

# Evidence des modifications cutanées induites par la Technique LPG® via une analyse d'images

D. INNOCENZI, A. BALZANI, G. MONTESI  
G. LA TORRE\*, S. TENNA, N. SCUDERI, S. CALVIERI

Dipartimento di Malattie Cutanee-Venerree e di Chirurgia Plastica –Ricostruttiva Università degli studi di Roma «La Sapienza », \*Cattedra di Igiene Università di Cassino

## Introduction

De nombreuses études ont démontré le rôle joué par les forces dans divers sites biologiques en mettant en évidence les effets qu'un stress mécanique produit sur de nombreux organes et systèmes. Celui-ci est par exemple impliqué dans le remodelage des vaisseaux et dans les mécanismes angiogénétiques. En effet, la pression sanguine exerce une tension de paroi sur les cellules endothéliales, provoquant la libération de facteurs de croissance et la migration ainsi que la prolifération de ces cellules avec comme conséquence une néovascularisation tissulaire (1).

Bien que la peau soit un organe soumis continuellement à des stress mécaniques physiologique, il existe peu de travaux publiés concernant l'action des forces mécaniques sur la peau elle-même et en particulier sur les modifications induites par de telles forces sur les différents composants de l'épiderme et du derme.

Par exemple, des études conduites *in vitro* sur des cultures de kératinocytes soumis à une tension continue démontrent que ceux-ci prolifèrent et se différencient avec une augmentation de l'expression de kératine suprabasale et d'autres marqueurs de différenciation (2).

En outre, nous savons que les forces mécaniques sont en mesure d'augmenter la capacité proliférative des fibroblastes par l'intermédiaire d'une augmentation de la synthèse d'ADN et que, en cessant l'application de telles forces, la synthèse d'ADN s'arrête.

Le stress mécanique induit la transformation du fibroblaste «normal» en fibroblaste «sécréteur» avec augmentation de la synthèse de collagène et inhibition des protéases. Tout ceci a comme conséquence une augmentation de l'épaisseur des fibres de collagène dans le compartiment extracellulaire.

Quand le stress cesse d'agir sur les fibroblastes, les collagénases augmentent et la synthèse d'ADN diminue (3).

Au niveau des structures vasculaires de la peau, il a été observé une réponse proliférative suite à l'application prolongée de forces mécaniques et au niveau des vaisseaux lymphatiques, un tel effet passe par l'intermédiaire d'une augmentation de la concentration de facteurs de croissance spécifiques. Pour les vaisseaux sanguins, l'effet est moins marqué.

Partant de telles suppositions et dans le but de démontrer et quantifier des éventuelles modifications morphologiques induites sur la peau par l'application constante de forces mécaniques, nous avons évalué histologiquement les différences observées *in vivo* sur la peau soumise à un stress mécanique en comparaison avec la peau non stimulée chez 15 patientes soumises à une biopsie cutanée.

Le stress mécanique a été induit grâce à un appareil utilisé dans la Technique LPG® qui est basée sur l'application de forces mécaniques (positive et négative) et représente, selon nous, un bon modèle pour étudier, *in vivo*, les effets de telles forces sur la peau et en particulier sur les kératinocytes, les fibroblastes et les cellules endothéliales. La Technique LPG® utilise un

système basé sur 2 rouleaux motorisés qui mobilise un pli cutané en le soulevant par un système d'aspiration. La pression négative exercée par l'aspiration, ainsi que la pression positive exercée par les rouleaux, sont *biologiquement* responsables d'une condition de stress mécanique auquel sont soumises toutes les structures anatomiques que constitue la peau et le tissu sous-cutané. Le substrat biologique de l'action positive de la Technique LPG® est probablement à rechercher dans les modifications au niveau des kératinocytes, induites par l'action du stimulus mécanique sur la jonction dermo-épidermique, des fibroblastes et des autres structures dermiques comme par exemple les vaisseaux sanguins. Des études chez l'homme ont démontré que la Technique LPG® augmente non seulement le flux sanguin et lymphatique (4) mais améliore aussi l'aspect du tissu cicatriciel et de la cellulite. Elle est d'ailleurs utilisée dans de nombreux domaines qu'ils soient esthétiques (Endermologie®) ou médicaux : *body contouring*, post-liposuçon (5), cicatrice de brûlures et post-chirurgicales, oedèmes (6), rigidité articulaire. De plus il a été démontré sur modèle animal que la Technique LPG® augmente la production de collagène (7). Cependant, son mécanisme d'action et en particulier ses effets sur les kératinocytes et les fibroblastes sont encore peu connus.

## Matériel et Méthodes

La stimulation mécanique cutanée des 15 patientes a été réalisée grâce au dispositif médical Cellu M6® (LPG® Systems, Valence, France), composé d'un système d'aspiration qui soulève la peau et de 2 rouleaux motorisés qui effectuent une mobilisation du pli cutané.

Dans cette étude, ont été sélectionnées 15 patientes affectées de lipodystrophie des membres inférieurs ou de l'abdomen, d'âge compris entre 23 et 57 ans et d'IMC compris entre 21 et 26. Ont été exclues les patientes affectées de troubles hormonaux, de pathologies néoplasiques, de pathologies du conjonctif, de diabète, d'alcoolisme, de tabagisme.

Toutes les patientes ont été soumises à 14 séances de 11 min chacune, 2 à 3 fois/sem.

Le traitement des zones atteintes de lipodystrophie (flanc et /ou fesses, abdomen supra-pubis) a été effectué d'un seul côté (droit ou gauche). A la fin du cycle de traitement, que ce soit du côté traité que du côté controlatéral non traité, une biopsie cutanée avec punch de 3 mm a été pratiquée.

Sur les 30 échantillons (15 du côté traité et 15 du côté non traité) nous avons réalisé une analyse d'images avec un logiciel de mesure multi-canaux.

Les images ont été acquises par l'intermédiaire d'une vidéocaméra couleur montée sur un microscope optique et reliée à un ordinateur doté d'un disque dur. A l'aide des 2 modules de mesures multi-canaux inclus dans le logiciel IAS 2000, les images ont été digitalisées à 32 bit avec une résolution de 768 x 576 pixels et archivées sur des sessions spécifiques de travail. Les 2 modules multi-canaux utilisés permettent à la fois une mesure automatique et une mesure manuelle, avec digitalisation consécutive, analyse et archivage des images obtenues à partir des préparations histologiques. L'analyse quantitative des images est basée sur des paramètres colorimétriques calculés par l'ordinateur qui traduit les aires et les longueurs mesurées en une valeur numérique, exprimée respectivement en  $\mu\text{m}^2$  et en  $\mu\text{m}$ .

En utilisant l'analyse d'image nous avons mesuré des éléments dermiques et épidermiques :

- dans le derme, nous avons analysé le nombre et l'aire des noyaux des fibroblastes, l'aire des vaisseaux sanguins et lymphatiques et l'aire de l'interstice entre les fibres de collagène ;
- dans l'épiderme, l'épaisseur totale entre la couche basale et le corneum, l'épaisseur entre la couche basale et la couche granuleuse (corneum exclu) et la longueur de la jonction dermo-épidermique (JDE).

Avec les données de l'analyse d'image nous avons réalisé une *analyse statistique* prévoyant le calcul des moyennes et déviations standard pour les variables de type quantitatif, c'est à dire pour les valeurs obtenues pour les zones non traitées et traitées avec la Technique LPG®.

Pour évaluer l'existence de différence entre les moyennes des 2 groupes, nous avons utilisé le test de Wilcoxon en considérant les différences significatives lorsque  $p < 0.05$ .

## Résultats

L'analyse quantitative des paramètres que nous avons examinés sur les prélèvements, tant sur les biopsies de peau soumise au stress mécanique que sur celle non traitée, a mis en évidence des résultats significatifs autant sur les paramètres dermiques que sur les paramètres épidermiques. Nous avons relevé d'importantes variations sur le nombre (A) et la surface des fibroblastes (B) entre les préparations de peau soumise au stress et celles non stimulées.

Des observations similaires ont été faites pour l'interstice (C), pour la surface de la lumière vasculaire (D), pour l'épaisseur épidermique de la couche basale à la couche granuleuse (E), pour l'épaisseur épidermique de la couche basale à la couche cornée (F) et pour la longueur de la jonction dermo-épidermique (G).

A) Le nombre de noyaux des fibroblastes a augmenté chez 13 patients sur 15, équivalent à 87% des cas observés (Fig. 1, 2). Chez 2 patients le nombre de noyaux n'a pas augmenté suite au traitement, donnant une valeur numérique supérieure dans les sessions du côté non traité. En calculant l'augmentation en pourcentage pour chaque cas et en faisant une moyenne, nous avons obtenu un accroissement moyen équivalent à 37.5% dans les biopsies de peau sollicitées mécaniquement par rapport à celles non

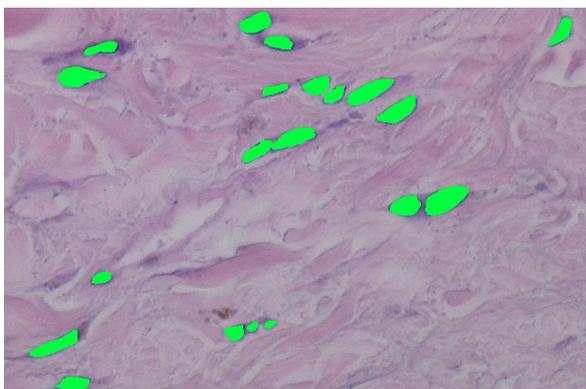
sollicitées.

B) Pour ce qui concerne la surface des noyaux des fibroblastes, l'accroissement a été identique à celui observé pour le nombre des noyaux: en effet la superficie des noyaux des fibroblastes a augmenté chez les mêmes 13 patients (87%) pour lesquels le nombre de noyaux avait augmenté.

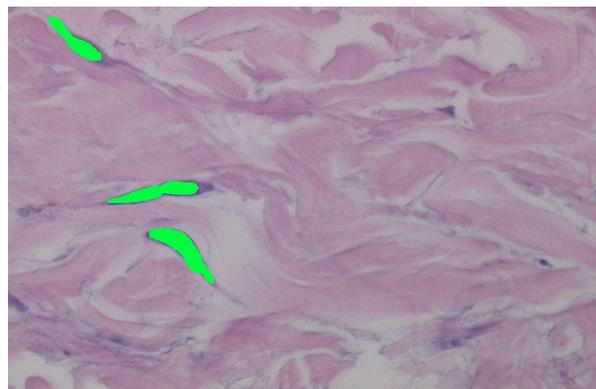
Pour ce paramètre nous avons également calculé l'augmentation en pourcentage pour chaque cas et nous avons fait la moyenne des pourcentages obtenus: il en résulte une augmentation moyenne équivalente à 54.6% qui représente une valeur supérieure par rapport à celle observée pour le nombre de noyaux (37.5%). Dans 2 cas, la surface des noyaux des fibroblastes s'est révélée supérieure dans les sections non traitées.

C) Comme on pouvait s'y attendre, vu l'action drainante exercée par le Cellu M6®, la surface de l'interstice a diminué du côté «traité» dans 80% des cas (12/15) (Fig. 3, 4). La diminution moyenne, calculée comme déjà expliqué, sur la moyenne des pourcentages pour chaque cas est de 37.9%. Pour 3 patients, les sections traitées montraient une aire interstitielle supérieure par rapport aux sections controlatérales non traitée.

D) Le calcul de la surface des vaisseaux sanguins met en évidence de façon nette l'amélioration trophique que l'on observe suite à une stimulation mécanique de la peau: en effet, chez 14 patients sur 15, soit dans le 93% des cas, une augmentation de la surface de la lumière vasculaire a été observée dans les biopsies «traitées» (Fig. 5, 6). L'accroissement moyen a été de 116.7% c'est à dire que la surface vasculaire pour le



**Fig.1** - Nombre de noyaux des fibroblastes. Peau traitée avec la Technique LPG®



**Fig.2** - Nombre de noyaux des fibroblastes. Peau non traitée avec la Technique LPG®

coté « traité » a plus que doublée par rapport à celle du coté « non traité ». Chez une seule patiente, la surface de la lumière vasculaire a été supérieure dans le coté non traité.

E) L'amélioration trophique de la peau soumise au stress mécanique est apparue de façon évidente même dans l'analyse de l'épaisseur épidermique des couches basale à granuleuse et de la couche basale à la cornée.

Pour ce qui concerne l'épaisseur épidermique basale-granuleuse, nous avons observé une augmentation dans les biopsies « traitées » de 10 patientes sur 15 donc dans 67% des cas.

L'augmentation moyenne relevée a été de 31% ; par contre nous avons observé chez 5 patientes des valeurs plus élevées dans les sections « non traitées ».

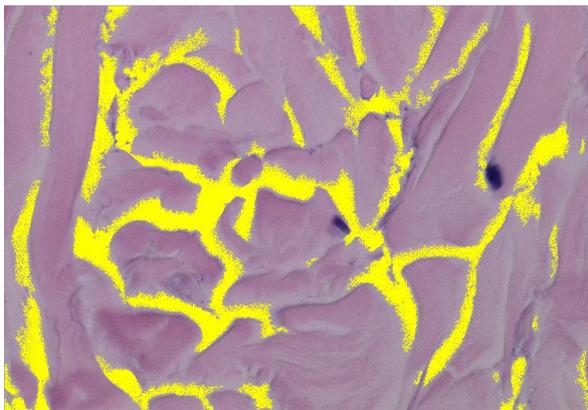
F) L'épaisseur épidermique totale (couche basale-cornée) est plus élevée dans les sections histologiques « traitées » de 11 patientes donc dans 73% des cas.

L'augmentation s'est vérifiée pour les mêmes patientes chez qui nous avons noté une augmentation de l'épaisseur basale-granuleuse à l'exception d'un cas.

Dans ce cas en effet l'épaisseur basale-granuleuse est supérieure du coté non traité tandis que l'épaisseur basale-cornée a augmenté du coté traité.

L'augmentation moyenne pour ce paramètre est de 26%.

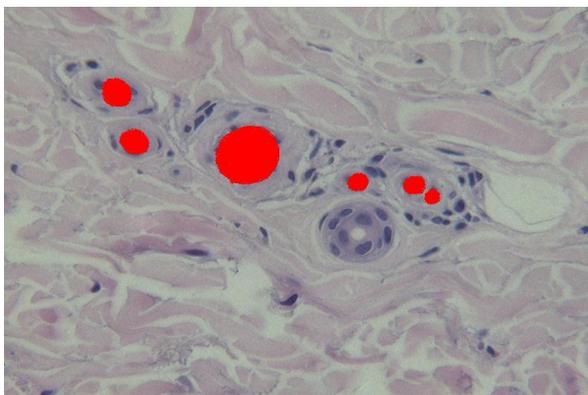
Par contre dans les préparations coté non traité de 4 patientes, l'épaisseur basale-cornée a augmenté.



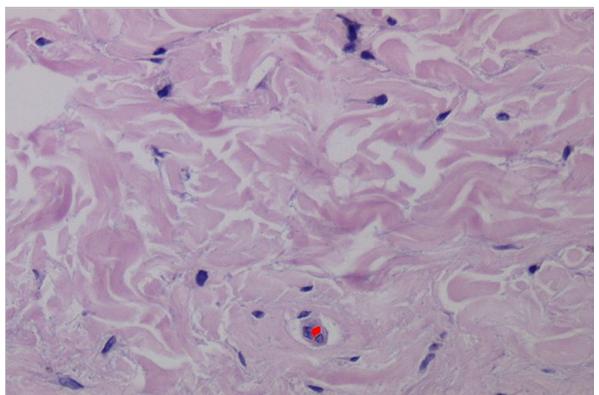
**Fig.3** – Surface de l'interstice (40x). Peau traitée avec la Technique LPG



**Fig.4** - Surface de l'interstice (40x). Peau non traitée avec la Technique LPG



**Fig.5** – Surface des vaisseaux. Peau traitée avec la Technique LPG®



**Fig.6** - Surface des vaisseaux. Peau non traitée avec la Technique LPG®

G) Le dernier paramètre évalué est la longueur de la jonction dermo-épidermique, qui a augmenté dans les sections « traitées » chez 10 patientes, soit 67% des cas.

Pour la jonction dermo-épidermique, l'augmentation est observée chez les mêmes patientes qui ont eu une augmentation de l'épaisseur basale granuleuse.

L'augmentation moyenne est de 24.8%. Dans les préparations du côté « non traité » de 5 patientes, la longueur de la JDE est supérieure à celle du côté controlatéral « non traité ».

L'analyse statistique a fourni des résultats significatifs pour toutes les variables examinées. En effet, à part pour la variable de l'aire d'interstitielle, les valeurs moyennes du côté « traité » sont toujours supérieures à celles du côté « non traité ». De plus, à l'exception de la variable « longueur de la jonction dermo-épidermique JDE », il existe une différence statistiquement significative entre les moyennes du côté « traité » et celles du côté « non traité » ; les valeurs significatives les plus élevées sont obtenues pour les variables « nombre de noyaux des fibroblastes » ( $p = 0.004$ ) « surface des vaisseaux sanguins » ( $p = 0.009$ ), et « surface de l'interstice » ( $p = 0.02$ ).

## Discussion

Comme nous le savons, la peau soumise à l'action de forces mécaniques s'expose à des modifications structurales au niveau des différents composants des compartiments épidermique et dermique.

Au niveau épidermique, l'étirement mécanique induit l'augmentation de la synthèse d'ADN et de la prolifération des kératinocytes (2).

Au niveau dermique, il a été démontré que les forces mécaniques induisent une augmentation de la prolifération des fibroblastes via l'augmentation de la synthèse d'ADN, et en cessant l'application du stress mécanique, les fibroblastes entrent en phase G0/G1 et la synthèse de l'ADN diminue jusqu'à s'arrêter. Le stress mécanique est même capable de modifier le phénotype des fibroblastes qui passe de « normal » à « sécréteur ».

La libération des facteurs de croissance provoquée par les forces mécaniques est associée à une augmentation significative de la matrice extracellulaire et de façon particulière de collagène de type I ( $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ ) et collagène de type III ( $\alpha 1$ ) collagène de type IV ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ) collagène de type XII, fibronectine, b-actine et ténascéine- C (3).

La stimulation mécanique est capable, entre autre, d'induire des modifications au niveau des structures vasculaires cutanées par l'intermédiaire de facteurs spécifiques de croissance.

Par exemple il a été observé une augmentation du TGF- $\beta$  avec une augmentation successive du VEGF qui provoque la prolifération des cellules de l'endothélium vasculaire (8).

A notre connaissance, il n'existe toujours pas aujourd'hui de travaux publiés sur les modifications induites *in vivo* par l'application de forces mécaniques sur la peau.

Notre étude démontre sans équivoque comment de telles stimulations sont capables de provoquer des modifications morphologiques et probablement fonctionnelles, responsables d'une action dermoplastique et d'un trophisme amélioré de la peau.

Tout ceci est démontré en premier lieu par un nombre important de structures vasculaires, évident surtout au niveau du plexus vasculaire superficiel dans lequel les vaisseaux apparaissent ectasiques. L'augmentation des vaisseaux a été observée dans 93% (14 cas sur 15) des biopsies de peau traitée mécaniquement et l'augmentation moyenne en pourcentage a été de 116.7%. Ceci signifie que la surface des vaisseaux a plus que doublé suite à l'application de stress mécanique sur la peau.

Un autre résultat important est l'augmentation du nombre de fibroblastes et de la surface de leur noyau. Nous avons noté une augmentation de ces paramètres dans 87% (13 cas sur 15) des biopsies de peau traitée par rapport à celle non traitée. L'augmentation moyenne en pourcentage a été pour le nombre de noyaux des fibroblastes de 37.5% et pour la surface des noyaux de 54.6%.

Ces paramètres indiquent clairement que le stress mécanique est capable de stimuler l'augmentation et la fonction des fibroblastes dermiques qui augmentent en nombre et qui présentent une superficie de noyau largement accrue : ceci représente probablement la condition morphologique pour que les fibroblastes puissent acquérir le phénotype « sécréteur », démontré *in vitro*, et qui est la conséquence de la stimulation mécanique.

La prolifération des fibroblastes et l'augmentation de la vascularisation du derme, conduisent à une activité dermoplastique et à un trophisme dermique amélioré qui contribuent à l'amélioration de l'état de l'épithélium. Théoriquement l'état de l'épiderme pourrait être influencé par la prolifération des kératinocytes qui sont stimulés par les forces mécaniques que la Technique LPG® exerce sur la JDE. Nous avons observé une majoration de la superficie de l'épiderme, avec l'évaluation de l'épaisseur entre couches basale et granuleuse qui augmente dans 67% (10 patients sur 15) du côté « traité » par rapport au côté controlatéral « non traité » (augmentation moyenne de 31%) et l'augmentation de la longueur de la JDE, qui augmente elle aussi de 67% côté « traité » (10 sur 15 avec une augmentation moyenne de 24,8%).

En ce qui concerne l'épaisseur de l'épiderme de la couche basale à la couche cornée, nous avons observé une augmentation dans 73% des cas côté « traité » comparé au côté « non traité » (11 cas sur 15 avec une augmentation moyenne de 26%).

La diminution de l'espace interstitiel, représentée dans 80% des cas (12 cas sur 15) côté « traité », devrait être la conséquence de l'action drainante exercée par la Technique LPG®.

A ce stade, nous pouvons seulement imaginer quelles pourraient être les substances qui, libérées suite à l'action de forces mécaniques, soient en mesure de provoquer une augmentation du nombre de kératinocytes, de fibroblastes, des structures vasculaires et une amélioration de l'épiderme. Probablement des facteurs de croissance et des cytokines, dont la présence au niveau de la peau a été démontrée dans

de nombreuses études *in vitro*, contrôlent l'activité de toute les cellules de la peau.

Ainsi, les kératinocytes, les fibroblastes, les cellules endothéliales et autres cellules de la peau libèrent sous l'action du stress mécanique, des facteurs de croissance ou des cytokines qui conditionnent à leur tour toutes les modifications morphologiques et structurales de la peau. Ces facteurs sont en mesure d'agir en stimulant les récepteurs des différents types cellulaires présents dans le compartiment cutané. En conséquence, nous avons une augmentation de l'activité cinétique et fonctionnelle de ces éléments cellulaires, responsable de toutes les modifications que nous avons observé dans cette étude.

## Conclusion

Les modifications morphologiques observées dans cette étude sont à interpréter comme un processus d'activation du fibroblaste qui prolifère et qui acquiert un phénotype « sécréteur » suite à l'application de forces mécaniques. Même la vascularisation se trouve améliorée dans la majorité des cas examinés. Toutes ces observations reflètent un remodelage et un trophisme amélioré du derme et de l'épiderme avec une amélioration fonctionnelle consécutive de tous les compartiments anatomiques cutanés et sous cutanés. Les forces mécaniques, en outre, induisent une augmentation de la prolifération des kératinocytes et ceci de deux façons : en agissant directement sur les kératinocytes ou en agissant d'abord sur les fibroblastes ou d'autres cellules du compartiment dermique qui, par l'intermédiaire de la libération de cytokines et de facteurs de croissance, vont stimuler la prolifération des kératinocytes. Pour cette raison, il serait intéressant d'évaluer l'effet de la Technique LPG® dans certaines pathologies dermatologiques où est nécessaire un processus plastique et trophique des tissus surtout dans les cas où la fonction du fibroblaste et du tissu conjonctif se retrouve altérée. Une telle utilisation doit être précédée d'expérimentations cliniques adéquates pour vérifier l'exactitude des propos scientifiques soulignés dans ce travail et pour illustrer l'effet *in vivo* du stress

mécanique sur les structures biologiques cutanées évoluant de façon pathologique.

## Bibliographie

1. Gruden G., Thomas S., Burt D., Zhou W., Chusney G. Gnudi L., Viberti G.: *Interaction of angiotensin II and mechanical stretch on vascular endothelial growth factor production by human mesangial cells.* J. Am. Soc. Nephrol. 1999; 10 : 730-737.
2. Kippenberger S., Bernd A., Loitsch S., Guscel M., Müller J., Bereiter-Hahn J., Kaufmann R. *Signaling of mechanical stress in human keratinocytes via MAP kinases.* J. Inv. Dermatol. 2001 March ; 114 (3) : 408-12.
3. Kessler D., Dethlefsen S., Haase I., Plomann M., Hirche F., Krieg T., Eckes B. *Fibroblasts in mechanically stressed collagen lattices assume a "synthetic" phenotype.* J Biol Chem 2001 September ; 276 (39) : 36575-85.
4. Watson J., Fodor PB., Cutcliffe B., Sayah D., Shaw W. *Physiological effects of Endermologie : A Preliminary Report.* Aesthetic Surgery Journal 1999, 19 (1) ; 27-33.
5. La Trenta G. *Endermologie versus Liposuction with External Ultrasound Assist.* Aesthetic Surgery Journal 1999, 19 (6) ; 452-58.
6. Leduc A., Leduc O. *Technique LPG® et traitement de l'œdème. Drainage de la grosse jambe.* Lymphokinetics Ed. 2001, p.83-87.
7. Adcock D., Paulsen S., Jabour K., Davis S., Nanney LB., Bruce Shack R. *Analysis of the Effects of Deep Mechanical Massage in the Porcine Model.* Plast. Reconstr. Surg. 2001 Jul., 108 (1); 233-40.
8. Eckes B., Dogic D., Colucci-Guyon E., Wang N., Maniotis A., Ingber D., Merckling A., Langa F., Aumailley M., Delouvee A., Koteliensky V., Babinet C. and Krieg T. *J. Cell. Sci.* 1998 ; 111 : 1897-1907.