

LA BIOSTIMULATION CELLULAIRE REGENERATIVE AU SECOURS DE L'ALOPECIE ANDROGENIQUE UNE NOUVELLE TECHNIQUE D'APPROCHE THERAPEUTIQUE **- LA MESOGREFFE[®] -**

Docteur Marcel METANOMSKI [®]
Médecine Esthétique et Anti-âge – Chirurgie capillaire
Membre de la Société Française de Médecine Esthétique
Membre de l'Association Française de Médecine Esthétique
Enghien les Bains & FRANCE - Limpertsberg & LUXEMBOURG
docteur.metanomski@orange.fr

HISTOPATHOLOGIE

L'alopecie est définie par une chute pathologique des cheveux et touche une grande partie de la population (50% des mâles caucasiens et 42% des femmes). Une grande fréquence de ces alopecies est d'origine génétique mais l'on trouve aussi d'autres causes pour lesquelles des thérapies sont possibles. On distingue 2 grandes catégories d'alopecies :

<i>ALOPECIES CICATRICIELLES</i>	<i>ALOPECIES NON CICATRICIELLES</i>
Héréditaires	Pathologies endocrinienne
Néoplasiques	Aréata immunologique
Agents physiques et chimiques	Traumatismes et effluvium télogène
Dermatoses	Médicamenteuses
Infectieuses	Androgénétique 5 α DHT

Les différences sont majeures :

- Dans le cas des alopecies cicatricielles, les follicules pileux sont endommagés, détruits ou mal formés: les lésions sont donc irréversibles et les traitements inefficaces
- Dans le cas des alopecies non cicatricielles, les follicules pileux ne sont pas détruits et les lésions sont fréquemment réversibles avec un traitement adapté.

Rappelons que les follicules pileux sont des structures évolutives : passage de phase de pousse (anagène) avec phase de repos (catagène) puis de chute (télogène). Dans le cas des alopecies androgénétiques, la phase anagène est raccourcie et le nombre de follicules passant en phase télogène est augmenté (action de la 5 α DHT qui accélère le cycle de pousse et la miniaturisation des bulbes qui chutent rapidement). De nombreux traitements tentent de ralentir ou freiner cette chute (Minoxidil, Finastéride, Dutastéride chez l'homme et antiandrogènes (spironolactone, acétate de cyprotérone) chez la femme) avec plus ou moins de résultats et d'inconvénients.

TOPIQUES	MEDICAMENTS ORAUX	PRODUITS INJECTABLES	PHOTOTHERAPIE	CHIRURGIE
MINOXIDIL	FINASTERIDE	CORTISONE	LASER	FUE
ANTIMITOTIQUES	DUTASTERIDE	PRP	LED	FUSS
	CORTICOSTEROIDES	POLYVITAMINES		
	ANTIANDROGENES	VASODILATATEURS		

Classification médicale des traitements de l'alopecie

Après plusieurs mois de pratique personnelle, l'objectif de ce document est de présenter et proposer une nouvelle technique de travail permettant de modifier l'évolution de ces alopecies au moyen d'un **nouveau dispositif médical agréé certifié classe I non invasif** (classe idem à un scalpel, une seringue...) et réalisable simplement dans un cabinet médical sous réserve d'une formation adaptée. Ce traitement permettra d'injecter dans le tissu intradermique une suspension de cellules **autologues** obtenues en utilisant le système Rigenera® à partir de microgreffons capillaires. Notons qu'aucune manipulation chimique ou enzymatique ni mise en culture ne sont nécessaires ce qui en assure la complète sécurité et légalité ; sa réalisation se déroule en environ maximum 30 à 40 minutes donc in vivo ; bref, un prélèvement et une nano-découpe simple de quelques microgreffons capillaires soit une action encore plus simple qu'une microgreffe pour ceux qui pratiquent ces techniques !

Revenons aux fondamentaux pour comprendre les bases physiologiques de cette nouvelle méthodologie. Je me suis appuyé pour cela sur les études de Pietro Gentile et Col. – Département de chirurgie plastique et reconstructive de l'Université de Rome – Italie 2017

Les récentes recherches sur des cellules souches mésenchymateuses non embryonnaires apportent de nouvelles possibilités dans l'utilisation de cellules souches collectées à partir de tissu autologue (*Laino et al. 2006 ; Graziano et al. 2008a ; Graziano et al. 2008b*). Il existe plusieurs types de cellules souches :

- Cellules Totipotentes, qui peuvent se différencier en cellules embryonnaires et extra-embryonnaires pour construire un organisme complet
- Cellules Pluripotentes, descendantes des totipotentes et pouvant se différencier en presque toutes les cellules mais en passant par une reprogrammation par thérapie avec génie génétique donc complexe à utiliser en médecine ambulatoire.
- **Cellules Multipotentes** (Cellules souches mésenchymateuses CSM) pouvant se différencier en un certain nombre de types de cellules mais seulement au sein d'une famille cellulaire (tissu adipeux, moelle, sang...). Ce sont celles qui nous intéressent au maximum dans cette technique.
- Et Cellules Unipotentes ne produisant qu'un seul type de cellule identique avec propriété d'auto-renouvellement.

La matrice des bulbes (**renflement** du bulbe) est très riche en cellules endothéliales, péricytes, lymphocytes, pré-adipocytes et en **cellules souches mésenchymateuses (ADSC) pluri et surtout multipotentes** riches en facteurs régénérateurs (protection antioxydante entre autre), facteurs de rajeunissement cutané (cellules à vie longue), et facteurs de stimulation vasculaire et de cicatrisation (TcF3). Ces cellules multipotentes secrètent des facteurs de croissance favorables aux cellules environnantes ; elles produisent également des facteurs anti-inflammatoires qui entraînent une immunosuppression locale et favorisent la fonction de cellules régulatrices de l'immunité. Ces propriétés limitent l'inflammation locale et protègent, à priori, contre le rejet de greffe.

Les cellules graisseuses matures et les adipocytes immatures périlbulbaires présents dans l'environnement (à la base des greffons) ont aussi une action potentielle sur la secrétion de leptine et d'adipokine ... qui sont des produits qui induisent la phase anagène capillaire (*Festa and col. ©, Ito & Liu & Yang Col. ©, Sumikawa and col. © ; Zanzottera F & Lavezzari and col. ©,).*

MATERIELS ET METHODE DE TRAVAIL

Le traitement consiste en une désintégration mécanique d'un peu de tissu (greffons capillaires) obtenu par le biais d'un prélèvement, sous simple anesthésie locale sans adrénaline, au moyen d'un punch-biopsie simple de 2 à 3 mm au niveau du cuir chevelu (zone rétro auriculaire ou occipitale). Les 3 à 4 greffons extraits obtenus après légère anesthésie locale emportent bulbes et tissus avoisinants gras. Ces greffons seront ensuite placés, avec du sérum physiologique, dans un appareil stérile qui comporte une grille équipée de 100 trous avec chacun 6 microlames (soit 600 microlames) qui vont « nano-broyer » les prélèvements pendant 60 secondes à 80 RPM. Ce filtre assure la filtration du broya obtenu permettant le passage uniquement du **matériel cellulaire de moins de 50 microns**, matériel cellulaire étant entre autre la population des **cellules progénitrices pluripotentes et surtout multipotentes** responsables de la formation de nouveaux tissus. Notons de plus que les autres particules cellulaires ont un rôle important dans la réduction des phénomènes inflammatoires et dans la cicatrisation tissulaire avec passage des facteurs de croissance. Ce mélange ainsi sécurisé sera ensuite injecté par voie intradermique mésothérapique profonde avec aiguilles de 30G – 4mm.



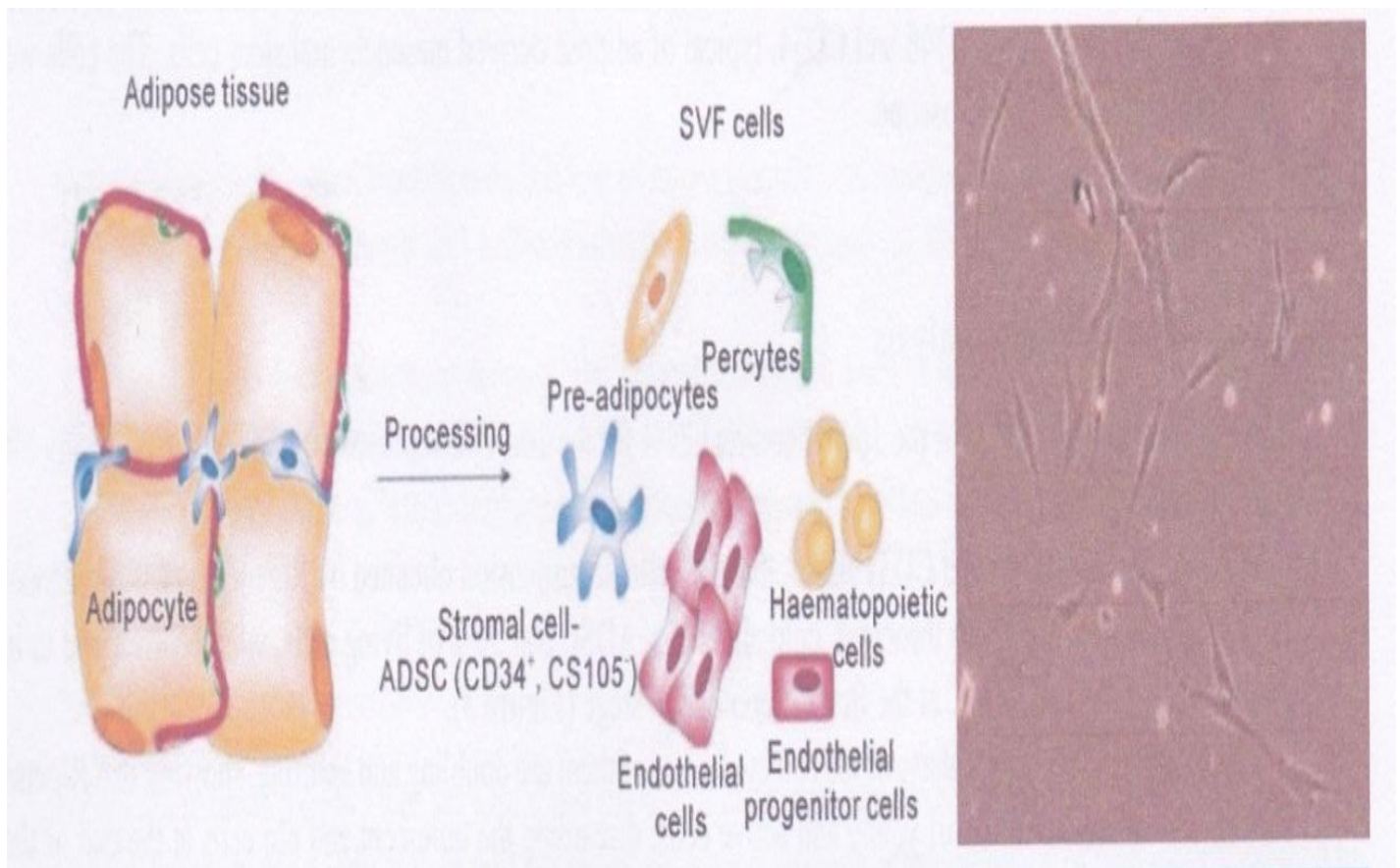
L'utilisation de ce matériel Rigenera® et la rapidité des gestes assurent une survie cellulaire de 73 à 93% (Zanzottera et col. 2014).

RESULTATS HISTOLOGIQUES

Une étude (Gentile P. et Al.) sur des sujets mâles stade III à V d'Hamilton après élimination des critères d'exclusions (Alopécies cicatricielles, infections, cancer, immunosuppresseurs, utilisation de produits stimulants la pousse capillaire dans les 12 mois précédents) a été conduite avec vérification clinique, étude du trichogramme ainsi que des analyses hormonales et microscopiques. Une sélection

rigoureuse des patients s'impose avec des critères qui ont été définis : Nombre de cheveux, distance entre les follicules, présence ou non de follicules miniatures, diamètre des cheveux, pigmentation jaunâtre du derme, inflammation et état général du cuir chevelu.

Des microgreffons capillaires ont été prélevés avec des punches de 2mm*2mm puis nano-broyés 60secondes à 80 RPM et mélangés dans 1.5ml de Sérum Physiologique. Une partie de cette suspension cellulaire a été étudiée en immunofluorescence pour identifier les cellules HFSCs. 4 zones de travail ont été mises en place sur chaque patient (pariétal, frontal vertex et occipital). Les injections se sont faites à une profondeur de 5mm en 2 sessions à 60 jours d'intervalle. Pour moitié, les zones touchées par l'alopecie ont été travaillées avec soit des injections du mélange cellulaire HFSCs soit avec un liquide placebo. Une étude de la pousse des cheveux a été effectuée, avec photographies et appréciations du praticien et du patient, à T0, T1 à 3 semaines, T2 à 9 semaines et T3 à 16 semaines et T4 à 23 semaines.



Tissu adipeux et cellules ADCS au microscope (Zanzottera F. et Lavezzari E.)

Une identification microscopique de ce type de broya (marquage des cellules CD44 et CD200) a été effectuée (Pietro Gentile et al. 2017;4) identifiant et comptant les Human Follicle Stem Cells (HFSCs). Chaque suspension de morceau de greffon capillaire contient en moyenne 3,728.5 +/- 664.5 cellules. Le pourcentage de cellules dérivant du tissu mésenchymateux provenant du derme papillaire **CD44+** est de 5% +0.7% et le pourcentage de cellules dérivant du derme bulbaire **CD200+** est de 2.6%+0.3%. De plus, le broya ainsi obtenu contient un nombre important de cellules composées d'érythrocytes, de cellules épithéliales (fibroblastes), de cellules ADSC et 90% de cellules vivantes correspondant à des cellules adipeuses immatures (jeunes et actives) et des cellules ADSC en première phase de différenciation dont nous avons évoqué l'intérêt plus haut (Trovato L. et col.).

23 semaines après le dernier traitement avec les cellules HFSCs, le nombre de cheveux comptés et la densité avaient augmenté de 29%+-5% contre 1% dans les zones placebo.

RESULTATS CLINIQUES

Une étude (TEJERO Paloma, SUNKEL Victoria and ZAMORANO Maria[®] et al. sur 44 sujets présentant une alopecie androgenique, avec protocole REGENERA Médiane Hamilton: 4 - Médiane Ludwig: 2) a donné des résultats là aussi très intéressants : 18 cas présentaient une alopecie grave (40.91%), 24 une alopecie modérée (54.54%) et 2 cas discrets (4.55%). L'appréciation des résultats par les patients est particulièrement nette : Excellents résultats dans 20.46% des cas, « bons résultats » dans 59.09%, « modestes » dans 11.36% et sans changement pour 9.09% des cas. L'appréciation des résultats par les praticiens est nette : niveau 2 sur une échelle allant de -3 à +3 (médiane à 1.83). La tolérance a été de 100%.

Mon expérience récente sur 5 cas depuis juin 2017 semble corroborer cette dernière étude. 1 patiente présentait un effluvium télogène et a eu un résultat complet 3/3 parfait en 3 mois, 3 hommes Hamilton III et IV ont eu des résultats variables +2/3 à 4 mois (satisfaction nette des patients, plus modeste pour ma part), 1 avait une indication limite car très génétique qui n'a pas donné de résultats nets à 6 mois.



Photos – Avant Après 4 mois Mésogreffe – Avec l'aimable accord du Docteur Ciprian ISACU

DISCUSSION

Il est d'un grand intérêt et c'est l'un des buts recherchés que de trouver des stratégies permettant de générer (ou ré-générer) des follicules pileux, sans mise en culture cellulaire. Ces cellules folliculaires multipotentes et pluripotentes bulbares (cellules souches de l'épithélium, des mélanocytes et des glandes sébacées) siègent dans la région bulbare et à la partie basse des follicules pileux. L'étude publiée par Yu et al. en 2006 montre clairement pour la première fois que les follicules pileux contiennent des cellules souches qui peuvent se différencier en neurones, cellules musculaires, mélanocytes. De plus les cellules Oct4+ sont présentes dans la peau humaine et surtout dans le bulbe du follicule pileux : ces cellules Oct4+ font partie des cellules souches pluripotentes qui assureraient le renouvellement et la réparation des tissus et donc du bulbe en stimulant des cellules souches multipotentes spécifiques au cheveu. Ces cellules ont

ainsi une plasticité importante (in vivo et in vitro) qui en font des cellules extrêmement importantes dans la régénération tissulaire.

Les bulbes sont très faciles à prélever et donc permettent d'envisager une source autologue simple de thérapies cellulaires. Chaque follicule pileux est un système autonome ayant un cycle d'évolution particulier (anagène, catagène et télogène) qui se reproduit un certain nombre de fois dans la vie (environ une vingtaine de fois selon les individus et les pathologies rencontrées) ; en phase catagène ces cellules HFSCs sont présentes dans le bulbe (Alonso L. et al. & Greco V et al.) et envoient des signaux assurant le renouvellement du cheveu. Le prélèvement en zone occipitale offre un avantage majeur important qui est d'être une zone non hormono-dépendante et donc ayant des cellules dont le cycle de pousse est peu dépendant des hormones et donc un renouvellement plus lent et une chute rare (pas ou peu de dépendance avec les enzymes cutanées type 5 α DHT). Malheureusement à ce jour et malgré de nombreux travaux (*Balana et al. 2015*) mettant en culture des cellules bulbaires, aucune technique n'a encore permis d'aboutir à des résultats in vivo de génération de vrais cheveux quand les cycles de pousse sont épuisés.

Cette nouvelle technique de travail, simple à mettre en place, permet ainsi d'améliorer notablement l'alopecie androgénique non cicatricielle, sans aucun effet secondaire. **L'adjonction de PRP** (à visée thérapeutique pour ces indications) assure aussi une majoration des résultats de part l'adjonction de facteurs naturels de croissance cellulaire.

AU TOTAL

Notons que les études actuelles s'orientent aussi beaucoup vers d'autres voies thérapeutiques à savoir la « réparation tissulaire ». En effet l'utilisation de ce matériel permet aussi d'envisager une réparation de zone cicatricielle ou nécrosée (lésion arthrosique, lésion cutanée). La richesse des tissus sous cutanés en cellules souches mésenchymateuses (MSC) permet **un prélèvement simple** (graisse, zone rétro-auriculaire pour le cartilage, occipitale, etc...) et une réinjection mésothérapique cutanée ou en intra-articulaire immédiate et sans risque. Ces techniques doivent être promues dans le milieu médical ambulatoire évitant ainsi nombre de traitements lourds médicaux et/ou chirurgicaux ; je pense aux lésions articulaires dont de récents articles (*Biostimulation of knee Cartilage Using autologous Micrografts* » by *Fernandez A.D et Baroni Luengo A.*) assurent des promesses thérapeutiques immenses pour le bien de nos patients !

SUMMARY

A promising alternative to tissue engineering is presented by stem cell therapy. The stem cell therapy is mainly based on the use of Mesenchymal Stem Cells (MSCs) which are multipotent adult stem cells with unique biological properties. They secrete multiple bioactive molecules capable by recovery of injured cells by inhibiting inflammation by a paracrine effect. These cells have the ability to exert immunomodulatory functions. In this article, we aim to explain a new simple and legal approach to isolate specifically these cells population from human connective tissues and create autologous (the patient is in fact the donor and acceptor) micro-grafts calibrated of 50 microns, ready to clinical applications. In this context, was developed the Rigenera protocol, a new approach for regeneration of human injured tissues through the injection of autologous micrografts obtained by innovative medical device. It was shown that this isolated cells (MSCs) located in the bulge area, are capable to improve the hair density in patients affected by androgenetic alopecia.

BIBLIOGRAPHIE

Cellules souches et thérapie cellulaire – Peschanski Marc INSERM 861, Jorgensen Christian ECellFrance CHU Montpellier 2015

Les cellules souches mésenchymateuses - Institut du genou et pathologies articulaires – Thérapie cellulaire
Assor Michel – Site internet 2017

Stems cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia ans hair loss Pietro Gentile, Maria G.Scioli, Alessandra Bielli, Augusto Orlandi, Valerio Cervelli – Roma - Italy – in Stem cells investing 2017,4

Nanofat grafting : basic research and clinical applications Tonnard P., Verpaele A., Peeters G., Hamdi M. – Brussel – Belgique – Plast. Reconstr.Surg. 2013 - 132: 1017

Adipose Derived Stem Cells and Growth Factors Applied on Hair Transplantation. Follow-up of clinical outcome Federica Zanzottera, Emilio Lavezzari, Letizai Trovato, Alessandro Icardi, Antonio Graziano – Torino – Italy – in Journal of Cosmetics, dermatological Sciences ans Applications 2014,4

A new medical device Rigeneracons allows to obtain viable micro-grafts from mechanical disaggregation of humaun tissues Torvato L., Monti M., Del Fante C., Cervio M., Lampinen M., Ambroso L., Redi A.C., Perotti C., Kanduri E., Ambrosio L., Baena R.R, Pirozzi G., Graciazon A. – Human Brain wave Turin – Italy & faculty of medicine Helsinki – Finland – Department of neuroscience – Naples – Italy & Department of clinic surgical Pavia – Italy – Wley Online Library 2015 – 10 1002/jcp 24973

Treatment of hair loss Price VH. New England Journal of Medecine 1999, 341:964-73

The effect of platelet-rich plasma in hair regrowth: a randomized placebo controlled trial Pietro Gentile, Garcovich S., Bielli A et al. – Roma - Italy – in Stem cells investing 2015,4: 1317-23

An innovative regenerative treatment of scars with dermal micrografts Svolacchia F., De Francesco F., Trovato L., Graziano A., Ferraro G. – Centre Nono science Mavi sud & Humain brain Wave Turin & Temple University of Philadelphia – USA – Journal of Cosmetic Dermatology 0 , 1-9 - 2016

Label retaining cells reside in the buldg area of pilo-sebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM, - Cell 1990;61;1329-37

Maintenance of high proliferation and multipotent potential of human hair follicle-derived mesenchymal stem cells by growth factors Zhang W, Wang Y, Gao Y et al., - Int J Mol Med 2013; 31: 913-21

Epidermal stem cells and skin tissue engineering in hair follicle regeneration. Balaña ME, Charreau HE, Leiros GJ, - World J.Stem cells 2015;7: 711-27

Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from humaun hair follicles. Yu H, Fang D, Kumar SM et al. – Am J. pathol 2006; 168: 1879-88

Clinical and histological evaluation of Regenera© method for the treatment of androgenetic alopecia. Alvarez X., Valenzuela M., Tuffet J. – Barcelona – in international Educational applied Scientific Research Journal 2018 vol.3: 2456-5040

Potential involvement of the stem cell factor receptor c-kit in alopecia areata and androgenetic alopecia – histopathological, immunohistochemical ans semiquantitative investigations Ashrafuzzaman Md, Yamamoto T, Shibata N and al. – JSHC 2010,43.9-17

Treatment of androgenic alopecia with autologous skin micrografts. Tejero Paloma, Sunkel Victoria, Zamorano MV et al.

Rigenera protocol in the treatment of surgical wound dehiscence Marcarelli M., Trovato L., Novarese E, Riccio M., Graziano A. et al. – Turin Italy & Ancone Italy & Philadelphia USA - International Wound Journal 2016 1742 -4801

A combined use of chondrocytes micro grafts mixed with platelet Rich Plasma in patients affected by pinch nose deformity. Gentile P., Scioli MG, Bielli A, Orlandi A and Cervelli V. and al. – Rome Italy – In Journal of regenerative medicine 2016

Biostimulation of knee Cartilage Using autologous Micrografts: a preliminary study of the rigenera protocol in osteochondral lesions of the knee - Fernandez A.D et Baroni Luengo A. laguna Spain

L'auteur déclare ne pas avoir d'intérêt financier en relation avec cet article.