J & Natali J; 1991:31-5.
33. **Tortora G, Grabowski S.** *Principes d'anatomie et de physiologie* Bruxelles: De Boeck Université; 2000.
34. **Burnstock G, Doyle AE, Gannon BJ, Gerkens JF, Iwayama T, Mashford ML.** Prolonged hypotension and ultrastructural changes in sympathetic neurones following guanacine treatment. *Eur J Pharmacol.* 1971;13(2):175-87.
35. **Burton A.** *Physiology and biophysics of the circulation* Chicago: Year Book Medical Publishers; 1972.
36. **Caro C, Pedley T, Schroter R, Seed W.** *The mechanics of the circulation* Oxford University Press; 1978.
37. **Martineaud J, Seroussi S.** *Physiologie de la circulation cutanée* Paris: Masson; 1977.

38. **Holtz J.** *Hemodynamics in regional circulatory beds and local vascular reactivity* Berlin: Springer-Verlag; 1996.
39. **Smith DM.** Pressure ulcers in the nursing home. *Ann Intern Med.* 1995;123(6):433-42.
40. **Furchgott RF, Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288(5789):373-6.
41. **Palmer RM, Ashton DS, Moncada S.** Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988;333(6174):664-6.
42. **Moncada S, Vane JR.** The role of prostacyclin in vascular tissue. *Fed Proc.* 1979;38(1):66-71.
43. **McGuire JJ, Ding H, Triggle CR.** Endothelium-derived relaxing factors: a focus on endothelium-derived hyperpolarizing factor(s). *Can J Physiol Pharmacol.* 2001;79(6):443-70.
44. **Nagao T, Illiano S, Vanhoutte PM.** Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to NG-nitro-L-arginine in rats. *Am J Physiol.* 1992;263(4 Pt 2):H1090-4.
45. **Schini VB, Vanhoutte PM.** Endothelin-1: a potent vasoactive peptide. *Pharmacol Toxicol.* 1991;69(5):303-9.
46. **Miller VM, Komori K, Burnett JC, Jr., Vanhoutte PM.** Differential sensitivity to endothelin in canine arteries and veins. *Am J Physiol.* 1989;257(4 Pt 2):H1127-31.
47. **Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Miller VM, Houston DS.** Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Annu Rev Physiol.* 1986;48:307-20.
48. **de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, et al.** Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85(24):9797-800.
49. **Boccalon H.** Doppler au laser : méthodes d'exploration de la microcirculation chez l'homme. In: Masson, ed. *Microcirculation clinique.* Paris: Vayssairat, M et Carpentier, P; 1996:91-108.
50. **Chien YW, Banga AK.** Iontophoretic (transdermal) delivery of drugs: overview of historical development. *J Pharm Sci.* 1989;78(5):353-4.
51. **Singh P, Maibach HI.** Iontophoresis in drug delivery: basic principles and applications. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 1994;11(2-3):161-213.
52. **Labhasetwar V, Underwood T, Schwendeman SP, Levy RJ.** Iontophoresis for modulation of cardiac drug delivery in dogs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(7):2612-6.
53. **Hamdy O, Abou-Elenin K, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A.** Contribution of nerve-axon reflex-related vasodilation to the total skin vasodilation in diabetic patients with and without neuropathy. *Diabetes Care.* 2001;24(2):344-9.
54. **Caballero AE, Arora S, Saouaf R, et al.** Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes.* 1999;48(9):1856-62.
55. **Minson CT, Holowatz LA, Wong BJ, Kenney WL, Wilkins BW.** Decreased nitric oxide- and axon reflex-mediated cutaneous vasodilation with age during local heating. *J Appl Physiol.* 2002;93(5):1644-9.

56. **Zochodne DW, Ho LT, Gross PM.** Acute endoneurial ischemia induced by epineurial endothelin in the rat sciatic nerve. *Am J Physiol.* 1992;263(6 Pt 2):H1806-10.
57. Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. Consensus statement. *Diabetes.* 1988;37:1000-4.
58. **Meijer JW, van Sonderen E, Blaauwweikel EE, et al.** Diabetic neuropathy examination: a hierarchical scoring system to diagnose distal polyneuropathy in diabetes. *Diabetes Care.* 2000;23(6):750-3.
59. **Dyck PJ, Melton LJ, 3rd, O'Brien PC, Service FJ.** Approaches to improve epidemiological studies of diabetic neuropathy: insights from the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Diabetes.* 1997;46 Suppl 2:S5-8.
60. **Kumar S, Fernando DJ, Veves A, Knowles EA, Young MJ, Boulton AJ.** Semmes-Weinstein monofilaments: a simple, effective and inexpensive screening device for identifying diabetic patients at risk of foot ulceration. *Diabetes Res Clin Pract.* 1991;13(1-2):63-7.
61. **Dyck PJ, Zimmerman I, Gillen DA, Johnson D, Karnes JL, O'Brien PC.** Cool, warm, and heat-pain detection thresholds: testing methods and inferences about anatomic distribution of receptors. *Neurology.* 1993;43(8):1500-8.
62. **Dyck PJ, O'Brien PC, Kosanke JL, Gillen DA, Karnes JL.** A 4, 2, and 1 stepping algorithm for quick and accurate estimation of cutaneous sensation threshold. *Neurology.* 1993;43(8):1508-12.
63. **Betts R, Franks C, T. D.** Foot pressure studies: normal and pathological gait analysis. In: Jahss M, ed. *Disorders of the foot and ankle.* Vol. 1. Philadelphia: Saunders, WB.; 1991.
64. **Brand P.** Pressure sores - the problem. In: Kenedi R, Cowden J, Scales J, eds. *Bedsore biomechanics.* London: McMillan; 1976.
65. **Abraham P, Fromy B, Merzeau S, Jardel A, Saumet JL.** Dynamics of local pressure-induced cutaneous vasodilation in the human hand. *Microvasc Res.* 2001;61(1):122-9.
66. **Fromy B, Abraham P, Saumet JL.** Progressive calibrated pressure device to measure cutaneous blood flow changes to external pressure strain. *Brain Res Brain Res Protoc.* 2000;5(2):198-203.
67. **Garry A, Merzeau S, B. F, Saumet JL.** EDHF involvement in skin pressure-induced vasodilation. In: Vanhoutte P, ed. *EDHF 2002 (1st ed).* London: Taylor & Francis; 2003:151-5.
68. **Busse R, Edwards G, Feletou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH.** EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23(8):374-80.
69. **Edwards G, Weston AH.** EDHF -- are there gaps in the pathway? *J Physiol.* 2001;531(Pt 2):299.
70. **Kenney WL.** Control of heat-induced cutaneous vasodilatation in relation to age. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988;57(1):120-5.
71. **Richardson D.** Effects of age on cutaneous circulatory response to direct heat on the forearm. *J Gerontol.* 1989;44(6):M189-94.
72. **Weiss M, Milman B, Rosen B, Eisenstein Z, Zimlichman R.** Analysis of the diminished skin perfusion in elderly people by laser Doppler flowmetry. *Age Ageing.* 1992;21(4):237-41.
73. **Evans E, Rendell M, Bartek J, et al.** Thermally-induced cutaneous vasodilatation in aging. *J Gerontol.* 1993;48(2):M53-7.

74. **Rooke GA, Savage MV, Brengelmann GL.** Maximal skin blood flow is decreased in elderly men. *J Appl Physiol.* 1994;77(1):11-4.
75. **Martin HL, Loomis JL, Kenney WL.** Maximal skin vascular conductance in subjects aged 5-85 yr. *J Appl Physiol.* 1995;79(1):297-301.
76. **Rossi M, Cupisti A, Mariani S, Santoro G, Pentimone F.** Endothelium-dependent and endothelium-independent skin vasoreactivity in the elderly. *Aging Clin Exp Res.* 2002;14(5):343-6.
77. **Tao J, Jin YF, Yang Z, et al.** Reduced arterial elasticity is associated with endothelial dysfunction in persons of advancing age: comparative study of noninvasive pulse wave analysis and laser Doppler blood flow measurement. *Am J Hypertens.* 2004;17(8):654-9.
78. **Algotsson A, Nordberg A, Winblad B.** Influence of age and gender on skin vessel reactivity to endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators tested with iontophoresis and a laser Doppler perfusion imager. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995;50(2):M121-7.
79. **Muller-Delp JM, Spier SA, Ramsey MW, Delp MD.** Aging impairs endothelium-dependent vasodilation in rat skeletal muscle arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283(4):H1662-72.
80. **Woodman CR, Price EM, Laughlin MH.** Selected Contribution: Aging impairs nitric oxide and prostacyclin mediation of endothelium-dependent dilation in soleus feed arteries. *J Appl Physiol.* 2003;95(5):2164-70.
81. **Matz RL, Andriantsitohaina R.** Age-related endothelial dysfunction : potential implications for pharmacotherapy. *Drugs Aging.* 2003;20(7):527-50.
82. **Matz RL, Schott C, Stoclet JC, Andriantsitohaina R.** Age-related endothelial dysfunction with respect to nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factor and cyclooxygenase products. *Physiol Res.* 2000;49(1):11-8.
83. **Singh N, Prasad S, Singer DR, MacAllister RJ.** Ageing is associated with impairment of nitric oxide and prostanoid dilator pathways in the human forearm. *Clin Sci (Lond).* 2002;102(5):595-600.
84. **Holowatz LA, Thompson CS, Minson CT, Kenney WL.** Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J Physiol.* 2005;563(Pt 3):965-73.
85. **Kellogg DL, Jr., Zhao JL, Coey U, Green JV.** Acetylcholine-induced vasodilation is mediated by nitric oxide and prostaglandins in human skin. *J Appl Physiol.* 2005;98(2):629-32.
86. **Cernadas MR, Sanchez de Miguel L, Garcia-Duran M, et al.** Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circ Res.* 1998;83(3):279-86.
87. **Bratz IN, Kanagy NL.** Nitric oxide synthase-inhibition hypertension is associated with altered endothelial cyclooxygenase function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287(6):H2394-401.
88. **Brandes RP, Fleming I, Busse R.** Endothelial aging. *Cardiovasc Res.* 2005;66(2):286-94.
89. **Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, et al.** Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. *Hypertension.* 2001;38(2):274-9.
90. **Marin J.** Age-related changes in vascular responses: a review. *Mech Ageing Dev.* 1995;79(2-3):71-114.
91. **Heymes C, Habib A, Yang D, et al.** Cyclo-oxygenase-1 and -2 contribution to endothelial dysfunction in ageing. *Br J Pharmacol.* 2000;131(4):804-10.

92. **Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A.** Cyclooxygenase inhibition restores nitric oxide activity in essential hypertension. *Hypertension*. 1997;29(1 Pt 2):274-9.
93. **Stevens JC, Alvarez-Reeves M, Dipietro L, Mack GW, Green BG.** Decline of tactile acuity in aging: a study of body site, blood flow, and lifetime habits of smoking and physical activity. *Somatosens Mot Res*. 2003;20(3-4):271-9.
94. **Perry SD.** Evaluation of age-related plantar-surface insensitivity and onset age of advanced insensitivity in older adults using vibratory and touch sensation tests. *Neurosci Lett*. 2006;392(1-2):62-7.
95. **Verrillo RT, Bolanowski SJ, Gescheider GA.** Effect of aging on the subjective magnitude of vibration. *Somatosens Mot Res*. 2002;19(3):238-44.
96. **Ulfhak B, Bergman E, Fundin BT.** Impairment of peripheral sensory innervation in senescence. *Auton Neurosci*. 2002;96(1):43-9.
97. **Kenshalo DR, Sr.** Somesthetic sensitivity in young and elderly humans. *J Gerontol*. 1986;41(6):732-42.
98. **Cauna N, Mannan G.** The structure of human digital pacinian corpuscles (corpus cula lamellosa) and its functional significance. *J Anat*. 1958;92(1):1-20.
99. **Bolton CF, Winkelmann RK, Dyck PJ.** A quantitative study of Meissner's corpuscles in man. *Neurology*. 1966;16(1):1-9.
100. **Schimrigk K, Ruttinger H.** The touch corpuscles of the plantar surface of the big toe. Histological and histometrical investigations with respect to age. *Eur Neurol*. 1980;19(1):49-60.
101. **Iwasaki T, Goto N, Goto J, Ezure H, Moriyama H.** The aging of human Meissner's corpuscles as evidenced by parallel sectioning. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 2003;79(6):185-9.
102. **Bruce MF.** The relation of tactile thresholds to histology in the fingers of elderly people. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1980;43(8):730-4.
103. **Fundin BT, Bergman E, Ulfhake B.** Alterations in mystacial pad innervation in the aged rat. *Exp Brain Res*. 1997;117(2):324-40.
104. **Baumann KI, Hamann W, Leung MS.** Mechanical properties of skin and responsiveness of slowly adapting type I mechanoreceptors in rats at different ages. *J Physiol*. 1986;371:329-37.
105. **Reinke H, Dinse HR.** Functional characterization of cutaneous mechanoreceptor properties in aged rats. *Neurosci Lett*. 1996;216(3):171-4.
106. **Verdu E, Ceballos D, Vilches JJ, Navarro X.** Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration. *J Peripher Nerv Syst*. 2000;5(4):191-208.
107. **Verdu E, Buti M, Navarro X.** Functional changes of the peripheral nervous system with aging in the mouse. *Neurobiol Aging*. 1996;17(1):73-7.
108. **Di Iorio A, Cherubini A, Volpato S, et al.** Markers of inflammation, vitamin E and peripheral nervous system function: the InCHIANTI study. *Neurobiol Aging*. 2006;27(9):1280-8.
109. **Melcangi RC, Azcoitia I, Ballabio M, et al.** Neuroactive steroids influence peripheral myelination: a promising opportunity for preventing or treating age-dependent dysfunctions of peripheral nerves. *Prog Neurobiol*. 2003;71(1):57-66.
110. **Munce TA, Kenney WL.** Age-specific skin blood flow responses to acute capsaicin. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2003;58(4):304-10.

111. **Khalil Z, Ralevic V, Bassirat M, Dusting GJ, Helme RD.** Effects of ageing on sensory nerve function in rat skin. *Brain Res.* 1994;641(2):265-72.
112. **Robertson A, Day B, Pollock M, Collier P.** The neuropathy of elderly mice. *Acta Neuropathol.* 1993;86(2):163-71.
113. **Tabata H, Ikegami H, Kariya K.** A parallel comparison of age-related peripheral nerve changes in three different strains of mice. *Exp Anim.* 2000;49(4):295-9.
114. **Celermajer DS.** Reliable endothelial function testing: at our fingertips? *Circulation.* 2008;117(19):2428-30.
115. **Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R, et al.** Late prognostic value of flow-mediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol.* 2000;86(2):207-10.
116. **Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM.** Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation.* 2000;101(16):1899-906.
117. **Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, et al.** Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation.* 2002;106(6):653-8.
118. **Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A.** Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation.* 2000;101(9):948-54.
119. **Smith SC, Jr., Greenland P, Grundy SM.** AHA Conference Proceedings. Prevention conference V: Beyond secondary prevention: Identifying the high-risk patient for primary prevention: executive summary. American Heart Association. *Circulation.* 2000;101(1):111-6.
120. **Kuvin JT, Karas RH.** Clinical utility of endothelial function testing: ready for prime time? *Circulation.* 2003;107(25):3243-7.
121. **Katusic ZS.** Back to the salt mines-- endothelial dysfunction in hypertension and compensatory role of endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). *J Physiol.* 2002;543(Pt 1):1.
122. **Kagota S, Tamashiro A, Yamaguchi Y, Nakamura K, Kunitomo M.** Excessive salt or cholesterol intake alters the balance among endothelium-derived factors released from renal arteries in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999;34(4):533-9.
123. **De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoute PM.** Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol.* 2000;130(5):963-74.
124. **Campero M, Serra J, Ochoa JL.** C-polymodal nociceptors activated by noxious low temperature in human skin. *J Physiol.* 1996;497 ( Pt 2):565-72.
125. **Verdugo R, Ochoa JL.** Quantitative somatosensory thermotest. A key method for functional evaluation of small calibre afferent channels. *Brain.* 1992;115 ( Pt 3):893-913.
126. **Gibbons CH, Griffin JW, Polydefkis M, et al.** The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. *Neurology.* 2006;66(2):256-8.
127. **ANAES.** Prévention et traitement des escarres de l'adulte et du sujet âgé. 2001.
128. **Edvinsson ML, Andersson SE, Xu CB, Edvinsson L.** Cigarette smoking leads to reduced relaxant responses of the cutaneous microcirculation. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4(3):699-704.
129. **Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, et al.** Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and

- diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23(2):233-46.
130. **Demiot C, Fromy B, Saumet JL, Sigaud-Roussel D.** Preservation of pressure-induced cutaneous vasodilation by limiting oxidative stress in short-term diabetic mice. *Cardiovasc Res.* 2006;69(1):245-52.
131. **Demiot C, Tartas M, Fromy B, Abraham P, Saumet JL, Sigaud-Roussel D.** Aldose reductase pathway inhibition improved vascular and C-fiber functions, allowing for pressure-induced vasodilation restoration during severe diabetic neuropathy. *Diabetes.* 2006;55(5):1478-83.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>4</b>
<b>RESUME .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTE DES PUBLICATIONS .....</b>	<b>12</b>
<b>ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>14</b>
<b>CHAPITRE 1 : PHYSIOLOGIE DE LA PEAU .....</b>	<b>17</b>
<b>1. ORGANISATION DE LA PEAU .....</b>	<b>17</b>
1.1. L'EPIDERME .....	18
1.2. LE DERME .....	18
1.3. L'HYPODERME.....	19
1.4. LES FONCTIONS DE LA PEAU.....	19
1.5. PARTICULARITES DE LA PEAU DU RONGEUR.....	20
<b>2. LA SENSIBILITE CUTANEE.....</b>	<b>21</b>
2.1. LA SENSIBILITE MECANIQUE CUTANEE .....	21
2.1.1. <i>Les différents mécanorécepteurs cutanés</i> .....	22
2.1.2. <i>Les trois qualités de la sensibilité mécanique cutanée</i> .....	23
2.2. LA SENSIBILITE THERMIQUE.....	24
2.3. LA NOCICEPTION .....	25
2.3.1. <i>Les mécanonocicepteurs</i> .....	25
2.3.2. <i>Les nocicepteurs polymodaux</i> .....	25
<b>3. LA MICROCIRCULATION CUTANEE.....</b>	<b>27</b>
3.1. ASPECTS STRUCTURELS .....	27
3.1.1. <i>Architecture de la vascularisation cutanée</i> .....	27
3.1.2. <i>Structure anatomique d'une unité microcirculatoire</i> .....	28
3.1.2.1 Les artérioles .....	29
3.1.2.2 Les capillaires.....	30
3.1.2.3 Les veinules.....	31
3.2. ASPECTS FONCTIONNELS .....	32
3.2.1. <i>Le parcours résistif et le maintien de la pression artérielle</i> .....	33
3.2.2. <i>Tolérance par la peau de longues périodes d'ischémie compressive</i> .....	34
3.2.3. <i>Réactivité vasomotrice cutanée et thermorégulation</i> .....	35
3.2.4. <i>Modulation permanente du flux sanguin cutané</i> .....	35
3.2.4.1 La vasomotion .....	35
3.2.4.2 Endothélium et tonus vasculaire .....	36
3.2.4.2.1 Facteurs endothéliaux de la relaxation.....	36
3.2.4.2.2 Facteurs endothéliaux de contraction .....	38
<b>CHAPITRE 2 : METHODES D'EXPLORATION.....</b>	<b>40</b>
<b>1. L'EXPLORATION DE LA MICROCIRCULATION CUTANEE IN VIVO 40</b>	
1.1. LE LASER DOPPLER .....	40
1.1.1. <i>L'effet Doppler</i> .....	40
1.1.2. <i>Microcirculation cutanée et laser Doppler</i> .....	41
1.2. L'IONTOPHORESE .....	42
1.2.1. <i>La technique de l'iontophorèse</i> .....	42
1.2.2. <i>L'intérêt de l'iontophorèse</i> .....	44
1.3. LE CHAUFFAGE LOCAL .....	46
<b>2. L'EXPLORATION DE LA SENSIBILITE CUTANEE IN VIVO.....</b>	<b>47</b>
2.1. CHEZ LA SOURIS .....	47
2.1.1. <i>Le Tail Flick</i> .....	47
2.1.2. <i>La vitesse de conduction nerveuse en électromyogramme</i> .....	48
2.1.2.1 Principes de l'électromyogramme.....	48



2.1.2.2 Application chez la souris .....	49
2.1.2.2.1 VCNM du nerf sciatique .....	49
2.1.2.2.2 VCNS du nerf saphene.....	49
2.2. CHEZ L'HOMME.....	50
2.2.1. <i>Evaluation qualitative</i> .....	50
2.2.1.1 Recueil des symptômes.....	50
2.2.1.2 Examen clinique .....	51
2.2.2. <i>Evaluation quantitative</i> .....	53
2.2.2.1 Sensibilité à la pression.....	53
2.2.2.2 Sensibilité à la vibration.....	53
2.2.2.3 Sensibilité à la température .....	54
<b>CHAPITRE 3 : LA VASODILATATION CUTANEE INDUITE PAR UNE PRESSION LOCALE .....</b>	<b>55</b>
<b>1. MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>56</b>
<b>2. LA PIV CHEZ L'HOMME .....</b>	<b>58</b>
<b>3. LA PIV CHEZ L'ANIMAL .....</b>	<b>60</b>
3.1. MISE EN EVIDENCE DE LA PIV .....	60
3.2. ROLE DU CGRP ET DES NEUROKININES .....	60
3.3. ROLE DU NO ET DES PROSTAGLANDINES .....	61
3.4. ROLE DE L'EDHF.....	61
3.5. LIMITES DU MODELE ANIMAL.....	62
<b>CHAPITRE 4 : LES EFFETS CONNUS DU VIEILLISSEMENT .....</b>	<b>63</b>
<b>1. LE VERSANT VASCULAIRE .....</b>	<b>63</b>
1.1. LA VASODILATATION ENDOTHELIUM-DEPENDANTE ALTEREE AVEC L'AGE .....	63
1.2. LA VASODILATATION ENDOTHELIUM-INDEPENDANTE PRESERVEE AVEC L'AGE .....	64
<b>2. LE VERSANT NEUROLOGIQUE .....</b>	<b>65</b>
2.1. ALTERATIONS DE LA SENSIBILITE CUTANEE AVEC L'AGE.....	65
2.2. ALTERATIONS DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE AVEC L'AGE.....	65
2.3. ALTERATIONS DES FIBRES CAPSAÏNO-SENSIBLES.....	66
<b>3. PRESENTATION DU TRAVAIL .....</b>	<b>67</b>
3.1. L'HYPOTHESE : L'ALTERATION DE LA PIV AVEC L'AGE.....	67
3.2. LE CHOIX DU MODELE ANIMAL.....	67
3.3. LE PHRC CHEZ L'HOMME.....	68
<b>CHAPITRE 5 : L'EFFET DU VIEILLISSEMENT SUR LA VASODILATATION CUTANEE INDUITE PAR UNE PRESSON LOCALE .....</b>	<b>70</b>
<b>1. L'ETUDE CHEZ LA SOURIS .....</b>	<b>70</b>
1.1. OBJECTIFS.....	70
1.2. METHODES .....	70
1.3. RESULTATS .....	71
1.4. RESULTATS COMPLEMENTAIRES.....	72
<b>2. L'ETUDE CHEZ L'HOMME .....</b>	<b>74</b>
2.1. OBJECTIFS.....	74
2.2. METHODES .....	74
2.3. RESULTATS .....	76
2.3.1. <i>Evaluation du risque d'escarre par les scores de Braden et de Norton</i> .....	76
2.3.2. <i>Etude réalisée au niveau de la main</i> .....	76
2.3.2.1 L'exploration de la sensibilité cutanée.....	76
2.3.2.2 L'exploration de la microcirculation cutanée .....	77
2.3.3. <i>Etude réalisée au niveau de la jambe</i> .....	78
2.3.3.1 L'exploration de la sensibilité cutanée.....	78

2.3.3.2 L'exploration de la microcirculation cutanée.....	78
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>80</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>88</b>
<b>ANNEXE 1 : NEUROPATHY SYMPTOM SCORE (NSS) ET NEUROPATHY DISABILITY SCORE (NDS).....</b>	<b>91</b>
<b>ANNEXE 2 : ECHELLES DE BRADEN ET DE NORTON.....</b>	<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>95</b>