

Biostimulation cutanée, restauration de courbes et de volumes

Abstract: Medical procedures to solve the problems of beauty care and cosmetics have been continuously evolving in order to increase their efficiency and to reduce their risk. The number of synthetic materials available to use as fillers has increased significantly in recent years. The diversity of these products with different physicochemical properties, has allowed its use in medicine fields beyond cosmetic medicine. Despite the success in the use of synthetic materials in cosmetic surgery, its use still is not a risk-free procedure. The purpose of this paper is to demonstrate the use of autologous materials to regenerate skin tissue. In the procedure we used three autologous substances (adipose tissue (semisolid), platelet-rich plasma (liquid), human thrombin (gel)). These components induce local bio-stimulation, leading to the filling and remodelling of the skin curves, while preserving the homeostasis and physiology of the patient's own tissue structure. In this study we have followed up six patients treated with the procedure for a year in order to validate its efficacy and possible undesirable effects. Skin parameters such as extensibility and elasticity were measured before and after the treatment. Both skin parameters showed improvements following the treatment. In the case of Skin extensibility varied from 0.498400 mm to 0.42000 mm and skin elasticity changed from 0.365340 to 0.492220 dimensionless, achieving statistical difference. Over 300 patients have been treated with this alternative method for local bio-stimulation. The present work demonstrates that autologous material is a possible and safe alternative to using synthetic materials for cosmetic purposes possibly minimizing the risk of rejection.

Key Words:
Platelet, Thrombin,
Adipose Tissue,
Cosmetic,
Cutaneous Bio-
Stimulation,
Restoration of
curves and
volumes.

Techniques d'obtention de matériaux autologues (PRP, tissu adipeux blanc, thrombine autologue)

- Le plasma riche en plaquettes (PRP) peut être obtenu manuellement à l'aide de la 'technique ouverte' ou par le biais de kits jetables dans le cadre de la 'technique fermée', que l'on peut décrire selon différentes techniques, dont le système Harvest Smart PReP à double centrifugation, la technique manuelle d'Anitua et ses

collaborateurs à une seule centrifugation, le Système BTI PRGF, le kit PRP AG Curasan, le kit PRP Friadent-Schultze, le système Symphony Platelet Concentrate, la centrifugation Secuestra 5000, etc. Les concentrations de plaquettes et de leucocytes peuvent varier en fonction du système utilisé. Dans la technique à double centrifugation, on traite du sang à raison de 280 g à (1400 tpm) pendant 7 minutes ou à raison de 160 g à (1200 tpm) pendant 10 minutes ; ce qui

surnage est à nouveau centrifugé à raison de 400 g (à 200 tpm) pour obtenir un **PRP** concentré. Habituellement, la concentration de plaquettes est d'environ 33-40 % ; après ce processus, elle augmente jusqu'à 330 %. Il existe d'autres études au cours desquelles la première centrifugation est de 200 g pendant 10 minutes et la deuxième centrifugation est de 700 g pendant 15 minutes (1). Eduardo Anitua et ses collaborateurs ont décrit la technique qui permet d'obtenir du plasma riche en plaquettes par centrifugation lente (système BTI PRGF). À cet effet, de petites quantités de sang d'environ 40 ml sont traitées. Il en résulte un plasma riche en plaquettes avec toutes les protéines et les facteurs de coagulation plasmatique (**PRGF**). D'autres protocoles réalisent une double centrifugation à plus grande vitesse pour obtenir un super concentré de plaquettes. Le coagulum s'obtient en ajoutant du chlorure de calcium, sans qu'il soit nécessaire d'utiliser de la thrombine, ce qui évite l'apparition de maladies déclenchées par cette substance. Enfin, d'autres protocoles ont recours à de la thrombine bovine. Nous en concluons que la technique d'obtention de plasma riche en plaquettes (**PRP**) utilisée par Anitua nous permet de recourir aux plaquettes en guise de véhicule porteur de facteurs de croissance. La libération et la concentration de ces protéines peuvent être contrôlées, offrant une meilleure sécurité biologique étant donné que l'on évite la surexpression de facteurs de croissance. Et les facteurs de croissance peuvent être utilisés dans la zone réceptrice désirée, stimulant et accélérant le processus de régénération et de réparation tissulaire (2) (3).

- **Le tissu adipeux blanc.** Le premier transfert de graisse a été effectué en 1893 par le Dr F. Nueber. Différentes techniques ont été décrites par la suite, procédant principalement par lavage au Ringer Lactate, filtrage, décantation et centrifugation. La restauration de volumes et de lipostructure a été décrite en 1994 par Sydney Coleman ; celle-ci inclut une sédation et une anesthésie locale des zones donneuses ou réceptrices et/ou une anesthésie générale en fonction de chaque

patient. La graisse est prélevée manuellement par aspiration à l'aide d'une canule Coleman à embout arrondi attachée à une seringue à pression négative, suffisante pour aspirer la graisse sans causer de dommages au tissu adipeux. Le matériel ainsi obtenu n'est pas soumis à un processus de lavage ou de filtrage afin de ne pas endommager les adipocytes, mais l'on procède bien à la purification du tissu adipeux par centrifugation à 3000 tpm pendant 3 minutes en vue de séparer la graisse pure du sang, des résidus, de l'anesthésiant et des huiles. Chez d'autres auteurs, le matériel aspiré est placé verticalement pour réaliser une décantation en vue d'obtenir une strate supérieure (la graisse pure), une strate intermédiaire (lysis pour le processus d'aspiration) et une strate inférieure (présence d'érythrocytes) ; la strate supérieure étant la seule à être utilisée dans le cadre du traitement. Certaines publications postulent que ces mécanismes de purification peuvent créer un dommage osmotique ou des traumatismes de type mécanique sur les adipocytes, ce qui peut modifier les conditions de leur survie. En marge de la technique utilisée pour obtenir le tissu adipeux, son application ultérieure repose sur la modification tridimensionnelle de l'anatomie, moyennant le comblement des zones en dysharmonie avec le propre tissu graisseux du patient afin que le sang revascularise les zones réceptrices du tissu adipeux et que le corps l'intègre de façon permanente en tant que tissu propre, garantissant des résultats prévisibles, permanents et sûrs (4) (5) (6) (7) (8). Nous basant sur toutes les qualités du tissu adipeux et sur l'expérience de nombreux scientifiques, nous avons consacré une partie de notre étude à son utilisation comme matériel de comblement. D'après notre expérience, nous savons aujourd'hui qu'une transplantation de matériel autologue est 'inoffensive' et que les chances de succès sont plus nombreuses si elle est réalisée de manière instantanée en transférant ces cellules vives depuis la zone donneuse jusqu'à la zone réceptrice, sans aucun type de manipulation, pour créer du tissu vivant. Compte tenu de cela dans cette

situation, il serait plus raisonnable de parler de transplantation de tissu sous-cutané et non de lipo-filling, bien qu'il s'agisse en grande partie de cellules de tissu adipeux. Les implants de tissu adipeux autologue à proprement parler stimulent une néovascularisation et donnent à la peau une meilleure consistance et une meilleure texture (9) (10) (11).

- **La thrombine autologue** est obtenue par le biais de méthodes de fractionnement et de purification du plasma.

1- Méthode de précipitation

- a. méthode physique moyennant cryoprécipitation
- b. méthode physico-chimique ; parmi les méthodes utilisées, les procédés de précipitation à l'éthanol, dérivés de la méthode classique de Cohn, sont les plus fréquemment utilisés pour obtenir l'albumine et l'immoglobuline.

2- Méthode chromatographique

- a. gel-filtration
- b. chromatographie à échange d'ions
- c. chromatographie d'affinité

Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode de la précipitation physico-chimique de Cohn, qui est la méthode de fractionnement du plasma la plus fréquemment utilisée. Elle consiste en l'hémolyse des hématies, avec une précipitation de différentes protéines, en commençant par les moins solubles jusqu'aux plus solubles, celles-ci étant essentiellement le fibrinogène et la fibrine, en fonction de leur point isoélectrique à base de concentration d'éthanol, du pH, de la force ionique et de la température. Unie au PRP et aux facteurs de coagulation, cette matière première autologue constituée de fibrinogène et de fibrine active à nouveau le processus de coagulation, ce qui permet d'obtenir une thrombine autologue humaine qui passe rapidement de l'état liquide à l'état de gel (12) (13) (14) (15).

Matériel et méthode

1- Type d'étude: prospective et observationnelle.

2- Lieux de l'étude: Le travail de recherche a été réalisé au Centre d'Attention Primaire 'Santa Perpetua de la Mogoda', Valles Occidental, Barcelone, Espagne, et au Centre médical de Prévention de la Sénescence Cutanée, Ohain, Belgique.

3- Période analysée: Notre étude a débuté en janvier 2009 et s'est achevée en décembre 2009.

4- Panel: L'étude a été menée sur un échantillon de six individus au total, un du sexe masculin et cinq du sexe féminin. L'âge maximum était de 60 ans et l'âge minimum de 40 ans, soit une moyenne de 50 ans.

5- Définition et critères utilisés

a) Critères d'inclusion

- tous les patients qui ont été caractérisés par l'enquête épidémiologique
- des deux sexes
- âge minimum : 40 ans
- âge maximum : 60 ans
- les patients inclus dans cette étude ont dû signer un formulaire par lequel ils exprimaient leur consentement à faire partie d'un groupe expérimental et où ils marquaient leur accord pour que leurs photos soient utilisées à des fins de démonstration scientifique.

b) Critères d'exclusion

- fumeurs
- consommateurs réguliers d'alcool
- plus de 60 ans
- moins de 40 ans
- maladies auto-immunes
- maladies infectieuses
- dyscrasies sanguines
- maladies chroniques non contrôlées
- patients sous anti-coagulants
- patients sous immunosuppresseurs
- patients qui n'ont pas signé le formulaire de consentement éclairé

- patients qui n'ont pas complété l'enquête épidémiologique

c) Établissement du bilan préopératoire

(glycémie, urée, créatinine, profil lipidique, coagulation et saignements, profil hépatique, paramètres endocriniens). Valeurs utilisées selon les critères du Système international d'unités pour les laboratoires cliniques du Ministère de la santé publique. Hospital de Terrassa. Valles Occidental. Barcelone.

d) Enquête

Deux modèles d'enquêtes ont été mis au point:

- Mise en œuvre de l'enquête :

- le personnel médical a remis personnellement à chaque patient l'enquête épidémiologique I, avant la première phase du traitement médical cosmétique-esthétique. Tous les patients ont rendu le questionnaire un mois avant d'initier la première phase du traitement médical cosmétique-esthétique.
- le personnel médical a remis personnellement à chaque patient une enquête épidémiologique II post-opératoire, le même jour que la première procédure de traitement médical cosmétique-esthétique. Le contrôle périodique des variables de l'enquête se poursuit, étant donné que celles-ci sont mises au point pour être évaluées prospectivement au fil du temps, l'enquête étant finalisée la même année que la première phase du traitement médical cosmétique-esthétique.

e) Obtention d'images photographiques pour estimer la morphologie faciale

À l'aide d'un appareil photo Sony **a** 100 DSLR-A100 Lente 3.5-6.3/18-200, Malaisie, on obtient des images numériques prises sous des angles différents en vue d'identifier la zone anatomique à traiter et d'observer ainsi les modifications obtenues dans le temps.

f) Obtention d'images cutanées faciales par le biais d'études échographiques (ultrasons)

L'équipement utilisé est l'échographe cutané Dermascan C® Cortex Technology, Danemark. Les échographies sont réalisées par un professionnel doté d'une grande expérience (ingénieur en physico-chimie). On choisit un milieu stable avec une température de 25° C et un éclairage fluorescent. Le personnel informe les patients qu'ils doivent se présenter sans maquillage au test diagnostique.

- Zone choisie pour déterminer les mensurations échographiques : tous les patients ont été soumis à une échographie faciale du côté droit du visage, au niveau de la pommette droite.

- Séquence de réalisation des échographies : le traitement médical esthétique est réalisé en deux étapes, avec huit semaines d'intervalle entre les deux. C'est pourquoi les échographies sont également réalisées en deux étapes, la première ayant lieu avant le traitement médical cosmétique-esthétique, et la seconde étant réalisée 10 semaines après le traitement médical cosmétique-esthétique. Ces échographies nous permettent de déterminer les paramètres quantitatifs cutanés (extensibilité-millimètres, élasticité adimensionnelle). Dans les deux cas, l'étude a été réalisée par le même professionnel, dans les mêmes conditions de température et de lumière, et avec les mêmes équipements.

6- Document de mode opératoire

Ce document répertorie le mode opératoire ainsi que d'autres observations, en tenant compte de paramètres quantitatifs et qualitatifs pour chaque patient.

Description de la méthode

1) Calendrier de planification :

Les patients faisant partie de notre échantillon ont été programmés dans l'agenda des traitements thérapeutiques mini-invasifs en mode ambulatoire.

a. Programmation du nombre de séances de traitement

La procédure thérapeutique médicale cosmétique-esthétique est réalisée en différentes phases, sur la base de deux séances de traitement assorties, le cas échéant, d'une troisième séance pour les patients qui en ont fait la requête. Une pause de 8 semaines sépare chaque phase du traitement de la suivante.

b. Programmation des tests cutanés pour écarter les risques d'allergie aux anesthésiants Lidocaïne/Épinéphrine

Trois semaines avant le traitement médical cosmétique-esthétique, des tests cutanés sont programmés pour détecter d'éventuelles allergies ou une intolérance aux anesthésiants.

c. Programmation d'échographies cutanées avant et après le traitement médical cosmétique-esthétique

Les échographies sont programmées une semaine avant le traitement médical cosmétique-esthétique et dix semaines après la dernière séance de traitement.

2) Tous les patients doivent avoir signé le formulaire de consentement éclairé pour le traitement médical ainsi que pour la publication de leurs photos :

3) Évaluation préopératoire :

a. Examen physique par rapport aux appareils et aux systèmes

b. Bilan général préalable

c. Électrocardiogramme préalable

d. Détection des effets secondaires des anesthésiants locaux

Les effets secondaires associés aux anesthésiants locaux se manifestent assez souvent, bien que les véritables réactions allergiques revêtent un caractère exceptionnel. Dans

notre protocole de travail, nous écartons généralement les effets secondaires qui peuvent être associés aux anesthésiants locaux ; 1) réactions toxiques: 2) effets non liés au médicament (effets psychomoteurs, réactions vagales, stimulation sympathique, intoxications locales: 3) effets secondaires allergiques, parmi lesquels la dermatite de contact est la réaction la plus fréquente. Nous menons des tests cutanés pour détecter les allergies aux anesthésiants locaux ; en cas de suspicion de positivité, les patients sont orientés vers l'allergologue pour effectuer des études d'allergie en vue de déterminer les anesthésiants locaux ne présentant aucun risque. Le test cutané combiné au test de provocation offre une excellente valeur prédictive, aussi sûre qu'efficace.

Tous les patients ont subi un test cutané intradermique à la Lidocaïne (1:100) 0,1 ml sur la face interne de l'avant-bras gauche. Le test est considéré comme positif si les cloques sont 3 mm plus grandes que le contrôle négatif, en lecture immédiate et après 24 heures (suivant les critères de l'American College of Allergy 2008). Nous n'utilisons pas d'anesthésiants locaux du groupe des esters de l'acide para-amino-benzoïque dans notre étude. Les tests cutanés ont été effectués pour les anesthésiants locaux du groupe amide (Lidocaïne), cette substance étant la seule à être utilisée dans notre protocole et qui puisse induire un risque pour le patient. Tous les patients ont reçu de la Lidocaïne en guise d'anesthésiant local, à l'exception d'une patiente qui présentait des antécédents allergiques à de nombreux médicaments, dont des anesthésiants du groupe amide. Son cas a été étudié par allergologie moyennant un test cutané de provocation, et l'anesthésiant recommandé comme étant le plus sûr était l'ultracaine du groupe amide.

4) Évaluation péri-opératoire :

a. Examen physique par rapport aux appareils et aux systèmes

b. Jeûne de 8 heures, avec pour seule autorisation de boire de l'eau

c. Marquage des zones sur lesquelles on va travailler

Avant de commencer l'intervention, après avoir palpé et examiné en détail la zone donneuse et la zone réceptrice sur lesquelles nous allons travailler, nous effectuons un marquage à l'aide du Surgical Skin Marker (Deroyal®) Hospiteria, Bruxelles, Belgique, qui permet de faciliter le travail et d'en accroître la précision.

d. Pré-médication

Eventuellement en cas de stress, nous préconisons comme anxiolytique la prise de Lorazepam 1mg, dont le temps de demi-vie d'élimination atteint 12 à 14 heures.

5) Salle de traitement :

a. Prélèvement de sang

- est réalisé dans la zone pré-chirurgicale.
- utilisation de gants.
- matériel de désinfection cutanée avec Cristalmina Plus Spray Laboratorio Salvat, Espagne, (chlorhexidine 1 % et allantoïne 0,4 %).
- compresseur d'Esmarch.
- ponction veineuse périphérique de la région antécubitale du bras droit pour tous les patients, quelques minutes avant le traitement.
- trocart Vacuette® (Greiner bio-one. Réf. 450085) 23 G $\frac{3}{4}$ (0,64 mm x 19 mm).
- on prélève 45 ml de sang (5 échantillons de 9 ml) dans des tubes en verre Vacuette® (Greiner bio-one) MLS n.v. stériles et à système fermé. Sur ces 5 tubes, 4 contiennent de la coagulation citrate de sodium 3,2 % (Réf. 455322) et un tube ne contient pas d'additifs (Réf. 455001) MLS n.v..
- les tubes sont étiquetés au nom de chaque patient.
- du sparadrap est apposé pour éviter les saignements après avoir retiré le trocart.
- les aiguilles usagées sont recueillies.

b. Centrifugation

La phase de séparation cellulaire s'opère par centrifugation numérique, garantissant des paramètres de temps et de rapidité

conformes à notre protocole, à température ambiante. Ce processus doit être réalisé par un professionnel expérimenté en vue d'obtenir une concentration maximale de plaquettes par unité de volume de sang traité ; c'est ce processus qui permet d'obtenir le plasma riche en plaquettes (PRP). L'ensemble de ce processus se déroule dans un laboratoire situé à côté du bloc opératoire de chirurgie ambulatoire. La séparation des éléments du sang après centrifugation se fait en fonction de la densité, de la plus élevée à la moins élevée : les globules rouges vont dans le fond du tube, les leucocytes se sédimentent en formant une couche (buffy coat) juste au-dessus des hématies. Ceci permet de recueillir un plasma sans cellules blanches, avec pour résultat de concentrer les plaquettes dans le cm³ de plasma situé au-dessus des globules rouges. Pour obtenir la thrombine autologue, il existe une phase du processus au cours de laquelle intervient également la centrifugation régie par des paramètres de temps et de rapidité établis dans le protocole.

c. Obtention des fractions de plasma riche en plaquettes (PRP)

La méthode qui permet d'obtenir du plasma riche en plaquettes est extrêmement simple et repose sur de petits prélèvements de sang du patient, une veine périphérique et une instrumentation minimale. Le tout se fait en très peu de temps dans le centre médical lui-même. Nous privilégions le citrate de sodium en tant qu'anti-coagulant, étant donné que d'autres anti-coagulants induisent des modifications dans la morphologie des plaquettes car celles-ci gonflent et prennent une forme sphérique au lieu de leur forme discoïdale. Les 4 tubes de 9 ml qui contiennent du sang avec citrate de sodium (Réf. 455322), sont placés dans la centrifugeuse modèle H-19F[®] Regen Lab-Switzerland, 800 gigas, à 3000 tpm, pendant 8 minutes. Après la centrifugation, on obtient un plasma riche en plaquettes (PRP) avec ses trois fractions et leur concentration respective en plaquettes et en facteurs de croissance.

- fraction 1 : c'est la fraction la plus proche à la surface du tube ; cette fraction correspond à un plasma pauvre en plaquettes.

- fraction 2 : c'est la fraction intermédiaire ; elle correspond à un plasma avec un nombre de plaquettes similaire à ce que l'on rencontre dans le sang périphérique.

- fraction 3 : juste au-dessus des globules rouges et de la couche 'buffy coat'. C'est la fraction la plus riche en plaquettes intactes ; elles contiennent de 3 à 4 fois la concentration sanguine.

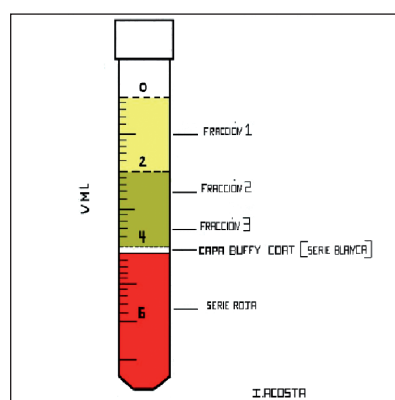


Figure 1 : Fractions du plasma, après centrifugation, suivant le protocole PRGF

d. Obtention de plasma riche en facteurs de croissance (PRGF)

Des trois fractions de plasma riche en plaquettes (PRP), obtenues par centrifugation, nous aspirons soigneusement les fractions 2 et 3, et plus fondamentalement la dernière fraction, sans toucher les leucocytes et les globules rouges. L'aspiration doit être très précise et soignée pour ne pas toucher la couche 'buffy coat', le tout étant effectué sous flux laminaire. L'aspiration est réalisée à l'aide d'une seringue stérile jetable de 10 ml avec une aiguille 21 G x 2 (0,8 x 50 cm). On obtient pour chaque patient une quantité différente de plasma riche en plaquettes (PRP).

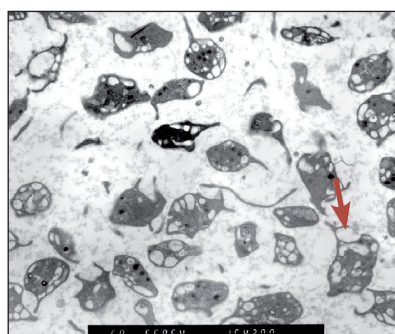


Figure 2 : Microscopie électronique à haute résolution. Agrégat de plaquettes et granules α à l'intérieur de la structure plaquettaire. Prise par Acosta I, Hurtado P, 2010.

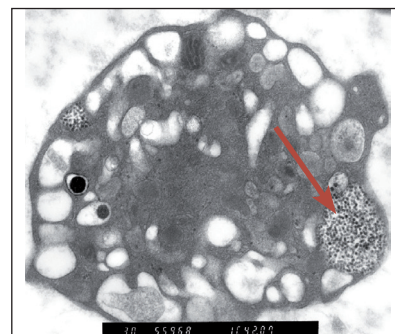


Figure 3 : Microscopie électronique à haute résolution d'une plaquette, où l'on peut voir les granules α avant d'induire leur activation.

Pour induire l'activation des plaquettes, nous tentons de reproduire un mécanisme naturel moyennant l'utilisation de Ca²⁺ ; et pour l'optimiser, nous déterminons la concentration de Ca²⁺ de manière personnalisée pour chaque patient. En fonction de la quantité de plasma riche en plaquettes (PRP) que nous avons obtenue, nous ajoutons la partie proportionnelle correspondant à 10 % de chlorure de calcium (100 mg/mL). La cinétique de libération des facteurs de croissance contenus dans les granules α se produit lentement. De cette manière, nous obtenons un plasma riche en facteurs de croissance (PRGF) et son application est directement initiée.

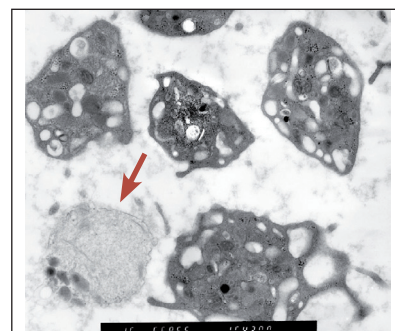


Figure 4 : Microscopie électronique à haute résolution, qui montre des plaquettes pendant le processus d'activation tel que décrit dans le matériel et la méthode, et où l'on peut observer une plaquelette après sa dégranulation, sans granules α . Prise par Acosta I, Hurtado P, 2010.

e. Obtention de thrombine autologue par précipitation physico-chimique

- On aspire 1 ml d'air d'1 tube contenant 9 ml de sang sans additifs (Réf. 455001)[®] MLS n.v. ; ultérieurement, on ajoute 1 ml d'éthanol 96° + 0,4 mL de chlorure de calcium 100mg/mL, ce qui déclenche la cascade de la coagulation. On laisse reposer 30 minutes. On obtient ainsi un précipité de protéines, principalement du fibrinogène et de la fibrine. On le place dans la centrifugeuse modèle H-19F[®], Regen Lab Switzerland, de 800 gigas, à 3000 tpm pendant 5 minutes. À l'aide d'une seringue de 1 ml et d'une aiguille 18 G 1 ½, on prélève 0,1 cc dans le tube en prenant soin d'éviter les premiers mm contenant de l'éthanol, et on le mélange à 0,9 cc de plasma riche en plaquettes (PRP) obtenu antérieurement. On agite doucement la seringue manuellement pour former un mélange homogène, ce qui active à nouveau la coagulation pour obtenir une thrombine autologue humaine à l'état liquide, qui ne tarde pas à se transformer en gel. Ce gel peut être utilisé comme moyen de support tissulaire biologique, en plus de ses multiples fonctions dont la stimulation de granules sécrétoires α contenus à l'intérieur de la plaquette. Sur la base de notre expérience, on prépare 5 seringues de 1 ml de thrombine autologue pour chaque patient (12) (13) (14) (15).

f. Obtention de tissu adipeux blanc de la zone donneuse

Le prélèvement dans la zone tronchantérienne ou à la hauteur des hanches voire de l'abdomen. On réalise une micro-incision de 2,5 mm à l'aide d'un bistouri jetable stérile en carbone de la marque Swan-Marton[®], numéro 11, pour faciliter l'entrée de la canule à embout arrondi pour deux aiguilles de 15 cm de long et 2,5 mm de diamètre. Le diamètre est important afin d'éviter le frottement du tissu adipeux contre les parois de la canule, réduisant les dommages que peuvent subir les cellules adipeuses. Cette canule est reliée à une seringue de 10 ml. On réalise lentement des micro-aspirations manuelles en forme d'éventail (sans utiliser d'aspirateur) tout en évitant d'exposer les cellules adipeuses à des traumatismes, à l'air et à des

facteurs chimiques. Pour chaque patient, on aspire 10 ml de tissu graisseux de chaque côté, soit un total de 20 ml.

g. Apport de substances anabolisantes pour améliorer les chances de survie des adipocytes

Simultanément à l'obtention de tissu adipeux, pour chaque quantité de 10 ml de celui-ci, on ajoute 2 ml de PRGF, et on l'applique immédiatement dans la zone réceptrice pour éviter la contamination et garantir sa survie.

h. Anesthésie

Lorsqu'on pratique une anesthésie locorégionale, on réalise un blocage réversible de la conduction nerveuse avec perte de la sensibilité dans une zone circonscrite de l'organisme en utilisant des concentrations minimales inhibitrices de l'anesthésiant local. Lorsqu'on utilise un anesthésiant local, il faut connaître son mécanisme d'action étant donné qu'il occupe le récepteur interne du canal Na⁺ et produit une extension de la membrane qui ferme les canaux par compression ; Na⁺ n'entre pas et la cellule est polarisée. De cette manière, tant que la cellule n'est pas dépolarisée, il n'y a pas de transmission de la stimulation douloureuse. Il est donc indispensable de connaître l'innervation sensitive, ainsi que les récepteurs spécialisés de la peau. L'innervation sensitive au travers des terminaisons nerveuses correspond à des nerfs du système nerveux périphérique chargés d'innover les glandes, les muscles, les follicules pileux et de contrôler le calibre des vaisseaux sanguins. L'innervation peut également passer par les récepteurs spécialisés, qui sont encapsulés dans un tissu conjonctif et qu'on a coutume d'appeler des corpuscules.

- corpuscule de Meissner (tactile)
- corpuscule de Valer-Pacini (pression et vibration)
- corpuscule de Ruffini (chaleur)
- corpuscule de Krause (froid)

Avec l'anesthésie locorégionale, on arrive à décortiquer le système nerveux périphérique ainsi que les récepteurs spécialisés.

- Anesthésie superficielle locorégionale de

la zone donneuse de tissu adipeux

Généralement, on réalise un blocage de champ à l'aide de Lidocaïne 2 % sans adrénaline dans la zone donneuse de tissu adipeux en vue d'éviter la vasoconstriction du tissu adipeux et en garantir la vascularisation. L'anesthésiant est injecté en éventail de manière tangentielle et superficielle, et l'on obtient une décortication du système nerveux périphérique. On injecte précisément la quantité d'anesthésiant nécessaire, en supprimant les excès, pour éviter de contaminer la zone donneuse de tissu adipeux qui se trouve à une profondeur approximative d'1 cm. Le tissu adipeux doit être prélevé immédiatement, avant que l'anesthésiant n'envahisse les profondeurs où se trouvent les cellules adipeuses. Le prélèvement s'opère à l'aide d'une canule à embout arrondi en effectuant des mouvements lents et réguliers en forme d'éventail. Si le patient est allergique, on utilise un anesthésiant sûr recommandé par l'allergologue : l'ultracaine.

- Anesthésie locorégionale dans la zone réceptrice de tissu adipeux, PRGF, thrombine

Pour les zones réceptrices, on utilise généralement Lidocaïne 1 % + Épinéphrine 20 mg/0,0125-1,8 ml.

- Boutons dermiques : Les boutons dermiques sont réalisés à l'aide d'une aiguille courte, placée perpendiculairement à la peau. L'injection s'effectue lentement, la pointe avançant jusqu'au derme, qui prend l'apparence d'une peau d'orange. Cette technique est utilisée pour anesthésier la partie latérale du visage, en réalisant des boutons dermiques dans la zone de jonction entre la peau et l'implantation capillaire. En fonction de la zone à traiter, on applique 0,4 ml par bouton. L'effet de l'anesthésiant est très rapide étant donné que les récepteurs spécialisés ou 'corpuscules' se trouvent immédiatement sous l'épiderme. Les boutons dermiques correspondent aux points d'introduction de la canule à bout rond.

- Blocage tronculaire des nerfs périphériques: Pour la partie moyenne du visage, on réalise un blocage sensitif de la zone innervante que l'on va traiter afin de ne pas compromettre la vascularisation de la zone

réceptrice de la greffe et ne pas créer de rejet. On utilise 0,25 ml par blocage.

Fondamentalement, le blocage tronculaire se base sur le nerf trijumeau (la 5^e paire des nerfs crâniens) et ses trois branches. Il faut tenir compte de son trajet anatomique, qui se compose d'un court passage intracrânien, avec son ganglion de Gasser qui se trouve sur la pointe du rocher de l'os temporal. De ce ganglion partent les trois branches du trijumeau, qui abandonnent la dure-mère par différents orifices du plancher de la fosse crânienne moyenne.

- Fente sphénoïdale / fissure orbitaire supérieure (nerf ophtalmique, première branche de la 5^e paire)

En sortant du ganglion de Gasser, ce nerf se divise en trois branches : nasale, lacrymale et frontale. Il innerve la peau du front, la peau de la narine et la partie postérieure de la muqueuse nasale, ainsi que le globe oculaire et la glande lacrymale.

- Foramen grand rond / fissure orbitaire inférieure (nerf maxillaire supérieur, deuxième branche de la 5^e paire)

Ce nerf conduit la sensibilité de la peau adjacente de la joue, de la paupière inférieure, des tempes, de la muqueuse palpébrale inférieure, de la muqueuse de la lèvre supérieure, des dents supérieures, du palais osseux, de la luette et des amygdales, du nasopharynx, de l'oreille moyenne et de la partie inférieure de la muqueuse nasale.

- Foramen ovale (nerf maxillaire inférieur, troisième branche de la 5^e paire)

Il s'agit d'un nerf mixte, avec sa branche linguale et son nerf dentaire inférieur. Ses fibres motrices innervent les muscles masticateurs et ses fibres sensibles reçoivent et conduisent la sensibilité de la peau de la partie postérieure des tempes, des joues, de la lèvre inférieure, du menton, des dents inférieures, du plancher de la bouche, etc.

Ces points d'accès nous permettent d'anesthésier une large zone, avec un minimum de solution anesthésique, sans provoquer de modifications locales étant donné que le produit est injecté à distance.

Grâce à ces techniques d'anesthésie sous forme de blocage de champs, de boutons dermiques et de blocage tronculaire des nerfs sensitifs, et grâce à nos connais-

sances des structures anatomiques, on écarte le risque d'introduire l'anesthésiant dans la lumière du vaisseau, ce qui pourrait entraîner de sérieux accidents toxiques. En outre, cela nous permet de travailler sur de grands volumes de peau et de ne pas suivre les trajets des nerfs. Il ne faut pas perdre de vue que l'anesthésie locale peut entraîner des complications comme : 1) ecchymoses, hématomes ; 2) abcès ; 3) lésion du nerf ; 4) hypersensibilité locale.

Application des trois éléments obtenus par la technique mini-invasive

- application du tissu adipeux à l'aide d'une canule arrondie en position tangentielle

Une fois que l'on a obtenu le tissu adipeux de la zone donneuse, environ 20 ml pour chaque patient, on n'enclenche aucune procédure de purification (lavage, filtrage, décantation ou centrifugation). On préserve le tissu et tout son milieu naturel (stroma vasculaire ou tissu conjonctif réticulaire, où se trouve la 'niche' de cellules mères). Aux 20 ml de tissu adipeux, on ajoute 4 ml de PRGF en guise de substance anabolisante. On utilise la normocorrection pour tous les patients, moyennant deux ou éventuellement trois séances de traitement. Chaque séance de traitement est séparée de la suivante par une période de pause de 8 semaines pour tous les patients. Il faut considérer que seulement 50 % des cellules survivent. On transplante 10 ml de tissu adipeux plus 2 ml de PRGF de chaque côté du visage ; l'injection du greffon se fait en prenant soin de restaurer la convexité des courbes et en s'efforçant d'adoucir la transition entre les différentes zones anatomiques. Sachant que la plupart des plis et relâchements sont dus à une perte de substances, le comblement de ceux-ci se fait de façon à créer des vecteurs de force permettant de lutter contre les effets de la gravité. La technique d'injection utilisée est celle du grain de riz avec en général, trois portes d'entrée qui suffisent à quadriller l'entièreté du visage. On injecte peu mais sur une surface importante afin de ne pas hypothéquer la revascularisation conditionnant la survie du greffon. Les injections se font plan par plan en commençant avec la région sub-périoste et intermusculaire, ces régions étant fortement vascularisées et on

termine avec la région sous-cutanée "infra-dermique".

- application du plasma riche en facteurs de croissance à l'aide d'une aiguille en position tangentielle

Le plasma riche en facteurs de croissance (PRGF) est appliqué tangentiellement au visage des patients à l'aide d'une aiguille 27 G 1 ¼[®] Inex Puiseux-le-Hauberger, France ; l'application se fait au niveau sous-cutané superficiel, principalement dans la zone malaire, dans la zone infraorbitaire, dans la queue des sourcils et dans la zone périorale. Comme mentionné précédemment, ce PRGF est appliqué dans un objectif de biostimulation, de réparation et de régénération des tissus.

- application de thrombine autologue à l'aide d'une aiguille en position horizontale

La thrombine autologue doit être appliquée très rapidement, avec adresse et dextérité, étant donné que l'on utilise une aiguille, courant ainsi le risque d'hématomes et d'ecchymoses. C'est pourquoi l'injection doit se faire horizontalement au niveau sous-cutané, à l'aide d'une aiguille 27 G 1 ¼[®]. Parmi les particularités de la thrombine autologue, citons sa capacité à se transformer rapidement pour passer de l'état de liquide à celui de gel en 30 secondes approximativement. Cette matière première autologue permet d'adoucir les contours osseux qui sont de plus en plus proéminents au fil des ans. Elle s'applique dans la zone périorbitaire, inter-sourcillaires, au niveau des lèvres et du sillon naso-génien, et agit comme un support tissulaire biologique qui à son tour nous permet de générer des volumes. Dans notre protocole, la thrombine ne peut être appliquée qu'à l'état liquide, car en gel, il serait impossible de la faire passer par l'aiguille. C'est pourquoi cette application doit être ultra-rapide. On applique 5 seringues de 1 ml de thrombine à l'état liquide, ce qui représente un total de 5 ml de thrombine autologue pour chaque patient.

i. Cryothérapie

Dès que le processus de restauration des courbes et des volumes à l'aide de tissu adipeux est terminé, on effectue immédiatement une Cryothérapie Dermoline[®] Sophysa

Benelux, Braine l'Alleud, Belgique, à une température de -5° C pendant 5 minutes dans les zones réceptrices, et ce afin de prévenir les ecchymoses, de remodeler les courbes et de réduire l'inflammation mais aussi de stimuler l'action des facteurs de croissance autologue.

I. Document de mode opératoire

- tissu adipeux (ml) /PRP (ml)/ chlorure de calcium (ml)/ thrombine autologue (ml)
- zone donneuse
- zone réceptrice
- nombre de séances
- autres procédures
- anesthésie

6) Post-opératoire

a. Salle de réveil

- l'atmosphère y est accueillante, avec une climatisation stabilisée à 25° C.
- chambre infrarouge: le patient est placé sur un brancard relié à une chambre infrarouge biocompatible Done Professionnel Visage Nivel® Inovo Irl Technologies, Montpellier, France, pendant 20 minutes, jusqu'à ce qu'on atteigne une température de 37° C, ce qui augmente les flux sanguin et lymphatique, améliorant ainsi les réactions physiologiques des cellules.

7) Conseils post-opératoires

- aucun effort physique pendant une semaine.
- ne pas effectuer de massages sur la zone transplantée pendant une semaine afin de faciliter la fixation et la revitalisation du tissu adipeux dans la zone réceptrice.
- ne pas s'exposer à des températures élevées.
- ne pas s'exposer aux rayons solaires pendant un mois.
- en cas de douleur, prendre des analgésiques.
- bonne hydratation.

8) Sécurité

a. Chariot d'arrêt

b. Défibrillateur externe automatisé Datascope Passeport

Permet de garder le patient sous contrôle à tout moment.

c. Chambre à flux laminaire

- utilisation d'une chambre à flux laminaire H500® Hotte à filtration suivant la norme NX15-211. Classe 2. Dimensions externes 980 x 800 x 620 mm (HLP), Poste de sécurité microbiologique, Type BIO II 9-12, ADS Laminaire, Belgique, pendant tout le processus de séparation cellulaire ultérieur à la centrifugation du sang obtenu.

d. Mesures et moyens de protection

- usage de gants, bonnets, masques, pansements fendus gazes et compresses stériles jetables.
- mesures aseptiques-antiseptiques correspondantes.
- asepsie des zones à traiter à l'aide de Cristalmina Plus Spray®, (chlorexidine 1 % et allantoïne 0,4 %).
- isolation des champs à l'aide d'un pansement fendu stérile et jetable pour la zone donneuse et la zone réceptrice.

e. Évaluation et suivi

- on effectue un contrôle strict quant aux possibilités de réactions indésirables ou d'effets secondaires pendant et après la procédure médicale cosmétique-esthétique.

f. Durée de la procédure

- Depuis le prélèvement sanguin en passant par l'obtention de tissu adipeux dans la zone donneuse jusqu'à la transplantation dans la zone réceptrice pour remodeler les courbes et les volumes, sans oublier l'application du PRP et de la thrombine, la procédure se déroule en deux heures maximum.
- s'il surgit le moindre contretemps et que la procédure d'application de la thrombine autologue prend du retard, il y a des risques que la thrombine se transforme en

gel, auquel cas, elle est automatiquement écartée et l'on se procure un nouvel échantillon.

- le plasma est aspiré depuis la fraction la plus profonde sans provoquer de turbulences. Si les globules sont remués, on écarte le tube contaminé étant donné que le plasma a été hémolysé.

g. Fiabilité du matériel utilisé

Tout le matériel utilisé affiche un niveau de sécurité élevé. Il est stérile, jetable et porte le label CEE sur les produits sanitaires pour un usage spécifique en vue d'obtenir du plasma riche en plaquettes (PRP) et la transplantation de tissu adipeux.

Acosta Sosa, I.*, **Potdevin, D.****,
Hurtado Consuegra, P.***

* Licenciée en médecine.
Spécialisée en médecine familiale et communautaire. Diplômée en médecine et chirurgie cosmétique et en médecine du vieillissement.
Institut catalan de la Santé,
Barcelone, Espagne.

** Licencié en médecine. Spécialisé en dermato-cosmétologie.
Diplômé en médecine et chirurgie cosmétique ainsi qu'en médecine du vieillissement. Centre de prévention de la sénescence cutanée, Bruxelles, Belgique.

*** Licenciée en médecine.
Spécialisée en immunologie clinique.
PhD en immunologie clinique.
Unité rénale de l'Hôpital d'Adélaïde, Australie.