

GREDECO

Groupe de Recherche et d'Evaluation
en Dermatologie et Cosmétologie

GREDECO
GROUPE DE RECHERCHE ET D'ETUDE
EN DERMATOLOGIE ET COSMETOLOGIE
121, rue de la Pompe - 75116 PARIS
Tél. : 01 42 1 1 1 1 1
Fax : 01 42 1 04 78 95
Site : www.gredecos.com

21 janvier 2006

EVALUATION DE L'EFFET DE RAYONNEMENTS LUMINEUX MONOCHROMATIQUES (Medical Light System[®]) SUR LA STIMULATION DU METABOLISME DES FIBROBLASTES (ANALYSE BIOCHIMIQUE ET HISTOLOGIQUE)

Dr S. Boisnic, M.C. Branchet .

Hôpital Pitié-Salpêtrière
GREDECO (Groupe d'Evaluation et Recherche en Dermatologie et
Cosmétologie)

BUT DE L'ETUDE

Pour permettre d'expliquer le mécanisme d'action de la lampe Medical Light System[®] au niveau de la peau, nous avons analysé la stimulation du métabolisme des fibroblastes et l'effet réparateur du tissu conjonctif sur des fragments cutanés de vergeture. En effet, histologiquement, on observe en regard de la vergeture une dégénérescence du collagène (faisceaux de collagène amincis, étirés et atrophiques) et des fibres élastiques (raréfiées et fragmentées dans la partie centrale de la vergeture) responsable d'une diminution de l'épaisseur du derme.

Nous avons voulu mettre en évidence une stimulation de la synthèse de collagène et d'élastine au niveau des fragments cutanés de vergeture maintenus en survie et traités par la lampe Medical Light System[®]. Par ailleurs, une analyse histologique et morphométrique des fibres élastiques et du collagène a également été réalisée pour permettre de visualiser l'effet réparateur de la lampe au niveau du tissu conjonctif. Ces analyses proches de l'in vivo permettent ainsi d'éviter la réalisation de biopsies cutanées chez les volontaires.

MATERIEL ET METHODES

1) Maintien en survie de peau humaine avec vergeture

Des fragments de peau de 4 donneurs différents avec vergeture ont été déposés dans des inserts eux-mêmes positionnés sur des puits de culture. Du milieu de culture (antibiotiques, SVF) a été ajouté dans le fond des puits, un passage s'effectuant par diffusion lente entre les deux compartiments par l'intermédiaire d'une membrane poreuse (12 µm). Les fragments de peau sont maintenus en survie pendant 10 jours à 37°C et en atmosphère air/CO₂ 5%.

Les peaux ont été stimulées par 6 séances de lampe Medical Light System® à la longueur d'onde 600-650 nm (orange-rouge). Le programme est délivré automatiquement (7 minutes de stimulation en continu). Une comparaison a été effectuée entre:

- peau avec vergeture témoin
- peau avec vergeture + lampe Medical Light System®

A J10, les fragments de peaux sont fixés dans le liquide de Bouin et inclus en paraffine pour l'analyse histologique. Une seconde série de peaux maintenues en survie a également été stoppée à J10 pour les dosages de collagène et d'élastine.

2) Quantification histologique des fibres élastiques et du collagène par analyse d'image informatisée

** analyse des fibres élastiques*

Les fibres élastiques ont été révélées par une coloration à la (+) catéchine et quantifiées morphométriquement par analyse d'image assistée par ordinateur. Le pourcentage de surface occupé par les fibres élastiques du derme moyen est mesuré.

** analyse du collagène*

Le collagène a été mis en évidence par une coloration au rouge Sirius et quantifié morphométriquement par analyse d'image assistée par ordinateur. Le pourcentage de surface de derme superficiel et moyen occupé par le collagène est ainsi évalué.

3) Dosage biochimique du collagène total

Après les 10 jours de mise en survie, les fragments de peaux sont digérés enzymatiquement pendant une nuit à +4°C dans une solution d'acide acétique à 0,5M contenant de la pepsine. Cette méthode permet de récupérer le collagène nouvellement synthétisé. Après broyage à l'aide d'un potter, la quantité de collagène ($\mu\text{g/ml}$) est évaluée par une méthode de dosage spectrophotométrique à 540 nm: le collagène acido-soluble est détecté après fixation spécifique du colorant rouge sirius (Sircol Collagen Assay, Interchim).

Pour comparer les différents résultats, la quantité de collagène est rapportée à la quantité de protéines totales de l'échantillon. Le dosage de la concentration en protéines est réalisé spectrophotométriquement à 562 nm (BCA assay, Pierce).

Les résultats sont exprimés en μg de collagène / mg de protéine.

4) Dosage biochimique de l'élastine

GREDECO

Groupe de Recherche et d'Évaluation en Dermatologie et Cosmétologie

Les surnageants de culture sont recueillis et poolés ensemble afin d'évaluer la quantité de tropoélastine (ou élastine soluble : précurseur nouvellement synthétisé de l'élastine) par une méthode de dosage spectrophotométrique à 513 nm : l'élastine soluble est détectée après fixation du colorant 5,10,15,20-tetraphenyl-21,23-porphirine, tetrasulfonate (Fastin Elastin Assay kit, Interchim).

Les résultats seront exprimés en μg d'élastine / ml de surnageant.

5) Expression des résultats et analyse statistique

Une étude comparative des résultats entre les peaux traitées par la lumière et les peaux non traitées (témoin) a été réalisée à partir des moyennes \pm SD. L'analyse statistique a été effectuée par le test de Student apparié avec un risque α de 5%.

RESULTATS

1) Résultats de la quantification histologique des fibres élastiques et du collagène par analyse d'image informatisée

a) analyse des fibres élastiques

Les résultats sont représentés sur les **Figures 1 et 2**.

Au niveau du derme moyen d'une peau présentant des vergetures, nous avons mis en évidence une augmentation statistiquement significative des fibres élastiques après traitement par la lampe : $6,6 \pm 1,7$ % de fibres élastiques en comparaison avec $4,15 \pm 1,4$ % de fibres observées au niveau des vergetures non stimulées par la lumière ($p = 0,014$). En effet, en regard de la vergeture, les fibres élastiques sont fragmentées. Après traitement par la lampe Medical Light System[®], ce réseau est plus dense avec présence de fibres élastiques plus longues.

b) analyse du collagène

Les résultats sont représentés sur les **Figures 3 et 4**.

Au niveau du derme moyen d'une peau présentant des vergetures, nous avons mis en évidence une augmentation statistiquement significative du collagène après traitement par la lampe : $78,3 \pm 8,4$ % en comparaison avec $62,8 \pm 1,7$ % de collagène observé au niveau des vergetures non stimulées par la lumière ($p = 0,03$). En effet, une fragmentation avec désunion des faisceaux de collagène est observé au niveau de la vergeture. Après traitement par la lampe Medical Light System[®], on observe une réorganisation des faisceaux de collagène dans le derme moyen avec épaissement des faisceaux.

GREDECO

Groupe de Recherche et d'Évaluation en Dermatologie et Cosmétique

2) Résultats du dosage biochimique du collagène total

La synthèse de collagène est légèrement augmentée, mais de façon non significative après 6 séances de lampe : taux de $174,9 \pm 65,2$ $\mu\text{g/ml}$ versus $165,7 \pm 95,6$ $\mu\text{g/ml}$ au niveau de la vergeture non stimulée.

3) Résultats du dosage biochimique de l'élastine

La quantité d'élastine augmente également mais de façon non significative après 6 séances de lampe : taux de $555,6 \pm 33$ $\mu\text{g/ml}$ versus $495,2 \pm 53$ $\mu\text{g/ml}$ pour la peau avec vergeture non stimulée.

CONCLUSION

Dans notre modèle de peau maintenue en survie, nous avons mis en évidence l'effet réparateur de séances de lumière Medical Light System® sur le tissu conjonctif (fibres élastiques et collagène) altéré au niveau des vergetures. Cet effet est en rapport avec une restructuration statistiquement significative des faisceaux de collagène et de fibres élastiques altérées au niveau des vergetures mais également avec une stimulation du métabolisme des fibroblastes.

INSTITUT de STOMATOLOGIE
et de CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE
HÔPITAL DE LA SALPÊTRIÈRE
47, Bd de l'Hôpital, 75651 PARIS CEDEX 13

GREDECO
GROUPE DE RECHERCHE ET D'ÉTUDE
EN DERMATOLOGIE ET COSMÉTOLOGIE
121, rue de la Pompe - 75116 PARIS
Tél. : 01 42 1 42 1 42 - Fax : 01 47 04 73 95
Siret : 39222123000015 APE : 731Z

Dr S BOUNI

Figure 1:

Analyse histologique des fibres élastiques matures du derme moyen
(+ catéchine)

**Peau présentant des vergetures : fragmentation importante des fibres
élastiques**



Figure 2:

Analyse histologique des fibres élastiques matures du derme moyen
(+ catéchine)

**Peau présentant des vergetures stimulée par 6 séances de Medical Light
System® : amélioration des fibres élastiques**

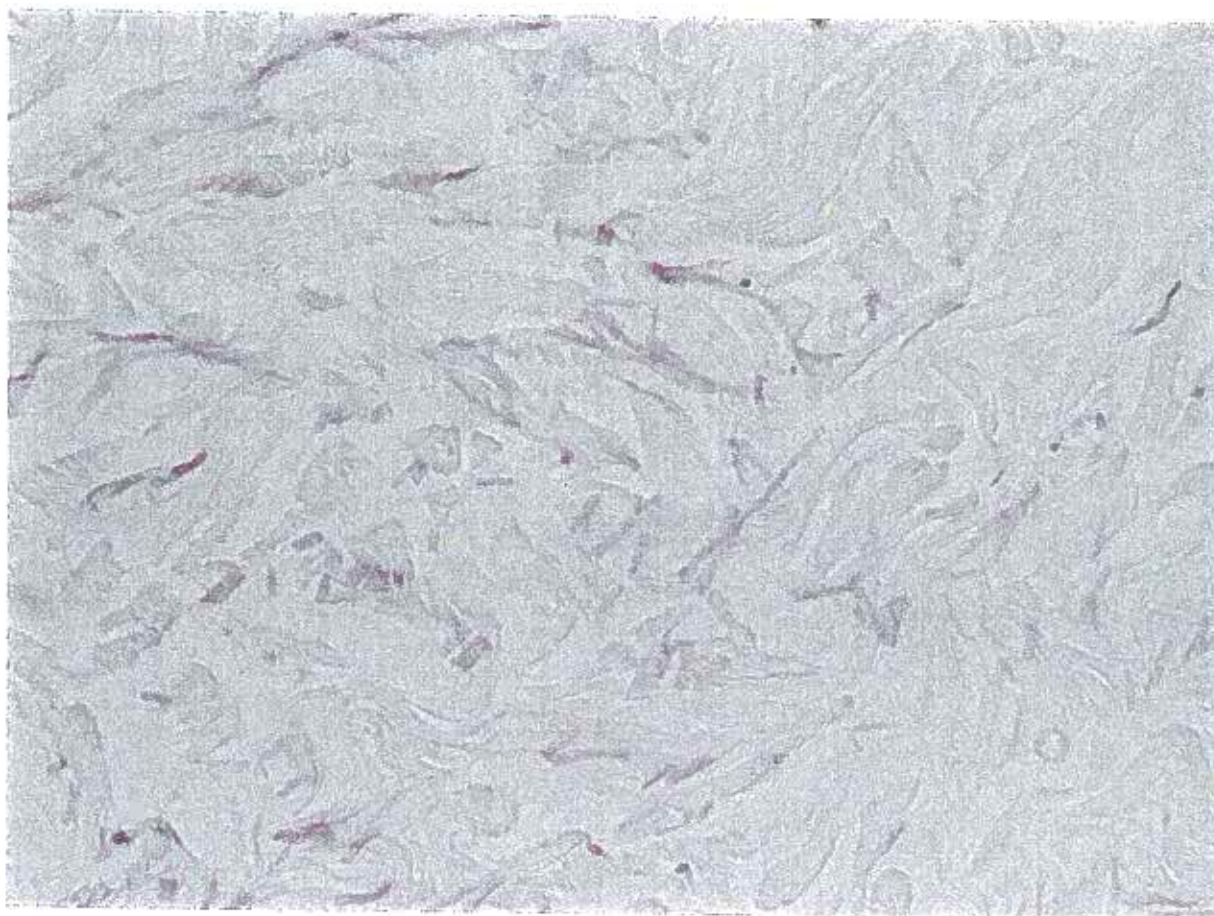


Figure 3:

Analyse histologique du collagène du derme moyen
(rouge sirius)

Peau présentant des vergetures : fragmentation du collagène

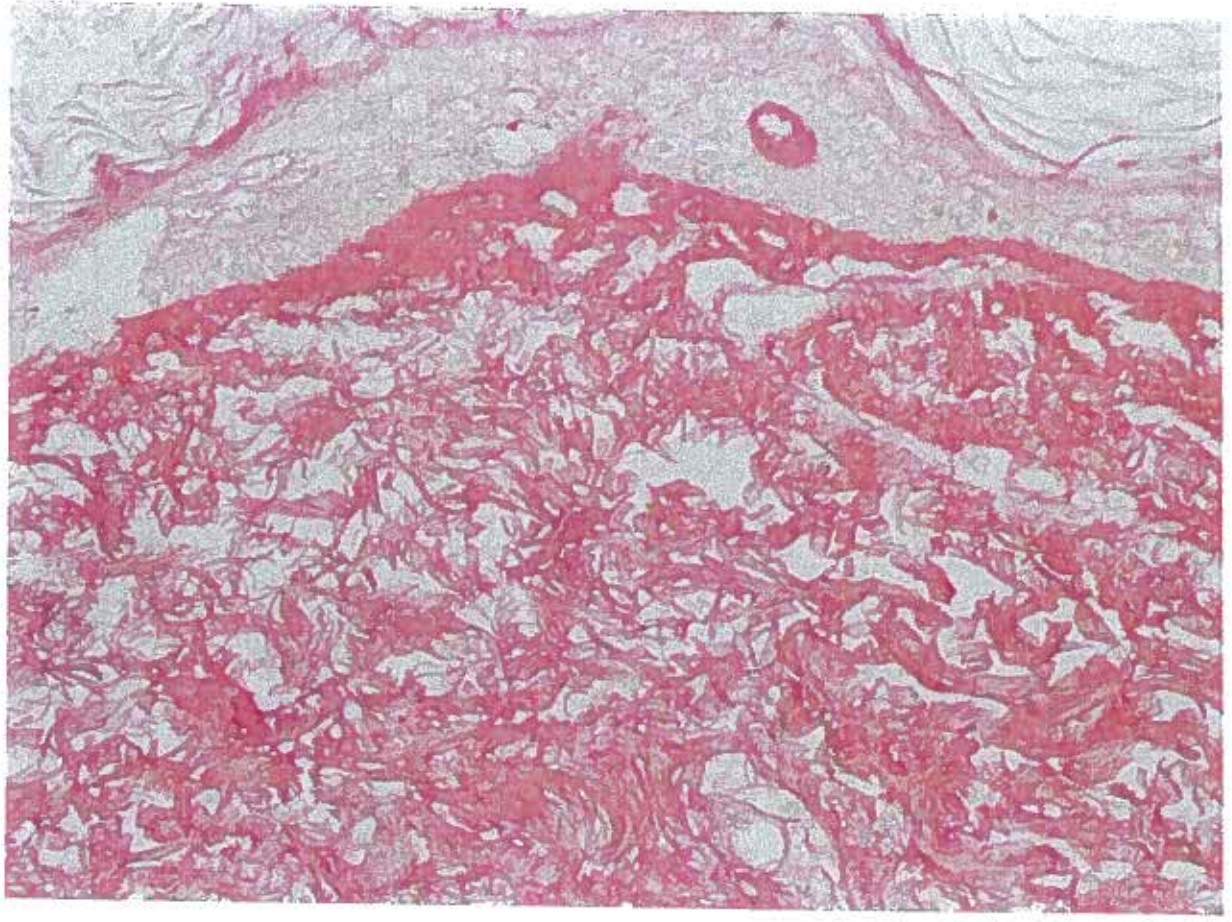


Figure 4:

Analyse histologique du collagène du derme moyen
(rouge sirius)

**Peau présentant des vergetures stimulée par 6 séances de Medical Light
System®: amélioration du collagène**

